



HAL
open science

Alternative à la résistance aux pyréthrinoïdes au Burkina Faso : Évaluation des activités insecticides et répulsives-irritantes d'huiles essentielles de plantes locales seules et en combinaison sur les populations de *Anopheles gambiae* et de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).

Mahamoudou Balbone

► **To cite this version:**

Mahamoudou Balbone. Alternative à la résistance aux pyréthrinoïdes au Burkina Faso : Évaluation des activités insecticides et répulsives-irritantes d'huiles essentielles de plantes locales seules et en combinaison sur les populations de *Anopheles gambiae* et de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).. Sciences de l'environnement. Université Joseph KI-ZERBO, 2022. Français. NNT : . tel-04061481

HAL Id: tel-04061481

<https://theses.hal.science/tel-04061481>

Submitted on 6 Apr 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITÉ
Joseph KI-ZERBO**

**École Doctorale
Sciences et Technologies**

**Laboratoire d'Entomologie
Fondamentale et Appliquée (LEFA)**



N° d'ordre :

Thèse Présentée

Par Mahamoudou BALBONE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Joseph KI-ZERBO

**Option : Sciences Biologiques Appliquées
Spécialité : Entomologie**

Alternative à la résistance aux pyréthrinoïdes au Burkina Faso : Évaluation des activités insecticides et répulsives-irritantes d'huiles essentielles de plantes locales seules et en combinaison sur les populations de *Anopheles gambiae* et de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).

Soutenue le 17 décembre 2022, devant le jury composé de :

Président : Laya SAWADOGO, Professeur titulaire, Université Joseph KI-ZERBO

Membres :

- **Ibrahima DIA**, Directeur de recherche, Institut Pasteur-Dakar (Rapporteur)
- **Cédric PENNETIER**, Chercheur, HDR, MIVEGEC-IRD-Montpellier (Rapporteur)
- **Moussa NAMOUNTOUGOU**, Maître de Conférences, Université Nazi-Boni (Examineur)
- **Olivier GNANKINE**, Professeur titulaire, Université Joseph KI-ZERBO (Directeur de thèse)

Année Académique 2021 – 2022

DEDICACE

Je rends gloire à Allah Le Miséricordieux qui m'a permis de produire cette thèse.

Je dédie ce mémoire tout d'abord à ma famille :

- A mes feus parents (grand-père, père et mère) qui m'ont inspiré tout au long de cette aventure ;
- A ma grand-mère KERE Awa (Adja) pour toutes ses bénédictions ;
- Ma 2^e mère YEMBONE Fatoumata qui s'est sentie abandonnée durant la période de mes recherches ;
- A mon épouse Azara et mes enfants Fadela et Firdaws qui ont su supporter mes différentes absences et mes humeurs durant mes travaux de recherche ;
- A mon Directeur de thèse Professeur GNANKINE et sa famille pour leurs soutiens multiformes.

REMERCIEMENTS

Ce travail est le fruit de quatre années d'études universitaires et d'une collaboration fructueuse entre deux institutions auxquelles je ne saurais exprimer assez ma profonde gratitude. Je cite : **l'Université Joseph KI-ZERBO (UJKZ)** à travers le Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée (LEFA) et l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT) à Ouagadougou, Burkina Faso ; **l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO)** à travers le Laboratoire d'Entomologie et Parasitologie Médicales (LEPM) à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

Cette thèse a pu être réalisée grâce à l'appui financier de The World Academy of Science (TWAS) à travers le financement TWAS 18-163 RG/BIO/AF/AC_G – FR3240303649 octroyé au Professeur **Olivier GNANKINE**, coordonnateur du Projet, qui m'a permis de terminer ma thèse dans de bonnes conditions.

C'est de tout cœur que je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. La liste est longue mais, dans les lignes qui suivent, je tiens particulièrement à nommer certains dont le soutien a été inconditionnel. Nos sincères remerciements vont :

Au Professeur **Olivier GNANKINE**, Enseignant-chercheur à l'Université Joseph KI-Zerbo, mon directeur de thèse, qui a dirigé de bout en bout ce travail avec toute la dextérité et la clairvoyance requises. J'ai été honoré de faire partie de son équipe, de travailler à ses côtés et de profiter de son immense savoir. Sa disponibilité, sa sollicitude, sa magnanimité, sa rigueur scientifique, ses immenses qualités humaines ainsi que ses soutiens multiples et multiformes ont permis de mener cette thèse à bon port et dans de meilleures conditions. C'est à lui que je dois la plus importante part de mes connaissances dans le domaine de la recherche scientifique de façon générale et de l'entomologie en particulier. Professeur, sachez que vous avez été pour moi plus qu'un Directeur de thèse. Merci pour toute la confiance portée à mon égard et aussi pour vos permanents soutiens et conseils. Donc, du fond du cœur, MERCI à vous mon Mentor !

Au Professeur **Roch K. DABIRE**, Directeur de Recherche, Directeur de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO), de m'avoir accepté dans votre institut, aussi pour les encouragements et la confiance placée en moi.

Au Professeur **Antoine SANON**, Enseignant-chercheur à l'Université Joseph KI-ZERBO

et Responsable du Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée (LEFA), pour m'avoir accepté dans son laboratoire, pour ses conseils et la formation de qualité que nous avons reçue de lui.

Au Professeur **Laya SAWADOGO**, Enseignant-chercheur à l'Université Joseph KI-ZERBO, Président du jury de cette thèse. Cher Maître, les mots ne sauraient exprimer toute notre reconnaissance et notre profonde gratitude !

Docteur **Moussa NAMOUNTOUGOU**, Enseignant-chercheur à l'Université Nazi-Boni et Chercheur associé en Entomologie Médicale à l'IRSS DRO, qui a accepté avec enthousiasme d'examiner ce travail de thèse. Plus qu'un privilège, c'est un honneur pour moi de faire ces premiers pas dans la recherche à vos côtés. Cher maître, sachez que vous êtes un modèle pour moi à plus d'un titre. Je vous suis infiniment reconnaissant pour les moyens matériels, scientifiques mis à ma disposition pour ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Docteur **Ibrahima DIA**, Directeur de recherche à l'Institut Pasteur de Dakar, Sénégal, éminents spécialistes de l'entomologie médicale, qui a bien voulu lire cette thèse et apporter des suggestions très pertinentes, malgré leurs multiples occupations. Toute ma gratitude et ma reconnaissance pour avoir consacré beaucoup de votre temps pour l'amélioration de ce travail !

Au Docteur **Cédric PENNETIER**, Chercheur, HDR, MIVEGEC-IRD-Montpellier, pour avoir accepté avec promptitude d'être rapporteur de cette thèse. Cher Maître les mots ne sauraient exprimer toute notre reconnaissance et notre profonde gratitude !

Au Docteur **Samson GUENNE**, Maître de Conférences à l'Université Joseph KI-ZERBO, pour avoir accepté avec promptitude d'être rapporteur de cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Docteur **Dieudonné Diloma SOMA**, pour son encadrement et sa disponibilité. Travailler pendant toutes ces années auprès de vous a été un plaisir aux plans professionnel et humain. Vous m'avez accordé votre confiance et votre aide, je vous en suis immensément reconnaissant. Vos conseils et vos qualités d'ainé en Entomologie ont énormément compté dans le succès de ces travaux de thèse, soyez-en remercié.

Au Professeur **Imaël Henri Nestor BASSOLE**, Enseignant-chercheur à l'Université Joseph Ki-Zerbo, à qui nous adressons nos sincères remerciements et toute notre reconnaissance pour sa collaboration dans l'aboutissement de cette thèse. Nous souhaitons pouvoir bénéficier

toujours de cette collaboration.

Au Docteur **Roger C.H. NEBIE**, Chercheur en chimie organique, Directeur de recherche au CNRST et premier responsable de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies à qui j'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance pour sa collaboration dans l'aboutissement de cette thèse.

Au Docteur **Ahmed COULIBALI**, Enseignant-chercheur à l'Université Norbert ZONGO de Koudougou, merci pour vos conseils, encouragements et contributions à la réalisation de ce document.

Au Docteur **Etienne BILGO**, Chercheur en Entomologie Médicale à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO) à qui j'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance pour sa collaboration dans l'aboutissement de cette thèse.

Au Docteur **Koama BAYILI**, à qui j'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance pour sa collaboration dans l'aboutissement de cette thèse.

Au Docteur **Samuel Fogné DRABO**, Enseignant-chercheur au Centre Universitaire de Ziniaré, pour sa collaboration, son soutien et ses conseils.

Au Docteur **Rahim Romba**, Enseignant-chercheur à l'Université Joseph KI-ZERBO pour sa collaboration, ses conseils et ses encouragements.

Au Docteur **François D. Sales Hien**, Chercheur en Entomologie Médicale à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO) à qui j'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance pour sa collaboration dans l'aboutissement de cette thèse. Merci « capitaine » pour avoir facilité mon intégration dans l'équipe de football de l'IRSS/Centre MURAZ.

Au Docteur **Aristide S. HIEN**, Chercheur en Entomologie Médicale à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO) pour ses conseils et ses encouragements.

Aux Docteurs **Charles NIGNAN**, **Dimitri W. WANGRAWA** et **Serge B. PODA**, pour leurs conseils et leurs encouragements.

Au grand frère **Casimir GNANKINE** pour ses apports pendant les corrections de nos articles scientifiques.

A tous les Enseignants de l'UFR/SVT et particulièrement à ceux du département de

Biologie et Physiologie Animale pour les encouragements et les conseils durant toutes ces années de formation. Nous pensons aux : Professeur **Mahamoudou DICKO**, Professeur **Balé BAYALA**, Professeur **Athanase BADOLO**, Docteur **Malika KANGOYE**, Professeur **Joseph BOUSSIM**, Docteur **Ernest R. TRAORE**, Docteur **Zakaria ILBOUDO**, Docteur **Samson GUENNE**, Docteur **Moussa COMPAORE**, Docteurs **Fousseni TRAORE** et **Lacina TRAORE**.

Au personnel de l'Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), particulièrement à Monsieur **SAWADOGO Ignace**.

A tous les travailleurs de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/ Direction Régionale Ouest (IRSS/DRO). Je cite particulièrement, **Baudoin DABIRE**, **Ali SANOU**, **Maurice COMBASSERE**, **Leonard BAZIE**, **Simplice SANOU**, **Hamidou TRAORE** (mon kalanfa), **Hervé SOMDA**, **Siaka TOURO**. Une mention spéciale à **George Benson MEDA**, technicien à l'IRSS/DRO, pour ses conseils et ses soutiens multiformes. Merci mon frère de Koper.

Aux étudiants stagiaires à l'IRSS/DRO, particulièrement, **Mahamadi KHIÈTEGA**, **Didier A. KABORE**, **KONATE Hamadou**, **Samina MAIGA**, **Kelly Lionelle NGAFFO**, **Daniel SANOU**, **Delphine O. KARAMA**, **Abdramane CAMARA**, **TOE Oumar**, **BELEM Ismael**.

Merci à tous mes amis de l'IRSS/Centre Muraz pour tous les bons moments passés ensemble: Docteur **Bazoma BAYILI**, **Roger SANOU**, **Siaka TOURO**, **Thomas BAZIÉ**, Docteur **Séverin N'DO**, **Bernard SOMÉ**, **Kambou Sansan Simplicie**, **Dabiré Bodouin**, **Emmanuel Sougué**, **Rodrigue DAH**, **NEA Catherien**, **Abel S. MILLOGO**, **Issaka SARÉ**, **docteur Lassane KOALA**. Je vous suis très reconnaissant de l'amitié que vous me portez.

A tous mes amis de l'UFR SVT et particulièrement ceux du LEFA: **OUEDRAGO Y. Theodore**, Docteur **Edouard DRABO**, **COMPAORE Idrissa**, **YAMEOGO Felix**, **SANON Aboubacar**, **SAGNON Bakary**, **Prisca S. PARE**, **Mariam YOUNA**.

A mes collègues Inspecteurs de l'Enseignement Secondaire, particulièrement à **Emmanuel ZONGO**, **Boukary CONSEIBO**, **Hermane P. BONOU**, **Benjamin BALBONE**, **Abdoulaye BALBONE**, **Innocent BAMOUNI**, **Jean P. S. TONI**, **Magloire B. SOME**, **Harouna DEMBELE**, **Lacina TRAORE**, **Kalifa G. TRAORE**, **Raoul SANON**.

A mes oncles, **Issa BALBONNE**, **Salifou BALBONE**, **Mahamoudou BALBONE**

BALBONE Ibrahim, Dahiman BALBONE, Yacouba BALBONET (Champion), ma grand-mère **Adja Awa KERE**, à mes mamans **Fatoumata** (Toubabou), **Fatimata** (Korlos), **Abibou** (Nagouta), **Zenabou** (Worotigui), Feue **Awa** (Yabaworo), **Aguiratou** (Yababinré) et à mes grand frères **Abdoulaye, Aboukare, Dramane, Oumarou, Inoussa, Drissa** (Vichy), **Issa** (Kofi koffi), à la famille **SEONI** pour leurs soutiens, leurs conseils et leurs bénédictions.

A mes amis (es), **Souleymane KERE, Emmanuel SORGHO, Bakary BAMBARA, Ousmane SORGHO, Boubakar GUINKO, Mamadou WARMA, Drissa ZARE**, Docteur **Boukari SORGHO, Rodolphe BANCE, Issiaka KERE, Jérémy NANA, Abdoulaye TANOU**, Docteur **ILBOUDO Hermann, Madina ZEBA, Mariam KERE, Docteur Hamidou MAIGA**, Docteur **Grissoum TARNAGDA, Docteur Oumarou SAMBARE, Nassirou NOMBRE, Karim YENKENE, Docteur Mamadou BOUNTOGO** et **Issouf BALBONE**. Merci pour vos soutiens multiformes.

SOMMAIRE

| | |
|--|---------------|
| DEDICACE | i |
| REMERCIEMENTS | ii |
| SOMMAIRE | vii |
| LISTE DES FIGURES | xi |
| LISTE DES TABLEAUX | xiii |
| SIGLES ET ABREVIATIONS | xv |
| Publications et Communications Scientifiques | xvi |
| Résumé | xix |
| Abstract | xx |
| PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE | - 7 - |
| 1- 1. Vecteurs du paludisme et de la dengue | - 8 - |
| 1- 1.1. Classification | - 8 - |
| 1- 1.2. Cycle de développement des moustiques | - 9 - |
| 1- 1.2.1. Phase pré-imaginale | - 9 - |
| 1- 1.2.2. La phase imaginale | - 11 - |
| 1- 1.3. Répartition géographique mondiale des moustiques <i>Aedes aegypti</i> et <i>Anopheles gambiae</i> | - 14 - |
| 1- 1.4. Écologie et comportement des moustiques | - 16 - |
| 1- 1.5. Les conséquences du repas sanguine des femelles de <i>Aedes</i> et de <i>Anopheles</i> | - 18 - |
| 1- 2. Méthodes de luttés antivectorielle actuelles | - 18 - |
| 1- 2.1. La diminution du contact homme-vecteur | - 18 - |
| 1- 2.2. La diminution de la densité vectorielle | - 20 - |
| 1- 2.2.1. La Lutte biologique..... | - 20 - |
| 1- 2.2.2. Lutte physique..... | - 21 - |
| 1- 2.2.3. La lutte chimique | - 22 - |
| 1- 2.3.1. La lutte chimique | - 24 - |
| 1- 2.3.2. Lutte génétique..... | - 25 - |
| 1- 3. Mécanismes de résistance des moustiques aux insecticides | - 26 - |
| 1- 3.1. Résistances liées à la modification physiologique | - 27 - |

| | |
|---|---------------|
| 1- 3.1.1. Mécanismes de résistance métabolique | - 27 - |
| 1- 3.1.2. La résistance cuticulaire..... | - 29 - |
| 1- 3.2. La résistance liée à la modification de la cible | - 29 - |
| 1- 3.2.1. Les mutations kdr/le canal sodium | - 29 - |
| 1- 3.2.2. La mutation Ace-1/l'acétylcholinestérase (AChE)..... | - 29 - |
| 1- 3.3. Résistance comportementale..... | - 30 - |
| 1- 4. Stratégies de gestion de la résistance aux insecticides | - 30 - |
| 1- 4.1. Peintures insecticides | - 31 - |
| 1- 4.2. L'ivermectine comme outil de lutte antivectorielle..... | - 32 - |
| 1- 4.3. Les stratégies des pièges à appât sucré et des « tubes d'avant-toit »..... | - 32 - |
| 1- 4.4. Huiles essentielles comme bio-insecticides alternatifs | - 33 - |
| 1.5. Importance des HE..... | - 35 - |
| PARTIE 2 : METHODOLOGIE GENERALE..... | - 37 - |
| 2- 1. Cadre d'étude | - 38 - |
| 2- 2. Matériel..... | - 40 - |
| 2- 2.1. Matériel végétal..... | - 40 - |
| 2- 2.2. Matériel animal : les souches de moustiques | - 43 - |
| 2- 2.3. Matériel physique..... | - 43 - |
| 2- 2.3.1. Matériels d'extraction des huiles végétales..... | - 43 - |
| 2- 2.3.2. Matériels pour l'élevage des larves et adultes de <i>An. gambiae</i> et de <i>Ae. aegypti</i> - | 44 - |
| 2- 2.3.3. Matériels pour les tests bio-essais..... | - 44 - |
| 2- 3. Méthodes..... | - 45 - |
| 2- 3.1. Collecte larvaire et élevage des moustiques..... | - 45 - |
| 2- 3.2. Techniques d'extraction | - 46 - |
| 2- 3.3. Caractérisation des huiles essentielles..... | - 47 - |
| 2- 3.3.1. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) | - 47 - |
| 2- 3.3.2. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la | - 47 - |
| spectrométrie de masse (CPG/SM)..... | - 47 - |
| 2- 3.3.3. Identification des composants des huiles..... | - 48 - |
| 2- 3.4. Méthode de dilution des huiles essentielles et des combinaisons d'huiles essentielles | - 48 - |

| | |
|---|---------------|
| 2- 3.5. Imprégnation des papiers..... | - 49 - |
| 2- 4. Analyse des données..... | - 50 - |
| PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS..... | - 51 - |
| Chapitre 1 : Activités larviques de cinq huiles essentielles extraites de cinq plantes locales vis-à-vis des populations de <i>Aedes aegypti</i> et de <i>Anopheles gambiae</i> collectés à l’Ouest du Burkina Faso..... | - 53 - |
| 3- 1-1. Introduction | - 53 - |
| 3-1-2. Méthodologie : tests larvaires | - 54 - |
| 3- 1-3. Résultats | - 55 - |
| 3- 1-3.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles | - 55 - |
| 3- 1-3.2. Activités larviques des huiles essentielles sur <i>Anopheles gambiae</i> | - 57 - |
| 3- 1-3.3. Activités larviques des huiles essentielles sur <i>Aedes aegypti</i> | - 60 - |
| 3- 1-4. Discussion | - 63 - |
| 3- 1-5. Conclusion partielle | - 66 - |
| Chapitre 2 : Évaluation des propriétés adulticides des huiles essentielles de cinq plantes locales et des combinaisons de deux d’entre elles sur des populations de <i>Aedes aegypti</i> et de <i>Anopheles gambiae</i> (Diptera : culicidae) de l’Ouest du Burkina Faso. | - 67 - |
| 3- 2-1. Introduction | - 67 - |
| 3- 2-2. Méthodologie : test de sensibilité en tubes OMS | - 68 - |
| 3- 2-3. Résultats | - 69 - |
| 3- 2-3.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles | - 69 - |
| 3- 2-3.2. Tests adulticides sur les populations de <i>Anopheles gambiae</i> | - 70 - |
| 3.2.3.2.1. L’activité des huiles essentielles..... | - 70 - |
| 3.2.3.2.2. L’activité des combinaisons des huiles essentielles..... | - 73 - |
| 3- 2-3.3. Tests adulticides sur les populations de <i>Aedes aegypti</i> | - 78 - |
| 3- 2-3.3.1. L’activité des huiles essentielles..... | - 78 - |
| 3- 2-3.3.2. L’activité des combinaisons des huiles essentielles | - 82 - |
| 3- 2-4. Discussion | - 86 - |
| 3- 2-5. Conclusion partielle | - 90 - |
| Chapitre 3 : Activité excito-répulsive de cinq huiles essentielles extraites de plantes locales contre les vecteurs de la dengue et du paludisme au Burkina Faso | - 91 - |

| | |
|---|----------------|
| 3- 3-1. Introduction partielle | - 91 - |
| 3- 3-2. Méthodologie : test répulsif-irritant par contact | - 92 - |
| 3.3.3. Résultats | - 95 - |
| 3.3.3.1. Réponses comportementales avec les populations de <i>Anopheles gambiae</i> | - 95 - |
| 3- 3-3.2. Réponses comportementales avec les populations de <i>Aedes aegypti</i> | - 99 - |
| 3- 3-4. Discussion | - 101 - |
| 3- 3-5. Conclusion partielle | - 103 - |
| 1. Discussion générale | - 106 - |
| 1.1. Les huiles essentielles comme des larvicides | - 106 - |
| 1.2. Les cinq (5) HE et les combinaisons de deux (2) d’entre elles comme aduIticides ... | - 107 - |
| 1.3. Les huiles essentielles comme répulsifs anti moustiques | - 109 - |
| 2. Conclusion générale et perspectives | - 110 - |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | - 112 - |
| ANNEXES..... | - 145 - |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|--------|
| Figure 1: Images de <i>Anopheles gambiae</i> (A) et <i>Aedes aegypti</i> (B) | - 9 - |
| Figure 2: Cycle biologique de l'anophèle (Carnevale et al., 2009) | - 13 - |
| Figure 3: Cycle de développement des moustiques (http://www.institutpasteur.nc/les-moustiques-et-la-dengue/) | - 13 - |
| Figure 4: Comparaison des Anophelinae et Culicinae (OMS 2013)..... | - 14 - |
| Figure 5: Répartition géographique mondiale de <i>Aedes aegypti</i> (Kraemer et al., 2015).... | - 15 - |
| Figure 6: Distributions potentielles de <i>Anopheles gambiae</i> dans les conditions climatiques actuelles (Li et al., 2021). | - 16 - |
| Figure 7 : Méthodes biologiques de contrôle des moustiques (Benelli, Jeffries & Walker, 2016) | - 21 - |
| Figure 8: Mécanismes de résistance des vecteurs aux insecticides (in Carnevale et Robert, 2009) | - 27 - |
| Figure 9: Appareils d'extraction des huiles essentielles (A = Appareil de Clevenger ; B = Alambic ; C = Dispositif par le Soxhlet) | - 35 - |
| Figure 10: Présentation des sites d'études | - 40 - |
| Figure 11: Les plantes dont les huiles essentielles ont été extraites..... | - 42 - |
| Figure 12: Clevenger pour extraction d'huiles essentielles (Cliché Balboné, 2019) | - 44 - |
| Figure 13: Collecte larvaire et élevage de moustiques..... | - 46 - |
| Figure 14: Chromatographe en phase gazeuse couplé avec spectromètre de masse..... | - 48 - |
| Figure 15: Les huiles essentielles et l'imprégnation des papiers whatman (Cliché Balboné, 2020) | - 49 - |
| Figure 16: Quelques étapes du test larvaire | - 55 - |
| Figure 17: Mortalités des larves de la souche sensible de <i>An. gambiae</i> « Kisumu » en fonction des concentrations des HE. (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%) | - 59 - |
| Figure 18: Mortalités des larves de la souche de terrain de <i>An. gambiae</i> « VK » en fonction des concentrations des HE. (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%)..... | - 59 - |
| Figure 19: Mortalités en fonction des concentrations des HE des larves de la souche de <i>Ae. aegypti</i> de Bobo-Dioulasso. (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%)..... | - 62 - |

| | |
|---|-------|
| Figure 20: Mortalités en fonction des concentrations des HE des larves de la souche de <i>Ae. aegypti</i> de Bobo-Dioulasso. (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%). | 63 - |
| Figure 21: Quelques étapes du déroulement des tests bioessais | 69 - |
| Figure 22: Taux de Mortalité des adultes de <i>An. gambiae</i> Kisumu et VK en fonction des concentration des HE. (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%)..... | 71 - |
| Figure 23: Taux de Mortalité des adultes de <i>An. gambiae</i> de Kisumu et VK en fonction des concentration des combinaisons des HE de <i>C. nardus</i> et <i>O. americanum</i> . (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%)..... | 74 - |
| Figure 24: Mortalité des adultes de <i>Ae. aegypti</i> en fonction des concentrations des HE.... | 80 - |
| Figure 25: Mortalité des adultes de <i>Ae. aegypti</i> en fonction des concentration des combinaisons des HE de <i>C. nardus</i> et <i>O. americanum</i> . (Les barres d'erreurs représentent l'IC à 95%).- | 82 - |
| - | |
| Figure 26: Dispositif de Grieco et al. (2005) adapté à <i>Anopheles gambiae</i> (Deletre et al. 2013) | 93 - |
| Figure 27: Présentation des tubes OMS (OMS 2022b)..... | 94 - |
| Figure 28: Déroulement des tests répulsifs irritants de contact | 94 - |
| Figure 29: Taux d'échappés des femelles de la souche sensible de <i>Anopheles gambiae</i> "Kisumu" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact..... | 98 - |
| Figure 30: Taux d'échappés des femelles de la souche de terrain de <i>Anopheles gambiae</i> "VK" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact..... | 98 - |
| Figure 31: Taux d'échappés des femelles de la souche sensible de <i>Aedes aegypti</i> "Bora Bora" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact..... | 100 - |
| Figure 32: Taux d'échappés des femelles de la souche de terrain de <i>Aedes aegypti</i> "Bobo-Dioulasso" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les | |

réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact..... - 100 -

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|--------|
| Tableau I: Présentation des espèces végétales | - 41 - |
| Tableau II : Composition chimique des huiles essentielles des 5 plantes <i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Cymbopogon nardus</i> , <i>Eucalyptus camaldulensis</i> , <i>Lippia multiflora</i> et <i>Ocimum americanum</i> | - 56 - |
| Tableau III : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL ₅₀ et CL ₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles de plantes contre les larves de la souche sensible de <i>An. gambiae</i> , Kisumu | - 57 - |
| Tableau IV : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL ₅₀ et CL ₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles des plantes contre les larves de la souche résistante de <i>An. gambiae</i> de VK | - 57 - |
| Tableau V : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL ₅₀ et CL ₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles de plantes contre les larves de la souche sensible de <i>Ae. aegypti</i> , Bora Bora | - 60 - |
| Tableau VI : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL ₅₀ et CL ₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles de plantes contre les larves de la souche de <i>An. gambiae</i> de Bobo-Dioulasso..... | - 60 - |
| Tableau VII : Concentrations létales 50 et 99 (CL ₅₀ , CL ₉₉) et concentrations diagnostiques pour les huiles..... | - 72 - |
| Tableau VIII: KDT ₅₀ , KDT ₉₅ obtenus avec les huiles essentielles des 5 plantes sur les deux souches de <i>Anopheles gambiae</i> (Kisumu et de VK)..... | - 73 - |
| Tableau IX: KDT ₅₀ , KDT ₉₅ avec les combinaisons d'huiles essentielles de <i>C. nardus</i> et de <i>O. americanum</i> sur les souches de <i>Anopheles gambiae</i> (Kisumu et VK) | - 76 - |
| Tableau X: Effets des interactions des HE de <i>Cymbopogon nardus</i> (C.n) et | - 77 - |
| Tableau XI: Effets des interactions des HE de <i>Cymbopogon nardus</i> (C.n) et <i>Ocimum americanum</i> (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche de <i>An. gambiae</i> de VK (n = 150).... | - 77 - |

Tableau XII : les temps nécessaires pour assommer 50 et 95% (KDT₅₀ et KDT₉₅) avec les intervalles de confiance à 95% (IC95%) obtenus sur les deux souches de *Ae. Aegypti* testées (Bora bora et de Bobo-Dioulasso) avec les HE. - 79 -

Tableau VII : Concentrations létales 50 et 99 (CL₅₀, CL₉₉) et concentrations diagnostiques pour les huiles..... - 81 -

Tableau XIV : KDT₅₀, KDT₉₅ produits par les combinaisons d'huiles essentielles de *C. nardus* et de *O. americanum* sur les souches de *Aedes aegypti* (Bora bora et de Bobo-Dioulasso)- 84 -

Tableau XV : Effets des interactions des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (C.n) et *Ocimum americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche sensible de *Aedes aegypti* Bora Bora (n = 150)..... - 85 -

Tableau XVI : Effets des interactions des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (C.n) et *Ocimum americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche de Bobo-Dioulasso de *Aedes aegypti* (n = 150)..... - 85 -

Tableau XVII: Taux de KD obtenus parmi les moustiques qui ne se sont pas échappés ... - 97 -

SIGLES ET ABREVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

Ae.: Aedes

An.: Anopheles

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CNEV : Centre National d'Expertise sur les Vecteurs

CL : Concentration létale

CI : Concentration Inhibitrice

COVID-19 : Maladie à coronavirus 2019

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse

DEET : N, N-diethyl-m-toluamide ou N, N-diéthyl-3-méthylbenzamide

FIC : concentration fractionnelle inhibitrice

HE : Huiles Essentielle (s)

IC 95 : Intervalle de confiance 95%

INSD : Institut National de la Statistique et de la Démographie

IR3535 : Insect repellent 3535 ou éthylbutylacétylaminopropionate

IRSAT : Institut de Recherche en Science Appliquées et Technologiques

IRSS : Institut de Recherche en Sciences de la Santé

KBR3023 : icaridine ou picaridine

KD : Knock-down

KDT : Temps de Knock down

LAV : lutte antivectorielle

MILDA : Moustiquaire Imprégnée à Longue Durée d'Action

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PID : Pulvérisation Intra domiciliaire

PPM : Partie Par Million

VK: Vallée du Kou

WHO: World Health Organization; LAV: lutte anti-vectorielle

Publications et Communications Scientifiques

Publications scientifiques

A. Publications issues de la thèse

Articles publiés

1-**Balboné M.**, Soma, D. D., Namountougou, M., Drabo, S. F., Konaté, H., Toé O., Bayili, K., Meda, G. B., Dabiré, R. K. and Gnankine, O. (2022a). Essential oils from five local plants: an alternative larvicide for *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control in Western Burkina Faso. *Front. Trop. Dis.* 3:853405. <https://doi.org/10.3389/ftd.2022.853405>.

2-**Balboné M.**, Soma, D. D., Drabo, S. F., Namountougou, M., Konaté, H., Meda, G. B., Sawadogo I., Romba R., Bilgo E., Nebié R. C. H., Bassolé I. H. N., Dabire R. K. and Gnankine O. (2022b). Alternatives to Chemical Resistance: Combinations of *Cymbopogon nardus* and *Ocimum americanum* essential oils improve the bioefficiency control against the adults populations of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 59(6), 2102–2109. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac148>.

3-**Balboné M.**, Sawadogo I., Soma D. D., Drabo S. F., Namountougou M., Bayili K., Romba R., Meda G. B., Nebié H. C. R., Dabire R. K., Bassolé I. H. N., Gnankine O. (2022c). Essential oils of plants and their combinations as an alternative adulticides against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) Populations. *Scientific Reports* 12, 19077. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23554-6>.

Articles en préparation

Balboné M., Gnankine O., Namountougou M., Soma D. D., Drabo S. F., Romba R., Bassolé I.H. N. and Dabire R. K. (2022). Excito-repellent activity of five essential oils extracted from local plants against dengue and malaria vectors in Burkina Faso. (Soumis à *Biologia*).

B. Publications issus d'autres travaux de recherche

Articles publiés

- 1-Namountougou M., Soma D. D., Kientega M., **Balboné M.**, Kaboré D. P. A., Drabo S., Coulibaly A. Y., Fournet F., Baldet T., Diabaté A., Dabiré R. K., Gnankine O. 2019. Insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* complex populations from Burkina Faso, West Africa. *Acta Tropica*, 197:105054, 9 p.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105054>.
- 2-Namountougou M., Soma D. D., **Balboné M.**, Kaboré D. A., Kientega M., Hien A., ... & Dabiré R. K. (2020). Monitoring insecticide susceptibility in *Aedes Aegypti* populations from the two biggest cities, Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, in Burkina Faso: implication of metabolic resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(2), 84.
<https://doi.org/10.3390/tropicalmed5020084>.
- 3-Drabo F. S., Coulibaly A. Y., Romba R., **Balboné Mahamoudou**, & Gnankiné O. (2019). Biochemical resistance to insecticide in *Bemisia tabaci* field population from Burkina Faso, West Africa. *Phytoparasitica*, 47(5), 671-681. doi. 10.1007/s12600-019-00765-8.
- 4-Namountougou M., Soma D. D., Sangare I., Djouaka R., Hien A. S., Kientega M., Kaboré D. P. A., Sawadogo S. P., Millogo A. A., **Balboné M.**, Baldet T., Ouédraogo J., Martin T., Simard F., Ouédraogo G. A., Diabaté A., Gnankine O. and Dabiré R. K. (2022). Use of different cotton pest control strategies (conventional, organic and transgenic) had no impact on insecticide resistance in *Anopheles gambiae* sl populations in Burkina Faso, West Africa. *International Journal of Pest Management*, 1-12.
doi.org/10.1080/09670874.2022.2051642.

Communications scientifiques

Communications des travaux de la thèse

Mahamoudou Balboné, Dieudonné Diloma Soma, Samuel F. Drabo, Hamadou Konaté, Oumarou Toe, Koama Bayili, Georges B. Meda, Moussa Namountougou, Roch K. Dabire, Olivier Gnankine. Activité larvicide des huiles essentielles de cinq plantes

aromatiques locales contre *Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae), dans l'Ouest du Burkina Faso. IX^e Journées Burkinabè de Parasitologie, du 02 au 04 juin au Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso (Communication affichée).

Mahamoudou Balboné, Dieudonné Diloma Soma, Samuel F. Drabo, Hamadou Konaté, Oumarou Toe, Koama Bayili, Georges B. Meda, Moussa Namountougou, Roch K. Dabire, Olivier Gnankine. Activité larvicide des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques locales contre *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae), dans l'Ouest du Burkina Faso. Doctoriales 2022 de l'Université Joseph KI-ZERBO, du 02 au 04 juin à l'Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso (Communication orale).

Mahamoudou Balboné, Dieudonné D. Soma, Ignace Sawadogo, Samuel F. Drabo, Moussa Namountougou, Koama Bayili, Rahim Roamba, Honorat C. R. Nebié⁴, Imaël H. N. Bassolé, Roch K. Dabire, Olivier Gnankine. Huiles essentielles de plantes et leurs combinaisons comme adulticides alternatifs contre *Anopheles gambiae* (Diptera : Culicidae). Journées Scientifiques de l'IRSS, 2^e édition du 20 au 22 octobre à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso (Communication orale).

Mahamoudou Balboné, Dieudonné Diloma Soma, Samuel F. Drabo, Hamadou Konaté, Oumarou Toe, Koama Bayili, Georges B. Meda, Moussa Namountougou, Roch K. Dabire, Olivier Gnankine. Activité larvicide des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques locales contre *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae), dans l'Ouest du Burkina Faso. Colloque Internationale Sciences et Technologies de l'Université Nobert Zongo, 2^e édition, du 21 au 23 novembre 2022 à l'Université Nobert Zongo, Koudougou, Burkina Faso (Communication orale).

Résumé

Le paludisme et la dengue sont les deux principales maladies vectorielles transmises respectivement par les genres *Anopheles* et *Aedes*. La lutte antivectorielle (LAV) est basée essentiellement sur l'utilisation d'insecticides de synthèse à partir de produits chimiques. La prolifération des molécules insecticides et le développement de la résistance de ces vecteurs aux insecticides de synthèse suscitent un intérêt de rechercher des outils innovants comme ceux basés sur les produits naturels extraits de plantes à propriété insecticide, comme les huiles essentielles (HE) qui peuvent constituer une alternative aux insecticides chimiques. L'objectif de cette thèse est d'étudier les activités larvicides, adulticides et répulsives-irritantes des HE de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum* seules et en combinaison sur les populations de *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso et *An. gambiae* de la Vallée du Kou (VK) dans l'Ouest du Burkina Faso selon les protocoles de l'OMS (2017). Les composés chimiques des HE extraites de ces 5 plantes ont été identifiés par GC-MS. L'HE de *L. multiflora* dont les composés majeurs sont le β -caryophyllène, le p-cymène, l'acétate de thymol et le 1,8 cinéol est la plus toxique sur les larves de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* avec une activité proche du pyriproxifène, contrôle positif sur les larves. La population de *An. gambiae* a été plus sensible aux HE testées que celle de *Ae. aegypti*. Concernant les tests adulticides, l'HE de *L. multiflora* et les combinaisons constituées de *C. nardus* : 80% et *O. americanum* : 20% (C8) et *C. nardus* : 90% et *O. americanum* : 10% (C9) sur *An. gambiae* et *C. nardus* : 20% et *O. americanum* : 80% (C2), C8 et C9 sur *Ae. aegypti*, ont été les plus toxiques. Aussi, les combinaisons C9 et C8 ont donné des effets synergiques respectivement sur *An. gambiae* de VK et *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso. En plus, les combinaisons C9 et C2 ont donné des effets additionnels sur *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso.

Les HE de *C. citratus*, *C. nardus* et *E. camaldulensis* ont produit des effets répulsifs irritants de contact très proches de ceux du DEET sur *An. gambiae* et *Ae. aegypti*.

L'HE de *L. multiflora* et les combinaisons C8 et C9 de *C. nardus* et de *O. americanum* pourraient être utilisées comme bio insecticides alternatifs aux insecticides chimiques dans la LAV. Les données de cette thèse sont précieuses et contribueront sans doute à l'amélioration du dispositif de lutte antivectorielle contre ces espèces de moustiques au Burkina Faso.

Mots clés : *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae*, Huile essentielle, combinaison, Lutte antivectorielle

Abstract

Malaria and dengue fever are the two main vector diseases transmitted by *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti* respectively. Vector Control is based mainly on the use of chemicals. Concern for environmental safety and the development of chemical resistance in these vectors has led to an interest in investigating innovative tools, including plant-based insecticides as alternatives to chemical insecticides.

The thesis aimed at evaluating larvicides, adulticides and repellent-irritant of 5 essential oils namely *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* and *Ocimum americanum* alone or in combinations on populations of Bobo-Dioulasso *Ae. aegypti* and “Vallée du Kou” *An. gambiae* collected in western Burkina Faso according to WHO protocols. As results, the EO of *L. multiflora* whose major compounds were β -caryophyllene, p-cymene, thymol acetate and 1,8-cineole were more toxic against larvae of *Ae. aegypti* and *An. gambiae* and their activity was close to Pyriproxyfen (The positive control). In terms of adulticides tests, *L. multiflora* EO and combinations of C8 (*C. nardus*: 80% and *O. americanum*: 20%) and C9 (*C. nardus*: 90% and *O. americanum*: 10%) on *An. gambiae* and C2 (*C. nardus*: 20% and *O. americanum*: 80%), C8 and C9 on *Ae. aegypti* were the most toxic. The combinations C9 and C8 gave synergistic effects on *An. gambiae* from the “Vallée du Kou” and *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso respectively. The combinations C9 and C2 gave additional effects on *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso. The EOs of *C. citratus*, *C. nardus* and *E. camaldulensis* produced contact irritant repellent effects very similar to those of DEET on *An. gambiae*. On *Ae. aegypti*, the EOs of *C. citratus*, *O. americanum* and *E. camaldulensis* were very close to DEET. *L. multiflora* and combinations of C8 and C9 of *C. nardus* and *O. americanum* could be used as alternative insecticides to chemical insecticides in vector control. The data of this thesis are valuable and will undoubtedly contribute to the improvement of the vector control strategies against these mosquitos' species in Burkina Faso.

Key words: *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae*, essential oil, combination, vector control

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies infectieuses causées par des parasites, des virus ou des bactéries qui sont transmis par des vecteurs (OMS, 2020). Ces maladies à transmission vectorielle sont la dengue, la fièvre jaune, l'encéphalite japonaise, la leishmaniose, la maladie de Chagas, l'onchocercose, le paludisme, la schistosomiase et la trypanosomiase humaine africaine. Elles sont responsables de plus de 17% des maladies infectieuses et provoquent plus d'un million de décès par an dans le monde (OMS, 2021a).

Parmi les maladies à transmission vectorielle, le paludisme et la dengue sont les plus répandues. Au cours de la dernière décennie, l'incidence mondiale et la mortalité dues au paludisme ont considérablement diminué. En revanche, l'incidence mondiale de la dengue est en pleine croissance (OMS, 2020). Ces deux grandes maladies à transmission vectorielle ont approximativement les mêmes symptômes à telle enseigne que certains ont nommé la dengue « palu-dengue ».

Le paludisme est une maladie potentiellement mortelle causée par des parasites transmis aux hommes par des piqûres de moustiques femelles, du genre *Anopheles*, infectés. Parmi les nombreuses espèces de *Anopheles*, seulement une vingtaine assurent la transmission du paludisme dans le monde (Pagès, Orlandi-Pradines et Corbel, 2007). En 2019, le nombre de cas de paludisme dans le monde a été estimé à 229 millions et le nombre estimé de décès imputables à cette maladie à transmission vectorielle s'élevait à 409.000 (OMS, 2020). Et de surcroît, ce sont les enfants âgés de moins de cinq ans et les femmes enceintes qui constituent le groupe le plus vulnérable touché par cette maladie. En effet, 67 % des décès dus au paludisme dans le monde concernent les enfants âgés de moins de cinq ans (OMS, 2021a). Selon le Bulletin épidémiologique, le Burkina Faso a enregistré en 2021, plus de 12 millions de cas dans les établissements sanitaires avec 605.504 cas de paludisme grave et 4.355 décès (Ministère de la Santé du Burkina Faso, 2022).

Quant à la dengue, elle est une infection virale transmise à l'être humain par la piqûre de moustiques femelles, du genre *Aedes*, infectés. Les principaux vecteurs de cette maladie sont les moustiques de l'espèce *Aedes aegypti* et dans une moindre mesure *Aedes albopictus* (OMS, 2022a). Selon Bhatt *et al.* (2013), on compterait dans le monde 390 millions de cas de dengue par an, dont 96 millions présentent des manifestations cliniques (quelle que soit la gravité de la maladie). Une autre étude sur la prévalence de la dengue avait estimé que 3,9 milliards de

personnes dans 128 pays étaient exposées à l'infection par les virus de la dengue (Brady *et al.*, 2012). Le nombre de cas de dengue notifiés dans le monde a atteint son maximum en 2019 et toutes les Régions de l'OMS ont été touchées (OMS, 2021a).

Au Burkina Faso, une augmentation de l'incidence hebdomadaire de cas de dengue a été constatée à partir de la 31^{ème} semaine de l'année 2017 (Ministère de la Santé du Burkina Faso, 2017).

La lutte contre les maladies à transmission vectorielle humaine repose principalement sur l'utilisation des Moustiquaires Imprégnées d'insecticide à Longue Durée d'Action (MILDA) et dans une moindre mesure sur la Pulvérisation Intra Domiciliaire (PID) d'insecticides à effet rémanent pour réduire le contact homme-vecteur et/ou diminuer la population vectrice (OMS, 2021b). Par ailleurs, les insecticides anciennement utilisés en santé publique pour l'imprégnation des moustiquaires sont de la famille des pyréthriinoïdes (Zaim, Aitio et Nakashima, 2000). En effet, ils présentent des propriétés physico-chimiques nécessaires pour protéger à la fois l'utilisateur de la moustiquaire et avoir un impact au niveau communautaire (Henry *et al.*, 2005 ; Fegan *et al.*, 2007). Les pyréthriinoïdes à faible dose sont inoffensifs pour l'homme, agissent très rapidement sur les moustiques (effet Knock down) et présentent un effet excito-répulsif (Zaim, Aitio et Nakashima, 2000). Cet effet excito-répulsif empêche le moustique de rester suffisamment longtemps au même endroit sur la moustiquaire pour pouvoir piquer en cas de contact entre le dormeur et la moustiquaire pendant son sommeil. Malheureusement, l'émergence de la résistance aux pyréthriinoïdes chez les vecteurs du paludisme constitue une menace à l'encontre des stratégies de lutte utilisées par les Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme (Ranson et Lissenden, 2016). En effet, des études antérieures avaient rapporté la résistance des vecteurs du paludisme aux insecticides chimiques (Chandre *et al.*, 1999; Diabate *et al.*, 2002; Namountougou *et al.*, 2019). Aussi, plusieurs études ont signalé une résistance aux insecticides chez les vecteurs de la dengue dans le monde entier, notamment en Inde (Bharati & Saha, 2018), au Brésil (de Araújo *et al.*, 2019), en Malaisie (Ishak *et al.*, 2017), au Laos (Marcombe *et al.*, 2019), au Myanmar (Kawada *et al.*, 2014), en Afrique (Kamgang *et al.*, 2011; Kawada *et al.*, 2016), et particulièrement au Burkina Faso (Badolo *et al.*, 2019; Sombié *et al.*, 2019; Namountougou *et al.*, 2020, Toé *et al.*, 2022).

Face à l'émergence de la résistance aux insecticides chimiques qui a réduit l'efficacité des outils actuels de lutte antivectorielle, les recherches sont dirigées de plus en plus sur d'autres

formes de lutttes qui peuvent être des alternatives efficaces contre les moustiques vecteurs de maladie (Vani, Cheng et Chuah, 2009; Ileke et *al.*, 2015). En effet, plusieurs stratégies alternatives et/ou complémentaires sont envisagées afin de contourner les mécanismes de résistance. Parmi ces moyens complémentaires, nous avons les insecticides biologiques notamment les extraits naturels de plantes.

Les extraits naturels de plantes offrent l'avantage de provoquer très peu de résistance contrairement aux insecticides synthétiques, car leur efficacité provient d'une synergie d'action entre les différents composés organiques qu'ils contiennent (Pavela, 2014 ; Deletre et *al.*, 2015). Les huiles essentielles (HE) étant biodégradables et peu toxiques pour les mammifères, elles font partie des produits d'origine naturelle les plus employés dans la lutte antivectorielle (LAV) (Deletre et *al.*, 2013). En effet, elles possèdent des propriétés insecticides et répulsives (Deletre et *al.*, 2016; Pohlit et *al.*, 2011).

Au Burkina Faso où les vecteurs du paludisme ont une activité surtout nocturne, les hommes reçoivent un nombre important de piqûres, environ 15% des piqûres des moustiques du genre *Anopheles* intervenant entre 18 et 20 heures (Badolo et *al.*, 2004). Le moustique de l'espèce *Ae. aegypti* se nourrit le jour ; il pique principalement tôt le matin, ainsi que le soir avant le coucher du soleil (Trpis et *al.*, 1973). Cette situation nécessite l'usage de moyens complémentaires comme les répulsifs pour prévenir les piqûres de moustiques avant de se retrouver sous la moustiquaire.

En effet, des évaluations quantitatives récentes indiquent que la lutte contre les larves peut entraîner des réductions plus importantes que prévues de la transmission des agents pathogènes dans certaines circonstances (Smith et *al.*, 2013; Ouédraogo et *al.*, 2018). Par conséquent, cibler les moustiques vecteurs au stade larvaire demeure une des meilleures alternatives, car les larves sont relativement confinées dans des sites de reproduction souvent accessibles ; elles sont donc plus vulnérables par rapport aux moustiques adultes (Tomé et *al.*, 2014).

Toutefois, au Burkina Faso, les études menées sur l'activité insecticide des extraits végétaux vis-à-vis des moustiques est en plein essor avec des travaux déjà menés par Bassolé et *al.* (2003), Gnankiné et Bassolé (2017), Yameogo et *al.* (2021) et récemment Wangrawa et *al.*(2022a; 2022b). Mais ces études n'ont pas concerné les populations de moustiques de la partie occidentale du pays. Aussi, ces études ne se sont pas intéressées aux effets combinés et répulsifs des HE sur les populations de moustiques.

Les travaux de notre thèse s'inscrivent dans un contexte de recherche de nouvelles stratégies de lutte antivectorielle et ont été initiés dans le but d'acquérir de meilleures connaissances sur les effets insecticides et répulsifs irritants de contact des huiles essentielles (HE) et des combinaisons d'HE sur des vecteurs du paludisme et de la dengue.

Nos travaux ont pour objectif principal d'examiner l'efficacité entomologique des HE de cinq (5) plantes locales, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lyppia multiflora*, *Ocimum americanum*, et des combinaisons des HE de deux plantes, *Cymbopogon nardus* et *Ocimum americanum* en vue d'une meilleure gestion de la résistance de *An. gambiae* s.l., responsable de la transmission du parasite du paludisme et de *Ae. aegypti*, vecteur du virus de la dengue au Burkina Faso.

De façon spécifique, nous avons d'abord évalué l'efficacité larvicide et adulticide des HE de ces plantes sur des populations de moustiques de *An. gambiae* collectées au niveau de la Vallée du Kou (VK) et de *Ae. aegypti* collectées à Bobo-Dioulasso.

Ensuite, nous avons examiné le renforcement de l'efficacité insecticide de différentes combinaisons des HE de deux (2) des plantes sur les adultes des mêmes populations de moustiques de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*.

Enfin, nous avons évalué l'effet répulsif irritant de contact des HE de ces cinq (5) plantes locales sur les adultes des mêmes populations de moustiques de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*.

Les hypothèses de recherche suivantes ont été émises :

- Les HE des plantes de *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* et de *O. americanum* ont des propriétés larvicides ;
- Ces HE sont des adulticides efficaces contre les moustiques vecteurs de la dengue et du paludisme ;
- Ces HE sont des répulsifs de contact contre les vecteurs de la dengue et du paludisme ;
- Les combinaisons de deux HE améliorent l'efficacité de ces HE.

Le présent document est structuré en trois parties et est basé sur les différentes publications relatives aux travaux de recherche liés à notre thèse.

○ La première partie intitulée « **Revue bibliographique** » présente les connaissances sur la classification et la bio-écologie des vecteurs de la dengue et du paludisme. Nous y évoquons également les mécanismes de résistance des vecteurs de ces deux maladies à transmission

vectérielles aux insecticides chimiques et les stratégies de LAV utilisées ou en développement. Enfin, nous évoquons les informations sur les répulsifs et les HE.

- La deuxième partie nommée « **Méthodologie générale** » présente le matériel et les méthodes utilisées aux laboratoires et sur le terrain depuis la collecte larvaire jusqu'aux différents tests réalisés.

- La troisième partie intitulée « **Résultats et Discussion** » subdivisée en trois chapitres présente les résultats des différents travaux effectués dans le cadre de cette thèse. Chaque chapitre est structuré en introduction, méthodologie spécifique utilisée, résultats, discussion et conclusion partielle. Ces trois (3) chapitres sont articulés autour des articles publiés ou en cours de préparation.

Nous terminons par une **Discussion générale, une Conclusion générale et des Perspectives** à nos travaux.

PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1- 1. Vecteurs du paludisme et de la dengue

1- 1.1. Classification

Les moustiques constituent l'une des plus importantes familles de vecteurs d'agents pathogènes appartenant à la classe des insectes. (Duvallet, Fontenille et Robert, 2017). Parmi ces vecteurs nous avons les *Anopheles*, vecteurs de *Plasmodium* sp, parasites responsables du paludisme et les *Aedes*, vecteurs de *Flavivirus* (DENV), virus de la dengue. Ces vecteurs sont des arthropodes appartenant au :

- Règne : *Animalia*
- Sous-règne : *Metazoa*
- Phylum : *Arthropoda* (= pattes et appendices articulés)
- Classe : *Insecta* (= corps segmenté en trois parties)
- Ordre : *Diptera* (= une paire d'ailes)
- Sous-ordre : *Nematocera* (= avec antennes rondes et longues)
- Famille : *Culicidae* (= moustique)
 - Sous-famille : *Anophelinae* (Anophèles)
 - Sous-famille : *Culicinae* (*Aedes*)
 - Genre : *Anopheles*, *Aedes*.

Le genre *Anopheles*, vecteur du paludisme, comporte plus de 400 espèces mais seulement une trentaine assure, avec une efficacité importante, la transmission des *Plasmodium* humains dans le monde (Sinka et al., 2010; Sinka et al., 2012; OMS, 2020). En Afrique subsaharienne, les vecteurs du paludisme appartiennent majoritairement au complexe *Anopheles gambiae s.l.* (Figure 1A) (9 espèces dont trois vecteurs principaux : *An. coluzzii*, *An. gambiae* et *An. arabiensis*), groupe *An. funestus* (neuf espèces dont deux vectrices : *An. funestus s.s.* et *An. rivulorum*) et *An. nili* (quatre espèces dont trois vecteurs principaux : *An. nili s.s.*, *An. carnevalei* et *An. ovengensis*) (Carnevale et Robert, 2009; Sinka et al., 2012; Soma et al., 2020). Certaines espèces de *Anopheles* jouent également un rôle en santé animale en assurant la transmission de *Plasmodium* de mammifères, notamment de rongeurs, et de filaires animales (Carnevale et Robert, 2009). D'autres sont impliquées dans la transmission de virus animaux tels que ceux de la myxomatose et de la fièvre de la Vallée du Rift (ANSES, 2020).

Le genre *Aedes*, vecteur des arboviroses, regroupe actuellement 263 espèces en 21 sous-genres (Harbach, 2007). Le sous-genre *Stegomyia* héberge de nombreuses espèces vectrices d'arboviroses humaines dont *Aedes aegypti* (Figure 1B) vecteur de la dengue et dans une moindre mesure, *Aedes albopictus* (OMS, 2020b). *Aedes aegypti* est aussi vecteur de l'infection à Zika, du chikungunya et de la fièvre jaune (OMS, 2022).



A : *Anopheles gambiae*. Foto: James Gathany, Scientific Photographer, Center for Disease Control, U.S. Department of Health & Human Services . www.cdc.gov www.vectorbase.org



B : *Aedes aegypti*. *Tis.re/[Projet] TIS 2B – Technique de l’Insecte Stérile* © IRD - Nil Rahola

Figure 1: Images de moustiques A et B

1- 1.2. Cycle de développement des moustiques

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète ou holométaboles. Leur cycle de développement (Figures 2 et 3), comme chez tous les insectes diptères, est un cycle biphasique qui se déroule en quatre stades (l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte). Le temps de développement de chaque stade dépend de la température de l'eau et d'autres facteurs.

1- 1.2.1. Phase pré-imaginale

La phase pré-imaginale qui se déroule en milieu aquatique regroupe le stade œuf, le stade larvaire et le stade nymphal.

○ Les œufs

Les femelles des moustiques (*Anophèles* et *Aedes*) ne s'accouplent qu'une seule fois au cours de leur vie et peuvent continuer à pondre pendant toute leur vie. La plupart des femelles

pondent 1 à 3 fois, mais certaines peuvent pondre jusqu'à 5 à 7 fois (OMS, 2014). Pour la maturation des œufs, les femelles prennent un repas de sang. Les œufs des moustiques mesurent environ 1 millimètre de long. Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent.

Les œufs des moustiques comprennent 3 membranes : la membrane interne qui entoure le vitellus et l'embryon ; la membrane intermédiaire ou endochorion et la troisième membrane ou exochorion.

En fonction des espèces de moustiques, nous avons une variété bien déterminée de gîtes aquatiques pour la ponte :

- Chez les *Anopheles*, les œufs sont pondus isolément à la surface de l'eau 100 à 150 œufs et sont munis de flotteurs latéraux qui les rendent insubmersibles. Les anophèles pondent dans les petites quantités d'eau, dans des empreintes de pas, des flaques d'eau de pluie ou collections plus grandes comme des rivières, canaux, marécages, lacs, rizières, etc.
- Chez les *Aedes*, les œufs sont pondus isolément sur des supports humides à proximité immédiate de la surface de l'eau, ou à même le sol sec. Ces œufs doivent attendre d'être submergés pour éclore. L'éclosion se produit au bout de 36 à 48 heures après la ponte, dès que l'embryon est entièrement développé. Ce délai est allongé lorsque la température diminue (Carnevale et Robert, 2009). Les *Aedes* pondent préférentiellement dans les pneus usagés, les fûts récupérateurs d'eau, les pots de fleurs, les bouteilles ou les tasses jetés, etc.

○ **Les larves**

Les larves de moustiques ressemblent à des vers et sont dépourvues de pattes et d'ailes. Le corps de la larve comporte 3 parties : la tête, le thorax et l'abdomen avec une croissance discontinue en quatre stades dits L1, L2, L3 et L4 morphologiquement comparables séparés par trois (3) mues. Le premier stade correspond à la larve nouvellement éclos ou sorti de l'œuf. Après un jour ou deux, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le second stade, suivi par le troisième stade et le quatrième stade, à des intervalles d'environ deux jours chacun.

Les larves des moustiques sont le plus souvent détritivores mais certaines sont prédatrices ou même cannibales. Elles se nourrissent généralement par filtration, soit à la surface, soit au fond de l'eau et se déplacent par saccades.

Chez les *Anophelinae*, les larves respirent directement l'air extérieur par des stigmates dorsaux, ce qui leur impose une position de repos parallèle à la surface de l'eau donnant l'impression qu'elles flottent (Figure 4) tandis que celles des *Culicinae* respirent par un siphon situé à l'extrémité de l'abdomen et sont donc obliques par rapport à la surface de l'eau au repos (Figure 4).

Le développement larvaire a une durée variable dépendant de la température, de l'humidité et des nutriments retrouvés dans le milieu de vie (Carnevale et Robert, 2009).

- **Les nymphes**

La nymphe ou pupa est le stade pendant lequel une transformation majeure se produit : le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte.

Les nymphes ont la forme d'une virgule et restent généralement à la surface de l'eau (Figure 1) mais plongent lorsqu'elles sont dérangées, en déployant et reployant l'abdomen terminé par deux palettes natatoires. Elles ne peuvent pas se nourrir mais respirent à l'aide de deux trompettes situées sur le céphalothorax et non au bout de l'abdomen comme chez la larve. La durée de vie de la nymphe est courte, 1 à 2 jours généralement chez *Anopheles*. Chez *Aedes*, ce stade peut aller jusqu'à 3 jours. A la fin de ce stade, la nymphe subit des changements morphologiques aboutissant à la formation de l'adulte. En effet, au moment de l'émergence de l'adulte, en général la nuit, l'enveloppe de la nymphe se fend longitudinalement, le moustique adulte se gonfle d'air et s'extrait de l'exuvie à la surface de l'eau puis s'y repose temporairement jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler (OMS, 2014).

1- 1.2.2. La phase imaginale

La phase imaginale qui est aérienne concerne le stade adulte ailé ou imago. Le moustique adulte se gonfle d'air et s'extrait de l'exuvie (mue) à la surface de l'eau. Les moustiques adultes volent après avoir émergé puis s'accouplent. Les premiers jours de la vie imaginale sont caractérisés par le durcissement de la cuticule, la prise de repas sucré et la maturation des organes de reproduction sexuels. Une période de 24 heures est nécessaire à la femelle pour que ses pièces buccales soient assez rigides pour pouvoir percer l'épiderme des hôtes vertébrés et prendre un repas de sang. Tous les adultes des moustiques s'alimentent de nectars ou du jus sucrés des fleurs

afin de couvrir leurs besoins énergétiques. Les mâles deviennent fertiles après 3 jours de vie imaginaire et contrairement aux femelles, ils peuvent s'accoupler plus d'une fois.

Plusieurs caractéristiques permettent de distinguer les moustiques adultes du genre *Anopheles* à ceux du genre *Aedes*.

- Les moustiques du genre *Anopheles* n'ont pas d'écailles sur leur abdomen.

Les palpes sont aussi longs que la trompe chez la femelle ou renflés à leur extrémité chez le mâle. Les Anophèles se développent dans des eaux calmes, douces, rarement dans des gîtes de petites dimensions. Les femelles piquent généralement à partir du crépuscule. Au repos, l'adulte des *Anophelinae* a son abdomen maintenu à un certain angle par rapport à la surface sur laquelle il se pose et forme une ligne droite avec la trompe. Au repos, les Anophèles adoptent généralement une position oblique par rapport au support, les différenciant facilement des autres *Culicinae* qui se positionnent parallèlement au support (Figure 4).

- Les moustiques du genre *Aedes* ont des écailles sur l'abdomen et des soies insérées en arrière des spiracles antérieurs. Les femelles ont des palpes plus courts que la trompe et des crèques apparents à l'extrémité de l'abdomen. Les plus dangereux, *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*, se développent dans des gîtes créés par l'homme (récipients de stockage d'eau abandonnés autour des maisons et les pneus au rebut) (OMS, 2014).

Le cycle gonotrophique se caractérise premièrement par la recherche de l'hôte pour le repas sanguin, suivi de l'ingestion et la digestion du sang accompagnées de la maturation des follicules ovariens. Pendant cette phase, le moustique est moins actif. La femelle gravide achève ce cycle par la recherche d'un site d'oviposition.

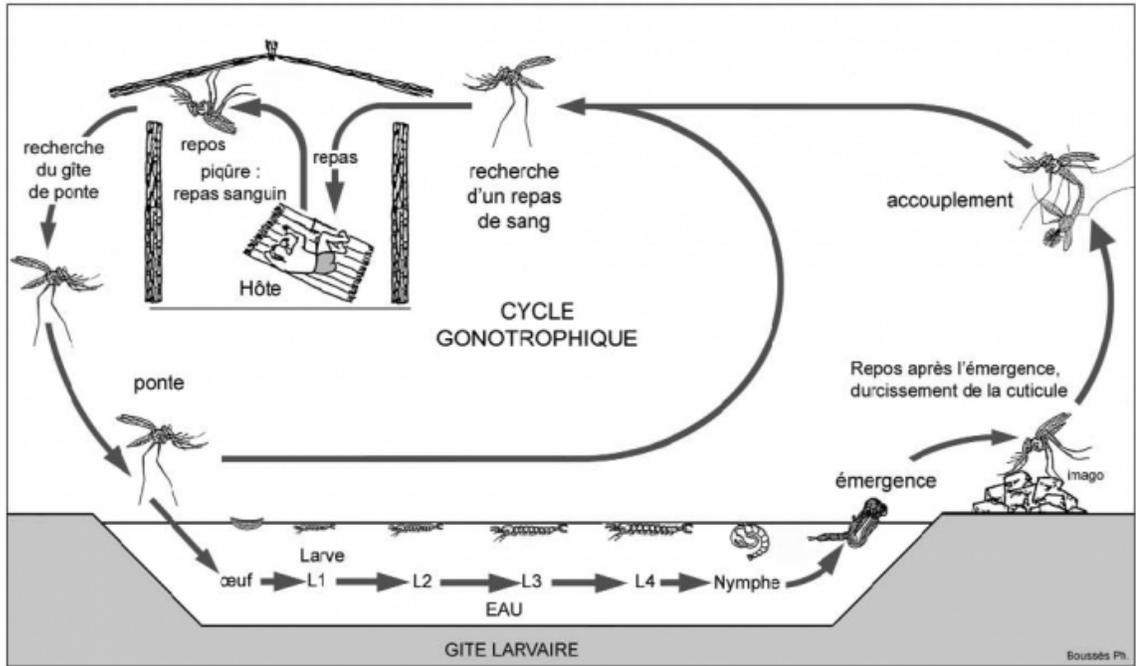


Figure 2: Cycle biologique de l'anophèle (Carnevale et al., 2009)

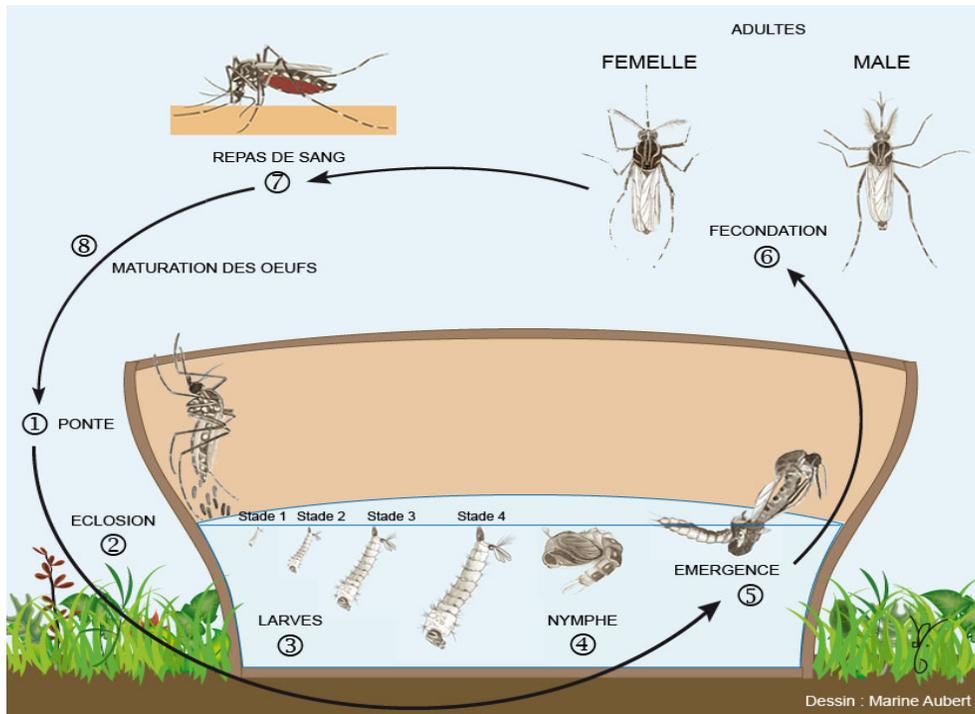


Figure 3: Cycle de développement des moustiques (<http://www.institutpasteur.nc/les-moustiques-et-la-dengue/>)

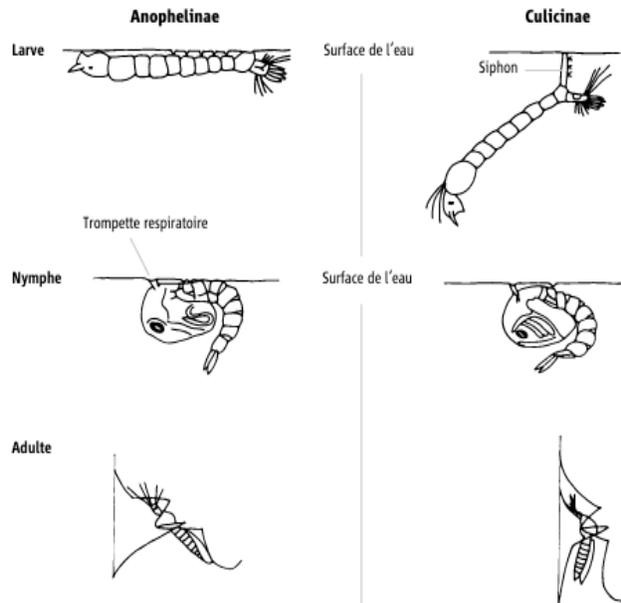


Figure 4: Comparaison des Anophelinae et Culicinae (OMS 2013)

1- 1.3. Répartition géographique mondiale des moustiques *Aedes aegypti* et *Anopheles gambiae*

Historiquement, les moustiques se sont toujours déplacés au gré des migrations humaines, de leurs habitats d'origine en Afrique et en Asie au reste du monde. Au cours des prochaines années, le changement climatique leur permettra de se déplacer encore davantage, y compris dans des zones qu'ils n'avaient pas encore colonisées.

