

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 20 mars 2020  
Par M. Bracq Tristan**

---

**UTILISATION DES LEPIDOPTERES EN MEDECINE  
TRADITIONNELLE ET MODERNE**

---

**Membres du jury :**

**Président et conseiller de thèse :** Docteur Vincent ROUMY, Maître de Conférences, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Pharmacognosie

**Assesseur :** Docteur Philippe GERVOIS, Maître de Conférences, HDR, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Biochimie

**Membre extérieur :** Docteur Dominique ANGENAULT, Pharmacien d'officine à Bully-les-mines



**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 20 mars 2020  
Par M. Bracq Tristan**

---

**UTILISATION DES LEPIDOPTERES EN MEDECINE  
TRADITIONNELLE ET MODERNE**

---

**Membres du jury :**

**Président et conseiller de thèse :** Docteur Vincent ROUMY, Maître de Conférences, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Pharmacognosie

**Assesseur :** Docteur Philippe GERVOIS, Maître de Conférences, HDR, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Biochimie

**Membre extérieur :** Docteur Dominique ANGENAULT, Pharmacien d'officine à Bully-les-mines



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

### Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

### Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

## Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	EI Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

## Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

## AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie



***Faculté de Pharmacie de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Remerciements

### **À Monsieur le Docteur Vincent ROUMY,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Je tiens à vous exprimer ma reconnaissance pour votre soutien et accompagnement tout au long de la rédaction. Votre disponibilité, votre implication et votre rapidité d'action m'ont été d'une grande aide. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

### **À Monsieur le Docteur Philippe Gervois,**

Vous me faites l'honneur d'accepter de faire partie de ce jury, je vous en suis très reconnaissant. Je tiens à vous remercier pour vos enseignements et votre disponibilité auprès des étudiants pendant toutes ces années d'études.

### **À Monsieur le Docteur Dominique Angenault,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mes travaux de thèse. Vous m'avez fait confiance en me permettant d'exercer au sein de votre officine ces dernières années dans une ambiance exceptionnelle, cela me paraissait évident de faire appel à vous pour clôturer ces années d'études. J'en profite pour remercier **Madame Isabelle Angenault** ainsi que **toute l'équipe de la pharmacie Angenault** qui m'ont tant appris sur le milieu officinal et la PDA tout en travaillant dans la bonne ambiance.

### **À mes parents,**

Vous m'avez tant apporté que je ne sais par où commencer. Tout d'abord, merci pour l'éducation que vous m'avez donnée, merci de m'avoir permis de faire de longues études, merci d'avoir été mon moteur pour chaque session d'examens, merci de m'avoir rappelé régulièrement qu'il fallait mettre un terme à ces travaux, merci de m'avoir donné la sagesse pour mener ce projet à bien et enfin merci d'avoir entièrement lu cette thèse afin d'en corriger les fautes d'orthographe.

### **À mes frères et sœur,**

**Thibaut**, je te remercie pour ta présence et tes conseils avisés de grand frère, tu restes mon modèle de réussite.

**Aurore**, merci de m'avoir donné envie de m'orienter vers des études dans la santé et de m'avoir donné les armes pour les réussir. En tant que Docteur, tu as su me conseiller à merveille pour cette thèse.

**Geoffroy**, jumeau et témoin de mariage, je te remercie pour toutes ces années de collocation endiablées. Tu as vaillamment remporté la course en ayant validé un double diplôme et terminé tes études avant moi. Respect.

### **À mes oncles, tantes, cousin.e.s et grands-parents,**

Merci à vous tous pour tous ces moments passés en famille et à venir. Ils m'ont été précieux. Ces valeurs familiales sont pour moi essentielles dans la vie.

### **À ma belle-famille,**

Merci pour vos encouragements et votre présence. Votre compagnie m'est chère.

### **À mes amis,**

**Olivier**, merci pour ta présence, ton soutien, ta cool-attitude, ta confiance envers moi...etc. Reste comme tu es, t'es le meilleur ! J'espère néanmoins devenir ton modèle pour la thèse.

**Fanny**, merci pour ta présence également, pour tous ces rires, ces engueulades, pour tous ces moments à la cafét' et à la corpo, pour toutes ces sessions de révision (in)fructueuses...etc. Je te remercie également de m'avoir accompagné durant toutes ces sessions de rattrapages et de me montrer que ce n'était pas une fin en soi.

**Martin**, merci pour tous ces moments passés ensemble à la fac, au squash, en soirée, en Corse, à Koksidge...et j'en passe. J'étais si jaloux le jour où tu as soutenu ta thèse que cela m'a permis d'enclencher la vitesse supérieure. Je (ne) te remercie (pas) de m'avoir fait découvrir Netflix.

**Thomas** et **Quentin**, amis et collègues de la Com' Soirée et de la Com' Pharmaski. Merci pour ces folles années à la fac, en AG et pour tous les moments à venir. En ce qui concerne la thèse, si je peux le faire, vous pouvez le faire aussi ! Napi, merci de m'avoir montré que la faluche menait à l'échec.

**Seb**, merci pour ta présence durant mes années d'études et encore maintenant, ainsi que pour ces quelques mois de collocation de folie.

**Max, Simon, Gaby et Marine**, mes amis depuis la P1. En ayant toujours une longueur d'avance sur moi, vous êtes des modèles de réussite. Je tiens à vous remercier pour tous les bons moments passés ensemble et pour les conseils que vous m'avez donné.

**Les membres du groupe des animaux**, merci pour toutes ces soirées, vacances et moments passés à la fac. Vous m'avez montré que l'on peut être pharmacien et pas nécessairement sérieux dans la vie de tous les jours.

**À Marie de la cafét'**, merci de ta présence tous les jours à la cafétéria de la fac, pour ta bonne humeur et surtout pour ta patience.

**À Gabrielle**,

Pour ton soutien de tous les jours, pour l'amour que tu me donnes, pour les conseils que tu m'as apporté dans la réalisation de cette thèse, je te remercie. Ma crainte étant que tu soutiennes ta thèse avant la mienne, tu m'as donné le courage de la travailler sans relâche et de la terminer dans les plus brefs délais. Tu es et resteras celle qui me motive le plus et qui me donne l'envie d'avancer. Merci de me supporter tous les jours et pour les années à venir.

# Liste des figures

Figure 1: Arbre de classification phylogénétique du vivant .....	23
Figure 2 : Arbre phylogénétique des hexapodes .....	26
Figure 3: Organisation tissulaire : schéma d'une coupe de tégument d'insecte .....	27
Figure 4: Organisation et composition de l'épithélium d'un insecte .....	28
Figure 5 : Molécule de chitine.....	29
Figure 6 : Schéma d'une coupe de cuticule d'un insecte .....	30
Figure 7 : Schéma d'une coupe de soie pleine.....	31
Figure 8 : Schéma d'une coupe de soie sensorielle .....	32
Figure 9 : Schéma du développement larvaire des Archéognathes .....	34
Figure 10 : Schéma du développement larvaire du criquet .....	34
Figure 11 : A : Larve campodéiforme. B-C : Larves éruciformes. D : Larve mélolonthoïde. E : Larve cérambycoïde. F : Larve vermiforme .....	35
Figure 12 : Schéma d'une larve eucéphale de diptère.....	36
Figure 13 : Schéma d'une larve hémicéphale de diptère.....	36
Figure 14 : Schéma d'une larve acéphale de diptère.....	36
Figure 15 : Schéma de l'organisation macroscopique d'un insecte adulte .....	37
Figure 16 : Schéma d'une tête d'insecte adulte de profil .....	37
Figure 17 : Schéma des différentes pièces buccales d'insectes.....	38
Figure 18 : Schéma d'une antenne d'insecte adulte .....	38
Figure 19 : Schéma d'une patte d'insecte adulte .....	39
Figure 20 : Schéma d'une aile d'insecte adulte .....	40
Figure 21 : Schéma du système circulatoire général d'un insecte .....	41
Figure 22 : Schéma du système respiratoire général d'un insecte .....	42
Figure 23 : Schéma du système nerveux général d'un insecte et sa place par rapport au tube digestif et au cœur .....	43
Figure 24 : Schéma du tube digestif général d'un insecte .....	45
Figure 25 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (1/4).....	45
Figure 26 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (2/4).....	46
Figure 27 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (3/4).....	46
Figure 28 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (4/4).....	46
Figure 29 : Schéma du développement amétabole .....	48
Figure 30 : Schéma du développement paurométabole .....	48
Figure 31 : Schéma du développement hémimétabole .....	49
Figure 32 : schémas du développement holométabole .....	50
Figure 33 : Arbre phylogénétique des lépidoptères .....	57
Figure 34 : Schéma général d'une larve de lépidoptère (chenille).....	60
Figure 35 : Schéma général d'une nymphe de lépidoptère (chrysalide) .....	61
Figure 36 : Schéma général de l'imago d'un lépidoptère (papillon) .....	63
Figure 37 : Schéma de l'organe reproducteur d'une femelle de lépidoptère.....	64
Figure 38 et Figure 39 : Schémas de l'organe reproducteur d'un lépidoptère, vue de profil et vue de face .....	65
Figure 40 : Cycle de développement de <i>Bombyx mori</i> .....	72

Figure 41 et Figure 42 : Œufs de <i>Bombyx mori</i> .....	73
Figure 43 et Figure 44 : Larves de premier stade (L1) de <i>Bombyx mori</i> .....	73
Figure 45 : Larve de 5 <sup>ème</sup> stade (L5) de <i>Bombyx mori</i> .....	74
Figure 46 : Formation du cocon de soie .....	75
Figure 47 : Cocon de soie de <i>Bombyx mori</i> .....	75
Figure 48 et Figure 49 : Chrysalides de <i>Bombyx mori</i> .....	75
Figure 50 : Adulte de <i>Bombyx mori</i> vu de face .....	76
Figure 51 : Accouplement de <i>Bombyx mori</i> , mâle à gauche, femelle à droite .....	76
Figure 52 : Molécule de bombykol (hexadécadiénol) .....	77
Figure 53 : Excréments de <i>Bombyx mori</i> (Can Sha) .....	78
Figure 54 : Larves de <i>Bombyx Mori</i> infectées par <i>Beauveria bassiana</i> (Bai Jiang Can) .....	80
Figure 55 : Corps grillés de <i>Bombyx mori</i> adultes (Xiong Can E).....	82
Figure 56 : Poudre de <i>Bombyx mori</i> adultes grillés (Xiong Can E Fen).....	82
Figure 57 : Alcaloïdes issus des feuilles de <i>Morus alba</i> .....	83
Figure 58 : Molécule de la 1-deoxynojirimycin ou moranoline .....	83
Figure 59 : Molécule de la beauvéricine .....	84
Figure 60 : Structure du complexe cuivrique de la chlorophylline sodique .....	86
Figure 61 : Cycle de développement de <i>Antheraea pernyi</i> .....	89
Figure 62 et Figure 63 : Œufs de <i>Antheraea pernyi</i> .....	89
Figure 64 et Figure 65 : Larves de stade L1 de <i>Antheraea pernyi</i> .....	90
Figure 66 et Figure 67 : Larves de stade L5 de <i>Antheraea pernyi</i> .....	91
Figure 68 : Nymphe de <i>Antheraea pernyi</i> .....	91
Figure 69 et Figure 70 : Cocons de soie de <i>Antheraea pernyi</i> .....	91
Figure 71 et Figure 72 : Adultes de <i>Antheraea pernyi</i> , vue de face et vue du dessus.....	92
Figure 73 : Ocelle d'une aile d'adulte.....	93
Figure 74 : Adulte de <i>Antheraea pernyi</i> .....	93
Figure 75 et Figure 76 : Remèdes « Shenganning » de médecine traditionnelle chinoise .....	94
Figure 77 : Composition du « Hu-Bao » (HB) et du « Seng-Bao » (SB) .....	97
Figure 78 : Effet de HB et SB sur la durée de vie du mâle (a) et de la femelle (b) de <i>Drosophila melanogaster</i> ... 98	
Figure 79 : Zone de répartition des espèces du genre <i>Thitarodes</i> .....	101
Figure 80 : Cycle de vie des espèces du genre <i>Thitarodes</i> .....	103
Figure 81 : Œufs, larves de L1 à L9, nymphes et imagos mâle et femelle de <i>Thitarodes armoricanus</i> .....	104
Figure 82 : Chenille des espèces du genre <i>Thitarodes</i> .....	104
Figure 83 : Chrysalides mâles (MP) et femelles (FP) de <i>Thitarodes</i> .....	104
Figure 84 : Nervation des ailes des <i>Hepialidae</i> .....	105
Figure 85 : <i>Thitarodes</i> adulte au repos.....	105
Figure 86 : Appareil reproducteur d'une femelle de <i>Thitarodes</i> (bcop=bourse copulatrice, op=orifice de ponte, ocp=orifice de copulation, An=anus) .....	106
Figure 87 : Adulte mâle (A) et adulte femelle (B) de <i>Thitarodes armoricanus</i> et Figure 88 : Exemples d'adultes du genre <i>Thitarodes</i> .....	106
Figure 89 : Cycle biologique d' <i>Ophiocordyceps sinensis</i> .....	107
Figure 90 : Aspect du champignon-chenille.....	107
Figure 91 : Champignon-chenille naturel.....	109
Figure 92 et Figure 93 : Champignon-chenille (broyé) en gélules .....	109

