

# Evaluation des propriétés insecticides des huiles essentielles de quelques Zingiberaceae contre les larves d'*Anopheles gambiae* s. l. collectées à Ayos (sud-Cameroun).

Pasma Mache Nkouandou <sup>(1)</sup>, Patrick Akono Ntonga <sup>(1)</sup>, Christelle Awansi Djeukam <sup>(1)</sup>, Pierre Michel Jazet Dongmo <sup>(2)</sup>, Chantal Menut <sup>(3)</sup>

1. Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes Animaux, Département de Biologie des Organismes Animaux, Université de Douala. BP. 24 157 Douala, Cameroun.

2. Laboratoire de Biochimie, Département de Biochimie, Université de Douala. BP. 24 157 Douala, Cameroun

3. IBMM, Montpellier-UMR 5247, Faculté de Pharmacie, 15 Avenue Charles Flabault, 34093, Montpellier, France.

**Correspondant auteur** : BP. 24 157 Douala, Cameroun ; Email : [pasma.mache@yahoo.fr](mailto:pasma.mache@yahoo.fr)

Tel. +237 696399447).

**Mots clés** : *Cucurma longa*, *Afromomum polyanthum*, *Afromomum daniellii*, Huile essentielle, Biocide, *Anopheles gambiae*.

**Key words** : *Cucurma longa*, *Afromomum polyanthum*, *Afromomum daniellii*, essential oil biocide, *Anopheles gambiae*

**Publication date** 31/03/2020, <http://m.elewa.org/Journals/about-japs/>

## 1 RÉSUMÉ

La présente recherche se propose d'évaluer l'activité larvicide des huiles essentielles des feuilles de *Cucurma longa* (*Curcuma*), *Afromomum polyanthum* (*Shô Nkwat*) et *Afromomum daniellii* (*Cardamom*) sur *Anopheles gambiae*. La composition chimique des huiles essentielles était déterminée par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et couplage Chromatographie en Phase Gazeuse et Spectrométrie de Masse (CPG/SM). La toxicité des huiles sur les larves d'*An. gambiae* était testée au laboratoire selon le protocole de l'O.M.S. L'analyse chimique a montré que ces huiles sont toutes à dominance monoterpénique. L' $\alpha$ -myrcène était le composé majoritaire retrouvé chez *Afromomum polyanthum* (69,53%) et chez *Afromomum daniellii* (64,43%) ; alors que le  $\beta$ -myrcène était le composé majoritaire chez *Curcuma longa* (35,40%). Les tests larvicides ont montré que l'huile essentielle de *C. longa* était la plus active (CL<sub>50</sub> = 70,18 ppm et 92,49 ppm respectivement pour les larves de stades immature et mature au bout de 24h d'exposition). L'huile essentielle de *C. longa* peut être recommandée pour le développement des biocides naturels contre les vecteurs du paludisme.

## ABSTRACT

This study proposes to evaluate larvicidal activity of essential oils from leaves of *Cucurma longa* (*Curcuma*), *Afromomum polyanthum* (*Shô Nkwat*) et *Afromomum daniellii* (*Cardamom*). Gas Chromatography and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) are used to determine chemical composition of essential oils. Biological tests on *Anopheles gambiae* larvae were carried out in laboratory conditions as defined by WHO. These essential oils have mostly monoterpenes components. The major compound was  $\alpha$ -myrcène in essential oils of *Afromomum polyanthum* (69.53%) and *Afromomum daniellii* (64.43%).  $\beta$ -myrcène was the major compound of volatile oil *Cucurma longa* (35.40%). Volatile oil from *Cucurma longa* was the most effective (CL<sub>50</sub> = 70.18 ppm and 92.49 ppm

respectively for immature and mature larvae stages after 24 hours to exposition). Essential oil of *C. longa* could be recommended for the development of natural biocides.

## 2 INTRODUCTION

Le paludisme ou malaria demeure de loin la parasitose la plus importante dans le monde intertropical, et particulièrement en Afrique au sud du Sahara (Danis et Gentilini, 1998). Elle constitue un risque majeur pour plus de deux milliards d'êtres humains dans le monde (OMS, 2014). Les données statistiques révèlent que l'Afrique subsaharienne paye le plus lourd tribut dû à cette parasitose avec 93% de cas recensés (Pierre, 2018). Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes constituent la tranche de la population la plus vulnérable. Depuis des décennies, les pays incriminés appuyés par les partenaires au développement déploient des moyens multiformes pour réduire la prévalence de cette maladie à son plus bas niveau. Pour ce qui est du Cameroun, son gouvernement a mis sur pied depuis 2002, le Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), organisme ayant pour principale mission de coordonner les actions menées dans le pays en vue d'éliminer cette parasitose. Sous l'égide de cet organisme, les mesures fortes ont été prises par les pouvoirs publics dans l'optique de contrôler cette maladie en vue de son élimination : la distribution de moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action à chacun des foyers situés à l'intérieur du territoire camerounais et la gratuité de la prise en charge des enfants souffrant du paludisme simple dans toutes les formations sanitaires publiques du pays. Cet arsenal de mesures a abouti à la baisse de la prévalence paludique au Cameroun (MINSANTE, 2011). Malgré ces résultats encourageants, il convient de noter que la maladie demeure préoccupante dans certaines localités du pays. Cette situation serait consécutive au manque de connaissances sur la maladie et son vecteur par les populations exposées, à une application approximative des méthodes préventives et curatives en vigueur et à la résistance du germe et de son vecteur respectivement aux anti-malariques et aux