○ **Cas de *Aedes aegypti***

Le commerce des pneus usagés, qui constituent l'un des principaux gîtes larvaires artificiels, a joué un rôle important. Ajoutons que *Ae. aegypti* est essentiellement urbain. Son caractère anthropophile (qui aime les lieux habités par l'homme) explique qu'une fois installé dans une zone, il est pratiquement impossible de s'en débarrasser.

La carte montrant la distribution mondiale prédite pour *Ae. aegypti* est présentée dans la Figure 5. *Ae. aegypti* est principalement présente dans les régions tropicales et subtropicales, avec des concentrations dans le nord du Brésil et dans le sud-est de l'Asie, y compris toute l'Inde, mais

avec relativement peu de zones propices en Europe (uniquement en Espagne et en Grèce) et en Amérique du Nord tempérée (Kraemer et *al.*, 2015).

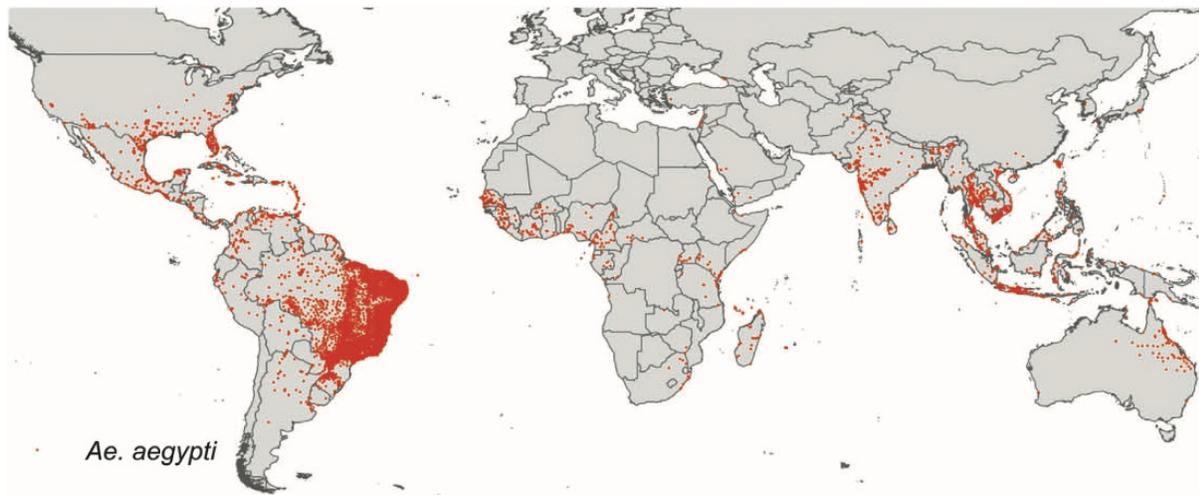


Figure 5: Répartition géographique mondiale de *Aedes aegypti* (Kraemer et *al.*, 2015).

- **Cas de *Anopheles gambiae***

La Figure 6 représente la carte montrant la distribution mondiale pour *An. gambiae*. Dans les conditions climatiques actuelles, les zones potentiellement favorables à *An. gambiae* sont principalement situées près de l'équateur, comprenant le centre et le nord de l'Amérique du Sud, une fraction des zones proches de l'équateur en Amérique du Nord, le centre et le sud de l'Afrique, certaines régions tropicales du sud de l'Asie et de petites zones en Océanie (Li et *al.*, 2021). Les zones hautement et moyennement appropriées étaient principalement distribuées en Afrique centrale et australe (y compris la Gambie, le Ghana, le Nigeria, l'Afrique centrale, le Soudan, Madagascar, le Mozambique); en Asie du Sud et du Sud-Est (y compris la côte sud-ouest de l'Inde, la Thaïlande, le Cambodge et le Vietnam); dans les parties les plus occidentales, les plus orientales et les plus septentrionales de l'Amérique du Sud (Est du Brésil, Équateur, Venezuela) ; et sur la côte Nord de l'Australie (Li et *al.*, 2021). Les zones faiblement adaptées étaient principalement distribuées le long de la côte sud-ouest de l'Amérique du Nord (y compris le Mexique et le Nicaragua), le centre de l'Amérique du Sud (y compris le Brésil), le Sud de

l'Afrique (y compris l'Angola, la Zambie, le Zimbabwe et l'Afrique du Sud), le Centre de l'Inde et le Laos en Asie, et la côte Ouest et Nord de l'Australie (Li et *al.*, 2021).

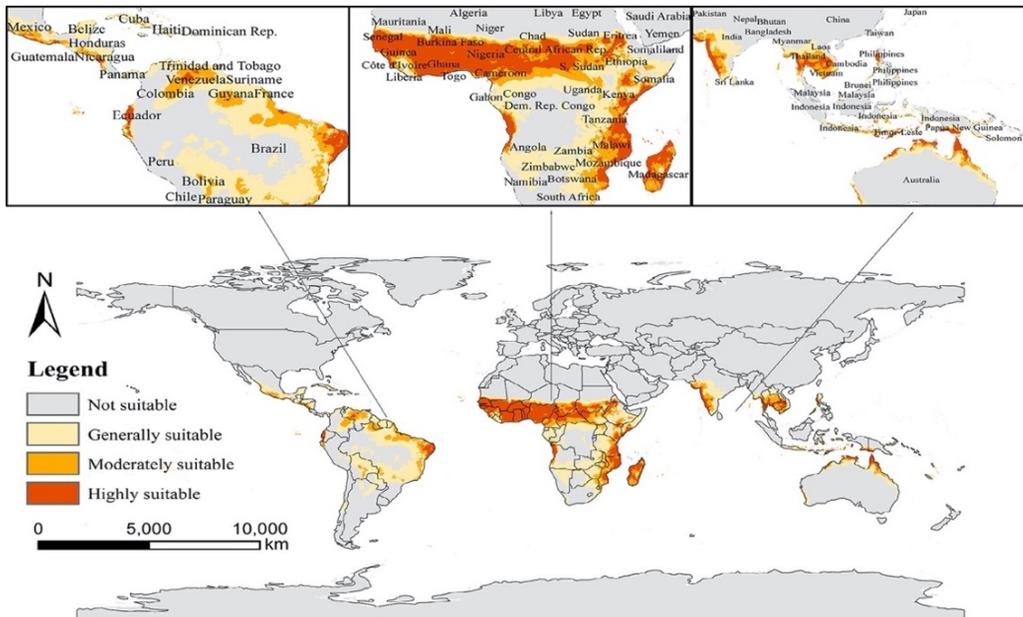


Figure 6: Distributions potentielles de *Anopheles gambiae* dans les conditions climatiques actuelles (Li et *al.*, 2021).

1- 1.4. Écologie et comportement des moustiques

La biologie des adultes des moustiques est caractérisée par deux principales phases qui sont l'alimentation et la reproduction. Le cycle de reproduction étant conditionné par le repas sanguin chez les femelles, entraîne leur dispersion à la recherche successive de l'hôte vertébré, du site de repos et du gîte de ponte. L'ensemble de ces comportements définit ce qu'on appelle le « cycle gonotrophique » qui ne concerne que la femelle, hématoophage (se nourrissant de sang) car le mâle se nourrit exclusivement de jus sucré et n'est pas hématoophage. En effet, le repas sanguin sert pour la maturation des œufs chez les femelles paires.

L'accouplement (2 à 3 jours après l'émergence, avant ou après le premier repas de sang) est souvent précédé d'un essaimage de mâles observables au-dessus de plusieurs marqueurs

physiques (Sawadogo et *al.*, 2013). L'accouplement peut se dérouler entièrement pendant le vol ou débiter pendant le vol et s'achever lorsque le couple est au sol. Il aboutit au stockage du sperme dans la spermathèque de la femelle. Les femelles sont attirées dans les essaims par des stimuli optique, olfactif (phéromone) et auditif tandis que les mâles sont attirés par la fréquence de vibration des ailes de la femelle (Carnevale et Robert 2009).

Une légère différence de comportement trophique s'observe chez les deux types de moustiques. L'espèce *Ae. aegypti*, étroitement liée à l'homme à cause de la nature anthropisée de ses gîtes, présente une anthropophilie relativement exclusive. Quant au vecteur du paludisme, *An. gambiae*, il est très fortement anthropophile et endophages, mais l'abondance locale du bétail ou la mise en place de méthodes de lutte contribue à moduler ce comportement (Boussès et Granouillac, 2011). Les deux espèces de moustiques peuvent piquer aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations. *Ae. aegypti* pique principalement pendant la journée et *An. gambiae* pique généralement la nuit, du crépuscule à l'aube. Après son repas sanguin, les femelles de *Ae. aegypti* comme celle de *An. gambiae* peuvent se reposer aussi bien à l'intérieur (endophilie) qu'à l'extérieur (exophilie) des habitations. En milieu urbain, l'endophilie semble plus prononcée.

Les gîtes de ponte de *An. gambiae* sont très variés et constitués généralement de petites collections d'eau temporaires dépendant des pluies, peu profondes et ensoleillées dans lesquelles la végétation est absente : empreintes de pas, de sabots ou de roue, trous d'emprunt de terre, marécages partiellement drainés, flaques résiduelles à la décrue des cours d'eau, etc. *An. gambiae* disparaît pendant la saison sèche, dans les zones de savane et réapparaît en grand nombre dès les premières pluies (Boussès et Granouillac, 2011; Lehmann et *al.*, 2014).

Les gîtes de ponte de *Ae. aegypti* sont des réservoirs artificiels créés par l'Homme : vases, soucoupes des fleurs, récipients de stockage des eaux de pluies, bidons, gouttières, gobelets en plastique usagés, bouchons de bouteilles. Ces gîtes sont appréciés des *Aedes*, car ils contiennent généralement de l'eau stagnante et claire (peu polluée) (Carnevale et Robert, 2009). C'est pourquoi ils se déplacent peu, et restent souvent à proximité des habitations, dans lesquelles ils rentrent pour piquer ou se reposer (Carnevale et Robert, 2009). La capacité à piquer à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des habitations, et aussi la nature essentiellement diurne de l'activité de piqûre de *Ae. aegypti* constituent d'ailleurs une véritable difficulté à surmonter pour la mise en place de stratégies efficaces de lutte contre le vecteur de la dengue.

1- 1.5. Les conséquences du repas sanguine des femelles de *Aedes* et de *Anopheles*

Le moustique femelle lors de son repas de sang, pique une personne, il lui injecte sa salive et aspire son sang.

Si cette personne auparavant était infecté par le virus de la dengue ou le plasmodium agent causal du paludisme, le moustique femelle aspire le sang contenant des virus de la dengue (DENV) ou des plasmodiums, selon qu'il soit de l'espèce *Ae. aegypti* ou *An. gambiae*. L'agent causal va se multiplier dans l'organisme du moustique puis s'accumuler dans ses glandes salivaires. Lors d'un repas de sang, ce moustique infectieux pique une personne (saine) et lui injecte sa salive contenant l'agent causal de la dengue ou du paludisme.

La continuité de ce cycle entretient l'expansion des maladies dont les vecteurs sont des moustiques.

1- 2. Méthodes de lutttes antivectorielle actuelles

La lutte antivectorielle est une composante importante de la prévention des maladies à transmission vectorielle.

Les stratégies de lutte anti vectorielle (LAV) ont trois (3) objectifs : la diminution du contact homme - vecteur, la lutte contre les moustiques adultes et la lutte contre les larves (OMS, 2014). Les deux derniers objectifs visent la diminution de la densité des vecteurs et la durée de vie des vecteurs adultes.

1- 2.1. La diminution du contact homme-vecteur

L'objectif majeur de ces outils de lutte est d'empêcher les vecteurs d'entrer en contact direct avec l'Homme (Duvallet, Fontenille et Robert, 2017). Cette barrière direct Homme-vecteur peut se faire par l'installation des barrières physiques. En effet, elles permettent la protection de l'individu contre les piqûres de moustiques. Parmi ces outils, nous avons : les vêtements, les tentes, les bâches, les moustiquaires, les rideaux, les grillages pour la protection des ouvertures des maisons et les répulsifs. La plupart de ces outils sont des barrières physiques direct Homme-vecteur. L'efficacité des barrières physiques a été renforcée par leur imprégnation aux insecticides pyréthrinoïdes qui procurent en plus un effet répulsif et létal (Darriet, 1998).

La moustiquaire imprégnée à longue durée d'action (MILDA) et la moustiquaire imprégnée d'insecticide (MII) agissent i) en protégeant la personne qui dort en dessous (niveau

individuel : protection personnelle) et ii) en étendant leur effet à l'ensemble d'une zone (niveau communautaire : effet de masse). La protection personnelle opère en évitant le contact entre le moustique et la personne qui se trouve sous la moustiquaire. Le succès des moustiquaires imprégnées d'insecticides (MII) fut observé dans les années 1980 avec l'utilisation d'insecticides de la famille des pyréthrinoïdes. L'efficacité résiduelle de la deltaméthrine et de la perméthrine a été évaluée par des bio essais en utilisant la souche *Aedes aegypti* à Bobo-Dioulasso (Hervy et Sales, 1980). Dans la MII, l'insecticide à effet rémanent constitue une barrière chimique qui renforce la barrière physique.

Un répulsif est une substance chimique naturelle très volatile capable de repousser tout animal nuisible pour l'homme. Les essences de certaines plantes sont utilisées pour chasser les moustiques (Paluch, Bartholomay et Coats, 2010 ; Rehman, Ali et Khan, 2014 ; Deletre et *al.*, 2013 ; Semmler et *al.*, 2014). Des répulsifs chimiques ont été développées pour renforcer le pouvoir de répulsion des substances naturelles (Semmler et *al.*, 2014). Ces répulsifs chimiques sont des molécules dérivées des principes actifs de plantes, telle que la pyréthrine, ou des molécules provenant des composés chimiques simples, tel que le DEET (N1, N-diéthyl-m-toluamide), IR35-35 (N-acétyl-N-butyl-β-alaninate d'éthyle), KBR3023 (Carboxylate de Sec-butyl 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1/Icaridine).

- La pyréthrine, de la famille chimique des pyréthrinoïdes, est efficace contre les piqûres de vecteurs de maladies (Banks et *al.*, 2014 ; Schreck et McGovern, 1989). Certes, les pyréthrinoïdes sont des insecticides, ils peuvent être répulsifs-irritants à de faibles concentrations. (ANSES, 2013).
- Le N,N-diéthyl-3-méthyl-benzamide (DEET) est un répulsif efficace à large spectre, utilisé comme actif principal ou unique dans de nombreuses formulations commerciales disponibles pour protéger les humains contre les piqûres d'arthropodes (Rutledge et *al.*, 1989 ; Fradin et Day, 2002; Katz, Miller et Hebert, 2008).
- L'icaridine, appelée aussi picaridine ou KBR3023, est une substance chimique peu nocive conçue en 1996 par les laboratoires allemands Bayer (Paluch et *al.*, 2010) pour pallier les effets secondaires du DEET (Lundwall et *al.*, 2005). Il est aussi efficace que le DEET contre les moustiques *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* et *An. gambiae* (Costantini et *al.*, 2004 ; Licciardi et *al.*, 2006). Il est l'un des répulsifs les plus utilisés dans le monde

et est recommandé par l'OMS en LAV, notamment dans les zones où le paludisme est endémique (Costantini, Badolo et Ilboudo-Sanogo, 2004).

- Insect Repellent 3535 (IR3535) ou éthyl butyl acétyl aminopropionate est plus efficace que le DEET sur certains vecteurs de maladies tels que les tiques (Boulanger et Lipsker, 2015) et les moustiques *An. gambiae* et *An. funestus* (Licciardi et al., 2006). Cependant, il est moins efficace sur *Ae. aegypti* que le DEET (Fradin et Day 2002).

1- 2.2. La diminution de la densité vectorielle

Afin de réduire la densité du vecteur, la lutte antivectorielle doit perturber le cycle de développement des moustiques ceci soit en agissant directement sur les œufs et les larves soit en visant les adultes ou indirectement en se concentrant sur leur milieu naturel et le rendant défavorable. Ils se présentent sous les trois formes de lutte : physique, chimique et biologique

1- 2.2.1. La Lutte biologique

La lutte biologique est définie comme l'utilisation de prédateurs, parasites ou pathogènes dans le biotope des larves ou des adultes de moustiques. Le lâcher de mâles stériles relève également de ce type de lutte lorsque le génome de ces moustiques n'est pas modifié (figure 7).

Les poissons larvivores comme le *Gambusia* et les insectes aquatiques entomophages (se nourrissent d'insectes) ou de certains microorganismes (bactérie, prédateurs, virus...) sont des prédateurs de larves de moustiques. En effet, *Gambusia affinis*, un poisson culiciphage, est très vorace (Bendali, Djebbar et Soltani, 2001) et a permis d'obtenir de bons résultats dans la lutte contre les larves de moustique du genre *Culex* (Lacey, 1990). Aussi, des espèces de poissons, telles que *Poecilia reticulata* et *Aplocheilus blochi* sont utilisées contre les larves d'anophèle (Duvallet, Fontenille et Robert, 2017). Également, des larves de Toxorhynchite, un Culicidae, sont des prédatrices de larves de *Aedes* (Rodhain et Perez, 1985). Cette prédation s'observe également chez les batraciens qui utilisent les larves de Culicidae comme source de protéines.

Des organismes entomopathogènes tels que certains virus, bactéries, champignons et helminthes peuvent être utilisés dans la lutte contre les moustiques. En effet, les bactéries *Bacillus sphaericus* sont utilisées contre les larves de *Culex* et *Bacillus thurengiensis israeliensis* H14 contre les larves d'anophèles (Darriet, 1998; Osborn et al., 2007 ;Boyce et al., 2013). Aussi, Eliminate Dengue utilise des bactéries naturelles appelées *Wolbachia*, endosymbiontes

bactériens, pour réduire la capacité des moustiques à transmettre aux hommes des virus nocifs tels que ceux de la dengue, chikungunya et Zika. L'utilisation de la bactérie *Wolbachia* pourrait aider à réduire non seulement la population de *Ae. aegypti*, sa capacité à transmettre les virus ainsi que la capacité de prise de sang des femelles âgées (Aliota et al., 2016).

Les champignons entomopathogènes, des pathogènes fongiques, peuvent être utilisés comme mosquitocides ou malariacides à travers leurs spores qui infectent les moustiques (Bilgo et al., 2017 ; Lowett et al., 2019) . Ces études ont montré que les actions des spores du champignon du genre *Metarhizium* entraînaient une réduction du comportement d'alimentation sanguine, rendant ainsi les *Anopheles* incapables de transmettre le paludisme dans les 5 jours suivant l'infection.

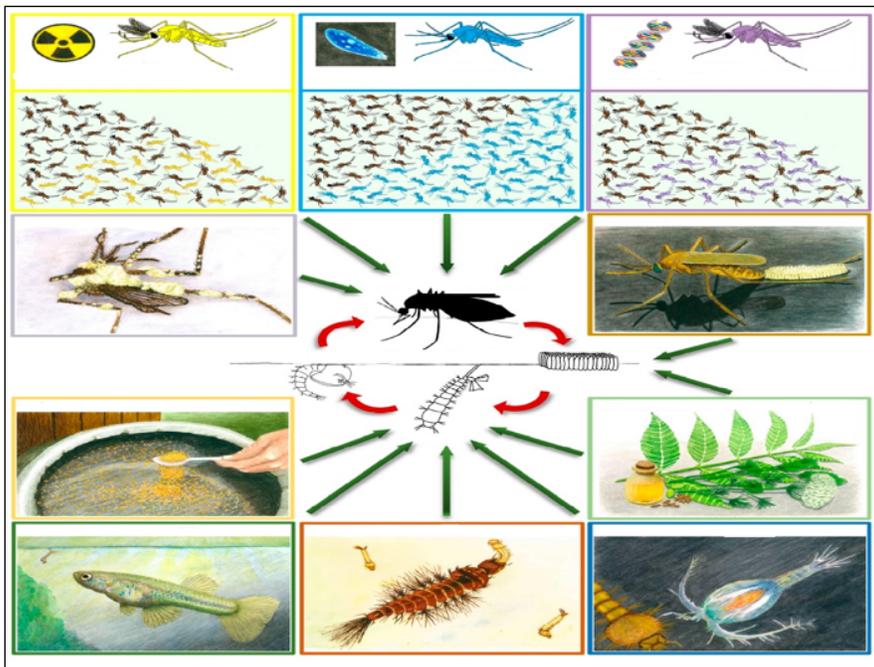


Figure 7 : Méthodes biologiques de contrôle des moustiques (Benelli, Jeffries et Walker, 2016)

1- 2.2.2. Lutte physique

La lutte physique, ou mécanique, permet l'éradication pérenne d'un gîte larvaire, en aménageant l'environnement (assèchement des marais, drainage...) (Duvallet, Fontenille et

Robert, 2017). Ces actions permettent en outre, de réduire la productivité des gîtes en adultes ou d'éliminer complètement ces gîtes. Cette méthode de lutte présente un réel intérêt, lorsqu'il s'agit de moustiques dont le mode de vie est domiciliaire ou péri-domiciliaire. Il s'agit d'éliminer tous les récipients naturels ou anthropiques pouvant contenir de l'eau stagnante, soit en éliminant ces gîtes potentiels ou en les vidant de leur eau, soit en les couvrant afin d'empêcher les femelles d'y pondre (Duvallet, Fontenille et Robert, 2017).

L'OMS et ses groupes d'experts ont élaboré des guides pratiques (guidelines) pour faciliter la prise en considération du volet « santé publique » inéluctablement lié à toute modification de l'environnement. Ces modifications sont envisagées en fonction de l'échelle spatiale : concernant de grandes surfaces, pour les travaux de type barrages, routes, zones d'agriculture irriguée, déforestation ; ou bien, au contraire, portant sur des micro-chantiers comme les trous d'emprunt de terre pour faire des briques pour construire les maisons, par exemple. Tout cela relève de l'hygiène générale du milieu ainsi que d'éducation sanitaire (Duvallet, Fontenille et Robert, 2017).

1- 2.2.3. La lutte chimique

La lutte chimique repose sur l'utilisation de produits chimiques (insecticides de synthèse) à effet toxique ou répulsif sur les insectes cibles. Ces insecticides chimiques utilisés à la fois contre des adultes et des larves de moustiques ont connu une forte utilisation dans la deuxième moitié du siècle dernier, suite à la seconde guerre mondiale. Tous ces insecticides sont utilisés dans plusieurs méthodes de lutte antivectorielles : dans les matériaux imprégnés d'insecticides (moustiquaires et rideaux imprégnés d'insecticides à longue durée d'action, etc.), les pulvérisations extra et intra domiciliaires, dans les serpentins, les crèmes répulsives, les aérosols et le plus souvent dans les gîtes larvaires.

Les principaux insecticides de synthèse utilisés en LAV appartiennent à quatre familles chimiques selon leur mode d'action lié à la neurotoxicité de certaines molécules, à l'impact sur la respiration cellulaire, à la formation de la cuticule ou à la perturbation de la mue. Ces familles sont : les organochlorés (OC), les organophosphorés (OP), les carbamates (CX) et les pyréthriinoïdes (PY). Ainsi :

- **Les organochlorés (OC)** sont des insecticides de contact, neurotoxiques provenant de l'industrie du chlore. Ils sont considérés comme la plus ancienne famille d'insecticides.

Cependant, leur emploi est en très nette régression. Outre leur rémanence excessive, leur usage a été freiné suite à l'apparition des phénomènes de résistance apparus chez certains moustiques (Carnevale et Robert, 2009). Cette famille regroupe le DDT et ses analogues, le lindane (hexachloro-cyclohexane ou HCH) et les cyclodiènes (dieldrine, endosulfan, chlordecone etc). Le DDT agit à la fois sur le système nerveux central et périphérique de l'insecte par contact et ingestion (Carnevale et Robert, 2009) en modifiant les caractéristiques pharmacologiques et électrophysiologiques des protéines des canaux sodium voltage-dépendant (CNaVdp) entraînant ainsi une perturbation des courants calcium/magnésium ($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$) et sodium/potassium (Na^+/K^+) le long de l'axone. A cet effet, il exerce sur les insectes un effet KD comme les pyréthriinoïdes.

- **Les organophosphorés (OP)** sont des dérivés de l'acide phosphorique. Ce sont des insecticides neurotoxiques agissant au niveau du système nerveux central sur l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine en acide acétique et en choline (Rübsamen et *al.*, 1976). La forme oxydée de ces molécules se fixe sur cette enzyme entraînant une accumulation d'acétylcholine dans la jonction synaptique. Lorsque sa concentration devient trop forte, les récepteurs de l'acétylcholine se bloquent en position ouverte, empêchant la transmission de l'influx nerveux. Ce qui conduit à la paralysie, puis à la mort de l'insecte (Carnevale et Robert, 2009). A la différence des organochlorés, ils présentent une toxicité aigüe élevée, mais une faible rémanence. Ils pénètrent facilement dans l'organisme des insectes à cause de leur liposolubilité élevée. Parmi ces molécules, nous pouvons citer : le dichlorvos, le malathion, le fénitrothion, le parathion, le chlorpyrifos-méthyl, le diazinon, le pirimiphos-méthyl, le téméphos, le fenthion, etc.
- **Les carbamates (CX)** dérivés de l'acide carbamique, sont des insecticides de contact agissant sur le système nerveux central en inhibant l'acétylcholinestérase (comme les organophosphorés). Cependant, contrairement aux organophosphorés, les carbamates agissent directement sans oxydation préalable. Ils ont généralement une faible rémanence. Ils sont moins utilisés en santé publique à cause de leur coût de production et leur toxicité souvent plus élevée vis-à-vis des mammifères. Les carbamates sont entre autres, le carbaryl, le propoxur, le bendiocarbe, le carbofuran, etc.

- **Les pyréthriinoïdes** sont des dérivés synthétiques des pyréthrines, insecticides naturels extraits des fleurs d'une espèce de chrysanthème, *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Namountougou et *al.*, 2013). Dotés d'une toxicité considérable, mais moins aiguës que le DDT, les pyréthriinoïdes tuent presque instantanément les insectes par effet de choc neurotoxique, ce qui permet de les utiliser à des doses très réduites. Comme les organochlorés, les pyréthriinoïdes tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux (Chapman, 1969). Réputés peu toxiques pour les mammifères, on leur attribue le coefficient de sécurité le plus élevé parmi les insecticides chimiques. Très biodégradables, donc peu persistants, ils sont cependant très toxiques pour certains organismes aquatiques (poissons) ainsi que pour les insectes auxiliaires de l'agriculture dont les abeilles qui assurent la pollinisation. Les pyréthriinoïdes sont des candidats de choix en santé publique pour l'imprégnation des MILDA à cause de leur photo-stabilité, leur toxicité sélective et leur innocuité pour les vertébrés à sang chaud (Zaim, Aitio et Nakashima, 2000). Les pyréthriinoïdes sont en autres, la bifenthrine, la bioresméthrine, la deltaméthrine, l'etofenprox, la cyperméthrine, la cyfluthrine, la lambda-cyhalothrine, la perméthrine, etc.

Certains insecticides chimiques sont des Régulateurs de Croissance d'Insectes (RCI). Ils sont caractérisés par un mode d'action perturbant la mue (Casida et Quistad, 1998).

1- 2.3. La réduction de la durée de vie des vecteurs adultes

La réduction de la longévité des vecteurs adultes peut être obtenue surtout par les luttes génétique et chimique.

1- 2.3.1. La lutte chimique

La généralisation des aspersions intra domiciliaires d'insecticides à effet rémanent et les pulvérisations spatiales à l'intérieur mais surtout à l'extérieur des maisons peuvent influencer la durée de vie des vecteurs adultes.

Cet objectif de LAV peut être atteint surtout avec l'utilisation des Régulateurs de Croissance d'Insectes (RCI). Ces RCI peuvent être :

- les juvénoïdes (méthoprène et pyriproxifène) qui sont des analogues de l'hormone juvénile inhibant la nymphose, donc provoquant la mort des moustiques avant ou pendant

la nymphose. Le pyriproxyfène est utilisé dans l'imprégnation des MILDA et dans les peintures insecticides (Mosqueira et *al.*, 2010; Bayili et *al.*, 2015).

- les benzoylurées (diflubenzuron) qui inhibent la sclérification du tégument de la larve après une mue larvaire ou nymphale. Elles peuvent aussi provoquer la mort des moustiques à tous les stades du développement pré-imaginal.

Les RCI sont recommandés par l'OMS pour des traitements larvaires (WHOPES, 2016). Cependant, leur application sur le terrain pose d'énormes problèmes opérationnels du fait de leur durée de vie très courte (2-7 jours) et de la mortalité des moustiques qui est lente rendant difficile la vérification de leur efficacité (Bouyer, Gentile et Chandre, 2017; Robert, Ayala et Simard, 2017).

1- 2.3.2. Lutte génétique

La lutte génétique ou encore lutte autocide affecte les insectes au sein de leur patrimoine génétique. Son but est d'éliminer une espèce ou de modifier le génome de l'espèce en introduisant un gène étranger pour la rendre réfractaire au pathogène (Alphey, 2014). Il s'agit principalement de :

- La technique de l'insecte stérile qui consiste à rendre stérile des insectes mâles puis les relâcher en grand nombre dans une zone d'intervention afin qu'ils puissent entrer en compétition avec la population locale (Nolan et *al.*, 2011; Boyer et *al.*, 2012). Après l'accouplement avec un mâle stérile, les femelles sauvages pondent des œufs non viables entraînant ainsi une diminution du nombre d'individus à chaque génération et à long terme, la disparition de l'espèce vectrice ciblée. Compte tenu du fait que les mâles ne piquent pas, cette technique ne risque pas d'accroître l'expansion des épidémies.

Elle a permis de contrôler la population de *Glossina palpalis gambiensis* dans le sud-ouest du Burkina Faso (Cuisance et *al.*, 1978). Malheureusement, elle reste inefficace contre les *Culicidae*, car les mâles stériles sont moins compétitifs que les mâles sauvages (Maïga et *al.*, 2014).

- L'incompatibilité cytoplasmique consistant à utiliser des mâles hybrides nés de la multiplications de souches dont les origines sont géographiquement éloignées. Le lâcher de ces mâles hybrides dans des populations indigènes aboutit à des croisements qui donnent des œufs stériles.

- Moustiques réfractaires au Plasmodium par l'intégration de gènes responsables de la résistance à l'infection chez des mâles afin qu'ils soient transmis aux femelles lors de la copulation. L'expression de ces gènes dans le génome des femelles leur confère la capacité de réfractivité au Plasmodium (Rodhain et Perez, 1985).
- Les technologies « Gene Drive » basées sur des systèmes d'hérédité biaisés qui accélèrent la transmission d'un caractère génétique ciblé d'un parent à sa descendance à travers la reproduction sexuée (Flannery *et al.*, 2016 ; Sinkins et Gould, 2006). Cette technologie permet d'augmenter la probabilité de transmission d'un gène désiré, sans tenir compte de la valeur sélective. Elle peut être utilisée dans la LAV, contre les ravageurs agricoles et les espèces envahissantes (Flannery *et al.*, 2016).
- L'intégration de la bactérie symbiote intracellulaire *Wolbachia* dans le vecteur et sa transmission de génération en génération via les oocytes infectés de la femelle dans le but de raccourcir sa durée de vie et empêcher ainsi les parasites d'avoir un développement complet (Hoffmann *et al.*, 2011).

De nos jours, certaines méthodes de lutte génétique ont été expérimentées avec succès sur le terrain en Malaisie, en Polynésie française, au Brésil et en Australie (Alphey, 2014).

1- 3. Mécanismes de résistance des moustiques aux insecticides

La résistance est une adaptation génétique aux modifications de l'environnement. Elle a été définie par l'OMS comme étant la capacité d'une population à tolérer des doses de substances toxiques qui seraient létales pour la majorité des individus d'une population normale de la même espèce (OMS, 2012).

Trois termes sont employés pour décrire les patrons de résistance des insectes aux insecticides: résistance croisée, résistance multiple et résistance multiplicative (Nikou, Ranson et Hemingway, 2003). Quand un gène/une mutation est responsable de la résistance à plusieurs familles d'insecticides, on parle de résistance croisée. Un tel phénomène s'observe généralement entre des molécules ayant le même site d'action. Par exemple, les organophosphorés et les carbamates ont des cibles et des modes d'actions relativement similaires et la résistance à une famille entraîne souvent une résistance à l'autre. La résistance multiple est la résistance conférée par plusieurs mécanismes de résistances chez un insecte. Enfin, la résistance multiplicative désigne le fait que le niveau de résistance conféré par plusieurs mécanismes de résistances aux

insecticides chez un insecte sera plus élevé que la somme des niveaux de résistance conférée par ces mêmes mécanismes isolés (Hardstone, Leichter et Scott, 2009). Autrement dit, les mécanismes de résistances peuvent agir en synergie.

Différents mécanismes de résistance ont été sélectionnés par l'utilisation massive d'insecticide aussi bien pour la LAV que pour les traitements agricoles (Chandre et *al.*, 1999; Dabiré et *al.*, 2012a; Gnankine et *al.*, 2013).

Les insectes peuvent utiliser deux types de mécanismes pour résister aux insecticides. Ces mécanismes peuvent être dus à un changement de comportement, ou une modification physiologique (métabolique et cuticulaire) ou une modification de la cible (Figure 8).

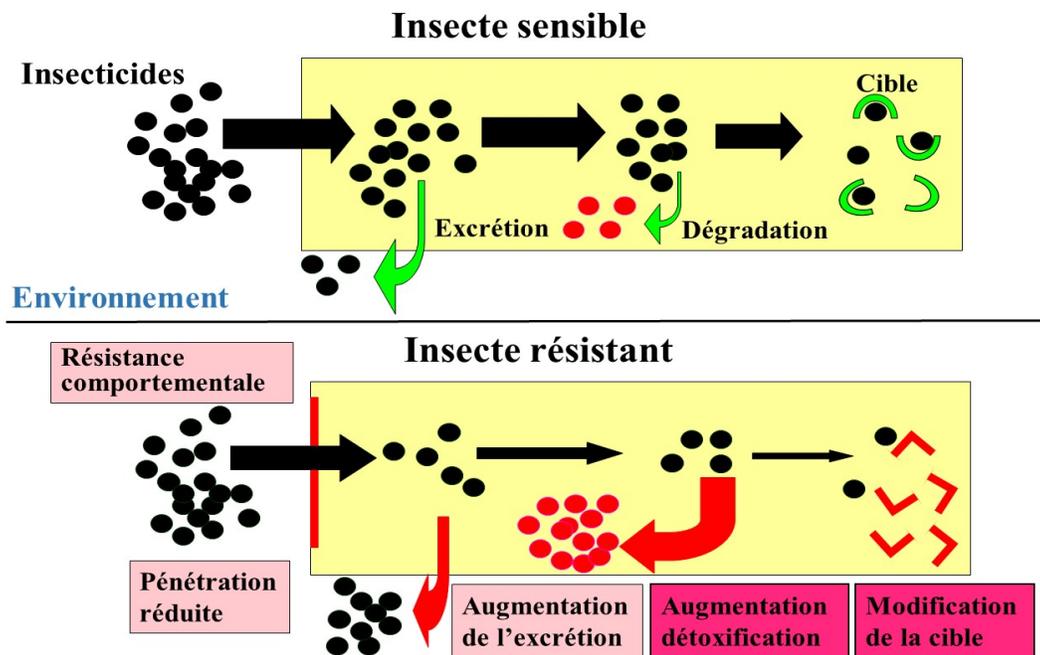


Figure 8: Mécanismes de résistance des vecteurs aux insecticides (in Carnevale et Robert, 2009)

1- 3.1. Résistances liées à la modification physiologique

1- 3.1.1. Mécanismes de résistance métabolique

Elle se traduit par une augmentation du métabolisme des insecticides grâce à des enzymes dites de détoxification présente dans l'ensemble du règne animal et végétal. L'augmentation du

métabolisme des insecticides peut être due soit à une augmentation de la production d'une ou de plusieurs enzymes de détoxification existantes, soit à un meilleur métabolisme de l'insecticide suite à une mutation d'une ou de plusieurs enzymes. Ces enzymes dégradent les insecticides en molécules non toxiques ou moins toxiques. La surproduction d'enzymes peut être due à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme (Mouchès *et al.*, 1987) ou à une augmentation du nombre de copies du gène qui code pour ces enzymes (Hemingway *et al.*, 2004). Ce phénomène se traduit par une diminution de la quantité d'insecticide atteignant la cible et donc à une augmentation de la tolérance de l'insecte.

La détoxification fait intervenir trois groupes d'enzymes à savoir les estérases, les oxydases et les Glutathion-S transférases (GST) (Enayati, Ranson et Hemingway, 2005) qui permettent à l'insecte soit :

- de dégrader l'insecticide en métabolite moins toxique;
- d'augmenter la solubilité des molécules d'insecticide dans l'eau pour accroître leur excrétion ;
- d'augmenter la résistance liée à l'activité catalytique et ou d'augmenter la quantité d'enzymes intervenant dans la dégradation des insecticides (Enayati, Ranson et Hemingway, 2005).

Les enzymes intervenant dans les mécanismes de résistance métabolique peuvent être classées en trois familles : les estérases, les Glutathion-S transférases (GST) et les oxydases.

- Les **estérases** attaquent les liaisons carboxyester et phosphotriester des organophosphorés, des carbamates et des pyréthrinoïdes rendant l'insecte résistant à ces insecticides.
- Les **Glutathion-S transférases** (GST) est la famille d'enzymes qui catalyse la liaison du glutathion avec des composés dotés d'un centre électrophile réactif. Il en résulte la formation de produits hydrosolubles moins réactifs moins toxiques et faciles à éliminer.
- Les **oxydases** sont impliquées dans la résistance à plusieurs groupes d'insecticides. Il s'agit de phénomènes métaboliques relativement mal connus pour ce qui concerne leur implication dans la résistance aux insecticides.

1- 3.1.2. La résistance cuticulaire

Elle désigne toute modification chimique de la cuticule de l'insecte entraînant une réduction de la pénétration de l'insecticide dans son organisme aboutissant à une meilleure protection des individus (Plapp, 1984).

1- 3.2. La résistance liée à la modification de la cible

C'est un mécanisme très efficace conférant une résistance croisée à tous les insecticides agissant sur la même cible. La résistance liée à la modification d'une cible s'explique par la substitution d'un ou de plusieurs acide (s) aminé (s) dans la séquence de la protéine cible suite à une mutation non synonyme (French-Constant, Daborn et Le Goff, 2004). Cela aboutit à l'altération de la molécule d'origine (d'où la diminution de l'affinité de la cible pour les insecticides concernés) permettant aux insectes de supporter une longue exposition aux insecticides sans être tués.

1- 3.2.1. Les mutations *kdr*/le canal sodium

Plusieurs mutations ont été recensées à ce jour dont les plus importantes sont celles du canal sodium voltage dépendante (CNaVdp) où l'on note une substitution de la leucine au niveau du codon 1014 dans le domaine II du 6^{ème} segment (IIS6), par la serine (L1014S) ou la phénylalanine (L1014F) (Martinez-Torres *et al.*, 1998 ; Ranson *et al.*, 2000).

En Afrique de l'Ouest, la mutation L1014F est fréquemment retrouvée dans les populations de *An. gambiae* s.l. (Martinez-Torres *et al.*, 1998), alors que la mutation L1014S est plus fréquente chez les populations d'Afrique de l'Est (Ranson *et al.*, 2000). Cependant, chez la souche résistante (*knock down resistant* « *kdr* »), une mutation ponctuelle entraîne une diminution de l'affinité de l'insecticide aux CNaVdp, conférant ainsi la résistance aux pyréthrinoïdes et au DDT.

Actuellement la mutation *L1014F* est quasiment fixée dans la majorité des zones endémiques au Burkina Faso (Namountougou *et al.*, 2019).

1- 3.2.2. La mutation *Ace-1*/l'acétylcholinestérase (AChE)

Cette mutation du gène codant l'acétylcholinestérase résulterait d'un remplacement de la glycine par la serine au niveau du segment 119 (mutation G119S) de l'enzyme, entraînant ainsi

une diminution de l'affinité de l'AChe vis-à-vis de l'insecticide (organophosphoré et carbamate) (Weill *et al.*, 2003, 2004). Cette résistance a été mise en évidence à des fréquences plus élevées chez *An. gambiae* et *An. coluzzii* dans le Sud-ouest du Burkina Faso (Dabiré *et al.*, 2009).

1- 3.3. Résistance comportementale

Il s'agit d'un changement de comportement de la part des insectes permettant d'éviter tout effet létal ou contact avec des endroits et surfaces traités avec des insecticides (Bogh *et al.*, 1998; Ranson *et al.*, 2011). Ce changement de comportement en réponse à l'exposition aux insecticides peut conduire à une meilleure survie des insectes. Ces mécanismes, moins étudiés, interviennent souvent en synergie avec les mécanismes précédents. Cependant, ce type de mécanisme de résistance reste relativement difficile à étudier et peu d'études sont disponibles.

1- 4. Stratégies de gestion de la résistance aux insecticides

Le développement de la résistance dans les populations d'insectes est un phénomène évolutif basé sur les mécanismes adaptatifs de la sélection naturelle. Ce n'est pas l'utilisation d'insecticides qui crée la résistance, mais la résistance apparaît par mutation spontanée ou par migration au niveau des descendants. Si la pression insecticide est maintenue sur plusieurs générations, alors la fréquence des individus porteurs d'allèles de résistance augmente progressivement à chaque génération (CNEV, 2014). Ce processus de sélection est sous la dépendance de facteurs tels que la biologie de l'insecte, les facteurs liés aux gènes de résistance (CNEV, 2014). Par exemple, les insectes qui ont un temps de développement court, de nombreuses générations par an et une forte prolificité (stratégie R, exemple des moustiques) deviennent plus rapidement résistants que les insectes au développement long, avec un nombre limité de générations et de descendants (stratégie K, exemple des glossines).

Le plan mondial de gestion de la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme (GPIRM) comprend cinq activités décrites en cinq « piliers » visant à contrôler la résistance aux insecticides afin de garantir l'efficacité continue des outils de LAV (OMS, 2012). Ce plan repose sur les cinq piliers suivants :

- Planifier et appliquer des stratégies de gestion de la résistance aux insecticides dans les pays endémiques;
- Veiller au suivi entomologique en temps utile, à la surveillance de la résistance et à une

- gestion efficace des données;
- Élaborer des outils novateurs de lutte antivectorielle ;
 - Comblent les lacunes de connaissances au niveau des mécanismes de résistance aux insecticides et de l'impact des stratégies actuelles de gestion de la résistance.
 - Veiller à mettre en place des mécanismes (plaidoyer, ressources humaines et financières) créant des conditions favorables.

De nos jours, plusieurs outils sont proposés afin de maintenir l'efficacité de la LAV malgré la menace de résistances (OMS, 2012).

1- 4.1. Peintures insecticides

Ce sont de nouvelles formulations de peintures dans lesquelles différents insecticides microencapsulés sont incorporés dans des résines, puis sont libérés progressivement à la surface des supports peints. Les insectes volants ou rampants se contaminent par un simple contact avec la surface du revêtement. Puis, de la partie contaminée de l'insecte, la matière active de l'insecticide va remonter jusqu'à son système nerveux. Il s'en suit alors un effet Knock down et l'insecte tombe sur le sol sans tacher le support peint.

Les peintures insecticides s'adaptent à toutes sortes de supports minéraux, poreux ou absorbant.

En fonction des conditions ambiantes, les peintures insecticides peuvent rester actives sur les supports peints, pendant plusieurs années. Malgré cela, elles ne sont pas nocives ou toxiques pour les humains ou les animaux domestiques et n'émettent pas de vapeurs odorantes.

Inesfly ®5A IGR est un exemple de peinture de vinyle avec une base aqueuse contenant deux organophosphorés, le chlorpyrifos (1,5%) et le diazinon (1,5%) et un régulateur de croissance d'insectes (RCI), le pyriproxyfène (0,063%) incorporés dans du carbonate de calcium (CaCO₃) et des microcapsules de résine. Des études antérieures ont démontré que le chlorpyrifos induit une excito-toxicité due au glutamate, que le diazinon provoque la mort neuronale apoptotique et que pyriproxyfène agit sur la fertilité des femelles de moustiques, sur les larves et les nymphes des insectes (Aldridge, 1950; Dhadialla, Carlson et Le, 1998; Mbare, Lindsay et Fillinger, 2014 ; Bayili et *al.*, 2015).

1- 4.2. L'ivermectine comme outil de lutte antivectorielle

L'ivermectine (IVM) est un dérivé des avermectines, isolé à partir de la fermentation de bouillons de *Streptomyces avermitilis*. Il est utilisé en santé animale contre les nématodes (vers ronds) et les arthropodes (insectes et tiques) (Campbell *et al.*, 1983; Benz, Roncalli et Gross, 1989). En santé humaine, il est très utilisé pour le traitement des maladies tropicales négligées telles que l'onchocercose, la filariose lymphatique et les strongyloïdoses (Suputtamongkol *et al.*, 2011).

Au début de la pandémie, l'intérêt de l'ivermectine pour traiter le COVID-19 a été évalué avec quelques études qui ont semblé être prometteuses (Caly *et al.*, 2020; Kory *et al.*, 2021) mais qui n'ont pas connu le consensus scientifique.

Autrefois, utilisée pour lutter contre les maladies parasitaires négligées, l'ivermectine suscite un intérêt grandissant pour les chercheurs qui l'envisagent comme un outil alternatif de lutte contre les vecteurs du paludisme (Chippaux, Boussinesq et Prod'hon, 1995; Chaccour *et al.*, 2013; Pooda *et al.*, 2015). Plusieurs études ont montré les propriétés insecticides de l'ivermectine sur différentes espèces d'anophèles (Jones *et al.*, 1992; Rohrer *et al.*, 1994; Foley, Bryan et Lawrence, 2000; Chaccour, Lines et Whitty, 2010; Pooda *et al.*, 2015; Sampaio *et al.*, 2016). Aussi, d'autres études ont montré une diminution de la survie et de la fécondité chez des populations d'anophèles gorgées sur des sujets humains ou animaux ayant pris des doses thérapeutiques d'ivermectine (Sylla *et al.*, 2010 ; Kobylinski *et al.*, 2011, 2014; Chaccour *et al.*, 2013; Slater *et al.* 2020). En effet, les distributions de masse d'ivermectine peuvent constituer un outil très efficace dans la LAV, si ces distributions sont répétées fréquemment avec une couverture large (Slater *et al.*, 2014, 2020).

1- 4.3. Les stratégies des pièges à appât sucré et des « tubes d'avant-toit »

La stratégie des pièges à appât sucré sur l'approche « attirer et tuer » (ou « attractive toxic sugar bait » (ATSB) en anglais). Elle consiste en l'utilisation des pièges contenant à la fois du jus sucré qui attire les moustiques et des substances toxiques comme les insecticides pour les tuer (Müller *et al.*, 2010 ; Marshall *et al.*, 2013 ; Traore *et al.*, 2020) . Les études effectuées ont montré des résultats encourageants. En effet, une étude menée au Mali à grande échelle a montré que cette stratégie entraînait une réduction considérable de la densité d'agressivité des moustiques (Traore *et al.*, 2020).

La stratégie « tubes d'avant-toit » ou (« Eavetubes » en anglais) consiste à fermer les ouvertures des avant-toits des habitations à l'aide de revêtement électrostatique afin d'empêcher les moustiques d'entrer dans les maisons (Knols et *al.*, 2016 ; Sternberg et *al.*, 2016; Snetselaar et *al.*, 2017 ; Barreaux et *al.*, 2019).

1- 4.4. Huiles essentielles comme bio-insecticides alternatifs

Les extraits de plantes sont aussi utilisés comme outils dans la lutte anti vectorielle. En effet, ces extraits de plantes aqueux ou sous forme d'huiles essentielles (HE) contiennent des substances toxiques pouvant agir efficacement sur les moustiques.

Ce sont des sources de molécules naturelles présentant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (Guarrera, 1999).

Les HE sont classées usuellement selon la nature chimique des composés actifs majeurs. On retient neuf principales classes (Georges, 1979) :

- huiles essentielles riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques (HE de citron) ;
- huiles essentielles riches en alcools (HE de coriandre) ;
- huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools (HE de lavande, HE de menthe...) ;
- huiles essentielles riches en aldéhydes HE de citronnelle ;
- huiles essentielles riches en cétones (HE de camphrier) ;
- huiles essentielles riches en phénols (HE de girofle) ;
- huiles essentielles riches en éthers (HE d'Eucalyptus) ;
- huiles essentielles riches en peroxydes (HE de *Eucalyptus globulus* (Eucalyptol)) ;
- huiles essentielles sulfurées (HE d'ail).

La plupart des HE sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de monoterpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc.

Les HE sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolées par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba et Kunicka, 2003). Elles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004), mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres.

Les plantes ayant des propriétés insecticides sont réparties dans une cinquantaine de familles incluant les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae, les Lauraceae, les Magnoliaceae et

les Verbenaceae (Bruneton, 1993). On dénombre plus de 1200 plantes répertoriées comme possédant des effets répulsifs (Curtis et al., 1987). Différentes parties des plantes sont utilisées pour les extractions des différents composés : les feuilles, les fleurs, les écorces et les tiges.

Les HE contiennent surtout des terpénoïdes oxygénés et hydrocarbonés. Ces composés peuvent être extraits et utilisés comme insecticides ou répulsifs contre les insectes. Les HE peuvent tuer les insectes à tous les stades de développement (Dell'Agli et al., 2012). Plusieurs études ont démontré les effets ovicides, larvicides et adulticides des HE vis-à-vis des moustiques (Bassolé et al., 2003; Sengottayan, 2007; Tchoumboungang et al., 2009; Dua, Pandey et Dash 2010.; Wangrawa et al., 2015; Yameogo et al., 2021; Balboné et al., 2022a, 2022b).

Les larves de *Aedes aegypti* et de *Culex pipiens* sont tuées à de faibles doses par les HE de *Citrus bergamia*, *Cuminum myrrha*, *Pimenta racemosa*, *Psidium rotundatum* et *Melaleuca leucadendron* qui entraînent 100% de mortalité à 25 ppm (Lee, 2006). Les HE exercent également une activité Knock down et adulticide sur différentes espèces de moustiques (Dua, Pandey, and Dash 2010). Les HE sont toxiques vis-à-vis des larves et des adultes de *An. gambiae*, *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*, *An. culicifacies*, *An. fluvialitis* et *An. stephensi* (Dua, Pandey, and Dash 2010.; Oparaocha, Iwu et Ahanaku, 2010; Kweka et al., 2011).

Les méthodes d'extraction des HE peuvent être entre autres, la méthode par hydrodistillation avec le Clevenger, la méthode par hydrodistillation avec le Soxhlet et la méthode d'extraction par hydro-diffusion avec l'alambic.

- **Principe de la méthode par hydrodistillation avec le Clevenger**

L'eau et les échantillons de la plante à extraire sont dans un ballon qui est placé dans un dispositif de chauffage. La vapeur monte dans le tube à dégagement jusqu'à un condensateur, et le condensat retombe dans une petite burette. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par un conduit en diagonale. Ce processus peut durer deux heures et le volume d'huile recueilli peut être mesuré directement dans la burette.

- **Principe de la méthode par hydrodistillation avec le Soxhlet**

L'échantillon broyé (broyat) de la plante à extraire est entassé dans une cartouche qui est déposée dans le Soxhlet avec 1L de solvant pour chaque extraction. Soixante-quinze (75) centilitres de solvant sont versés directement sur le broyat et les 25cl restants versés dans le ballon dans lequel sont déposés au préalable quelques grains de pierres ponce. Le tout est porté à

ébullition dans le thermostat. L'ensemble est donc prêt pour l'extraction à l'aide de l'éther de pétrole 60-80 à ébullition qui dissout graduellement l'huile végétale. Le solvant contenant l'huile végétale retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther de pétrole est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif.

○ **Principe de la méthode d'extraction par hydro-diffusion avec l'alambic**

Ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distiller. Les plantes sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentielle.

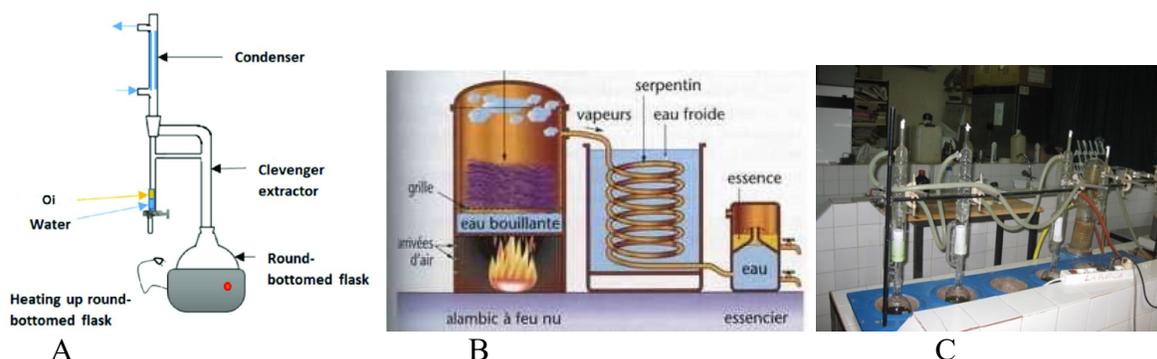


Figure 9: Appareils d'extraction des huiles essentielles (**A** = Appareil de Clevenger ; **B** = Alambic ; **C** = Dispositif par le Soxhlet)

1.5. Importance des HE

Les extraits de plantes jouent un rôle dans l'écologie de la plante, notamment dans les interactions plantes-plantes et les interactions plantes insectes. C'est ainsi que la plupart des HE, produits du métabolisme secondaire, ont des propriétés allopathiques ou pesticides.

Les HE sont utilisées dans différentes formulations, comme les médicaments traditionnels pour des soins de santé primaire et dans la parfumerie (Heath, 1981; OMS, 2002).

Cette ruée vers la médecine par les plantes peut s'expliquer par le fait que les plantes sont accessibles et abondantes, surtout dans les pays en voie de développement (OMS, 2002; Muthu *et al.*, 2006) . De plus, les effets secondaires causés par les plantes sont minimes voire absents, au contraire des médicaments semi-synthétiques ou synthétiques (Iwu, Duncan et Okunji, 1999). Plusieurs études ont montré les propriétés antibactériennes et antifongiques des HE (Bassolé *et al.*, 2005; Burt, 2004 ; Samba *et al.*, 2020 ; Sawadogo *et al.*, 2022).

Les HE présentent également un intérêt scientifique en plus de celui économique et agro-alimentaire, résidant dans le fait qu'elles procurent souvent de nouvelles molécules, qui servent de modèles pour la synthèse industrielle d'analogues structuraux.

PARTIE 2 : METHODOLOGIE GENERALE

Cette partie présente la description des sites de collectes larvaires, des sites de récolte des différentes plantes, ainsi que le matériel biologique (animal et végétal) et le matériel expérimental. Il décrit aussi les différentes méthodes d'extraction des HE et les tests statistiques qui ont été réalisés sur les données obtenues lors de cette étude. Les travaux de cette thèse se sont déroulés sur trois années consécutives (2019, 2020 et 2021).

2- 1. Cadre d'étude

Cette étude a été menée au Burkina Faso, pays situé au cœur de l'Afrique de l'Ouest. Le Burkina Faso s'étend sur une superficie de 274 200 km² (INSD 2020). Son réseau hydrographique assez important est constitué de trois bassins principaux : les bassins de la Volta, de la Comoé et du Niger. Le bassin de la Volta s'étend au Centre et à l'Ouest du pays sur une superficie de 178 000 km² (INSD 2020). Il est constitué par trois sous-bassins majeurs : le Mouhoun, le Nakambé et le Nazinon. Le bassin de la Comoé draine l'extrémité Sud-Ouest du pays sur un bassin versant de 18 000 km² comprenant de nombreux affluents (INSD 2020). Le bassin du Niger draine le Nord-Est et l'Est du pays avec un bassin versant de 72 000 km². Les cours d'eau du Burkina Faso, à l'exception du Mouhoun et de ceux du Sud-Ouest (bassin de la Comoé), sont temporaires et ne coulent que de juillet à octobre (INSD 2020).

Le Burkina Faso a un climat tropical sec où s'alternent deux saisons : une longue saison sèche (d'octobre à avril) et une courte saison pluvieuse (de mai à septembre). Le climat tropical sec est subdivisé en trois zones climatiques qui sont :

- la zone sahélienne au Nord avec moins de 600 mm de pluviométrie par an et des amplitudes thermiques élevées (15 à 45°C) ;
- la zone soudano-sahélienne au centre avec une pluviométrie qui varie entre 600 et 900 mm par an et des températures moyennes variant entre 28 et 30°C ;
- la zone soudano-guinéenne à l'Ouest où les précipitations varient de 900 à 1200 mm par an avec des températures moyennes inférieures à 28°C.

Pays en voie de développement, le Burkina Faso est un pays où l'agriculture représente 32% du produit intérieur brut (PIB) et occupe 80% de la population active (INSD 2020). Les pratiques agricoles regroupent principalement les cultures de rente (coton, arachide, sésame, canne à sucre, anacarde, etc.), les cultures céréalières (sorgho, mil, maïs et riz) et les cultures maraîchères de contre-saison (INSD, 2020). En plus de l'agriculture, d'autres activités sont

pratiquées par les populations notamment la pisciculture, l'élevage et la sylviculture (INSD, 2020).

La province du Houet, située dans la zone soudano-guinéenne, est un carrefour et l'une des grandes zones industrielles du pays. Bobo-Dioulasso est le chef-lieu de la province et Bama (Vallée du Kou), l'un de ses départements où l'agriculture est l'activité principale de la population cause à des aménagements hydro-agricoles.

Les travaux de cette thèse ont été réalisés dans la région des Hauts-Bassins du Burkina Faso (Figure 10).

Les prospections larvaires pour *An. gambiae* ont été effectuées dans la Vallée du Kou (Bama) et dans divers quartiers de Bobo Dioulasso pour *Ae. aegypti*.

La Vallée du Kou (VK) (11°24'N et 4°24'O) est située à une trentaine de kilomètres au Nord de Bobo-Dioulasso (Figure 10). La température moyenne annuelle y est de 27,7°C et les précipitations sont en moyenne de 900,8 mm par an (INSD, 2020). C'est une zone rizicole aménagée depuis 1972, composée de sept (7) quartiers rizières avec une population estimée à environ 85.798 habitants sur une superficie de 1.500 ha (INSD, 2020).

En raison du système d'irrigation et de la disponibilité en eau, les casiers rizières dans la Vallée du Kou créent en permanence des gîtes très productifs aux culicidés. D'autres gîtes temporaires favorables aux Anophèles, composés de dépressions et de retenues d'eau, s'y ajoutent pendant la saison des pluies. Plusieurs études menées dans la commune de Bama ont confirmé la résistance des vecteurs du paludisme aux pyréthriinoïdes et au DDT avec des fréquences de la mutation *kdr-L1014F* quasiment fixées (Dabiré *et al.*, 2008; M. Namountougou *et al.*, 2019).

Bobo-Dioulasso (11°11'N et 4°17'O), situé à environ 360 kilomètres de Ouagadougou, est la capitale économique du Burkina Faso et la deuxième grande ville en population après Ouagadougou. C'est la capitale de la région des Hauts-Bassins et le chef-lieu de la province du Houet. A cause de l'essor démographique, les gîtes de *Ae. aegypti* se sont développés dans la ville de Bobo-Dioulasso aussi bien dans les domiciles que dans les services. D'après une enquête menée en 2015 par Fournet F. *et al.*, les Indices de Breteau (nombre de maisons avec gîtes positifs pour 100 maisons) sont plus élevés à Bobo-Dioulasso avec des gîtes positifs plus fréquents dans l'ensemble des quartiers visités. Des études ont montré la résistance des vecteurs de la dengue aux insecticides chimiques dans cette localité (Ouattara *et al.*, 2019; Namountougou *et al.*, 2020).

Le choix de ces sites se justifie en grande partie par la situation de résistance des moustiques aux insecticides chimiques.

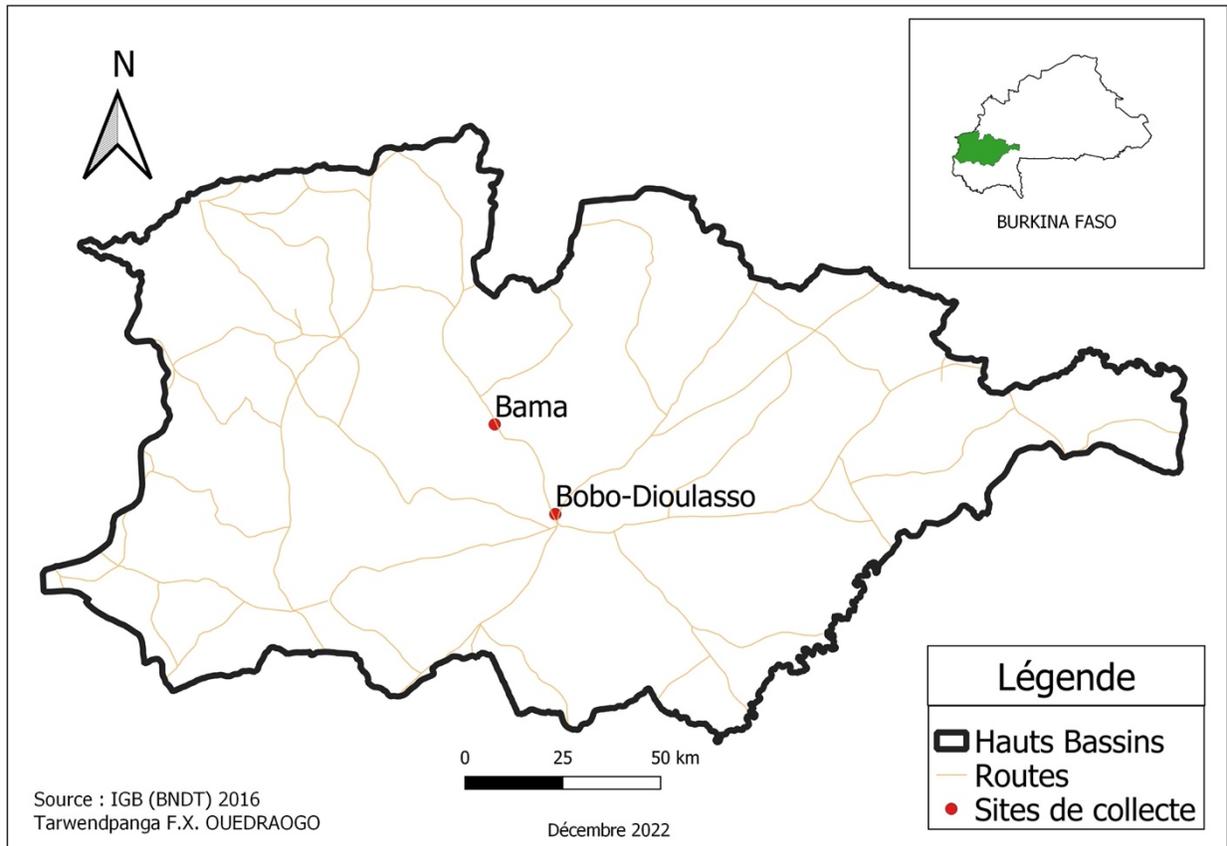


Figure 10: Présentation des sites d'études

2- 2. Matériel

2- 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de plantes de *Eucalyptus camaldulensis*, de *Cymbopogon nardus*, de *Cymbopogon citratus*, de *Lippia multiflora* et de *Ocimum americanum* (Figure 11). Les cinq plantes ont été choisies tout d'abord en raison des informations provenant de personnes interrogées dans les régions étudiées ainsi qu'à partir de la littérature.