Figure 94 : Structure de la cordycépine .....	111
Figure 95: Structure de la cordycépine comparée à celle de l'adénosine.....	111
Figure 96 : Structure de l'acide cordycépique.....	113
Figure 97 : Schéma des particules virales de baculovirus (BV et ODV) .....	117
Figure 98 : Cycle viral du baculovirus.....	117
Figure 99 : Transmission verticale du virus à partir de l'épithélium intestinal de l'insecte.....	117
Figure 100 : Œufs de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	119
Figure 101 et Figure 102 : Larves de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	120
Figure 103 et Figure 104 : Mâle et femelle adultes de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	120
Figure 105 : Schéma de la formation d'un vecteur de transfert .....	122
Figure 106 : Schéma de l'obtention d'un virus recombinant .....	123
Figure 107 : Méthode des plages de lyse.....	124
Figure 108 et Figure 109 : Photos des vaccins Flublok® .....	132
Figure 110 et Figure 111 : Œufs de <i>Heliothis virescens</i> .....	135
Figure 112 et Figure 113 : Larves de différents stades larvaires de <i>Heliothis virescens</i> .....	136
Figure 114 et Figure 115 : Nymphes de <i>Heliothis virescens</i> .....	136
Figure 116 et Figure 117: Adultes de <i>Heliothis virescens</i> .....	136
Figure 118 : Structure de l'héliomicine.....	137
Figure 119 : Séquence en acides aminés de l'héliomicine .....	137
Figure 120 : Tableau de correspondance des raccourcis et acides aminés .....	137
Figure 121 : Œufs d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	140
Figure 122 : Stade L1 d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	140
Figure 123 : Stade L2 d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	140
Figure 124 : Stade L5 d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	140
Figure 125 : Stade pré-nymphal d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	141
Figure 126 : Chrysalide d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	141
Figure 127 et Figure 128 : Stade imago d' <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	141
Figure 129 : Séquence en acides aminés du peptide Ard1 .....	142
Figure 130 : Séquence en acides aminés de l'ETD-151 comparée à celles de l'héliomicine et Ard1 .....	143
Figure 131 : Potentiels électrostatiques de surface comparés de Ard1 et ETD-151, avec le programme d'analyse moléculaire MOLMOL. En rouge, les contours chargés négativement et en bleu, les contours chargés positivement .....	144
Figure 132 : MIC50 de l'ETD-151 comparées à celles de l'héliomicine, Ard1, amphotéricine B, fluconazole et itraconazole (ND=non déterminé).....	145
Figure 133 : Comparaison de l'efficacité de l'ETD-151 et de l'amphotéricine B dans l'infection à <i>Aspergillus fumigatus</i> chez la souris Swiss.....	146
Figure 134 : Comparaison de l'efficacité de l'ETD-151 et de l'amphotéricine B dans l'infection à <i>Candida albicans</i> chez la souris Swiss .....	146

# Table des matières

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>21</b>
<b>PARTIE 1 : GENERALITES SUR LES INSECTES ET L'ORDRE DES LEPIDOPTERES .....</b>	<b>22</b>
<i>I) Généralités sur les insectes .....</i>	<i>22</i>
I.A) Définition .....	22
I.B) Classification phylogénétique des insectes.....	22
I.B.1) Classification dans l'échelle du vivant.....	22
I.B.2) Classification interne des insectes .....	25
I.C) Morphologie .....	27
I.C.1) Organisation tissulaire externe .....	27
I.C.1.a) L'épithélium .....	27
I.C.1.b) La cuticule.....	28
I.C.1.c) Les soies .....	31
I.C.3) Organisation macroscopique .....	32
I.C.2.a) Organisation de la larve .....	32
I.C.2.b) Organisation de l'adulte .....	37
I.C.3) Anatomie interne.....	41
I.C.3.a) Système circulatoire .....	41
I.C.3.b) Système respiratoire .....	42
I.C.3.c) Système nerveux.....	43
I.C.3.d) Système digestif.....	44
I.D) Cycle de vie et développement.....	45
I.D.1) Développement embryonnaire .....	45
I.D.2) Développement post-embryonnaire .....	47
I.D.2.a) Développement des insectes amétaboles .....	47
I.D.2.b) Développement des insectes hétérométaboles.....	48
I.D.2.c) Développement des insectes holométaboles.....	49
I.E) Répartition géographique des insectes.....	50
I.F) Rôles des insectes .....	51
I.G) Impact de l'Homme sur les populations d'insectes et conséquences.....	52
I.G.1) Pollution et réchauffement climatique .....	52
I.G.2) Utilisation de pesticides .....	52
I.G.3) Introduction d'espèces .....	53
<i>II) Généralités sur l'ordre des Lépidoptères .....</i>	<i>55</i>
II.A) Définition du lépidoptère.....	55
II.B) Classification phylogénétique des lépidoptères.....	55
II.C) Cycle de vie et développement .....	58
II.D) Morphologie des lépidoptères.....	59
II.D.1) Morphologie de la larve.....	59



II.D.2) Morphologie de la nymphe .....	60
II.D.3) Morphologie de l'adulte.....	61
II.E) Reproduction des lépidoptères .....	63
II.E.1) Déroulement de la reproduction.....	63
II.E.2) Organes reproducteurs des lépidoptères .....	64
II.E.2.a) Organes reproducteurs des femelles .....	64
II.E.2.b) Organes reproducteurs des mâles .....	64
II.F) Répartition géographique des lépidoptères.....	65
II.G) Rôles des lépidoptères.....	65
II.G.1) Effets nuisibles pour l'homme.....	66
II.G.2) Rôles utiles.....	66
<b>PARTIE 2 : UTILISATION DES LEPIDOPTERES EN MEDECINE TRADITIONNELLE.....</b>	<b>68</b>
I) <i>La médecine traditionnelle</i> .....	68
I.A) Définition de la médecine traditionnelle.....	68
I.B) Utilisation des insectes en médecine traditionnelle.....	69
II) <i>Description de quelques espèces de lépidoptères utilisées en médecine traditionnelle</i> .....	71
II.A) Le Bombyx du mûrier ( <i>Bombyx mori</i> ).....	71
II.A.1) Classification.....	71
II.A.2) Répartition géographique .....	71
II.A.3) Cycle de développement .....	71
II.A.4) Aspect morphologique.....	73
II.A.4.a) Aspect de l'œuf.....	73
II.A.4.b) Aspect de la chenille .....	73
II.A.4.c) Aspect de la chrysalide.....	74
II.A.4.d) Aspect de l'imago.....	75
II.A.5) Parties utilisées/effets thérapeutiques.....	77
II.A.5.a) Utilisation des œufs.....	77
II.A.5.b) Utilisation des larves et dérivés de larves.....	77
II.A.5.c) Utilisation des chrysalides .....	80
II.A.5.d) Utilisation des cocons de soie .....	81
II.A.5.e) Utilisation des adultes.....	81
II.A.6) Composés actifs et leur origine.....	82
II.A.6.a) La 1-deoxynojirimycin.....	82
II.A.6.b) La beauvericine.....	84
II.A.6.c) La chlorophylline .....	85
II.B) <i>Antheraea pernyi</i> .....	87
II.B.1) Classification.....	87
II.B.2) Répartition géographique .....	87
II.B.3) Cycle de vie .....	88
II.B.4) Aspect morphologique.....	89
II.B.4.a) Aspect de l'œuf.....	89
II.B.4.b) Aspect de la chenille.....	90

II.B.4.c) Aspect de la chrysalide.....	91
II.B.4.d) Aspect de l'imago.....	92
II.B.5) Parties utilisées/effets thérapeutiques.....	93
II.B.5.a) Utilisation des œufs.....	93
II.B.5.b) utilisation des larves.....	93
II.B.5.c) Utilisation des chrysalides.....	94
II.B.5.d) Utilisation des adultes.....	94
II.B.6) Expérimentations et recherches scientifiques sur <i>Antheraea pernyi</i> .....	95
II.B.6.a) Sur les larves de <i>Antheraea pernyi</i> .....	95
II.B.6.b) Sur les chrysalides.....	96
II.B.6.c) Sur les adultes de <i>Antheraea pernyi</i> .....	97
II.C) <i>Thitarodes</i> .....	100
II.C.1) Classification.....	100
II.C.2) Répartition géographique.....	101
II.C.3) Cycle de vie.....	101
II.C.4) Aspect morphologique.....	103
II.C.4.a) Aspect de l'œuf.....	103
II.C.4.b) Aspect de la chenille.....	103
II.C.4.c) Aspect de la chrysalide.....	104
II.C.4.d) Aspect de l'imago (description générale du genre <i>Thitarodes</i> ).....	105
II.C.5) Utilisation en médecine traditionnelle.....	107
II.C.5.a) Parties utilisées.....	107
II.C.5.b) Effets thérapeutiques.....	109
II.C.6) Composés actifs et leur origine.....	110
II.C.6.a) La cordycépine.....	110
II.C.6.b) L'acide cordycépine.....	113
II.C.6.c) Les polysaccharides.....	113

### **PARTIE 3 : LES LEPIDOPTERES DANS LA RECHERCHE THERAPEUTIQUE..... 115**

I) <i>Production de protéines recombinantes</i> .....	115
I.A) Introduction.....	115
I.B) Le système de vecteur d'expression du baculovirus (BEVS).....	116
I.B.1) Baculovirus.....	116
I.B.1.a) Description.....	116
I.B.1.b) Cycle viral.....	116
I.B.1.c) Baculovirus utilisés.....	118
I.B.2) <i>Spodoptera frugiperda</i> : espèce de lépidoptère utilisée.....	118
I.B.2.a) Classification.....	118
I.B.2.b) Répartition géographique.....	118
I.B.2.c) Cycle de développement.....	119
I.B.2.d) Aspect morphologique.....	119
I.B.2.e) Parties utilisées pour la production de protéines recombinantes.....	121
I.B.3) Description de la technique.....	121