insecticides usuels (Akono *et al.*, 2017). Le problème de résistance, de loin le plus important, impose que l'on fasse recours aux nouvelles molécules naturelles dont l'efficacité est avérée. Ces molécules ont cet avantage d'être accessibles, moins toxiques et présentant encore une certaine efficacité (Akono *et al.*, 2015). L'utilisation des plantes contre les insectes est une pratique très ancienne en Afrique. Le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont longtemps utilisés comme agents de lutte contre les insectes (Crosby, 1996). Au Cameroun, les peuples du Nord avaient pour pratique courante de repousser les moustiques à l'aide de la fumée de plantes aux propriétés insecticides avérées. Les plantes issues de la flore camerounaise constituent depuis des millénaires, une source intarissable de nouvelles molécules qui demandent simplement à être explorées. A ce jour, de nombreux travaux mettant en exergue l'activité insecticide d'espèces de plantes issues de la flore camerounaise ont été réalisés (Foko *et al.*, 2007, Njan *et al.*, 2007, Tchoumboungang *et al.*, 2009, Akono *et al.*, 2014, Akono *et al.*, 2015). Des résultats obtenus, il en ressort que les plantes voient leurs activités insecticides booster lorsqu'elles sont utilisées sous forme d'huiles essentielles (Kassir *et al.*, 1989, Mohsen *et al.*, 1989, Ibrahim *et al.*, 2001, Mansour *et al.*, 2004). Les huiles essentielles sont riches en groupements fonctionnels et ont des propriétés à diffuser facilement à travers les membranes cellulaires (Boyom *et al.*, 2007). *Cucurma longa*, *Aframomum polyanthum* et *Aframomum daniellii* sont des plantes de la famille des Zingibéracées très courantes dans la flore camerounaise. Les feuilles et les rhizomes de ces plantes sont couramment utilisés comme condiments pour aromatiser les repas tandis que les tiges et racines sont utiles en médecine traditionnelle (Abondo et Amvam Zollo, 1995). Les activités insecticides de ces plantes vis-à-vis des vecteurs

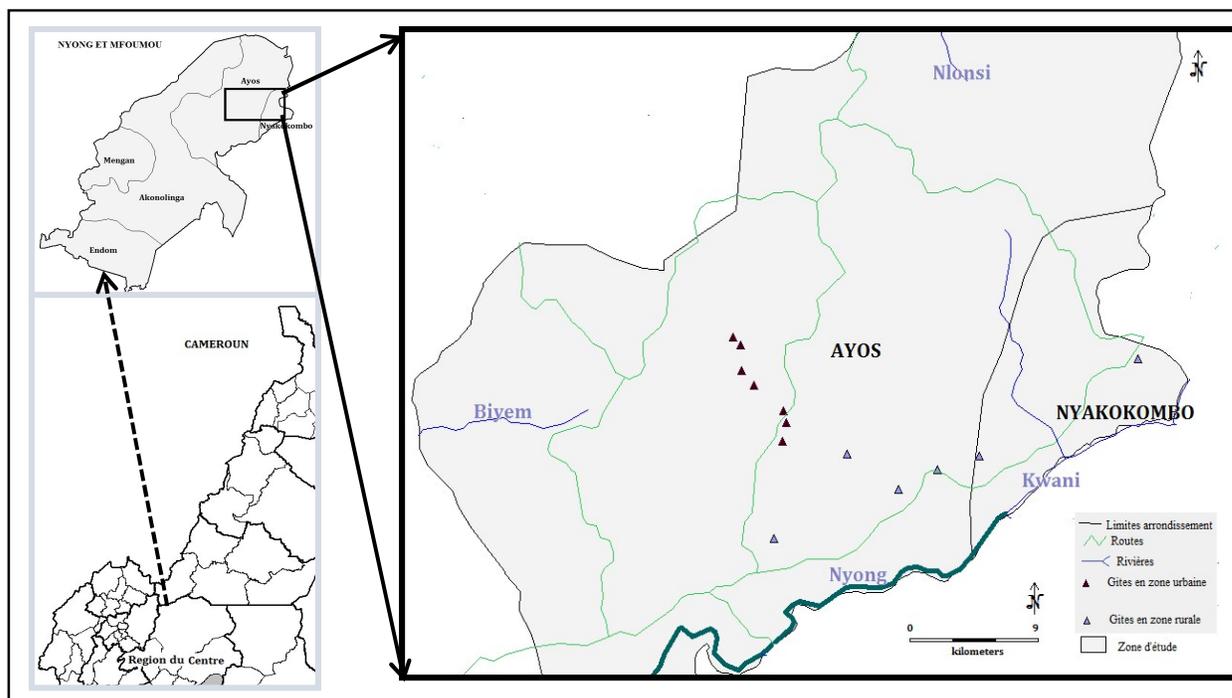
du paludisme n'ont jamais été évaluées malgré d'innombrables propriétés biologiques dont elles sont dotées. La présente étude analyse la composition chimique des huiles essentielles

des feuilles de *Cucurma longa*, *Aframomum polyanthum* et *Aframomum daniellii* en vue de déterminer leurs activités larvicides sur *An. gambiae*, vecteur du paludisme à Ayos.