Les spécimens ont été identifiés et conservés à l'Herbier de l'Université Joseph KI-ZERBO. Lesdites feuilles ont été récoltées dans le mois de juillet 2019 dans le jardin de l'Institut de Recherche en Sciences Appliqués et Technologies (IRSAT) (Tableau I).

Tableau I: Les espèces végétales dont les feuilles ont été collectées dans le jardin de l'IRSAT pour l'extraction des huiles essentielles

| <i>Espèces végétales</i> | <i>Familles botaniques</i> |
|---------------------------------|----------------------------|
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | <i>Myrtaceae</i> |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | <i>Poaceae</i> |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | <i>Poaceae</i> |
| <i>Lippia multiflora</i> | <i>Verbenaceae</i> |
| <i>Ocimum americanum</i> | <i>Lamiaceae</i> |



Figure 11: Les plantes dont les huiles essentielles ont été extraites (Cliché Balboné, 2019)

2- 2.2. Matériel animal : les souches de moustiques

Quatre souches de moustiques ont été testées :

- les **souches sensibles** : Kisumu qui est la souche de référence de *An. gambiae* originaire du Kenya et Bora Bora qui est la souche de référence de *Ae. aegypti*. Ces deux souches ont été élevées à partir des œufs à l'insectarium de l'Institut de Recherches en Sciences de la Santé / Direction Régionale de l'Ouest (IRSS/DRO) en collaboration avec le Centre MURAZ de Bobo-Dioulasso ;
- les **souches de terrain** de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*, populations naturelles résistantes aux pyréthriinoïdes collectées respectivement à la Vallée du Kou et à Bobo-Dioulasso.

2- 2.3. Matériel physique

2- 2.3.1. Matériels d'extraction des huiles végétales

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (Schott DURAN, Allemagne) (Figure 12) au laboratoire des substances naturelles de l'IRSAT. Une balance a été utilisée pour le pesage des différentes feuilles avant l'extraction. En effet, deux cents (200) grammes de matériel végétal frais découpé en petits morceaux ont été mis dans le ballon contenant 1200 ml d'eau (Akrouf, 2004). Puis, le mélange contenu dans le ballon a été porté en ébullition pendant trois heures (3h).

Après une montée de la vapeur dans le tube jusqu'au réfrigérant, le condensat a été recueilli dans la burette. L'opération a été répétée trois fois. Les huiles essentielles ont été ensuite collectées par décantation et séchées sur du sulfate de sodium Anhydre. Des bouteilles ont servi à la conservation des différentes HE. Le rendement en huile essentielle (R%) est défini comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle obtenue sur la masse de la matière végétale fraîche (Kpatinvoh *et al.*, 2017). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$R\% = (Mh / Ms) \times 100$ où Mh est la masse d'huile essentielle obtenue et Ms, la masse de matière végétale utilisée.

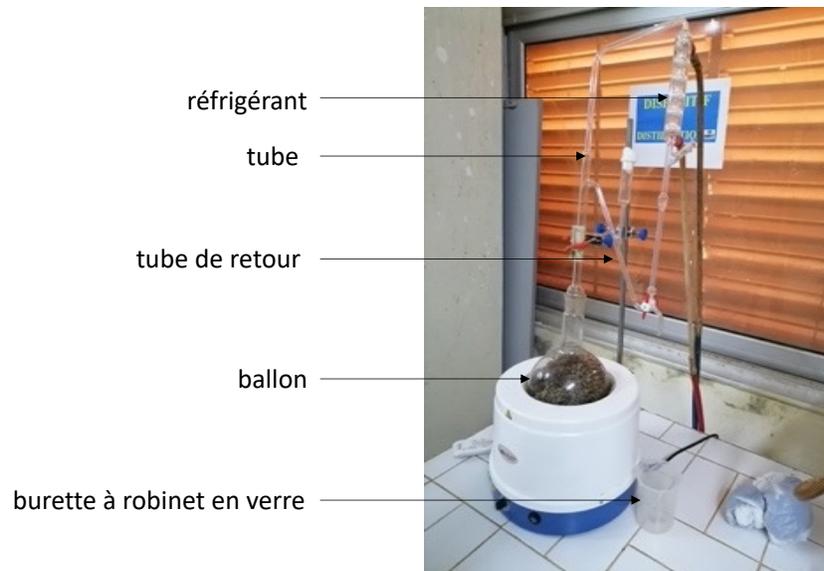


Figure 12: Clevenger pour extraction d'huiles essentielles (Cliché Balboné, 2019)

2- 2.3.2. Matériels pour l'élevage des larves et adultes de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*

Il s'agit :

- des farines de croquettes de chat (TetraMinBaby®) et du jus sucré : ils ont servi respectivement à nourrir les larves et les adultes des moustiques d'études ;
- des gobelets en plastiques transparents pour contenir les nymphes dans les cages ;
- du ruban adhésif pour l'étiquetage des bacs ;
- des bacs voilés de moustiquaire contenant l'eau pour l'élevage des larves d'études ;
- des cages couvertes de moustiquaire pour l'élevage des adultes.

2- 2.3.3. Matériels pour les tests bio-essais.

Il s'agit :

- de l'alcool 70% pour le nettoyage de la paillasse et des tubes OMS
- des tubes OMS ;
- de l'acétone pour la dilution des HE ;
- du papier whatman ;
- des pipettes et micropipettes pour la dilution des HE ;
- du papier aluminium pour la conservation des papiers imprégnés.

2- 3. Méthodes

2- 3.1. Collecte larvaire et élevage des moustiques

Les larves ont été collectées entre août et octobre des années 2019 et 2020 dans les rizières et les retenues d'eaux entre les maisons dans la vallée du Kou pour *An. gambiae* (Figure 13A) et dans des pneus et des récipients abandonnés dans différents milieux urbains de Bobo-Dioulasso pour *Ae. aegypti* (Figure 13B), à l'aide d'une louche par la méthode standard de « dipping ». Les larves collectées ont été traitées et mises dans des bidons de 1,5L pour être transportées à l'insectarium de l'IRSS/Centre Muraz.

A l'insectarium, en fonction des sites de collectes, les larves ont été mises dans des bacs d'élevage contenant 1 litre d'eau de source pour environ 200 larves (Figure 13C) et nourries avec du TetraMinBaby® dans les conditions standards de l'insectarium (température 27 ± 2 °C ; humidité relative : $70 \pm 5\%$; 12h : 12h en alternance jour/nuit). Après le stade nymphal, les moustiques adultes, maintenus dans des cages, ont été nourris en plaçant sur chaque cage un tampon de coton hydrophile imbibé de glucose 5% (Figure 13C). En fonction des besoins, certaines larves de stades 3 et 4 ont été triées pour les tests larvaires. Les autres seront conservées jusqu'à l'émergence en adultes à l'insectarium pour les tests adulticides.

Les femelles adultes de *An. gambiae s.l.* ont été séparées des autres culicidés grâce à la clef de détermination morphologique de Gillies et Coetzee (1987).

Les larves des souches sensibles de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* (respectivement Bora Bora et Kisumu) ont été obtenues à l'insectarium de l'IRSS/DRO à partir des pontes des adultes de ces souches sensibles qui sont des souches de références OMS.

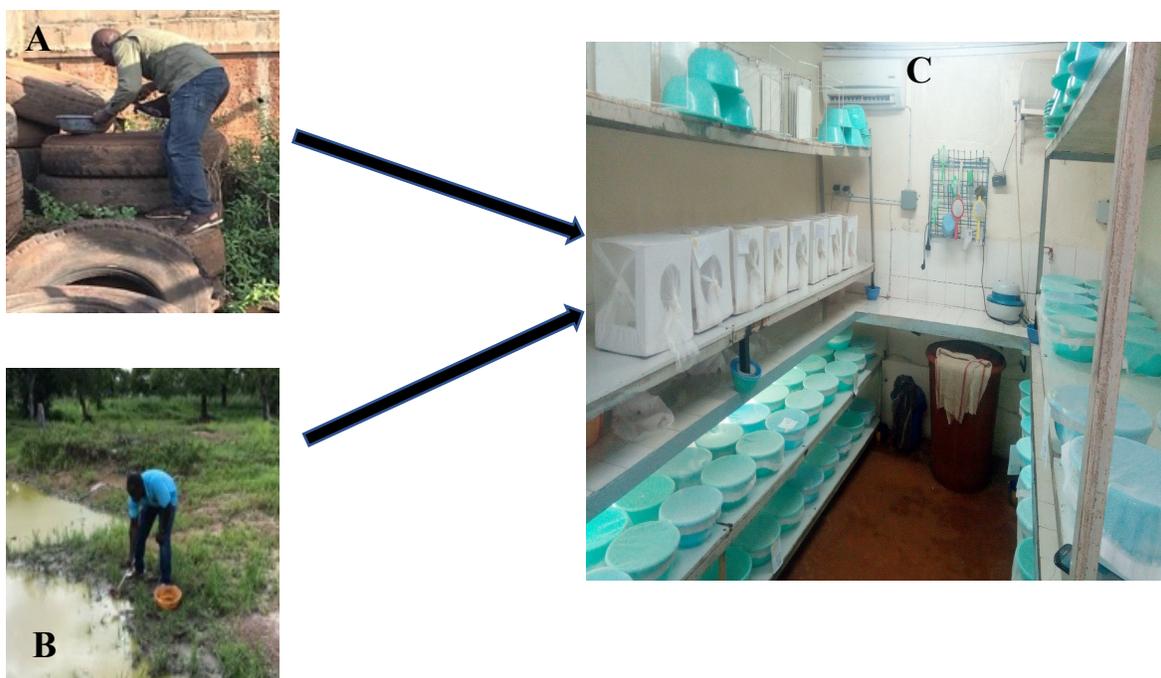


Figure 13: Collecte larvaire et élevage de moustiques

A : Collecte de larves de *Aedes aegypti* ; **B :** Collecte de larves de *Anopheles gambiae* ;
C : Élevage des moustiques à l'insectarium (Cliché Balboné, 2019)

2- 3.2. Techniques d'extraction

Les huiles essentielles utilisées dans cette étude ont été extraites à l'IRSAT par hydrodistillation avec un dispositif de type clevenger (Clevenger 1928) (Figure 13). Cette méthode a consisté en une distillation classique dans laquelle le matériel végétal et l'eau sont introduits dans la partie appelée « bac pour eau + matière ». Ce mélange a été ensuite chauffé à l'aide du gaz butane jusqu'à ébullition environ quarante-cinq (45) minutes après le début du chauffage. La vapeur qui en est sortie a suivi le tube à dégagement jusqu'à un condensateur où le condensat est retombé dans une petite burette. Dans cette burette, l'huile flottant sur l'eau, le volume d'huile recueilli peut être mesuré directement. Ce processus peut durer deux heures. Les huiles essentielles avec quelques gouttelettes d'eau ont été ensuite mises dans des petites bouteilles qui ont été placées dans un congélateur dans lequel l'eau se congèle et libère l'HE. Puis, les HE ont été vidées dans des bocaux vides et propres.

2- 3.3. Caractérisation des huiles essentielles

La caractérisation des huiles essentielles a été réalisée à l'IRSAT selon le protocole décrit de la façon suivante : Les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG/SM).

2- 3.3.1. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'analyse en CPG a été effectuée à l'aide d'un chromatographe de type Agilent 6890 série N équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'une colonne du type DB-5 (longueur : 10 m × 0,1 mm Diamètre ; l'épaisseur de film était de 0,17 µm, Agilent Palo Alto, CA). Le gaz vecteur était l'hélium (vitesse moyenne 42 cm/sec) et la température de programmation du four était comprise entre 60 et 165 °C avec un gradient de 8°C/mn ; de 165°C à 280°C avec un gradient de 20°C/mn. L'appareil a été piloté par un système informatique de type « HP ChemStation », gérant le fonctionnement de l'appareil et a permis de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

2- 3.3.2. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG/SM)

Cette analyse a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse (Figure 14) de type Hewlett-Packard (série HP 6890 GC) couplé avec un spectromètre de masse, série HP 5972 MSD (Hewlett Packard, Palo Alto, CA). La fragmentation a été effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée était une colonne capillaire HP- 5MS Zebron (30 m × 0,25 mm), l'épaisseur du film était de 0,25 µm. La température du four a été maintenue à 45 °C pendant 2 min et augmentée de 45 °C à 165 °C à 4 °C / min, et à partir de 165 °C à 280 °C à 15 °C / min. Le gaz vecteur a été l'hélium dont le débit est fixé à 1,5 ml/min. Le mode d'injection a été split (rapport de fuite : 1/50).



Figure 14: Chromatographe en phase gazeuse couplé avec spectromètre de masse (<http://crapcexpertise.dz/wp-content/uploads/2018/10/5973inert-640x425.jpg>)

2- 3.3.3. Identification des composants des huiles

L'identification des composants de l'huile essentielle a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux des homologues série de n-alcanes (C8-C32) déterminés dans les mêmes conditions du mode opératoire, et par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des données de la littérature (Adams 2007). Les pourcentages relatifs des composants ont été calculés sans utiliser les facteurs de correction.

2- 3.4. Méthode de dilution des huiles essentielles et des combinaisons d'huiles essentielles

Les différentes dilutions ont été faites sur la base de la conservation de quantité de matière dans le solvant : $C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f$. Ce qui a permis de déterminer le volume de l'HE pure (V_i) dans la solution diluée. Des dilutions successives ont été faites dans l'acétone pour les tests larvaires et les tests des adultes en tubes OMS. Trois concentrations ont été préparées à l'aide de dilutions en série (v/v).

- V_i = Volume d'HE pure ou de la combinaison à prélever en millilitre ;
- C_i = Concentration de l'HE pure ou de la combinaison en pourcentage ; on a supposé par convention que quand l'HE est pure, sa concentration est égale à 100 % ;
- C_f = Concentration de l'HE diluée ou de la combinaison diluée exprimée en pourcentage,

- V_f = Volume final de la solution diluée en millilitre ; nous avons supposé qu'il fût égal à 100 ml pour toutes les dilutions.

Les différentes combinaisons ont été faites de la façon suivante : X ml de l'HE (A) + Y ml de l'HE B avec X + Y correspondant à 100 %.

Pour obtenir 2 ml de la solution finale à la concentration de 1 % qui a servi à l'imprégnation d'un papier Whattman n°1, 20 µl d'HE pure ou de la combinaison d'HE pure ont été dilués dans 1980 µl d'acétone.

2- 3.5. Imprégnation des papiers

L'imprégnation des papiers Whattman n°1 a été faite selon le protocole adopté par N'Guessan *et al.*, (2007) et Corbel *et al.*, (2017). Quatre papiers (4) découpés en rectangle de dimensions 12cm x 15cm ont été imprégnés chacun de 2ml de la solution obtenue par la dilution de l'HE dans de l'acétone. Les HE ont été diluées en 3 concentrations et chaque concentration a été imprégnée en 4 répliques. Les trois concentrations 0,1, 0,5 et 1 % ont été retenues après des tests préliminaires sur les souches de référence de *Ae. aegypti* (Bora Bora) et de *An. gambiae* (Kisumu) et à partir de la littérature.

Les papiers ont été déposés individuellement sur une planche à clous, puis imprégné avec 2 ml de l'HE diluée à l'aide d'une pipette (Figure 15B). Les papiers imprégnés ont été séchés au laboratoire pendant 10 minutes (Figure 15C) avant d'être conservés dans du papier aluminium et gardés au réfrigérateur (4°C) jusqu'à l'utilisation pour le test.



Figure 15: Les huiles essentielles et l'imprégnation des papiers whatman (Cliché Balboné, 2020)
A : Les 5 huiles essentielles ; B : Imprégnation d'un papier whatman ; C : séchage des papiers imprégnés.

2- 4. Analyse des données

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique XLSTAT version 2015.1.01. Les valeurs de CL_{50} , CL_{90} pour les larves mortes et les temps de paralysie des moustiques adultes ou temps de knock-down (KDT_{50} et KDT_{95}), les concentrations létales à la moitié et à 99% (CL_{50} et CL_{99}) ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% ($IC_{95\%}$) ont été calculés par analyse probit en utilisant le même logiciel statistique afin de comparer la sensibilité des larves de moustiques testées aux HE des 5 cinq plantes et du pyriproxyfène et, de comparer la toxicité des mêmes HE et des combinaisons d'HE contre les moustiques adultes testés. Les valeurs CL_{50} et CL_{90} pour les larves et, les valeurs KDT_{50} , KDT_{95} , CL_{50} , CL_{99} et les mortalités pour les adultes ont été considérées comme significativement différentes entre les HE si $p < 0,05$. Dans tous les tests, aucune mortalité de contrôle n'a été détectée après l'exposition de 24 heures ; par conséquent, aucune correction n'a été requise selon la formule d'Abbot (Abbott, 1925).

Les interactions entre les combinaisons réalisées ont été déterminées à l'aide des indices de concentration fractionnelle inhibitrice ou indices FIC. Ces indices ont été calculés de la manière suivante : Indice FIC = $FICA + FICB$ et $FICA = MICAB / MICA$ et $FICB = MICAB / MICB$ où FICA et FICB sont les concentrations inhibitrices ou létales minimales qui tuent les moustiques adultes pour les huiles essentielles A et B respectivement. Ainsi, nous avons i) FICA : Concentration fractionnaire létale de A ; ii) FICB : Concentration fractionnaire létale de B ; iii) MICAB : Concentration létale de A dans la combinaison ; iv) MICA : Concentration létale de A ; v) MICAB : Concentration minimale inhibitrice de B dans la combinaison.

Les résultats ont été interprétés comme suit : i) Synergie : $FIC < 0,5$; ii) addition : $0,5 \leq FIC \leq 1$; iii) indifférence : $1 \leq FIC \leq 4$; ou iv) antagonisme : $FIC > 4$ (Schelz, Molnar, et Hohmann 2006 ; Bassolé et Juliani 2012).

Le rapport de résistance (RR) entre les souches VK et Kisumu a été calculé en divisant la CL_{50} de la souche VK par la CL_{50} de la souche Kisumu. Selon l'OMS (2017), $RR < 5$ indique une faible résistance, $RR 5-10$ dénote une résistance modérée, et $RR > 10$ indique une résistance significative.

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans cette partie, nous présenterons les différents résultats obtenus à la suite de nos travaux de recherches puis nous les discuterons. Dans chaque chapitre, nous ferons une introduction où nous indiquerons le contexte scientifique qui a motivé chaque étape de nos recherches. Nous décrirons la méthodologie spécifique utilisée pour l'atteinte des objectifs à chaque niveau de nos travaux.

Chapitre 1 : Activités larvicides de cinq huiles essentielles extraites de cinq plantes locales vis-à-vis des populations de *Aedes aegypti* et de *Anopheles gambiae* collectés à l'Ouest du Burkina Faso.

Les résultats présentés dans ce chapitre ont fait l'objet d'un article publié dans le journal *Frontiers in Tropical Diseases* (article 1).

3- 1-1. Introduction

Les stratégies actuelles de lutte antivectorielle sont basées principalement sur l'utilisation des insecticides chimiques. Cependant, l'émergence de la résistance aux insecticides chimiques chez les principales espèces de vecteurs de maladies, la pollution de l'environnement et les effets toxiques de ces insecticides chimiques pour l'homme et d'autres organismes non ciblés, en raison de leur large spectre d'activité, compromettent le succès de la LAV (Minjas et Sarda, 1986 ; OMS, 1992 ; Hemingway, 2004). Ce constat a suscité un intérêt accru dans la recherche de produits naturels dérivés de plantes comme alternatifs (Gnankiné et *al.*, 2013 ; Redwane et *al.*, 2002). Parmi les nombreux produits naturels, les huiles essentielles (HE) et leurs constituants chimiques ont fait l'objet d'une attention considérable dans la recherche de nouveaux pesticides. En effet, des études menées au Burkina Faso ont montré qu'ils possédaient un potentiel insecticide en général (Bassolé et *al.*, 2003 ; Drabo et *al.*, 2017 ; Wangrawa et *al.*, 2016 ; Gnankiné et Bassolé, 2017) et des propriétés larvicides en particulier (Yaméogo et *al.*, 2021, Wangrawa et *al.*, 2022a). Par contre, très peu d'études ont concerné la sensibilité des HE aux larves de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*, respectivement vecteurs de la dengue et du paludisme, de la partie occidentale du pays. De plus, les études précédentes n'ont pas pris en compte le pyriproxyfène comme contrôle positif dans les différents tests larvaires.

Notre travail avait pour objectif d'étudier les propriétés larvicides des HE de cinq (5) plantes aromatiques locales du Burkina Faso, que sont *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf., *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle, *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., *Lippia multiflora* Moldenke, *Ocimum americanum* (Wild.) A.J. Paton, en termes de concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) sur des populations de terrain de *Aedes aegypti* et de *Anopheles gambiae* collectées respectivement à Bobo-Dioulasso et à la Vallée du Kou (VK).

3-1-2. Méthodologie : tests larvaires

Les tests ont été réalisés dans l'un des laboratoires d'entomologie médicale de l'IRSS/DRO dans les conditions décrites dans la méthodologie générale. Les tests ont consisté à évaluer la mortalité des larves de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti* en contact avec des solutions diluées d'HE suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2017). Des expériences préliminaires ont permis de retenir une gamme de concentrations devant servir aux tests proprement dits.

Des larves de stades 3 et 4 ont été utilisées pour ces tests. Ces larves ont été isolées (Figure 16A) grâce à des tamis et aux critères morphologiques caractérisant celles-ci, puis triées à l'aide des pipettes Pasteur et gardées en observation pendant 30 minutes. Pendant ce temps, les larves qui ont présenté des difficultés de mouvement ou un aspect anormal ont été remplacées.

Les tests ont été réalisés dans des gobelets en plastique transparents (Figure 16B) d'une capacité de 200 ml. Une quantité appropriée de chaque HE a été dissoute dans de l'acétone pour préparer 1 ml de solution mère, en fonction des concentrations voulues, 50, 100, 150 et 200 ppm. Dans chaque gobelet contenant initialement un volume d'eau distillée de 149 ml avec 20 larves de moustiques (Figure 16B), 1 ml de la solution mère d'HE préparée avec l'acétone a été ajouté (Figure 16C) afin d'obtenir les concentrations finales voulues dans un volume total de 150 ml. Pour chaque concentration, quatre (4) répétitions ont été faites plus quatre (4) témoins. Dans les témoins, 20 larves ont été introduites dans 149 ml d'eau distillée et 1 ml d'acétone. Le pyriproxyfène a été utilisé comme témoin positif.

Les larves mortes et les larves moribondes (celles qui bougeront lentement après agitation de l'eau) considérées comme mortes ont été dénombrées pour l'évaluation de la mortalité larvaire 24 heures après leur mise en contact avec les HE.

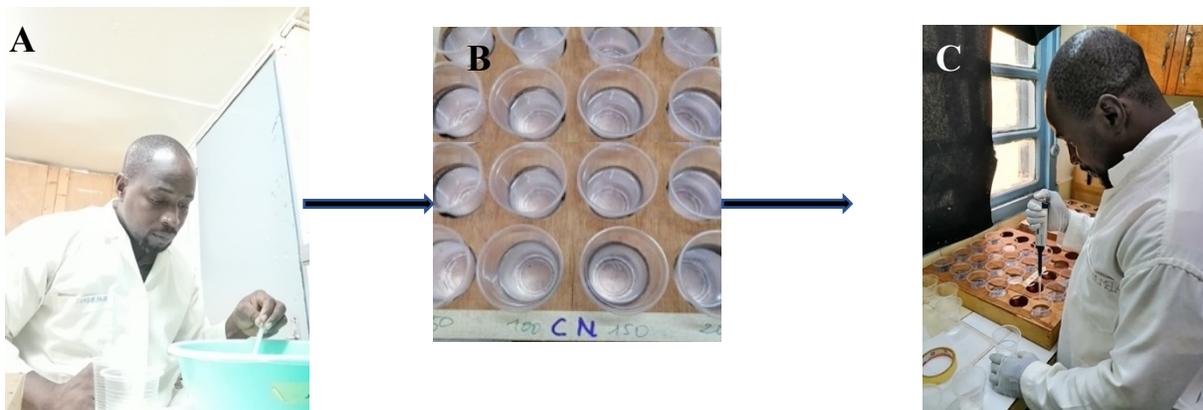


Figure 16: Quelques étapes du test larvaire

A : Tri des larves de stades 3 et 4 ; **B :** Les larves au repos dans l'eau distillée ; **C :** Ajout du mélange d'acétone et l'huile essentielle aux concentrations 50, 100, 150 et 200 PPM (Cliché Balboné, 2020).

3- 1-3. Résultats

3- 1-3.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles

Les différents composés de chacun des 5 huiles essentielles sont résumés dans le tableau II. L'HE de *C. citratus* s'avère riche en géraniol (48,1%), néral (35,8%) et myrcène (11%). Celle de *C. nardus* est principalement composée de citronellal (41,7%), de géraniol (20,8%) et de β -élémane (11%). L'HE de *E. camaldulensis* était riche en 1,8-cinéole (59,5%) et en α -pinène (9,17%). L'HE de *L. multiflora* était caractérisée par du p-cymène (25,27%), du β -caryophyllène (12,7%) et du thymol (11,88%). L'HE de *O. americanum* se caractérise par un pourcentage élevé de 1,8-cinéole (31,22%) suivi du camphre (12,73%).

Tableau II : Composition chimique des huiles essentielles des 5 plantes *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum*

| Composés | IR | <i>Cymbopogon citratus</i> (%) | <i>Cymbopogon nardus</i> (%) | <i>Eucalyptus Camaldulensis</i> (%) | <i>Lippia multiflora</i> (%) | <i>Ocimum americanum</i> (%) |
|--------------------------------------|------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| α -Thujene | 925 | - | - | - | 1,6 | 0,13 |
| α -Pinene | 933 | - | - | 9,17 | 0,9 | 6,87 |
| Camphene | 945 | - | - | 0,19 | - | 2,77 |
| Sabinene | 975 | - | - | - | - | - |
| β -pinene | 981 | - | - | 2,49 | - | 0,65 |
| Myrcene | 992 | - | - | 0,15 | - | 3,71 |
| 2-carene | 999 | - | - | - | - | 2,04 |
| α -Phellandrene | 1003 | - | - | 0,32 | 3,1 | 0,39 |
| α - Terpinene | 1017 | - | - | - | 1,41 | 0,40 |
| p-Cymene | 1027 | - | - | 4,73 | 14,6 | 0,21 |
| Limonene | 1028 | - | - | 8,76 | - | 4,66 |
| 1,8-cineole | 1034 | - | - | 59,55 | 11,6 | 31,22 |
| β -Ocimene | 1048 | - | - | - | 9,4 | - |
| γ -Terpinene | 1061 | - | - | 1,39 | - | 1,13 |
| Terpinolène | 1081 | - | - | 0,21 | - | 0,65 |
| Camphor | 1124 | - | - | - | - | 12,73 |
| Citronellal | 1158 | - | 41,7 | - | - | - |
| Citronellol | 1230 | - | 8,0 | - | - | - |
| Borneol | 1156 | - | - | 0,46 | - | 0,13 |
| 4-Terpineol | 1168 | - | - | 1,14 | - | 0,92 |
| α -Terpineol | 1177 | - | - | 2,65 | - | 2,08 |
| Neral | 1242 | 44,7 | - | - | - | - |
| Piperitone | 1252 | - | - | 0,09 | - | 2,44 |
| Geraniol | 1253 | - | 20,8 | - | - | - |
| Geranial | 1268 | 55,2 | - | - | - | - |
| Bornyl acetate | 1269 | - | - | - | - | 3,96 |
| Thymol | 1288 | - | - | - | 8,3 | - |
| Thymol acetate | 1355 | - | - | - | 12,0 | - |
| β -Elemene | 1372 | - | 11,0 | - | - | - |
| α -Copaene | 1390 | - | 3,7 | - | - | - |
| β -Caryophyllene | 1415 | - | - | - | 20,1 | 3,55 |
| <i>Trans</i> - α -Bergamotene | 1433 | - | - | - | - | 5,32 |
| α -Humulene | 1442 | - | - | - | 4,8 | 0,25 |
| <i>allo</i> -Aromadendrene | 1446 | - | - | 1,40 | - | - |
| α -Amorphene | 1485 | - | - | - | 1,4 | - |
| Germacrene D | 1495 | - | - | - | 1,5 | 0,24 |
| (Z, E)- α -farnesène | 1497 | - | - | - | - | 3,64 |
| B-himachalene | 1499 | - | - | - | - | - |
| Hedycaryol | 1520 | - | 7,4 | - | - | - |
| Elemol | 1545 | - | - | - | 2,1 | 1,6 |
| β -eudesmol | 1650 | - | - | - | 2,5 | - |
| Caryophyllene oxyde | 1581 | - | - | - | 4,5 | 0,08 |
| Hydrocarbon monoterpènes | | - | - | 24,89 | 33,01 | 23,61 |
| Oxygenated monoterpènes | | 99,9 | 77,9 | 66,96 | 36,5 | 53,48 |
| Hydrocarbon sesquiterpènes | | - | 14,7 | 1,4 | 25,8 | 13,03 |
| Oxygenated sesquiterpènes | | - | - | 0,34 | 4,5 | 1,68 |
| Total | | 99,9 | 92,6 | 93,59 | 99,81 | 91,8 |

NB : Les composés en gras représentent les composés majeurs de chaque HE ; IR : Indice de rétention

3- 1-3.2. Activités larvicides des huiles essentielles sur *Anopheles gambiae*

Les huiles essentielles (HE) des cinq (5) espèces végétales ont démontré une activité larvicide vis-à-vis des larves de stades 3 et 4 des deux (2) souches de *An. gambiae*, la souche sensible aux insecticides chimiques (Kisumu) et celle collectée à la Vallée du Kou (VK). Dans l'ensemble, toutes les cinq (5) HE ont été plus toxiques sur les larves des stades 3 et 4 de la souche sensible Kisumu avec des valeurs de CL₅₀ et de CL₉₀ qui ont été respectivement de 3,9 à 75,8 ppm et de 29,5 à 193,5 ppm (Tableau III). Sur les larves de *An. gambiae* de VK, les valeurs des CL₅₀ et CL₉₀ étaient comprises entre 39,5 et 138,1 ppm et 90,2 et 328,9 ppm, respectivement (Tableau IV).

Tableau III : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL₅₀ et CL₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles de plantes contre les larves de la souche sensible de *An. gambiae* Kisumu

| Traitements | CL ₅₀ (ppm) | IC 95% | CL ₉₀ (ppm) | IC 95% | X ² (df) | Slope (±SE) |
|-------------------------|------------------------|-----------|------------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Pyriproxyfen | 3,4 ^a | 0,8-5,8 | 13,6 ^a | 9,5-18,4 | 16,6 | 2,2±0,52 |
| <i>C. citratus</i> | 49,1 ^c | 42,1-54,8 | 87,6 ^c | 78,2-102,9 | 53,6 | 5,0±0,69 |
| <i>C. nardus</i> | 30,7 ^b | 17,9-40,0 | 74,7 ^c | 63,1-90,8 | 26,4 | 3,3±0,64 |
| <i>O. americanum</i> | 75,8 ^d | 65,4-85,5 | 193,5 ^d | 164,6-244,4 | 74,8 | 3,1±0,36 |
| <i>L. multiflora</i> | 3,9 ^a | 1,5-6,6 | 29,5 ^b | 22,0-40,8 | 38,5 | 1,4±0,23 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 29,4 ^b | 15,6-40,1 | 90,3 ^c | 75,3-113,1 | 27,4 | 2,6±0,50 |

CL₅₀ et CL₉₀ : Concentration létales à 50 et 90 ; IC : Intervalle de confiance ; ppm : Partie par million. Les produits dont les CL₅₀ sont suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement par le test (HSD) de Tukey p<0,001.

Tableau IV : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL₅₀ et CL₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles des plantes contre les larves de la souche résistante de *An. gambiae* de VK

| Traitements | CL ₅₀ (ppm) | IC 95% | CL ₉₀ (ppm) | IC 95% | X ² (df) | Slope (±SE) |
|-------------------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Pyriproxyfen | 23,7 ^a | 9,3-35,5 | 83,3 ^a | 66,6-106,2 | 11,5 | 1,4±0,41 |
| <i>C. citratus</i> | 138,1 ^c | 124,5-155,3 | 328,9 ^c | 267,4-451 | 72,4 | 3,3±0,39 |
| <i>C. nardus</i> | 76,5 ^b | 67,6-84,9 | 163 ^b | 143,9-193,5 | 97,5 | 3,9±0,39 |
| <i>O. americanum</i> | 89,3 ^b | 81,1-97,4 | 173,0 ^b | 154,2-201,4 | 114,0 | 4,4±0,41 |
| <i>L. multiflora</i> | 39,5 ^a | 28,6-47,8 | 90,2 ^a | 78,3-108 | 45,1 | 3,2±0,48 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 121,1 ^c | 109,9-133,6 | 267,3 ^c | 226,6-339,4 | 87,7 | 3,7±0,39 |

CL₅₀ et CL₉₀ : Concentration létales à 50 et 90 ; IC : Intervalle de confiance ; ppm : Partie par million. Les produits dont les CL₅₀ sont suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement par le test (HSD) de Tukey p<0,001.

L'HE de *L. multiflora* a été plus efficace sur les 2 souches de *An. gambiae* avec des valeurs de CL₅₀ et de CL₉₀, qui ont été respectivement de 3,9 et 29,5 ppm pour les larves de Kisumu et, de 39,5 et 90,2 ppm pour les larves de VK.

L'HE de *O. americanum* a montré la plus faible activité larvicide sur Kisumu la souche sensible aux insecticides chimiques avec des valeurs de CL₅₀ = 75,8 ppm et de CL₉₀ = 193,5 ppm, tandis que celle de *C. citratus* a montré la plus faible activité larvicide sur les larves de la souche de terrain VK avec des valeurs CL₅₀ = 138,1 ppm et CL₉₀ = 328,9 ppm.

En outre, sur les larves de Kisumu, les HE de *E. camaldulensis*, *C. nardus* et *C. citratus* ont montré de fortes activités larvicides après l'HE de *L. multiflora*, avec des valeurs CL₅₀ < 50 ppm et CL₉₀ < 91 ppm. Sur les larves VK, les HE de *C. nardus*, de *O. americanum* et de *E. camaldulensis* ont montré une forte activité larvicide après l'HE de *L. multiflora* avec des valeurs CL₅₀ < 140 ppm et une valeur CL₉₀ < 270 ppm.

Seule l'HE de *L. multiflora* a donné des valeurs CL₅₀ et CL₉₀ proches de celles du témoin positif, le pyriproxifène, sur les larves de Kisumu et de VK. En effet, au niveau des valeurs CL₅₀ et CL₉₀, aucune différence significative n'a été observée entre *L. multiflora* et le pyriproxifène sur les deux souches de *An. gambiae* testées ($p = 0,95$) avec un chevauchement des intervalles de confiance.

En ce qui concerne les mortalités obtenues sur les larves de Kisumu la souche sensible aux insecticides chimiques, l'HE de *L. multiflora* a montré une mortalité de 90 et 100% respectivement à 50 et 100 ppm (Figure 17). Elle a été suivie par les HE de *C. citratus*, *E. camaldulensis* et *C. nardus* qui ont donné des mortalités supérieures à 50% déjà à 50 ppm et supérieures à 80% à la concentration 100 ppm. L'HE de *O. americanum* avait donné la mortalité la plus faible (35% à 50 ppm et 50% à 100 ppm). Toutes les HE ont donné 100% de mortalités à partir de 150 ppm (Figure 17).

Sur les larves de la souche VK, seule l'HE de *L. multiflora* a donné une mortalité supérieure à 65% à 50 ppm, pendant que les autres HE ont donné des mortalités inférieures à 30% (Figure 18). A 100 ppm, l'HE de *L. multiflora* a donné des mortalités de 87,1% suivie de l'HE de *C. nardus* qui a donné des mortalités de 64,58%. Tandis que les trois (3) autres HE ont donné des mortalités inférieures à 50%. A 150 ppm, l'HE de *L. multiflora* a donné des mortalités de 100% et celles de *C. nardus* et *O. americanum* ont donné des mortalités supérieures à 80%

suivies de l'HE de *E. camaldulensis* dont les mortalités produites ont été supérieures à 50%. A 200 ppm, toutes les cinq (5) HE testées ont donné des mortalités supérieures à 85% (Figure 18).

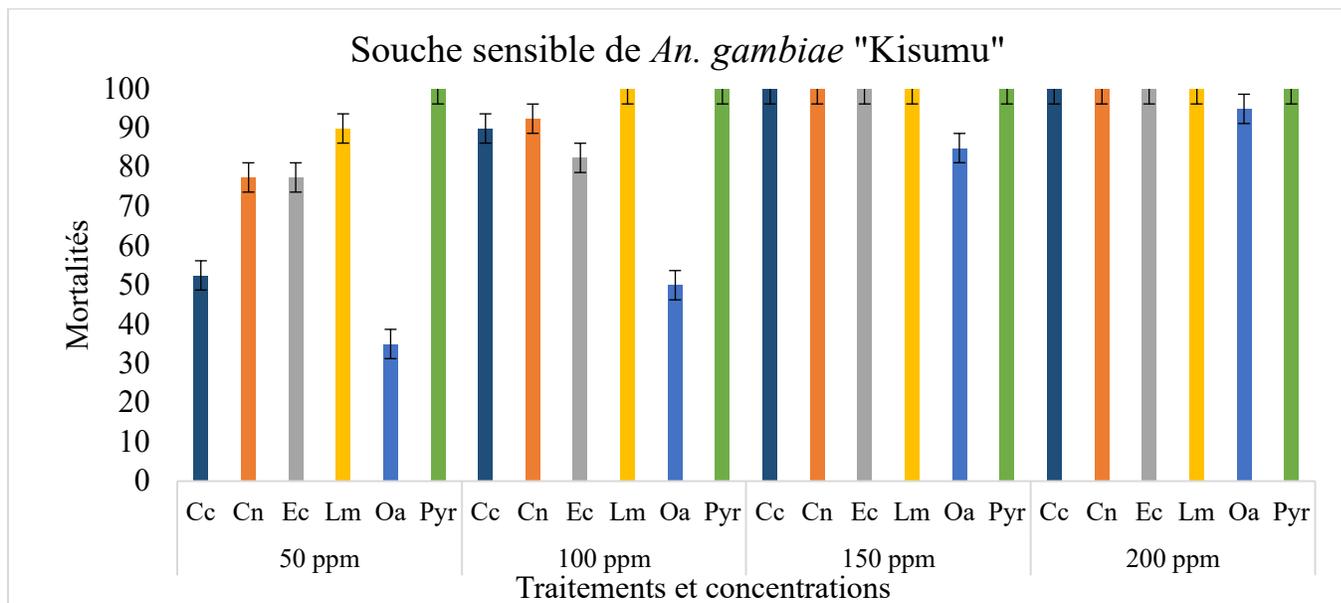


Figure 17: Mortalités des larves de la souche de *An. gambiae* « Kisumu » sensible aux insecticides chimiques en fonction des concentrations des HE. Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%. Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

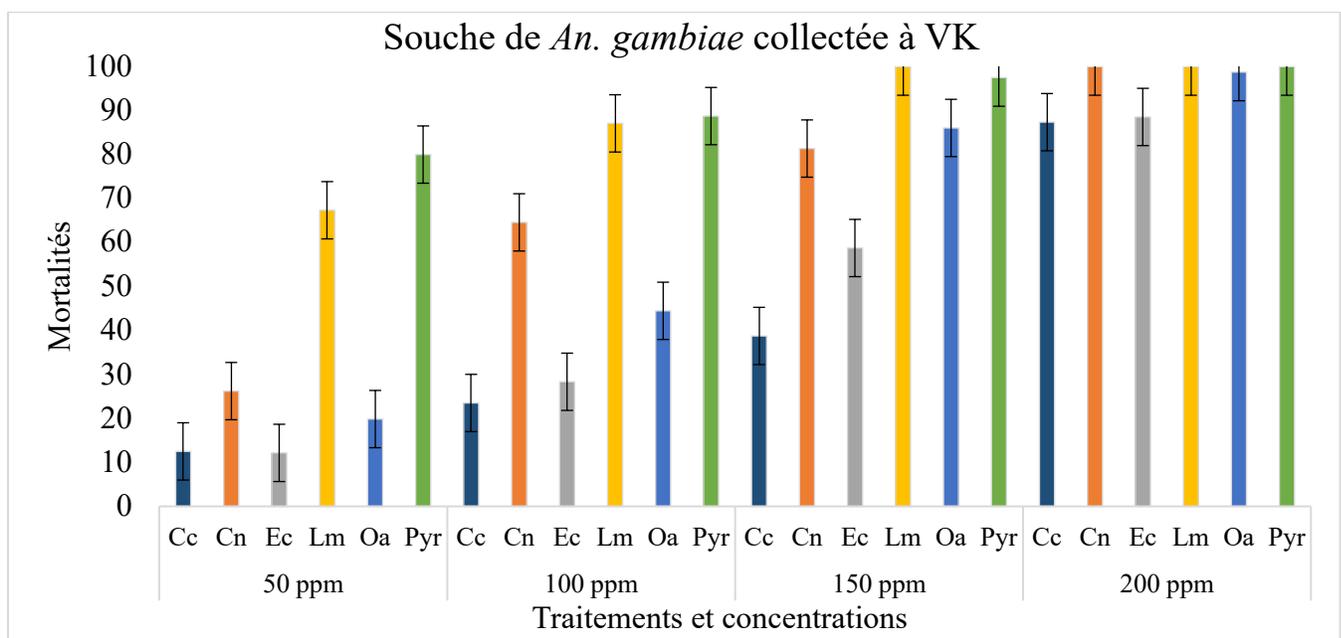


Figure 18: Mortalités des larves de la souche de terrain de *An. gambiae* « VK » en fonction des concentrations des HE. Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%. Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

3- 1-3.3. Activités larvicides des huiles essentielles sur *Aedes aegypti*

Toutes les cinq (5) HE testées ont montré une toxicité contre les larves de stades 3 et 4 des deux (2) souches de *Ae. aegypti*, sensibles (Bora Bora) et collectée sur le terrain à Bobo-Dioulasso (Tableaux V et VI ; Figures 19 et 20) . Comme dans le cas des populations de *An. gambiae*, parmi les HE, l'HE de *L. multiflora* a été la plus toxique sur les deux (2) souches de *Ae. aegypti* testées. Cette toxicité est perçue à travers les valeurs des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) et les mortalités produites sur les différentes souches de moustiques testées.

Tableau V : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL₅₀ et CL₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles contre les larves de la souche de *Ae. aegypti* sensible Bora Bora aux insecticides chimiques

| Traitments | CL ₅₀ (ppm) | IC 95% | CL ₉₀ (ppm) | IC 95% | X ² (df) | Slope(±SE) |
|-------------------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|---------------------|------------|
| Pyriproxifen | 9,5 ^a | 6,4 – 12,3 | 43,3 ^a | 34,0-61,8 | 49,7 | 1,9±0,27 |
| <i>C. citratus</i> | 61,5 ^c | 51,4 -70,4 | 132,0 ^b | 119,4-150,1 | 71,9 | 3,2±0,38 |
| <i>C. nardus</i> | 62,4 ^c | 50,2 – 72,5 | 108,8 ^b | 98,4-124,0 | 74,2 | 3,09±0,35 |
| <i>O. americanum</i> | 91,8 ^d | 83,3-100,3 | 180,9 ^c | 160,8-211,5 | 112,3 | 4,3±0,41 |
| <i>L. multiflora</i> | 41,9 ^b | 31,8-48,7 | 68,5 ^a | 61,3-84,2 | 39,5 | 2,2±0,35 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 101,3 ^d | 73,1-132,7 | 188,8 ^c | 169,5-217,6 | 120,1 | 1,2±0,31 |

Les différences significatives entre les produits testés par le test LSD de Fisher (P<0,05) ; Les produits dont les CL₅₀ sont suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement par le test (HSD) de Tukey p<0,001. CL₅₀ et CL₉₀ : Concentration létales à 50 et 90 ; IC : Intervalle de confiance ; ppm : Partie par million

Tableau VI : Les concentrations létales à 50 et 90 % (CL₅₀ et CL₉₀) et leurs intervalles de confiance des huiles essentielles contre les larves de la souche de *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso

| Traitments | CL ₅₀ (ppm) | IC 95% | CL ₉₀ (ppm) | IC 95% | X ² (df) | Slope (±SE) |
|-------------------------|------------------------|-------------|------------------------|-------------|---------------------|-------------|
| Pyriproxifen | 11,04 ^a | 8,2 – 13,7 | 43,2 ^a | 35,3-56,1 | 80,8 | 2,1±0,24 |
| <i>C. citratus</i> | 74,6 ^c | 67,7-81,2 | 152,3 ^c | 131,9-186,0 | 116,2 | 5,1±0,48 |
| <i>C. nardus</i> | 63,5 ^c | 57,3 – 69,4 | 148,5 ^c | 128,4-182,6 | 74,2 | 5,4±0,54 |
| <i>O. americanum</i> | 79,4 ^c | 67,6-90,2 | 226,3 ^d | 186,9-302,9 | 64,4 | 2,8±0,35 |
| <i>L. multiflora</i> | 42 ^b | 33,4-47,3 | 74,6 ^b | 65,3-92,5 | 22,0 | 6,0±1,28 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 103,8 ^d | 95,4-112,3 | 311,3 ^d | 238-503,1 | 18,3 | 4,9±0,45 |

Les différences significatives entre les produits testés par le test LSD de Fisher (P<0,05) ; Les produits dont les CL₅₀ sont suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement par le test (HSD) de Tukey p<0,001. CL₅₀ et CL₉₀ : Concentration létales à 50 et 90 ; IC : Intervalle de confiance ; ppm : Partie par million

En effet, les valeurs de CL₅₀ et CL₉₀ ont été respectivement de 42 et 74,6 ppm pour l'HE de *L. multiflora* testées sur les stades larvaires 3 et 4 de la souche de terrain de *Ae. aegypti* collectée à Bobo-Dioulasso. Ces valeurs ont été légèrement plus faibles que celles obtenues sur les larves des mêmes stades de la souche sensible Bora Bora (Tableaux V et VI). Également, les valeurs CL₅₀ et CL₉₀ obtenues avec l'HE de *L. multiflora* sur les larves de Bobo-Dioulasso ont été significativement inférieures à celles obtenues avec les autres HE testées pour lesquelles les valeurs de CL₅₀ et CL₉₀ ont varié respectivement de 63,5 à 103,8 ppm et de 148,5 à 311,3 ppm sur la souche collectée à Bobo-Dioulasso (Tableau VI).

Sur la souche Bora bora, les valeurs de CL₅₀ et CL₉₀ ont varié respectivement de 61,5 à 101,3 ppm et de 132 à 188,8 ppm pour les HE de *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, et *O. americanum* (Tableau V). L'HE de *E. camaldulensis* reste la moins toxique sur les deux souches de *Ae. aegypti* au regard des valeurs CL₅₀ et CL₉₀ qui ont été respectivement de 101,3 à 188 ppm pour Boro Bora et de 103,8 à 311,3 ppm pour la souche collectée à Bobo-Dioulasso. L'HE de *L. multiflora* et le pyriproxifène à la CL₉₀ sur Bora Bora ont présenté un niveau de toxicité élevé avec un chevauchement des limites de confiance à 95%, leurs taux de mortalités a été supérieur à 95% à 100 ppm. Nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative entre l'HE de *L. multiflora* et le pyriproxifène sur la souche sensible de *Ae. aegypti*, Bora Bora (F= 0,02; DDL=8, p= 0,97).

De même, il n'y a pas eu de différences significatives entre *C. citratus* et *C. nardus* concernant les valeurs CL₅₀ et CL₉₀ sur les deux souches de *Ae. aegypti* testées. De même, il n'y a pas eu de différences significatives entre les HE de *E. camaldulensis* et *O. americanum* concernant la CL₉₀ sur les larves des deux souches de *Ae. aegypti* testées et la CL₅₀ sur les larves de Bora Bora.

Aussi, sur les larves de la souche sensible Bora Bora, l'HE de *L. multiflora* a montré une mortalité de 67,5 et 98,75% respectivement à 50 et 100 ppm. A partir de 150 ppm, cette HE a donné 100% de mortalités sur les mêmes larves (Figure 19). Par contre, les autres HE ont donné des mortalités inférieures à 40% à 50 ppm. A 100 ppm, les HE de *C. citratus* et *C. nardus* ont donné respectivement des mortalités de 77,5 et 90% sur les larves de Bora Bora. Cependant, les mortalités des HE de *E. camaldulensis* et *O. americanum* ont été inférieures à 50% à 100 ppm. A partir de 150 ppm, toutes les HE ont donné des mortalités supérieures à 80% (Figure 19).

Sur les larves de la souche de Bobo-Dioulasso, les mortalités obtenues à 50 ppm avec l'HE de *L. multiflora* ont été de 64,65% tandis que celles des autres HE ont été inférieures à 30%. Les mortalités obtenues à 100 ppm avec l'HE du *L. multiflora* étaient supérieures à 95% et à partir de 150 ppm, elles ont été de 100%. Les mortalités obtenues avec les HE de *C. citratus* et *C. nardus* ont été respectivement de 70 et 74,13% à 100 ppm et à partir de 150 ppm, elles ont été supérieures à 85% (Figure 20). Tandis que celles obtenues avec les HE de *E. camaldulensis* et *O. americanum* ont été inférieures à 50% à 100 ppm et à 150 ppm, elles ont été respectivement de 51,25 et 78,75% (Figure 20). A 200 ppm, les mortalités de toutes les HE ont été supérieures à 90% sauf celles de l'HE de *E. camaldulensis*.

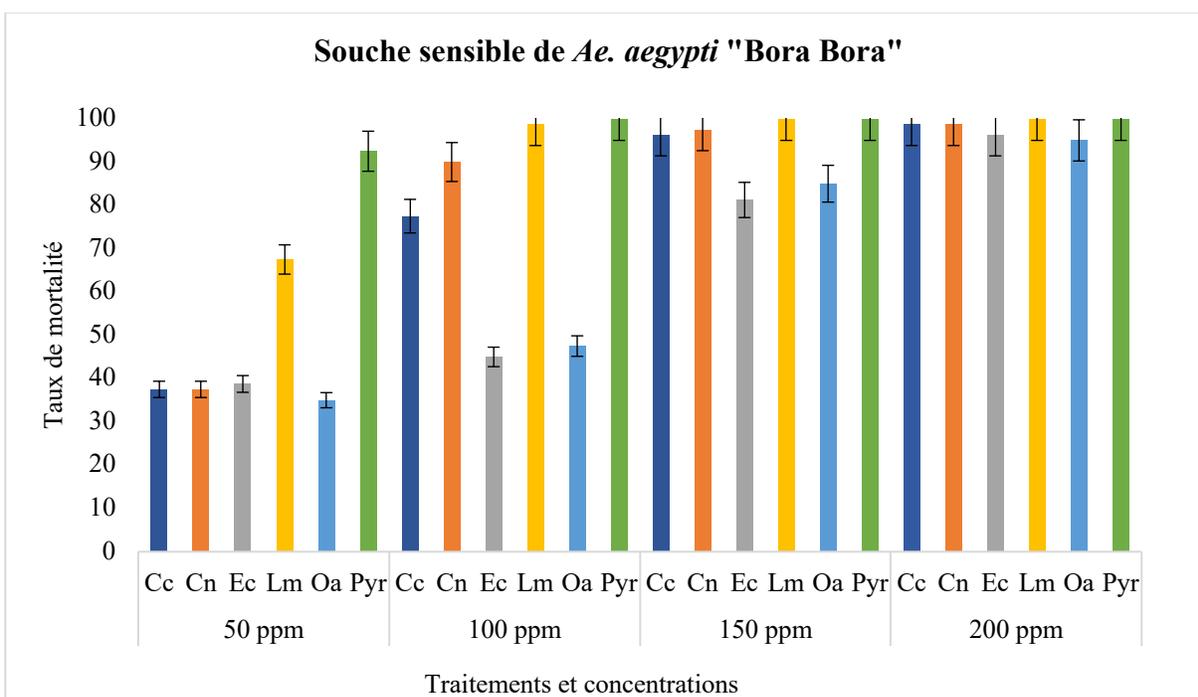


Figure 19: Mortalités en fonction des concentrations des HE des larves de la souche de *Ae. aegypti* Bora Bora sensible aux insecticides chimiques. (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

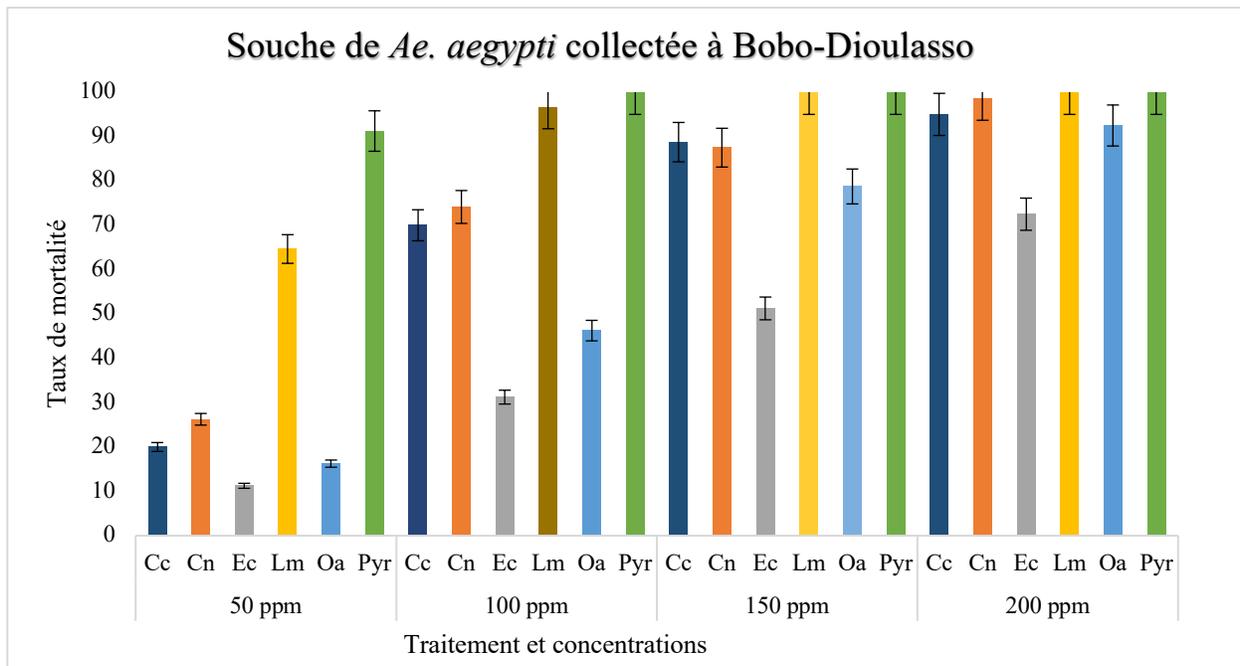


Figure 20: Mortalités en fonction des concentrations des HE des larves de la souche de *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso. (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

3- 1-4. Discussion

A l'heure actuelle, les moustiquaires imprégnées d'insecticide à longue durée d'action (MILD) et les pulvérisations intra domiciliaires à effet rémanent (PID) restent les deux principaux outils ciblant principalement les adultes de *An. gambiae* et, dans une moindre mesure, *Ae. aegypti*. Ainsi, il y a un besoin urgent de développer des outils et des techniques innovantes, y compris l'utilisation des HE contre les œufs, les stades larvaires et les adultes afin d'augmenter le succès de la lutte antivectorielle (Bassolé et al., 2003 ; Yaméogo et al., 2021).

Le statut de résistance des populations du complexe *An. gambiae* aux insecticides recommandés pour la lutte anti vectorielle a été signalé dans la partie occidentale du Burkina Faso (Dabiré et al., 2014 ; Namountougou et al., 2019). Aussi, d'autres études ont confirmé le statut de résistance de la population de *Ae. aegypti* de la ville de Bobo-Dioulasso (Namountougou et al., 2020).

Notre travail visait à étudier la bio-efficacité de cinq (5) HE de plantes locales sur les larves de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* selon les méthodes standard de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Il est connu que la plupart des études sur les tests larvicides, n'ont pas pris en compte le Pyriproxyfène comme témoin chimique, un Régulateur de Croissance des Insectes (RCI). Les RCI agissent en imitant l'une des hormones de croissance des insectes ou en perturbant directement la formation de la cuticule ou la biosynthèse des lipides. Le pyriproxyfène est recommandé par l'OMS contre les larves de moustiques à des concentrations comprises entre 0,02 et 0,05 mg/L (5 à 10 g/ha) avec un temps d'activité de 6 semaines (OMS, 2001, 2006).

Dans cette étude, toutes les cinq HE testées ont montré une activité insecticide variable contre les larves de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*. En ce qui concerne les valeurs CL₅₀ et CL₉₀, les HE de *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* et *O. americanum*, ont présenté une activité larvicide plus élevée contre les larves de troisième et quatrième stade des souches de laboratoire et de terrain de *An. gambiae* et *Ae. aegypti* après 24 heures d'exposition. La plus efficace de toutes ces HE a été celle de *L. multiflora*. La CL₅₀ de l'HE de *E. camaldulensis* a été la moins efficace sur *Ae. aegypti*, alors que l'HE de *C. citratus* reste la moins efficace sur *An. gambiae*. Ces données ne sont pas en accord avec celles trouvées par Ho Dung Manh et al. (2020) qui ont rapporté que sur les larves de *Ae. aegypti*, l'HE de *C. citratus* (CL₅₀ = 120,6 ppm) est moins efficace que celle de *E. camaldulensis* (CL₅₀ = 33,7 ppm).

Nos résultats obtenus avec l'HE de *C. nardus* sur *An. gambiae* dans cette étude sont inférieurs à ceux obtenus par Ahouansou et al. (2019) qui ont obtenu une valeur de 97,3 ppm pour la CL₅₀ sur *An. gambiae*. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Cavalcanti et al. (2004) sur les populations de *Ae. aegypti*. Dans leur étude, les HE de *O. americanum* et *C. citratus* ont donné des valeurs de CL₅₀ égales à 67 et 69 ppm respectivement. Cependant, nos résultats obtenus avec l'HE de *O. americanum* sont inférieurs à ceux rapportés par Wangrawa et al. (2016) sur les lerves de *An. gambiae* dont la CL₅₀ était de 209,84 ppm.

Les valeurs de CL₅₀ et CL₉₀ obtenues avec l'HE de *L. multiflora* dans notre étude sont plus faibles que celles rapportées par Bassolé et al. (2003). Récemment, la même tendance a été observée avec Yameogo et al. (2021) qui ont également montré l'effet toxique de l'HE de *L. multiflora* contre les populations de *Ae. aegypti* de Tabtenga à Ouagadougou.

Il est intéressant de noter que l'activité élevée de l'HE du *L. multiflora* peut résulter de la présence de trois composants majeurs : le thymol, le p-cymène et le β-caryophyllène. Selon

Folashade et Omoregie (2012), le thymol, le germacrène D, le ρ -cymène, l'acétate de thymyle et le sabinène ont été trouvés dans l'HE de *L. multiflora* au Ghana et semblent être impliqués dans son activité contre les larves de moustiques. Inversement, l'activité larvicide plus faible des HE de *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis* et *O. americanum* peut s'expliquer par l'effet mineur de la pipéritone, du géraniol et du 1,8-cinéole sur les larves de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* (Bossou et al., 2013). La diversité de composition chimique des HE testées pourrait expliquer les différences observées dans leurs activités larvicides observées dans cette étude.

En ce qui concerne les valeurs CL₅₀ et CL₉₀, la bio-efficacité de l'HE de *L. multiflora* sur les larves des souches de *An. gambiae* est plus proche de celle du pyriproxifène, le contrôle positif utilisé dans cette étude qui est le larvicide de référence. Cela ouvrirait une nouvelle alternative pour le contrôle des moustiques.

Globalement, dans les populations des deux (2) souches de *An. gambiae*, les larves de la souche Kisumu se sont avérées les plus sensibles aux HE que celles de la population de terrain (VK), connues pour leur résistance aux pyréthroïdes (Namountougou et al., 2019 ; Chandre, et al., 1999 ; Poda et al., 2018).

Comme obtenu avec *An. gambiae*, les tests avec les larves de *Ae. aegypti* ont aussi montré une sensibilité de l'HE de *L. multiflora* proche de celle du pyriproxifène. Les valeurs de CL₅₀ trouvées dans cette étude ont été légèrement inférieures à celles observées dans les populations de *Ae. aegypti* de Ouagadougou (Yaméogo et al., 2021) qui pourrait s'expliquer par le développement très prononcée de la résistance phénotypique chez les populations de *Ae. aegypti* de Ouagadougou aux principaux produits chimiques. Cette résistance phénotypique aux insecticides chimiques chez les populations de *Ae. aegypti* de Ouagadougou ont été montré par Namountougou et al. (2020) à travers les tests réalisés avec la deltaméthrine sur des populations de *Ae. aegypti* collectées à Bobo-Dioulasso et à Ouagadougou. En effet, ces études ont montré des taux de mortalité atteignant 89,62% et 82,72% respectivement pour 2013 et 2014, avec les populations de *Ae. aegypti* collectées à Bobo-Dioulasso et 50,7% et 20,7% respectivement pour 2013 et 2014, avec *Ae. aegypti* collectées à Ouagadougou. Toutes ces valeurs étaient inférieures à 90%, suggérant une résistance.

Il est très urgent de rechercher des alternatives aux produits chimiques. Nos données permettront de développer des stratégies innovantes à base d'HE.

3- 1-5. Conclusion partielle

Nos résultats ont montré que l'utilisation des HE comme larvicides est une stratégie prometteuse. Par conséquent, les HE pourraient faire l'objet d'une attention particulière dans la recherche de nouveaux produits larvicides naturels, sélectifs et biodégradables qui peuvent être utilisés dans les programmes de santé publique de lutte antivectorielle contre *An. gambiae* et *Ae. aegypti* en particulier.

Dans la perspective de valorisation de ces HE, il serait intéressant d'évaluer l'efficacité de ces HE sur les adultes de ces deux populations de moustiques.

Chapitre 2 : Évaluation des propriétés adulticides des huiles essentielles de cinq plantes locales et des combinaisons de deux d'entre elles sur des populations de *Aedes aegypti* et de *Anopheles gambiae* (Diptera : culicidae) de l'Ouest du Burkina Faso.

Les résultats présentés dans ce chapitre ont fait l'objet de deux articles publiés dans *Journal of Medical Entomology* (Article 2) et *Scientific report* (Article 3).

3- 2-1. Introduction

Les moustiquaires et la PID à effet rémanent sont les méthodes sur lesquelles se basent la LAV actuelle (OMS 2017). Les insecticides chimiques de la famille des pyréthrinoïdes sont ceux utilisés en santé publique pour l'imprégnation des moustiquaires et la PID (OMS, 2019). Cependant, la résistance aux pyréthrinoïdes constitue une menace pour l'efficacité de ces outils de protection, surtout lorsque la résistance est présente à des niveaux élevés (Churcher et al. 2016 ; Hemingway et al. 2016). Et au Burkina Faso, nous croyons que l'objectif de l'utilisation des MILDA à base de pyréthrinoïdes ne soit pas atteint (Dabire et al. 2012b).

Les extraits de plantes tels que les HE peuvent être utilisés comme alternative aux insecticides chimiques auparavant utilisés dans la LAV (Zoubiri et Baaliouamer 2014. Tripathi et al., 2009 ; Balbone et al., 2022a).

Des études antérieures avaient montré les propriétés adulticides des HE sur des moustiques (Chansang et al., 2018; Wangrawa et al., 2018; Yaméogo et al., 2021).