I.B.3.a) Formation d'un vecteur de transfert .....	122
I.B.3.b) Co-transfection dans les cellules Sf9 .....	123
I.B.3.c) Récolte et amplification des baculovirus recombinants .....	123
I.B.3.d) Production et purification des protéines recombinantes .....	125
I.B.4) Avantages et inconvénients de cette technique .....	125
I.B.4.a) Avantages .....	125
I.B.4.b) Inconvénients .....	126
I.C) Application à la production de vaccins .....	126
I.C.1) Production de Flublok® .....	127
I.C.2) Mécanisme d'action .....	128
I.C.3) Essais cliniques .....	128
I.C.3.a) Essai PSC01 .....	128
I.C.3.b) Essai PSC03 .....	129
I.C.3.c) Essai PSC04 .....	129
I.C.3.d) Essai PSC06 .....	129
I.C.3.e) Essai PSC11 .....	129
I.C.3.f) Résultats des essais cliniques .....	130
I.C.4) Avantages de Flublok® .....	130
I.C.5) Commercialisation .....	131
<i>II) Production de peptides anti-microbiens .....</i>	<i>133</i>
II.A) Définition des peptides anti-microbiens .....	133
II.B) Découverte de l'héliomicine .....	134
II.B.1) <i>Heliothis virescens</i> .....	134
II.B.1.a) Classification .....	134
II.B.1.b) Répartition géographique .....	134
II.B.1.c) Cycle de développement .....	134
II.B.1.d) Aspect morphologique .....	135
II.B.2) L'héliomicine .....	137
II.B.2.a) Structure de l'héliomicine .....	137
II.B.2.b) Mécanisme d'action de l'héliomicine .....	138
II.B.2.c) Activités de l'héliomicine .....	138
II.C) Découverte d'un homologue de l'héliomicine : le peptide Ard1 .....	138
II.C.1) <i>Archaeoprepona demophon</i> .....	138
II.C.1.a) Description et classification .....	138
II.C.1.b) Répartition géographique .....	139
II.C.1.c) Cycle de développement .....	139
II.C.1.d) Aspect morphologique .....	140
II.C.2) Peptide Ard1 .....	141
II.C.2.a) Structure de Ard1 .....	141
II.C.2.b) Mécanisme d'action de Ard1 .....	142
II.C.2.c) Activités de Ard1 .....	142
II.D) Développement de l'ETD-151 .....	142
II.D.1) Avant-propos .....	142

II.D.2) Structure de l'ETD-151 .....	143
II.D.3) Production de l'ETD-151 .....	143
II.D.4) Activités de l'ETD-151.....	144
II.D.5) Etudes précliniques.....	145
II.D.6) Abandon du projet.....	146
II.E) Avenir des peptides anti-microbiens.....	147
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>148</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>150</b>

# **INTRODUCTION**

Avec plus d'un million d'espèces recensées, les insectes forment le groupe contenant le plus grand nombre d'espèces répertoriées et estimées sur Terre, tous règnes confondus. La biomasse des insectes vivants à un instant donné sur Terre représenterait 20 à 30 fois le poids de toute l'humanité. Pourtant, ce sont toujours les plantes qui sont préférées et souvent utilisées pour l'élaboration et la recherche de traitements.

Les insectes ont souvent mauvaise réputation chez les occidentaux qui les voient comme des vecteurs de maladies et des destructeurs de récoltes uniquement, en oubliant leurs rôles bénéfiques dans l'environnement et la santé des écosystèmes. Dans le reste du monde, ils peuvent être consommés comme aliments ou utilisés comme remèdes de médecine traditionnelle, surtout en Asie, en Afrique et en Amérique du sud. Et ce depuis plus de 5000 ans.

Ce n'est que depuis les années 1990 que les insectes intéressent la médecine moderne dans la recherche thérapeutique. Ils possèdent des molécules d'intérêt thérapeutique qui proviennent soit de leur alimentation, soit de la sécrétion de molécules de défense dans leur corps. Ces molécules font l'objet de recherches par les scientifiques à travers le monde.

L'ordre des lépidoptères représente l'un des ordres d'insectes les plus évolués et comptant plus de 165000 espèces dans le monde. Ces insectes à développement complet sont, pour certains, sujets de nombreux articles scientifiques décrivant leur biologie, leurs utilisations traditionnelles ou encore les molécules d'intérêt thérapeutique qu'ils contiennent.

Au cours de cette thèse, seront abordées dans un premier temps les généralités concernant les insectes et plus précisément sur l'ordre des lépidoptères. Dans un deuxième temps seront décrites trois espèces de lépidoptères, leurs utilisations en médecine traditionnelle ainsi que les recherches faites sur les molécules et les extraits tirés de ces espèces. Et enfin, la place des lépidoptères dans la recherche thérapeutique sera abordée à travers deux exemples : la production de protéines recombinantes et la recherche sur les peptides antimicrobiens qui pourraient être une alternative aux traitements de souches résistantes de micro-organismes pathogènes.

# **PARTIE 1 : GENERALITES SUR LES INSECTES ET**

## **L'ORDRE DES LEPIDOPTERES**

### **I) Généralités sur les insectes**

#### **I.A) Définition**

Le mot insecte vient du latin « *insectum* » qui veut dire « coupé en sections ». C'est un animal invertébré articulé, respirant par des trachées et dont la tête est indépendante du thorax, qui comprend trois anneaux portant chacun une paire de pattes. Chez la plupart des espèces, l'adulte a des ailes, ce qui n'est le cas chez aucun autre animal invertébré. (Larousse, 2018)

Les insectes constituent une immense classe d'arthropodes (1 million d'espèces environ). Ils représentent plus de la moitié des espèces connues sur terre et près de 90% de la vie animale. Apparus sur Terre il y a environ 420 millions d'années, les insectes ont évolué dans une infinie diversité de formes, de couleurs, de modes de vie (individuel ou en colonie), et se sont adaptés à tous les environnements et écosystèmes de la planète. Ils sont également les seuls Invertébrés et Arthropodes à avoir acquis le vol. (Dajoz, 2010)

#### **I.B) Classification phylogénétique des insectes**

##### **I.B.1) Classification dans l'échelle du vivant**

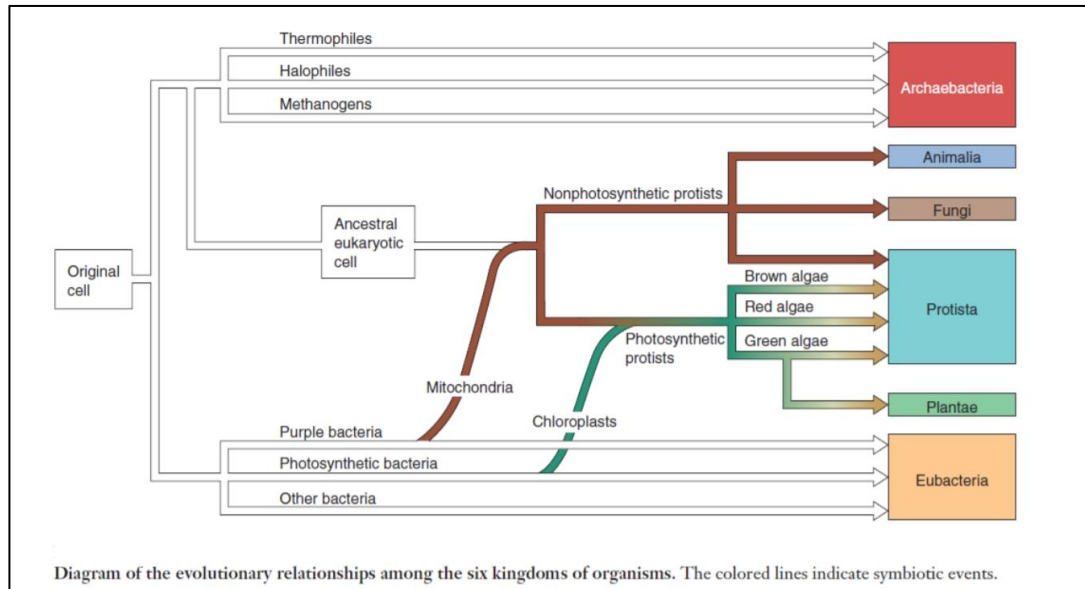
Dans le monde du vivant, on distingue les procaryotes qui sont des êtres unicellulaires dépourvus de noyaux, des eucaryotes dont les cellules possèdent un noyau.

Les Procaryotes forment le règne des Monères qui rassemble toutes les Bactéries, les Archées et les Cyanobactéries.

Intéressons-nous aux eucaryotes qui forment 4 règnes :

- Les Animaux ou *Animalia*
- Les Végétaux ou *Vegetalia*
- Les Mycètes ou *Fungi* qui rassemblent tous les champignons

- Les Protistes ou *Protista* qui sont des êtres unicellulaires, autrefois classés dans le règne des animaux : êtres vivants unicellulaires « atypiques ». On classe les protistes en fonction de leurs affinités végétales, animales ou fongiques : algues unicellulaires ou protophytes, animaux unicellulaires ou protozoaires et champignons unicellulaires ou levures. Toutefois, certains protistes présentent des caractéristiques intermédiaires entre deux règnes, ce qui les rend inclassables. (Ruggiero et al., 2015)



**Figure 1: Arbre de classification phylogénétique du vivant**

Les insectes font bien partie du règne des animaux.

Les insectes sont des métazoaires triploblastiques coelomates protostomiens ecdysozoaires arthropodes.

Métazoaire = c'est un animal pluricellulaire, aux cellules différenciées en tissus, groupées en systèmes fonctionnels ou organes. A la différence des protozoaires qui ne sont constitués que d'une seule cellule eucaryote. Les métazoaires sont mobiles et hétérotrophes (c'est-à-dire qu'ils utilisent de la matière organique pour se nourrir).

Triploblastique = cela signifie qu'au cours de leur développement embryonnaire, l'embryon s'organise en 3 feuilletts distincts : l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme (le mésoderme est absent chez les diploblastiques).

Coelomates = ils possèdent une cavité interne secondaire, appelée le coelome, qui est limitée par le mésoderme. C'est une cavité dans laquelle baignent la plupart des organes.

Protostomien = au cours du développement embryonnaire, la bouche se forme en premier (*protos*=premier ; *stoma*=bouche). Lors du développement, la mise en place des 3 feuillettes passe par l'invagination des cellules qui constitueront l'endoderme lors de l'étape de la gastrulation. Comme le tube digestif dérive de l'endoderme, le blastopore (orifice par lequel s'effectue l'invagination) est le point de départ de l'une des extrémités de ce tube. Lorsque le blastopore est à l'origine de la bouche, le développement est dit protostomien et lorsqu'il est à l'origine de l'anus, le développement est dit deutérostomien.

Ecdysozoaire = on les appelle aussi les cuticulés, leur développement post-embryonnaire s'effectue par une ou plusieurs mues de la cuticule (*ecdysis*=mue). Celle-ci constitue l'exosquelette de ces êtres-vivants, elle est sécrétée par l'épiderme qui lui, a perdu les cils locomoteurs. On les oppose aux lophotrochozoaires qui se développent en formant une larve trocophore qui, soit porte des rangées de cils autour de son axe, soit possède des lophophores qui sont des couronnes de tentacules ciliés autour de la bouche.

Arthropode = ce terme regroupe les animaux invertébrés ayant un squelette externe et des appendices articulés. Leur squelette est un exosquelette constitué notamment d'une molécule, la chitine. Celle-ci joue un rôle très important dans la résistance de ce squelette externe.