### 3 MÉTHODOLOGIE

**3.1 Description du site d'étude :** L'étude était menée à Ayos (03°54'N, 12°31'E), localité située à 160 km à l'entrée Est de la ville de Yaoundé (capitale politique du Cameroun) (fig.1). La population est estimée à 14 950 habitants. Ces derniers vivent de l'agriculture, du petit élevage et de la pêche. Les populations souffrent régulièrement du paludisme et se rendent pour la plupart des cas à l'hôpital régional d'Ayos dès les premiers symptômes de la maladie. Le réseau hydrographique est dense, et est constitué de plusieurs petits ruisseaux et rivières qui se jettent dans le fleuve Nyong. Ce fleuve est considéré comme un gîte permanent

des larves d'anophèles. Le climat est équatorial, du type guinéen avec 4 saisons, 2 saisons pluvieuses (Septembre à Novembre et Mars à Juin) et 2 saisons sèches (Décembre à Février et Juillet à Août). La végétation est fortement dégradée sous l'action anthropique. Cependant, de vastes étendues de forêt sont encore visibles. Les formations végétales dominantes sont les Gramineae, les Ulmaceae et les Piperaceae. Les précipitations moyennes annuelles étaient de 1971,2 mm en 2010, la température moyenne annuelle était de 25,5° C et l'hygrométrie moyenne annuelle de 80% (Akono et al., 2014).



Logiciel : DIVA-GIS 7.5.0

Figure 1. Localisation de la zone d'étude

### 3.2 Collecte des plantes et extraction des huiles essentielles :

Les plantes ont été choisies en raison de leur utilisation traditionnelle comme insectifuge dans la plupart des villages de la forêt dégradée du sud-Cameroun. Les plantes ont été collectées aux mois de Janvier et Mars 2019 dans certaines formations végétales de la localité d'Ayos dépourvues de tout traitement insecticide. Les spécimens collectés ont été ensuite identifiés à l'Herbier National du Cameroun (HNC) sous les codes *Cucurma longa* (n°43153/ HNC) ; *Afromomum polyanthum* (n° 27602 /HNC) ; *Afromomum daniellii* (n° 40010 /HNC). Les feuilles de chaque espèce de plante étaient lavées avec de l'eau de source, découpées en petites unités puis soumises à une hydrodistillation pendant 5h à l'aide d'un appareillage de type Clevenger. L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtrée sur colonne de sulfate de sodium anhydre puis introduite dans des flacons en verre sombres hermétiquement fermés. Le tout a été conservé au réfrigérateur à une température de 4°C.

### 3.3 Analyse de la composition chimique par CG et CG/SM :

L'analyse chimique des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un chromatographe de type Varian CP-3380 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne capillaire (longueur 30 m, diamètre interne 0,25 mm) avec une phase stationnaire apolaire de type méthylsilicone (DB-1, épaisseur du film 0,25 µ). L'azote est utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 0,8 ml.min<sup>-1</sup>. La température de l'injecteur est de 220 °C ; le détecteur est réglé à 250 °C. Le four est programmé de 50 °C à 200 °C avec un gradient de température de 5°C.min<sup>-1</sup>. Les indices de rétention des différents constituants ont été calculés par rapport aux temps de rétention d'une série de n-alcanes et leurs pourcentages relatifs calculés par intégration électronique en considérant que leurs facteurs de réponses sont tous égaux à 1. Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse a été réalisé à l'aide d'un

appareillage de marque Hewlett Packard HP 5970 A, équipé d'une colonne capillaire apolaire (30 m x 0,25 mm) en silice fondue de type HP-1 (épaisseur du film 0,25 µ) et d'un détecteur de type quadripôle (énergie d'ionisation 70 eV). La température de l'injecteur est de 220 °C et celle de la zone d'interface à 210 °C. Injection en mode split (1/100) de 1 µl d'une solution d'huile essentielle à 10 % dans le dichlorométhane. La température du four est programmée de 70 °C à 200 °C avec un gradient de 10 °C.min<sup>-1</sup>. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 0,6 ml.min<sup>-1</sup>. L'acquisition a été effectuée en mode scan [35-300 amu] à 2,96 scan.sec<sup>-1</sup>. L'identification des constituants des huiles essentielles a été faite sur la base de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse par comparaison avec les données de la Littérature et d'Adams (Adams, 2001).

### 3.4 Collecte des larves d'anophèles et tests biologiques :

Les eaux stagnantes ont été systématiquement scrutées dans la localité. Les larves d'anophèles ont été repérées selon leur position horizontale à la surface de l'eau. Le gîte larvaire a été ensuite entièrement vidé et l'eau introduite dans des bassines en plastique (30 × 20 × 10 cm). Les larves flottant à la surface ont été recueillies par tamisage, rincées abondamment à l'eau de puits (exempte de certains composés susceptibles d'être nocifs aux larves, tels que les dérivés chlorés) et introduites dans des bocaux en plastique 500 ml. Au laboratoire, elles ont été identifiées et nourries aux biscuits (1 g de poudre de biscuits par boîte de 500 ml contenant l'eau de puits) pendant 24 h avant leur utilisation pour les tests. Ces tests ont consisté à évaluer la mortalité des larves d'anophèles en présence des solutions diluées d'huiles essentielles suivant une méthodologie inspirée du protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1985). En effet, 20 larves de stades immatures (L1, L2) d'une part et de stades matures (L3, L4) d'autre part ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des bols de 8cm de diamètre contenant chacun 99 ml d'eau de puits à

laquelle est ajoutée 1ml de solution-tests diluée. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests proprement dits. Pour ce faire, des solutions-mères d'huiles essentielles de chaque échantillon ont été préparées dans l'éthanol 90°. À partir de celles-ci des dilutions ont été réalisées pour obtenir des concentrations expérimentales finales de 100, 150 et 200ppm. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. Deux gobelets témoins ont été également constitués dans les conditions identiques aux bols tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'éthanol (dans les mêmes proportions que pour les essais, c'est-à-