Tout récemment, les études de Balboné et al. (2022a) ont montré des activités larvicides intéressantes sur les populations de *Anopheles* et *Aedes* au Burkina Faso. D'autres études avaient montré que la toxicité des HE est liée à certains de leurs composés bioactifs (Sarma et al., 2019 ; Isman, 2000). Certaines études avaient également tenté de formuler des insecticides efficaces en combinant différents extraits de plantes avec des insecticides chimiques pour augmenter la toxicité globale et minimiser les effets secondaires (Mansour, Foda et Aly, 2012). Bien que des études récentes aient montré que des combinaisons des HE de *L. multilora* et de *Cymbopogon schoenanthus* ont donné des effets synergiques contre les moustiques des populations de *An. gambiae* de la souche sensible Kisumu (Wangrawa et al., 2022b), peu de connaissances sont disponibles sur l'effet du mélange d'HE sur les populations de *An. gambiae* résistantes et les populations sensibles et résistantes de *Ae. aegypti*.

Dans cette partie nous présenterons les principaux résultats des tests adulticides des HE de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora*, et *Ocimum americanum* et des combinaisons des HE de *Cymbopogon nardus* et *Ocimum americanum* sur des populations sensibles et résistantes de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae*, respectivement de la ville de Bobo-Dioulasso et de la Vallée du Kou, à l'Ouest du Burkina Faso.

3- 2-2. Méthodologie : test de sensibilité en tubes OMS

Les tests de sensibilité des HE sur les populations de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti* ont été réalisés à l'aide des kits de tests de sensibilité aux insecticides de l'OMS et selon les procédures standard (OMS, 2017) (Figure 21). Pour chaque concentration d'HE, quatre (4) lots de 20 à 25 femelles de moustiques à jeun âgés de 2 à 3 jours ont été introduits dans des tubes OMS contenant les papiers imprégnés où ils ont été mis en contact forcé avec le produit pendant une (1) heure, temps pendant lequel le nombre de moustiques femelles ayant subi un effet Knock Down (KD), c'est-à-dire les moustiques qui sont tombés sur le dos ou sur le côté, a été évalué à des intervalles de 5 minutes. Pour chaque concentration, un lot de 25 femelles de moustiques à jeun âgés de 2 à 3 jours, servant de témoin, a toujours été placé dans un tube contenant du papier neutre. Après le temps d'exposition aux HE ou aux combinaisons d'HE, les moustiques ont été transférés dans les tubes d'observation, contenant des papiers neutres, puis nourris avec du jus sucré (glucose 5%) et conservés pendant 24h. L'effet létal des HE ou des combinaisons d'HE testé a été observé à partir des taux de mortalité déterminés.

Les concentrations appliquées sur les adultes lors de ces tests en tubes OMS sont 0,1%, 0,5% et 1%. La perméthrine a été utilisée comme témoin positif.

Pour chaque HE ou combinaison d'HE testée, les souches de *An. gambiae* « Kisumu » et de *Ae. aegypti* « Bora bora » ont servi de souches de référence sensible. Lorsque la mortalité des moustiques témoins était inférieure à 5%, le test était validé. Par contre, si elle était comprise entre 5 et 20%, la mortalité des moustiques exposées aux insecticides était corrigée par la formule d'Abbott (Abbott, 1925). Si la mortalité des témoins était supérieure à 20%, le test était repris.

Pour la combinaison des deux (2) HE, neuf (9) combinaisons ont été obtenues selon les proportions de chaque HE dans la combinaisons : i) C.n 10 % : O.a 90 % ; ii) C.n 20 % : O.a 80 % ; iii) C.n 30 % : O.a 70 % ; iv) C.n 40 % : O.a 60 % ; v) C.n 50 % : O.a 50 % ; vi) C.n 60 % :

O.a 40 % ; vii) C.n 70 % : O.a 30 % ; viii) C.n 80 % : O.a 20 % et ix) C.n 90 % : O.a 10 % correspondant respectivement à C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 et C9.

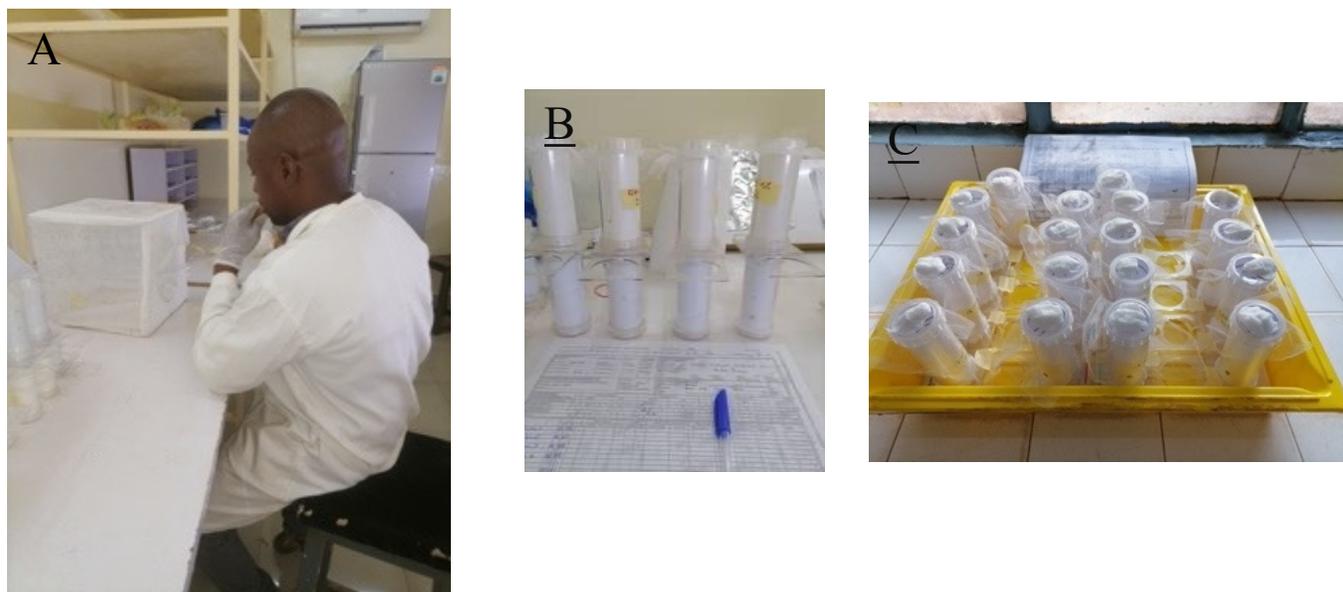


Figure 21: Quelques étapes du déroulement des tests bioessais

A : Aspiration des moustiques femelles de 3 à 5 jours non gorgés ; **B :** Mise en contact des moustiques avec les papiers imprégnés ; **C :** Mise en observation des moustiques pour 24 heures après le contact avec les papiers imprégnés (Cliché Balboné, 2020)

3- 2-3. Résultats

3- 2-3.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles

Les différents composés chimiques de chacune des cinq huiles essentielles sont résumés dans le tableau II. La description de leurs composés majeurs a été faite dans le chapitre 1 partie 3-1.3.1.

3- 2-3.2. Tests adulticides sur les populations de *Anopheles gambiae*

Les HE et les combinaisons d'HE testées ont présenté une activité adulticide plus ou moins efficaces sur les deux souches de *An. gambiae*. Cette activité a été perçue à travers les mortalités des HE/comбинаisons et leurs concentrations létales.

3- 2-3.2.1. L'activité des huiles essentielles

Avec les HE seules, les mortalités obtenues sur la souche de *An. gambiae* de terrain VK ont varié de 0,0 à 13,16 % à la concentration 0,1 % ; de 1,12 à 23,56 % à la concentration 0,5% et de 3,16 à 96,88 % à la concentration 1 % (Figure 22).

L'HE de *L. multiflora* seule a montré une forte activité avec une mortalité de 100 et 96,88 % à la concentration de 1 %, respectivement sur la souche sensible Kisumu et la souche de terrain VK. De même, l'activité élevée de l'HE de *L. multiflora* a été observée avec des valeurs CL₅₀ de 0,21 et 0,67 %, de CL₉₉ de 0,74 et 1,17 %, respectivement sur les souches Kisumu et VK, (Tableau VII). Également, cette HE a donné les plus faibles valeurs de KDT₅₀ et KDT₉₅ sur les deux souches de *An. gambiae* testées (KDT₅₀ = 19,8 et 58,8; KDT₉₅ = 87,2 et 142,7 min, respectivement pour Kisumu et VK à la concentration plus faible, 0,1 %) (Tableau VIII).

L'HE de *E. camaldulensis* a été la moins toxique avec une mortalité inférieure à 10 % à la concentration de 1 % sur la souche sensible Kisumu (Figure 22), des valeurs de KDT₅₀ et KDT₉₅ élevée (KTD₅₀ = 144,8 et 166,1 min, respectivement pour les souches Kisumu et VK à la concentration la plus élevée, 1 %) et des valeurs CL₅₀ de 2,86 et 2,94 %, CL₉₉ de 5,05 et 5,26 %, respectivement sur les souches Kisumu et VK.

De plus, les HE de *C. nardus* (mortalités de 86,36 et 40,63 %, CL₅₀ de 0,63 et 1,12 %, respectivement sur Kisumu et VK) et de *O. americanum* (mortalités de 41,49 et 6,38 %, des CL₅₀ de 2,18 et 2,21 %, respectivement sur Kisumu et VK) ont des activités adulticides plus élevées que celle de l'HE de *C. citratus* (mortalités de 35,29 et 4,76 %, CL₅₀ de 2,3 et 2,7% sur Kisumu et VK, respectivement) (Figure 22 et Tableau VII).

Pour la souche sensible Kisumu, aucune différence significative n'a été observée avec la CL₅₀ et la CL₉₉ pour les HE de *C. citratus*, *E. camaldulensis* et *O. americanum*. Cependant, sur la souche de terrain VK, il y avait une différence significative avec toutes les HE (Tableau VII). La concentration diagnostique a été obtenue à partir de deux fois la CL₉₉ sur la souche sensible (OMS, 2017). La concentration diagnostique la plus faible (1,48%) a été obtenue avec l'HE de *L.*

multiflora. Cette concentration diagnostique n'a pas été significativement différente de la concentration diagnostique de la perméthrine 0,75%, le contrôle positif. Les concentrations diagnostiques les plus élevées ont été obtenues avec les HE de *O. americanum* (9,18%), *C. citratus* (9,4%) et *E. camaldulensis* (10,1%).

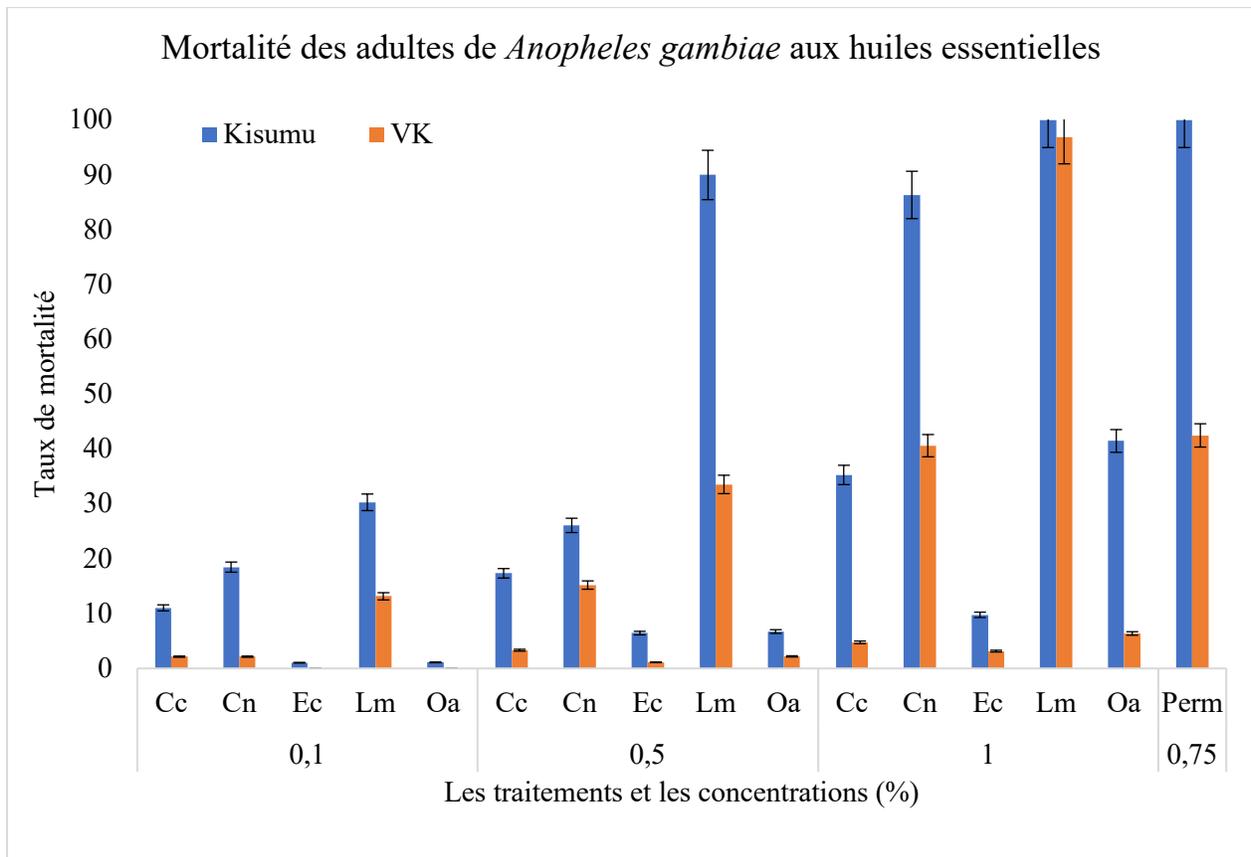


Figure 22: Taux de Mortalité des adultes de *An. gambiae* Kisumu et VK en fonction des concentration des HE. (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Tableau VII : Concentrations létales 50 et 99 (CL₅₀, CL₉₉) et concentrations diagnostiques pour les huiles essentielles et les combinaisons de *C. nardus* et *O. americanum* testées sur *Anopheles gambiae*

| Traitements | Kisumu | | VK | | Diagnostic concentration (%) | Rapport de résistance (RR) | |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------|
| | CL ₅₀ (%) (IC95) | CL ₉₉ (%) (IC95) | CL ₅₀ (%) (IC95) | CL ₉₉ (%) (IC95) | | RR ₅₀ | RR ₉₉ |
| <i>C. citratus</i> | 2,3 (1,9-2,7) | 4,7 (4,4-6) | 2,7 - | 4,84 - | 9,4 | 1,17 | 0,97 |
| <i>C. nardus</i> | 0,63 (0,6-0,7) | 1,66 (1,4-2) | 1,12 (1-1,3) | 2,16 (1,8-2,7) | 3,32 | 1,78 | 0,77 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 2,86 (1,6-9,3) | 5,26 (4,1-5,5) | 2,94 - | 5,05 - | 10,1 | 1,028 | 1,04 |
| <i>L. multiflora</i> | 0,21 0,16-0,3 | 0,74 (0,6-0,9) | 0,67 (0,6-0,7) | 1,17 (1,1-1,3) | 1,48 | 3,19 | 0,63 |
| <i>O. americanum</i> | 2,18 (1,5-3) | 4,13 (2,6-5,5) | 2,21 (1,5-3,5) | 4,59 (2,9-5,8) | 9,18 | 1,01 | 0,9 |
| C1 | 1,37 (1,1-1,8) | 2,95 (2,3-3,4) | 2,9 - | 6,4 - | 5,9 | 2,12 | 0,46 |
| C2 | 0,76 (0,7-0,8) | 1,69 (1,5-2) | 1,18 (1,0-1,4) | 2,45 (2-3,3) | 3,38 | 1,55 | 0,69 |
| C3 | 0,61 (0,5-0,7) | 1,31 (1,2-1,5) | 2,07 (1,5-5) | 5 (4,2-5,9) | 2,62 | 3,39 | 0,26 |
| C4 | 0,46 (0,4-0,5) | 1,19 (1-1,4) | 1,25 (1,2-1,5) | 2,48 (2-3,4) | 2,38 | 2,72 | 0,48 |
| C5 | 0,57 (0,5-0,6) | 1,16 (1-1,3) | 1,36 (1,1-2) | 3,26 (2,4-5,5) | 2,32 | 2,38 | 0,35 |
| C6 | 0,28 (0,2-0,3) | 1 (0,9-1,2) | 1,08 - | 2,15 - | 2 | 3,86 | 0,46 |
| C7 | 1,93 (1,4-4) | 4,3 (3-4,7) | 2,44 (1,6-3,2) | 5,07 (3,1-5,6) | 8,6 | 1,26 | 0,85 |
| C8 | 0,23 (0,2-0,3) | 0,58 (0,5-0,7) | 0,89 (0,8-1) | 1,3 (1,9-3) | 1,16 | 1,17 | 0,97 |
| C9 | 0,22 (0,2-0,3) | 0,52 (0,4-0,6) | 0,32 (0,3-0,4) | 0,59 (0,5-0,7) | 1,04 | 3,87 | 0,12 |
| Permethrine | 0,63 (0,59-0,8) | 1,1 (0,9-1,3) | 1,75 (1,7-2,1) | 2,4 (2,1-2,8) | 2,2 | 1,17 | 0,97 |

CL = Concentration létale ; IC = Intervalle de confiance ; Cn = *Cymbopogon nardus*; Oa = *Ocimum americanum*

Tableau VIII: KDT₅₀, KDT₉₅ obtenus avec les huiles essentielles des 5 plantes sur les deux souches de *Anopheles gambiae* (Kisumu et de VK)

| Traitements | Doses (%) | <i>Anopheles gambiae</i> « Kisumu » | | <i>Anopheles gambiae</i> « VK » | |
|-------------------------|-----------|-------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) |
| <i>C. citratus</i> | 0,1 | 103,24 | 204,66 | 140,2 | 318,7 |
| | 0,5 | 77,10 | 155,86 | 124,9 | 275,8 |
| | 1 | 60,19 | 132,39 | 116,5 | 233,6 |
| <i>C. nardus</i> | 0,1 | 88,37 | 196,99 | 148,6 | 241,8 |
| | 0,5 | 33,3 | 108,9 | 90,2 | 149,5 |
| | 1 | 5,8 | 11,5 | 12,4 | 70,7 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,1 | 192,2 | 289,7 | 227,3 | 309,7 |
| | 0,5 | 157,1 | 275,1 | 189,9 | 286,7 |
| | 1 | 144,8 | 266,5 | 166,1 | 280 |
| <i>L. multiflora</i> | 0,1 | 19,8 | 58,8 | 87,2 | 142,7 |
| | 0,5 | 10,5 | 19 | 32 | 57,7 |
| | 1 | -28,3 | -8,2 | -5,9 | 1,5 |
| <i>O. americanum</i> | 0,1 | 137,5 | 225,6 | 156,4 | 267,5 |
| | 0,5 | 87,06 | 146,64 | 144,7 | 248,9 |
| | 1 | 30,04 | 60,76 | 116,3 | 204,6 |
| Permethrine | 0,75 | 16,3 | 30 | 41,2 | 100 |

KDT₅₀ : temps nécessaire pour assommer 50% des moustiques et KDT₉₅ : temps nécessaire pour assommer 95% des moustiques

3.2.3.2.2. L'activité des combinaisons des huiles essentielles

En utilisant les combinaisons sur les deux souches de *An. gambiae* (Kisumu et VK), les mortalités sur la souche de terrain VK ont varié de 1,15 à 12,15 %; 5,21 à 94 % et 9,62 à 100 %, respectivement aux concentrations de 0,1 ; 0,5 et 1 % (Figure 23). Les mortalités sur la souche Kisumu ont été plus remarquables aux mêmes concentrations (Figure 23).

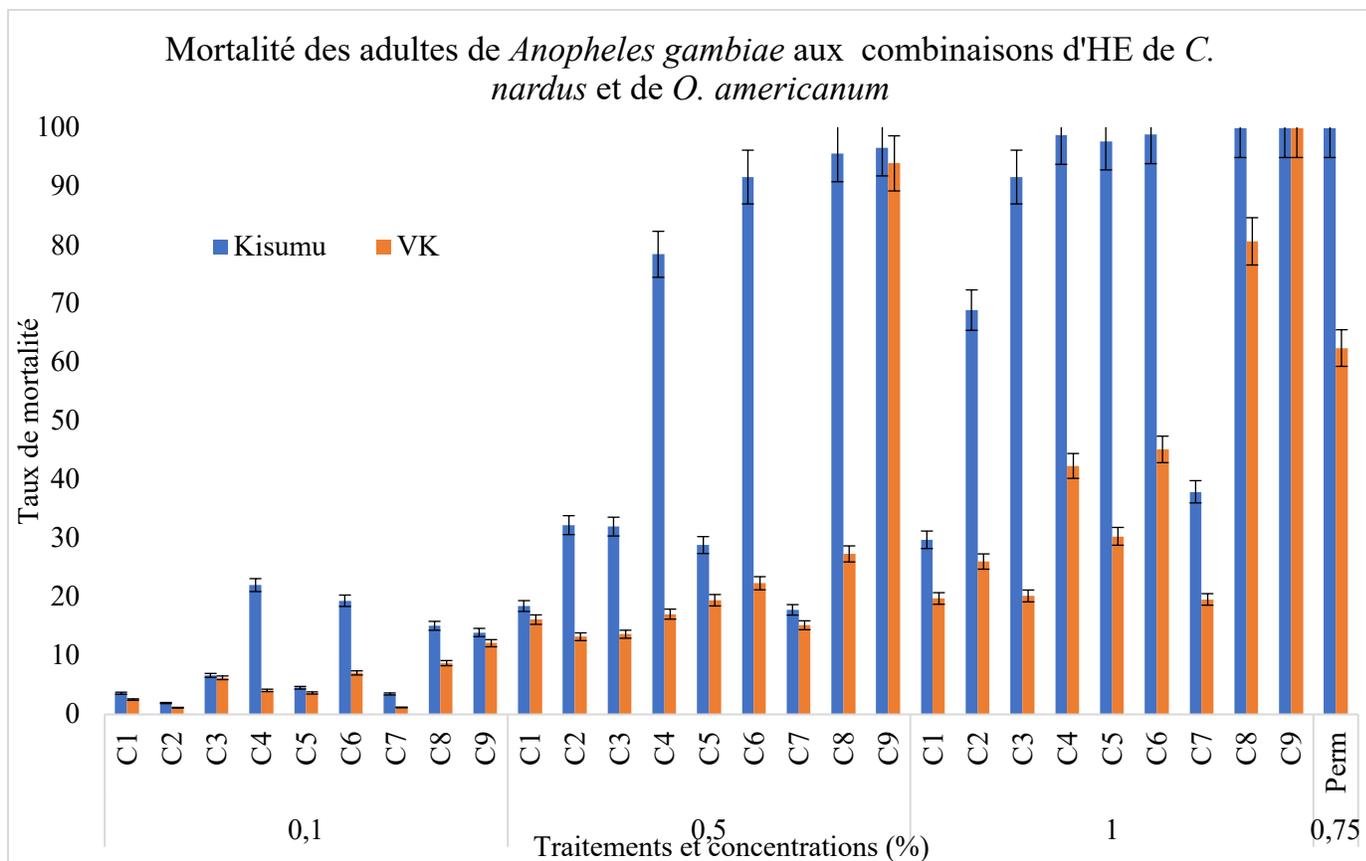


Figure 23: Taux de Mortalité des adultes de *An. gambiae* de Kisumu et VK en fonction des concentration des combinaisons des HE de *C. nardus* et *O. americanum*. (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

La combinaison C9 présentait une toxicité élevée sur toutes les souches. En effet, cette combinaison a donné une mortalité de 100% à la concentration de 1% sur les deux souches de *An. gambiae* testées, 96,7 et 94 % à la concentration de 0,5 %, respectivement sur les souches Kisumu et VK. De plus, C9 a présenté les plus faibles valeurs de KDT (Tableau IX) et les plus faibles valeurs de CL₅₀ et CL₉₉ sur les deux souches (CL₅₀ de 0,22 et 0,32 %, CL₉₉ de 0,52 et 0,59 %, respectivement sur Kisumu et VK) (Tableau VIII). Également, C9 a été la seule combinaison qui a produit un effet synergique sur les deux souches (Tableaux X et XI).

En outre, les combinaisons C6 et C8 ont présenté une toxicité élevée avec des taux de mortalité supérieurs à 98% à la concentration de 1 % sur la souche Kisumu. Sur la souche VK, la toxicité de ces deux combinaisons était relativement élevée avec des mortalités de 45,21 et 80,7

% à la concentration de 1%, respectivement pour C6 et C8. Avec ces deux combinaisons, les valeurs de KDT étaient légèrement faibles sur les deux souches ($KDT_{95} = 20.7$ min 12.2 min à la concentration de 1% sur la souche VK, respectivement pour C6 et C8) aussi, les CL_{50} et CL_{99} étaient légèrement élevées par rapport à C9 sur les deux souches ($CL_{50} = 1.08$ et 0.89%, $CL_{99} = 1.3$ et 2.15%, respectivement). Sur la souche Kisumu, C8 a produit un effet synergique et C6 un effet additif (Tableau X).

Les combinaisons C2, C4 et C6 ont donné des valeurs CL_{50} et CL_{99} respectivement inférieures à 1,5 et 2,5% avec la souche VK. Toutes les autres combinaisons ont donné des CL_{50} supérieures à 2 et des CL_{99} supérieures à 5%, sauf C5 qui a donné 1,36% comme CL_{50} et 3,26% pour CL_{99} sur la souche VK (Tableau VIII).

Les plus faibles concentrations diagnostiques de 1,04%, 1,16% et 1,48% ont été obtenues respectivement avec les C9 et C8, et l'HE de *L. multiflora* (Tableau VIII).

Les CL_{50} et CL_{99} obtenues sur les deux souches de *An. gambiae* ont été significativement plus faibles pour les combinaisons C9, C8 et C6 que celles obtenues avec chacune des 2 HE qui ont servi à la combinaison (Tableau VIII). Les valeurs de CL_{50} obtenues avec les combinaisons C8 sur la souche VK n'ont montré aucune différence avec celles obtenues avec l'HE de *C. nardus* avec des intervalles de confiance qui se chevauchent, de même les CL_{50} obtenues avec C3, C4, C5 et C7 n'ont montré aucune différence avec celles obtenues avec l'HE de *O. americanum* sur la souche VK ($p < 0,0001$) (Tableau VIII).

Les ratios de résistance obtenus avec toutes les HE ainsi qu'avec toutes les combinaisons étaient inférieurs à 5 (Tableau VIII). Cela indique que même s'il y a une résistance avec certaines HE et les combinaisons, elle serait très faible.

L'HE *L. multiflora* et la combinaison C9 ont produit des mortalités plus élevées et des KDT plus faibles à la concentration de 0,5% que la perméthrine 0,75%.

Les concentrations diagnostiques les plus faibles ont été obtenues respectivement avec C9 et C8 avec des valeurs de 1,04 et 1,16 % respectivement. Ces deux concentrations diagnostiques n'ont pas été significativement différentes de la concentration diagnostique de perméthrine 0,75%, le contrôle positif ($p = 0,91$). Les concentrations diagnostiques les plus élevées ont été obtenues avec C1 (5,9%) et C7 (8,6%).

Tableau IX: KDT₅₀, KDT₉₅ avec les combinaisons d'huiles essentielles de *C. nardus* et de *O. americanum* sur les souches de *Anopheles gambiae* (Kisumu et VK)

| Codes | Traitements | Doses (%) | <i>Anopheles gambiae</i> "Kisumu" | | <i>Anopheles gambiae</i> "VK" | |
|-------|----------------------|--------------|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| | | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) |
| C1 | C.n 10 % : O.a 90 %) | 0,1 | 102 | 132,9 | 171,6 | 321,3 |
| | | 0,5 | 9,6 | 22,1 | 33 | 57,3 |
| | | 1 | 4,4 | 13,2 | 27,4 | 50,3 |
| C2 | C.n 20 % : O.a 80 % | 0,1 | 131,7 | 232,7 | 222 | 310 |
| | | 0,5 | 3,3 | 13,2 | 35 | 73,3 |
| | | 1 | 2,4 | 10,2 | 16 | 25,9 |
| C3 | C.n 30 % : O.a 70 % | 0,1 | 142,8 | 232,7 | 178,1 | 304 |
| | | 0,5 | 10,8 | 21 | 25 | 38,5 |
| | | 1 | 5,5 | 13,4 | 16 | 16,1 |
| C4 | C.n 40 % : O.a 60 % | 0,1 | 108,7 | 147,1 | 142,4 | 172,1 |
| | | 0,5 | 7,3 | 16,9 | 20,3 | 47,6 |
| | | 1 | 6,7 | 12,4 | 7,7 | 14,3 |
| C5 | C.n 50 % : O.a 50 % | 0,1 | 91 | 153,6 | 106,7 | 182,8 |
| | | 0,5 | 11,2 | 18,6 | 23,5 | 78,7 |
| | | 1 | 0,5 | 13,1 | 7,1 | 16,5 |
| C6 | C.n 60 % : O.a 40 % | 0,1 | 77,4 | 145 | 116,1 | 168,1 |
| | | 0,5 | 15,7 | 37,6 | 48,1 | 64,9 |
| | | 1 | 8,6 | 13,4 | 8,9 | 20,7 |
| C7 | C.n 70 % : O.a 30 % | 0,1 | 131,9 | 245,3 | 166,1 | 303,3 |
| | | 0,5 | 48,7 | 99,6 | 137,2 | 225 |
| | | 1 | 11,6 | 17,4 | 13,2 | 28,8 |
| C8 | C.n 80 % : O.a 20 % | 0,1 | 76,4 | 150,6 | 119 | 218,2 |
| | | 0,5 | -25,2 | 28,8 | 24,2 | 52,7 |
| | | 1 | -26,9 | 1,4 | -2,1 | 12,2 |
| C9 | C.n 90 % : O.a 10 % | 0,1 | 23,5 | 77 | 53,5 | 126,7 |
| | | 0,5 | -32,3 | 3,7 | -5 | 7,4 |
| | | 1 | -227,9 | -70,1 | -227,3 | -69,6 |
| | Perméthrine | 0,75 | 16,3 | 30 | 41,2 | 90,4 |

KDT₅₀ : temps nécessaire pour assommer 50% des moustiques et KDT₉₅ : temps nécessaire pour assommer 95% des moustiques

Tableau X: Effets des interactions des HE de *Cymbopogon nardus* (C.n) et *Ocimum americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche sensible de *An. gambiae* Kisumu (n = 150).

| Rapport des huiles dans les combinaisons | Codes | CL ₅₀ % | FIC _{Cn} | FIC _{O.a} | FIC | Effet |
|--|-------|--------------------|-------------------|--------------------|------|------------|
| C.n 0% : O.a 100% | - | 2,18 | - | - | - | - |
| C.n 10% : O.a 90% | C1 | 1,37 | 2,17 | 0,63 | 2,80 | Sans effet |
| C.n 20% : O.a 80% | C2 | 0,76 | 1,21 | 0,35 | 1,55 | Sans effet |
| C.n 30% : O.a 70% | C3 | 0,61 | 0,97 | 0,28 | 1,25 | Sans effet |
| C.n 40% : O.a 60% | C4 | 0,46 | 0,73 | 0,21 | 0,94 | Sans effet |
| C.n 50% : O.a 50% | C5 | 0,57 | 0,90 | 0,26 | 1,17 | Sans effet |
| C.n 60% : O.a 40% | C6 | 0,28 | 0,44 | 0,13 | 0,57 | Additif |
| C.n 70% : O.a 30% | C7 | 1,93 | 3,06 | 0,89 | 3,95 | Sans effet |
| C.n 80% : O.a 20% | C8 | 0,23 | 0,37 | 0,11 | 0,47 | Synergiste |
| C.n 90% : O.a 10% | C9 | 0,22 | 0,35 | 0,10 | 0,45 | Synergiste |
| C.n 100% : O.a 0% | - | 0,63 | - | - | - | - |

FIC = FIC_{Cn} + FIC_{O.a}; Synergiste: FIC < 0.5; Additif; 0.5 ≤ FIC ≤ 1; Sans effet: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagoniste: FIC > 4.

Tableau XI: Effets des interactions des HE de *Cymbopogon nardus* (C.n) et *Ocimum americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche de *An. gambiae* de VK (n = 150).

| Rapport des huiles dans les combinaisons | Codes | CL ₅₀ % | FIC _{Cn} | FIC _{O.a} | FIC | Effet |
|--|-------|--------------------|-------------------|--------------------|------|------------|
| C.n 0% : O.a 100% | - | 2,21 | - | - | - | - |
| C.n 10% : O.a 90% | C1 | 2,9 | 1,31 | 2,59 | 3,9 | Sans effet |
| C.n 20% : O.a 80% | C2 | 1,18 | 0,53 | 1,05 | 1,58 | Sans effet |
| C.n 30% : O.a 70% | C3 | 2,07 | 0,94 | 1,85 | 2,79 | Sans effet |
| C.n 40% : O.a 60% | C4 | 1,25 | 0,56 | 1,12 | 1,68 | Sans effet |
| C.n 50% : O.a 50% | C5 | 1,36 | 0,61 | 1,2 | 1,81 | Sans effet |
| C.n 60% : O.a 40% | C6 | 1,08 | 0,49 | 0,96 | 1,45 | Sans effet |
| C.n 70% : O.a 30% | C7 | 2,44 | 1,1 | 2,17 | 3,27 | Sans effet |
| C.n 80% : O.a 20% | C8 | 0,89 | 0,40 | 0,79 | 1,19 | Sans effet |
| C.n 90% : O.a 10% | C9 | 0,32 | 0,14 | 0,28 | 0,42 | Synergiste |
| C.n 100% : O.a 0% | - | 1,12 | - | - | - | - |

FIC = FIC_{Cn} + FIC_{O.a}; Synergiste: FIC < 0.5; Additif; 0.5 ≤ FIC ≤ 1; Sans effet: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagoniste: FIC > 4.

3- 2-3.3. Tests adulticides sur les populations de *Aedes aegypti*

3- 2-3.3.1. L'activité des huiles essentielles

Le tableau XII résume les temps nécessaires pour assommer 50 et 95% de moustiques (KDT₅₀ et KDT₉₅) avec les intervalles de confiance de 95% (IC95%) obtenus sur les deux souches de *Ae. Aegypti* testées (Bora bora et de Bobo-Dioulasso) avec les HE.

Sur la souche de Bobo-Dioulasso, les valeurs de KDT₅₀ et KDT₉₅ variaient respectivement de 234,1 à 113,5 min et 343,9 à 182,8 min à la concentration 0,1%, de 209,4 à 43 min et 297,2 à 75 min à 0,5% et de 190,5 à 20,5 et 287 à 32,8 à 1%. Sur cette souche, les valeurs de KDT les plus faibles ont été obtenues avec l'HE de *L. multiflora*, suivies par les HE de *C. nardus* et *O. americanum*, et les valeurs de KDT les plus élevées ont été obtenues avec l'HE de *E. camaldulensis*.

À la concentration la plus élevée (1%), il n'y a pas de différences significatives entre les valeurs de KDT obtenues avec les HE testées sur les deux souches de *Ae. aegypti*, à l'exception de celles obtenues avec les HE de *C. nardus* et de *L. multiflora*.

Sur la souche sensible Bora Bora, les valeurs du KDT₅₀ et du KDT₉₅ des HE de *L. multiflora* et de *C. nardus* ont été respectivement de -3,9 ; 7,8 min et 24 ; 33,7 min à une concentration de 1%. Sur la souche sensible Bora Bora, les KDT ont été les plus faibles et les mortalités les plus élevées que celles obtenues sur la souche Bobo-Dioulasso.

Tableau XII : les temps nécessaires pour assommer 50 et 95% (KDT₅₀ et KDT₉₅) avec les intervalles de confiance à 95% (IC95%) obtenus sur les deux souches de *Ae. Aegypti* testées (Bora bora et de Bobo-Dioulasso) avec les HE.

| Huiles essentielles | Concentrations | <i>Aedes aegypti</i> "Bora bora" | | <i>Aedes aegypti</i> "Bobo-Dioulasso" | |
|-------------------------|----------------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) |
| <i>C. citratus</i> | 0,1 | 193,3 | 291,1 | 221,2 | 311,2 |
| | 0,5 | 192,6 | 290,2 | 228,1 | 298,5 |
| | 1 | 140,6 | 230,4 | 142,5 | 244,8 |
| <i>C. nardus</i> | 0,1 | 88,6 | 134 | 179 | 278 |
| | 0,5 | 35,6 | 53,8 | 88,7 | 143,9 |
| | 1 | 24 | 33,7 | 35,6 | 57,2 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0,1 | 211,3 | 299,1 | 234,1 | 343,9 |
| | 0,5 | 178,1 | 285,7 | 209,4 | 297,2 |
| | 1 | 156,5 | 267,5 | 190,3 | 287,2 |
| <i>L. multiflora</i> | 0,1 | 107 | 178,7 | 113,5 | 182,8 |
| | 0,5 | 40,9 | 72 | 43 | 75 |
| | 1 | -3,9 | 7,8 | 20,5 | 32,8 |
| <i>O. americanum</i> | 0,1 | 131,57 | 194,82 | 151,7 | 264,3 |
| | 0,5 | 128,1 | 188,4 | 145,3 | 247,5 |
| | 1 | 125,7 | 210,6 | 133,3 | 249 |
| Permethrin | 0,75 | 16,6 | 29,1 | 144 | 188,7 |

KDT₅₀ et KDT₉₅ : Temps de knock down de 50 et 95% de moustiques ; min : minute

Les mortalités (Figure 24) et les valeurs de CL₅₀ et CL₉₉ (Tableau XIII) ont varié en fonction des HE testées, de leurs concentrations et de la souche de *Ae. aegypti* sur laquelle les HE ont été testées. Comme dans le cas de *An. gambiae*, L'HE de *L. multiflora* a été toujours celle qui a l'activité la plus élevée quelle que soit la souche de *Ae. aegypti* sur laquelle elle a été testée. En effet, elle a produit les mortalités les plus élevées et les concentrations létales les plus faibles (mortalité = 85% à la concentration de 1% ; CL₅₀ = 0,79% et CL₉₉ = 1,25 pour la souche de Bobo-Dioulasso et une mortalité de 100% à la concentration 1% avec pour CL₅₀ = 0,57% et CL₉₉ = 1,03 pour la souche Bora Bora). A la concentration 1%, l'HE de *C. nardus* a produit des mortalités de 20,34% et 12,75%, respectivement sur les souches Bora Bora et Bobo-Dioulasso. L'HE de *E. camaldulensis* a l'activité la plus faible avec les plus faibles mortalités sur les deux

souches (7,14 et 0,7% à la concentration 1%, respectivement sur les souches de Bora Bora et Bobo-Dioulasso).

La concentration diagnostique la plus faible de 2,06 %, a été obtenue avec l'HE de *L. multiflora*. La concentration diagnostique la plus élevée a été obtenue avec l'HE de *E. camaldulensis* (15,62 %).

Sur les deux souches de *Ae. aegypti*, les mortalités obtenues avec l'HE de *L. multiflora* ont été significativement plus élevées que celles obtenues avec la perméthrine 0,75%.

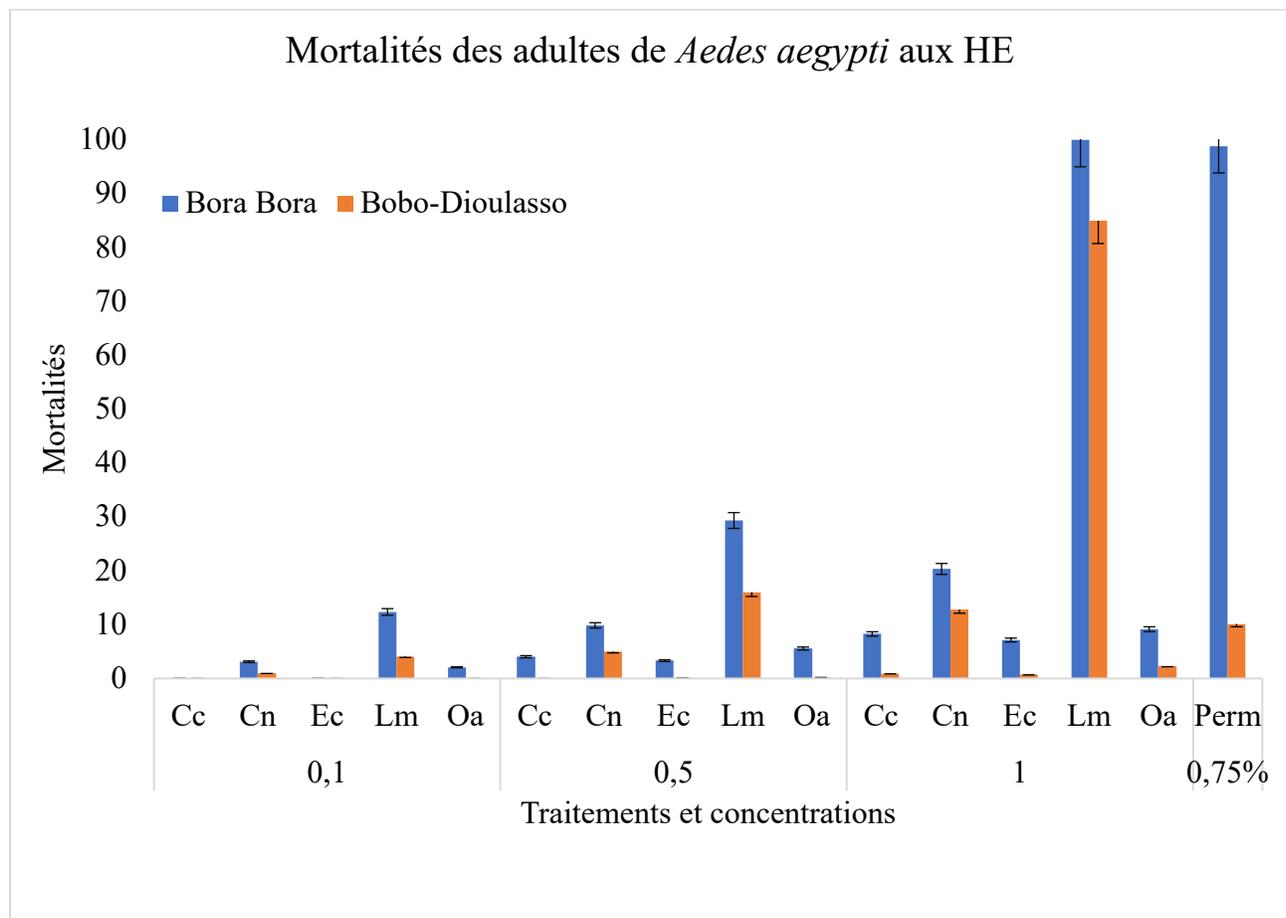


Figure 24: Mortalité des adultes de *Ae. aegypti* en fonction des concentrations des HE.

(Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Tableau XIII : Concentrations létales 50 et 99 (CL₅₀, CL₉₉) et concentrations diagnostiques pour les huiles essentielles et les combinaisons de *C. nardus* et *O. americanum* testées sur *Aedes aegypti*

| Traitements | Bora Bora | | Bobo-Dioulasso | | Diagnostic concentration (%) | Rapport de résistance (RR) | |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------|
| | CL ₅₀ (%) (IC95) | CL ₉₉ (%) (IC95) | CL ₅₀ (%) (IC95) | CL ₉₉ (%) (IC95) | | RR ₅₀ | RR ₉₉ |
| <i>C. citratus</i> | 2,7 (-) | 4,9 (-) | - | - | 9,88 | - | - |
| <i>C. nardus</i> | 2,24 (1,6-2,7) | 4,3 (2,7-4,9) | 2,94 (1,4-3,8) | 5,9 (5,7-8,7) | 8,6 | 1,31 | 1,37 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 3,58 (3,3-4,2) | 7,81 (-) | - | - | 15,62 | - | - |
| <i>L. multiflora</i> | 0,57 (0,5-0,6) | 1,03 (0,9-1,2) | 0,79 (0,7-0,8) | 1,25 (1,1-1,4) | 2,06 | 1,38 | 1,21 |
| <i>O. americanum</i> | 2,7 (-) | 4,9 (3,4-5,3) | 3,1 (-) | 5,3 (-) | 9,8 | 1,14 | 1,08 |
| C1 | 3,63 (-) | 6,41 (-) | 3,9 (-) | 6,8 (-) | 12,72 | 1,07 | 1,06 |
| C2 | 0,77 (0,7-0,8) | 1,28 (1,2-1,4) | 0,84 (0,8-0,9) | 1,3 (1,2-1,4) | 2,56 | 1,09 | 1,01 |
| C3 | 2,68 (1,46-5) | 4,5 (3,2-5,9) | 2,6 (-) | 4,9 (-) | 8,4 | 0,97 | 1,09 |
| C4 | 1,49 (1,2-2,2) | 2,66 (2-4,6) | 1,98 (1,5-2,3) | 3,9 (2,4-4,6) | 5,06 | 1,33 | 1,47 |
| C5 | 3,83 (-) | 8,3 (-) | 4,02 (-) | 9,7 (-) | 16,6 | 1,05 | 1,17 |
| C6 | 1,68 (1,4-3,5) | 2,92 (2,3-7,7) | 1,79 (1,3-3,3) | 3,27 (2,1-3,1) | 6,54 | 1,06 | 1,11 |
| C7 | 1,7 (1,3-1,9) | 2,94 (1,9-4,4) | 3,47 (-) | 6,1 (-) | 5,88 | 2,04 | 2,07 |
| C8 | 0,6 (0,5-0,6) | 1,08 (1-1,2) | 0,7 (0,6-0,8) | 1,2 (1,1-1,3) | 2,16 | 1,17 | 1,11 |
| C9 | 0,97 (0,8-1,1) | 2,29 (1,9-3) | 0,99 (0,9-1,3) | 2,56 (2-3,5) | 4,58 | 1,02 | 1,12 |
| Permethrine | 0,75 (0,6-1,1) | 1,69 (1,6-1,8) | 2,2 (2,1-2,6) | 3,5 (2,3-5,8) | 3,38 | 2,93 | 2,07 |

CL = Concentration létale ; IC = Intervalle de confiance ; Cn = *Cymbopogon nardus*; Oa = *Ocimum americanum*

3- 2-3.3.2. L'activité des combinaisons des huiles essentielles

Les valeurs des KDT₅₀ et KDT₉₅ (Tableau XIV) et les mortalités obtenues avec les combinaisons préparées à partir des HE de *C. nardus* et de *Ocimum americanum* sur les deux souches de *Ae. aegypti* ont varié selon les proportions des HE combinées et les concentrations des combinaisons (Figure 25).

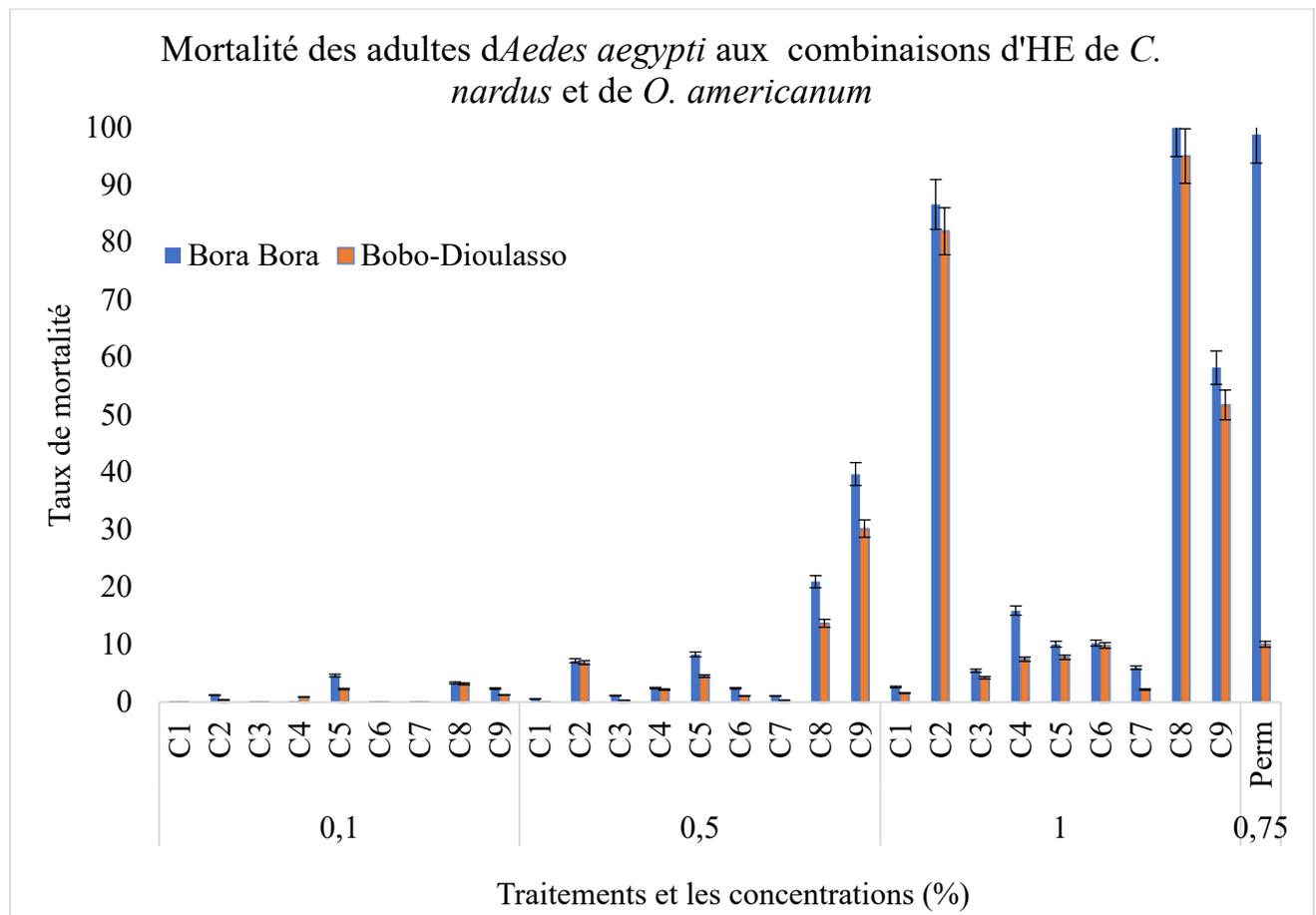


Figure 25: Mortalité des adultes de *Ae. aegypti* en fonction des concentration des combinaisons des HE de *C. nardus* et *O. americanum*. (Les barres d'erreurs représentent l'intervalle de confiance à 95%). Les mortalités moyennes (\pm intervalle de confiance) ont été obtenues au seuil de probabilité de 5% d'après le test LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Sur les deux souches de *Ae. aegypti*, les valeurs de KDT les plus faibles ont été obtenues par la combinaison C8, suivie de C2. Par contre, les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec C3 et C1. En effet, les valeurs de KDT₅₀ et KDT₉₅ avec C8 ont été respectivement de 48,9 et 77 min à la concentration 1% sur la souche Bora Bora, 60,6 et 79,8 min sur la souche de Bobo-Dioulasso. Globalement, toutes les combinaisons ont montré de faibles valeurs de KDT. En effet, sur les deux souches de *Ae. aegypti*, les valeurs de KDT₉₅ ont été inférieures à 60 min à 1%, sauf pour les combinaisons C3 et C1 qui ont montré des valeurs de KDT₉₅ respectivement de 186 et 172,4 min à 1%. Les valeurs de KDT obtenues avec les combinaisons C8, C2 et C9 ont été significativement plus faibles que celles des deux (2) HE testées individuellement à toutes les concentrations.

En ce qui concerne les mortalités, les valeurs les plus élevées à la concentration de 1% ont été de 100 et 86,67% sur la souche Bora Bora et 95,09 et 81,99% sur la souche Bobo-Dioulasso obtenues respectivement avec les combinaisons C8 et C2. Quant à la combinaison C9, elle a donné une mortalité de 51,76% à la concentration de 1%. C'est seulement avec ces trois (3) combinaisons, C2, C8 et C9, que les mortalités obtenues ont été significativement plus élevées que celles obtenues avec les 2 HE testées séparément. Les mortalités les plus faibles ont été obtenues avec la combinaison C1 (2,66 et 1,6% à la concentration de 1%, respectivement sur les souches de Bora Bora et de Bobo-Dioulasso).

Les effets interactifs entre les deux HE dans les combinaisons (Tableaux XV et XVI) ont été obtenus à partir des indices de concentration inhibitrice/létale fractionnelle (FIC). Ces effets de combinaison ont été classés comme synergistes, additifs, indifférents ou antagonistes. Les combinaisons les plus efficaces en ce qui concerne les KDT, les concentrations létales et les mortalités ont été celles qui donnaient des effets synergiques et additifs. En effet, l'effet synergique a été obtenu sur les deux souches avec la combinaison C8 et l'effet additif a été trouvé avec les combinaisons C2 et C9.

Le tableau XIII résume les CL₅₀ et CL₉₉ ainsi que les concentrations diagnostiques pour toutes les cinq (5) HE testées et les combinaisons préparées avec les HE de *C. nardus* et *O. americanum*. Sur les deux souches de *Ae. aegypti*, les CL₅₀ obtenues avec les combinaisons C8, C2 et C9 ont été inférieures à 1%, tandis que celles de C4 et C6 ont été légèrement inférieures à 2%.

Les concentrations diagnostiques les plus faibles de 2,16 % et 2,56 % ont été obtenues respectivement avec les combinaisons C8 et C2. Les concentrations diagnostiques les plus élevées ont été obtenues avec C5 (19,4 %) et C1 (12,72 %). A l'exception de C5 et C1, toutes les combinaisons ont donné des concentrations diagnostiques plus faibles que celles des HE de *C. nardus* et *O. americanum*.

Tableau XIV : KDT₅₀, KDT₉₅ produits par les combinaisons d'huiles essentielles de *C. nardus* et de *O. americanum* sur les souches de *Aedes aegypti* (Bora bora et de Bobo-Dioulasso)

| Codes | Combinaisons d'huiles essentielles | Concentrations | <i>Aedes aegypti</i> Bora Bora | | <i>Aedes aegypti</i> Bobo-Dioulasso | |
|-------|---------------------------------------|----------------|-----------------------------------|-------------------------|--|-------------------------|
| | | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) |
| | | | C1 | C.n 10% : O.a 90% | 0,1 | 11,75 |
| | | 0,5 | 95 | 136,3 | 118,3 | 180,7 |
| | | 1 | 76,5 | 116,3 | 110,7 | 172,4 |
| C2 | C.n 20% : O.a 80% | 0,1 | 103,1 | 169,7 | 125,7 | 173,7 |
| | | 0,5 | 65 | 113,4 | 103,3 | 163,4 |
| | | 1 | -4 | 0,9 | 1,2 | 9,2 |
| C3 | C.n 30% : O.a 70% | 0,1 | 147,7 | 228,1 | 175,7 | 273,7 |
| | | 0,5 | 98,2 | 164,8 | 118,6 | 252,7 |
| | | 1 | 28,4 | 48,5 | 77,5 | 186 |
| C4 | C.n 40% : O.a 60% | 0,1 | 173,5 | 281,3 | 190,3 | 287,2 |
| | | 0,5 | 65,5 | 107,3 | 113,3 | 184,5 |
| | | 1 | 15,2 | 33,2 | 17 | 42,2 |
| C5 | C.n 50 % : O.a 50 % | 0,1 | 123,4 | 197,3 | 131,7 | 222,4 |
| | | 0,5 | 76,6 | 139,4 | 102,2 | 168,8 |
| | | 1 | 17,1 | 28,2 | 27 | 47,1 |
| C6 | C.n 60% : O.a 40% | 0,1 | 96,2 | 161,2 | 151,7 | 252,3 |
| | | 0,5 | 24,2 | 36,7 | 106,1 | 160,1 |
| | | 1 | 10,5 | 16,7 | 17,1 | 22 |
| C7 | C.n 70% : O.a 30% | 0,1 | 146 | 217 | 189,9 | 286,7 |
| | | 0,5 | 115,3 | 184,1 | 130,8 | 199,7 |
| | | 1 | 25,5 | 37,3 | 38,5 | 57,1 |
| C8 | C.n 80% : O.a 20% | 0,1 | 48,9 | 77 | 60,6 | 79,8 |
| | | 0,5 | 11,6 | 59,2 | 14,3 | 46,5 |
| | | 1 | -9,8 | 0,6 | -3,9 | 7,8 |
| C9 | C.n 90% : O.a 10% | 0,1 | 92,3 | 137,2 | 115,4 | 157,8 |
| | | 0,5 | 13,5 | 40,5 | 20,5 | 53,8 |
| | | 1 | 7,7 | 12,3 | 8,5 | 17,1 |
| | Permethrin | 0,75 | 16,6 | 29,1 | 144 | 188,7 |

KDT₅₀ et KDT₉₅: temps de knock down de 50 et 95% de moustiques ; min : minute

Tableau XV : Effets des interactions des huiles essentielles de *C. nardus* (C.n) et *O. americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche sensible de *Aedes aegypti* Bora Bora (n = 150).

| Rapport des huiles dans les combinaisons | Codes | CL ₅₀ (%) | FIC _{Cn} | FIC _{O.a} | FIC | Effet |
|--|-------|----------------------|-------------------|--------------------|------|------------|
| C.n 0% : O.a 100% | O.a | 2,7 | - | - | - | - |
| C.n 10% : O.a 90% | C1 | 3,61 | 1,61 | 1,34 | 2,95 | Sans effet |
| C.n 20% : O.a 80% | C2 | 0,77 | 0,34 | 0,29 | 0,63 | Additif |
| C.n 30% : O.a 70% | C3 | 2,35 | 1,05 | 0,87 | 1,92 | Sans effet |
| C.n 40% : O.a 60% | C4 | 1,48 | 0,66 | 0,55 | 1,21 | Sans effet |
| C.n 50% : O.a 50% | C5 | 3,31 | 1,48 | 1,23 | 2,70 | Sans effet |
| C.n 60% : O.a 40% | C6 | 1,79 | 0,80 | 0,66 | 1,46 | Sans effet |
| C.n 70% : O.a 30% | C7 | 1,78 | 0,79 | 0,66 | 1,45 | Sans effet |
| C.n 80% : O.a 20% | C8 | 0,6 | 0,27 | 0,22 | 0,49 | Synergiste |
| C.n 90% : O.a 10% | C9 | 0,97 | 0,43 | 0,36 | 0,79 | Additif |
| C.n 100% : O.a 0% | C.n | 2,24 | - | - | - | - |

FIC = FIC_{Cn} + FIC_{O.a}; Synergiste: FIC < 0.5; Additif; 0.5 ≤ FIC ≤ 1; Sans effet: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagoniste: FIC > 4.

Tableau XVI : Effets des interactions des huiles essentielles de *C. nardus* (C.n) et *O. americanum* (O.a) dans les combinaisons sur les adultes de la souche de *Aedes aegypti* de Bobo-Dioulasso (n = 150).

| Rapport des huiles dans les combinaisons | Codes | CL ₅₀ (%) | FIC _{Cn} | FIC _{O.a} | FIC | Effet |
|--|-------|----------------------|-------------------|--------------------|------|------------|
| C.n 0% : O.a 100% | O.a | 3,1 | - | - | - | - |
| C.n 10% : O.a 90% | C1 | 3,9 | 1,25 | 1,32 | 2,57 | Sans effet |
| C.n 20% : O.a 80% | C2 | 0,84 | 0,27 | 0,28 | 0,55 | Additif |
| C.n 30% : O.a 70% | C3 | 2,6 | 0,83 | 0,88 | 1,71 | Sans effet |
| C.n 40% : O.a 60% | C4 | 2,18 | 0,7 | 0,74 | 1,44 | Sans effet |
| C.n 50% : O.a 50% | C5 | 3,83 | 1,23 | 1,3 | 2,53 | Sans effet |
| C.n 60% : O.a 40% | C6 | 1,68 | 0,54 | 0,57 | 1,11 | Sans effet |
| C.n 70% : O.a 30% | C7 | 3,47 | 1,11 | 1,18 | 2,29 | Sans effet |
| C.n 80% : O.a 20% | C8 | 0,7 | 0,22 | 0,24 | 0,46 | Synergiste |
| C.n 90% : O.a 10% | C9 | 1,05 | 0,34 | 0,36 | 0,7 | Additif |
| C.n 100% : O.a 0% | C.n | 2,94 | - | - | - | - |

FIC = FIC_{Cn} + FIC_{O.a}; Synergiste: FIC < 0.5; Additif; 0.5 ≤ FIC ≤ 1; Sans effet: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagoniste: FIC > 4.

3- 2-4. Discussion

Jusqu'à présent, la gestion de la résistance aux insecticides reste un défi majeur pour parvenir à une élimination efficace du paludisme (OMS, 2012). En effet, la résistance aux pyréthrinoïdes a été signalée dans 27 pays d'Afrique sub-saharienne, soulignant l'urgence de trouver des alternatives à ces insecticides (Tchoumboungang *et al.*, 2009 ; Ranson et Lissenden, 2016). La recherche d'alternatives aux insecticides chimiques à base d'extraits de plantes peut représenter de nouvelles pistes pour le contrôle des populations de moustiques vecteurs du paludisme.

Ici, nous avons évalué le niveau d'efficacité de cinq (5) HE, à savoir les HE de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum* sur des populations de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*. Aussi, l'efficacité des combinaisons de *C. nardus* (C.n) et *O. americanum* (O.a) et des effets de ces HE dans la combinaison ont été examinés dans cette étude.

Globalement, presque toutes les HE testées ont montré un effet adulticide sur les souches de *An. gambiae* sensible Kisumu et résistante collectée à VK et sur les souches de *Aedes aegypti* sensible Bora Bora et résistante collectée à Bobo-Dioulasso. Cet effet insecticide, mis en évidence par des effets « knock-down », des concentrations létales et des mortalités des moustiques adultes testés, a varié significativement selon les concentrations et les HE utilisées.

Les résultats de la présente étude confirment partiellement les travaux de Yameogo *et al.* (2021) qui ont montré les effets adulticides de certaines HE identiques testées sur des populations de *Ae. aegypti* collectées à Ouagadougou. Ils confirment également les travaux réalisés par Drabo *et al.* (2017) qui ont montré les propriétés adulticides des HE de *C. citratus* et *O. americanum* sur des populations de *Bemisia tabaci*, confirmant ainsi l'efficacité de ces HE sur une large gamme d'insectes.

En effet, parmi les HE testées, celle de *L. multiflora* a été la plus efficace sur les adultes des deux souches de *An. gambiae* testées, suivie de l'HE de *C. nardus*. L'HE de *E. camaldulensis* a été la moins efficace. Il est intéressant de noter que l'HE de *L. multiflora* peut constituer une bonne alternative au regard de la mortalité à la concentration 1% qui atteignait 96,88% et 85%, respectivement sur les souches résistantes de *An. gambiae* collectée à VK et de *Ae. aegypti* collectées à Bobo-Dioulasso. L'efficacité de l'HE de *L. multiflora* dans la présente étude a été significativement supérieure à celles des HE de *Lantana camara*, *Hyptis spicigera*, *Hyptis*

suaveolens évaluées sur des souches de *An. gambiae*, Kisumu et VK dans les travaux de Wangrawa et al. (2018).

La différence relative de l'efficacité entre les HE testées dans nos travaux pourrait s'expliquer par leur composition chimique. En effet, plusieurs études antérieures ont montré que les composés majeurs étaient le facteur responsable de la bio-activité d'une HE, car ils constitueraient la partie la plus importante des composés totaux de l'HE (Lucia et al., 2007 ; Gbolade et Lockwood, 2008 ; Vani, Cheng et Chuah, 2009). Ainsi, l'efficacité de l'HE de *L. multiflora* peut être due à ses principaux composés qui sont le β -caryophyllène, le p-cymène, l'acétate de thymol et le 1,8 cinéol. En effet, selon des études antérieures réalisées par Bassolé et al. (2003), la toxicité de l'HE de *L. multiflora* sur les larves de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti* est due à la présence de trois composants majeurs : le thymol, le p-cymène et l'acétate de thymol. L'HE de *Hyptis suaveolens* contenant également du β -caryophyllène et 1,8 cinéol (Peerzada, 1997) a une activité insecticide élevée (Ilboudo et al. 2010). Ainsi, l'activité insecticide élevée de l'HE de *L. multiflora* a été attribuée au β -caryophyllène et au 1,8 cinéol qui sont des composés majeurs dans l'étude actuelle. Cependant, la faible activité insecticide de l'HE de *E. camaldulensis* peut être expliquée par l'absence de β -caryophyllène, dans la mesure où cette HE était riche en 1,8 cinéol. Également, l'HE de *C. nardus* a montré un effet adulticide intermédiaire sur les populations de *An. gambiae* testées contrairement à ce qui a été trouvé par Zulfikar, Aditama et Sitepu (2019). Selon ces auteurs, l'activité la plus élevée de *C. nardus* est due à la présence de géraniol, le même composé trouvé dans *C. nardus* testé dans notre étude.