(Lecointre & Le Guyader, 2017)

L'embranchement des Arthropodes regroupe 4 sous-embranchements distincts :

- Les Crustacés : ex. : la crevette, le crabe, le cloporte...
- Les Arachnides : ex. : les araignées, les scorpions...
- Les Myriapodes : ex. : le mille-pattes, le scolopendre...
- Les Hexapodes : ce sous-embranchement regroupe 4 classes :
  - Les protozoaires



- Les diploures
- Les collemboles (autrefois considérés comme des insectes)
- Les insectes

(Lecointre & Le Guyader, 2017)

### **I.B.2) Classification interne des insectes**

Depuis 1974 et les travaux de Roth, les insectes étaient divisés en deux sous-classes :

- ❖ Les aptérygotes : insectes ne comportant pas d'ailes.
- ❖ Les ptérygotes : insectes ailés.

Plus récemment, avec les recherches de Brusca en 2003 et Ruggiero et Al en 2015, la classification des insectes a évolué. Ceux-ci sont classés en fonction de la présence d'ailes ou non, la position des ailes au repos et de leur mode de développement post-embryonnaire. La classe des insectes est divisée en trois sous-classes :

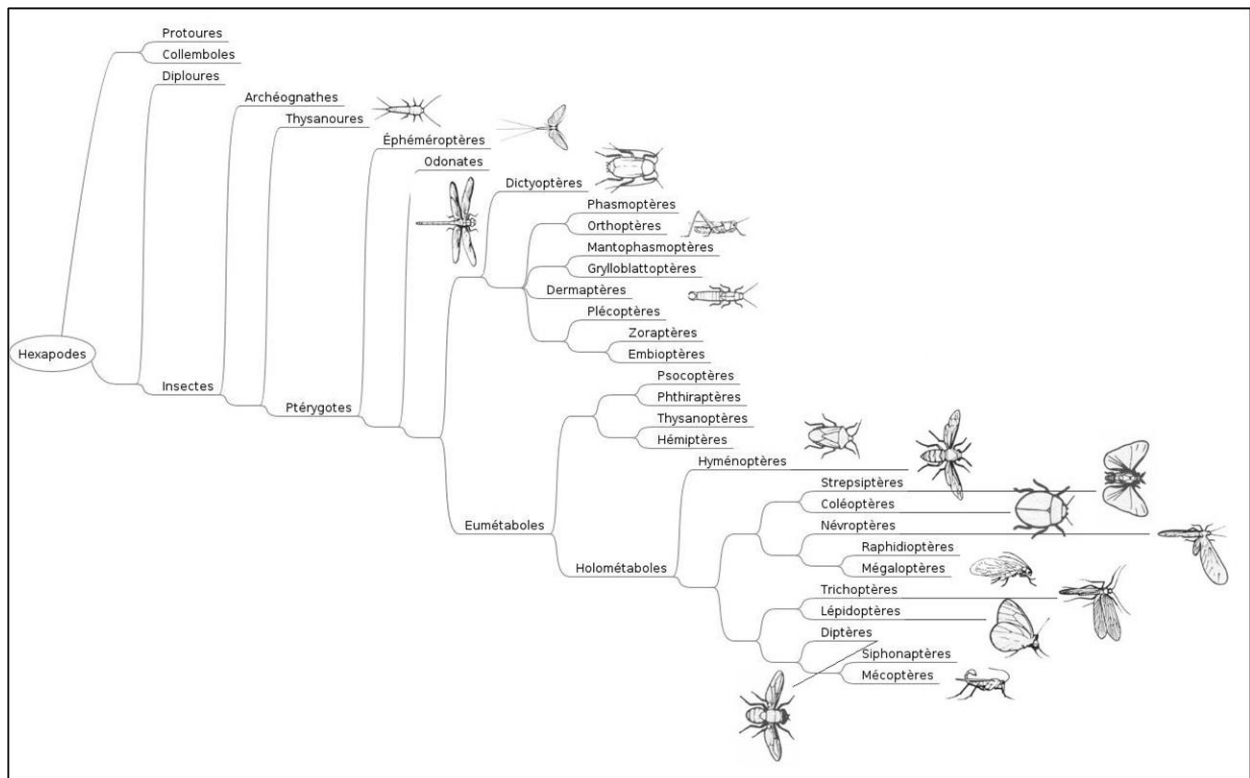
- ❖ Sous-classe des *Archaeognatha* dont le seul ordre représentatif est celui des Archéognathes. Ils sont aptérygotes.
- ❖ Sous-classe des *Zygentoma* ou *Dicondylia* dont le seul ordre représentatif est celui des Thysanoures. Ils sont également aptérygotes.
- ❖ Sous-classe des *Pterygota* : ce sont les ptérygotes. Ils comportent tous des ailes à l'état adulte. Ce groupe représente celui dont fait partie la majorité des insectes connus à ce jour.

Les ptérygotes sont séparés en deux infra-classes :

- Infra-classe *Palaeoptera* qui comprend deux ordres. Les représentants de cette classe n'ont pas la capacité de plier les ailes en arrière et ont un développement dit « hémimétabole » :
  - Les Epheméroptères dont font partie les éphémères.
  - Les Odonates représentés par les libellules.
- Infra-classe *Neoptera* : leurs ailes se replient en arrière au repos. Elle est composée de quatre super-ordres :
  - Super-ordre des *Neuropterida* rassemblant les ordres des Neuroptères, les Mégaloptères et les Raphidioptères.
  - Super-ordre des *Paraneoptera* dont font partie les ordres suivants : les Thysanoptères, les Phthiraptères (ex : les poux) et les Hémiptères (ex : la punaise).

- Super-ordre des *Polyneoptera* qui regroupe dix ordres : les Orthoptères (ex : le criquet), les Dermaptères (ex : le perce-oreille), les Grylloblattoptères, les Embioptères, les Blattoptères (ex : la blatte), les Plécoptères, les Zoraptères, les Mantophasmoptères, les Phasmiptères (ex : le phasme) et les Mantoptères (ex : la mante religieuse).
- Super-ordre des *Holometabola* : ils ont une métamorphose complète. Ils sont séparés en huit ordres : les Lépidoptères (ex : les papillons), les Strepsiptères, les Coléoptères (ex : la coccinelle), les Mécoptères (ex : les panorpes), les Trichoptères, les Diptères (ex : les mouches), les Siphonaptères (ex : la puce) et les Hyménoptères (ex : la guêpe).

(Ruggiero et al., 2015)

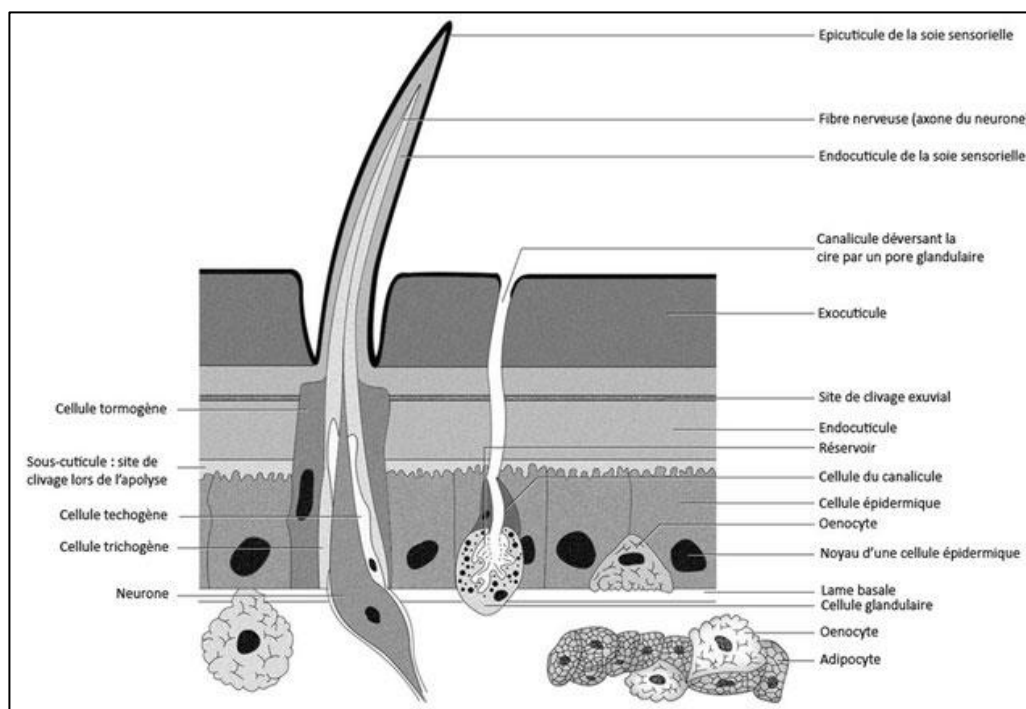


**Figure 2 : Arbre phylogénétique des hexapodes**

## I.C) Morphologie

### I.C.1) Organisation tissulaire externe

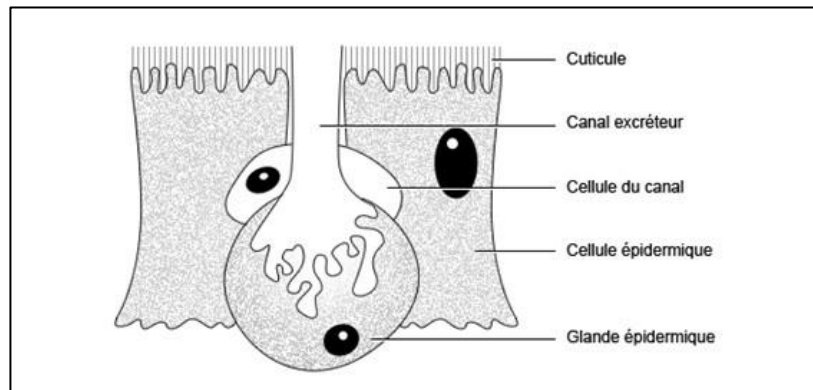
L'enveloppe d'un insecte est composée d'un épiderme et d'une cuticule (par-dessus). La cuticule forme un véritable exosquelette très résistant. On y trouve également des soies.



**Figure 3: Organisation tissulaire : schéma d'une coupe de tégument d'insecte**

#### I.C.1.a) L'épithélium

Il est aussi dénommé épiderme, hypoderme ou encore épithélium cubique unistratifié. Il représente la « peau » de l'insecte. Il est constitué d'une couche de cellules de formes cubiques qui reposent sur une lame basale percée de pores permettant le passage de protéines de l'hémolymphe, le « sang » de ces êtres-vivants. Cette lame basale est composée de protéines et de glycoprotéines et forme une séparation avec l'hémocoèle, la cavité contenant l'hémolymphe.



**Figure 4: Organisation et composition de l'épithélium d'un insecte**

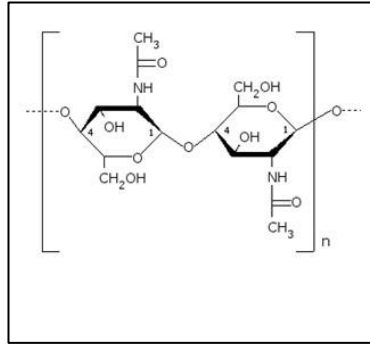
L'épithélium est composé également d'un deuxième type de cellules, les glandes épidermiques qui sont prolongées par un canal se terminant au-dessus de la cuticule. Les cellules épithéliales sont les plus nombreuses, elles portent des microvillosités réduites mais aussi des plaques à l'origine d'épaississements du cytoplasme, l'endroit où a lieu la dernière étape de la synthèse de chitine.

Au niveau apical, des canaux vont se ramifier en canaux ciriers. Certains vont arriver jusqu'au côté apical de la cuticule et vont y déverser la cire. La présence de ces canaux donne un aspect strié à la cuticule.

Un autre type de cellules, les oenocytes, produisent la cire qui passe par les canaux poraires, provenant des cellules épidermiques, qui traversent toute l'épaisseur de la procuticule. Ces canaux poraires prendront le nom de ciriers lorsqu'ils passeront dans l'épicuticule.