## 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

**4.1 Rendement d'extraction :** Les rendements d'extraction des huiles essentielles des feuilles de Zingiberaceae ont varié de 0,17% à 0,97% (v/v) (tableau 1). Les feuilles de *C. longa* (0,97%) avaient une teneur en huile essentielle plus élevée que celles d'*A. daniellii* (0,23 %) et d'*A. polyanthum* (0,12%). Ces rendements sont moins élevés par rapport à ceux trouvés en Algérie sur les mêmes espèces végétales (Boutamani, 2013). Selon plusieurs études, la différence de rendement relevée entre les espèces végétales d'une même famille est fonction de l'organe végétal extrait, de la méthode d'extraction, des conditions climatiques, de la situation géographique du site de récolte, de la période de récolte, et de l'état physiopathologique de la plante au moment de la récolte (Viera et Simon, 2000 ; Visaria et al., 2006 ; Tchoumboungang et al., 2009).

**4.2 Composition chimique des huiles essentielles :** Les résultats des analyses chimiques des trois échantillons d'huiles essentielles sont donnés dans le tableau II. Les monoterpènes hydrocarbonés étaient de loin les composés les plus représentés de ces huiles (54,29% à 82,86%). Ces monoterpènes hydrocarbonés étaient dominés par le  $\beta$ -myrcène (35,40%) chez l'essence volatile de *C. longa*. Le  $\beta$ -myrcène était également retrouvé majoritaire dans l'huile essentielle des feuilles

dire à 1 %) sans aucune trace d'huile essentielle. Le comptage des larves a été réalisé toutes les 5 minutes pendant 1h ; puis toutes les heures pendant 10h et enfin après 24 h d'exposition aux extraits volatils solubilisés dans l'eau. L'analyse statistique des moyennes est réalisée à l'aide des logiciels SPSS, et R. Les taux de mortalité ont été comparés par le test H de Kruskal-wallis. Le degré de significativité a été fixé à une valeur de probabilité inférieure à 0,05. Les équations des droites de régression obtenues à partir de la table simplifiée d'Henry qui transforme les pourcentages de mortalité en probits ont permis de déterminer les  $CL_{50}$  et  $CL_{95}$ .

des échantillons de la même espèce végétale originaire de Chine et de Kasturi (Behura et Srivastava, 2004 ; Shiyou Li et al., 2011). Cependant, ces résultats tranchent avec ceux obtenus avec les échantillons de la même espèce végétale collectés dans d'autres pays. En effet, les analyses chimiques ont révélé que le terpinolène (87,8%), l' $\alpha$ -phellandrene (53,4%) et le  $\alpha$ -tumérone (35,0%) étaient respectivement des composés majoritaires de l'huile essentielle de *C. longa* originaire d'Italie, d'Inde et d'Algérie (Raina et al., 2005). Par ailleurs, notre étude a montré que l' $\alpha$ -myrcène est le composé majoritaire commun aux huiles essentielles des feuilles d'*A. Polyanthum* (86,5%) et *A. daniellii* (79,88%) collectées à Ayos. Ces résultats sont en contradiction avec ceux trouvés par Essien et al. (2017). Les travaux de ces derniers ont montré que le  $\beta$ -pinène (30,94%) était le composé majoritaire de l'huile essentielle de l'échantillon d'*A. danielli* du Nigéria. Au regard de ce qui précède, fort est de constater que le myrcène est la molécule caractéristique des huiles essentielles des trois plantes de la famille des Zingiberaceae collectées à Ayos ; toutefois, l'on peut noter des différences d'une zone géographique à une autre tel que l'ont démontré les résultats obtenus dans d'autres pays.

**4.3 Tests biologiques :** Les tests biologiques montrent que les huiles essentielles

des feuilles de *C. longa*, *A. polyanthum* et *A. danielli* possèdent de remarquables propriétés larvicides sur les larves des stades immatures et matures d'*Anopheles gambiae* s.l. mais à de degrés différents de toxicité (tableaux 3 à 5). Les valeurs de CL<sub>50</sub> et CL<sub>95</sub> déterminées à partir de la table simplifiée d'Henry qui transforme les taux cumulés de mortalité en probits étaient utilisées pour classer ces huiles essentielles en fonction de leur degré de toxicité sur les larves d'*An. gambiae* s.l. Ainsi l'huile essentielle de *C. longa* était la plus efficace suivie par celles d'*A. polyanthum* et *A. danielli* (tableau 3). Le potentiel toxique de ces huiles serait dû à leur teneur élevée en myrcène (tableau 2). Des études antérieures ont montré d'excellentes propriétés biologiques de cette molécule à l'état pur (Kauderer et al., 1991, Gomes-Carneiro et al., 2005, Dragana et al., 2009). Cependant, malgré sa faible teneur en myrcène (35,4%) comparativement aux deux autres huiles essentielles, l'essence volatile de *C. longa* reste de loin la plus efficace. Ce résultat amène à suggérer que le potentiel toxique de ces Zingiberaceae n'est pas le seul fait du myrcène. Il résulterait de l'action synergique avec d'autres composés dits minoritaires. De nombreux travaux ont mis en exergue l'important rôle biologique des composés minoritaires des huiles essentielles de *Plectranthus marrubioides*, *Ocimum fischeri* et *Ocimum forskolei* (Omolo et al., 2004 ; Odalo et al., 2005). Les composés minoritaires tels que l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène semblent jouer un rôle important dans l'augmentation du potentiel toxique des Zingiberaceae objet de notre étude. Les activités insecticides de ces molécules ont été démontrées par Ojimelukwe et Alder (1999) et Lucia et al., (2007) au cours de leurs travaux visant à évaluer respectivement l'activité insecticide de l' $\alpha$ -pinène vis-à-vis de *Tribolium confusum* et celle de la  $\beta$ -pinène sur *Aedes aegypti*. La présence de la  $\beta$ -pinène dans l'huile de *C. longa* pourtant absente dans celles d'*A. polyanthum* et *A. danielli* semble donc faire la