D'autres études antérieures ont rapporté que les propriétés insecticides de l'HE de *O. americanum* est dues aux composés 1,8-cinéole, camphre et α -pinène trouvés dans cette HE (Koul, Walia et Dhaliwal, 2008). Ces composés ont été les mêmes que ceux trouvés dans l'HE de *O. americanum* testée dans la présente étude et pour lesquels nous avons obtenu la faible efficacité. Selon Ntonga et al. (2017), le 1,8-cinéole contribue fortement à l'efficacité de l'HE de *Callistemon citrinus* contre les adultes femelles de *An. coluzzii*. Cependant, l'HE de *E. camaldulensis*, riche en 1,8-cinéole, était la moins efficace sur les adultes femelles de *Ae. aegypti*. Cette faible efficacité peut être due à l'absence du composé sabinène parmi les principaux composés de l'HE de *E. camaldulensis*. En effet, Liu et al. (2020) ont rapporté qu'il y a un effet additif entre le 1,8-cinéole et le sabinène sur *Sitophilus oryzae*, un ravageur du riz.

Les HE qui ont été moins efficaces comme adulticides dans la présente étude pourraient être efficaces comme répulsifs. En effet, des études précédentes ont montré l'effet répulsif de ces HE sur les moustiques (Ojewumi, Adeyemi et Ojewumi, 2018 ; Gnankiné et Bassolé, 2017 ; Bossou et *al.*, 2013). Les valeurs de KDT de ces HE principalement à la concentration de 1% peut justifier cette propriété répulsive mise en évidence par l'activité excito-répulsive.

Si la préexposition des moustiques au PBO peut restaurer totalement ou partiellement la susceptibilité aux pyréthrinoïdes (Hien et *al.*, 2021), il est fort probable que l'efficacité d'une HE peut être améliorée par ses combinaisons avec d'autres HE. Dans la présente étude, cette amélioration a été mise en évidence par les valeurs KDT, CL₅₀, CL₉₉ et les mortalités obtenues avec certaines combinaisons qui ont été supérieures à celles des HE testées seules. En termes d'efficacité après l'HE de *L. multiflora*, les HE de *C. nardus* et *O. americanum* ont donné des taux de mortalités relativement élevées. C'est pourquoi, dans cette étude, nous avons examiné les effets de leurs combinaisons à travers des concentrations binaires.

En effet, les combinaisons qui ont été plus efficaces que les HE de *C. nardus* et *O. americanum* testées individuellement étaient C6, C8 et C9 sur les populations de *An. gambiae* et, C2 et C8 sur *Ae. aegypti*. Cela peut être dû à l'effet toxique simultané des composés des HE combinées. Ceci est en accord avec les travaux de Bekele et Hassanali (2001) et de Pavela (2014) qui ont rapporté que l'activité biologique des HE dépend non seulement de leur composition qualitative, mais aussi du rapport quantitatif de leurs composants. On peut penser que l'HE de *C. nardus* a besoin d'une certaine quantité des principaux composés de l'HE de *O. americanum* pour être plus efficace. Inversement, l'HE de *O. americanum* a besoin de certains constituants de l'HE de *C. nardus* pour agir efficacement. En effet, des études ont montré que l'ajout d'un peu de citronellal renforce l'effet du mélange citral-myrcène contre *Ae. aegypti*. Cependant, le citronellal seul ne peut pas réduire de manière significative le comportement de recherche d'hôte des moustiques (Hao et *al.* 2008).

L'amélioration de l'efficacité par les combinaisons des 2 HE peut être expliquée par l'effet toxique combiné des principaux composés. En effet, des études ont montré que la toxicité des HE est due aux effets combinés de différents composants, avec ou sans action toxique individuelle significative contre les insectes (Tanprasit, 2005 ; Park et *al.* 2011). Selon Burt (2004), les HE individuelles contiennent des composants complexes qui, lorsqu'ils sont combinés entre eux, peuvent entraîner des effets indifférents, additifs, synergiques ou antagonistes. Dans

une étude antérieure, Abbassy, Abdelgaleil et Rabie (2009) ont rapporté que dans certains cas, l'HE entière peut avoir une activité insecticide plus élevée que ses composants majeurs isolés. Pour ces auteurs, les composés mineurs sont essentiels pour l'activité et peuvent permettre un effet synergique ou une influence potentielle. A partir de ces informations, nous pouvons dire que les combinaisons qui ont montré un effet synergique ou additionnel auraient comme composés majeurs, d'une part certains composés majeurs de l'HE de *C. nardus* et d'autre part ceux de l'HE de *O. americanum*, mais aussi une variété de composés mineurs.

Des études précédentes ont montré que la bio-activité de l'HE est une conséquence de l'interaction entre les composants majeurs, mais aussi d'autres composés, éventuellement des oligoéléments. Cela peut être dû à des effets combinés, à une action additive entre les classes chimiques et à une synergie ou à un antagonisme (Bassolé et *al.*, 2003 ; Chiasson et *al.*, 2001 ; Luz et *al.*, 2020). En général, il semble que l'effet d'un composé actif puisse être renforcé par d'autres composés majeurs et/ou stimulé par des composés mineurs pour donner des effets additifs ou synergiques (Deletre et *al.*, 2015). Par conséquent, selon Berenbaum et Neal (1985), les composants mineurs présents en faibles pourcentages peuvent agir comme des synergistes, améliorant la bio-efficacité des composants majeurs par divers mécanismes. En effet, des combinaisons de 1,8-cinéole et de citronellal ainsi que de plusieurs composés mineurs et de citronellal ont donné des effets synergistes sur les larves de *Spodoptera littoralis* (Pavela, 2014).

Selon Hyldgaard, Mygind et Meyer (2012), chaque composé d'une HE avait un mode d'action spécifique, mais ces composés pouvaient interagir avec les composés d'une autre HE dans une combinaison pour donner d'autres modes d'action. Ainsi, la combinaison de composés avec différents modes d'action pourrait augmenter les actions létales totales dans les mélanges (Sarma et *al.*, 2019).

Il est intéressant de noter que seules les combinaisons C8 et C9 ont fourni un effet synergiste respectivement sur les populations résistantes de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae*. L'effet synergiste obtenu par cette combinaison peut également s'expliquer par l'action simultanée des principaux composés. De plus, cet effet synergiste peut être dû à l'apparition de nouveaux composants qui n'existaient pas dans les HE individuelles (Muturi et *al.*, 2017; Wangrawa et *al.*, 2022b). Des études antérieures ont montré que certaines HE ou leurs composés peuvent interagir pour créer un effet synergiste à certains ratios et un effet antagoniste à d'autres ratios (Intirach et *al.*, 2012; Pavela, 2015).

3- 2-5. Conclusion partielle

Notre étude a examiné les propriétés adulticides des huiles essentielles de cinq (5) espèces de plantes traditionnellement utilisées au Burkina Faso, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum*, et des combinaisons de deux (2) de ces HE contre les adultes de moustiques de *Anopheles gambiae*, vecteur du paludisme et de *Aedes aegypti*, vecteur de la dengue au Burkina Faso. Les HE de *Cymbopogon nardus* et *Ocimum americanum* ont été moins toxiques, mais leurs toxicités ont été améliorées par leurs combinaisons, à certaines proportions. L'HE de *L. multiflora* et les combinaisons de C9 (Cn 90% : Oa 10%), C8 (Cn 80% : Oa 20%), C6 (Cn 60% : Oa 40%) et dans une moindre mesure C2 (Cn 20% : Oa 80%) peuvent être des alternatives prometteuses dans les stratégies de contrôle contre les adultes de *Ae. aegypti*, le vecteur de la dengue et de *An. gambiae*, vecteur du paludisme.

Pour une valorisation de ces HE testées, il serait bon d'examiner leur activité excito-répulsive sur les deux populations de moustiques, comme c'est le cas des pyréthrinoïdes qui malgré la présence de résistance vis-à-vis de certains insectes, peuvent procurer une activité excito-répulsive ou irritante qui peuvent être exploitée dans les stratégies de lutte antivectorielle.

Chapitre 3 : Activité excito-répulsive de cinq huiles essentielles extraites de plantes locales contre les vecteurs de la dengue et du paludisme au Burkina Faso

3- 3-1. Introduction partielle

Dans les chapitres précédents, nous avons expliqué le contexte qui a motivé l'utilisation des huiles essentielles comme insecticides alternatifs ou complémentaires. Vu que l'homme n'est pas permanemment sous les MILDA et surtout que certains moustiques ont des activités diurnes (*Ae. aegypti*), il est donc nécessaire de chercher des outils de protection individuelle tels que les répulsifs. Les répulsifs sont des produits qui agissent localement ou à distance afin d'empêcher un arthropode de se poser sur la peau d'un homme ou d'un animal (ou sur toute autre surface en général), de voler vers lui ou de le piquer (Boulangier et Gentile, 2012).

Des études ont montré que la perméthrine et le DEET, deux produits chimiques, sont des répulsifs (Badolo et *al.*, 2004; Deletre et *al.*, 2019; Achee et *al.*, 2009). D'autres études ont montré des pouvoirs répulsifs des plantes productrices d'HE sur les espèces d'arthropodes nuisibles (Deletre et *al.*, 2013, 2016; Tawatsin et *al.*, 2001; Gillij, Gleiser et Zygadlo, 2008; Omolo et *al.*, 2004; Oyedele et *al.*, 2002) et les propriétés de dissuasion de l'alimentation des moustiques (Hummelbrunner et Isman, 2001; Moretti, Zerba et Alzogaray, 2013).

Cinq phénomènes répulsifs ont été identifiés par Deletre et *al.* (2016) : répulsion-expulsion, répulsion-masquage, répulsion-irritation, répulsion-anti-appétence et répulsion visuelle. Un répulsif-expulsion est une substance qui agit à distance, faisant fuir l'insecte du stimulus (Bernier et *al.*, 2006; Nerio, Olivero-Verbel et Stashenko, 2009 ; Nolen et *al.*, 2002). Un répulsif masquant est défini comme un inhibiteur volatil qui empêche la recherche et la localisation de l'hôte (OMS, 2013b). Un répulsif irritant appelé "inhibiteur d'atterrissage" selon l'OMS (Koul, Walia et Dhaliwal, 2008), provoque un mouvement de fuite du stimulus après un contact physique avec celui-ci (Deletre et *al.*, 2016). Les répulsifs anti-appétant agissent sur le comportement alimentaire de l'insecte en l'empêchant, l'interrompant ou l'interférant (Schoonhoven et Van, 2002).

Bien que de nombreuses études aient été menées sur les propriétés des HE au Burkina Faso, peu d'études ont été menées sur les propriétés répulsives des HE sur les moustiques encore moins sur les activités répulsives-irritantes au Burkina Faso.

Dans ce chapitre, nous présenterons les principaux résultats des tests répulsifs d'irritation de contact des HE de cinq plantes (*Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum*), du DEET (N, N-diethyl-3-methylbenzamide) et de la perméthrine, deux (2) témoins positifs, réalisé sur des souches de *Ae. aegypti* collecté à Bobo-Dioulasso et de *An. gambiae* de la Vallée du Kou.

3- 3-2. Méthodologie : test répulsif-irritant par contact

La technique d'imprégnation des papiers Whatman avec HE a été décrite par Balboné et al. (2022b). La procédure de test répulsif irritant de Grieco et al. (2005) mise en place pour *Ae. aegypti* a été adaptée pour *An. gambiae* (Figure 26). Pour ce test, trois (3) concentrations ont été testées : 0,1%, 0,5% et 1%. Ces concentrations ont été retenues après des tests préliminaires. Pour chaque concentration et le témoin (acétone pur), 3 lots de 20 moustiques ont été testés. En effet, des lots de 20 moustiques femelles non nourris au sang et âgés de 3 à 7 jours ont été aspirés (Figure 28A) puis introduits dans trois tubes contenant du papier imprégné (Tube rouge) (Figure 27A). Ensuite, chaque tube "imprégné" contenant des moustiques a été fixé sur un tube de contrôle (Tube vert) contenant du papier neutre (Figure 27B). Après 30 secondes d'exposition (Figure 28B), le tiroir séparant le tube imprégné du tube neutre (contenant le papier neutre) a été ouvert (Figure 27C). Les moustiques ont ensuite été laissés libres pendant 10 minutes. Les moustiques passant du tube imprégné au tube neutre étaient considérés comme "échappés". A l'inverse, les moustiques qui restaient dans le tube imprégné étaient considérés comme des moustiques "restés". Après la fermeture du tiroir, on a compté le nombre de moustiques "échappés" et "restés" dans chaque tube (Figure 28C). Parmi les moustiques "restés", certains ont été assommés.

Pour le témoin, les moustiques ont été mis dans un tube neutre qui a été fixé sur un autre tube neutre. Le test est validé lorsque la proportion de moustiques "échappés" dans le témoin a été inférieure à 50%.

L'effet répulsif-irritant de contact d'un produit a été évalué sur la base de la proportion de moustiques qui s'échappent. Les moustiques assommés ont été enregistrés. Le DEET et la perméthrine ont été utilisés comme témoins positifs.

Les proportions du nombre de moustiques "échappés" ont été comparées par paire avec le témoin par le test de Fisher et corrigées avec la méthode de Bonferroni-Holm. Un modèle linéaire

généralisé (distribution binomiale) a été étudié pour connaître l'effet du produit, de la concentration et de l'interaction concentration-produit (dose dépendante) sur l'effet irritant sur le moustique. Enfin, une classification ascendante hiérarchique a été effectuée pour classer les extraits de plantes.

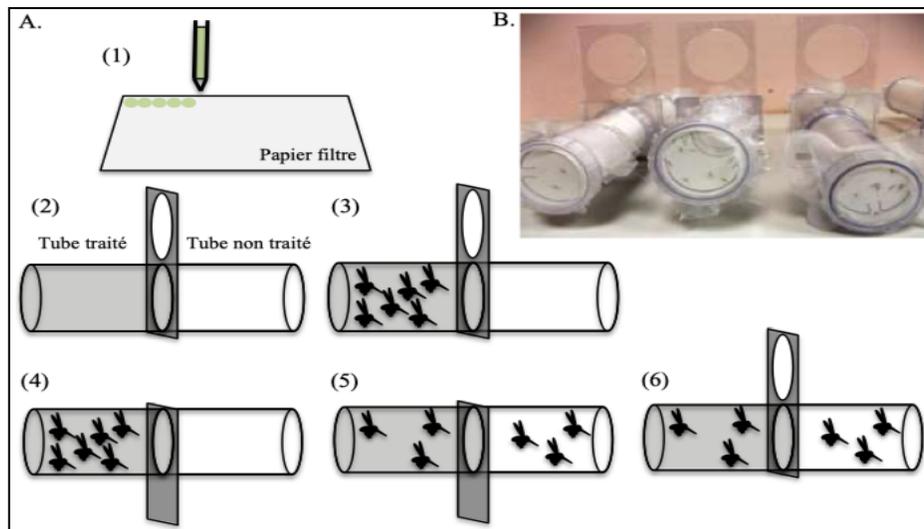


Figure 26: Dispositif de Grieco et al. (2005) adapté à *Anopheles gambiae* (Deletre et al. 2013)

A : Séquence de test ; **B :** Photo du dispositif

(1) : un papier filtre (12*15cm) est traité avec 2mL de solution ; (2) : le papier est placé dans le tube traité ; (3) : les moustiques sont introduits dans le tube traité ; (4) : la porte est ouverte après 30s d'acclimatation ; (5) : les moustiques sont laissés libres pendant 10 min ; (6) : après fermeture de la porte, le nombre de moustiques échappés est calculé.



Figure 27: Présentation des tubes OMS (OMS 2022b) (A : Tube rouge, B : Tube vert, C : Tube rouge fixé au tube vert.)



Figure 28: Déroulement des tests répulsifs irritants de contact
A : Aspiration des moustiques femelles de 3 à 7 jours non gorgés ; **B :** Les moustiques libres dans le tube contenant les papiers imprégnés après l'ouverture du tiroir ; **C :** Dénombrement des moustiques échappés (Cliché Balboné, 2020)

3.3.3. Résultats

L'effet répulsif irritant de contact a été différent selon la souche de moustique et le produit testé. De plus, il a été dose-dépendant. Globalement, chez les populations de *An. gambiae*, les HE testées ont montré un effet irritant de contact (taux d'échappement supérieur à 30%). Ce qui n'a pas été le cas avec les populations de *Ae. aegypti*. Les HE des cinq extraits de plantes ainsi que les deux produits chimiques synthétiques, le DEET et la perméthrine, ont montré des effets irritants de contact significatifs à de faibles concentrations pour les HE et à des concentrations élevées pour les produits chimiques (Figures 29 et 32). Dans toutes les populations de moustiques testées, la classification ascendante hiérarchique (CAH) est résumée en 3 classes en fonction de la similarité de la réponse comportementale du moustique (Figures 29-32).

3.3.3.1. Réponses comportementales avec les populations de *Anopheles gambiae*

Sur la souche sensible de *An. gambiae* "Kisumu", la classe 1 est constituée de l'HE de *C. citratus* et le DEET présentant des taux d'échappés légèrement supérieurs à 50 % à la concentration la plus faible (0,1 %) et des taux d'échappés, respectivement de 84,63 et 85 % à la concentration de 0,5 % (Figure 29). À la concentration la plus élevée, l'HE de *C. citratus* a été moins répulsif-irritante (31,16 % de taux d'échappés) par rapport au DEET (56 % de taux d'échappés), tandis que les effets knock-down (KD) ont été élevés chez les moustiques restants (Tableau XVII).

La classe 2 a été constituée par les HE de *C. nardus* et *O. americanum* qui ont été significativement plus répulsif-irritantes à faible concentration avec une efficacité décroissante avec la concentration et leurs activités diminuaient avec l'augmentation de la concentration (60,05 et 51,88% à la concentration 0,1%, 32,27 et 40,53% à 0,5%, 19,76 et 36,82% à 1%, respectivement pour *C. nardus* et *O. americanum*). En même temps, ces deux HE ont produit des effets KD croissants en fonction de la concentration du produit au niveau des moustiques restés (Tableau XVII). La classe 3 a été constituée par les HE de *E. camaldulensis*, de *L. multiflora* et la perméthrine qui ont été les produits les moins irritants à la faible concentration (taux d'échappement inférieur à 45 % à la concentration de 0,1 %) mais les activités de l'HE de *E. camaldulensis* et de la perméthrine ont varié en fonction de la concentration du produit (taux d'échappement compris entre 52,3 et 69,72%, 58,33 et 78,84 %, respectivement aux

concentrations de 0,5 et 1%). L'HE de *L. multiflora* a produit des effets KD plus élevés que les 2 autres et cet effet KD augmentait avec la concentration (Tableau XVII).

Sur la souche de *An. gambiae* de terrain VK, la classe 1 a regroupé l'HE de *C. citratus* et le DEET qui ont été répulsif-irritants dès la faible concentration avec une efficacité qui augmentait avec la concentration. La classe 2 a été constituée par les HE de *C. nardus*, *L. multiflora* et *O. americanum* qui ont présenté une activité décroissante de la faible à la forte concentration. Au même moment, l'HE de *C. nardus* a produit des effets KD qui augmentaient avec la concentration (taux KD = 29,46% à 0,1%, 32,33% à 0,5% et 37,62% à 1%). D'autre part, l'HE de *L. multiflora* a produit des effets KD élevés. La classe 3 a été constituée de l'HE de *E. camaldulensis* et de la perméthrine qui n'ont pas été répulsif-irritantes à faible concentration mais sont devenues plus répulsif-irritantes lorsque la concentration augmentait (Figure 30).

Hormis l'HE de *L. multiflora*, toutes les HE testées ont été plus répulsif-irritantes sur la souche VK que sur la souche Kisumu à la concentration la plus élevée, 1% (Figures 29 et 30). Car sur la souche Kisumu, l'effet KD a été plus perçu.

Tableau XVII: Taux de KD obtenus parmi les moustiques qui ne se sont pas échappés

| Traitements | Concentrations | <i>Anopheles gambiae</i> | | <i>Aedes aegypti</i> | |
|-------------------------------------|----------------|--------------------------|--------------|----------------------|--------------------------|
| | | Kisumu KD (%) | VK KD (%) | Bora Bora KD (%) | Bobo-Dioulasso KD (%) |
| <i>Cymbopogon citratu</i> | 0,1 | 1,67 | 0 | 3,03 | 0 |
| | 0,5 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | 76,93 | 6,25 | 16,67 | 0 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | 0,1 | 25 | 0 | 3,14 | 0 |
| | 0,5 | 75,84 | 32,33 | 34,81 | 15,74 |
| | 1 | 80,24 | 37,62 | 71,73 | 44,09 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Lippia multiflora</i> | 0,1 | 29,46 | 5,37 | 18,43 | 3,33 |
| | 0,5 | 32,85 | 49,61 | 76,94 | 20,1 |
| | 1 | 49,58 | 68,43 | 87,75 | 61,55 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 0,1 | 3,45 | 0 | 0 | 0 |
| | 0,5 | 8,4 | 0,33 | 2,5 | 0 |
| | 1 | 19,41 | 3,03 | 3,33 | 0 |
| DEET | 0,1 | 3,18 | 0 | 0 | 0 |
| | 0,5 | 5 | 0 | 4,85 | 0 |
| | 1 | 10 | 18,98 | 41,06 | 0 |
| Permethrin | 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 0,5 | 8,33 | 0 | 3,33 | 0 |
| | 1 | 26,67 | 5,33 | 29,46 | 0 |

KD: Knock down

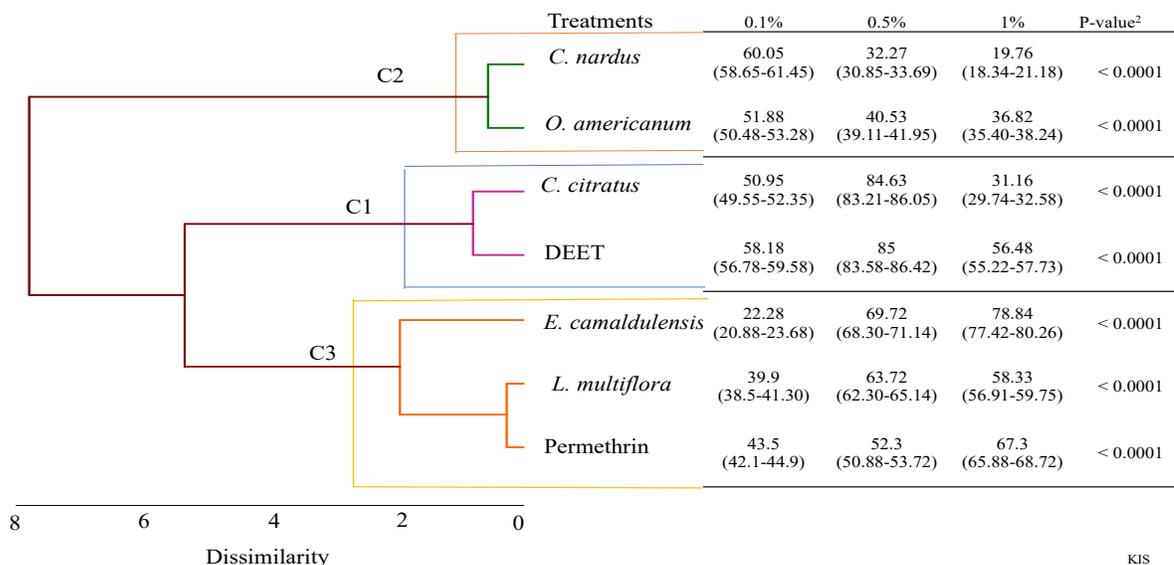


Figure 29: Taux d'échappés des femelles de la souche sensible de *Anopheles gambiae* "Kisumu" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact. (Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Wald).

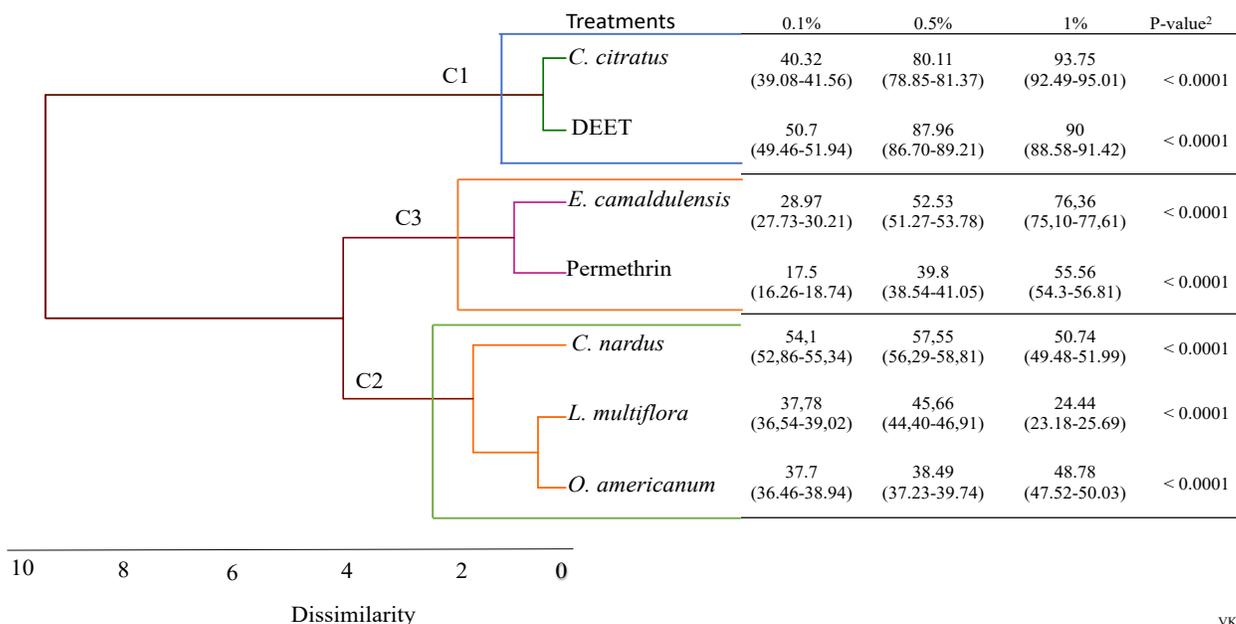


Figure 30: Taux d'échappés des femelles de la souche de terrain de *Anopheles gambiae* "VK" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact. (Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Wald).

3- 3-3.2. Réponses comportementales avec les populations de *Aedes aegypti*

Pour la souche sensible de *Ae. aegypti* Bora Bora, le groupe de classe 1 a été constituée par les HE de *C. citratus*, *E. camaldulensis*, *O. americanum* et le DEET qui ont donné des taux d'échappés croissant avec la concentration, sauf l'HE de *O. americanum* et le DEET (Figure 31). Tous les produits de cette classe ont produit des effets KD faibles (Tableau XVII).

La classe 2, constituée des HE de *C. nardus* et de *L. multiflora*, a regroupé les produits dont les effets irritants ont été décroissants à mesure que la concentration augmentait. Par contre, ils ont produit des effets KD élevés et croissants avec la concentration. Pour la classe 3, la perméthrine n'a présenté aucun effet répulsif-irritant à faible concentration (0,1 % et 0,5 %) mais elle est devenue répulsif-irritante à la concentration (1 %) (Tableau XVII).

Pour la souche de *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso, la classe 1 a été constituée par les HE *C. citratus*, *E. camaldulensis*, *O. americanum*, le DEET et la perméthrine qui ont présenté des effets répulsif-irritants faibles (taux d'échappé inférieur à 50 %) à la concentration de 1% même si leurs effets répulsif-irritants augmentent avec la concentration. (Figure 32). Ces substances ont produit de très faibles effets KD. La classe 2 a été constituée de l'HE de *C. nardus* qui a été la plus répulsif-irritante à la plus faible concentration (72,22 % de taux d'échappés à la concentration de 0,1 %), mais cette activité diminuait au fur à mesure que la concentration augmentait. Inversement, cette HE a produit des effets KD élevés lorsque la concentration augmente. La classe 3 a été constituée de l'HE de *L. multiflora* qui a été plus répulsif-irritante à des concentrations plus élevées (taux d'échappés de 52,79 et 58,79, respectivement aux concentrations de 0,5 et 1%) ; son activité augmentait avec la concentration (Figure 32). De plus, cette HE a produit des effets KD qui augmentaient avec la concentration (Tableau XVII).

Aux faibles concentrations, l'HE de *C. nardus* a produit des effets répulsifs de contact les plus élevés sur toutes les souches de *Ae. aegypti* (Figure 32). Les effets de cette HE ont été significativement supérieurs à ceux du DEET et de la perméthrine.

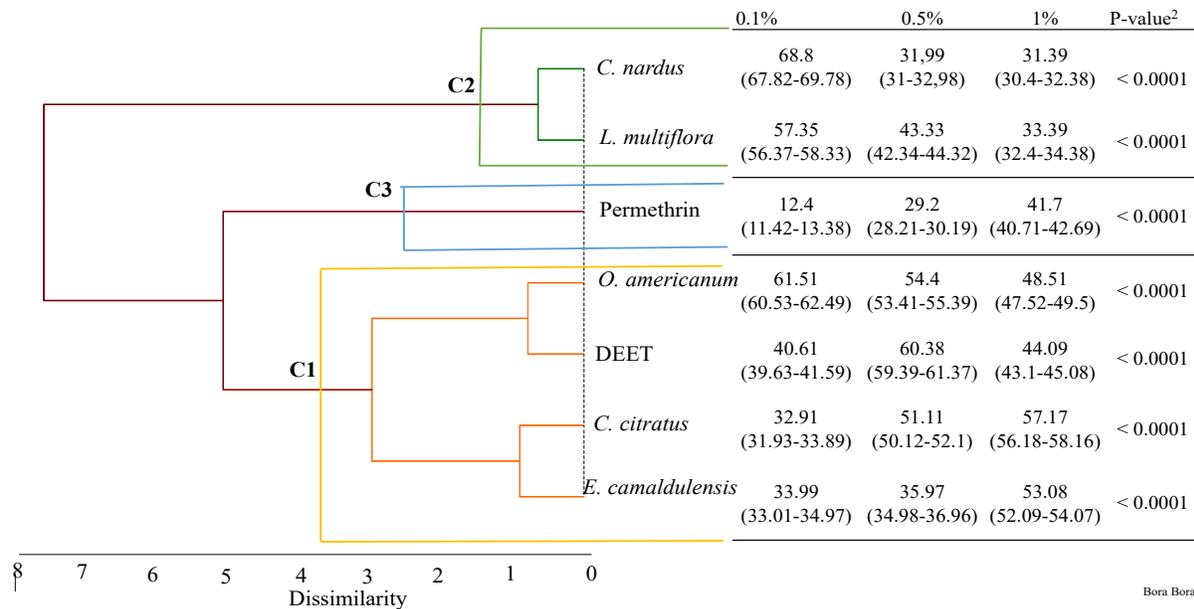


Figure 31: Taux d'échappés des femelles de la souche sensible de *Aedes aegypti* "Bora Bora" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact. (Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Wald).

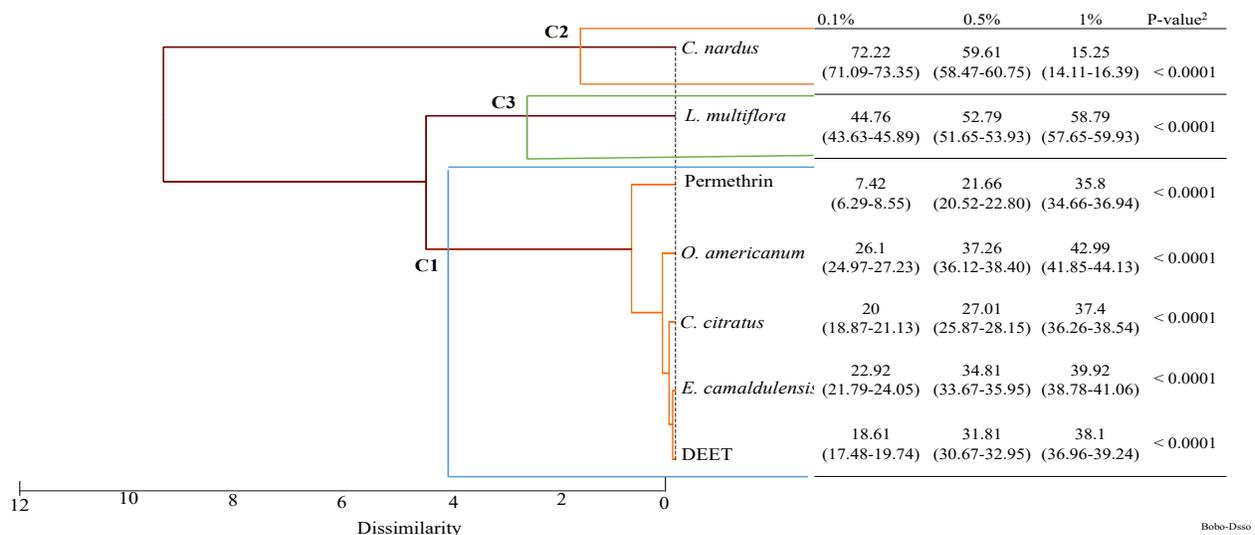


Figure 32: Taux d'échappés des femelles de la souche de terrain de *Aedes aegypti* "Bobo-Dioulasso" aux 5 HE, au DEET et à la perméthrine et, le dendrogramme représentant les réactions comportementales obtenues par le regroupement hiérarchique de ces insecticides selon leurs effets irritants de contact. (Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Wald).

3- 3-4. Discussion

Le contrôle des maladies à transmission vectorielle passe par une approche qui implique une protection personnelle contre les piqûres de moustiques (Debboun et Streckman, 2012). Cette approche utilise des répulsifs commerciaux qui sont principalement basés sur le DEET (N, N-diethyl-3-methylbenzamide) (Badolo *et al.*, 2004; Calafat *et al.*, 2012). Cependant, le DEET peut avoir des effets secondaires nocifs (Briassoulis, Narlioglou et Hatzis, 2001; Clem, Havemann et Raebel, 1993) et semble être toxique. Il est donc urgent d'évaluer l'effet d'autres répulsifs ou ingrédients irritants, en particulier les HE qui possèdent des propriétés répulsives, irritantes et toxiques sur les moustiques. Ici, les propriétés répulsif-irritantes de contact des HE de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* et *Ocimum americanum* ont été mesurées, en utilisant le procédé de Grieco *et al.* (2005), sur des populations de *Anopheles* et de *Aedes*, respectivement de Bobo-Dioulasso et de la "Vallée du Kou" où la résistance aux pyréthriinoïdes était répandue.

Dans la présente étude, l'exposition des moustiques aux 5 HE a montré des degrés variables d'activité irritante par contact de ces HE. L'effet irritant d'un produit pourrait être dû à son action sur le système nerveux par l'intermédiaire des tarsi des insectes (White, 2007). Certains composés individuels des HE sont clairement détectés et évités par les moustiques grâce à leurs antennes. Pourtant, l'influence physiologique des HE conduisant à la répulsion reste largement inconnue (Dekker *et al.*, 2011; Ramirez *et al.*, 2012).

En effet, l'HE de *L. multiflora* s'est avérée moins répulsif-irritante sur les deux souches de *An. gambiae* et sur la souche sensible de *Ae. aegypti* "Bora Bora", surtout aux concentrations les plus élevées. Cependant, des études précédentes ont montré les propriétés répulsives par irritation du β -caryophyllène et du p-cymène (Nararak *et al.*, 2019; Ndirangu, Opiyo et Ng'ang'a, 2020; Azeem *et al.* 2019), 2 composés majeurs de l'HE de *L. multiflora* qui a été testée dans la présente étude. Cette faible activité irritante de l'HE de *L. multiflora* est en accord avec son effet "knock-down" élevé (90, 88,24 et 87,88 % KD à une concentration de 1%, respectivement pour Kisumu, VK et Bora Bora) qui a empêché les moustiques de s'échapper. De même, dans d'autres études récentes, cette HE a donné des effets KD élevés sur les mêmes populations de *Ae. aegypti* et *An. gambiae* (Balboné *et al.*, 2022b, 2022c). En plus de son effet toxique montré récemment par Balboné *et al.* (2022a, 2022b, 2022c), l'HE de *L. multiflora* a exercé un effet irritant sur les

populations de *Ae. aegypti*. Cela s'avérerait intéressant dans le cadre de son utilisation dans les stratégies de lutte antivectorielle.

Dans la plupart des cas, l'HE de *C. citratus* dont les activités irritantes sont proches de celles du DEET, a eu un effet irritant significatif à faible concentration sur les 2 souches de *An. gambiae*, alors que sur la souche sensible de *Ae. aegypti* Bora Bora, elle a été efficace à forte concentration. Nos résultats corroborent ceux de Deletré et al. (2013) qui ont également montré des effets répulsifs irritants de l'HE de *C. citratus* sur *An. gambiae*. Selon ces auteurs, l'effet irritant était dû à la présence de géraniol, néral et l'activité de cette HE augmentait avec la concentration.

L'effet répulsif-irritant obtenu avec les HE de *C. citratus* et aussi de *C. nardus* serait facilité par le grand nombre de moustiques non paralysés, connus pour produire de faibles effets KD sur *Ae. aegypti* et *An. gambiae* (Balboné et al., 2022b, 2022c). Selon ces auteurs, ces deux HE testées récemment pour leur toxicité sur les mêmes souches de moustiques ont donné des taux de mortalité inférieurs à 5% et à 50% à la concentration de 1%, respectivement pour l'HE de *C. citratus* et l'HE de *C. nardus* confirmant ainsi leur faible toxicité (Balboné et al., 2022b, 2022c).

Globalement, l'HE de *O. americanum*, une autre HE moins toxique (Balboné et al., 2022b, 2022c), présente un effet irritant de contact significatif sur les souches sensibles de *Ae. aegypti* Bora Bora et de *An. gambiae* Kisumu. La bio-activité irritante de contact relativement élevée de l'HE de *O. americanum* pourrait être attribuée à ses principaux composés, le 1,8 cinéole et le camphre. Des études antérieures ont signalé que le 1,8 cinéole et le camphre possédaient des effets répulsifs contre les insectes, respectivement *Blattella germanica* et *Sitophilus zeamais* (Cansian et al., 2015 ; Chooluck et al., 2019). De plus, cette HE a eu de faibles effets KD à forte concentration. En outre, certains auteurs ont montré dans leurs travaux que l'HE de *O. americanum* a produit des effets KD plus élevés à forte concentration sur les souches sensibles, Bora Bora et Kisumu, que sur les souches de terrain de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* collectées, respectivement à Bobo-Dioulasso et à VK (Balboné et al., 2022b, 2022c). D'autre part, des études menées en Guinée Bissau, Afrique de l'Ouest, avaient rapporté que l'HE de *O. americanum* avait également un effet répulsif sur les moustiques du genre *Anopheles* (Pålsson et Jaenson 1999).

Les deux témoins positifs, le DEET et la perméthrine, se sont également révélés irritants. En effet, la perméthrine a montré un effet irritant de contact légèrement élevé sur toutes les souches de *An. gambiae* (Kisumu et VK) et un faible effet irritant de contact sur toutes les

souches de *Ae. aegypti* (Bora Bora et Bobo-Dioulasso) à toutes les concentrations, avec de faibles effets KD sur toutes les souches des deux espèces de moustiques testés, par rapport aux HE de *C. nardus*, *L. multiflora* et *O. americanum*. Nos résultats sont similaires à ceux de Deletre et *al.* (2013) qui ont montré que la perméthrine avait un faible effet irritant de contact sur les populations résistantes de *An. gambiae* à des concentrations élevées. On pourrait penser que le faible pouvoir répulsif de la perméthrine serait dû à la résistance accrue des moustiques aux insecticides chimiques. Cependant, des études antérieures ont signalé que la perméthrine peut encore être appliquée comme répulsif contre les piqûres de moustiques dans de nombreux endroits, même si la résistance aux pyréthrinoïdes était répandue (Bowman et *al.*, 2018). Alors, selon la présente étude, il serait intéressant d'utiliser la perméthrine comme un répulsif irritant au moins à la concentration (0,5%).

Quant au DEET, il a été répulsif-irritant pour toutes les souches de *An. gambiae* et a provoqué moins d'effet KD. Ces résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par Deletre et *al.* (2013) qui ont montré que le DEET est irritant à des concentrations élevées sur toutes les populations de *An. gambiae* testées. Cependant, sur la souche de *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso, le DEET a été moins irritant que toutes les HE testées et n'a pas provoqué de KD. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux trouvés par Licciardi et *al.* (2006) qui ont montré que le DEET donne un effet répulsif-irritant significatif et provoque des KD à des concentrations élevées. Cela pourrait s'expliquer par le fait que nos concentrations étaient plus faibles que celles utilisées par Licciardi et *al.* (2006). De plus, nos résultats montrent que le DEET était plus irritant sur les souches de *An. gambiae* que sur les souches de *Ae. aegypti* testées alors que des études précédentes avaient montré des données contraires (Travis 1947; Rutledge et *al.*, 1983; Curtis et *al.*, 1987; Badolo et *al.*, 2004). Cette contradiction pourrait être due aux différents protocoles expérimentaux utilisés.

3- 3-5. Conclusion partielle

Toutes les huiles essentielles testées dans cette étude ont montré des effets répulsifs-irritants. Sur *An. gambiae*, les effets répulsifs irritants de contact des HE de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus* et *Eucalyptus camaldulensis* ont été très proches de ceux du DEET, le répulsif de référence. Sur *Ae. aegypti*, toutes nos HE ont des effets répulsifs-irritants supérieurs pour certaines et très proches du DEET pour les autres. Les HE testées dans la présente étude

pourraient être des répulsifs potentiels contre les moustiques en tant qu'alternatives aux répulsifs synthétiques, les pyréthroïdes et le DEET.

**DISCUSSION GENERALE, CONCLUSION GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Cette étude s'inscrit dans le cadre général de la recherche d'alternatives de lutte contre les moustiques résistants aux pyréthrinoïdes. En effet, les pyréthrinoïdes, insecticides de synthèse, constituent jusqu'à présent les principaux insecticides dans la lutte contre les maladies qui peuvent être transmises par piqûres de moustiques. Cela, à cause de leurs propriétés qui permettent un contrôle efficace de la transmission de ces maladies lorsqu'ils sont utilisés en pulvérisations spatiales ou sur des moustiquaires (Zaim, Aitio et Nakashima, 2000).

La recherche d'alternative aux pyréthrinoïdes est un axe de recherche majeur depuis quelques années car l'usage massif des pyréthrinoïdes à des fins de santé publique et surtout en agriculture a entraîné la sélection de moustiques résistants, ce qui compromet l'efficacité des campagnes de LAV (Cohuet, 2020).

L'efficacité d'un insecticide repose sur sa capacité à prévenir la piqûre de l'utilisateur ou à tuer les moustiques vecteurs. Ainsi, les nouveaux insecticides à base des HE qui sont utilisées comme alternative doivent avoir des propriétés larvicides ou adulticides soit répulsives pour assurer une bonne gestion de la résistance pyréthrinoïdes. Nos objectifs opérationnels nous ont amené à conduire des études au laboratoire avec des HE sur des moustiques *An. gambiae* et *Ae. aegypti*. Dans cette partie nous rappellerons et discuterons les principaux résultats obtenus avant de développer les perspectives ouvertes par ce travail.

1. Discussion générale

1.1. Les huiles essentielles comme des larvicides

A travers cette étude, nous avons mis en évidence les propriétés larvicides des huiles essentielles de cinq (5) plantes locales qui sont *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* et *O. americanum*. Parmi ces 5 HE testées, l'HE de *L. multiflora* a été la plus efficace sur les larves des souches de *Aedes aegypti* et de *Anopheles gambiae* sensibles et résistantes aux insecticides de synthèse. En effet, cette HE n'a pas présenté de différence significative avec le pyriproxifène, un larvicide de référence ($p = 0,86$). Récemment, Yameogo et al. (2021) et Wangrawa et al. (2022a) ont montré l'effet toxique de l'HE de *L. multiflora* sur des populations de *An. gambiae*, *Ae. aegypti*, *An. funestus* et *Culex quinquefasciatus*. Aussi, excepté l'HE de *E. camaldulensis*, toutes les autres HE ont montré une toxicité considérable. Cette toxicité de ces HE a été rapportée par des études antérieures (Dayananda et Ranaweera, 1996 ; Yaméogo et al., 2021 ; Ntonga et al., 2014).

Les HE ont été plus toxiques sur les larves de *An. gambiae* que sur celles de *Ae. aegypti*. Cependant, il y a plus de 19 ans, Bassolé et al. (2003) ont rapporté que les larves de *Ae. aegypti* étaient plus sensibles que celles de *An. gambiae* s.l. aux HE de *L. multiflora* et *O. americanum*. Ce changement de tendance de la toxicité vis-à-vis des 2 populations de moustiques testées dans notre étude peut être due à la différence de localité de collecte des larves de moustiques et aux facteurs favorisant l'apparition de la résistance surtout au sein des populations de *Ae. Aegypti*, vu le nombre d'années passées entre ces deux (2) études. En effet, Namountougou et al. (2020) ont rapporté que *Ae. aegypti* de Bobo-Dioulasso était plus résistant que celui de Ouagadougou aux insecticides chimiques (Deltaméthrine, bendiocard, chlorpyrifos-méthyl).

L'HE de *L. multiflora* et dans une moindre les quatre autres HE utilisées dans cette étude peuvent constituer en cela de bons outils de gestion de la résistance des moustiques des moustiques aux insecticides de synthèse.

1.2. Les cinq (5) HE et les combinaisons de deux (2) d'entre elles comme adulticides

Dans cette étude, la toxicité des 5 HE (HE de *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* et *O. americanum*) et les combinaisons de *C. nardus* (C.n) et *O. americanum* (O.a) ont été évaluées sur les adultes de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti*.

Dans l'ensemble, presque toutes les HE et les combinaisons testées ont montré des effets adulticides plus ou moins intéressantes sur les souches de *An. gambiae*, sensible (Kisumu) et de terrain (VK) résistante aux pyréthriinoïdes. Ces effets adulticides, mis en évidence par des effets knock-down (KD), des concentrations létales faibles et des taux de mortalité élevés des moustiques adultes testés, ont été par contre plus faibles sur *Ae. aegypti*. Cela montre que les populations de *An. gambiae* sont plus sensibles aux HE testées que les populations de *Ae. aegypti*. Des études menées par Amerasan et al. (2012) et Murugan et Kumar (2012) ont trouvé des résultats similaires avec les HE de *Citrus sinensis* et de *Cassia tora* en Taïwan et en Inde où *Anopheles* sp est plus sensibles que *Ae. aegypti*.

L'HE de *L. multiflora* a été la plus efficace sur les adultes de *An. gambiae* et de *Ae. aegypti* testées, suivie de l'HE de *C. nardus*. L'HE la moins toxique était celle de *E. camaldulensis*. Il est intéressant de noter que *L. multiflora* peut constituer une bonne alternative au regard du taux de mortalité qui atteint 96,88% sur *An. gambiae*, largement supérieure au taux de mortalité obtenu avec la perméthrine.

L'efficacité des 5 HE testées dans cette étude serait due à leurs composés majeurs. En effet, plusieurs études antérieures ont montré que les composés majeurs sont le facteur responsable de la bio-activité d'une HE, car ils constitueraient la partie la plus importante des composés totaux de l'HE (Lucia *et al.*, 2007; Gbolade et Lockwood, 2008; Vani, Cheng et Chuah, 2009). En effet, des études ont montré que le p-cymène et le β -caryophyllène présentent des propriétés adulticides sur *An. gambiae* et *Ae. aegypti* (Almadiy, 2020; Bossou *et al.*, 2013). Ainsi, l'activité adulticide élevée de l'HE de *L. multiflora* serait attribuée au β -caryophyllène et au p-cymène qui font partie de ses composés majeurs dans la présente étude.

Globalement, toutes les combinaisons obtenues avec les 2 HE (*C. nardus* et *O. americanum*) ont amélioré l'efficacité globale des HE par rapport aux HE individuelles. Dans la présente étude, l'amélioration du potentiel adulticide par la combinaison des deux HE peut être due par leur proportion dans la combinaison. Nos résultats corroborent ceux des travaux antérieurs qui ont rapporté que l'activité biologique des HE dépend non seulement de leur composition qualitative, mais aussi du rapport quantitatif de leurs composants (Bekele et Hassanali, 2001 ; Pavela, 2008).

L'amélioration du potentiel adulticide par les combinaisons des HE a été prouvée par les effets synergiques et additifs obtenus. Cette amélioration de la toxicité par les combinaisons des 2 HE serait due à l'effet toxique combiné des composés majeurs des 2 HE prises individuellement. Des travaux antérieurs ont montré que l'action toxique des HE est due aux effets combinés de différents composants, avec ou sans action toxique individuelle significative contre les insectes (Tanprasit, 2005; Park *et al.*, 2011). D'autres études ont montré que des combinaisons de 1,8-cinéole et de citronellal ainsi que de plusieurs composés mineurs et de citronellal ont donné des effets synergiques sur les larves de *Spodoptera littoralis* (Abbassy, Abdelgaleil et Rabie, 2009). Recement, Wangrawa *et al.* (2022b) ont montré que l'amélioration des HE par les combinaisons est due à l'apparition de nouveaux composés préalablement absents dans les HE individuelles.

La mise en évidence de l'effet adulticide des HE seules et des combinaisons de certaines de ces HE est une étape importante dans la recherche de nouveaux types d'insecticides. En effet, nos études ont montré qu'il y avait un gain d'efficacité à combiner les HE, en termes de mortalité induite, d'effet Knock Down (KD) et de concentration létale induite. Il faut noter que, pour la première fois, une interaction synergique a été observée en combinant les HE de *C.*

nardus et de *O. americanum* sur des populations de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* au Burkina Faso.

Le système nerveux est généralement le principal site cible des insecticides utilisés dans les programmes de lutte contre les vecteurs du paludisme (Rants'o et al. 2022). Ces auteurs ont montré l'existence d'un lien entre les modes d'action de certains insecticides chimiques et les HE. En effet, selon ces auteurs, les HE agissent au niveau du système nerveux central sur l'acétylcholinestérase (AChE) comme les organophosphorés et les carbamates. Kiendrebeogo et al. (2011) ont montré qu'en utilisant des conditions expérimentales et des concentrations d'enzyme AChE similaires, les HE de *Ocimum canum* (Sims.) du Burkina Faso ont inhibé l'AChE.

De plus, Selon d'autres auteurs, les HE et leurs constituants inhibent les enzymes de détoxification P450 monooxygénase et glutathione-S-transférase impliquées dans la résistance à de multiples insecticides dont les pyréthroides, les organophosphorés et les carbamates (Norris et al., 2018 ; Gaire et al., 2021).

1.3. Les huiles essentielles comme répulsifs anti moustiques

Toutes les 5 HE testées ont montré des effets répulsif-irritants de contact. Cependant, l'HE de *L. multiflora* s'est montrée moins répulsive sur les deux souches de *An. gambiae* et la souche sensible de *Ae. aegypti* « Bora Bora ». Cette faiblesse de l'effet répulsif-irritant de l'HE de *L. multiflora* a été plus remarquable surtout aux concentrations les plus élevées. Cela serait dû au taux élevé de KD que produit cette HE sur les différents types de moustiques testés. Nos études antérieures ont montré que l'HE de *L. multiflora* produit des effets KD élevés sur les populations de *Ae. aegypti* et *An. gambiae* (Balboné et al. 2022b; Balboné et al. 2022c). Il est évident que les moustiques assommés ne peuvent pas s'échapper. L'HE de *L. multiflora* peut être un bon répulsif à faible dose.

Compte tenu du fait que les HE de *C. citratus*, *C. nardus* et de *E. camaldulensis* ont montré des effets répulsif-irritants de contact très proches ou dans certains cas supérieurs à ceux causés par le DEET, ces HE peuvent être de bons répulsif-irritants de contact. En effet, des auteurs ont montré que les HE de *C. nardus* et de *Eucalyptus spp* qui ont été citées dans de nombreuses inventions brevetées ont un pouvoir répulsif contre les espèces de Anopheles et de Aedes, dans certains cas comparables à celui du DEET (Tawatsin et al., 2001; Moore, Lenglet et

Hill, 2002 ; Sultana et *al.*, 2008). En outre, d'autres auteurs ont montré que l'HE de *C. citratus* a une propriété répulsive assez significatives (Amer et Mehlhorn, 2006).

L'HE de *O. americanum* a produit des effets répulsifs irritants de contact élevés ou modérés sur les souches de terrain de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* (respectivement de Bobo-Dioulasso et VK) à toutes les concentrations, mais de manière croissante. De plus, cette HE a produit de faibles effets KD même à la concentration élevée. Ces résultats corroborent ceux des études antérieures menées en Guinée Bissau, en Afrique de l'Ouest, qui ont rapporté que l'HE de *O. americanum* a un effet répulsif sur les moustiques Anophèles (Palsson et Jaenson, 1999).

Les différences dans la spécificité d'espèce des profils de répulsion de ces HE peuvent motiver leur utilisation en combinaison afin de générer des formulations à large spectre pour la répulsion simultanée des deux espèces de moustiques.

Il faut noter que, pour la première fois, l'effet répulsif irritant par contact des HE a été testé sur des populations de moustiques des espèces de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* au Burkina Faso.

2. Conclusion générale et perspectives

L'objectif général de cette thèse était d'évaluer les propriétés insecticides de 5 huiles essentielles et des combinaisons de deux (2) d'entre elles sur des populations de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae* reconnues résistantes aux insecticides chimiques. Dans cette thèse, nous avons évalué trois propriétés insecticides, à savoir les propriétés larvicides, adulticides et répulsives irritantes de contact.

Concernant les propriétés larvicides, les travaux ont permis de montrer que l'HE de *L. multiflora* serait un bon larvicide dans la mesure où cette HE a donné une toxicité élevée sur les larves de *Ae. aegypti* et de *An. gambiae*, sensiblement proche de celle produite du pyriproxifène, un larvicide de référence. Cependant, les HE de *C. nardus* et de *O. americanum* ne seraient pas négligeables comme des larvicides.

En termes d'efficacité adulticide, l'HE de *L. multiflora* serait un candidat privilégié, puisqu'elle a donné des taux de mortalités et de knock-down très élevés. Aussi, les combinaisons aux ratios 90 : 10, 80 : 20 et 20 : 80, respectivement des HE de *C. nardus* et de *O. americanum* ont produit des effets adulticides élevés.

Toutes les 5 HE testées ont produit des effets répulsifs irritants de contact modérés pour certaines et élevés pour d'autres. Les HE de *C. nardus*, *C. citratus* et *E. camaldulensis* peuvent être de bons répulsifs.

Compte tenu de ces différentes propriétés utiles de ces HE dans la lutte antivectorielles, il serait intéressant de vulgariser leur utilisation.

Cette étude nous a donné un autre goût. Donc, en perspective, nous envisageons :

- Entreprendre des tests larvicides, répulsifs et adulticides avec les huiles essentielles en milieu semi contrôlé pour la phase II de l'évaluation ;
- Tester les combinaisons intéressantes des HE sur une large gamme de populations naturelles de moustiques ;
- Tester les combinaisons d'HE avec des insecticides de la famille des pyréthriinoïdes sur une large gamme de populations naturelles de moustiques ;
- Déterminer les compositions chimiques des combinaisons ayant donné des effets synergistes ;
- Mettre au point des formulations insecticides à base des HE de plantes locales microencapsulés pour améliorer l'efficacité dans le temps en collaboration avec les firmes locales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbassy, M.A., Abdelgaleil, S.A., & Rabie, R. (2009). Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131 (3): 225–32. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00854.x>.
- Abbott, W S. (1987). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. 1925. *Journal of the American Mosquito Control Association* 3 (2): 302–3.
- Achee, N. L., Sardelis M. R., Dusfour I., Chauhan K. R. & Grieco J. P. (2009). Characterization of spatial repellent, contact irritant, and toxicant chemical actions of standard vector control compounds. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(2), 156-167.
- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456, pp. 544-545). Carol Stream: Allured publishing corporation.
- Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail (ANSES), 2020. Rôle des arthropodes dans la transmission de la peste porcine africaine. Avis de l'Anses, Rapport d'expertise collective. Saisine n° « 2019-SA-0028 ». France.
- Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail (ANSES), (2013). Avis relatif à la recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle (Classement des 32 substances actives sélectionnées par l'analyse multicritère SIRIS en trois classes selon le niveau de connaissances sur leur efficacité contre les moustiques). Saisine n° 2012-SA-0028 (Maisons-Alfort, Anses).
- Ahouansou, A. C., Fagla, S. R. M., Tokoudagba, J. M., Toukourou, H., Badou, Y. K., & Gbaguidi, F. A. (2019). Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle on *Anopheles gambiae*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(3), 1861-1869. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i3.53>.
- Akrout, A. (2004). Étude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 2004. p. 289-292 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n. 62). <http://om.ciheam.org/om/pdf/c62/04600172.pdf>

- Aliota, M. T., Peinado, S. A., Velez, I. D., & Osorio, J. E. (2016). The WMel Strain of Wolbachia Reduces Transmission of Zika Virus by *Aedes aegypti*. *Scientific Reports* 6 (June): 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep28792>.
- Aldridge, W. N. (1950) ‘Some properties of specific cholinesterase with particular reference to the mechanism of inhibition by Diethyl p-Nitrophenyl Thiophosphate (E 605) and Analogues’, *Biochemical Journal*, 46(4), pp. 451–460. doi: 10.1042/bj0460451.
- Almadiy, A. A. (2020). Chemical Composition, Insecticidal and Biochemical Effects of Two Plant Oils and Their Major Fractions against *Aedes aegypti*, the Common Vector of Dengue Fever.” *Heliyon* 6 (9): e04915. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04915>.
- Alphey, L. (2014). Genetic Control of Mosquitoes. *Annual Review of Entomology* 59: 205–26. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162002>.
- Amer, A., & Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitol Res*; 99: 478–490
- Amerasan, D., Murugan, K., Kovendan, K., Mahesh Kumar, P., Panneerselvam, C., Subramaniam, J., ... & Hwang, J. S. (2012). Adulticidal and repellent properties of *Cassia tora* Linn. (Family: Caesalpinaceae) against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi*. *Parasitology research*, 111(5), 1953-1964. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3042-3>.
- Azeem, M., Zaman, T., Tahir, M., Haris, A., Iqbal, Z., Binyameen, M., ... Mozūraitis, R. (2019). Chemical composition and repellent activity of native plants essential oils against dengue mosquito, *Aedes aegypti*. *Industrial Crops and Products*, 140, 111609. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.1116>. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111609>.
- Badolo, A., Ilboudo-Sanogo, E., Ouédraogo, A. P., & Costantini, C. (2004). Evaluation of the sensitivity of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes to two insect repellents: DEET and KBR 3023. *Tropical Medicine & International Health*, 9(3), 330-334. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3156.2004.01206.X>.
- Badolo, A., Sombié, A., Pignatelli, P. M., Sanon, A., Yaméogo, F., Wangrawa, D. W., Sanon, A., Kanuka, H., McCall, P. J., & Weetman, D. (2019). Insecticide resistance levels and mechanisms in *Aedes aegypti* populations in and around Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS*

neglected tropical diseases, 13(5), e0007439. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007439>.

Balboné, M., Soma, D. D., Namountougou, M., Drabo, S. F., Konaté, H., Toé O., Bayili, K., Meda, G. B., Dabiré, R. K. and Gnankine, O. (2022a). Essential oils from five local plants: an alternative larvicide for *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control in Western Burkina Faso. *Front. Trop. Dis.* 3:853405. doi: 10.3389/fitd.2022.853405.

Balboné, M., Diloma Soma, D., Fogné Drabo, S., Namountougou, M., Konaté, H., Benson Meda, G., Sawadogo, I., Romba, R., Bilgo, E., Nebié, R. C. H., Bassolé, I. H. N., Dabire, R. K., & Gnankine, O. (2022). Alternatives to Pyrethroid Resistance : Combinations of *Cymbopogon nardus* and *Ocimum americanum* Essential Oils Improve the Bioefficiency Control Against the Adults' Populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 59(6), 2102–2109. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac148>.

Balboné, M., Sawadogo, I., Soma, D. D., Drabo, S. F., Namountougou, M., Bayili, K., Romba, R., Meda, G. B., Nebié, H. C. R., Dabire, R. K., Bassolé, I. H. N., & Gnankine, O. (2022). Essential oils of plants and their combinations as an alternative adulticides against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) populations. *Scientific reports*, 12(1), 19077. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23554-6>.

Banks, S. D., Murray, N., Wilder-Smith, A., & Logan, J. G. (2014). Insecticide-treated clothes for the control of vector-borne diseases: a review on effectiveness and safety. *Medical and veterinary entomology*, 28 Suppl 1, 14–25. <https://doi.org/10.1111/mve.12068>

Barreaux, A. M. G., Oumbouke W. A., Tia I. Z., Brou N’G., Koffi A. A., N’Guessan R. and Thomas M. B. (2019) ‘Semi-field evaluation of the cumulative effects of a lethal House Lure on malaria mosquito mortality’, *Malaria Journal*, 18(1), pp. 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2936-2>.

Bassolé, I.H.N., Ouattara, A.S., Nebieb, R. C. H., Ouattara, C. A. T., Kabore, Z. I., Traore, S.A. (2003). Ovicidal and Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oils extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. *Parasitologia* 45 :23–26. *Parasitologia* 45 (1): 23–26.

Bassole, I. H. N., Nebie, R., Savadogo, A., Ouattara, C. T., Barro, N., & Traore, S. A. (2005).

- Composition and antimicrobial activities of the leaf and flower essential oils of *Lippia chevalieri* and *Ocimum canum* from Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* 4 (10): 1156–60. <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3230>.
- Bassolé, I.H.N. and Juliani, H.R. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 17 :3989-4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>.
- Bayili, K., Namountougou M., Sanou R., Ndo S., Ouattara A., Dabiré R. K., Malone D. and Diabaté A. (2015). ‘The sterilizing effect of pyriproxyfen on the malaria vector *Anopheles gambiae*: physiological impact on ovaries development’, *Malaria Journal*, 14(101), pp. 1-8. <https://doi: 10.1186/s12936-015-0609-3>.
- Bekele, J., and Hassanali, A.. (2001). Blend Effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* 57 (3): 385–91. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00067-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00067-X).
- Bendali, F., Djebbar, F. et Soltani, N. (2001). Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l’égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire résumé. *Parasitica* 57: 255–65.
- Benelli, G., Jeffries, C. L., & Walker, T. (2016). Biological Control of Mosquito Vectors: Past, Present, and Future. *Insects*, 7(4), 52. <https://doi.org/10.3390/insects7040052>
- Benz, G. W., Roncalli R. A. and Gross S. J. (1989) ‘Use of ivermectin in Cattle, Sheep, Goats, and Swine’, in *Ivermectin and Abamectin*. New York, NY: Springer New York, pp. 215-229. https://doi: 10.1007/978-1-4612-3626-9_15.
- Berenbaum, M. A. Y., and Neal J. J. (1985). Synergism between myristicin and xanthotoxin, a naturally cooccurring plant toxicant. *Journal of Chemical Ecology* 11 (10): 1349–58.
- Bernier, U. R., Kline, D., Posey, K. H., Ernier, U. B., Kline, D. L. and Posey, H. (2006). Human emanations and related natural compounds that inhibit human emanations and related natural compounds that inhibit mosquito host-finding abilities mosquito host-finding abilities human emanations and related natural compounds that inhibit mosquito ho. *Insect repellent: principales, methods and uses*. p 77-100.USA <https://digitalcommons.unl.edu/usdaarsfacpubFaculty.948>.<https://digitalcommons.unl.edu/us>

daarsfacpub/948.

- Bharati, M., & Saha, D. (2018). Multiple insecticide resistance mechanisms in primary dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) from dengue endemic districts of sub-Himalayan West Bengal, India. *PloS one*, *13*(9), e0203207. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203207>
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., Drake, J. M., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Sankoh, O., Myers, M. F., George, D. B., Jaenisch, T., Wint, G. R., Simmons, C. P., Scott, T. W., Farrar, J. J., & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, *496*(7446), 504–507. <https://doi.org/10.1038/nature12060>.
- Bilgo, E., Lovett, B., Fang, W., Bende, N., King, G. F., Diabate, A., & St Leger, R. J. (2017). Improved efficacy of an arthropod toxin expressing fungus against insecticide-resistant malaria-vector mosquitoes. *Scientific reports*, *7*(1), 3433. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03399-0>.
- Bøgh, C., Pedersen, E. M., Mukoko, D. A., & Ouma, J. H. (1998). Permethrin-impregnated bednet effects on resting and feeding behaviour of lymphatic filariasis vector mosquitoes in Kenya. *Medical and veterinary entomology*, *12*(1), 52–59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1998.00091.x>.
- Bossou, A. D., Mangelinckx, S., Yedomonhan, H., Boko, P. M., Akogbeto, M. C., De Kimpe, N., Avlessi, F., and Sohounhloue, D. C. K. (2013). Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from benin against *Anopheles gambiae* (Giles).
- Boulanger, N., & de Gentile, L. (2012). Les répulsifs cutanés. In Duvallet G., de Gentile L. Ed., Protection personnelle antivectorielle, IRD Éditions, Marseille : 50-116.
- Boulanger, N., & Lipsker, D. (2015). Protection contre les piqûres de tiques [Protection against tick bites]. *Annales de dermatologie et de venerologie*, *142*(4), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2014.11.018>.
- Boussès, P. and Granouillac, B. (2011). Les Anopheles de La région Afro-Tropicale, IRD éditions. ISBN 2-7099-1380-1. <http://vmpinsarim-dev.mpl.ird.fr/xper2/web/index.html>.
- Bouyer, J., Gentile L. and Chandre F. (2017) ‘Chapitre 5- La lutte antivectorielle’, in Entomologie médicale et vétérinaire IRD éditions. Marseille, pp. 89–120. <http://doi:>

10.4000/books.irdeditions.22031.