### **I.C.1.b) La cuticule**

L'épiderme fabrique la cuticule. La cuticule est composée de chitine (environ 50%) et de protéines tannées. La chitine est un polysaccharide azoté et acétylé qui demeure souple lorsqu'elle n'est pas associée à des protéines.



**Figure 5 : Molécule de chitine**

La cuticule est composée de deux couches principales : l'épicuticule et la procuticule.

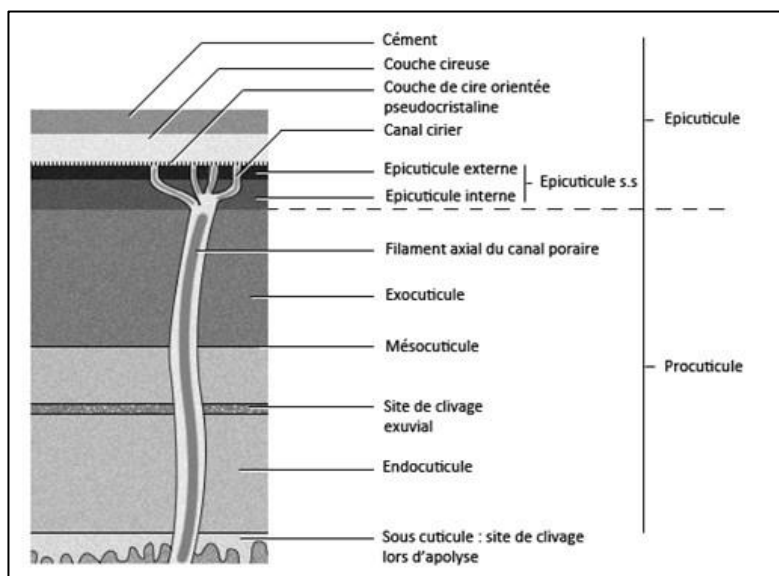
L'épicuticule est la partie la plus en surface qui est donc en contact avec le milieu extérieur. Elle mesure entre 2 et 3  $\mu\text{m}$ . Cette couche est imperméable et constituée de trois sous-couches :

- Le ciment : il mesure environ 1  $\mu\text{m}$  et se compose de lipoprotéines tannées produites par les glandes épidermiques.
- La couche cireuse : elle mesure entre 0,5 et 1  $\mu\text{m}$  et est constituée de paraffine, d'acides gras et d'alcools à longues chaînes limitant les pertes en eau.
- L'épicuticule au sens strict : elle mesure environ 0,5  $\mu\text{m}$ . Elle est composée de lipoprotéines tannées, de quinones et de cuticuline. La cuticuline est importante car elle résiste à l'action des solvants organiques et aux acides minéraux. Cette sous-couche sert à la fixation des muscles mais aussi à la transmission des phéromones qui sont, on le verra par la suite, des signaux chimiques.

La procuticule se partage en deux sous-couches :

- L'exocuticule : c'est une couche pré-exuviale, c'est-à-dire qu'elle est sécrétée avant la mue. Elle est composée de chitine, un dimère de glucosamine se polymérisant en filaments dans l'hémolymphe. La chitine est une molécule souple de base mais sur celle-ci se greffent des protéines ou autres molécules. Parmi ces molécules se greffant à la chitine, on retrouve beaucoup de sclérotine (présente à 80%) qui représente le principal élément rigide de la cuticule. La chitine est donc associée à une protéine tannée, la sclérotine, qui confère une forte rigidité à l'exocuticule.
- L'endocuticule : elle est encore plus riche en chitine, donc plus souple que l'exocuticule. Dans cette sous-couche, la chitine est associée à l'arthropodine qui est une protéine souple.

Enfin, la procuticule est séparée de l'épiderme par une couche secondaire que l'on nomme « sous-cuticule » constituée de mucopolysaccharides acides. Son rôle n'est pas encore connu à ce jour mais l'on suppose qu'elle sert dans l'équilibre ionique, l'osmorégulation de l'organisme.



**Figure 6 : Schéma d'une coupe de cuticule d'un insecte**

La conséquence de la présence de cette cuticule est que l'exosquelette d'un insecte est très rigide et résistant. C'est pourquoi un insecte faisant une chute de plusieurs mètres restera en vie si l'on prend en compte que son poids est minime.

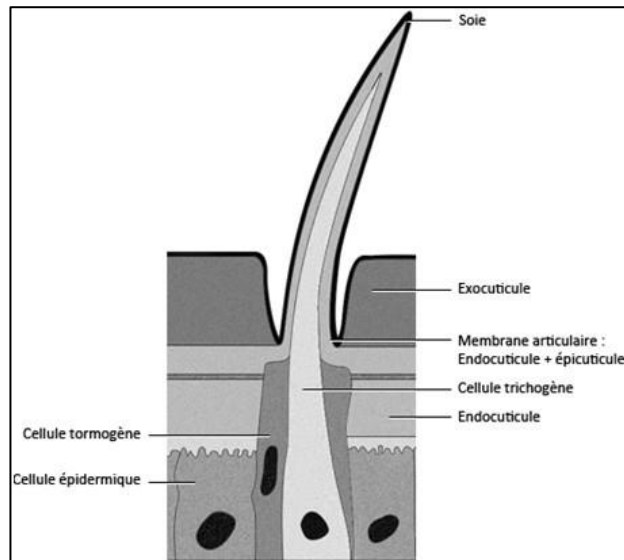
Cependant, les mouvements des différents segments qui composent ces êtres vivants ne sont possibles que grâce aux membranes articulaires où la cuticule est amincie et dépourvue d'exocuticule. Il existe donc des zones souples qui permettront les mouvements et l'articulation entre les différents métamères (segments). Par exemple, l'abdomen des femelles doit subir des variations de volume avant la ponte et ceci n'est possible que grâce à ces amincissements de la cuticule.

### I.C.1.c) Les soies

Chez certains insectes, la cuticule peut comporter des baguettes chitineuses que l'on appelle « les soies ». Elles ont différents rôles comme protéger l'organisme, récolter le pollen mais aussi des rôles sensoriels ou encore ornementaux.

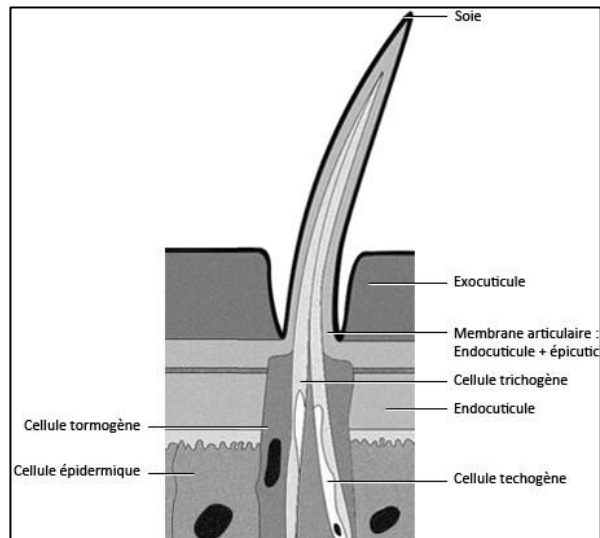
On distingue plusieurs types de soies :

- Les soies pleines : elles sont ornementales ou protectrices et sont sécrétées par une cellule trichogène protégée d'une cellule tormogène la qui l'entoure.



**Figure 7 : Schéma d'une coupe de soie pleine**

- Les soies sensorielles : elles sont comme les soies pleines mais reliées à une cellule nerveuse, d'abord entourée par une cellule téchogène puis trichogène et enfin tormogène. Ces cellules nerveuses ont un rôle dans les fonctions gustatives ou olfactives. On les appelle également sensilles.



**Figure 8 : Schéma d'une coupe de soie sensorielle**

### **I.C.3) Organisation macroscopique**

Que ce soit la larve ou l'adulte, le corps des insectes est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen.

Si l'on ne parle que de l'adulte, ces 3 segments sont bien distincts. La tête comprend une paire d'antennes, le thorax comprend 3 paires de pattes (c'est pour cela qu'ils font partie des hexapodes) et 2 paires d'ailes en général (certains insectes primitifs n'en n'ont pas ou les ont perdues au cours de leur développement), et l'abdomen est composé de segments (11 au maximum).

#### **I.C.2.a) Organisation de la larve**

(Beaumont et al., 2004; Dajoz, 2010; Fraval, 2011; Lecoindre & Le Guyader, 2017; Poinsot et al., 2018)

Les larves d'insectes sont généralement composées, comme les adultes, de trois parties distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen.

-La tête : elle contient les antennes et les pièces buccales, le plus souvent de type broyeur.

-Le thorax : il comprend trois paires de pattes bien ou peu développées, réduites voire parfois absentes.

-L'abdomen : constitué d'anneaux, comportant parfois de fausses pattes.



Il est difficile de parler d'organisation macroscopique pour une larve d'insecte tant les formes sont nombreuses et diffèrent en fonction des ordres et des modes de développement.

L'œuf donne naissance à la larve. Pour ce faire, elle remue, se gonfle d'air (ou d'eau pour les larves aquatiques) et la paroi de l'œuf appelée « chorion » cède. Puis, la larve s'en extirpe. Certaines larves éclosent entourées d'une membrane qu'elles vont rompre par la suite.

La larve grandit au fur et à mesure des mues successives, abandonnant à chaque fois une exuvie et acquérant des caractères nouveaux propres à son stade.

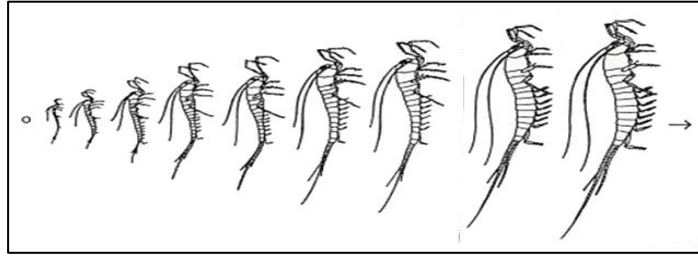
Pour beaucoup d'entre elles, les larves sont molles et des soies ornent très souvent leur cuticule.

Elles possèdent, pour la plupart, une tête différenciée et trois paires de pattes thoraciques. Certaines ont des antennes. Elles ont des pièces buccales et des modes d'alimentation très variés. On les retrouve dans tous les milieux, ce qui explique la multitude de formes différentes et les appendices retrouvés chez les uns et non les autres.

Leur système respiratoire est constitué de deux troncs longitudinaux reliés à l'extérieur du corps par des trachées débouchant au niveau de stigmates (en général, il y en a une paire par segment). La disposition de ces orifices caractérise les larves :

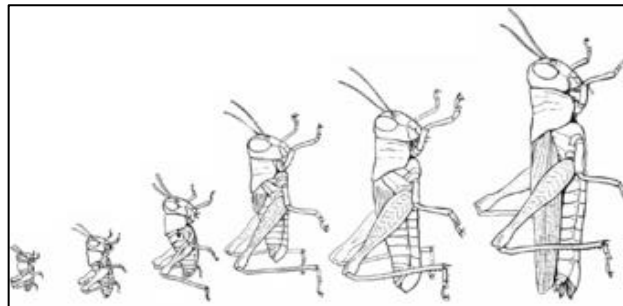
- Les larves apneustiques : elles n'ont pas de stigmates et respirent à l'aide de trachéobranches internes ou externes ou à travers le tégument (ex : larves aquatiques de l'ordre des Odonates).
- Les larves amphipneustiques : elles possèdent une paire de stigmates sur le thorax et une autre paire à l'extrémité de l'abdomen.
- Les larves métapneustiques : elles n'ont qu'une seule paire de stigmates se trouvant à l'extrémité de l'abdomen ou sur le prolongement de celui-ci.