différence. La  $\beta$ -pinène, agissant en synergie avec la myrcène pourrait être à l'origine de la forte toxicité observée chez *C. longa* comparativement aux autres huiles. Toutefois, des études supplémentaires visant à évaluer l'action synergique de la combinaison  $\beta$ -pinène/myrcène devraient être menées pour confirmer cette hypothèse. Par ailleurs, la présente étude montre une rapide sensibilité des larves immatures par rapport aux larves matures lorsque celles-ci sont exposées aux huiles de *C. longa* et *A. polyanthum*. En effet, au bout de 5 mn d'exposition à 200 ppm de l'huile essentielle de *C. longa*, 55% de mortalité des larves de stades immatures étaient enregistrées contre seulement 5% de mortalité des stades matures. Un résultat semblable est relevé pour l'huile d'*A. polyanthum* (tableaux 4 et 5). La constitution des téguments de ces 2 catégories de larves pourraient être à l'origine de ce résultat. Les téguments des larves immatures étant encore en pleine croissance (moins riche en protéines constitutives donc la chitine) laisseraient diffuser facilement l'huile essentielle par rapport aux téguments des larves matures qui seraient nettement plus constitués. Cette information est capitale pour les responsables du programme de lutte biologique contre les vecteurs du paludisme. En effet, elle suggère des interventions lorsque les larves vivant dans leurs gîtes sont encore aux stades immatures. Cela permettrait d'obtenir des résultats intéressants avec une quantité de biocide négligeable. Cette étude a montré que l'huile de *Curcuma longa* plus que d'autres huiles testées, possède de remarquables propriétés larvicides contre *An. gambiae* s.l., vecteur du paludisme à Ayos. Cette efficacité serait le fait de l'action synergique du myrcène et du  $\beta$ -pinène. Cette action paraît bénéfique lorsque les larves sont traitées aux stades immatures. Les pays endémiques au paludisme devraient par conséquent promouvoir l'utilisation de l'huile essentielle de *Curcuma longa* dans la lutte biologique contre les larves d'anophèles.

## 5 REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les populations d'Ayos pour leur collaboration.

## 6 RÉFÉRENCES

- Abondo R. et Amvam Zollo PH : 1995. Valorisation des plantes aromatiques du genre *Aframomum* du Cameroun. Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine. 81-88
- Adams RP : 2001. Identification of Essential Oils by Gas Chromatography Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL, USA : Allured Publishing Corporation.
- Akono N, Jazet D, Tonga C, Kouotou S, Kekeunou S, Magne T, Lehman L et Menut C : 2015. Larvicidal activity of essential oils from pericarps of ripe Citrus fruits cultivated in Cameroon on pyrethroids sensitive and resistant strains of *Anopheles gambiae* Giles, 1902. Journal of Entomology and Zoology Studies 3(4) : 334-339.
- Akono N, Nicolas B, Mouray E, Lengo M, Belong P, et Grellier P : 2014. Activity of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum*, and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Plasmodium falciparum* and mature-stage larvae of *Anopheles funestus* s.s. Parasite 21: 33.
- Akono NP, Tonga C, Kekeunou S, Lehman LG : 2014. Mosquito species diversity and malaria transmission in Ayos, an area of degraded forest targeted for universal LLIN distribution in southern Cameroon. African Entomology 22 : 602-10.
- Akono Ntonga P, Jazet Dongmo PM, Tonga C, Mache Nkouandou et Kekeunou S : 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 Journal of Biological and Biochemical Sciences 25 : 12-21
- Behura S et Srivastava VK : 2004. Essential oils of leaves of *Cucurma* species. Essential Oil Research 16: 109–110.
- Boutamani M : 2013. Etude de la variation du rendement et de la composition chimique des huiles essentielles de *Cucurma.longa* et de *Myristica fragans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Mémoire de Master, Université des Sciences et de technologie Houari Boumediene d'Alger. 109pp.
- Boyom F, Ngouana V, Amvam ZPH, Menut C, Bessiere JM et Gut J : 2007. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. Phytochemistry 64:1269-1275.
- Crosby D : 1996. Natural pest control agents. In Gould R F (Ed). Natural Pest Control Agents Advanced in Chemistry 53 : 1-16.
- Danis M.et Gentilini M : 1998. Malaria, a worldwide scourge. Revue du Praticien 48: 254-257.
- Dragana M, Bajana Z, Bijana N, Branka V et Jelena : 2009. Protective effect of linalool and eucalyptol against t- butyl hydroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. Food and Chemical Toxicology 47(1) : 260-266.
- Essien E, Paul S, Oriakhi K et Choudhary M : 2017. Characterization and Antioxidant Activity of Volatile Constituents from Different Parts of *Aframomum daniellii* (Hook) K. Schum. Medecines 4(29) : 2-7.
- Foko G, Tamesse J et Messi J : 2007. Insecticidal effects of *Capsicum annuum* on *Anopheles gambiae* Gilles under