- Bowman, N. M., Akialis, K., Cave, G., Barrera, R., Apperson, S. and Meshnick, S. R. (2018). Pyrethroid insecticides maintain repellent effect on knock-down resistant populations of *Aedes aegypti* mosquitoes.” *PLoS ONE* 5 (13): 1–14.
- Boyce, R., Lenhart A., Kroeger A., Velayudhan R., Roberts B. and Horstick O. (2013). *Bacillus Thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review.” *Tropical Medicine and International Health* 18 (5): 564–77. <https://doi.org/10.1111/tmi.12087>.
- Boyer, S., Toty C., Jacquet M., Lempérière G. and Fontenille D. (2012). Evidence of multiple inseminations in the field in *Aedes albopictus*. *PLoS ONE* 7 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042040>.
- Brady, O. J., Gething, P. W., Bhatt, S., Messina, J. P., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Moyes, C. L., Farlow, A. W., Scott, T. W., & Hay, S. I. (2012). Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS neglected tropical diseases*, 6(8), e1760. <https://doi.org/10.1371>.
- Briassoulis, G., Narlioglou M. and Hatzis T. (2001). Toxic encephalopathy associated with use of deet insect repellents : a case analysis of its toxicity in children. *Human & Experimental Toxicology*, 20 (October 2000): 8–14.
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales* (No. 581.634 B7).
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (3): 223–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>.
- Calafat, A. M. (2012). The U.S. National Health and Nutrition Examination Survey and human exposure to environmental chemicals. *International journal of hygiene and environmental health*, 215(2), 99–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.014>.
- Caly, L., Druce, J. D., Catton, M. G., Jans, D. A., & Wagstaff, K. M. (2020). The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral research*, 178, 104787. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104787>

- Campbell, W. C., Fisher M. H., Stapley E. O., Albers-Schönberg G. and Jacob T. A. (1983) 'Ivermectin: A potent new antiparasitic agent', *Science*, 221(4613), pp. 823–828. doi: 10.1126/science.6308762.
- Cansian, R. L., Astolfi V., Cardoso R. I., Paroul N., Roman S. S., Mielniczki-Pereira, A. A., Pauletti G. F. and Mossi A. J. (2015). Insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* Var . *Linaloolifera* Y . Fujita (Ho-Sho) and *Cinnamomum camphora* (L .) J Presl . Var . Hosyo (Hon-Sho) on *Sitophilus zeamais* Mots . (Coleoptera , Curculionidae).” *Revue Bras. Pl. Med.* 17: 769–73.
- Carnevale, P, and Robert, V. (2009). *Les Anopheles: biologie, transmission du plasmodium et lutte antivectorielle*, Marseille: *IRD Editions*, 391 p. (Didactiques). ISBN 978-2-7099-1662-2. ISSN 1142-2580.
- Casida, J. E. and Quistad G. B. (1998) 'Golden Age of Insecticide Research: Past, Present, or Future?' *Annual Review of Entomology*, 43(1), pp. 1–16. doi: 10.1146/annurev.ento.43.1.1.
- Cavalcanti, E. S. B., Morais, S. M. de, Lima, M. A. A., & Santana, E. W. P. (2004). *Larvicidal Activity of essential oils from Brazilian plants against Aedes aegypti L. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(5), 541–544. doi:10.1590/s0074-0276200400050.
- Chaccour, C., Lines, J. and Whitty, C. J. M. (2010) 'Effect of Ivermectin on Anopheles gambiae Mosquitoes Fed on Humans: The potential of oral insecticides in malaria control', *The Journal of Infectious Diseases*, 202(1), pp. 113–116. doi: 10.1086/653208.
- Chaccour, C. J., Kobylinski, K. C., Bassat, Q., Bousema, T., Drakeley, C., Alonso, P. and Foy, B. D. (2013) 'Ivermectin to reduce malaria transmission: a research agenda for a promising new tool for elimination', *Malaria Journal*, 12(153): 1-8. doi: 10.1186/1475-287512-153.
- Chandre, F., Darrier, F., Manga, L., Akogbeto, M., Faye, O., Mouchet, J., & Guillet, P. (1999). Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(3): 230–234.
- Chansang, A., Champakaew D., Junkum A., Jitpakdi A., Amornlerdpison D., Aldred A. K., Riyong D. and Pitasawat B. (2018). Synergy in the adulticidal efficacy of essential oils for the improvement of permethrin toxicity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).” *Parasites & Vectors* 11 (1): 417. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3001-7>.

- Chapman, R F. (1969). *The Insects, Structure and Function* 1th Edition, American Elsevier Pub. Co. 819 pages. ISBN-10- 0444197583 ISBN-13- 978-0444197580.
- Chippaux, J-P., Boussinesq M. and Prod'hon J. (1995) 'L'ivermectine dans le contrôle', *Cahiers Santé*, 5: 149–158.
- Chiasson, H., Bélanger A., Bostanian N., Vincent C., & Poliquin A. (2001). Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of economic entomology*, 94(1), 167-171. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.1.167>.
- Chooluck, K., Teeranachaideekul V., Jintapattanakit A., Lomarat P., & Phechkrajang C. (2019). Repellency effects of essential oils of *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus*, *Citrus hystrix* and their major constituents against Adult *German cockroach* (*Blattella germanica* Linnaeus (Blattaria: Blattellidae)). *Jordan Journal of Biological Sciences Short Communication*, 12(4), 519-523.
- Churcher, T. S., Lissenden N., Griffin J. T., Worrall E. and Ranson H. (2016). The impact of pyrethroid resistance on the efficacy and effectiveness of bednets for malaria control in Africa. *ELife* 5 (AUGUST). <https://doi.org/10.7554/eLife.16090>.
- Clem, J. R, Havemann D. F, and Raebel M. A. (1993). Insect repellent (N,N-Diethyl-m-Toluamide) cardiovascular toxicity in an adult. *Annals of Pharmacotherapy* 27 (March): 289–93.
- Clevenger, J. F. (1928) Apparatus for Volatile Oil Determination, Description of New Type. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), 17, 345-349. <https://doi.org/10.1002/jps.3080170407>.
- Centre National d'Expertise sur les Vecteurs (CNEV), (2014) Rapport relatif à l'utilisation des insecticides et gestion de la résistance https://www.anses.fr/fr/system/files/CNEV-Ft_Fev2014-Rapport_Utilisation_insecticides_gestion_resistance.pdf.
- Cohuet, A. (2020). L'efficacité des principaux répulsifs contre les moustiques les plus dangereux. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail*, (15), 39-42.
- Corbel, V., Fonseca, D. M., Weetman, D., Pinto, J., Achee, N. L., Chandre, F., Coulibaly, M. B.,

- Dusfour, I., Grieco, J., Juntarajumnong, W., Lenhart, A., Martins, A. J., Moyes, C., Ng, L. C., Raghavendra, K., Vatandoost, H., Vontas, J., Muller, P., Kasai, S., Fouque, F., ... David, J. P. (2017). International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. *Parasites & vectors*, *10*(1), 278. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2224-3> .
- Costantini, C., Badolo, A., & Ilboudo-Sanogo, E. (2004). Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR 3023 against *Anopheles gambiae* complex and other Afrotropical vector mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *98*(11), 644–652. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2003.12.015>
- Cuisance, D., Politzar H., Clair M., Sellin E., and Tazé Y. (1978). Impact des lâchers de mâles stériles sur les niveaux de deux populations sauvages de *Glossina palpalis* Gambiensis En Haute-Volta (Sources de La Volta Noire). *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux* *31* (3): 315. <https://doi.org/10.19182/remvt.8126>.
- Curtis, C. F., Lines J. D., Ijumba J., Callaghan A., and Hill N. (1987). The relative efficacy of repellents against mosquito vectors of disease. *Medical and Veterinary Entomology* *1*: 109–19.
- Dabire, K. R., Diabaté, A., Agostinho, F., Alves, F., Manga, L., Faye, O., & Baldet, T. (2008). Distribution of the members of *Anopheles gambiae* and pyrethroid knock-down resistance gene (kdr) in Guinea-Bissau, West Africa. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique (1990)*, *101*(2), 119–123.
- Dabiré, K. R., Diabaté, A., Namountougou, M., Toé, K. H., Ouari, A., Kengne, P., Bass, C., and Baldet, T. (2009). Distribution of pyrethroid and ddt resistance and the 11014f kdr mutation in *Anopheles gambiae* s.l . from Burkina Faso (West Africa). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* *103*: 1113–20. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2009.01.008>.
- Dabiré, K. R., Diabaté, A., Namountougou, M., Djogbenou, L., Wondji, C., Chandre, F., Simard, F., Ouédraogo, J., Martin, T., Weill, M., & Baldet, T. (2012a). Trends in Insecticide Resistance in Natural Populations of Malaria Vectors in Burkina Faso, West Africa: 10

- Years' Surveys. In (Ed.), *Insecticides - Pest Engineering*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/28749>.
- Dabiré, R. K., Namountougou, M., Sawadogo, S. P., Yaro, L. B., Toe, H. K., Ouari, A., Gouagna, L-C., Simard, F., Chandre, F., Baldet, T., Bass, C. and Diabate, A. (2012b). Population Dynamics of *Anopheles gambiae* s.l. in Bobo-Dioulasso City: Bionomics, Infection Rate and Susceptibility to Insecticides. *Parasites and Vectors* 5 (1): 1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-127>.
- Dabire, R. K., Namountougou, M., Diabaté, A., Soma, D. D., Bado, J., Toé, H. K., Bass, C. & Combar, P. (2014). Distribution and frequency of kdr mutations within *Anopheles gambiae* sl populations and first report of the ace. 1 G119S mutation in *Anopheles arabiensis* from Burkina Faso (West Africa). *PloS one*, 9(7), e101484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101484>
- Darriet, F. (1998). La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies : l'évaluation de nouveaux insecticides utilisables contre les moustiques en Afrique tropicale. Paris (FRA) ; Paris : Karthala ; ORSTOM, 114 p. (Economie et Développement). ISBN 2-86537-864-0.
- Dayananda, K. and Ranaweera, S., (1996). Mosquito-larvicidal activity of Ceylon citronella {*Cymbopogon Nardus* (L.) Rendle} oil fractions. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 24(4), pp.247–252. <http://doi.org/10.4038/jnsfsr.v24i4.5557>
- de Araújo, A. P., Paiva, M., Cabral, A. M., Cavalcanti, A., Pessoa, L., Diniz, D., Helvecio, E., da Silva, E., da Silva, N. M., Anastácio, D. B., Pontes, C., Nunes, V., de Souza, M., Magalhães, F., de Melo Santos, M., & Ayres, C. (2019). Screening *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Pernambuco, Brazil for Resistance to Temephos, Difluzenuron, and Cypermethrin and Characterization of Potential Resistance Mechanisms. *Journal of insect science (Online)*, 19(3), 16. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez054>
- Debboun, M., & Strickman, D. (2013). Insect repellents and associated personal protection for a reduction in human disease. *Medical and Veterinary Entomology*, 27(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01020.x>.
- Dekker, T., Ignell, R., Ghebru, M., Glinwood, R., & Hopkins, R. (2011). Identification of mosquito repellent odours from *Ocimum forskolei*. *Parasites & vectors*, 4, 183.

<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-183>.

Deletre, E., Martin, T., Campagne, P., Bourguet, D., Cadin, A., Menut, C., Bonafos, R. and Chandre, F. (2013). Repellent, irritant and toxic effects of 20 plant extracts on adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* mosquito. *PloS One*, 8(12) : e82103. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082103>

Deletre, E., Chandre, F., Williams, L., Duménil, C., Menut, C., & Martin, T. (2015). Electrophysiological and behavioral characterization of bioactive compounds of the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon winterianus*, *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils against *Anopheles gambiae* and prospects for their use as bednet treatments. *Parasites & vectors*, 8, 316. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0934-y>

Deletre, E., Schatz, B., Bourguet, D., Chandre, F., Williams, L., Ratnadass, A., & Martin, T. (2016). Prospects for repellent in pest control : current developments and future challenges. *Chemoecology*, 26(4), 127-142. <https://doi.org/10.1007/s00049-016-0214-0>.

Deletre, E., Martin, T., Duménil, C., & Chandre, F. (2019). Insecticide resistance modifies mosquito response to DEET and natural repellents. *Parasites & vectors*, 12(1): 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3343-9>.

Dell'Agli, M., Sanna, C., Rubiolo, P., Basilico, N., Colombo, E., Scaltrito, M. M., ... & Bosisio, E. (2012). Anti-plasmodial and insecticidal activities of the essential oils of aromatic plants growing in the Mediterranean area. *Malaria journal*, 11(1): 219. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-219>.

Dhadialla, T. S., Carlson, G. R. and Le, D. P. (1998) 'New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity', *Annual Review of Entomology*, 43(1), pp. 545–569. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.545> .

Diabate, A., Baldet, T., Chandre, F., Akoobeto, M., Guiguemde, T. R., Darriet, F., Brengues, C., Guillet, P., Hemingway, J., Small, G. J., & Hougard, J. M. (2002). The role of agricultural use of insecticides in resistance to pyrethroids in *Anopheles gambiae* s.l. in Burkina Faso. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 67(6): 617–622. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.67.617>.

Drabo, S. F., Gnankiné, O., Bassolé, I. H., Nébié, R. C., & Laurence, M. (2017). Susceptibility of

- MED-Q1 and MED-Q3 Biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations to essential and seed oils. *Journal of economic entomology*, 110(3), 1031-1038.: 1031–38. <https://doi.org/10.1093/jee/tox100>.
- Dua, V. K., Pandey, A. C., and Dash, A. P. (2010). Adulticidal activity of essential oil of *Lantana camara* leaves against mosquitoes. *Indian Journal of Medical Research* 131 (3): 434–39.
- Duvallet, G., Fontenille, D., and Robert, V. (2017) Entomologie médicale et vétérinaire. IRD éditions. Edited by Éditions Quae. <https://doi:10.4000/books.irdeditions.22031>.
- Enayati, A. A., Ranson, H., and Hemingway, J. (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology* 14 (1): 3–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2004.00529.x>.
- Fegan, G. W., Noor, A. M., Akhwale, W. S., Cousens, S., & Snow, R. W. (2007). Effect of expanded insecticide-treated bednet coverage on child survival in rural Kenya: a longitudinal study. *The Lancet*, 370(9592): 1035-1039.
- Ffrench-Constant, R. H., Daborn, P. J., & Le Goff, G. (2004). The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends in genetics: TIG*, 20(3), 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.01.003>.
- Foley, D. H., Bryan, J. H. and Lawrence, G. W. (2000) ‘The potential of ivermectin to control the malaria vector *Anopheles farauti*’, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(6), pp. 625–628. doi: 10.1016/S0035-9203(00)90211-6.
- Flannery, D. J., Todres, J., Bradshaw, C. P., Amar, A. F., Graham, S., Hatzenbuehler, M., ... & Rivara, F. (2016). Bullying prevention: A summary of the report of the National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Prevention Science*, 17(8), 1044-1053. 1044–53. <https://doi.org/10.1007/s11121-016-0722-8>.
- Folashade, K. O., & Omoregie, E. H. (2012). Essential oil of *Lippia multiflora* Moldenke: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 15-23.
- Fournet, F., Kassié, D., Dabiré, R. K., & Salem, G. (2015). Analyse de la distribution socio-spatiale du paludisme dans une ville moyenne ouest africaine, Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Dynamiques environnementales. Journal international de géosciences et de l'environnement*, (36), 146-165. <https://doi.org/10.4000/dynenviron.1004>.

- Fradin, M. S., & Day, J. F. (2002). Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *The New England journal of medicine*, 347(1), 13–18. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011699>
- Gaire, S., Zheng, W., Scharf, M. E., & Gondhalekar, A. D. (2021). Plant essential oil constituents enhance deltamethrin toxicity in a resistant population of bed bugs (*Cimex lectularius* L.) by inhibiting cytochrome P450 enzymes. *Pesticide biochemistry and physiology*, 175, 104829. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104829>
- Gbolade, A. A., and Lockwood, G. B. (2008). Toxicity of *Ocimum sanctum* L. Essential oil to *Aedes aegypti* larvae and its chemical composition. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 11 (2): 148–53. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643611>.
- Georges, S. O. (1979) « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, éd. Maloine, p. 141-142.
- Gillies, M. T., & Coetzee, M. (1987). A supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. *Publ S Afr Inst Med Res*, 55, 1-143.
- Gillij, Y. G., Gleiser, R. M., and Zygadlo J. A. (2008). Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina.” *Bioresource Technology* 99 (7): 2507–15. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.04.066>.
- Gnankiné, O., & Bassolé, I. H. N. (2017). Essential oils as an alternative to pyrethroids’ resistance against *Anopheles* species complex giles (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 22(10), 1321. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES22101321>.
- Gnankiné, O., Bassolé, I. H., Chandre, F., Glitho, I., Akogbeto, M., Dabiré, R. K., & Martin, T. (2013). Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) and *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae) could compromise the sustainability of malaria vector control strategies in West Africa. *Acta Tropica*, 128(1), 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.06.004>.
- Grieco, J. P., Achee, N. L., Sardelis, M. R., Chauhan, K. R., & Roberts, D. R. (2005). A Novel high-throughput screening system to evaluate the behavioral response of adult mosquitoes to chemicals1. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(4), 404-411. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)21\[404:ANHSST\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)21[404:ANHSST]2.0.CO;2).

- Guarrera, P. M. (1999). Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. *Journal of ethnopharmacology*, 68(1-3), 183–192. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(99\)00089-6](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(99)00089-6).
- Hao, H., Wei, J., Dai, J., & Du, J. (2014). Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *Journal of Medical Entomology*, 45(3), 533-539. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[533:HABBOA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[533:HABBOA]2.0.CO;2).
- Harbach, R. E. (2007). The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668(1), 591-638. doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.28
- Hardstone, M. C., Leichter, C. A., and Scott, J. G. (2009). Multiplicative interaction between the two major mechanisms of permethrin resistance, kdr and cytochrome p450-monoxygenase detoxification, in mosquitoes. *Journal Evol. Biol* 22: 416–23. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01661.x>.
- Heath, H. B. (1981). Source Book of Flavors: (AVI Sourcebook and Handbook Series) 1981st Edition. • ISBN-10 : 0870553704 • ISBN-13 : 978-0870553707
- Hemingway, J., Hawkes, N. J., McCarroll, L., & Ranson, H. (2004). The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect biochemistry and molecular biology*, 34(7), 653-665. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2004.03.018>.
- Hemingway, J., Ranson, H., Magill, A., Kolaczinski, J., Fornadel, C., Gimnig, J., Coetzee, M., Simard, F., Roch, D. K., Hinzoumbe, C. K., Pickett, J., Schellenberg, D., Gething, P., Hoppé, M., & Hamon, N. (2016). Averting a malaria disaster: will insecticide resistance derail malaria control?. *Lancet (London, England)*, 387(10029), 1785–1788. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00417-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00417-1).
- Henry, M. C., Assi, S. B., Rogier, C., Dossou-Yovo, J., Chandre, F., Guillet, P., & Carnevale, P. (2005). Protective efficacy of lambda-cyhalothrin treated nets in *Anopheles gambiae* pyrethroid resistance areas of Côte d'Ivoire. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 73(5), 859–864.
- Hervy, J-P. and Sales, S. (1980) Évaluation de la rémanence de deux pyréthrinoïdes de synthèse

-OMS-1821 et OMS-1998 - après imprégnation de différents tissus entrant dans la confection de moustiquaires. Bobo-Dioulasso : OCCGE, pp. 1- 10. [https://doi: fdi:10000](https://doi.org/10.1000).

Hien, A. S., Soma, D. D., Maiga, S., Coulibaly, D., Diabaté, A., Belemvire, A., Diouf, M. B., Jacob, D., Koné, A., Dotson, E., Awolola, T. S., Oxborough, R. M., & Dabiré, R. K. (2021). Evidence supporting deployment of next generation insecticide treated nets in Burkina Faso : bioassays with either chlorfenapyr or piperonyl butoxide increase mortality of pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *Malaria journal*, 20(1), 406. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03936-3> .

Hoffmann, A. A., Montgomery, B. L., Popovici, J., Iturbe-Ormaetxe, I., Johnson, P. H., Muzzi, F., Greenfield, M., Durkan, M., Leong, Y. S., Dong, Y., Cook, H., Axford, J., Callahan, A. G., Kenny, N., Omodei, C., McGraw, E. A., Ryan, P. A., Ritchie, S. A., Turelli, M., & O'Neill, S. L. (2011). Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature*, 476(7361), 454–457. <https://doi.org/10.1038/nature10356>

Hummelbrunner, L. A., and Isman, M. B. (2001). Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the *Tobacco cutworm*, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2): 715–20. <https://doi.org/10.1021/JF000749T>.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>.

Ilboudo, Z., L. Dabiré C.B., Nébié R. C.H., Dicko I. O., Dugravot S., Cortesero A. M., and Sanon A. (2010). 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): 124–28. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.12.002>.

Ileke, K. D., Oyeniya, E. A., Ogungbide, O. C., & Adesina, J. M. (2015). *Nicotiana tabacum* a prospective mosquitocide in the management of *Anopheles gambiae* (Giles). *International Journal of Mosquito Research*, 2(4): 19-23.

Institut National de la Statistique et de la Démographie (INSD), (2020). Résultats préliminaires

- du cinquième recensement général de la population et de l'habitation du Burkina Faso.
- Intirach, J., Junkum, A., Tuetun, B., Choochote, W., Chaithong, U., Jitpakdi, A., ... & Pitasawat, B. (2012). Chemical constituents and combined larvicidal effects of selected essential oils against *Anopheles cracens* (Diptera: Culicidae). *Psyche*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/591616>.
- Ishak, I. H., Kamgang, B., Ibrahim, S. S., Riveron, J. M., Irving, H., & Wondji, C. S. (2017). Pyrethroid resistance in Malaysian populations of dengue vector *Aedes aegypti* is mediated by CYP9 family of cytochrome P450 genes. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(1): e0005302. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005302>.
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19 (8–10): 603–8. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).
- Iwu, M. W., Duncan, A. R., & Okunji, C. O. (1999). New antimicrobials of plant origin. *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, 457, 462.
- Jones, J. W., Meisch, M. V., Meek, C. L. and Bivin, W. S. (1992) 'Lethal effects of ivermectin on *Anopheles quadrimaculatus*.', *Journal of the American Mosquito Control Association*, 8(3), pp. 278-280. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1402865/>.
- Kalemba, D, and Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10 (10): 813–29.
- Kamgang, B., Marcombe, S., Chandre, F., Nchoutpouen, E., Nwane, P., Etang, J., Corbel, V., & Paupy, C. (2011). Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Central Africa. *Parasites & vectors*, 4: 79. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-79> .
- Katz, T. M., Miller, J. H., & Hebert, A. A. (2008). Insect repellents: historical perspectives and new developments. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(5), 865–871. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.10.005>
- Kawada, H., Oo, S. Z. M., Thaug, S., Kawashima, E., Maung, Y. N. M., Thu, H. M., ... & Minakawa, N. (2014). Co-occurrence of point mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Myanmar. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(7): e3032. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003032>.
- Kawada, H., Higa, Y., Futami, K., Muranami, Y., Kawashima, E., Osei, J. H., ... & Minakawa,

- N. (2016). Discovery of point mutations in the voltage-gated sodium channel from African *Aedes aegypti* populations: potential phylogenetic reasons for gene introgression. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(6): e0004780. doi.org/10.1371/journal.pntd.0004780.
- Kiendrebeogo, M., Coulibaly, A. Y., Nebie, R. C., Zeba, B., Lamien, C. E., Lamien-Meda, A., & Nacoulma, O. G. (2011). Antiacetylcholinesterase and antioxidant activity of essential oils from six medicinal plants from Burkina Faso. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 63-69.
- Knols, B. G. J., Farenhorst, M., Andriessen, R., Snetselaar, J., Suer, R. A., Osinga, A. J., Knols, J. M. H., Deschietere, J., Ng 'habi, K. R., Lyimo, I. N., Kessy, S. T., Mayagaya, V. S., Sperling, S., Cordel, M., Sternberg, E. D., Hartmann, P., Mnyone, L. L., Rose, A. and Thomas, M. B. (2016) 'Eave tubes for malaria control in Africa: an introduction', *Malaria Journal*, 15(404): 1–7. doi: 10.1186/s12936-016-1452-x.
- Kobylinski, K. C., Sylla M., Chapman P. L., Sarr M. D. and Foy B. D. (2011) 'Ivermectin mass drug administration to humans disrupts malaria parasite transmission in Senegalese villages', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(1), pp. 3–5. doi: 10.4269/ajtmh.2011.11-0160.
- Kobylinski, K. C., Alout H., Foy B. D., Clements, A., Adisakwattana, P., Swierczewski, B. E. and Richardson, J. H. (2014) 'Rationale for the coadministration of albendazole and ivermectin to humans for malaria parasite transmission control', *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(4), pp. 655–662. doi: 10.4269/ajtmh.14-0187.
- Kory, P., Meduri, G. U., Varon, J., Iglesias, J., & Marik, P. E. (2021). Review of the emerging evidence demonstrating the efficacy of ivermectin in the prophylaxis and treatment of COVID-19. *American journal of therapeutics*, 28(3), e299. doi: 10.1097/MJT.0000000000001377
- Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides international*, 4(1), 63-84.
- Kpatinvoh, B., Adjou E. S., Dahouenon-Ahoussi E., Konfo C. T. R., Atrévi B., Soumanou M. M., Sohounhloué D. C. K. (2017). Efficacité des huiles essentielles de trois plantes aromatiques contre la mycoflore d'altération du niébé collecté dans les magasins de vente du

Sud-Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 109 : 10680-10687.

<https://doi.org/10.4314/jab.v109i1.12>.

Kraemer, M. U., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A. Q., Shearer, F. M., Barker, C. M., Moore, C. G., Carvalho, R. G., Coelho, G. E., Van Bortel, W., Hendrickx, G., Schaffner, F., Elyazar, I. R., Teng, H. J., Brady, O. J., Messina, J. P., Pigott, D. M., Scott, T. W., Smith, D. L., Wint, G. R., ... Hay, S. I. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife*, 4, e08347.

<https://doi.org/10.7554/eLife.08347>

Kweka, E. J., Nyindo, M., Mosha, F., & Silva, A. G. (2011). Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. *Parasites & Vectors*, 4(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-129>.

Lacey, L. A. (1990). The medical importance of riceland mosquito and their control using alternatives to chemical insecticides. *Journal of the American Mosquito Control Association*, no. 7.

Lee, H. S. (2006). Mosquito larvicidal activity of aromatic medicinal plant oils against aedes aegypti and culex *Pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22 (2): 292–95. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[292:MLAOAM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[292:MLAOAM]2.0.CO;2).

Lehmann, T., Dao, A., Yaro, A. S., Diallo, M., Timbiné, S., Huestis, D. L., ... & Traoré, A. I. (2014). Seasonal variation in spatial distributions of *Anopheles gambiae* in a Sahelian village: evidence for aestivation. *Journal of medical entomology*, 51(1), 27-38.

Li, C., Gao, Y., Zhao, Z., Ma, D., Zhou, R., Wang, J., ... & Liu, Q. (2021). Potential geographical distribution of *Anopheles gambiae* worldwide under climate change. *Journal of Biosafety and Biosecurity*, 3(2), 125-130. doi.org/10.1016/j.jobbb.2021.08.004

Licciardi, S., Hervé, J. P., Darriet, F., Hougard, J. M., & Corbel, V. (2006). Lethal and behavioural effects of three synthetic repellents (DEET, IR3535 and KBR 3023) on *Aedes aegypti* mosquitoes in laboratory assays. *Medical and veterinary entomology*, 20(3), 288-293. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00630.x>.

Liu, T. T., Chao, L. K. P., Hong, K. S., Huang, Y. J., & Yang, T. S. (2019). Composition and

insecticidal activity of essential oil of *Bacopa caroliniana* and interactive effects of individual compounds on the activity. *Insects*, 11(1), 23.

<https://doi.org/10.3390/insects11010023>.

Lovett, B., Bilgo, E., Millogo, S. A., Ouattarra, A. K., Sare, I., Gnambani, E. J., Dabire, R. K., Diabate, A., & St Leger, R. J. (2019). Transgenic *Metarhizium* rapidly kills mosquitoes in a malaria-endemic region of Burkina Faso. *Science (New York, N.Y.)*, 364(6443), 894–897. <https://doi.org/10.1126/science.aaw8737>

Lucia, A., Audino, P. G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., & Masuh, H. (2007). Larvicidal effect of Eucalyptus grandis essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 299–303. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[299:LEOEGE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[299:LEOEGE]2.0.CO;2).

Lundwall, E., Penetier, C., Corbel, V., de Gentile, L., Legros, F. (2005) Paludisme: se protéger des piqûres d’anophèles. *La Revue du Praticien*. 55

Luz, T. R. S. A., de Mesquita, L. S. S., do Amaral, F. M. M., & Coutinho, D. F. (2020). Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvae. *Acta Tropica*, 212, 105705. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105705>.

Maïga, H., Damiens, D., Niang, A., Sawadogo, S. P., Fatherhaman, O., Lees, R. S., Roux, O., Dabiré, R. K., Ouedraogo, G. A., Tripet, F., Diabaté A. & Gilles, J. R. (2014). Mating competitiveness of sterile male *Anopheles coluzzii* in large cages. *Malaria Journal*, 13(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-460>.

Manh, H. D., Hue, D. T., Hieu, N. T. T., Tuyen, D. T. T., & Tuyet, O. T. (2020). The Mosquito larvicidal activity of essential oils from Cymbopogon and Eucalyptus Species in Vietnam. *Insects*, 11(2), 128. <https://doi.org/10.3390/insects11020128>.

Mansour, S. A., Foda, M. S., & Aly, A. R. (2012). Mosquitocidal activity of two *Bacillus bacterial* endotoxins combined with plant oils and conventional insecticides. *Industrial crops and products*, 35(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.06.001>.

Marcombe, S., Fustec, B., Cattel, J., Chonephetsarath, S., Thammavong, P., Phommavanh, N., David, J. P., Corbel, V., Sutherland, I. W., Hertz, J. C., & Brey, P. T. (2019).

Distribution of insecticide resistance and mechanisms involved in the arbovirus vector *Aedes aegypti* in Laos and implication for vector control. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(12), e0007852. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007852>.

Marshall, J. M., White, M. T., Ghani, A. C., Schlein, Y., Muller, G. C. and Beier, J. C. (2013) 'Quantifying the mosquito's sweet tooth: Modelling the effectiveness of attractive toxic sugar baits (ATSB) for malaria vector control', *Malaria Journal*, 12(291), pp. 1-13. doi: 10.1186/1475-2875-12-291.

Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M. S., Darriet, F., Berge, J. B., Devonshire, A. L., ... & Pauron, D. (1998). Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* ss. *Insect molecular biology*, 7(2): 179-184. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2583.1998.72062.x>.

Mbare, O., Lindsay, S. W., & Fillinger, U. (2014). Pyriproxyfen for mosquito control: female sterilization or horizontal transfer to oviposition substrates by *Anopheles gambiae* sensu stricto and *Culex quinquefasciatus*. *Parasites & vectors*, 7(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-280>

Ministère de la Sante du Burkina Faso, Direction Des Statistiques Sectorielles, (2022). Paludisme Au Burkina : *Bulletin Epidemiologique*, 4–7.

Ministère de la Santé du Burkina Faso, Direction Des Statistiques Sectorielles, (2017). Flambée de Cas de Dengue Au Burkina Faso. *Sitrep Dengue*. no. 26: 11

Minjas, J. N., & Sarda, R. K. (1986). Laboratory observations on the toxicity of *Swartzia madagascariensis* (Leguminosae) extract to mosquito larvae. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(3), 460-461. <https://doi.org/10.1007/s11101-010-9170-4>.

Moore, S. J., Lenglet, A., & Hill, N. (2002). Field evaluation of three plant-based insect repellents against malaria vectors in Vaca Diez Province, the Bolivian Amazon. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(2), 107–110.

Moretti, A. N., Zerba E. N., and Alzogaray, R. A. (2013). Behavioral and toxicological responses of *rhodnius prolixus* and *triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to 10 monoterpene alcohols. *Journal of Medical Entomology* 50 (5): 1046–54.

<https://doi.org/10.1603/ME12248>.

Mosqueira, B., Duchon S., Chandre F., Hougard J. M., Carnevale P. and Mas-Coma S. (2010) 'Efficacy of an insecticide paint against insecticide-susceptible and resistant mosquitoes - Part 1: Laboratory evaluation', *Malaria Journal*, 9(340): 1-6. doi: 10.1186/14752875-9-340.

Mouchès, C., Magnin, M., Bergé, J. B., De Silvestri, M., Beyssat, V., Pasteur, N., & Georghiou, G. P. (1987). Overproduction of detoxifying esterases in organophosphate-resistant *Culex* mosquitoes and their presence in other insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(8): 2113-2116.

Müller, G. C., Beier, J. C., Traore, S. F., Toure, M. B., Traore, M. M., Bah, S., Doumbia, S. and Schlein, Y. (2010) 'Field experiments of *Anopheles gambiae* attraction to local fruits/seedpods and flowering plants in Mali to optimize strategies for malaria vector control in Africa using attractive toxic sugar bait methods', *Malaria Journal*, 9(1): 111. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-262>.

Murugan, K., and Kumar P. M. (2012). Larvicidal, pupicidal, repellent and adulticidal activity of citrus sinensis orange peel extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes Aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* 111: 1757–69. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3021-8>.

Muthu, C., Ayyanar M., Raja N., and Ignacimuthu S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in kancheepuram district of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2: 1–10. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-43>.

Muturi, E. J., Ramirez, J. L., Doll, K. M., & Bowman, M. J. (2017). Combined toxicity of three essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Journal of Medical Entomology*, 54(6), 1684-1691. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx168>.

Namountougou, M., Diabaté, A., Etang, J., Bass, C., Sawadogo, S. P., Gnankiné, O., Baldet T., Martin T., Chandre F., Simard F. & Dabiré, R. K. (2013). First report of the L1014S kdr mutation in wild populations of *Anopheles gambiae* M and S molecular forms in Burkina Faso (West Africa). *Acta tropica*, 125(2): 123-127. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.10.012>.

Namountougou, M., Soma, D. D., Kientega, M., Balboné, M., Kaboré, D. P. A., Drabo, S. F.,

- Coulibaly A. Y., Fournet F., Baldet T., Diabaté A., Dabiré R. K. & Gnankine, O. (2019). Insecticide resistance mechanisms in *Anopheles gambiae* complex populations from Burkina Faso, West Africa. *Acta tropica*, 197: 105054. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105054>.
- Namountougou, M., Soma, D. D., Balboné, M., Kaboré, D. A., Kientega, M., Hien, A., Coulibaly A., Ouattara P. E., Meda B. G., Drabo S., Koala L., Nignan C., Kagone T., Diabate A., Fournet F., Gnankine O. & Dabiré, R. K. (2020). Monitoring insecticide susceptibility in *Aedes Aegypti* populations from the two biggest cities, Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, in Burkina Faso: implication of metabolic resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(2), 84. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5020084>.
- Nararak, J., Sathantriphop, S., Kongmee, M., Mahiou-Leddet, V., Ollivier, E., Manguin, S., & Chareonviriyaphap, T. (2019). Excito-repellent activity of β -caryophyllene oxide against *Aedes aegypti* and *Anopheles minimus*. *Acta tropica*, 197, 105030.
- Ndirangu, E. G., Opiyo, S., & Ng'ang'a, M. W. (2020). Chemical composition and repellency of *Nigella sativa* L. seed essential oil against *Anopheles gambiae* sensu stricto. *Trends in Phytochemical Research*, 4(2), 77-84.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3): 212-214. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.01.002>.
- N'Guessan, R., Corbel, V., Akogbéto, M., & Rowland, M. (2007). Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerging infectious diseases*, 13(2): 199. <https://doi.org/10.3201/eid1302.060631>.
- Nikou, D., Ranson H., and Hemingway J. (2003). An adult-specific CYP6 P450 gene is overexpressed in a pyrethroid-resistant strain of the malaria vector, *Anopheles gambiae*." *gene* 318: 91–102. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(03\)00763-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(03)00763-7).
- Nolen, J. A., Bedoukian R. H., Maloney R. E., and Kline D. L. (2002). Method, apparatus and compositions for inhibiting the human scent tracking ability of mosquitoes in

- environmentally defined three dimensional spaces. *U.S. Patent No 6,362,235, 26 Mars 2002.*
- Nolan, T., Papathanos P., Windbichler N., Magnusson K., Benton J., Catteruccia F., Crisanti A. (2011) Developing transgenic *Anopheles* mosquitoes for the sterile insect technique. *Genetica*. 139(1):33-9.
- Norris, E. J., Johnson, J. B., Gross, A. D., Bartholomay, L. C., & Coats, J. R. (2018). Plant essential oils enhance diverse pyrethroids against multiple strains of mosquitoes and inhibit detoxification enzyme processes. *Insects*, 9(4), 132. <https://doi.org/10.3390/insects9040132>
- Ntonga, P. A., Baldovini, N., Mouray, E., Mambu, L., Belong, P., & Grellier, P. (2014). Activity of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum*, and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Plasmodium falciparum* and mature-stage larvae of *Anopheles funestus* ss. *Parasite*, 21 (6): 33. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014033>.
- Ntonga, A. P., Jazet, D. P. M., Tonga, C., Mache, N. P., & Kekeunou, S. (2017). Evaluation de la toxicité des huiles essentielles des feuilles de *Callistemon citrinus*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Psidium guajava* sur les adultes de *Anopheles coluzzii* Coetzee et Wilkerson 2013, vecteur du paludisme urbain au Cameroun. *Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences*, 25, 12-21.
- Ojewumi, M. E., Adeyemi, A. O., & Ojewumi, E. O. (2018). Oil extract from local leaves-an alternative to synthetic mosquito repellants. *Pharmacophore*, 9(2), 1-6. <http://www.pharmacophorejournal.com>.
- Omolo, M. O., Okinyo D., Ndiege I. O., and Hassanali A. (2004). Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae* 65: 2797–2802. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.035>.
- Oparaocha, E. T., Iwu, I., & Ahanaku, J. E. (2010). Preliminary study on mosquito repellent and mosquitocidal activities of *Ocimum gratissimum* (L.) grown in eastern Nigeria. *Journal of Vector Borne Diseases*, 47(1), 45.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (1992). Vector resistance for pesticides. World Health Organization technical report serial 818, p. 62. OMS, Geneve, Suisse.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2001). Report of the fourth WHOPES working

group meeting. Review of: IR3535; KBR3023; (RS)-methoprene 20% EC; pyriproxyfen 0.5% GR and lambda-cyhalothrin 2.5% CS. Document WHO/CDS/WHOPES/2001.2. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002 – 2005.” OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2006). Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. Document WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2006.1. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2012). Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44846/1/9789241564472_eng.pdf. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2013). Guidelines for efficacy testing of spatial repellents. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2014). Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle, 1–200, OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2017). Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme Seconde Édition. OMS, Geneve, Suisse

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2019). Guidelines for malaria vector control. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2020). World Malaria Report. *World Health*. Vol. WHO/HTM/GM. OMS, Geneve, Suisse. <https://doi.org/ISBN 978 92 4 1564403>.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2021). Éthique et maladies à transmission vectorielle : orientations de l'OMS. OMS, Geneve, Suisse

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2022a). Dengue et Dengue Sévère. OMS, Geneve, Suisse.

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2022b). Standard Operating Procedure for Testing

- Insecticide Susceptibility of Adult Mosquitoes in WHO Tube Tests. OMS, Geneve, Suisse.
- Osborn, F. R., Herrera, M. J., Gómez, C. J., & Salazar, A. (2007). Comparison of two commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis for the control of *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) at three salt concentrations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 69-72.
- Ouattara, L. P. E., Sangaré, I., Namountougou, M., Hien, A., Ouari, A., Soma, D. D., ... & Dabiré, K. R. (2019). Surveys of arboviruses vectors in four cities stretching along a railway transect of Burkina Faso: risk transmission and insecticide susceptibility status of potential vectors. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 140. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00140>.
- Ouédraogo, S., Benmarhnia, T., Bonnet, E., Somé, P. A., Barro, A. S., Kafando, Y., ... & Ridde, V. (2018). Evaluation of effectiveness of a community-based intervention for control of dengue virus vector, Ouagadougou, Burkina Faso. *Emerging infectious diseases*, 24(10), 1859.
- Oyedele, A. O., Gbolade A. A., Sosan M. B., Adewoyin F. B., Soyelu O. L., and Orafidiya O. O. (2002). Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil. *Phytomedicine* 9 (3): 259–62. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00120>.
- Pagès, F., Orlandi-pradines, E., Corbel, V. (2007). Vecteurs du paludisme: biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine Maladies Infect.* 37, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.10.009>.
- Pålsson, K., and Jaenson T. G.T. (1999). Plant products used as mosquito repellents in Guinea Bissau, West Africa. *Acta Tropica* 72 (1): 39–52. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(98\)00083-7](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(98)00083-7).
- Paluch, G., Bartholomay, L., & Coats, J. (2010). Mosquito repellents: a review of chemical structure diversity and olfaction. *Pest management science*, 66(9), 925–935. <https://doi.org/10.1002/ps.1974>.
- Park, H. M., Kim, J., Chang, K. S., Kim, B. S., Yang, Y. J., Kim, G. H., ... & Park, I. K. (2011). Larvicidal activity of Myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna*, and aqueous residue. *Journal of medical entomology*, 48(2), 405-410. <https://doi.org/10.1603/ME10108>.

- Pavela, R. (2008). Acute and synergistic effects of some monoterpenoid essential oil compounds on the house fly (*Musca Domestica* L.). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 11 (5): 451–59. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643653>.
- Pavela, R. (2014). Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Boisd.(Lep., Noctuidae) larvae. *Industrial crops and products*, 60, 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.030>.
- Pavela, R. (2015). *Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against Culex quinquefasciatus Say larvae. Parasitology Research*, 114(10), 3835–3853. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4614-9>.
- Peerzada, M., N. (1997). Molecules chemical composition of the essential oil of *Hyptis Suaveolens*. *Molecules* 2 (11): 165–68.
- Plapp, F. W. (1984). The genetic basis of insecticide resistance in the house fly : evidence that a single locus plays a major role in metabolic resistance to insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 201: 194–201.
- Poda, S. B., Soma, D. D., Hien, A., Namountougou, M., Gnankiné, O., Diabaté, A., ... & Dabiré, R. K. (2018). Targeted application of an organophosphate-based paint applied on windows and doors against *Anopheles coluzzii* resistant to pyrethroids under real life conditions in Vallée du Kou, Burkina Faso (West Africa). *Malaria Journal*, 17(1): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2273-x>.
- Pohlit, A. M., Lopes, N. P., Gama, R. A., Tadei, W. P., & Neto, V. F. (2011). Patent literature on mosquito repellent inventions which contain plant essential oils--a review. *Planta medica*, 77(6) : 598–617. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270723> .
- Pooda H. S., Rayaisse J. B., Hien D. F. D. S., Lefèvre T., Yerbanga S. R., Bengaly Z., Dabiré R. K., Belem A. M. G., Sidibé I., Solano P. and Mouline K. (2015) ‘Administration of ivermectin to peridomestic cattle: A promising approach to target the residual transmission of human malaria’, *Malaria Journal*, 14(486): 1–12. doi: 10.1186/s12936-015-1001-z.
- Ramirez, G. I. J., Logan J. G., Loza-Reyes E., Elena Stashenko E., and Moores G. D. (2012) Repellents inhibit P450 enzymes in *Stegomyia (Aedes) aegypti*. *PLoS One* 7: e48678. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048698> .

- Ranson, H., Jensen, B., Vulule, J. M., Wang, X., Hemingway, J., & Collins, F. H. (2000). Identification of a point mutation in the voltage-gated sodium channel gene of Kenyan *Anopheles gambiae* associated with resistance to DDT and pyrethroids. *Insect molecular biology*, 9(5), 491-497.
- Ranson, H., N'guessan, R., Lines, J., Moiroux, N., Nkuni, Z., & Corbel, V. (2011). Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control?. *Trends in parasitology*, 27(2): 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.08.004>.
- Ranson, H., & Lissenden, N. (2016). Insecticide Resistance in African Anopheles Mosquitoes: A Worsening Situation that Needs Urgent Action to Maintain Malaria Control. *Trends in parasitology*, 32(3) : 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.010>.
- Rants'o, T. A., Koekemoer, L. L., Panayides, J. L., & van Zyl, R. L. (2022). Potential of Essential Oil-Based Anticholinesterase Insecticides against *Anopheles* Vectors: A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(20), 7026. <https://doi.org/10.3390/molecules27207026>.
- Redwane, A., Lazrek H. B., Bouallam S., Markouk M., Amarouch H., and Jana M. (2002). “Larvicidal activity of extracts from *Quercus lusitania* Var. *Infectoria galls* (Oliv.). *Journal of Ethnopharmacology* 79 (2): 261–263. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00390-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00390-7).
- Rehman, J. U., Ali, A., & Khan, I. A. (2014). Plant based products: use and development as repellents against mosquitoes: A review. *Fitoterapia*, 95, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.03.002>.
- Robert, V., Ayala D. and Simard F. (2017) ‘Chapitre 10. Les anophèles (Diptera : Culicidae : Anophelinae)’, in Entomologie médicale et vétérinaire. IRD éditions. Marseille, pp. 181241. doi: 10.4000/books.irdeditions.22031.
- Rodhain, F., & Perez, C. (1985). *Precis d'entomologie medicale et veterinaire; notions d'epidemiologie des maladies a vecteurs.*
- Rohrer, S. P., Birzin, E. T., Eary, C. H., Schaeffer, J. M. and Shoop, W. L. (1994) ‘Ivermectin binding sites in sensitive and resistant *Haemonchus contortus*’, *The Journal of Parasitology*, 80(3): 493-493. doi: 10.2307/3283426.
- Rübsamen, H., Montgomery, M., Hess, G. P., Eldefrawi, A. T., & Eldefrawi, M. E. (1976).

- Identification of a calcium-binding subunit of the acetylcholine receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 70(3), 1020-1027.
- Rutledge, L. C., Collister, D. M., Meixsell, V. E., and Eisenberg, G. H. G. (1983). Comparative sensitivity of representative mosquitoes (DIPTERA: CULICIDAE) to repellents. *Journal of Medical Entomology* 20 (5): 506–10.
- Rutledge, L. C., Hooper, R. L., Wirtz, R. A., & Gupta, R. K. (1989). Efficacy of diethyl methylbenzamide (DEET) against *Aedes dorsalis* and a comparison of two end points for protection time. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5(3): 363–368.
- Samba, N., Aitfella-Lahlou, R., Nelo, M., Silva, L., Coca, R., Rocha, P., & López Rodilla, J. M. (2020). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Lippia multiflora* Moldenke Essential Oil from Different Regions of Angola. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(1), 155. <https://doi.org/10.3390/molecules26010155>.
- Sampaio, V. S., Beltrán, T. P., Kobylinski, K. C., Melo, G. C., Lima, J. B. P., Silva, S. G. M., Rodriguez, Í. C., Silveira H., Guerra M. G. V. B., Bassat Q., Pimenta P. F. P., Lacerda M. V. G. and Monteiro W. M. (2016) ‘Filling gaps on ivermectin knowledge: effects on the survival and reproduction of *Anopheles aquasalis*, a Latin American malaria vector’, *Malaria Journal*, 15(491): 1–9. doi: 10.1186/s12936-016-1540-y.
- Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S., & Khanikor, B. (2019). Combinations of plant essential oil based terpene compounds as larvicidal and adulticidal agent against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Scientific reports*, 9(1): 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45908-3>.
- Sawadogo, I., Paré, A., Kaboré, D., Montet, D., Durand, N., Bouajila, J., ... & Bassolé, I. H. N. (2022). Antifungal and antiaflatoxinogenic effects of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, and *Cymbopogon schoenanthus* essential oils alone and in combination. *Journal of Fungi*, 8(2): 117. <https://doi.org/10.3390/jof8020117>.
- Sawadogo, S. P., Diabaté, A., Toé, H. K., Sanon, A., Lefevre, T., Baldet, T., ... & Dabiré, R. K. (2013). Effects of age and size on *Anopheles gambiae* ss male mosquito mating success. *Journal of medical entomology*, 50(2): 285-293. <https://doi.org/10.1603/ME12041>.
- Schreck, C. E., & McGovern, T. P. (1989). Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5(2): 247–

250.

- Semmler, M., Abdel-Ghaffar, F., Schmidt, J., & Mehlhorn, H. (2014). Evaluation of biological and chemical insect repellents and their potential adverse effects. *Parasitology research*, *113*(1), 185–188. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3641-7>.
- Sengottayan, S. N. (2007). The use of *Eucalyptus tereticornis* sm. (Myrtaceae) oil (Leaf Extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera : Culicidae). *Bioresource Technology* *98*: 1856–60. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.07.044>.
- Sinka, M. E., Bangs, M. J., Manguin, S., Coetzee, M., Mbogo, C. M., Hemingway, J., ... & Hay, S. I. (2010). The dominant Anopheles vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & vectors*, *3*(1): 1-34. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-117>.
- Sinka, M. E., Bangs, M. J., Manguin, S., Rubio-Palis, Y., Chareonviriyaphap, T., Coetzee, M., ... & Hay, S. I. (2012). A global map of dominant malaria vectors. *Parasites & vectors*, *5*(1): 1-11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-69>.
- Sinkins, S. P., and Gould, F. (2006). Gene drive systems for insect disease vectors.” *Nature Reviews Genetics* *7* (6): 427–35. <https://doi.org/10.1038/nrg1870>.
- Slater, H. C., Walker, P. G., Bousema, T., Okell, L. C., & Ghani, A. C. (2014). The potential impact of adding ivermectin to a mass treatment intervention to reduce malaria transmission: a modelling study. *The Journal of infectious diseases*, *210*(12), 1972–1980. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu351>.
- Slater, H. C., Foy, B. D., Kobylinski, K., Chaccour, C., Watson, O. J., Hellewell, J., Aljanyoussi, G., Bousema, T., Burrows, J., D'Alessandro, U., Alout, H., Ter Kuile, F. O., Walker, P., Ghani, A. C., & Smit, M. R. (2020). Ivermectin as a novel complementary malaria control tool to reduce incidence and prevalence: a modelling study. *The Lancet Infectious diseases*, *20*(4), 498–508. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30633-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30633-4).
- Smith, David L., Perkins T. A., Tusting L. S., Scott T. W., and Lindsay S. W. (2013). Mosquito population regulation and larval source management in heterogeneous environments.” *PLoS ONE* *8* (8): e71247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071247>.

- Snetselaar, J., Njiru, B. N., Gachie, B., Owigo, P., Andriessen, R., Glunt, K., Osinga, A. J., Mutunga, J., Farenhorst, M. and Knols, B. G. J. (2017) 'Eave tubes for malaria control in Africa: Prototyping and evaluation against *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* under semi-field conditions in western Kenya Lucy Tusting, Jo Lines', *Malaria Journal*, 16(1), pp. 1–11. doi: 10.1186/s12936-017-1926-5.
- Soma, D. D., Zogo, B. M., Somé, A., Tchiekoi, B. N., Hien, D. F. de S., Pooda, H. S., ... Dabiré, R. K. (2020). *Anopheles bionomics, insecticide resistance and malaria transmission in southwest Burkina Faso: A pre-intervention study*. *PLOS ONE*, 15(8), e0236920. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236920>.
- Sombié, A., Saiki, E., Yaméogo, F., Sakurai, T., Shirozu, T., Fukumoto, S., Sanon, A., Weetman, D., McCall, P. J., Kanuka, H., & Badolo, A. (2019). High frequencies of F1534C and V1016I *kdr* mutations and association with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Somgandé (Ouagadougou), Burkina Faso. *Tropical medicine and health*, 47, 2. <https://doi.org/10.1186/s41182-018-0134-5>.
- Sternberg, E. D., Ng'habi, K. R., Lyimo, I. N., Kessy, S. T., Farenhorst, M., Thomas, M. B., Knols, B. G. J. and Mnyone, L. L. (2016) 'Eave tubes for malaria control in Africa: initial development and semi-field evaluations in Tanzania', *Malaria Journal*, 15(447): 111. <https://doi.org/10.1186/s41182-018-0134-5>.
- Sultana, S, Ali M, Ansari, SH, Bagri, P. (2008). The effect of physical factors on chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus citriodora* Hook. leaves. *J Essent Oil bearing Plants*; 11: 69–74. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643600>.
- Suputtamongkol, Y., Premasathian, N., Bhumimuang, K., Waywa, D., Nilganuwong, S., Karuphong, E., Anekthananon, T., Wanachiwanawin, D., & Silpasakorn, S. (2011). Efficacy and safety of single and double doses of ivermectin versus 7-day high dose albendazole for chronic strongyloidiasis. *PLoS neglected tropical diseases*, 5(5), e1044. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001044>.
- Sylla, M., Gray, M., Chapman, P. L., Sarr, M. D. and Rasgon, J. L. (2010) 'Mass drug

- administration of ivermectin in south-eastern Senegal reduces the survivorship of wild-caught, blood fed malaria vectors', *Malaria Journal*, 9(365): 1-10. <https://doi.org/10.1186/14752875-9-365>.
- Tanprasit, P. (2005). Biological control of dengue fever mosquitoes (*Aedes aegypti* Linn.) using leaf extracts of chan (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.) and hedge flower (*Lantana camara* Linn.).
- Tawatsin, A., Wratten, S. D., Scott, R. R., Thavara, U., & Techadamrongsin, Y. (2001). Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of vector ecology: journal of the Society for Vector Ecology*, 26(1), 76–82.
- Tchoumboungang, F., Dongmo P. M. J., Sameza M. L., Mbanjo E. G. N., Fotso G.B. T., Zollo P. H. A., and Menut C. (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun." *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Vol. 13 numéro 1.
- Toé, H. K., Zongo, S., Guelbeogo, M. W., Kamgang, B., Viana, M., Tapsoba, M., Sanon A., Traoré A., McCall P. J., & Sagnon, N. F. (2022). Multiple insecticide resistance and first evidence of V410L kdr mutation in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) from Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, 36(3), 309-319. <https://doi.org/10.1111/mve.12602>.
- Tomé, H. V., Pascini, T. V., Dângelo, R. A., Guedes, R. N., & Martins, G. F. (2014). Survival and swimming behavior of insecticide-exposed larvae and pupae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 7(1): 1-9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-195>.
- Traore, M. M., Junnila, A., Traore, S. F., Doumbia, S., Revay, E. E., Kravchenko, V. D., Schlein, Y., Arheart, K. L., Gergely, P., Xue R. D., Hausmann A., Beck R., Prozorov A., Diarra R. A., Kone A. S., Majambere S., Bradley, J., Vontas, J., Beier, J. C. and Müller, G. C. (2020) 'Large-scale field trial of attractive toxic sugar baits (ATSB) for the control of malaria vector mosquitoes in Mali, West Africa', *Malaria Journal*, 19(72) : 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-3132-0>.

- Travis, B. V. (1947). Relative Effectiveness of various Repellents against *Anopheles farauti* Laveran. *Journal of the National Malaria Society*, 6(3): 180-83.
- Tripathi, A. K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M., & Bhattacharya, P. R. (2009). A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacognosy Phytotherapy*, 1, 052–063. <https://doi.org/10.5897/JPP.9000003>.
- Trpis, M., McClelland, G. A. H., Gillett, J. D., Teesdale, C., & Rao, T. R. (1973). Diel periodicity in the landing of *Aedes aegypti* on man. *Bulletin of the World Health Organization*, 48(5): 623.
- Vani, R. S., Cheng S. F., and Chuah C. H. (2009). Comparative study of volatile compounds from genus *Ocimum*. *American Journal of Applied Sciences* 6 (3): 523–28. <https://doi.org/10.3844/ajas.2009.523.528>.
- Wangrawa, D. W., Kosgei, J., Machani, M., Opala, J., Agumba, S., Yaméogo, F., ... & Ochomo, E. (2022a). Larvicidal Activities and Synergistic Effects of Essential Oils against *Anopheles funestus* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Kisumu, Kenya. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8302696>.
- Wangrawa, D. W., Ochomo, E., Upshur, F., Zanré, N., Borovsky, D., Lahondere, C., ... & Sanon, A. (2022b). Essential oils and their binary combinations have synergistic and antagonistic insecticidal properties against *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102347. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102347>.
- Wangrawa, D. W., Badolo, A., Ilboudo, Z., Guelbéogo, W. M., Kiendrébeogo, M., Nébié, R., Sagnon, N., & Sanon, A. (2018). Insecticidal Activity of Local Plants Essential Oils Against Laboratory and Field Strains of *Anopheles gambiae* s. l. (Diptera: Culicidae) From Burkina Faso. *Journal of economic entomology*, 111(6): 2844–2853. <https://doi.org/10.1093/jee/toy276>.
- Wangrawa, D. W., Badolo, A., Guenne, S., & Sanon, A. (2016). Larvicidal and oviposition-deterrence activities of four local plant extracts from Burkina Faso against *Anopheles gambiae* S. l. (Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res*, 3(6): 11-19.

- Wangrawa, D. W., Badolo, A., Guelbéogo, W. M., Kiendrébeogo, M., Nébié, R. C. H., Sagnon, N., and Sanon, A. (2015). Biological activities of four essential oils against *Anopheles gambiae* in Burkina Faso and their *in vitro* inhibition of acetylcholinesterase. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (2): 793. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.19>.
- Weill, W., Lutfalla, G., Mogensen, K., Chandre, F., Berthomieu, A., Berticat, C., ... & Raymond, M. (2003). Corrigendum: Insecticide resistance in mosquito vectors. *Nature*, 425, 366.
- Weill, M., Malcolm, C., Chandre, F., Mogensen, K., Berthomieu, A., Marquine, M., & Raymond, M. (2004). The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect molecular biology*, 13(1): 1-7.
- White, G. (2007) Terminology of Insect Repellents. In: Debboun M, Frances S, Strickman D, Editors. *Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses*. CRC Press. 31–46.
- WHOPES (2016) ‘WHOPES-recommended compounds and formulations for control of mosquito larvae’. Geneva: World Health Organization, Updated 18 March 2016, p. 1.
- Yaméogo, F., Wangrawa, D. W., Sombié, A., Sanon, A., and Badolo, A. (2021). Insecticidal activity of essential oils from six aromatic plants against *Aedes Aegypti*, dengue vector from two localities of Ouagadougou, Burkina Faso.” *Arthropod-Plant Interactions* 15 (4): 627–34. <https://doi.org/10.1007/s11829-021-09842-4>.
- Zaim, M., Aitio, A., & Nakashima, N. (2000). Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Medical and veterinary entomology*, 14(1): 1–5. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00211.x>.
- Zoubiri, S., and Baaliouamer A. (2014). Potentiality of plants as source of insecticide principles. *Journal of Saudi Chemical Society* 18 (6): 925–38. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.11.015>.
- Zulfikar, Aditama, W., and Sitepu F. Y. (2019). The Effect of Lemongrass (*Cymbopogon Nardus*) Extract as Insecticide against *Aedes aegypti*. *International Journal of Mosquito Research* 6 (1): 101–3.

ANNEXES

Annexe 1

Tableau montrant les ratios des combinaisons d'huiles essentielles

| Huiles essentielles | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 | C9 |
|-------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| <i>Cymbopogon nardus</i> (µl) | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 |
| <i>Ocimum americanum</i> (µl) | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 |

NB : A partir d'une dilution en cascade, on obtient les concentrations de 0,1 %, 0,5 % et 1 %,

Annexes 2 :

Les trois (3) articles publiés



Essential Oils From Five Local Plants: An Alternative Larvicide for *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control in Western Burkina Faso

Mahamoudou Balboné¹, Dieudonné Diloma Soma², Moussa Namountougou^{2,3}, Samuel Fogné Drabo¹, Hamadou Konaté^{2,3}, Oumarou Toe³, Koama Bayili², Georges Benson Meda², Roch Kounbohr Dabiré² and Olivier Gnankine^{1*}

OPEN ACCESS

Edited by:

Cleber Galvão,
Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz),
Brazil

Reviewed by:

Carlos Manuel Dutok-Sánchez,
Universidade Federal do Amapá, Brazil
Sarita Kumar,
University of Delhi, India
Paloma Mendonça,
University of Vassouras, Brazil

*Correspondence:

Olivier Gnankine
olignankine@gmail.com

Specialty section:

This article was submitted to
Vector Biology,
a section of the journal
Frontiers in Tropical Diseases

Received: 12 January 2022

Accepted: 30 March 2022

Published: 06 July 2022

Citation:

Balboné M, Soma DD,
Namountougou M, Drabo SF,
Konaté H, Toe O, Bayili K, Meda GB,
Dabiré RK and Gnankine O (2022)
Essential Oils From Five Local Plants:
An Alternative Larvicide for *Anopheles*
gambiae s.l. (Diptera: Culicidae) and
Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)
Control in Western Burkina Faso.
Front. Trop. Dis. 3:853405.
doi: 10.3389/ftd.2022.853405

¹ Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT), Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso, ² Institut de Recherche en Sciences de la Santé / Centre Muraz, Département d'Entomologie Médicale, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, ³ Université Nazi Boni, Institut des Sciences de la Santé, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

Introduction: Malaria and dengue are two main vector-borne infectious diseases transmitted by *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*, respectively, in tropical and subtropical regions. The concern for environmental safety and the increasing development of resistance to the chemical in main arthropod vectors raises interest in the search for botanicals such as essential oils (EOs) that can be used in vector control.

Methods: Larvicidal bioassays were performed according to the WHO standard methods using *Ae. aegypti* and *An. gambiae* larvae collected from Bobo-Dioulasso and in the Kou Valley (VK), respectively, two areas located in Houet Province of western Burkina Faso. Kisumu and Bora bora, the susceptible strains of *An. gambiae* and *Ae. aegypti*, respectively, were used as controls. OEs extracted from leaves of five aromatic plants, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora*, and *Ocimum americanum*, naturally growing in Burkina Faso were tested. The pyriproxyfen was used as a positive control.

Results: As a result, the lethal concentrations (LC₅₀) for *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso and *An. gambiae* from VK ranged from 41.9 to 103.8 ppm and 39.5 to 138.1 ppm, respectively. As for LC₉₀ values, they ranged from 74.6 to 311.3 ppm for *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso and from 90.2 to 328.9 ppm for *An. gambiae* from VK. Among the EOs tested, *L. multiflora* showed the highest activity against all the strains of *An. gambiae* and *Ae. aegypti* larvae. No difference in terms of LC₅₀ values was found between *L. multiflora* and pyriproxyfen used as a positive control on *An. gambiae* larvae. It is not the case for *Aedes aegypti* populations, where pyriproxyfen remains the most toxic. Overall, *An. gambiae* populations were the most susceptible to EOs tested as compared to *Ae. aegypti* populations.

Conclusion: Our study furthers our knowledge of the larvicidal activity of EOs in the western part of Burkina and opens new avenues in their putative use in vector control strategies.

Keywords: resistance, essential oils, larvicidal activities, lethal concentration, Bobo-Dioulasso

BACKGROUND

Vector-borne diseases are human diseases caused by parasites, viruses, or bacteria transmitted by vectors. Each year, more than 700,000 deaths occur worldwide due to vector-borne diseases such as dengue, yellow fever, Japanese encephalitis, leishmaniasis, Chagas disease, onchocerciasis, malaria, schistosomiasis, and human African trypanosomiasis (1). Among these diseases, malaria remains the most serious vector-borne disease, affecting between 300 and 500 million people, and 1.4 to 2.6 million deaths annually throughout the world were recorded. More than 40% of the world's population lives in malarious areas (2).

According to the epidemiological bulletin, in the first half of 2018, Burkina Faso recorded 3,501,245 cases of malaria, including 1,002 deaths, for a case-fatality rate of 0.7% (3). The same is true for dengue, where the number of reported cases worldwide peaked in 2019, and all WHO regions were affected (4). In Burkina Faso, an increase in the weekly incidence of dengue cases was noted from week 31 of the year 2017 (5).

Current mosquito control strategies depend primarily on chemical insecticides. The discovery, development, and use of chemicals have reduced the interest in plant products. However, widespread use of these insecticides in public health and agriculture for the control of vector and pest species has favored many concerns such as the increasing physiological resistance in major vector species, environmental pollution, and toxic hazards to human and other non-target organisms due to their broad spectrum of activity (6–9). As a result, there has been an increased interest in developing potential alternative or additional control methods/tools that are effective against the target vector species, which are environmentally safe, biodegradable, and low cost and can be used by individuals and communities in specific situations (10, 11). Therefore, in recent years, various workers have been concentrating their efforts on the search for natural products derived from plants as an alternative to conventional insecticides used in controlling vectors for which resistance was detected (12). Among many natural products, essential oils (EOs) and their constituents have received considerable attention in the search for new pesticides and have been found to possess an insecticidal potential (13).