Chez certains insectes, la larve ressemblera à l'adulte au travers de toutes ses mues mais sauf par la taille et parfois la couleur. Ex : chez les Archéognathes.



**Figure 9 : Schéma du développement larvaire des Archéognathes**

Chez d'autres insectes, la larve ressemblera aussi à l'adulte. Elle grandira au fil des stades larvaires au cours desquels les ailes apparaîtront sous forme d'ébauches de plus en plus proéminentes. Au cours de la dernière mue apparaîtront les caractères sexuels. Ex : chez les Orthoptères dont fait partie le criquet.



**Figure 10 : Schéma du développement larvaire du criquet**

Pour finir, chez les insectes les plus évolués, la larve sera bien différente de l'adulte. Pour ce cas, les formes rencontrées sont diverses. En voici quelques exemples.

### **Chez les Coléoptères :**

- Les larves campodéiformes : elles sont aussi appelées « larves triongulins » car elles possèdent trois paires de fortes pattes thoraciques se terminant par un ongle conique. Elles ont de longues antennes et deux cerques qui sont des appendices retrouvés à l'extrémité de l'abdomen. Leurs anneaux sont bien chitinisés. Elles sont carnassières et bien agiles. Ex : la larve de dytique.
- Les larves type « fil de fer » : elles ont un corps allongé très raide. On les retrouve dans le bois, la terre, la farine. Ex : le ver de farine.

- Les larves cérambycoïdes : on les appelle aussi « larves marteau ». Elles ont un corps mou, une tête sclérifiée rigide, enfoncée dans le prothorax. Leurs pattes sont réduites ou absentes. Leur abdomen forme des bourrelets saillants. Leur zone antérieure est très élargie. Ex : chez les cérambycidés.
- Les larves mélolonthoïdes : leur corps est mou sauf la tête et le prothorax. Leur abdomen est épais et disposé en arc de cercle. Leur tégument est translucide. Leurs pattes sont assez grandes. Ex : chez les scarabées.

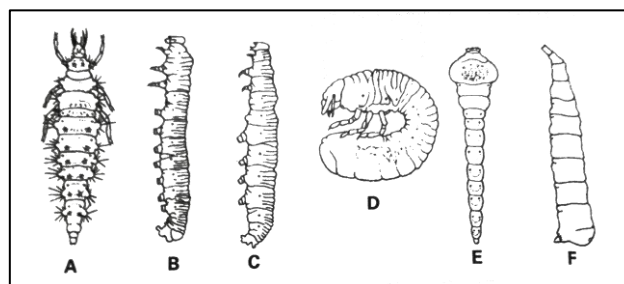
### **Chez les lépidoptères :**

Les larves sont de type éruciforme, c'est-à-dire « ressemblant à une chenille ».

Ce sont les chenilles. Elles comportent trois paires de vraies pattes thoraciques courtes et de fausses pattes sur l'abdomen. Ex : les papillons.

### **Chez les hyménoptères :**

Soit leur larve est de type éruciforme, soit de type vermoïde : la tête est mal individualisée, les pattes sont réduites ou absentes et leur corps est mou. Souvent, les mandibules sont formées de crochets. Ex : les larves d'abeilles.



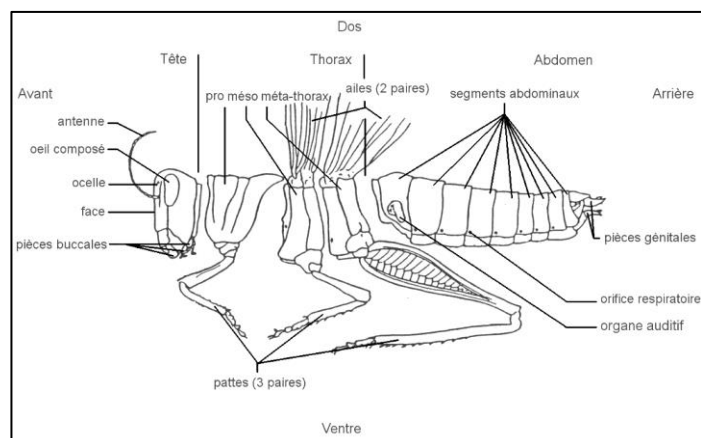
**Figure 11 : A : Larve campodéiforme. B-C : Larves éruciformes. D : Larve mélolonthoïde. E : Larve cérambycoïde. F : Larve vermiforme**

(Beaumont et al., 2004)



## **I.C.2.b) Organisation de l'adulte**

(Beaumont et al., 2004; Poinot et al., 2018)

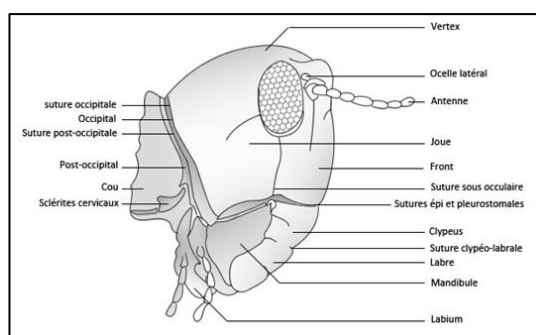


**Figure 15 : Schéma de l'organisation macroscopique d'un insecte adulte**

### **La tête :**

C'est la zone des sens, de la perception sensorielle et de la prise alimentaire.

Connue sous le nom de capsule céphalique, elle forme un ensemble d'appendices adaptés à la nutrition (mandibules, palpes, maxilles, labium...) et à la perception sensorielle (yeux, ocelles, antennes).

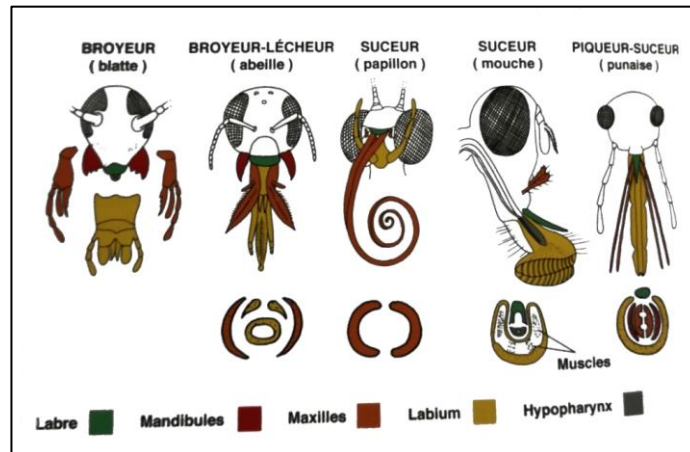


**Figure 16 : Schéma d'une tête d'insecte adulte de profil**

La forme de ces appendices buccaux est extrêmement variable d'une famille à une autre mais le schéma de base reste le même :

- Le labre : lèvre supérieure.
- Une paire de mandibules : mâchoires.
- Une paire de maxilles.
- Le labium : lèvre inférieure munie de palpes labiaux. Il résulte de la fusion de la 2<sup>ème</sup> paire de maxilles.

- L'hypopharynx : il sert de langue. C'est là où arrivent les conduits salivaires.



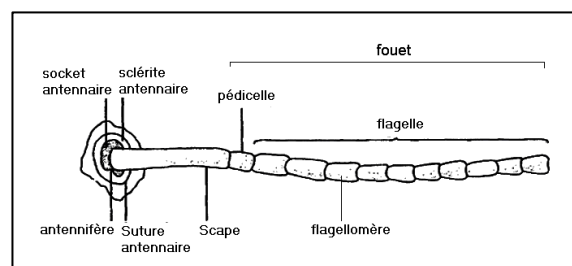
**Figure 17 : Schéma des différentes pièces buccales d'insectes**

(Poinsot et al., 2018)

Les yeux sont composés. Ils sont constitués d'un ensemble de récepteurs à la lumière que l'on appelle les ommatidies. Une ommatidie est constituée d'une cornée transparente recouvrant la rétine, un ensemble de cellules nerveuses projetant des microvillosités vers le centre où se trouvent les pigments photorécepteurs. Ces derniers transforment l'information lumineuse en influx nerveux.

Les antennes sont bien développées et sont formées de nombreux segments. Ce sont des organes sensoriels qui ont un rapport étroit avec les sens de l'odorat (surtout celui-ci), du toucher et du goût. Les antennes sont généralement constituées de 3 parties :

- Le scape : c'est un segment épais comprenant des muscles intrinsèques permettant à l'antenne de se mouvoir dans tous les sens.
- Le pédicelle : il n'a pas de muscles propres. Il est court et contient l'organe de Johnston (un organe sensoriel).
- Le flagelle (ou fouet) : il est formé de nombreux sous-articules qui peuvent aller jusqu'au nombre de 60.



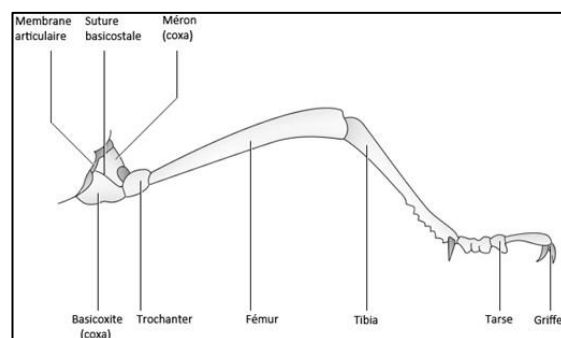
**Figure 18 : Schéma d'une antenne d'insecte adulte**

Les ocelles : ce sont des yeux simples des insectes adultes qui permettent de capter les variations d'intensité lumineuse. L'adulte en comporte généralement entre 1 et 3.

### **Le thorax :**

Il est situé entre la tête et l'abdomen. C'est la partie locomotrice du corps de l'insecte. Il porte les 3 paires de pattes, les 2 paires d'ailes ainsi que les muscles locomoteurs. Le thorax est composé de trois segments successifs : le prothorax, le mésothorax et le métathorax. Ces deux derniers forment le ptérothorax, ils sont plus ou moins soudés et portent les ailes.

Les pattes sont attachées au thorax par une membrane articulaire. Celle-ci sépare donc le thorax de la première partie de la patte, le coxa. Ce dernier est la hanche de l'insecte qui est reliée au trochanter suivi du fémur et du tibia. Le trochanter contient des muscles utiles pour rétracter le fémur. La patte est terminée par le tarse constitué d'un nombre variable de sous-segments, et les griffes.



**Figure 19 : Schéma d'une patte d'insecte adulte**

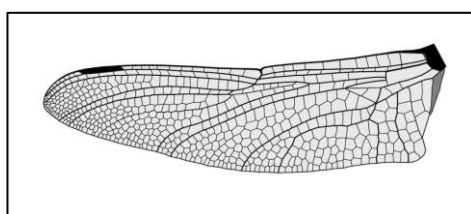
Les pattes prennent des formes diverses répondant aux besoins vitaux tels que la marche, la capture, l'enfouissement ou encore le saut. Tout dépend des habitudes de vie de l'espèce qui les porte.

Pour une espèce donnée, la forme des 3 paires est généralement différente car les fonctions de ces 3 paires sont elles-mêmes différentes. Par exemple, pour la mante religieuse, la première paire de pattes est ravisseuse tandis que les deux autres sont locomotrices. Le changement concerne souvent la première paire de pattes mais pas

seulement. Par exemple chez la puce, c'est la troisième paire qui change car elle est adaptée au saut.

Les ailes : la majorité des insectes est capable de voler (mis à part certains insectes primitifs et ceux qui ont perdu cette faculté lors de leur évolution) mais la structure des ailes n'a rien d'égal à celle des oiseaux. Chez les insectes, les ailes sont des organes à part entière.