- laboratory conditions. Journal of Entomology 4 : 299-307.
- Gomes-Caneiro MR, Marcia ES, Felzenszwald I, Francisco JR et Paumgartten : 2005. Evaluation of  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -terpinene and (+)- and (-)-  $\alpha$ -pinene in the salmonella microsome assay. Food and Chemical Toxicology 43(2) : 247-252.
- Ibrahim MA, Pirjo K, Abbas A et Jarmo KH : 2001. Insecticidal, repellent and microbial activity and phytotoxicity of essential oils: with special preference to limonen and its suitability for control of insect pests. Agricultural and food science in Finland 10 : 243-259.
- Kassir JT, Mohsen ZH et Mehdi NS : 1989. Toxic effect of limonene against *Culex quinquefasciatus* Say larvae and its interference with oviposition. Anzeiger für Schadlingskunde Pflanze-NschutzUmweltschutz. 62:19-21.
- Kauderer B, Zamith H, Francisco JR, Paumgartten, Günter S. et Holden HE : 1991. Evaluation of the mutagenicity of  $\beta$ -myrcene in mammalian cells in vitro. Environmental and molecular Mutagenesis 18(1) : 28-34.
- Lucia A, Audino GA, Seccacini E, Licastro S, Zerba E et Masuh H : 2007. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major compounds on *Aedes aegypti* larvae. Journal of the America Mosquito Control Association. 3: 299-303.
- Mansour SA, El-Sharkawy AZ et Ali AR : 2004. Mosquitocidal activity of Citrus peel oils with respect to their limonene content. Egyptian Journal of Natural Toxins 1 :111-134.
- Mohsen ZH, Al-Chalabi BM, Kassir JT et Chalabi BMAL : 1989. Factors influencing the larvicidal activity of limonene against *Culex quinquefasciatus*. Journal of Applied Entomology 108 :107-110.
- Njan L, Saotoing P, Tchouankeu J et Messi J : 2007. Effect of essential oil of six local plants used insecticide on adults of *Anopheles gambiae* Gilles, 1902. Journal of Entomology 4 (6) : 444-450.
- Odalo JO, Omolo MO, Malebo H, Angira J, Njeru PM et Ndiege IO : 2005. Repellency of essential oils of some plants from the Kenyan coast against *Anopheles gambiae*. Acta Tropica 95 :210-218.
- Ojmelukwe PC et Alder C : 1999. Potential of Zimtaldehyde, 4-allylanisol, linalool, terpinol and others phytochemicals for the control of the confused flour beetle (*Tribolium confusum* J.D.C.) (G.L. Tenebrionidea). Journal of Pest Science 72:81-86.
- Omolo MO, Okinyo D, Ndiege IO, Lwande W et Hassanali A: 2004. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. Phytochemistry. 65:2797-2802.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé) : 2014. Entomologie du paludisme et lutte antivectorielle, pp 1- 200.
- Pierre A : 2018. Paludisme Actualités, Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France).
- MINSANTE (Ministère de la Santé Publique) : 2011. Plan stratégique de lutte contre le Paludisme au Cameroun : 2007-2010, 136pp.
- Raina V K, Syamsundar, et Srivastava S K: 2005. Rhizome and Leaf Oil Composition of *Curcuma longa* from the Lower Himalayan Region of Northern India. Essential Oil Research.17: 556–559.
- Shiyou Li, Wei Y, Guangrui D, Ping W, Peiyong Y, et Bharat B : 2011. Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). Pharmaceutical Crops 2: 28-54
- Tchoumboungang F, Jazet Dongmo P M, Lambert Sameza M, Nkouaya Mbanjo E, Tiako Fotso G, Amvam Zollo P et Chantal Menut : 2009. Activité larvicide

- sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement* 13 (1) : 77-84.
- Vieira RF et Simon JE : 2000. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Economic Botany* 54:207-221
- Visaria RK, Griffin RJ, Williams BW, Ebbini ES, Paciotti GF et Song CW : 2006. Enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor-alpha delivery. *Molecular Cancer Therapeutics* 5:1014-1020
- World Health Organization (WHO) : 1985. Bioassay method for the titration of *Bacillus sphaericus*: consultation on the development of *Bacillus sphaericus* as a microbial larvicide. *World Health Organisation* 3: 85-95.