EOs show several interesting properties. First, they easily penetrate insect cuticles, which increases their bioavailability (14). This property could be of interest if it results in a shortened stay of insects on treated surfaces. Second, EO compounds such as acyclic or monocyclic monoterpenes are small and volatile molecules that might have spatial repellency properties. For example, insect sensilla are specialized for detecting odorants and have been shown to respond to volatile monoterpenes (14). Finally, active compounds in EOs may have

a specific mode of action, which makes them good alternatives to the use of pyrethroids.

The EO of *Lippia multiflora* is used as a spice, a meal condiment, a drink flavoring (15), and a mouthwash. In addition to insecticidal activities, Abena et al. (16) found analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory effects of *L. multiflora* oil. *Cymbopogon citratus* EO has antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*, a bacterium responsible for gastroduodenal diseases (17). *Cymbopogon nardus* is a medicinal plant because of its analgesic effect and is widely used in gastronomy (18). Also, several studies noticed the insecticidal properties of EO of *C. nardus*, *C. citratus*, *Ocimum americanum*, and *Eucalyptus camaldulensis* (18–21).

In Burkina Faso, some studies on the insecticidal effects of EOs with mosquitoes in general and mosquito larvae in particular have involved strains restricted to Ouagadougou (21–23). Little is known about the EO susceptibility in *Anopheles* and *Aedes* populations in the western part of this country. Moreover, previous studies did not take into account the positive control in the various tests.

Our study aimed at evaluating the larvicidal activities of EOs of five local aromatic plants from Burkina Faso, including *C. citratus*, *C. nardus* (DC.) Stapf, *E. camaldulensis* Dehn, *L. multiflora*, and *O. americanum* (Wild.) A.J. Paton in terms of lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) upon field populations of *Aedes aegypti* from Bobo-Dioulasso and *Anopheles gambiae* from the Vallée du Kou (VK).

MATERIAL AND METHODS

Mosquito Larval Collection and Rearing

An. gambiae larvae were collected from district number 7 of the Vallée du Kou (Bama) (11°24'N and 4°24'O), a rice-growing area located 30 km north of Bobo-Dioulasso. *Ae. aegypti* larvae were collected from tires in various urban settings in Bobo-Dioulasso, the economic capital city of Burkina Faso. Bobo-Dioulasso and Bama are two localities in the province of Houet in western Burkina Faso. The larvae were collected from June to October 2021 and transported to the insectary of the Institute of Research in Health Sciences (IRSS) located in Bobo-Dioulasso where 3 and 4 larval instars were sorted according to Filho (24). Larvae from laboratory reference strains were used as controls. The insectary conditions were 27°C ± 2°C temperature, 80% ± 10% relative humidity, and 12-h light and 12-h dark photoperiod.

Plant Materials and Essential Oil Procurement

The five plant species tested, *C. citratus*, *C. nardus* (Linn.), *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, and *O. americanum*, were used in

this current study. They were chosen firstly due to endogenous data provided from informants questioned in areas investigated as well as the data from the literature. These plants were collected from the garden of the Research Institute of Applied Sciences and Technologies (IRSAT). The identification of the plants and extraction of EOs were performed by IRSAT. All the EOs were extracted from the leaves of the test plants by hydrodistillation (HD) using a *clevenger*-type apparatus and stored in a dark glass bottle at 4°C prior to use. The oils thus obtained were separated from water in the condenser and stored in airtight containers under refrigeration (4°C) till their later use for larval bioassays. The major compounds of these EOs were obtained by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS).

Larvicidal Bioassays in the Laboratory

The larval bioassay tests were carried out following the standard WHO larval bioassay test method (25). They were carried out in the laboratory of the Institute of Research in Health Sciences located in Bobo-Dioulasso. Clear plastic cups with capacities of 200 ml each were used for the larvicidal bioassays. An appropriate amount of each EO was dissolved in acetone to prepare 1 ml of stock solution. Fresh stock solutions of each of the above stock solutions were prepared by adding distilled water to produce the required concentrations (50, 100, 150, and 200 ppm). Four replicates were carried out for each test concentration and species of mosquito larvae. Twenty active third and fourth larval instars of *An. gambiae* and *Ae. aegypti* in 10 ml of distilled water were transferred into each clear plastic cup that contained 139 ml of distilled water. One milliliter of the mixing solution of EO and acetone was added to each cup that contained 149 ml of distilled water to give a final solution of 150 ml with the desired concentrations. Two replicates of the control were carried out simultaneously with 149 ml of distilled water and 1 ml of acetone. Pyriproxyfen, the reference chemical larvicidal, was used at different concentrations as a positive control.

Data Analysis

Analyses were performed by using the statistical software XLSTAT version 2.015.1.01. The LC_{50} , LC_{90} , and the 95% CIs were calculated by probit analysis using the same statistical

software in order to compare the larvicidal potency of the plants and susceptibility of the test mosquito larvae. LC_{50} and LC_{90} values were judged as significantly different between the EOs ($p < 0.05$) if the CIs did not overlap (14, 26). In all the tests, no control mortality was detected after the 24-h exposure; hence, no correction was required based on Abbot's formula.

RESULTS

Chemical Characterization of the Essential Oils

The major compounds of the 5 EOs are summarized in **Table 1**. The EO of *C. citratus* was found to be rich in geranial (48.1%), neral (35.8%), and myrcene (11%). The EO of *C. nardus* was predominantly composed of citronellal (41.7%), geraniol (20.8%), and β -elemene (11%). The EO of *E. camaldulensis* was rich in 1,8-cineole (59.5%) and α -pinene (9.17%). The OE of *L. multiflora* was characterized by *p*-cymene (25.27%), β -caryophyllene (12.7%), and thymol (11.88%). *O. americanum* EO was characterized by a high percentage of 1,8-cineole (31.22%) followed by camphor (12.73%).

Larvicidal Activities of Essential Oils Against *Anopheles gambiae*

EOs from 5 plant species demonstrated larvicidal activities against susceptible strains and field-collected 3 and 4 larval instars of *An. gambiae*. Overall, five EOs were the most toxic on 3 and 4 larval instars of *An. gambiae* susceptible strain. On the susceptible strain larvae of *An. gambiae* (Kisumu), the LC_{50} and LC_{90} values were from 3.9 to 75.8 ppm and from 29.5 to 193.5 ppm, respectively (**Table 2**). On field-collected larvae of *An. gambiae* (VK), the LC_{50} and LC_{90} values were between 39.5 to 138.1 ppm and from 90.2 to 328.9 ppm, respectively (**Table 3**).

Regarding LC_{50} and LC_{90} values, *L. multiflora* exhibited the highest larvicidal activity against the 2 strains of *An. gambiae* ($LC_{50} = 3.9$ ppm, $LC_{90} = 29.5$ ppm for Kisumu larvae and $LC_{50} = 39.5$ ppm and $LC_{90} = 90.2$ ppm for VK larvae).

As for *O. americanum*, it exhibited the weakest larvicidal activity ($LC_{50} = 75.8$ ppm; $LC_{90} = 193.5$ ppm) for Kisumu larvae, while *C.*

TABLE 1 | Major compounds of the 5 essential oils tested on larvae of *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*.

| Essential oils | Major compounds | Retention time (min) | Percentage (%) |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|----------------|
| <i>Cymbopogon citratus</i> | Geranial | 21.181 | 48.1 |
| | Neral | 21.130 | 35.8 |
| | Myrcene | 12.481 | 11 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | Citronellal | 18.994 | 41.7 |
| | Geraniol | 22.121 | 20.8 |
| | β -Elemene | 24.880 | 11 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 1,8-Cineol | 14.022 | 59.55 |
| | α -Pinene | 10.505 | 9.17 |
| <i>Lippia multiflora</i> | <i>p</i> -Cymene | 13.740 | 25.27 |
| | β -Caryophyllene | 25.116 | 12.70 |
| | Thymol | 21.791 | 11.88 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 1,8-Cineol | 14.022 | 31.22 |
| | Camphor | 17.733 | 12.73 |

TABLE 2 | Median and 90% lethal concentrations and their Confidence Limits (CLs) of plant essential oils against 3 and 4 larval instars of *Anopheles gambiae* susceptible strain from Kisumu.

| Treatment | LC ₅₀ (ppm) | Confidence limit 95% | LC ₉₀ (ppm) | Confidence limit 95% | X ² (df) | Slope (± SE) |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| Pyriproxyfen | 3.4 ^a | 0.8–5.8 | 13.6 ^a | 9.5–18.4 | 16.6 | 2.2 ± 0.52 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 49.1 ^c | 42.1–54.8 | 87.6 ^c | 78.2–102.9 | 53.6 | 5.0 ± 0.69 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | 30.7 ^b | 17.9–40.0 | 74.7 ^c | 63.1–90.8 | 26.4 | 3.3 ± 0.64 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 75.8 ^d | 65.4–85.5 | 193.5 ^d | 164.6–244.4 | 74.8 | 3.1 ± 0.36 |
| <i>Lippia multiflora</i> | 3.9 ^a | 1.5–6.6 | 29.5 ^b | 22.0–40.8 | 38.5 | 1.4 ± 0.23 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 29.4 ^b | 15.6–40.1 | 90.3 ^c | 75.3–113.1 | 27.4 | 2.6 ± 0.50 |

LC (lethal concentration) in ppm (part per million). LC values followed by different letters are significantly different.

citratus showed the weakest larvicidal activity (LC₅₀ = 138.1 ppm; LC₉₀ = 328.9 ppm) on VK larvae.

Furthermore, oils from *E. camaldulensis*, *C. nardus*, and *C. citratus* still showed strong larvicidal activities after *L. multiflora* with LC₅₀ values <50 ppm and LC₉₀ values <91 ppm on Kisumu larvae. On VK larvae, EOs of *C. nardus*, *O. americanum*, and *E. camaldulensis* showed strong larvicidal activities after *L. multiflora* with LC₅₀ values <140 ppm and LC₉₀ values <270 ppm.

Only the EO of *L. multiflora* gives LC₅₀ and LC₉₀ values close to that of the positive control pyriproxyfen against Kisumu and VK larvae.

Based on the overlap of the CIs of the LC₅₀ and LC₉₀ values, no significant difference was observed between *L. multiflora* and pyriproxyfen on the two *An. gambiae* strains tested.

Larvicidal Activities of Essential Oils Against *Aedes aegypti*

All EOs from five (5) plant species exhibited toxicity against susceptible strain larvae and 3 and 4 larval instars of *Ae. aegypti* field-collected strain. **Tables 4 and 5** show the LC₅₀ and LC₉₀ values of the EOs of five (5) plants tested against susceptible strains and 3 and 4 larval instars of *Ae. aegypti* field-collected strain.

As in the case of *An. gambiae* populations, among the EOs tested, *L. multiflora* was the most toxic EO on the two (2) strains of *Ae. aegypti* tested. Indeed, LC₅₀ and LC₉₀ values were 42 and 74.6 ppm, respectively, for *L. multiflora* tested on the susceptible strain of *Ae. aegypti* (Bora bora) and 3 and 4 larval instars of *Ae. aegypti* field-collected strain from Bobo-Dioulasso and lower for those from other EOs tested where the LC₅₀ and LC₉₀ values ranged from 61.5 to 103.8 ppm and 108.8 to 311.3 ppm, respectively.

For the Bora bora strain, LC₅₀ and LC₉₀ values were 61.5, 62.4, 91.8, 41.9, and 101.3 ppm and 132, 108.8, 180.9, 68.5, and 188.8 ppm for EOs from *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, and *O. americanum*, respectively (**Table 4**). These

values were close to those obtained with the field strain collected from Bobo-Dioulasso (LC₅₀ and LC₉₀ values were 74.6, 63.5, 79.4, 41.9, and 103.8 ppm and 152.3, 148.5, 226.3, 74.6, and 1,053.6 ppm with EOs from *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, and *O. americanum*, respectively) (**Table 5**). EO of *E. camaldulensis* remains the least toxic to both strains of *Ae. aegypti* regarding the LC₅₀ and LC₉₀ values above 100 and 188 ppm, respectively.

Based on the overlap of the CIs of the LC₅₀ and LC₉₀ values, there were no significant differences between *L. multiflora* and pyriproxyfen at LC₉₀ with Bora bora. Also, there were no significant differences between *C. citratus* and *C. nardus* regarding LC₅₀ and LC₉₀ values with the two *Ae. aegypti* strains tested. Also, there were no significant differences between *E. camaldulensis* and *O. americanum* regarding LC₉₀ with the two *Ae. aegypti* strains tested and LC₅₀ with Bora bora. It is also the same with *C. citratus* and *C. nardus*, in regard to LC₅₀ and LC₉₀ values found in two *Ae. aegypti* strains tested.

DISCUSSION

Up to now, long-lasting insecticidal nets (LLIN) and indoor residual spraying (IRS) remain the two main tools targeting mainly adults *An. gambiae* and to lesser extent *Ae. aegypti* vectors. Thus, there is an urgent need to develop innovative tools and techniques including EOs used against eggs, larvae instar, and adults in order to increase the success of vector control (11).

Our study aimed at evaluating the bioefficacy of five EOs on *Ae. aegypti* and *An. gambiae* larvae according to the WHO standard methods. Most studies have already performed the larvicidal tests but did not include the chemical control pyriproxyfen, an insect growth regulator (IGR). IGR acts by mimicking one of these hormones or directly perturbing cuticle formation/deposition or lipid biosynthesis.

TABLE 3 | Median and 90% lethal concentrations and their Confidence Limits (CLs) of plant essential oils against 3 and 4 larval instars of *Anopheles gambiae* from VK, field strain.

| Treatment | LC ₅₀ (ppm) | Confidence limit 95% | LC ₉₀ (ppm) | Confidence limit 95% | X ² (df) | Slope (± SE) |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| Pyriproxyfen | 23.7 ^a | 9.3–35.5 | 83.3 ^a | 66.6–106.2 | 11.5 | 1.4 ± 0.41 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 138.1 ^c | 124.5–155.3 | 328.9 ^c | 267.4–451 | 72.4 | 3.3 ± 0.39 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | 76.5 ^b | 67.6–84.9 | 163 ^b | 143.9–193.5 | 97.5 | 3.9 ± 0.39 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 89.3 ^b | 81.1–97.4 | 173.0 ^b | 154.2–201.4 | 114.0 | 4.4 ± 0.41 |
| <i>Lippia multiflora</i> | 39.5 ^a | 28.6–47.8 | 90.2 ^a | 78.3–108 | 45.1 | 3.2 ± 0.48 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 121.1 ^c | 109.9–133.6 | 267.3 ^c | 226.6–339.4 | 87.7 | 3.7 ± 0.39 |

LC (lethal concentration) in ppm (part per million). LC values followed by different letters are significantly different.

TABLE 4 | Median and 90% lethal concentrations and their Confidence Limits (CLs) of plant essential oils against 3 and 4 larval instars of *Aedes aegypti* susceptible strain from the Bora bora.

| Treatment | LC ₅₀ (ppm) | Confidence limit 95% | LC ₉₀ (ppm) | Confidence limit 95% | X ² (df) | Slope (± SE) |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| Pyriproxyfen | 9.5 ^a | 6.4–12.3 | 43.3 ^a | 34.0–61.8 | 49.7 | 1.9 ± 0.27 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 61.5 ^c | 51.4–70.4 | 132.0 ^b | 119.4–150.1 | 71.9 | 3.2 ± 0.38 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | 62.4 ^c | 50.2–72.5 | 108.8 ^b | 98.4–124.0 | 74.2 | 3.09 ± 0.35 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 91.8 ^d | 83.3–100.3 | 180.9 ^f | 160.8–211.5 | 112.3 | 4.3 ± 0.41 |
| <i>Lippia multiflora</i> | 41.9 ^b | 31.8–48.7 | 68.5 ^a | 61.3–84.2 | 39.5 | 2.2 ± 0.35 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 101.3 ^d | 73.1–132.7 | 188.8 ^c | 169.5–217.6 | 120.1 | 1.2 ± 0.31 |

LC (lethal concentration) in ppm (part per million). LC values followed by different letters are significantly different.

In this current study, all EOs tested exhibited variable insecticide activity against the larvae of *An. gambiae* and *Ae. aegypti*. Regarding LC₅₀ and LC₉₀ values, the EOs from *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora*, and *O. americanum* exhibited higher larvicidal activities against third and fourth instar laboratory-reared larvae of *An. gambiae* and *Ae. aegypti* after 24 h of exposure, the most toxic of all being that of *L. multiflora*. LC₅₀ of EO from *E. camaldulensis* was the least toxic against *Ae. aegypti*, whereas *C. citratus* remains the least toxic against *An. gambiae*. These data are not in agreement with those found by Manh et al. (27), who reported that on *Ae. aegypti* larvae, *C. citratus* EO (LC₅₀ = 120.6 ppm) was less effective than that of *E. camaldulensis* (LC₅₀ = 33.7 ppm).

Our results obtained with *C. nardus* on *An. gambiae* in this study were below those obtained by Ahouansou et al. (19), who obtained a value of 97.3 ppm for LC₅₀ on *An. gambiae*. Our results were similar to those reported by Solon et al. (28) on *Ae. aegypti* populations. In their study, *O. americanum* and *C. citratus* exhibited values of LC₅₀ equaling 67 and 69 ppm, respectively. However, the results with *O. americanum* were below those reported by Wangrawa et al. (21) on *An. gambiae* whose LC₅₀ was 209.84 ppm.

The LC₅₀ and LC₉₀ values obtained with the *L. multiflora* in this current study were lowest than those reported by Bassole et al. (23). Recently, the same trend was observed by Yameogo et al. (22), who showed also the toxic effect of *L. multiflora* against *Ae. aegypti* populations from Tabtenga, Ouagadougou.

Interestingly, the high toxicity of the *L. multiflora* EO could result in the presence of three major components: thymol, *p*-cymene, and β-caryophyllene. According to Folashade (29), thymol, germacrene D, *p*-cymene, thymyl acetate, and sabinene were found in EOs of *L. multiflora* in Ghana and seem to be involved in *Lippia* toxicity. Conversely, the lower larvicidal activities of *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, and *O. americanum* oils could be explained by the minor effect of piperitone, geraniol, and

1.8-cineole against *Ae. aegypti* and *An. gambiae* larvae. This could explain the differences observed in biological activity among the EOs.

Regarding the LC₅₀ and LC₉₀ values, the bioefficacy of *L. multiflora* on *An. gambiae* strains is closer to that of the positive control used in this study, which is pyriproxyfen, the reference larvicide used against larvae. This would open new alternatives for mosquito control.

Globally, in *An. gambiae* strain populations, the laboratory-reared larvae were found to be the most susceptible to EOs than those from the field population (VK), known for their resistance to pyrethroid (30–32).

As observed in *An. gambiae* populations, *Ae. aegypti* larvae were the most susceptible to *L. multiflora* after the chemical pyriproxyfen. The LC₅₀ values found in this study were slightly lower than those observed in *Ae. aegypti* populations from Ouagadougou (22), explaining the occurrence of the phenotypic resistance to the main chemical.

As shown by Namountougou et al. (33), tests performed with deltamethrin on *Ae. aegypti* populations collected from Bobo-Dioulasso showed mortality rates reaching 89.62% and 82.72% for 2013 and 2014, respectively. Mortality rates of *Ae. aegypti* collected from Ouagadougou were 50.7% and 20.7% for 2013 and 2014, respectively. All these values were lower than 90%, suggesting a resistance. It is very urgent to search for an alternative to chemicals. Our data will help to develop innovative strategies based on EOs.

CONCLUSION

Our results showed that the use of EOs as larvicides is a promising strategy. Therefore, they could be the object of

TABLE 5 | Median and 90% lethal concentrations and their Confidence Limits (CLs) of plant essential oils against 3 and 4 larval instars of *Aedes aegypti* from Bobo-Dioulasso, field strain.

| Treatment | LC ₅₀ (ppm) | Confidence limit 95% | LC ₉₀ (ppm) | Confidence limit 95% | X ² (df) | Slope (± SE) |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| Pyriproxyfen | 11.04 ^a | 8.2–13.7 | 43.2 ^a | 35.3–56.1 | 80.8 | 2.1 ± 0.24 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> | 74.6 ^c | 67.7–81.2 | 152.3 ^c | 131.9–186.0 | 116.2 | 5.1 ± 0.48 |
| <i>Cymbopogon nardus</i> | 63.5 ^c | 57.3–69.4 | 148.5 ^c | 128.4–182.6 | 74.2 | 5.4 ± 0.54 |
| <i>Ocimum americanum</i> | 79.4 ^a | 67.6–90.2 | 226.3 ^d | 186.9–302.9 | 64.4 | 2.8 ± 0.35 |
| <i>Lippia multiflora</i> | 42 ^b | 33.4–47.3 | 74.6 ^b | 65.3–92.5 | 22.0 | 6.0 ± 1.28 |
| <i>Eucalyptus camaldulensis</i> | 103.8 ^d | 95.4–112.3 | 311.3 ^d | 238–503.1 | 18.3 | 4.9 ± 0.45 |

LC (lethal concentration) in ppm (part per million). LC values followed by different letters are significantly different.

particular attention in the search for new natural, selective, and biodegradable larvicidal products that can be used in public health vector control programs against *An. gambiae* and *Ae. aegypti* in particular.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary materials, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MB and OG designed the study. DS critically supervised the study. MB, HK, GM, and OT carried out the laboratory experiments. MB, SD, and OG analyzed and interpreted the data and drafted the manuscript. OG, RD, and MN revised the

manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

Funding for this study was provided partly by the TWAS 18-163 RG/BIO/AF/AC_G-FR3240303649 and the Centre d'excellence Africain (CEA) en Innovations biotechnologiques pour l'élimination des maladies à transmission vectorielle. I also thanks LAMIVECT (Laboratoire Mixte International sur les Maladies à transmissions Vectorielle) for supporting publication fees.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to "Institut de recherche en Sciences Appliquées et technologiques" (IRSAT) for providing us with essential oils.

REFERENCES

- WHO. (2020) 2507(February).
- WHO. WHO. World malaria report, Briefing kit/Global messaging (2021).
- Ministère de la Santé du Burkina Faso, Direction des statistiques sectorielles. *Rapport Final*. (2018).
- WHO. *Noncommunicable Diseases* (2021). Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/n>.
- Ministère de la Santé. "Ministère de la Santé du Burkina Faso, Direction des statistiques sectorielles "Flambée de cas de dengue au Burkina Faso,". In: *Sitrep Dengue*, vol. 26 p.11. (2017).
- Minjas JN. "Laboratory Observation on the Toxicity of Swartzia Madagascariensis (Leguminosae) Extract to Mosquito Larvae. *Trans R Soc Trop Med Hyg* (1986) 80:460–1. doi: 10.1016/0035-9203(86)90345-7
- WHO. *Vector Resistance for Pesticides*. World Health Organization Technical Report Serial 818 Vol. 17. Geneva: WHO (1992) p. 62 pp. 499–504.
- Hemingway J. Parasitology: Enhanced New Ways to Control Malaria. *Science* (2004) 303:1984–5. doi: 10.1126/science.1096548
- Gnankine O, Bassolé IHN, Chandre F, Glitho IA, Akogbeto M, Dabiré RK, et al. Insecticide Resistance in *Bemisia Tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) and *Anopheles Gambiae* Giles (Diptera: Culicidae) Could Compromise the Sustainability of Malaria Vector Control Strategies in West Africa. *Acta Tropica* (2013) 128(1):7–17. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.06.004
- Redwane A, Lazrek HB, Bouallam S, Markouk M, Amarouch H, Jana M. Larvicidal Activity of Extracts From *Quercus Lusitania* Var. *Infectoria* Galls (Oliv). *J Ethnopharmacol* (2002) 79:261–3. doi: 10.1016/S0378-8741(01)00390-7
- Gnankine O, Bassolé IHN. Essential Oils as an Alternative to Pyrethroids Resistance Against *Anopheles* Species Complex Giles. *molecules* (2017), 22(10):1321. doi: 10.3390/molecules22101321
- Zoubiri S, Baaliouamer A. Potentiality of Plants as Source of Insecticide Principles. *J Saudi Chem Soc* (2014) 18(6):925–38. doi: 10.1016/j.jscs.2011.11.015
- Tripathi AK, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya PR. A Review on Prospects of Essential Oils as Biopesticide in Insect-Pest Management. *Pharmacol Phytother* (2009) 1(5):52–63.
- Deletré E, Martin T, Campagne P, Bourguet D, Cadin A, Menut C, et al. Repellent, Irritant and Toxic Effects of 20 Plant Extracts on Adults of the Malaria Vector *Anopheles Gambiae* Mosquito. *PLoS one* (2013) 8(12):1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0082103
- Abegaz B, Asfaw N, Lwande W. Constituents of the Essential Oils From Wild and Cultivated *Lippia Adensis* Hochst. Ex Walp. *J Essent Oil Res* (1993) 5(5):487–91. doi: 10.1080/10412905.1993.9698268
- Daferera BD, Sokmena A, Sokmen M, Polissiou M. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and Various Extracts of *Salvia Tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chem* (2005) 90(3):333–40. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.09.013
- Ohno T, Kita M, Yamaoka Y, Imamura S, Yamamoto T, Mitsufuji S, et al. Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts. *Helicobacter* (2003) 8:207–15. doi: 10.1046/j.1523-5378.2003.00146.x
- Abena AA, Diatwa GM, Gakosso M, Gbeassor TH, Hondi-Assah, Ouamba JM. Comparative Chemical and Analgesic Properties of Essential Oils of *Cymbopogon Nardus* (L) Rendle of Benin and Congo. *Afr J Tradit Complement Altern Med* (2007) 4(3):267–72. doi: 10.4314/ajtcam.v4i3.31218
- Ahouansou AC, Fagla SRM, Tokoudagba JM, Toukourou H, Badou YK, Gbaguidi FA. Chemical Composition and Larvicidal Activity of the Essential Oil of *Cymbopogon Nardus* (L.) Rendle on *Anopheles Gambiae*. *Int J Biol Chem Sci* (2019) 13(3):1861. doi: 10.4314/ijbcs.v13i3.53
- Drabo SF, Olivier G, Bassolé IHN, Nébié RC, Laurence M. Susceptibility of MED-Q1 and MED-Q3 Biotypes of *Bemisia Tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Populations to Essential and Seed Oils. *J Econ Entomol* (2017) 110(3):1031–8. doi: 10.1093/jeet/tox100
- Wangrawa DW, Badolo A, Guenne S, Guelbeigbo WM, Kiendreibeogo M, Sagnon N, et al. Larvicidal and Oviposition- Deterrence Activities of Four Local Plant Extracts From Burkina Faso Against *Anopheles Gambiae* s. L. (Diptera: Culicidae). *Int J Mosquito Res* (2016) 3(6):11–9.
- Yaméogo F, Wangrawa DW, Sombié A, Sanon A, Badolo A. Insecticidal Activity of Essential Oils From Six Aromatic Plants Against *Aedes Aegypti*. *Dengue Vector From Two Localities of Ouagadougou, Burkina Faso*. *Arthropod Plant Interact* (2021) 15(4):627–34. doi: 10.1007/s11829-021-09842-4
- Bassolé IHN, Guelbeigbo WM, Nébié R, Costantini C, Sagnon NF, Kabore ZI, et al. Ovicidal and Larvicidal Activity Against *Aedes Aegypti* and *Anopheles Gambiae* Complex Mosquitoes of Essential Oils Extracted From Three Spontaneous Plants of Burkina Faso. *Parasitologia* (2003) 45:23–6. doi: 10.1007/s11829-021-09842-4
- Pereira Filho AA, Pessoa GCD, Yamaguchi LF, Stanton MA, Serravite AM, Pereira RHM, et al. Larvicidal Activity of Essential Oils From Piper Species Against Strains of *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) Resistant to Pyrethroids. *Front Plant Sci* (2021) 12:685864. doi: 10.3389/fpls.2021.685864
- WHO. *World Malaria Report 2015 - Summary*. (2015). Available at: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>.
- Petersen JL, Floore TG, Brogdon WG. Diagnostic Dose of Synergized D-Phenothryrin for Insecticide Susceptibility Testing by Bottle Bioassay. *J Am Mosq Control Assoc* (2004) 20:183–8.

27. Manh HD, Hue DT, Hieu NTT, Tuyen DTT, Tuyet OT. The Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils From Cymbopogon and Eucalyptus Species in Vietnam. *Insects* (2020) 11(2):1–7. doi: 10.3390/insects11020128
28. Cavalcanti ES, Morais SM, Lima MA, Santana EW. Larvicidal Activity of Essential Oils from Brazilian Plants Against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (2004) 99(5):541–4. doi: 10.1590/S0074-02762004000500015
29. Folashade KO, Omoregie EH. Essential Oil of *Lippia Multiflora* Moldenke : A Review. *J Appl Pharm Sci* (2012) 02(1):15–23.
30. Namountougou M, Soma DD, Kientega M, Balbonei M, Kaborei DPA, Drabo SF, et al. Insecticide Resistance Mechanisms in *Anopheles Gambiae* Complex Populations From Burkina Faso, West Africa. *Acta Tropica* (2019) 197:1–93201–12. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.105054
31. Chandre F, Darrier LM, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, Guillet P. Status of Pyrethroid Resistance in *Anopheles Gambiae* Sensu Lato. *Bulletin of the World Health Organization* (1999) 77(3):230–4.
32. Poda SB, Soma DD, Hien A, Namountougou M, Gnankineï O, Diabateï A, et al. Targeted Application of an Organophosphate - Based Paint Applied on Windows and Doors Against *Anopheles Coluzzii* Resistant to Pyrethroids Under Real Life Conditions in Vallie Du Kou, Burkina Faso (West Africa). *Malaria J* (2018) 17(136):1–9. doi: 10.1186/s12936-018-2273-x
33. Namountougou M, Soma DD, Balbonei M, Kaborei AD, Kientega M, Hien A, et al. Monitoring Insecticide Susceptibility in *Aedes Aegypti* Populations From the Two Biggest Cities, Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, in Burkina Faso: Implication of Metabolic Resistance. *Trop Med Infect Dis* (2020) 5:84. doi: 10.3390/tropicalmed5020084

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Balboné, Soma, Namountougou, Drabo, Konaté, Toe, Bayili, Meda, Dabiré and Gnankine. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Vector Control, Pest Management, Resistance, Repellents

Alternatives to Pyrethroid Resistance: Combinations of *Cymbopogon nardus* and *Ocimum americanum* Essential Oils Improve the Bioefficiency Control Against the Adults' Populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Mahamoudou Balboné,¹ Dieudonné Diloma Soma,² Samuel Fogné Drabo,¹ Moussa Namountougou,^{2,3} Hamadou Konaté,^{2,3} Georges Benson Meda,² Ignace Sawadogo,⁴ Rahim Romba,¹ Etienne Bilgo,² Roger C. H. Nebié,⁴ Imaël H. N. Bassolé,¹ Roch K. Dabire,² and Olivier Gnankine^{1,5,*}

¹Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT), Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso, ²Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Centre Muraz, Bobo-Dioulasso BP 545, Burkina Faso, ³Université Nazi Boni, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, ⁴Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Ouagadougou 03 BP 7047, Burkina Faso, and ⁵Corresponding author, e-mail: olignankine@gmail.com; olivier.gnankine@ujz.bf

Subject Editor: Athanase Badolo

Received 8 June 2022; Editorial decision 23 August 2022.

Abstract

Dengue vector control strategies are mostly based on chemicals use against *Aedes aegypti* populations. The current study aimed at investigating the insecticidal effects of essential oils (EOs) obtained from five plant species, *Cymbopogon citrates* (D. C.) Stapf. (Poaceae), *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle (Poaceae), *Eucalyptus camaldulensis* Linn. (Myrtaceae), *Lippia multiflora* Moldenke (Verbenaceae), and *Ocimum americanum* Linn. Lamiaceae, and combinations of *Cymbopogon nardus* and *Ocimum americanum* on *Ae. aegypti* populations from Bobo-Dioulasso. For this purpose, adults of the susceptible and field strains of *Ae. aegypti* were tested in WHO tubes with EO alone and binary combinations of *O. americanum* (OA) and *C. nardus* (CN; scored from C1 to C9). The extraction of the essential oils was done by hydrodistillation, and their components were determined by GC/MS. Among the 5 EOs tested, *L. multiflora* essential oil was the most efficient, with KDT₅₀ values below 60 min on all *Ae. aegypti* strains tested, and also with a rate of mortality up to 100 and 85% for Bora Bora and Bobo-Dioulasso strains, respectively. This efficacy may be due to its major compounds which are with major compounds as β -caryophyllene, p-cymene, thymol acetate, and 1.8 cineol. Interestingly, on all strains, C8 combination showed a synergistic effect, while C2 showed an additive effect. These combinations exhibit a rate of mortality varying from 80 to 100%. Their toxicity would be due to the major compounds and the putative combined effects of some major and minor compounds. More importantly, *L. multiflora* EO and combinations of *C. nardus* and *O. americanum* EO, may be used as alternatives against pyrethroid resistant of *Ae. aegypti*.

Key words: resistance, essential oil, combination, major compound, rate of mortality

Arboviral diseases have been recognized as a global threat during the last 20 years (Mayer et al. 2017). According to WHO (2021), approximately 3.9 billion people worldwide are at risk of arboviral diseases. These diseases are caused by viruses (arboviruses) usually transmitted, under natural conditions, from vertebrate to vertebrate, by hematophagous insect vector (Aubry and Gauzère 2020) such as

Ae. aegypti mosquitoes. Zika, chikungunya, yellow fever, and dengue are arboviruses whose main vector is *Ae. aegypti* (Cuervo-Parra et al. 2016; Souza-neto et al. 2019). According to WHO (2020), among the arboviruses, dengue is the most prevalent in the subtropics and tropics areas. Thus, it is a major international public health problem (Guzman et al. 2010). In recent years, it has been detected in several

African cities including Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, the major cities of Burkina Faso (Sessions et al. 2013, Ministère de la Santé du Burkina Faso 2017).

Vector control remains the most effective measure to control the transmission of this arboviral diseases (Bhatt et al. 2015). The use of insecticides is the main strategy for controlling *Ae. aegypti* (WHO 2012) when a dengue epidemic is detected in a city (Achee et al. 2015). Long-lasting insecticide-treated nets (LLINs) and indoor residual spraying (IRS) remain the main vector control methods (WHO 2012).

However, in many countries, resistance to insecticides has been observed in natural populations of disease vectors, and this resistance is increasing. Indeed, previous studies in Burkina Faso reported multiple resistance to chemical insecticides commonly used against *Ae. aegypti* populations (Sombié et al. 2019), particularly in the *Ae. aegypti* population from Bobo-Dioulasso (Ouattara et al. 2019). Recently, Namountougou et al. (2020) highlighted this resistance in *Ae. aegypti* populations in Ouagadougou and Bobo-Dioulasso according to metabolic activities such as nonspecific esterase, cytochrome P450, and glutathione *S*-transferase activities.

To manage concern related to increasing chemical resistance, which has become an obstacle to fight vector-borne diseases in general and dengue specifically, the use of natural products derived from plants with proven insecticidal efficiency is strongly recommended as an alternative. Among the many natural products, EOs and their constituents have received considerable attention in the search for new pesticides exhibiting insecticidal properties (Tripathi et al. 2009). Plant products are used worldwide to protect people against blood-sucking arthropods, and many studies have reported the adulticidal effects of essential oils (Zoubiri and Baaliouamer 2014). These natural compounds are biodegradable in nature and environmentally safe (Regnault-roger et al. 2012) and generally exhibit low toxicity to mammals (Isman 2000). Moreover, traditional medicine is largely based on plants (herbs or shrubs) and is available at low cost in most tropical areas (de Boer et al. 2010).

EOs have several valuable properties. First, they easily penetrate the cuticle of insects, which increases their bioavailability (N'Guessan et al. 2007). This property reduces mosquito knock-down time. Regarding the weak toxicity of most EOs against vectors, strategies based on their combination may improve their efficiency. Recent studies on *Ae. aegypti* populations from Ouagadougou (Burkina Faso) showed low toxicity of 3 of the 5 EOs tested in the present study, namely *Ocimum americanum*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis* (Yaméogo et al. 2021). According to Chansang et al. (2018), combination of EO-Permethrin shown a synergist effect on *Aedes* populations from Thailand.

To the best of our knowledge, even if studies have been carried out on the toxicity of EOs in Burkina Faso, studies on their combinations on *Ae. aegypti* populations are limited. In this study, our objective was to evaluate the insecticidal properties of EOs extracted from five local plants, namely *L. multiflora*, *C. nardus*, *O. americanum*, *C. citratus*, and *E. camaldulensis*, and binary combinations of 2 of them, namely *O. americanum* and *C. nardus*, against adults of *Ae. aegypti* populations from western Burkina Faso.

Materials and Methods

Essential Oil Extraction

The first step consisted in collecting the aerial parts of the following species: *L. multiflora*, *C. nardus*, *C. citratus*, *E. camaldulensis*, and *O. americanum*. The collection was conducted at the botanic garden of the Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies

(IRSAT), Ouagadougou. The extraction of EOs was achieved through hydrodistillation using Clevenger apparatus. A dark glass bottle was used for storage at a temperature of 4°C, according to the works done by Drabo et al. (2017). Indeed, the combinations of *C. nardus* and *O. americanum* EOs tests were carried out, after having done the bioassays with the individual EOs, at the 'Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Direction Régionale de l'Ouest' (IRSS/DRO).

Analysis by Means of Gas Chromatography With Flame Ionization Detector

Essential oils obtained from the leaves of *L. multiflora*, *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, and *O. americanum* were analyzed by gas chromatography (GC) with flame ionization detection (GC-FID) using an Agilent 6890N GC instrument which is FID equipped, along with a DB-5 narrow bore column. Experimental procedures are detailed in Drabo et al. (2017) and Balboné et al. (2022).

Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analysis

For the GC/MS analysis, a GC HP 6890 connected to an MSD HP 5972 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA) with a Zebron ZB-5MS capillary column (30 m long, ID 0.25 mm and film thickness 0.25 mm; Agilent) was used. Experimental procedures are detailed in Drabo et al. (2017) and Balboné et al. (2022).

Collection and Rearing of Mosquitoes

The collection of pupae and larvae of the *Ae. aegypti* field strain was carried out from June to October 2021, in Bobo-Dioulasso, West Burkina Faso. Bobo-Dioulasso (11°10'37.7"N, 4°17'52.4"W), the economic capital of Burkina Faso, is located in the western part of the country. The pupae and larvae were reared in the insectarium located in the 'Institut de Recherches en Sciences de la Santé, Direction Régionale de l'Ouest' (IRSS/DRO) in Bobo-Dioulasso. Larvae were fed with tetraMin Baby Fish Food (Tetrawerke, Melle, Germany). Adult mosquitoes, which emerged from pupae of the field strain, were placed in cages and fed with a 10% sugar solution. Female mosquitoes of first-generation field strain and second-generation *Ae. aegypti* 'Bora Bora' strain maintained at the insectarium, as a reference strain, were used for susceptibility tests. Mosquitoes were reared under conditions of temperature 27 ± 2°C, relative humidity 70 ± 5%, 12 h of light and 12 h of dark.

Adult Mosquitoes Bioassays

Susceptibility tests were performed with WHO tubes according to standard procedures (WHO 2017). Whatman papers were used for impregnation according to the protocol adopted by N'Guessan et al. (2007). For this purpose, four rectangular papers (size 12 cm × 15 cm) were impregnated with 2 ml of a given concentration of an essential oil/combination of EOs diluted in acetone. For combination tests, 10 binary combinations varying from C1 to C9 were prepared. Thus, 1) CN 10%: OA 90%; 2) CN 20%: OA 80%; 3) CN 30%: OA 70%; 4) CN 40%: OA 60%; 5) CN 50%: OA 50%; 6) CN 60%: OA 40%; 7) CN 70%: OA 30%; 8) CN 80%: OA 20%; and 9) CN 90%: OA 10% corresponding to C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, and C9, respectively, led us to carry out the combination tests.

Preliminary bioassay tests were used to select a range of EO concentrations for the current tests. The concentrations chosen were: 0.1, 0.5, and 1% for each EO or combination of EOs. Acetone was used as a negative control and permethrin 0.75% was used as a positive control. The test conditions were: temperature 25°C (± 2°C) and humidity 70–80%. Diagnostic concentrations were derived from the susceptible *Ae. aegypti* 'Bora Bora' strain.

Data Analysis

The data obtained were analyzed using the statistical software XLSTAT version 2015.1.01. By probity analysis, the knockdown times (KDT₅₀ and KDT₉₅), lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₉), and 95% confidence limits (95% CL) were calculated to compare the toxicity of the EOs and combinations against the adult mosquitoes tested. The relationship between KDT, mortality, and concentrations was evaluated by probity regression. The LC₅₀, LC₉₉, and mortality values were significantly different between the EOs and combinations ($P < 0.05$) if their confidence intervals did not overlap. Corrections were not necessary as no mortality was found in the negative controls. According to WHO (2017), the diagnostic concentration corresponds to twice the LC₉₉ on susceptible strain.

Calculation of the Fractional Inhibitory Concentration indices

Determination of EO interactions in the combinations was done using fractional inhibitory concentration (FIC) indices. The calculation and interpretation procedures have been described in Schelz et al. (2006) and Bassolé and Juliani (2012).

FIC indices were obtained by using the following formula: $FIC = FIC_A + FIC_B$ and $FIC_A = MIC_{A(A+B)}/MIC_A$ and $FIC_B = MIC_{B(A+B)}/MIC_B$ where MIC_A and MIC_B are the minimum inhibitory concentrations that kill adult mosquitoes for EOs A and B, respectively, $MIC_{A(A+B)}$ and $MIC_{B(A+B)}$ are the minimum inhibitory concentrations of A and B, respectively in the combination. Also, FIC_A and FIC_B are the fractional inhibitory concentrations of A and B, respectively. The effects were classified as additive, synergistic, indifferent, and antagonistic as follows: 1) Synergistic if $FIC < 0.5$; 2) additive, if $0.5 \leq FIC \leq 1$; 3) indifferent if $1 \leq FIC \leq 4$; or 4) antagonistic if $FIC > 4$.

Results

Chemical Characterization of the Essential Oils

Data on the chemical analysis of the five EO samples are given in Table 1. The compounds of all these EOs were dominated by monoterpenes. The EO of *C. citratus* was composed of neral (44.7%) and geranial (55.2%). As for *C. nardus* EO, it was characterized by six compounds, dominated in majority by citronellal (41.7%), geraniol (20.8%), and β -elemene (11%). Sixteen compounds were found in *E. camaldulensis* EO with 1,8-cineole (59.55%) as major compound. *L. multiflora* EO consisted 16 compounds including β -caryophyllene (20.1%), p-cymene (14.6%), thymol (12.0%) acetate, and 1,8-cineole (11.6%) as the major compounds. Twenty-six compounds were found in *O. americanum* EO with 1,8-cineole (31.22%) and camphor (12.73%) the major compounds.

Knockdown Times and Adulcicidal Effects of EOs and Combinations

KDT values and mortalities were depending of the EO or combination. Also, they varied in connection with the treatment concentration and the *Ae. aegypti* strain tested.

Indeed, the lowest KDT values and the highest mortalities were obtained on the susceptible strain Bora Bora. All the EOs tested in the present study showed more or less high insecticidal properties on the both strains of *Ae. aegypti*. *Lippia multiflora* EO was the most toxic to all *Ae. aegypti* strains with a KDT₉₅ value of 113.5 min and a mortality rate of 85% at the 1% concentration (Table 2) on *Ae. aegypti* of Bobo-Dioulasso. Also, this EO gave a proportion of 0.79 and 1.25% for LC₅₀ and LC₉₉, respectively (Table 3), on *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso.

As for *E. camaldulensis* EO, it was the least toxic with a mortality of 0.7% at the 1% concentration on *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso (Table 2).

At the 1% concentration, *C. nardus* and *O. americanum* EO showed mortalities of 12.75 and 2.3%, LC₅₀ values of 2.94 and 3.1%, respectively, on *Ae. aegypti* from Bobo-Dioulasso.

At the 1% concentration, there were no significant differences between the KDT obtained with the EOs on both strains of *Ae. aegypti* tested, except for those of *C. nardus* and *L. multiflora*.

Overall, all combinations showed low KDT values (Table 4). Combinations C8 (CN 80%; OA 20%), C2 (CN 20%; OA 80%), and C9 (CN 90%; OA 10%) with LC₅₀ values below 1%, whereas those of C4 (CN 40%; OA 60%) and C6 (CN 60%; OA 40%) were below 2%. The LC₅₀ values and diagnostic concentrations obtained with these combinations were significantly lower than those obtained with the two EOs taken individually and with permethrin (Table 3). These combinations also had significantly higher mortalities than the individual EOs and permethrin (Tables 2 and 4).

The synergistic effect was obtained on both strains with the C8 combination, and the additive effect was found with the C2 and C9 combinations (Tables 5 and 6). No antagonistic effect was observed but some combinations showed no effect.

Discussion

Vector control strategies have mainly consisted of the use of chemicals against mosquitoes. The frequent use of chemicals has raised many concerns in the environment and human public health (Cuervo-Parra et al. 2016) and caused increasing resistance in most mosquito populations (Mahanta et al. 2019) and particularly *Ae. aegypti* population of Bobo-Dioulasso (Namountougou et al. 2020); (Badolo et al. 2019). Regarding this situation, plants extracts seem to be an alternative because they contain large number of bioactive, effective, biodegradable compounds and have been used currently for mosquito control (Boonyuan et al. 2014; Yaméogo et al. 2021). From the present knowledge, these are the first time that works on toxicity of combinations of whole EOs on *Ae. aegypti* populations were investigated.

Here, our current study showed the variable adulcicidal effects of EOs of *C. nardus*, *C. citratus*, *O. americanum*, *L. multiflora*, and *E. camaldulensis* on susceptible Bora Bora and resistant *Aedes aegypti* strain collected in Bobo-Dioulasso. These results partially confirm the work of Yaméogo et al. (2021) who showed the toxicity of six EOs including *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *Lippia multiflora*, and *O. americanum* on *Ae. aegypti* populations collected in Ouagadougou. They also confirm the works done by Drabo et al. (2017) who had shown the adulcicidal properties of *C. citratus* and *O. americanum* on *Bemisia tabaci* populations confirming their broad-spectrum efficiency against most of insects.

Interestingly, the EO of *L. multiflora* was the most toxic on both strains of *Ae. aegypti*. This toxicity of *L. multiflora* EO could be explained by the insecticidal effect of the most dominant compounds which are thymol acetate, p-cymene and β -caryophyllene. Indeed, previous studies reported that β -caryophyllene exhibits insecticidal properties (Almadiy 2020) and toxicity of *Eucalyptus tereticornis* EO could be explained by the presence of the other component as p-cymene (Bossou et al. 2013) found as a major component in *L. multiflora*. Similarly, lethal toxicity of the main components of *Ocimum kilimandscharicum* (such as camphor, 1,8-cineole and β -caryophyllene) EOs had been reported against two insect pests (*Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus zeamais*; Bekele and Hassanal 2001).

Table 1. Chemical composition of *Lippia multiflora*, *Cymbopogon nardus*, *Ocimum americanum*, *Cymbopogon citratus*, and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils

| Compounds | Retention indices | <i>Cymbopogon citratus</i> (%) | <i>Cymbopogon nardus</i> (%) | <i>Eucalyptus camaldulensis</i> (%) | <i>Lippia multiflora</i> (%) | <i>Ocimum americanum</i> (%) |
|--------------------------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| α -Thujene | 925 | — | — | — | 1.6 | 0.13 |
| α -Pinene | 933 | — | — | 9.17 | 0.9 | 6.87 |
| Camphene | 945 | — | — | 0.19 | — | 2.77 |
| Sabinene | 975 | — | — | — | — | — |
| β -Pinene | 981 | — | — | 2.49 | — | 0.65 |
| Myrcene | 992 | — | — | 0.15 | — | 3.71 |
| 2-Carene | 999 | — | — | — | — | 2.04 |
| α -Phellandrene | 1,003 | — | — | 0.32 | 3.1 | 0.39 |
| α -Terpinene | 1,017 | — | — | — | 1.41 | 0.40 |
| p-Cymene | 1,027 | — | — | 4.73 | 14.6 | 0.21 |
| Limonene | 1,028 | — | — | 8.76 | — | 4.66 |
| 1,8-Cineole | 1,034 | — | — | 59.55 | 11.6 | 31.22 |
| β -Ocimene | 1,048 | — | — | — | 9.4 | — |
| γ -Terpinene | 1,061 | — | — | 1.39 | — | 1.13 |
| Terpinolene | 1,081 | — | — | 0.21 | — | 0.65 |
| Camphor | 1,124 | — | — | — | — | 12.73 |
| Citronellal | 1,158 | — | 41.7 | — | — | — |
| Citronellol | 1,230 | — | 8.0 | — | — | — |
| Borneol | 1,156 | — | — | 0.46 | — | 0.13 |
| 4-Terpineol | 1,168 | — | — | 1.14 | — | 0.92 |
| α -Terpineol | 1,177 | — | — | 2.65 | — | 2.08 |
| Neral | 1,242 | 44.7 | — | — | — | — |
| Piperitone | 1,252 | — | — | 0.09 | — | 2.44 |
| Geraniol | 1,253 | — | 20.8 | — | — | — |
| Geranial | 1,268 | 55.2 | — | — | — | — |
| Bornyl acetate | 1,269 | — | — | — | — | 3.96 |
| Thymol | 1,288 | — | — | — | 8.3 | — |
| Thymol acetate | 1,355 | — | — | — | 12.0 | — |
| β -Elemene | 1,372 | — | 11.0 | — | — | — |
| α -Copaene | 1,390 | — | 3.7 | — | — | — |
| β -Caryophyllene | 1,415 | — | — | — | 20.1 | 3.55 |
| <i>Trans</i> - α -Bergamotene | 1,433 | — | — | — | — | 5.32 |
| α -Humulene | 1,442 | — | — | — | 4.8 | 0.25 |
| <i>allo</i> -Aromadendrene | 1,446 | — | — | 1.40 | — | — |
| α -Amorphene | 1,485 | — | — | — | 1.4 | — |
| Germacrene D | 1,495 | — | — | — | 1.5 | 0.24 |
| (Z, E)- α -farnesène | 1,497 | — | — | — | — | 3.64 |
| B-himachalene | 1,499 | — | — | — | — | — |
| Hedycaryol | 1,520 | — | 7.4 | — | — | — |
| Elemol | 1,545 | — | — | — | 2.1 | 1.6 |
| β -Eudesmol | 1,650 | — | — | — | 2.5 | — |
| Caryophyllene oxyde | 1,581 | — | — | — | 4.5 | 0.08 |
| Hydrocarbon monoterpenes | - | — | — | 24.89 | 33.01 | 23.61 |
| Oxygenated monoterpenes | - | 99.9 | 77.9 | 66.96 | 36.5 | 53.48 |
| Hydrocarbon sesquiterpenes | - | — | 14.7 | 1.4 | 25.8 | 13.03 |
| Oxygenated sesquiterpenes | - | — | — | 0.34 | 4.5 | 1.68 |
| Total | - | 99.9 | 92.6 | 93.59 | 99.81 | 91.8 |

The numbers in bold represent the major compounds of each essential oil.

Other previous studies reported that the insecticidal properties of *O. americanum* EO were due to 1,8-cineole, camphor, and α -pinene (Koul et al. 2008). These compounds were the same of those found in *O. americanum* EO tested here and for which we obtained the weak efficacy. According to Ntonga et al. (2017), 1,8-cineole is reported to contribute strongly to the toxicity of *Callistemon citrinus* oil against adult females of *Anopheles coluzzii*. On the contrary, *E. camaldulensis* EO, rich in 1,8-cineole was the least toxic against adult females of *Ae. aegypti*. This low toxicity could be due probably to the absence of sabinene among the main compounds of *E. camaldulensis* EO. Indeed, Liu et al. (2020) reported that there was

an additive effect between 1,8-cineole and sabinene on *Sitophilus oryzae*.

If the pre-exposure of mosquitoes to PBO can restore totally or partially the susceptibility to pyrethroids (Hien et al. 2021), there is no doubt that the toxicity of EOs could be improved by binary combinations of certain EOs.

In the current study, this improvement was outlined through the KDT, LC₅₀ values and rate of mortality obtained with certain combinations which were higher than those of the EOs tested alone and positive control. It is suggested that combinations reduce the time required to paralyze mosquitoes. Interestingly, the combination

Table 2. KDT₅₀, KDT₉₅ and mortalities from essential oils tested on *Aedes aegypti* susceptible (Bora bora) and field (Bobo-Dioulasso) strains

| Treatments | Concentrations | <i>Aedes aegypti</i> 'Bora bora' | | | <i>Aedes aegypti</i> 'Bobo-Dioulasso' | | |
|-------------------------|----------------|----------------------------------|-------------------------|---------------|---------------------------------------|-------------------------|---------------|
| | | KDT ₅₀ (Min) | KDT ₉₅ (Min) | Mortality (%) | KDT ₅₀ (Min) | KDT ₉₅ (Min) | Mortality (%) |
| <i>C. citratus</i> | 0.1 | 193.3 | 291.1 | 0 | 221.2 | 311.2 | 0 |
| | 0.5 | 192.6 | 290.2 | 4.04 | 228.1 | 298.5 | 0 |
| | 1 | 140.6 | 230.4 | 8.26 | 142.5 | 244.8 | 0.9 |
| <i>C. nardus</i> | 0.1 | 88.6 | 134 | 3.1 | 179 | 278 | 0.98 |
| | 0.5 | 35.6 | 53.8 | 9.86 | 88.7 | 143.9 | 5 |
| | 1 | 24 | 33.7 | 20.34 | 35.6 | 57.2 | 12.75 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0.1 | 211.3 | 299.1 | 0 | 234.1 | 343.9 | 0 |
| | 0.5 | 178.1 | 285.7 | 3.3 | 209.4 | 297.2 | 0.1 |
| | 1 | 156.5 | 267.5 | 7.14 | 190.3 | 287.2 | 0.7 |
| <i>L. multiflora</i> | 0.1 | 107 | 178.7 | 12.35 | 113.5 | 182.8 | 4.1 |
| | 0.5 | 40.9 | 72 | 29.33 | 43 | 75 | 16.02 |
| | 1 | -3.9 | 7.8 | 100 | 20.5 | 32.8 | 85 |
| <i>O. americanum</i> | 0.1 | 131.57 | 194.82 | 2.08 | 151.7 | 264.3 | 0 |
| | 0.5 | 128.1 | 188.4 | 5.56 | 145.3 | 247.5 | 0.2 |
| | 1 | 125.7 | 210.6 | 9.14 | 133.3 | 249 | 2.3 |
| Permethrin | 0.75 | 16.6 | 29.1 | 98.8 | 144 | 188.7 | 10.1 |

Table 3. Lethal concentrations at 50 and 99% (LC₅₀ and LC₉₉) and diagnostic concentrations of all essential oils, combinations, and permethrin of *O. americanum* and *C. nardus* tested with *Aedes aegypti*

| Treatments | <i>Aedes aegypti</i> Bora Bora | | <i>Aedes aegypti</i> Bobo-Dioulasso | | Diagnostic concentration | Diagnostic concentration | Diagnostic concentration |
|-------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | LC ₅₀ (%) (CL95) | LC ₉₉ (%) (CL95) | LC ₅₀ (%) (CL95) | LC ₉₉ (%) (CL95) | (%) | (mg/ml) | (mg/cm ²) |
| <i>C. citratus</i> | 2.7 (-) | 4.9 (-) | — | — | 9.88 | 98.8 | 1.10 |
| <i>C. nardus</i> | 2.24 (1.6-2.7) | 4.3 (2.7-4.9) | 2.94 (1.4-3.8) | 5.9 (5.7-8.7) | 8.6 | 86 | 0.95 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 3.58 (3.3-4.2) | 7.81 (-) | — | — | 15.62 | 156.2 | 1.73 |
| <i>L. multiflora</i> | 0.57 (0.5-0.6) | 1.03 (0.9-1.2) | 0.79 (0.7-0.8) | 1.25 (1.1-1.4) | 2.06 | 20.6 | 0.23 |
| <i>O. americanum</i> | 2.7 (-) | 4.9 (3.4-5.3) | 3.1 (-) | 5.3 (-) | 9.8 | 98 | 1.09 |
| C1(CN 10%:OA 90%) | 3.63 (-) | 6.41 (-) | 3.9 (-) | 6.8 (-) | 12.72 | 127.2 | 1.41 |
| C2(CN 20%:OA 80%) | 0.77 (0.7-0.8) | 1.28 (1.2-1.4) | 0.84 (0.8-0.9) | 1.297 (1.2-1.4) | 2.56 | 25.6 | 0.28 |
| C3(CN 30%:OA 70%) | 2.683 (1.46-5) | 4.9 (3.2-5.9) | 2.6 (-) | 4.5 (-) | 8.4 | 84 | 0.93 |
| C4(CN 40%:OA 60%) | 1.49 (1.2-2.2) | 2.66 (2-4.6) | 1.98 (1.5-2.3) | 3.9 (2.4-4.6) | 5.06 | 50.6 | 0.56 |
| C5(CN 50%:OA 50%) | 4.02 (-) | 9.697 (-) | 3.83 (-) | 8.3 (-) | 19.4 | 194 | 2.16 |
| C6(CN 60%:OA 40%) | 1.79 (1.4-3.5) | 3.27 (2.3-7.7) | 1.68 (1.3-3.3) | 2.92 (2.1-3.1) | 6.54 | 65.4 | 2.16 |
| C7(CN 70%:OA 30%) | 1.7 (1.3-1.9) | 2.94 (1.9-4.4) | 3.47 (-) | 6.1 (-) | 5.88 | 58.8 | 0.65 |
| C8(CN 80%:OA 10%) | 0.6 (0.5-0.6) | 1.08 (1-1.2) | 0.7 (0.6-0.8) | 1.2 (1.1-1.3) | 2.16 | 21.6 | 0.24 |
| C9 (CN 90%:OA 10%) | 0.97 (0.8-1.1) | 2.29 (1.9-3) | 0.99 (0.9-1.3) | 2.56 (2-3.5) | 4.58 | 45.8 | 0.51 |
| Permethrin | 0.75 (0.6-1.1) | 1.69 (1.6-1.8) | 2.2 (2.1-2.6) | 3.5 (2.3-5.8) | 3.38 | 33.8 | 0.37 |

CL, confidence limit.

of C8 (CN 80%: OA 20%) and C2 (CN 20%: OA 80%) improved the toxicity on the *Aedes* populations. This would be due to the simultaneous toxic effect of the compounds in the combined EOs. It could

be thought that *C. nardus* EO needed a certain amount of the major compounds of *O. americanum* EO. Conversely, *O. americanum* EO needed some constituents of *C. nardus* EO to perform. Studies had

Table 4. KDT₅₀, KDT₉₅, and mortalities of binary combinations of *C. nardus* (CN) and *O. americanum* (OA) tested on *Aedes aegypti* susceptible (Bora bora) and field (Bobo-Dioulasso) strains

| Codes | Combination of essential oil | Concentrations | <i>Aedes aegypti</i> "Bora bora" | | | <i>Aedes aegypti</i> "Bobo-Dioulasso" | | |
|------------|------------------------------|----------------|----------------------------------|-------------------------|--------------|---------------------------------------|-------------------------|--------------|
| | | | KDT ₅₀ (Min) | KDT ₉₅ (Min) | Mortality(%) | KDT ₅₀ (Min) | KDT ₉₅ (Min) | Mortality(%) |
| C1 | CN 10%:OA 90% | 0.1 | 117.5 | 159 | 0 | 127.3 | 187.4 | 0 |
| | | 0.5 | 95 | 136.3 | 0.6 | 118.3 | 180.7 | 0 |
| | | 1 | 76.5 | 116.2 | 2.66 | 110.7 | 172.4 | 1.6 |
| C2 | CN 20%:OA 80% | 0.1 | 103.1 | 169.7 | 1.23 | 125.7 | 173.7 | 0.4 |
| | | 0.5 | 65 | 113.4 | 7.23 | 103.3 | 163.4 | 6.90 |
| | | 1 | -4 | 0.9 | 86.67 | 1.2 | 9.2 | 81.99 |
| C3 | CN 30%:OA 70% | 0.1 | 147.7 | 228.1 | 0 | 175.7 | 273.7 | 0 |
| | | 0.5 | 98.2 | 164.8 | 1.16 | 118.6 | 252.7 | 0.3 |
| | | 1 | 28.4 | 48.5 | 5.49 | 77.5 | 186 | 4.27 |
| C4 | CN 40%:OA 60% | 0.1 | 173.5 | 281.3 | 0 | 190.3 | 287.2 | 0.9 |
| | | 0.5 | 65.5 | 107.3 | 2.47 | 113.3 | 184.5 | 2.19 |
| | | 1 | 15.2 | 33.2 | 15.96 | 17 | 42.2 | 7.49 |
| C5 | CN 50%:OA 50% | 0.1 | 123.4 | 197.3 | 4.65 | 131.7 | 222.4 | 2.30 |
| | | 0.5 | 76.6 | 139.4 | 8.33 | 102.2 | 168.8 | 4.55 |
| | | 1 | 17.1 | 28.2 | 10.11 | 27 | 47.1 | 7.82 |
| C6 | CN 60%:OA 40% | 0.1 | 96.2 | 161.2 | 0 | 151.7 | 252.3 | 0 |
| | | 0.5 | 24.2 | 36.7 | 2.44 | 106.1 | 160.1 | 1.10 |
| | | 1 | 10.5 | 16.7 | 10.31 | 17.1 | 22 | 9.89 |
| C7 | CN 70%:OA 30% | 0.1 | 146 | 217 | 0 | 189.9 | 286.7 | 0 |
| | | 0.5 | 115.3 | 184.1 | 1.1 | 130.8 | 199.7 | 0.31 |
| | | 1 | 25.5 | 37.3 | 6.02 | 38.5 | 57.1 | 2.20 |
| C8 | CN 80%:OA 20% | 0.1 | 48.9 | 77 | 3.37 | 60.6 | 79.8 | 3.19 |
| | | 0.5 | 11.6 | 59.2 | 20.99 | 14.3 | 46.5 | 13.75 |
| | | 1 | -9.8 | 0.6 | 100 | -3.9 | 7.8 | 95.09 |
| C9 | CN 90%:OA 10% | 0.1 | 92.3 | 137.2 | 2.38 | 115.4 | 157.8 | 1.28 |
| | | 0.5 | 13.5 | 40.5 | 39.73 | 20.5 | 53.8 | 30.23 |
| | | 1 | 7.7 | 12.3 | 58.24 | 8.5 | 17.1 | 51.76 |
| Permethrin | | 0.75 | 16.6 | 29.1 | 98.8 | 144 | 188.7 | 10.1 |

KDT, knockdown time.

Table 5. The effects of interaction of essential oil combinations from *Cymbopogon nardus* (CN) and *Ocimum americanum* (OA) on *Aedes aegypti* adults of the susceptible strain (Bora Bora) and the type of interaction ($n = 150$ adults)

| Combination of essential oil (%) | Codes | Mortality at LC ₅₀ (%) | FIC _{Cn} | FIC _{Oa} | FIC | Effect |
|----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|------|-------------|
| CN 0%:OA 100% | OA | 2.7 | — | — | — | — |
| CN 10%:OA 90% | C1 | 3.61 | 1.61 | 1.34 | 2.95 | No effect |
| CN 20%:OA 80% | C2 | 0.77 | 0.34 | 0.29 | 0.63 | Addition |
| CN 30%:OA 70% | C3 | 2.35 | 1.05 | 0.87 | 1.92 | No effect |
| CN 40%:OA 60% | C4 | 1.48 | 0.66 | 0.55 | 1.21 | No effect |
| CN 50%:OA 50% | C5 | 3.31 | 1.48 | 1.23 | 2.70 | No effect |
| CN 60%:OA 40% | C6 | 1.79 | 0.80 | 0.66 | 1.46 | No effect |
| CN 70%:OA 30% | C7 | 1.78 | 0.79 | 0.66 | 1.45 | No effect |
| CN 80%:OA 20% | C8 | 0.6 | 0.27 | 0.22 | 0.49 | Synergistic |
| CN 90%:OA 10% | C9 | 0.97 | 0.43 | 0.36 | 0.79 | Additive |
| CN 100%:OA 0% | CN | 2.24 | — | — | — | — |

FIC = FIC_A + FIC_B; Additive: 0.5 ≤ FIC ≤ 1; Synergistic: FIC < 0.5; Antagonistic: FIC > 4; No effect: 1 ≤ FIC ≤ 4.

shown that the addition of a little citronellal enhanced the effect of the citral-myrcene mixture against *Ae. aegypti*. Nevertheless, mosquito host-seeking behavior was not significantly reduced by citronellal alone (Hao et al. 2008).