Elles sont composées de deux couches cuticulaires assemblées et soutenues par un ensemble de nervures organisées en réseau. Dans les nervures principales passent des fibres nerveuses, l'hémolymphe ainsi que des trachées permettant l'oxygénation de l'organe.



**Figure 20 : Schéma d'une aile d'insecte adulte**

Les ailes ont des spécialisations très développées ce qui entraîne de grandes différences dans leurs formes et leurs utilisations. Par exemple, les libellules ont de grandes et fines ailes adaptées au vol rapide, de longue durée. Chez les coléoptères (scarabée, coccinelle...), la paire antérieure est épaissie, rigide et opaque, son rôle est protecteur.

### **L'abdomen :**

C'est la partie généralement la plus volumineuse du corps d'un insecte. Il renferme les viscères et les portions les plus importantes des différents appareils tels que l'appareil digestif, le cœur, une partie de l'appareil respiratoire mais surtout l'appareil reproducteur. Il est formé de segments secondaires que l'on appelle les anneaux.

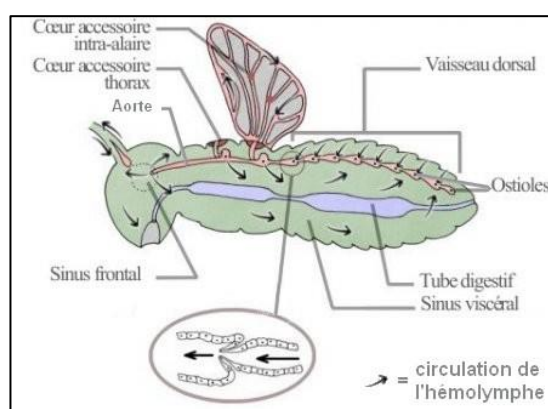


### **I.C.3) Anatomie interne**

#### **I.C.3.a) Système circulatoire**

À l'inverse de celui des Vertébrés, le système circulatoire des insectes est ouvert. Le sang des insectes, appelé hémolymphe, remplit l'hémocoèle (cavité générale du corps de l'insecte, protégée par la cuticule), circule librement et baigne les muscles et les organes. L'hémolymphe distribue les métabolites, hormones, eau et déchets aux organes concernés. Elle est constituée de plasma et d'hémocytes en suspension qui sont des cellules impliquées notamment dans l'immunité de l'insecte.

L'hémolymphe est pompée vers l'avant de l'insecte au travers du vaisseau dorsal pulsatile qui représente le cœur de l'insecte. La partie antérieure, à la hauteur de la tête et du thorax, forme l'aorte dorsale. Celle-ci est suivie de dilatations nommées « chambres cardiaques » ou « ampoules pulsatiles », dans chaque segment abdominal (il y en a en général 10). Le vaisseau dorsal se rétrécit ensuite et se ferme au niveau du dixième segment abdominal. Chaque chambre cardiaque a une paire d'ouvertures latérales, les ostioles, par lesquelles l'hémolymphe entre afin d'être pompée vers l'avant. Les chambres cardiaques commencent et se terminent par une valve au travers de laquelle l'hémolymphe est pompée et empêche son retour vers le bulbe précédent. Le rôle du vaisseau dorsal est donc de brasser l'intérieur du corps pour que l'hémolymphe circule et irrigue tous les organes vitaux. Les effets du vaisseau dorsal et la pression engendrée par les mouvements du corps de l'insecte assurent le débit de l'hémolymphe. Afin de mieux distribuer le sang par endroits, des cœurs auxiliaires agissent comme des pompes secondaires. Ils se retrouvent dans le thorax, au niveau des ailes et des pattes.



**Figure 21 : Schéma du système circulatoire général d'un insecte**

D'autres cellules forment un tissu tapissant les parois de l'hémocoèle que l'on appelle le corps gras de l'insecte. Ce tissu est dérivé du mésoderme embryonnaire. Il prend plus ou moins de place dans l'hémocoèle en fonction des espèces. Sa fonction s'apparente à celle du foie chez les Vertébrés. C'est un organe de stockage de triglycérides, mais également de glucides. Il intervient également dans le système immunitaire de l'insecte.

Les hémocytes et le corps gras produisent et sécrètent des peptides antimicrobiens en cas d'infection par des micro-organismes.

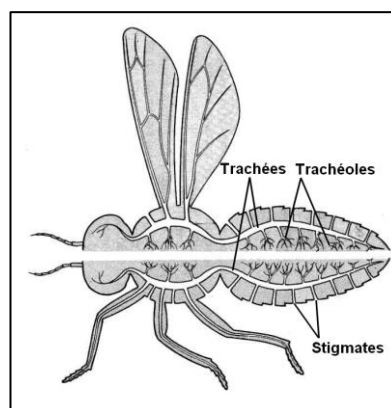
### **I.C.3.b) Système respiratoire**

L'insecte n'est pas muni de poumons ni de branchies. Il respire par un système interne de trachées se divisant en trachéoles et apportant directement l'air aux cellules des organes. L'air est conduit dans les tissus sous forme gazeuse. Les insectes ne comportent pas de pigments pour transporter l'oxygène comme chez les humains. Les trachées sont des invaginations du tégument. Lorsque l'insecte mue, la cuticule chitineuse, tapissant les parois internes du réseau de trachées, est renouvelée.

Le corps des insectes est percé de minuscules trous, les stigmates, par lesquels l'air parvient aux trachées. Les stigmates se retrouvent de chaque côté des segments abdominaux et thoraciques.

Comme les humains, les insectes respirent de l'O<sub>2</sub> et rejettent du CO<sub>2</sub>.

L'expiration (le rejet de CO<sub>2</sub>) est active et se fait grâce à la contraction des muscles abdominaux. La chitine étant élastique, elle reprend sa forme une fois l'action des muscles terminée : l'inspiration est donc passive.



**Figure 22 : Schéma du système respiratoire général d'un insecte**

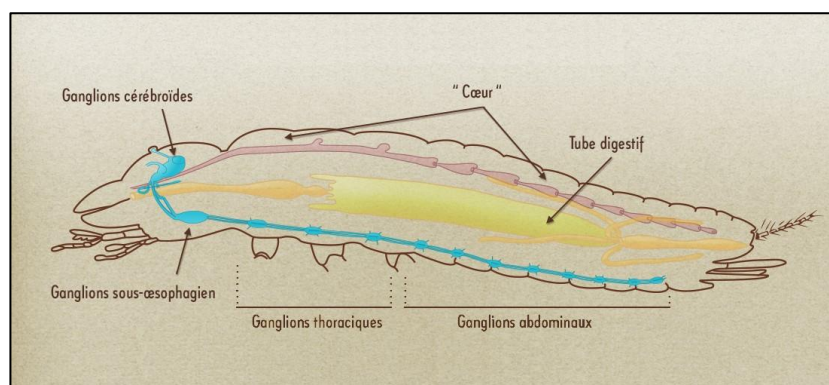
### I.C.3.c) Système nerveux

Le système nerveux chez les insectes est ventral par rapport au tube digestif sauf dans la région de la tête. C'est pourquoi on dit qu'ils sont hyponeuriens. Ce système nerveux consiste en une chaîne de paires de ganglions (une paire par segment) reliés entre eux par des commissures transversales et reliés aux autres paires de ganglions par des connectifs longitudinaux.

Dans la région de la tête, trois paires de ganglions (le protocérébron, le deutocérébron et le tritocérébron) sont fusionnées pour former le cerveau (nommés également « ganglions cérébroïdes »). Le protocérébron est en liaison avec les yeux composés et les ocelles, le deutocérébron avec les antennes et le tritocérébron avec le labre.

Le ganglion sous-œsophagien contrôle plus particulièrement les pièces buccales et les muscles de la tête.

Les ganglions ventraux innervent chaque segment du corps et peuvent être considérés comme des centres nerveux locaux qui contrôlent les muscles et les organes sensoriels dans différentes parties du corps. On peut dire ainsi que le système nerveux central est délocalisé même si le cerveau assure la coordination des mouvements.



**Figure 23 : Schéma du système nerveux général d'un insecte et sa place par rapport au tube digestif et au cœur**

### **I.C.3.d) Système digestif**

Le système digestif général d'un insecte est constitué d'un tube digestif, de glandes annexes et d'organes excréteurs. Chez les espèces végétariennes, le tube digestif est plus long que chez les zoophages. Chez les larves, le tube digestif est plus simple et plus court que celui des adultes.

Le tube digestif ressemble à un simple conduit qui relie la bouche à l'anus. En fonction des différents régimes alimentaires, il est sujet à de grandes variations mais se compose communément de trois grandes parties :

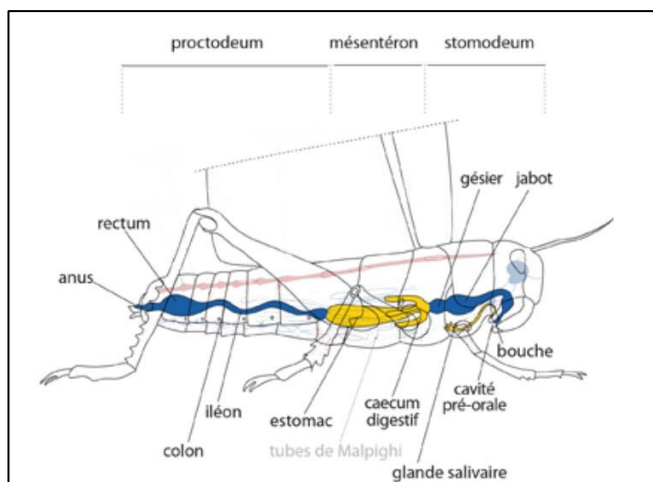
- Le stomodeum ou intestin antérieur : on le retrouve à l'avant du corps de l'insecte. Sa fonction est le stockage et la digestion mécanique des nutriments. Il commence par la cavité buccale, suivie du thorax puis de l'œsophage. Souvent, il est continué par un jabot qui sert de premier stockage des nutriments et d'un gésier qui en assure la trituration.
- Le mésentéron ou l'intestin moyen : il est au centre du corps et son rôle est la digestion enzymatique et l'absorption des nutriments.
- Le proctodeum ou l'intestin postérieur : il se retrouve à l'arrière du corps. Il est constitué d'un iléon musculéux, d'un côlon et d'un rectum terminé par l'anus. Le proctodeum sert à produire les excréments et à les éliminer. Le rectum a pour fonction de réabsorber l'eau contenue dans les excréments.

Le stomodeum et le proctodeum proviennent de l'ectoderme embryonnaire. C'est pourquoi ils sont recouverts de cuticule. Le mésentéron a une origine endodermique.

À la limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur, débouchent des organes excréteurs filamenteux appelés « tubes de Malpighi ». Ceux-ci baignent dans l'hémolymphe. Ce sont des évaginations de la partie terminale du tube digestif, de forme tubulaire et de structure apparentée à celle des néphrons des vertébrés. Ils absorbent les ions de l'hémolymphe et filtrent les déchets azotés de façon à les éliminer du corps de l'insecte. Ils sont donc essentiels aux fonctions d'excrétion et d'osmorégulation.

Au niveau des pièces buccales, les glandes labiales ou salivaires ont pour fonction de sécréter la salive impliquée dans la digestion des nutriments, dans les mécanismes de défense de l'insecte ou encore dans la sécrétion de phéromones. Chez certaines

espèces, ces glandes sont utilisées pour produire et filer de la soie. On les trouve donc sous le nom de « glandes séricigènes ».