**Tableau 1 :** Rendement d'extraction des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Aframomum daniellii* et *Aframomum polyanthum*

Plantes				Récolte		Huiles essentielles		Rendement (%)
Familles	Espèces	Organes	Masses (g)	Lieu	Date	Couleur	Masses (g)	
Zingiberacées	<i>Curcuma longa</i>	Feuilles	1500	Ayos	16/01 /19	Jaune clair	14,57	0,97
Zingiberacées	<i>Aframomum daniellii</i>	Feuilles	4900	Ayos	29/03/19	Jaune clair	10,87	0,23
Zingiberacées	<i>Aframomum polyanthum</i>	Feuilles	7200	Ayos	01/03/2019	Jaune clair	9,02	0,12

**Tableau 2 :** Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *C. longa*, *A. daniellii* et *A. polyanthum*

Composés chimiques	pourcentages			
	RI	<i>C. longa</i>	<i>A. polyanthum</i>	<i>A. daniellii</i>
<b>Composés aromatiques</b>		<b>18,59</b>	<b>0,22</b>	<b>0,98</b>
Benzène acétaldehyde	1036,33	18,52	-	-
Ethyl-3-hydroxyhexanoate	1121,74	0,02	-	-
triméthylbenaldehyde<2, 3,4>	1313,13	-	0,11	-
Elemicine	1555,67	0,05	-	0,87
Cadalène	1678	-	0,11	0,11
<b>Esters</b>		<b>0,32</b>	<b>3,74</b>	<b>0,52</b>
Butanoate <3-méthyl-2-butenyl-3-méthyl>	1147,00	0,18	-	-
Nonadiénol acétate < (3E, 6Z) >	1296,65	-	-	0,52
Ethyl decanoate	1395,10	0,14	-	-
Méthyl lactate	1467,26	-	3,74	-
<b>Cétones</b>		<b>0,43</b>	-	<b>0,45</b>
Furfuryl acetone	1180,19	-	-	0,45
Decanone	1185,52	0,17	-	-
Atlantone	1694,97	0,26	-	-
<b>Alcool</b>		<b>0,24</b>	-	-
Decanol	1266,21	0,24	-	-
<b>Monoterpènes</b>		<b>62,23</b>	<b>86,33</b>	<b>80,88</b>
<b>MTH</b>		<b>54,29</b>	<b>82,86</b>	<b>73,58</b>



$\alpha$ -thujene	924	-	0,32	0,13
$\alpha$ -pinene	934	3,55	9,11	8,14
camphène	950,71	-	0,15	0,08
sabinene	973	0,83	-	-
$\beta$ -pinene	978	4,6	-	-
$\alpha$ -Myrcène	989	-	69,54	64,43
d-L limonène	1000,01	-	0,12	-
$\beta$ -Myrcène	1010,01	35,40	-	-
$\alpha$ -terpinene	1017,08	-	-	-
Limonène	1024,5	-	-	0,07
Hexanoic acid<2-methyl>	1027,26	8,89	-	-
ocimene<Z>- $\beta$ ->	1032,96	-	2,69	0,23
p-cymène	1089,17	-	0,18	-
epoxymyrcène	1090,18	0,86	-	-
Sabinene hydrate <trans>	1098,17	-	0,06	0,5
Thuj-3-en-10-al	1181,43	-	0,59	-
Cuminaldehyde	1237,99	0,16	-	-
Eupatoriochromène	1761,71	-	0,1	-
<b>MTO</b>		<b>7,94</b>	<b>3,47</b>	<b>7,3</b>
Cinéole <dehydro-1,8->	988,52	2,62	-	-
1,4- cinéole	1012,17	0,96	-	-
Isobutylangelate	1045,48	-	-	0,72
Norbornene-2-methanol<exo>	1058,79	1,18	0,42	0,28
Linalool oxide <cis> furanoid	1067,80	-	-	-
Linalool <dehydro>	1088,25	-	-	0,12
Linalool	1097	0,86	-	-
Trans pinocarveol	1142,67	-	-	1,14
Terpineol <trans-dihydro- $\alpha$ ->	1143,57	0,07	0,03	-
pinocarvone	1164	0,23	0,07	-
Borneol	1165,81	-	-	0,13
Cymen-8-ol <p->	1179,08	0,49	-	-
Dihydrocarveol	1192,30	0,58	-	-
Dihydrocarveol<neo>	1193,07	-	-	0,21
myrtenol	1194,07	-	0,32	-
Dihydrocarvone <trans>	1200,06	-	0,18	0,52



Cymen-9-ol <p->	1204	0,27	-	-
Géraniol	1249,57	0,15	-	-
Thymol	1289,07	0,08	-	-
	1325,52	-	0,05	-
Mentha-1,4-dien-7-ol<p>				
Verbanol acetate <neo iso>	1328,04	-	-	3,95
Bornyl angelate	1563,05	-	0,05	0,07
Thujopsan-2 $\alpha$ -ol	1586,95	-	-	0,16
Longiborneol	1599,16	-	2,35	-
isomyristicine	1616,52	0,33	-	-
Camphoric acid	1633,70	0,12	-	-
$\alpha$ -muurolol	1646,45	-	0,17	-
<b>sesquiterpenes</b>		<b>5,27</b>	<b>9,2</b>	<b>17,02</b>
<b>STH</b>		<b>4,2</b>	<b>8,24</b>	<b>14,68</b>
Elemene< $\gamma$ >	1434,98	-	7,92	12,91
$\beta$ -Humelene	1436,85	0,07	-	-
$\alpha$ -Humelene	1452,95	0,07	-	-
Caryophyllene-9-epi	1464,59	-	-	1,33
zingiberene	1488	0,09	-	-
$\beta$ -selinene	1489	0,58	0,22	0,28
viridiflorene	1496	1,86	-	-
$\alpha$ -bulnsene	1509,03	0,28	-	0,16
marcocarpenne	1526,50	1,25	-	-
Bisabolene<(E)- $\gamma$ ->	1529,58	-	0,10	-
<b>STO</b>		<b>1,07</b>	<b>0,96</b>	<b>2,34</b>
Cubebol<10-epi>	1533,72	0,07	-	-
palustrol	1567,94	0,32	-	-
Fokienol	1597,25	-	-	1,66
Silperfol-6-en-5-one	1624,39	-	0,67	-
intermedeol	1665,45	0,37	0,09	-
Khisinol	1679,30	0,31	-	-
Cedrene epoxide < $\beta$ >	1621,91	-	-	0,13
Eudesmol< $\beta$ ->	1649,03	-	-	0,23
Bisabolol< $\beta$ ->	1673,15	-	-	0,13