Interestingly, only C8 combination provides synergistic effect on *Aedes* resistant populations. Synergistic effect obtained by this combination could also be explained by the simultaneous action of the major compounds. Also, this synergistic effect could be due to the appearance of a new components that does not exist in the individual EOs (Muturi et al. 2017; Wangrawa et al. 2022). Previous

studies had shown that some essential oils or their compounds could interact to create a synergistic effect at some ratio and an antagonistic effect at other ratios (Intirach et al. 2012; Pavela 2015). Further studies will evaluate the combination 80:20 ratio on a large wild *Aedes* populations to appreciate the phenotypic data. As well, component of this mixture will determine. It is necessary before evaluating this combination in semifields.

Indeed, combinations of 1.8-cineole and citronellal as well as several minor compounds and citronellal gave synergistic effects on *Spodoptera littoralis* larvae (Pavela 2014).

Table 6. The effects of interaction of essential oil combinations from *Cymbopogon nardus* (CN) and *Ocimum americanum* (OA) on *Aedes aegypti* adults of the field strain (Bobo-Dioulasso) and the type of interaction ($n = 150$ adults)

| Combination of essential oil (%) | Codes | Mortality at LC ₅₀ (%) | FIC _{Oa} | FIC _{Cn} | FIC | Effect |
|----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|------|-------------|
| CN 0%:OA 100% | OA | 3.1 | — | — | — | — |
| CN 10%:OA 90% | C1 | 3.9 | 1.25 | 1.32 | 2.57 | No effect |
| CN 20%:OA 80% | C2 | 0.84 | 0.27 | 0.28 | 0.55 | Additive |
| CN 30%:OA 70% | C3 | 2.6 | 0.83 | 0.88 | 1.71 | No effect |
| CN 40%:OA 60% | C4 | 2.18 | 0.7 | 0.74 | 1.44 | No effect |
| CN 50%:OA 50% | C5 | 3.83 | 1.23 | 1.3 | 2.53 | No effect |
| CN 60%:OA 40% | C6 | 1.68 | 0.54 | 0.57 | 1.11 | No effect |
| CN 70%:OA 30% | C7 | 3.47 | 1.11 | 1.18 | 2.29 | No effect |
| CN 80%:OA 20% | C8 | 0.7 | 0.22 | 0.24 | 0.46 | Synergistic |
| CN 90%:OA 10% | C9 | 1.05 | 0.34 | 0.36 | 0.7 | Additive |

FIC = FIC_A + FIC_B; Additive: $0.5 \leq \text{FIC} \leq 1$; Synergistic: $\text{FIC} < 0.5$; Antagonistic: $\text{FIC} > 4$; No effect: $1 \leq \text{FIC} \leq 4$.

According to Hyldgaard et al. (2012), each compound of an EO had a specific mode of action but these compounds could interact with compounds of another EO in a combination to give other modes of action. Thus, the combination of compounds with different modes of action could increase the total lethal actions in mixtures (Sarma et al. 2019).

This study opens new perspectives of valorization of EOs. According to Gnaniné and Bassolé (2017), microencapsulation technologies may improve the duration of action of EOs in terms of application taking into consideration the fact that the EOs are volatiles.

Conclusion

Our study investigated the adulticidal effects of the essential oils of five plants used traditionally in Burkina Faso, *Lippia multiflora*, *Cymbopogon nardus*, *Ocimum americanum*, *Cymbopogon citratus*, and *Eucalyptus camaldulensis*, and combinations of two of these EOs against adults of *Aedes aegypti*, the mosquito vector of dengue. *Lippia multiflora* EO was the most toxic on both strains of *Aedes aegypti* tested. EOs of *C. nardus* and *O. americanum* were less toxic, but their combinations were more toxic, in some proportions, to both strains of *Ae. aegypti*. *Lippia multiflora* EO and combinations of C8 (CN 80%: OA 20%), C2 (CN 20%: OA 80%), and to a lesser extent C9 (CN 90%: OA 10%) could be promising alternatives to pyrethroid resistance in control strategies against *Ae. aegypti*, the dengue vector. As far as we know, this study demonstrates the first time that the binary combinations namely C8 and C2 exhibit high rates of mortality on Bobo-Dioulasso resistant strain to chemicals.

Acknowledgments

We sincerely thank 'Institut de recherche en Sciences Appliquées et technologiques' (IRSAT) for supplying us with essential oils. We also thank Casimir Gnaniné for editing this article.

Funding

Funding of this study was provided partly by the TWAS 18-163RG/BIO/AF/AC_G-FR3240303649 and the centre d'excellence African (CEA) en Innovations des maladies a transmission vectorielle.

References Cited

- Achee, N. L., F. Gould, T. A. Perkins, R. C. Reiner, A. C. Morrison, S. A. Ritchie, D. J. Gubler, R. Teysou, and T. W. Scott. 2015. A critical assessment of vector control for dengue prevention. *J. Vector Ecology* 39:112–122.
- Almadiy, A. A. 2020. chemical composition, insecticidal and biochemical effects of two plant oils and their major fractions against *Aedes aegypti*, the common vector of dengue fever. *Heliyon* 6: e04915.

- Aubry, P., and Gauzère, B. A. 2020. *Arboviroses tropicales*. Centre René Labusquière. Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux. 33076:1–20.
- Badolo, A., A. Sombié, P. M. Pignatelli, A. Sanon, F. Yaméogo, D. W. Wangrawa, A. Sanon, H. Kanuka, P. J. McCall, and D. Weetman. 2019. Insecticide resistance levels and mechanisms in *Aedes aegypti* populations in and around Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13: e0007439.
- Balboné, M., D. D. Soma, M. Namountougou, S. F. Drabo, H. Konate, O. Toe, K. Bayili, G. B. Meda, R. K. Dabiré, and O. Gnaniné. 2022. Essential oils from five local plants: an alternative larvicide for anopheles gambiae s.l. (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control in Western burkina faso. *Front. Trop. Dis.* 3:853405. doi:10.3389/ftd.2022.853405
- Bassolé, I. H. N., and H. R. Juliani. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17: 3989–4006.
- Bekele, J., and A. Hassanali. 2001. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* 57: 385–391.
- Bhatt, V. G., P. Chavan, S. Ojha, and P. K. Nair. 2015. Challenges in the laboratory diagnosis and management of dengue infections. *Open Microbiol. J.* 9.
- Boonyuan, W., J. P. Grieco, M. J. Bangs, A. Prabaripai, S. Tantakom, and T. Chareonviriyaphap. 2014. Excito-repelleny of essential oils against an *Aedes aegypti* (L.) field population in Thailand. *J. Vector Ecology* 39(1): 112–122.
- Bossou, A. D., S. Manginckx, H. Yedomonhan, P. M. Boko, M. C. Akogbeto, N. De Kimpe, F. Avlessi, and D. C. K. Sohounhloou. 2013. Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasit. Vectors* 6: 1–17.
- Chansang, A., D. Champakaew, A. Junkum, A. Jitpakdi, D. Amornlerdpison, A. K. Aldred, D. Riyong, A. Wannasan, J. Intirach, R. Muangmoon, et al. 2018. Synergy in the adulticidal efficacy of essential oils for the improvement of permethrin toxicity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasit. Vectors* 11: 1–16.
- Cuervo-Parra, J. A., T. R. Cortés, and M. Ramirez-Lepé. 2016. *Mosquito-borne diseases, pesticides used for mosquito control, and development of resistance to insecticides, Chapter 7. Insecticides Resistance*. Rijeka: InTechOpen.
- de Boer, H., C. Vongsombath, K. Pålsson, L. Björk, and T. G. T. Jaenson. 2010. Botanical repellents and pesticides traditionally used against hematophagous invertebrates in Lao people's democratic republic: a comparative study of plants used in 66 villages. *J. Med. Entomol.* 47: 400–414.
- Drabo, S. F., O. Gnaniné, I. H. N. Bassolé, R. C. Nébié, and M. Laurence. 2017. Susceptibility of MED-Q1 and MED-Q3 biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations to essential and seed oils. *J. Econ. Entomol.* 110(3):1031–1038.
- Gnaniné, O., and I. H. N. Bassolé. 2017. Essential oils as an alternative to pyrethroids' resistance against *Anopheles* species complex Giles (Diptera: Culicidae). *Molecules* 22: 1321.
- Guzman, M. G., S. B. Halstead, H. Artsob, P. Buchy, J. Farrar, D. J. Gubler, E. Hunsperger, A. Kroeger, H. S. Margolis, E. Martinez, et al. 2010. Dengue: a continuing global threat. *Nat. Rev. Microbiol.* 8: S7–S16.

- Hao, H., J. Wei, J. Dai, and J. Du. 2008. Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *J. Med. Entomol.* 45: 533–539.
- Hien, A. S., D. D. Soma, S. Maiga, D. Coulibaly, A. Diabaté, A. Belemvire, M. B. Diouf, D. Jacob, A. Koné, E. Dotson, et al. 2021. Evidence supporting deployment of next generation insecticide treated nets in burkina faso: bioassays with either chlorfenapyr or piperonyl butoxide increase mortality of pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *Malar. J.* 20: 1–12.
- Hylgaard, M., T. Mygind, and R. L. Meyer. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* 3: 12.
- Intirach, J., A. Junkum, B. Tuetun, W. Choochote, U. Chaitong, A. Jitpakdi, D. Riyong, D. Champakaew, and B. Pitasawat. 2012. Chemical constituents and combined larvicidal effects of selected essential oils against *Anopheles cracens* (Diptera: Culicidae). *Psyche (London)* 2012. doi:10.1155/2012/591616
- Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603–608.
- Koul, O., S. Walia, and G. S. Dhaliwal. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int.* 4: 63–84.
- Liu, T. T., L. K. P. Chao, K. S. Hong, Y. J. Huang, and T. S. Yang. 2020. Composition and insecticidal activity of essential oil of *Bacopa caroliniana* and interactive effects of individual compounds on the activity. *Insects* 11: 23.
- Mahanta, S., R. Sarma, and B. Khanikor. 2019. The Essential oil of *Lippia alba* mill (lamiales:verbenaceae) as mosquitocidal and repellent agent against *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* Linn (Diptera: Culicidae). *J. Basic Appl. Zool.* 80: 1–17.
- Mayer, S. V., R. B. Tesh, and N. Vasilakis. 2017. The emergence of arthropod-borne viral diseases: a global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. *Acta Trop.* 166: 155–163. doi:10.1016/j.actatropica.2016.11.020
- Ministère de la Santé. 2017. Flambée de cas de dengue au Burkina Faso. *Sitrep Dengue* 11.
- Muturi, E. J., J. L. Ramirez, K. M. Doll, and M. J. Bowman. 2017. Combined toxicity of three essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *J. Med. Entomol.* 54: 1684–1691.
- N'Guessan, R. N., V. Corbel, M. Akogbéto, and M. Rowland. 2007. Reduced efficacy of insecticide-treated nets and indoor residual spraying for malaria control in pyrethroid resistance area, Benin. *Emerg. Infect. Dis.* 13: 199–206.
- Namoutougou, M., D. D. Soma, M. Balboné, D. A. Kabore, M. Kientega, A. Hien, A. Coulibaly, P. E. Ouattara, B. G. Meda, S. Drabo, et al. 2020. Monitoring insecticide susceptibility in *Aedes aegypti* populations from the two biggest cities, Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, in Burkina Faso: implication of metabolic resistance. *Tropical Med. Infectious Dis.* 5: 84.
- Ntonga, A., J. Dongmo, and M. P. Nkouandou. 2017. Toxicity evaluation of essential oils from *Callistemon citrinus*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Psidium guajava* leaves on adult of *Anopheles coluzzii* Coetzee and Wilkerson 2013. The Urban Malaria Vector Species in Cameroon. *Cameroon J Biol Biochem Sci.* 25:12–21.
- Ouattara, L. P. E., I. Sangare, M. Namountougou, A. Hien, A. Ouari, D. D. Soma, D. Kassie, A. Diabate, O. Gnankine, E. Bonnet, et al. 2019. Surveys of arboviruses vectors in four cities stretching along a railway transect of Burkina Faso: risk transmission and insecticide susceptibility status of potential vectors. *Front. Vet. Sci.* 6: 140.
- Pavela, R. 2014. Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lep., Noctuidae) larvae. *Ind. Crops Prod.* 60: 247–258.
- Pavela, R. 2015. Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* say larvae. *Parasitol. Res.* 114: 3835–3853.
- Regnault-Roger, C., C. Vincent, and J. T. Arnason. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *J. Chem. Soc.* 57: 405–424.
- Sarma, R., K. Adhikari, S. Mahanta, and B. Khanikor. 2019. Combinations of plant essential oil based terpene compounds as larvicidal and adulticidal agent against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Sci. Rep.* 9: 1–13.
- Scholz, Z., J. Molnar, and J. Hohmann. 2006. Antimicrobial and antiplasmodial activities of essential oils. *Fitoterapia* 77: 279–285.
- Sessions, O. M., K. Khan, Y. Hou, E. Meltzer, M. Quam, E. Schwartz, D. J. Gubler, and A. Wilder-Smith. 2013. Exploring the origin and potential for spread of the 2013 dengue outbreak in Luanda, Angola. *Glob. Health Action* 6: 20100.
- Sombié, A., E. Saiki, F. Yaméogo, T. Sakurai, T. Shirozu, S. Fukumoto, A. Sanon, D. Weetman, P. J. McCall, and H. Kanuka. et al. 2019. High frequencies of f1534c and v1016i kdr mutations and association with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Somgandé (Ouagadougou), Burkina Faso. *Trop. Med. Health* 47: 2.
- Souza-neto, J. A., J. R. Powell, and M. Bonizzoni. 2019. Infection, genetics and evolution *Aedes aegypti* vector competence studies: a review. *Infect. Genet. Evol.* 67: 191–209.
- Tripathi, A. K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan, and P. R. Bhattacharya. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacogn. Phytother.* 1: 52–63.
- Wangrawa, D. W., E. Ochomo, F. Upshur, N. Zanré, D. Borovskiy, C. Lahondere, C. Vinauger, A. Badolo, and A. Sanon. 2022. Biocatalysis and agricultural biotechnology antagonistic insecticidal properties against *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 42: 102347.
- WHO. 2012. *Global plan for insect management*. p. 130. Switzerland; World Health Organization, Geneva.
- WHO. 2017. *Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme*, 2nd ed. Switzerland; World Health Organization, Geneva.
- WHO. 2020. *World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*. Switzerland; World Health Organization, Geneva. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332070>.
- WHO. 2021. *Dengue and severe dengue*. Switzerland; World Health Organization, Geneva. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (accessed 26 March 2022).
- Yaméogo, F., D. W. Wangrawa, A. Sombié, A. Sanon, and A. Badolo. 2021. Insecticidal activity of essential oils from six aromatic plants against *Aedes aegypti*, dengue vector from two localities of Ouagadougou, Burkina Faso. *Arthropod Plant Interact.* 15: 627–634.
- Zoubiri, S., and A. Baaliouamer. 2014. Potentiality of plants as source of insecticide principles. *J. Saudi Chem. Soc.* 18: 925–938.



OPEN Essential oils of plants and their combinations as an alternative adulticides against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) populations

Mahamoudou Balboné¹, Ignace Sawadogo², Dieudonné Diloma Soma³, Samuel Fogné Drabo¹, Moussa Namountougou^{3,4}, Koama Bayili³, Rahim Romba¹, Georges Benson Meda³, Honorat Charles Roger Nebié², Roch K. Dabire³, Imaël H. N. Bassolé¹ & Olivier Gnankine^{1✉}

The persistence of malaria and the increasing of resistance of *Anopheles gambiae* species to chemicals remain major public health concerns in sub-Saharan Africa. Faced to these concerns, the search for alternative vector control strategies as use of essential oils (EOs) need to be implemented. Here, the five EOs from *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora*, *Ocimum americanum* obtained by hydro distillation were tested according to World Health Organization procedures on *An. gambiae* "Kisumu" and field strains collected in "Vallée du Kou". Also, the binary combinations of *C. nardus* (Cn) and *O. americanum* (Oa) were examined. As results, among the EOs tested, *L. multiflora* was the most efficient on both *An. gambiae* strains regarding KDT₅₀ (50% of mosquitoes knock down time) and KDT₉₅ and rate of mortality values. Our current study showed that C8 (Cn 80%: Oa 20%) and C9 (Cn 90%: Oa 10%), were the most toxic to *An. gambiae* strain "Vallée de Kou" (VK) with the mortality rates reaching 80.7 and 100% at 1% concentration, respectively. These two binary combinations shown a synergistic effect on the susceptible population. However, only C9 gave a synergistic effect on VK population. The bioactivity of the two EOs, *C. nardus* and *O. americanum*, was improved by the combinations at certain proportions. The resistance ratios of all EOs and of the combinations were low (<5). The combinations of *C. nardus* and *O. americanum* EOs at 90:10 ratio and to a lesser extent *L. multiflora* EO, could be used as alternative bio-insecticides against malaria vectors resistant to pyrethroids in vector control programmes.

Malaria remains one of the world's deadliest diseases. It is a life-threatening disease caused by parasites that are transmitted to people through the bites of infected female *Anopheles* mosquitoes. Each year, 154 to 289 million persons are infected with 490–836 thousand deaths recorded mostly in children under 5. About 90% of this burden is recorded in Africa¹. In Burkina Faso, malaria is a major health issue and accounts for 43% of medical consultations and 22% of deaths were recorded. This country is among the 10 most affected (3% of cases and 4% of deaths worldwide)² by malaria disease.

Until now, long-lasting insecticidal nets (LLINs) and indoor residual spraying (IRS) remain the two main tools commonly used in controlling adults of *Anopheles gambiae*, the vector of malaria³. Pyrethroids are only products used for LLINs⁴. However, pyrethroid resistance is a threat to the efficiency of these protective tools, especially when resistance is occurred at high levels^{5,6}. In Burkina Faso, pyrethroid resistance has been observed throughout the country for several years and still a concern because the use of pyrethroid-based LLINs does not provide the expected levels of individual and community protection⁷.

¹Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021, Ouagadougou, Burkina Faso. ²Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, 03 BP 7047, Ouagadougou, Burkina Faso. ³Institut de Recherche en Sciences de la Santé/Centre Muraz, BP 545, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. ⁴Université Nazi Boni, 01 BP 1091, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. ✉email: olignankine@gmail.com; olivier.gnankine@ujkz.bf

| Codes essential oils | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 | C9 |
|----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Cn (%): | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 |
| Oa (%): | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 |

Table 1. Combination codes with proportions of the two essential oils. Cn, *C. nardus*; Oa, *O. americanum*; %, percentage.

To improve the effectiveness of vector control tools, the World Health Organization (WHO) has developed a global plan for the management of insecticide resistance (GPIRM)⁸. Key elements of this plan include: (1) insecticide rotation; (2) mixtures of at least two different insecticides; (3) alternate use of at least two insecticides of different classes; and, (4) mosaic use of insecticides. Today, a limiting factor in the development of these strategies were the absence of alternative classes of insecticides for LLINs. However, in recent years, several studies have shown that the use of piperonyl butoxide (PBO) as a synergist restores susceptibility to deltamethrin or permethrin in several regions of the country^{9,10}.

To manage the resistance of insects generally and mosquitoes specifically to chemical insecticides, many research programmes have focused on natural products derived from plants as an alternative to conventional insecticides used in vector control for which resistance has been detected¹¹. Among the many natural products, essential oils (EOs) and their constituents have received considerable attention in the search for new pesticides and have been found to possess insecticidal properties¹².

EOs from plants are secondary metabolites comprising different bioactive compounds and have gained importance in terms of alternative to chemicals. They are biodegradable, environmentally safe and easy to use and compose of a mixture of different bioactive compounds which offer less chance for emerging resistance¹³.

Previous studies have identified more than 3000 compounds from 17,500 aromatic plants¹⁴. Most of them have been tested for their insecticidal properties and have been reported to have insecticidal effects^{15,16}. Other studies have shown equal or higher toxicity of the major compounds compared to its whole EO¹⁷. Some studies have also attempted to formulate efficient insecticides by combining different plants with chemical insecticides to increase the overall toxicity and minimize the secondary effects¹⁸. Other studies have shown insecticidal properties of EOs of *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora*, and *Ocimum americanum*¹⁹. These studies focused on *Aedes aegypti* populations in the city of Ouagadougou, Central Burkina Faso. Although recent studies have shown that combinations of EO of *L. multiflora* and *Cymbopogon schoenanthus* gave synergistic effects against mosquitoes from the *An. gambiae* populations Kisumu strain²⁰, little is known about the effect of EOs mixture on resistant *An. gambiae* populations.

The objective of the current study aimed at examining the adulticidal activities of EOs of five aromatic plants of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* and *Ocimum americanum*, on susceptible and resistant *An. gambiae* populations collected in “Vallée du Kou” (Bama), Western Burkina Faso. They were chosen firstly due to endogenous data provided from informants questioned in areas investigated as well as the data from the literature. This current study, also evaluate the toxicity level of binary combinations of EOs of *C. nardus* and *O. americanum*, on the two *An. gambiae* populations.

Materials and methods

Sampling of larvae and rearing. Larvae and pupae of the resistant strain of *Anopheles gambiae* “VK” were collected from June to October 2021, in the “Vallée du Kou” (Bama). The frequency of the *kdr L1014 F* mutation in this strain was closed to fixation ($F = 0.99$). The “Vallée du Kou” (VK) is a district of the Bama department (11° 23' 59" N, 4° 25' 46" W) in the province of Houet, the economic capital of Burkina Faso. The larvae were brought and reared in the insectarium of the “Institut de Recherches en Sciences de la Santé/Direction Régionale de l’Ouest” (IRSS/DRO) located in Bobo-Dioulasso. The larvae were fed with tetraMin (Tetrawerke, Melle, Germany). Adult mosquitoes emerging from the pupae of the collected strain were placed in cages and fed with 10% sugar solution. Female mosquitoes of the resistant strain were used for susceptibility tests. It is the same for the susceptible strain of *An. gambiae* “Kisumu” maintained at the insectary, and used as a reference strain in this current study.

Mosquitoes were reared at a temperature of 27 ± 2 °C, a relative humidity of $70 \pm 5\%$, 12 h of light and 12 h of darkness.

Essential oils extraction. The essential oils were obtained from the leaves of five aromatic plant species, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Cymbopogon nardus* (Linn.) Rendle, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Lippia multiflora* Moldenke, and *Ocimum americanum* (Willd.) A.J. Paton. The collection of these plants was done at botanical garden located in “Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies” (IRSAT). They were extracted at the IRSAT by hydrodistillation (HD) using a *clevenger*-type apparatus and stored in a dark glass bottle at 4 °C prior to use. The EO extraction process has been described following the protocol described by Drabo *et al.*²¹. The combinations of two EOs were made, after having done the bioassay tests with the whole EOs. Table 1 shows all combinations and concentrations tested.

Analysis by gas chromatography/ flame ionization detector (GC/FID). Gas chromatography/ flame ionization detector (GC-FID) analysis of essential oils of *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* and *O. americanum* obtained from their leaves was performed on an Agilent 6890 N GC instrument equipped

with a FID, with a narrow bore DB-5 column (length 10 m, inner diameter 0.1 mm, film thickness 0.17 mm; Agilent, Palo Alto, CA) according to protocol previously used by Drabo *et al.*²¹. The oven temperature was programmed from 60 °C to 165 °C at 8 °C/min and from 165 °C to 280 °C at 20 °C/min, with 1 min of post-operation at 280 °C. Diluted samples (1/100 in sample) were subjected to an ionization test. Diluted samples (1/100 in acetone) of 1.0 µl were injected manually and without fractionation. The percentage peak area was calculated on the basis of the FID signal using the GC HP-Chemstation software (Agilent Technologies).

Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis. GC/MS analysis was performed on a GC HP 6890 coupled to MSD HP 5972 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA), and was equipped with a ZB-5MS Zebron capillary column (length 30 m, ID 0.25 mm, film thickness 0.25 mm; Agilent). The carrier gas used was helium and the oven temperature were maintained at 45 °C for 2 min and then increased from 45 °C to 165 °C (4 °C/min) and then from 165 °C to 280 °C (15 °C/min).

Bioassays on adult mosquitoes. Susceptibility tests were carried out using WHO insecticide susceptibility test-kits and standard procedures³. Impregnation of Whatman n°1 papers were done according to the protocol adopted by N'Guessan *et al.*²² and WHO²³ standard procedure. Four rectangular papers (size 12 cm × 15 cm) were impregnated with 2 ml of a given concentration of an essential oil/combination of EOs diluted in acetone at varying proportions. Three concentrations (0.1%, 0.5% and 1%), prepared using serial dilutions (v/v) of EOs in acetone, were used for each EO or combination of *Cymbopogon nardus* (Cn) and *Ocimum americanum* (Oa).

For combination of EOs and for each concentration (0.1; 0.5 and 1%), 9 binary combinations were done (Table 1).

Control papers were impregnated with 2 ml of acetone only. Tests were carried out at 25 °C (± 2 °C) and 70–80% relative humidity (RH). The number of mosquitoes knocked down was recorded every 5 min. Permethrin 0.75% was used as positive control insecticide. After the exposure time, mosquitoes were transferred to holding tubes and were fed with 10% sugar juice for 24 h. Subsequently, the mortality was recorded. The susceptible strain *Anopheles gambiae* "Kisumu" was used as reference to determine the diagnostic concentrations.

Data analysis. The data obtained from the bioassays performed were analyzed using XLSTAT statistical software version 2015.1.01. The knock-down time (KDT₅₀ and KDT₉₅), lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₉) and 95% confidence limits (95% CL) were calculated by probity analysis using the same statistical software in order to compare the toxicity of the plant EOs against the tested mosquito adults. The KDT₅₀, KDT₉₅, CL₅₀, CL₉₉ values and mortalities were considered significantly different between the EOs ($p < 0.05$) if the 95% CL (Confident Limits) did not overlap. In all tests, no control mortality was detected after the 24-h exposure; therefore, no correction was required based on Abbot's formula²⁴.

According to WHO²³ criteria, mosquitoes populations were "resistant" if less than 90% mortality was observed, "suspected resistant" if mortality rates were between 90 and 98% and "susceptible" for more than 98% mortality rate.

Interactions between the combinations performed were determined using the Fractional Inhibitory Concentration indices or FIC indices. These indices were calculated in the following way: $FIC = FIC_A + FIC_B$ and $FIC_A = MIC_{AB}/MIC_A$ and $FIC_B = MIC_{AB}/MIC_B$ where FIC_A and FIC_B are the minimum inhibitory concentrations that kill 50% of adult mosquitoes for EO A and B respectively.

Thus, we have (1) FIC_A : Fractional Concentration of A; (2) FIC_B : Fractional Concentration of B; (3) MIC_{AB} : Minimum Inhibitory Concentration of A or B in the combination; (4) $MICA$: Minimum Inhibitory Concentration of A; (5) MIC_B : Minimum Inhibitory Concentration of B.

The results were interpreted as follows: (1) Synergy: $FIC < 0.5$; (2) additive: $0.5 \leq FIC \leq 1$; (3) indifferent: $1 \leq FIC \leq 4$; or (4) antagonism: $FIC > 4$ ^{25,26}.

The diagnostic concentration was obtained from twice the LC₉₉ on susceptible strain³. The resistance ratio (RR) between the VK and Kisumu strains was calculated by dividing the LC₅₀ of the VK strain by the LC₅₀ of the Kisumu strain. According to WHO²⁷, $RR < 5$ indicates low resistance, $RR 5-10$ denotes moderate resistance, and $RR > 10$ indicates high resistance.

Statement on research involving plant species. The collection of targeted plants was done at botanical garden located in "the Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT)", in Ouagadougou, Burkina Faso and comply with institutional, national and international guidelines and legislation.

Before extracting essential oils, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Lippia multiflora*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ocimum americanum* plants were identified by Cyrille SINARE and specimen were deposited in herbarium of "laboratoire de Biologie et Ecologie végétale" of Joseph KI-ZERBO University, Ouagadougou, Burkina Faso as under ID number: :17949; 17950; 17951; 17971; 17988 respectively.

Results

Chemical composition of the essential oils. The main compounds of the 5 essential oils are summarized in Table 2. The EO of *C. citratus*, consisting only of oxygenated monoterpenes (99.9%) which were neral (44.7%) and geraniol (55.2%). The EO of *C. nardus* consisted of six compounds mostly oxygenated monoterpenes (77.9%), characterized by citronellal (41.7%), geraniol (20.8%) and β -elemene (11%). As for EO of *E. camaldulensis*, it consisted of sixteen compounds mainly hydrocarbon monoterpenes, rich in 1,8-cineole (59.5%). The EO of *L. multiflora* consisted of sixteen compounds dominated by monoterpenes (69.51%), characterized by β -Caryophyllene (20.1%), p-cymene (14.6%), thymol acetate (12.0%) and 1.8 cineol (11.6%) whereas that of *O.*

| Essential oils | Major compounds | Retention indices | Mono Hydro (%) | Mono Oxy (%) | Sesqui Hydro (%) | Sesqui Oxy (%) |
|-------------------------|------------------------|-------------------|----------------|--------------|------------------|----------------|
| <i>C. citratus</i> | Geraniol | 1268 | – | 55.2 | – | – |
| | Neral | 1242 | – | 44.7 | – | – |
| | Total other compounds | | – | – | – | – |
| <i>C. nardus</i> | Citronellal | 1158 | – | 41.7 | – | – |
| | Geraniol | 1253 | – | 20.8 | – | – |
| | β -Elemene | 1372 | – | – | 11 | – |
| | Total other compounds | | – | 15.4 | 3.7 | – |
| <i>E. camaldulensis</i> | 1,8 cineol | 1034 | – | 59.55 | – | – |
| | Total other compounds | | 24.89 | 7.41 | 1.4 | 0.34 |
| <i>L. multiflora</i> | β -caryophyllene | 1415 | – | – | 20.1 | – |
| | p-cymene | 1027 | 14.6 | – | – | – |
| | Thymul acetate | 1355 | – | 12 | – | – |
| | 1,8 cineol | 1034 | – | 11.6 | – | – |
| | Total other compounds | | 18.41 | 12.9 | 5.7 | 4.5 |
| <i>O. americanum</i> | 1,8 cineol | 1034 | – | 31.22 | – | – |
| | Camphor | 1151 | – | 12.73 | – | – |
| | Total other compounds | | 29.59 | 43.95 | 13.03 | 0.99 |

Table 2. Major compounds of the 5 essential oils tested on adults of *Anopheles gambiae*. Mono : monoterpenes ; Sesqui : sesquiterpenes, Hydro : Hydrocarbon and oxy : Oxygenated.

americanum consisted of twenty-six (26) compounds characterized by a high percentage of 1,8-cineole (31.22%) followed by camphor (12.73%).

Knock-down times (KDT) and adulticidal effects of EOs and combinations. *Lippia multiflora* EO alone exhibited high toxicity with LC_{50} values of 0.21 and 0.67%, LC_{99} values of 0.74 and 1.17%, respectively (Table 3) and also with a rate of mortality of 100 and 96.88% at concentration (1%) on the susceptible Kisumu strain and the field strain VK, respectively (Table 4). This EO exhibited the lowest KDT_{50} and KDT_{95} values on both *An. gambiae* strains tested (19.8 and 87.2 min on Kisumu, 58.8 and 142.7 min on VK, respectively) (Table 4).

E. camaldulensis EO was the least toxic with rate of mortality above 10% at concentration (1%) on the susceptible Kisumu strain (Table 4), KDT_{50} values of 144.8 min on the Kisumu strain, 166.1 min on the VK strain and LC_{50} of 2.86 and 2.94%, LC_{99} of 5.05 and 5.26% on Kisumu and VK strains, respectively. Moreover, EOs of *C. nardus* (LC_{50} of 0.63 and 1.12% on Kisumu and VK, respectively) and *O. americanum* (LC_{50} of 2.18 and 2.21% on Kisumu and VK, respectively) were more toxic than *C. citratus* (LC_{50} of 2.3 and 2.7% on Kisumu and VK, respectively) (Table 3). For the susceptible strain Kisumu, no difference was observed between EOs of *C. citratus*, *E. camaldulensis* and *O. americanum* regarding the LC_{50} and LC_{99} . However, for the field strain VK, the confidence limits at 95% for the LC_{50} and LC_{99} do not overlap for all OEs tested (Table 3).

Regarding the combinations on both *An. gambiae* strains (Kisumu and VK), the C9 combination exhibited high toxicity on all strains. Indeed, this combination shown a rate of mortality reaching 100% at concentration (1%) on both strains (Table 5). Conversely, with Permethrin, the rate of mortality reached 62.5% confirming the presence of phenotypic resistance on VK populations. In addition, C9 was the only combination that produced a synergistic effect on both strains (Tables 6 and 7). Also, this combination exhibited the lowest KDT values (Table 5) and the lowest LC_{50} and LC_{99} values on both strains (0.22 and 0.52% with Kisumu, 0.32 and 0.59% with VK) (Tables 5).

Moreover, the combinations C6 and C8 exhibited high toxicity with rates of mortality above 98% at concentration (1%) on the Kisumu strain while on VK strain, the toxicity of these two combinations was 45.21 and 80.7% at concentration (1%). With these two combinations, the KDT values were slightly low on both strains (on strain VK: KDT_{95} = 20.7 min 12.2 min at the 1% concentration for C6 and C8, respectively) and, the LC_{50} and LC_{99} were low on both strains (LC_{50} = 1.08 and 0.89%, LC_{99} = 1.3 and 2.15%, respectively).

On the Kisumu strain, C8 produced a synergistic effect while C6 shown an additive effect (Table 6). The lowest diagnostic concentrations of 1.04%, 1.16% and 1.48% were obtained with C9 and C8 and *L. multiflora* EO, respectively (Table 3).

The LC_{50} obtained with the C8 combinations on VK strain showed no difference with those obtained with *C. nardus* EO with no overlapping confidence intervals. As well, the LC_{50} obtained with C3, C4, C5 and C7 showed no difference with those obtained with *O. americanum* EO on VK strain (Table 3). The resistance ratios obtained with all EOs as well as those of all combinations were below 5 (Table 3).

| EOs/ Combinations | <i>Anopheles gambiae</i> "Kisumu" | | <i>Anopheles gambiae</i> "VK" | | Diagnostic concentration (%) | Resistance ratios (RR) | |
|-------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------|------------------|
| | LC ₅₀ (%) (CL95) | LC ₉₉ (%) (CL95) | LC ₅₀ (%) (CL95) | LC ₉₉ (%) (CL95) | | RR ₅₀ | RR ₉₉ |
| <i>C. citratus</i> | 2.3 | 4.7 | 2.7 | 4.84 | | | |
| | (1.9–2.7) | (4.4–6) | – | – | 9.4 | 1.17 | 0.97 |
| <i>C. nardus</i> | 0.63 | 1.66 | 1.12 | 2.16 | | | |
| | (0.6–0.7) | (1.4–2) | (1–1.3) | (1.8–2.7) | 3.32 | 1.78 | 0.77 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 2.86 | 5.26 | 2.94 | 5.05 | | | |
| | (1.6–9.3) | (4.1–5.5) | – | – | 10.1 | 1.028 | 1.04 |
| <i>L. multiflora</i> | 0.21 | 0.74 | 0.67 | 1.17 | | | |
| | 0.16–0.3 | (0.6–0.9) | (0.6–0.7) | (1.1–1.3) | 1.48 | 3.19 | 0.63 |
| <i>O. americanum</i> | 2.18 | 4.13 | 2.21 | 4.59 | | | |
| | (1.5–3) | (2.6–5.5) | (1.5–3.5) | (2.9–5.8) | 9.18 | 1.01 | 0.9 |
| C1 (Cn 10%: Oa 90%) | 1.37 | 2.95 | 2.9 | 6.4 | | | |
| | (1.1–1.8) | (2.3–3.4) | – | – | 5.9 | 2.12 | 0.46 |
| C2 (Cn 20%: Oa 80%) | 0.76 | 1.69 | 1.18 | 2.45 | | | |
| | (0.7–0.8) | (1.5–2) | (1.0–1.4) | (2–3.3) | 3.38 | 1.55 | 0.69 |
| C3 (Cn 30%: Oa 70%) | 0.61 | 1.31 | 2.07 | 5 | | | |
| | (0.5–0.7) | (1.2–1.5) | (1.5–5) | (4.2–5.9) | 2.62 | 3.39 | 0.26 |
| C4 (Cn 40%: Oa 60%) | 0.46 | 1.19 | 1.25 | 2.48 | | | |
| | (0.4–0.5) | (1–1.4) | (1.2–1.5) | (2–3.4) | 2.38 | 2.72 | 0.48 |
| C5 (Cn 50%: Oa 50%) | 0.57 | 1.16 | 1.36 | 3.26 | | | |
| | (0.5–0.6) | (1–1.3) | (1.1–2) | (2.4–5.5) | 2.32 | 2.38 | 0.35 |
| C6 (Cn 60%: Oa 40%) | 0.28 | 1 | 1.08 | 2.15 | | | |
| | (0.2–0.3) | (0.9–1.2) | – | – | 2 | 3.86 | 0.46 |
| C7 (Cn 70%: Oa 30%) | 1.93 | 4.3 | 2.44 | 5.07 | | | |
| | (1.4–4) | (3–4.7) | (1.6–3.2) | (3.1–5.6) | 8.6 | 1.26 | 0.85 |
| C8 (Cn 80%: Oa 20%) | 0.23 | 0.58 | 0.89 | 1.3 | | | |
| | (0.2–0.3) | (0.5–0.7) | (0.8–1) | (1.28–3) | 1.16 | 3.87 | 0.45 |
| C9 (Cn 90%: Oa 10%) | 0.22 | 0.52 | 0.32 | 0.59 | | | |
| | (0.2–0.3) | (0.4–0.6) | (0.3–0.4) | (0.5–0.7) | 1.04 | 1.17 | 0.97 |

Table 3. LC₅₀, LC₉₉, diagnostic concentration and resistance ratios for all essential oils and combinations of *C. nardus* and *O. americanum* tested on *Anopheles gambiae* populations. LC₅₀: lethal concentration for 50% mortality; CL₉₅: Confidence limit at 95%; Cn : *Cymbopogon nardus*; Oa : *Ocimum americanum*; % : percentage; RR₅₀ : Resistance ratios with LC₅₀; VK : Vallée du Kou.

Discussion

Up to now, the management of insecticide resistance remains a major challenge to achieving effective malaria elimination⁴. Indeed, pyrethroid resistance has been reported in 27 sub-Saharan African countries, raising the urgency of finding alternatives to these insecticides^{28,29}. Searching for alternatives to chemical insecticides based on plant extracts may constitute new avenues for controlling malaria mosquito vectors populations.

Here, we evaluate the toxicity level of *C. citratus*, *C. nardus*, *E. camaldulensis*, *L. multiflora* and *O. americanum* EOs. Also, the binary combinations of *C. nardus* and *O. americanum* EOs were examined in terms of toxicity.

Overall, almost all the EOs tested have shown an adulticidal effect on the susceptible (Kisumu) and on the resistant (VK) strain of *An. gambiae*. This insecticidal effect, which is highlighted through knock-down effects, lethal concentrations (LC) and rates of mortality (%) of the adult mosquitoes tested, varied significantly according to the concentrations and kind of EOs used. Our study confirmed the presence of resistance to permethrin in *Anopheles* populations that raise the question of its use in vector control strategies.

Among the EO tested, that of *L. multiflora* remains the most toxic on the two strains of *An. gambiae* tested followed by *C. nardus*. The least toxic EO was *E. camaldulensis*. Interestingly, *L. multiflora* may constitute an alternative regarding the rate of mortality reaching 96.88% in comparison with that found with permethrin. The toxicity of EO of *L. multiflora* in the current study was significantly better than that of *Lantana camara*, *Hyptis spicigera*, *Hyptis suaveolens* EOs evaluated on *An. gambiae* strains from Kisumu and fields by Wangrawa et al.³⁰.

The difference observed in toxicity between the EOs tested in our investigations could be explained by their chemical composition. Indeed, several previous studies had shown that the bioactivity of an EO is attributed to the major compounds as they may constitute the most important part of the total compounds of the EO^{15,31,32}. Hence, the toxicity of *L. multiflora* could be explained by its major compounds which are β caryophyllene, p-cymen, thymol acetate and 1.8 cineol. According to previous studies done by Bassolé et al.³³, the toxicity of *L. multiflora* EO on *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti* larvae was due to the presence of three major components: thymol, p-cymene and thymol acetate. *Hyptis suaveolens* EO containing also β-caryophyllene and 1.8 cineol³⁴ has a high insecticidal activity³⁵. Thus, the high insecticidal activity of *L. multiflora* EO was attributed to

| Essential oils | Concentrations (%) | Anopheles gambiae « VK » | | | Anopheles gambiae « VK » | | |
|-------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|---------------|--------------------------|-------------------------|---------------|
| | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | Mortality (%) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | Mortality (%) |
| <i>C. citratus</i> | 0.1 | 103.24 | 204.66 | 11.05 | 140.2 | 318.7 | 2.15 |
| | 0.5 | 77.10 | 155.86 | 17.35 | 124.9 | 275.8 | 3.33 |
| | 1 | 60.19 | 132.39 | 35.29 | 116.5 | 233.6 | 4.76 |
| <i>C. nardus</i> | 0.1 | 88.37 | 196.99 | 18.48 | 148.6 | 241.8 | 2.15 |
| | 0.5 | 33.3 | 108.9 | 26.09 | 90.2 | 149.5 | 15.21 |
| | 1 | 5.8 | 11.5 | 86.36 | 12.4 | 70.7 | 40.63 |
| <i>E. camaldulensis</i> | 0.1 | 192.2 | 289.7 | 1.05 | 227.3 | 309.7 | 0 |
| | 0.5 | 157.1 | 275.1 | 6.45 | 189.9 | 286.7 | 1.12 |
| | 1 | 144.8 | 266.5 | 9.78 | 166.1 | 280 | 3.16 |
| <i>L. multiflora</i> | 0.1 | 19.8 | 58.8 | 30.30 | 87.2 | 142.7 | 13.16 |
| | 0.5 | 10.5 | 19 | 90 | 32 | 57.7 | 63.56 |
| | 1 | -28.3 | -8.2 | 100 | -5.9 | 1.5 | 96.88 |
| <i>O. americanum</i> | 0.1 | 137.5 | 225.6 | 1.10 | 156.4 | 267.5 | 0 |
| | 0.5 | 87.06 | 146.64 | 6.73 | 144.7 | 248.9 | 2.2 |
| | 1 | 30.04 | 60.76 | 41.49 | 116.3 | 204.6 | 6.38 |
| Permethrin | 0.75 | 16.3 | 30 | 100 | 41.2 | 90.4 | 62.5 |

Table 4. KDT₅₀, KDT₉₅ and rates of mortality of essential oils tested on the susceptibility (Kisumu) and field (VK) strains of *Anopheles gambiae*. KDT₅₀: 50% of mosquitoes knock down time; KDT₉₅: 95% of mosquitoes knock down time; VK : Vallée du Kou; %: percentage; min : minutes.

β -caryophyllene and 1.8 cineol which are major compounds, in the current study. The low insecticidal activity of *E. camaldulensis* EO could be explained probably by the absence of β -caryophyllene. Here, *C. nardus* EO do show intermediate adulticidal effect on *An. gambiae* populations tested unlike that found by Zulfikar³⁶. According to these authors, the highest bioactivity from *C. nardus* was due to the presence of geraniol, the same compound found also in *C. nardus* tested in our current study. In fact, no effect was detected with *C. nardus*. The EOs which were less efficient as adulticides in the current study could be efficient as repellents. Indeed, previous studies shown the repellent effect of these EO on mosquitoes^{37–39}. The KDT values of these EO mainly at the concentration of 1% could explain this repellent property highlighted by irritant activity.

In addition to their adulticide activity, *L. multiflora* exhibits also toxic effect on larval populations of *An. gambiae* from the same locality⁴⁰.

Overall, *C. nardus* and *O. americanum* EOs provide intermediate rate of mortality. Do their combinations may improve the bioefficiency against *An. gambiae* populations? For this purpose, combinations from C1 to C9 were made, each concentration combining a certain proportion of each EO.

Globally, all combinations of the 2 EOs have improved the overall efficiency of the EOs compared to individual EOs. In the current study, the improvement of the adulticidal potential by the combination of the two EOs depends on their ratio in the combination. Indeed, combinations containing 60%, 80% and 90% of *C. nardus* EO were more effective than *C. nardus* EO tested alone. This is in agreement with the work of Bekele and Hassanali⁴¹; Pavela⁴² who had reported that the biological activity of EOs depends not only on their qualitative composition, but also on the quantitative ratio of their constituents.

Improved efficiency was observed when knock down times were reduced and also synergistic and additive effects were observed for the combinations where the proportions of *C. nardus* EO reach 90%, 80% and 60% and 40%, respectively. This improved toxicity by the combinations of the 2 EOs, could be explained by the combined toxic effect of the major compounds. Previous works have showed that the toxic action of EOs is due to the combined effects of different components, with or without significant individual toxic action against insects^{43,44}. According to Burt⁴⁵, individual EOs contain complex components that, when combined with each other, can lead to indifferent, additive, synergistic or antagonistic effects. In an earlier study, Abbassy et al⁴⁶ reported that, in some cases, the whole EO may have a higher insecticidal activity than its isolated major components. For these authors, the minor compounds were essential for the bioefficiency and could allow a synergistic effect or potential influence.

The combinations showing a synergistic or additive effect would have, both some major compounds of the EOs of *C. nardus* and *O. americanum* coupled with a variety of minor compounds. Previous studies have shown that the bioactivity of the EO is a consequence of interaction between the major components, but also other compounds, eventually oligoelements explaining combined effects, additive action between chemical classes and synergism or antagonism^{33,47,48}. Generally, it seems that the effect of an active compound can be boosted by other major compounds and/or stimulated by minor compounds to give additive or synergistic effects⁴⁹. Therefore, according to Berenbaum and Neal⁵⁰, minor components present in low percentages can act as synergists, enhancing the bio-efficiency of major constituents by various mechanisms.

Interestingly, among different combinations tested, only the C9 combination provided a synergistic effect on the resistant *An. gambiae* population. Earlier studies had shown that some compounds in EOs could interact to create a synergistic or antagonistic effect according to the ratios of the different EOs in the combination^{51,52}.

| Codes | Combination of essential oil | Concentrations (%) | <i>Anopheles gambiae</i> "Kisumu" | | | <i>Anopheles gambiae</i> "VK" | | |
|------------|------------------------------|--------------------|-----------------------------------|-------------------------|---------------|-------------------------------|-------------------------|---------------|
| | | | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | Mortality (%) | KDT ₅₀ (min) | KDT ₉₅ (min) | Mortality (%) |
| C1 | Cn 10% : Oa 90% | 0.1 | 102 | 132.9 | 3.61 | 171.6 | 321.3 | 2.53 |
| | | 0.5 | 9.6 | 22.1 | 18.49 | 33 | 57.3 | 16.17 |
| | | 1 | 4.4 | 13.2 | 29.79 | 27.4 | 50.3 | 19.78 |
| C2 | Cn 20% : Oa 80% | 0.1 | 131.7 | 232.7 | 1.94 | 222 | 310 | 1.15 |
| | | 0.5 | 3.3 | 13.2 | 32.29 | 35 | 73.3 | 13.25 |
| | | 1 | 2.4 | 10.2 | 68.97 | 16 | 25.9 | 26.08 |
| C3 | Cn 30% : Oa 70% | 0.1 | 142.8 | 232.7 | 6.66 | 178.1 | 304 | 6.25 |
| | | 0.5 | 10.8 | 21 | 32.04 | 25 | 38.5 | 13.68 |
| | | 1 | 5.5 | 13.4 | 91.67 | 16 | 16.1 | 20.21 |
| C4 | Cn 40% : Oa 60% | 0.1 | 108.7 | 147.1 | 22.06 | 142.4 | 172.1 | 4.1 |
| | | 0.5 | 7.3 | 16.9 | 78.49 | 20.3 | 47.6 | 17.11 |
| | | 1 | 6.7 | 12.4 | 98.78 | 7.7 | 14.3 | 42.39 |
| C5 | Cn 50% : Oa 50% | 0.1 | 91 | 153.6 | 4.55 | 106.7 | 182.8 | 3.66 |
| | | 0.5 | 11.2 | 18.6 | 28.89 | 23.5 | 78.7 | 19.48 |
| | | 1 | 0.5 | 13.1 | 97.78 | 7.1 | 16.5 | 30.38 |
| C6 | Cn 60% : Oa 40% | 0.1 | 77.4 | 145 | 19.39 | 116.1 | 168.1 | 7.08 |
| | | 0.5 | 15.7 | 37.6 | 91.67 | 48.1 | 64.9 | 22.38 |
| | | 1 | 8.6 | 13.4 | 98.9 | 8.9 | 20.7 | 45.21 |
| C7 | Cn 70% : Oa 30% | 0.1 | 131.9 | 245.3 | 3.49 | 166.1 | 303.3 | 1.19 |
| | | 0.5 | 48.7 | 99.6 | 17.84 | 137.2 | 225 | 15.21 |
| | | 1 | 11.6 | 17.4 | 37.98 | 13.2 | 28.8 | 19.62 |
| C8 | Cn 80% : Oa 20% | 0.1 | 76.4 | 150.6 | 15.12 | 119 | 218.2 | 8.75 |
| | | 0.5 | -25.2 | 28.8 | 95.65 | 24.2 | 52.7 | 27.38 |
| | | 1 | -26.9 | 1.4 | 100 | -2.1 | 12.2 | 80.7 |
| C9 | Cn 90% : Oa 10% | 0.1 | 23.5 | 77 | 13.98 | 53.5 | 126.7 | 12.15 |
| | | 0.5 | -32.3 | 3.7 | 96.7 | -5 | 7.4 | 94 |
| | | 1 | -227.9 | -70.1 | 100 | -227.3 | -69.6 | 100 |
| Permethrin | | 0.75 | 16.3 | 30 | 100 | 41.2 | 90.4 | 62.5 |

Table 5. KDT50, KDT95 and rates of mortality of essential oils combinations of *C. nardus* (C.n) and *O. americanum* (O.a) tested on the susceptibility (Kisumu) and field (VK) strains of *Anopheles gambiae* populations. KDT₅₀: 50% of mosquitoes knock down time; KDT₉₅: 95% of mosquitoes knock down time; VK: Vallée du Kou; % : percentage; min : minutes; Cn : *Cymbopogon nardus*; Oa : *Ocimum americanum*.

| Combinations of essential oils (%) | Codes | LC ₅₀ (%) | FIC _{Cn} | FIC _{Oa} | FIC | Effect |
|------------------------------------|-------|----------------------|-------------------|-------------------|------|-------------|
| Cn 0% : Oa 100% | Oa | 2.18 | - | - | - | - |
| Cn 10% : Oa 90% | C1 | 1.37 | 2.17 | 0.63 | 2.80 | No effect |
| Cn 20% : Oa 80% | C2 | 0.76 | 1.21 | 0.35 | 1.55 | No effect |
| Cn 30% : Oa 70% | C3 | 0.61 | 0.97 | 0.28 | 1.25 | No effect |
| Cn 40% : Oa 60% | C4 | 0.46 | 0.73 | 0.21 | 0.94 | Additive |
| Cn 50% : Oa 50% | C5 | 0.57 | 0.90 | 0.26 | 1.17 | No effect |
| Cn 60% : Oa 40% | C6 | 0.28 | 0.44 | 0.13 | 0.57 | Additive |
| Cn 70% : Oa 30% | C7 | 1.93 | 3.06 | 0.89 | 3.95 | No effect |
| Cn 80% : Oa 20% | C8 | 0.23 | 0.37 | 0.11 | 0.47 | Synergistic |
| Cn 90% : Oa 10% | C9 | 0.22 | 0.35 | 0.10 | 0.45 | Synergistic |
| Cn 100% : Oa 0% | Cn | 0.63 | - | - | - | - |

Table 6. Effects of combinations of essential oils of *Cymbopogon nardus* (Cn) and *Ocimum americanum* (Oa) on adults of *Anopheles gambiae* susceptible strain (Kisumu) and type of interaction (n = 125 adult). LC₅₀: lethal concentration for 50% mortality FIC: FIC_{Cn} + FIC_{Oa}; Synergistic: FIC < 0.5; Additive: 0.5 ≤ FIC ≤ 1; No effect: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagonistic: FIC > 4; Cn: *Cymbopogon nardus*; Oa: *Ocimum americanum*; % : percentage.

| Combinations of essential oils (%) | Codes | LC ₅₀ (%) | FIC _{Cn} | FIC _{Oa} | FIC | Effect |
|------------------------------------|-------|----------------------|-------------------|-------------------|------|-------------|
| Cn 0% : Oa 100% | Oa | 2.21 | – | – | – | – |
| Cn 10% : Oa 90% | C1 | 2.9 | 1.31 | 2.59 | 3.9 | No effect |
| Cn 20% : Oa 80% | C2 | 1.18 | 0.53 | 1.05 | 1.58 | No effect |
| Cn 30% : Oa 70% | C3 | 2.07 | 0.94 | 1.85 | 2.79 | No effect |
| Cn 40% : Oa 60% | C4 | 1.25 | 0.56 | 1.12 | 1.68 | No effect |
| Cn 50% : Oa 50% | C5 | 1.36 | 0.61 | 1.2 | 1.81 | No effect |
| Cn 60% : Oa 40% | C6 | 1.08 | 0.49 | 0.96 | 1.45 | No effect |
| Cn 70% : Oa 30% | C7 | 2.44 | 1.1 | 2.17 | 3.27 | No effect |
| Cn 80% : Oa 20% | C8 | 0.89 | 0.40 | 0.79 | 1.19 | No effect |
| Cn 90% : Oa 10% | C9 | 0.32 | 0.14 | 0.28 | 0.42 | Synergistic |
| Cn 100% : Oa 0% | Cn | 1.12 | – | – | – | – |

Table 7. Effects of combinations of essential oils of *Cymbopogon nardus* (Cn) and *Ocimum americanum* (Oa) on adults of *Anopheles gambiae* field strain of VK and type of interaction (n = 125 adult). LC₅₀: lethal concentration for 50% mortality FI : FIC_{Cn} + FIC_{Oa}; Synergistic: FIC < 0.5; Additive; 0.5 ≤ FIC ≤ 1; No effect: 1 ≤ FIC ≤ 4; Antagonistic: FIC > 4; Cn : *Cymbopogon nardus*; Oa : *Ocimum americanum*; % : percentage.

In addition, the appearance of new compounds in the combination of some EOs that do not exist in individual EOs^{20,53} could explain the synergistic effect of C9 combinations. Further studies will evaluate this combination on a large wild *Anopheles* population to assess the phenotypic data as well as determination of their components. Also, other combinations including *L. multiflora* need to be evaluated on mosquitoes' populations.

Conclusion

The current study confirmed that the essential oils of *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia multiflora* and *Ocimum americanum* have insecticidal properties. *L. multiflora* EO was efficient in comparison with the others tested. Our current study showed that the activity of the two combined EOs, *C. nardus* and *O. americanum*, was improved by the combinations at certain proportions regarding the values of rate of mortality reaching at least 98%.

The EO of *L. multiflora* and combinations of EO of *C. nardus* and *O. americanum* could be valuable alternatives in the malaria vector control.

Data availability

The datasets generated and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request. Requests to access these datasets should be directed to the corresponding author.

Received: 30 April 2022; Accepted: 2 November 2022

Published online: 09 November 2022

References

1. WHO. *Global plan for insecticide management*. (World Health Organisation, Geneva, Switzerland 130, 2012).
2. WHO. *Paludisme: situation mondiale*. vol. 2507. World Health Organisation, Geneva, Switzerland, (2020).
3. WHO. *Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme Seconde édition*. (World Health Organisation, Geneva, Switzerland, 2017).
4. WHO. *Guidelines for Malaria Vector Control*. (World Health Organisation, Geneva, Switzerland, 2019).
5. Churcher, T. S., Lissenden, N., Griffin, J. T., Worrall, E. & Ranson, H. The impact of pyrethroid resistance on the efficacy and effectiveness of bednets for malaria control in Africa. *Elife* **5**, 16090 (2016).
6. Hemingway, J. *et al.* Averting a malaria disaster: Will insecticide resistance derail malaria control? *Lancet* **387**, 1785–1788 (2016).
7. Dabiré, K. R. *et al.* Trends in insecticide resistance in natural populations of malaria vectors in Burkina Faso, West Africa: 10 Years surveys *K. INTECH* **32**, 479–502 (2012).
8. WHO. *WHO Global Malaria Programme: Global Plan for insecticide resistance management*. (World Health Organisation, Geneva, Switzerland, 2012).
9. Toe, K. H. *et al.* Do bednets including piperonyl butoxide offer additional protection against populations of *Anopheles gambiae* s.l. that are highly resistant to pyrethroids? An experimental hut evaluation in Burkina Faso. *Med. Vet. Entomol.* **32**, 407–416 (2018).
10. Hien, A. S. *et al.* Evidence supporting deployment of next generation insecticide treated nets in Burkina Faso: Bioassays with either chlorfenapyr or piperonyl butoxide increase mortality of pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *Malar. J.* **20**, 1–12 (2021).
11. Zoubiri, S. & Baaliouamer, A. Potentiality of plants as source of insecticide principles. *J. Saudi Chem. Soc.* **18**, 925–938 (2014).
12. Tripathi, A. K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M. & Bhattacharya, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacogn. Phytother.* **1**, 52–63 (2009).
13. Isman, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* **19**, 603–608 (2000).
14. Mossa, A. T. H. Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. *J. Environ. Sci. Technol.* **9**, 354–378 (2016).
15. Lucia, A. *et al.* Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **23**, 299–303 (2007).
16. Singh, R., Koul, O. & Rup, P. J. Toxicity of some essential oil constituents and their binary mixtures against *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae). *Int. J. Tropical Insect Sci.* **29**, 93–101 (2009).
17. Sarma, R., Adhikari, K., Mahanta, S. & Khanikar, B. Combinations of plant essential oil based terpene compounds as larvicidal and adulticidal agent against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Sci. Rep.* **9**, 1–13 (2019).

18. Mansour, S. A., Foda, M. S. & Aly, A. R. Mosquitocidal activity of two Bacillus bacterial endotoxins combined with plant oils and conventional insecticides. *Ind. Crops Prod.* **35**, 44–52 (2012).
19. Yaméogo, F., Wengida, D. W., Sombié, A., Sanon, A. & Badolo, A. Insecticidal activity of essential oils from six aromatic plants against *Aedes aegypti*, dengue vector from two localities of Ouagadougou Burkina Faso. *Arthropod. Plant. Interact.* **15**, 627–634 (2021).
20. Wangrawa, D. W. *et al.* Essential oils and their binary combinations have synergistic and antagonistic insecticidal properties against *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae). *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **42**, 102347 (2022).
21. Drabo, S. F., Olivier, G., Bassolé, I. H. N., Nébié, R. C. & Laurence, M. Susceptibility of MED-Q1 and MED-Q3 biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations to essential and seed oils. *J. Econ. Entomol.* **110**, 1031–1038 (2017).
22. N'Guessan, R., Corbel, V., Akogbéto, M. & Rowland, M. Treated nets and indoor residual reduced efficacy of insecticide-pyrethroid resistance area benin. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 199–206 (2007).
23. WHO. *Standard operating procedure for testing insecticide susceptibility of adult mosquitoes in WHO tube tests.* (World Health Organisation, Geneva, Switzerland 2022).
24. Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**, 265–267 (1925).
25. Schelz, Z., Molnar, J. & Hohmann, J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia* **77**, 279–285 (2006).
26. Bassolé, I. H. N. & Juliani, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* **17**, 3989–4006 (2012).
27. WHO. *Test Procedures for Insecticide Resistance Monitoring in Malaria Vector Mosquitoes Second edition.* (World Health Organisation, Geneva, Switzerland 2016).
28. Tchoumboungang, F. *et al.* Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **13**, 77–84 (2009).
29. Ranson, H. & Lissenden, N. Insecticide resistance in African *Anopheles* mosquitoes: A worsening situation that needs urgent action to maintain malaria control. *Trends Parasitol.* **32**, 187–196 (2016).
30. Wangrawa, D. *et al.* Insecticidal activity of local plants essential oils against laboratory and field strains of *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) from Burkina Faso. *J. Econ. Entomol.* **111**, 2844–2853 (2018).
31. Gbolade, A. A. & Lockwood, G. B. Toxicity of *Ocimum sanctum* L. essential oil to *Aedes aegypti* larvae and its chemical composition. *J. Essent. Oil Bearing Plants* **11**, 148–153 (2008).
32. Vani, R. S., Cheng, S. F. & Chuah, C. H. Comparative study of volatile compounds from genus *Ocimum*. *Am. J. Appl. Sci.* **6**, 523–528 (2009).
33. Bassolé, *et al.* Ovicidal and larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oils extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. *Parasitologia* **45**, 23–26 (2003).
34. Peerzada, N. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Molecules* **2**, 165–168 (1997).
35. Ilboudo, Z. *et al.* Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* **46**, 124–128 (2010).
36. Zulfikar, A. & Sitepu, F. Y. The effect of lemongrass (*Cymbopogon nardus*) extract as insecticide against *Aedes aegypti*. *Int. J. Mosq. Res.* **6**, 101–103 (2019).
37. Ojewumi, E. M., Oladipupo, A. A. & Ojewumi, O. E. Oil extract from local leaves an alternative to synthetic mosquito repellants. *Pharmacophore* **9**, 1–6 (2018).
38. Gnankiné, O. & Bassolé, I. H. N. Essential oils as an alternative to pyrethroids resistance against *Anopheles* species complex giles (Diptera: Culicidae). *Molecules* **22**, 1321 (2017).
39. Bossou, A. D. *et al.* Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasit. Vectors* **6**, 337 (2013).
40. Balboné, *et al.* Essential oils from five local plants: An alternative larvicide for *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control in Western Burkina Faso. *Front. Trop. Dis.* **3**, 853405 (2022).
41. Bekele, J. & Hassanali, A. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* **57**, 385–391 (2001).
42. Pavela, R. Acute and synergistic effects of some monoterpenoid essential oil compounds on the house fly (*Musca domestica*). *J. Essent. Oil Bearing Plants* **11**, 451–459 (2008).
43. Tanprasit, P. Biological control of dengue fever mosquitoes (*Aedes aegypti* Linn.) using leaf extracts of Chan (*Hyptis suaveolens* (L.) poit.) and hedge flower *Lantana camara* Linn.). (2005).
44. Park, H. M. *et al.* Larvicidal activity of myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna*, and aqueous residue. *J. Med. Entomol.* **48**, 405–410 (2011).
45. Burt, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223–253 (2004).
46. Abbassy, M. A., Abdelgaleil, S. A. M. & Rabie, R. Y. A. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. *Entomol. Exp. Appl.* **131**, 225–232 (2009).
47. Chiasson, H., Bélanger, A., Bostanian, N., Vincent, C. & Poliquin, A. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *J. Econ. Entomol.* **94**, 167–171 (2001).
48. Luz, T. R. S. A., deMesquita, L. S. S., Amaral, F. M. M. & Coutinho, D. F. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae. *Acta Trop.* **212**, 105705 (2020).
49. Deletre, E., Mallent, M., Menuet, C., Chandre, F. & Martin, T. Behavioral response of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to 20 plant extracts. *J. Econ. Entomol.* **108**, 1890–1901 (2015).
50. Berenbaum, M. A. Y. & Neal, J. J. Synergism between myristicin and xanthotoxin, a naturally cooccurring plant toxicant. *J. Chem. Ecol.* **11**, 1349–1358 (1985).
51. Intrach, J. *et al.* Chemical constituents and combined larvicidal effects of selected essential oils against *Anopheles cracens* (Diptera: Culicidae). *Psyche (London)* <https://doi.org/10.1155/2012/591616> (2012).
52. Pavela, R. Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the Spodoptera littoralis Boisd. (Lep., Noctuidae) larvae. *Ind. Crops Prod.* **60**, 247–258 (2014).
53. Muturi, E. J., Ramirez, J. L., Doll, K. M. & Bowman, M. J. Combined toxicity of three essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *J. Med. Entomol.* **54**, 1684–1691 (2017).

Acknowledgements

We are indebted to “Institut de recherche en Sciences Appliquées et technologiques” (IRSAT) for providing us with essential oils. Mahamoudou Balboné is the recipient of a PhD studentship of University Joseph KI-ZERBO. I also thank Casimir Gnankiné for editing this manuscript.

Author contributions

M.B. and O.G. designed the study. D.D.S., critically supervised the study. M.B., I.S., K.B., and G.B.M., carried out the laboratory experiments. M.B., S.F.D., and O.G. analyzed and interpreted the data and drafted the

manuscript. O.G., R.K.D., H.C.R.N., M.N., I.H.N.B., revised the manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

Funding

Funding for this study was provided partly by the TWAS 18–163 RG/BIO/AF/AC_G–FR3240303649 and the “Centre d’excellence Africain (CEA) en Innovations biotechnologiques pour l’élimination des maladies à transmission vectorielle”.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to O.G.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher’s note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article’s Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article’s Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2022