Bergamotol<(Z)- $\alpha$ -trans>	1690,19	-	-	0,19
Cedr-8(15)-en-9 $\alpha$ -ol	1650,42	-	0,2	-

**Tableau 3 :** Concentrations létales des huiles essentielles des feuilles de *C. longa*, *A. polyanthum* et *A. daniellii* capables de provoquer 50% (CL<sub>50</sub>) et 95% (CL<sub>95</sub>) de mortalité des larves des stades immatures et matures d'*An. gambiae* au bout de 24h d'exposition

Espèces	Stades larvaires			
	Immature		mature	
	CL50	CL95	CL50	CL95
<i>C. longa</i>	70,18	115,28	92,49	122,04
<i>A. polyanthum</i>	75,76	254,22	220,24	655,59
<i>A. daniellii</i>	130,33	259,49	352,47	822,73

**Tableau 4 :** Taux de mortalité en fonction de la durée d'exposition des larves de stades immatures d'*An. gambiae* à différentes concentrations des huiles essentielles des feuilles de *C. longa*, *A. polyanthum* et *A. daniellii*

Concentration des huiles essentielles en ppm	Stades immatures						H	P
	Temps	5min	1/2H	1H	10H	24H		
<i>C. longa</i>								
100	45,00±8,66	86,67±5,77	90,00±8,66	90,00±8,66	90,00±8,66	9,512	0,05	
150	51,67±2,89	91,67±2,89	95,00±5,00	95,00±0,00	95,00±0,00	8,05	0,09	
200	55,00±5,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	13,796	0,08	
H	3,582	6,74	5,05	5,05	5,05	-	-	
P	0,167	0,034	0,08	0,08	0,08	-	-	
<i>A. polyanthum</i>								
100	0,00±0,00	35,00±5,00	61,67±2,89	65,00±5,00	65,00±5,00	11,59	0,021	
150	56,67±15,28	76,67±2,89	78,33±5,77	78,33±5,77	78,33±5,77	0,688	0,0869	
200	35,00±18,03	88,33±2,89	88,33±2,89	90,00±5,00	90,00±5,00	7,645	0,105	
H	6,47	7,322	7,057	0,031	0,031	-	-	
P	0,039	0,026	0,029	6,938	6,938	-	-	
<i>A. daniellii</i>								
100	0,00±0,00	5,00±0,00	26,67±12,58	26,67±12,58	26,67±12,58	11,2	0,02	
150	0,00±0,00	15,00±0,00	66,67±2,89	66,67±2,89	66,67±2,89	11,79	0,02	



200	5,00±0,00	45,00±5,00	83,33±2,89	83,33±2,89	83,33±2,89	11,70	0,02
H	8	7,71	7,32	7,32	7,32	-	-
P	0,018	0,021	0,026	0,026	0,026	-	-

**Tableau 5 :** Taux de mortalité en fonction de la durée d'exposition des larves des stades matures d'*An. gambiae* à différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *C. longa*, *A. polyanthum* et *A. daniellii*

Concentration des huiles essentielles en ppm	Stades matures					H	P
	Temps						
	5min	1/2H	1H	10H	24H		
<b><i>C. longa</i></b>							
100	0,00±0,00	5,00±0,00	8,33±2,89	51,67±33,29	70,00±5,00	12,18	0,016
150	0,00±0,00	8,33±2,89	26,67±2,89	100,00±0,00	100,00±0,00	13,84	0,008
200	5,00±0,00	65,00±5,00	70,00±5,00	100,00±0,00	100,00±0,00	13,335	0,01
H	8	6,07	7,32	7,62	7,62	-	-
P	0,018	0,05	0,026	0,022	0,022	-	-
<b><i>A. polyanthum</i></b>							
100	0,00±0,000	0,00±0,000	0,00±0,000	0,00±0,000	0,00±0,000	0	1
150	0,00±0,000	6,67±2,89	16,67±7,64	16,67±7,64	18,33±10,43	10,34	0,035
200	6,67±2,89	18,33±10,41	23,33±10,41	25,00±13,23	26,67±11,55	7,89	0,096
H	7,714	7,18	6,01	6,01	6,21	-	-
P	0,021	0,028	0,05	0,05	0,045	-	-
<b><i>A. daniellii</i></b>							
100	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,67±2,89	1,67±2,89	7,456	0,114
150	0,00±0,00	3,33±2,89	3,33±2,89	3,33±2,89	3,33±2,89	4,00	0,41
200	0,00±0,00	13,33±5,77	20,00±5,00	20,00±5,00	83,33±2,89	8,95	0,063
H	0,00	6,79	6,72	5,544	5,544	-	-
P	1,00	0,034	0,035	0,063	0,063	-	-