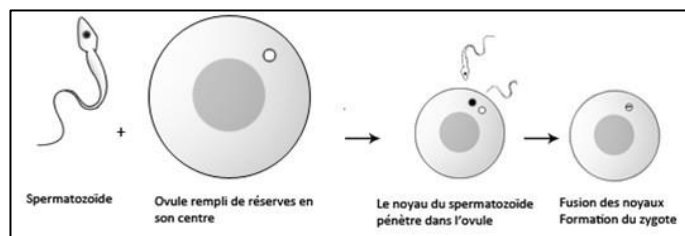


**Figure 24 : Schéma du tube digestif général d'un insecte**

## **I.D) Cycle de vie et développement**

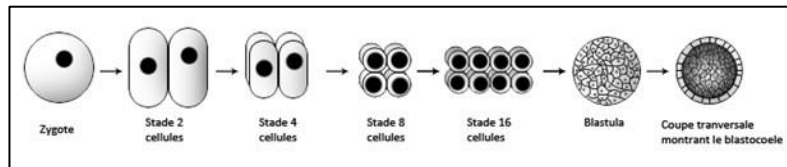
### **I.D.1) Développement embryonnaire**

Lors de la fécondation, le spermatozoïde et l'ovule fusionnent, conduisant à la formation d'une cellule œuf que l'on nomme le zygote.



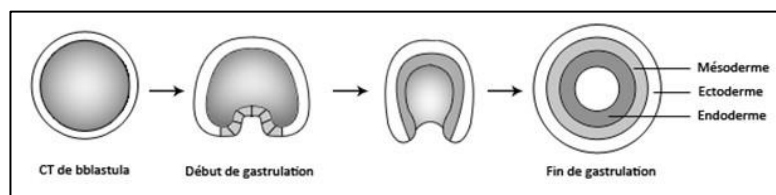
**Figure 25 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (1/4)**

Le zygote se divise plusieurs fois pour devenir un embryon (la blastula, ayant une cavité appelée le blastocoele).



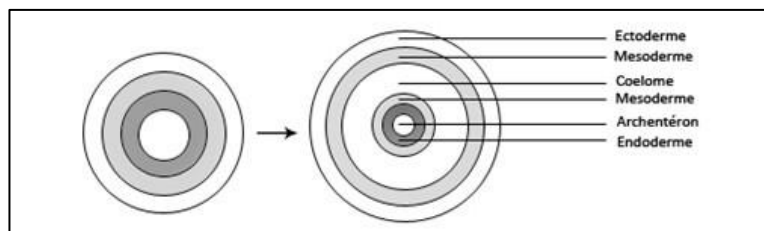
**Figure 26 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (2/4)**

Comme je l'ai évoqué précédemment, les triploblastiques que sont les insectes passent par la formation de 3 feuilletts embryonnaires. En effet, lors de l'étape de la gastrulation, les cellules de la blastula migrent dans le blastocoele. L'invagination de ces cellules est à l'origine de l'ectoderme, l'endoderme et le mésoderme.



**Figure 27 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (3/4)**

C'est à cette étape qu'apparaît la formation du coelome.



**Figure 28 : Schéma du développement embryonnaire d'un insecte (4/4)**

Les métamères (segments du corps de l'insecte) correspondent, tout le long du corps, à la répétition de la même organisation cellulaire autour d'une paire de cavités coelomiques. À partir du moment où les métamères sont formés, les parois des cavités coelomiques vont se dissocier et fusionner avec le blastocoele pour former une nouvelle cavité : l'hémocoele. Dans celle-ci va circuler l'hémolymphe qui correspond au « sang » des insectes. Chez l'adulte, il ne restera pour finir que des vestiges du coelome, notamment au niveau des cavités des glandes génitales et de certains

organes excréteurs. En règle générale, les cavités du coelome chez l'adulte vont disparaître pour laisser place aux muscles.

Chaque métamère est encadré par plusieurs plaques squelettiques :

- Le tergite, qui est une plaque dorsale
- Le sternite, étant une plaque ventrale
- Et deux pièces latérales souvent fusionnées : la pleurite dorsale et l'épimérite ventrale.

Sur le plan d'organisation de l'embryon, on distingue l'acron, le tronc et le telson. L'acron et le telson ne sont pas des métamères. Ils ne contiennent pas de coelome. L'acron n'est pas forcément visible, par contre, le telson l'est toujours. Le telson n'a pas de ganglions nerveux, il porte l'anus.

### **I.D.2) Développement post-embryonnaire**

Il permet de passer des formes provisoires juvéniles que sont les larves, juvéniles ou nymphes, à des formes définitives que sont les adultes ou insectes parfaits (=imago).

Le développement de la larve à l'adulte s'accomplit grâce à deux processus :

- Les mues : elles permettent la croissance par le remplacement de la cuticule en une autre plus volumineuse. Le processus d'élimination de l'ancienne cuticule est appelé exuviation. La nouvelle cuticule ainsi formée est plus souple que l'ancienne, ce qui permet la croissance du corps de la larve, chaque larve étant plus grande que la précédente. Il existe plusieurs mues au cours de la croissance d'un insecte.
- La métamorphose : chez certains insectes, à un moment donné, une mue s'accompagne d'une métamorphose qui donne des changements morphologiques et physiologiques (caractères sexuels, ailes...etc).

Il y a donc différents modes de développement au sein de la classe des insectes. On distingue les insectes amétaboles des hétérométaboles et des holométaboles.

#### **I.D.2.a) Développement des insectes amétaboles**

Ces insectes primitifs n'ont pas de stades larvaires mais plutôt des stades juvéniles. C'est-à-dire, de l'œuf naît un jeune animal tout à fait semblable à l'adulte mais en plus petit. Il va subir des mues pour grossir. La dernière mue sera celle de la « puberté ». Elle marquera son passage à l'état adulte.

C'est l'exemple de l'ordre des Thysanoures dont fait partie le poisson d'argent. Ces insectes sont d'autant plus primitifs qu'ils n'ont pas d'ailes. C'est pourquoi ils sont qualifiés d'« aptérygotes ».

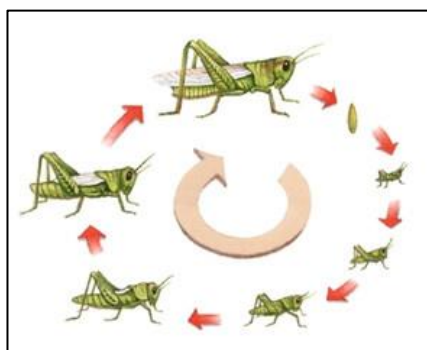


**Figure 29 : Schéma du développement amétabole**

### **I.D.2.b) Développement des insectes hétérométaboles**

Chez les hétérométaboles, on distingue deux types de développement analogues mais avec, tout de même, des différences.

- Les insectes paurométaboles : comparés aux précédents, ils sont ailés. Ils ne subissent pas de métamorphose (auparavant, on disait qu'ils subissaient une métamorphose incomplète). L'éclosion de l'œuf donne un juvénile qui va passer par différents stades juvéniles, rythmés par des mues. Les traits caractéristiques de l'adulte (=imago) apparaissent progressivement à la suite des mues successives. Les ailes se forment à partir d'ébauches externes croissant au fur et à mesure des mues. La fin du développement est marquée par ce que l'on appelle la mue imaginale qui implique l'acquisition de la maturité sexuelle adulte. On remarque que les larves vivent de la même façon, dans le même milieu et ont la même alimentation que les adultes. Ce type de développement est représenté par l'ordre des Orthoptères dont fait partie le criquet ou encore l'ordre des Hémiptères avec la punaise.



**Figure 30 : Schéma du développement paurométabole**



- Les insectes hémimétaboles : leur larve est bien différente de l'adulte. Ils ne subissent pas de métamorphose (ou leur métamorphose est dite incomplète). La larve croît en fonction des différentes mues. Les caractères de l'adulte sont progressivement mis en place au cours du développement. La dernière mue est qualifiée de mue larvo-imaginale et s'accompagne d'un changement de mode et de milieu de vie ainsi que l'acquisition de la maturité sexuelle. La principale différence avec le groupe précédent est le changement de mode et de milieu de vie. Dans les insectes hémimétaboles, on retrouve la libellule appartenant à l'ordre des Odonates mais encore la cigale.



**Figure 31 : Schéma du développement hémimétabole**

### **I.D.2.c) Développement des insectes holométaboles**

Cette fois-ci, on assiste à une métamorphose complète, passant par un stade nymphal.

Œuf → larve → nymphe → adulte

La larve grossit au rythme de la succession de mues larvaires.

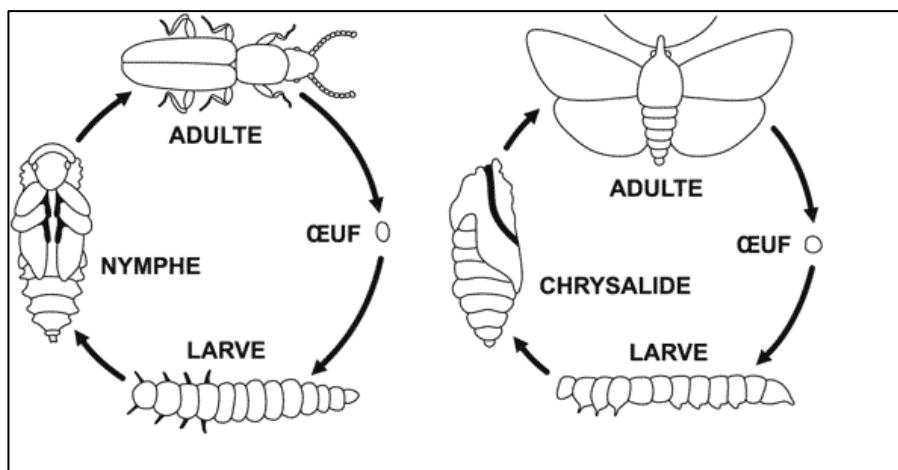
Puis vient la mue larvo-nymphale déterminant le passage de la larve à l'état de nymphe. Elle est précédée par une modification du comportement de la larve qui cesse de s'alimenter et change d'habitat.

La nymphe est peu mobile et ne se nourrit pas. Pendant cette période, elle acquiert les traits caractéristiques de l'imago (ailes, pattes, yeux, antennes, maturité sexuelle...etc). C'est donc une métamorphose complète qui fera d'elle un imago.

L'adulte émerge ensuite de la nymphe lors de la mue nympho-imaginale.

On remarque que l'adulte ne ressemble plus du tout à la larve et que leur alimentation, lieux et modes de vie sont totalement différents.

C'est l'exemple typique de l'ordre des Lépidoptères qui regroupe tous les papillons et celui qui nous intéresse ici.



**Figure 32 : schémas du développement holométabole**

### **I.E) Répartition géographique des insectes**

(Lupoli, 2010a; Poinsot et al., 2018)

Les insectes sont présents partout, sur la terre et dans les milieux aquatiques.

Il y a plus d'un million d'espèces recensées dans le monde (en comparaison avec les vertébrés au nombre de 45000 espèces environ) qui représente les trois quarts des espèces animales sur Terre. En France, il y a plus de 35000 espèces d'insectes recensées.

Leur répartition sur le globe suit des lois assez fixes et paraît assez logique. Les espèces les plus grandes, les plus colorées, se trouvent surtout dans les pays chauds tandis que l'on trouve généralement des formes plus petites et plus obscures au fur et à mesure que l'on se dirige vers les pays froids. Il en va de même pour la diversité et le nombre d'espèces. Si l'on prend les deux extrêmes, on a l'Amazonie qui regorge de milliers d'espèces différentes, hautes en couleurs ou non, visibles dans tous les milieux et à toute heure, et à l'opposé, l'Islande qui paraît presque inhabitée par les insectes.

## I.F) Rôles des insectes

Les rôles des insectes sont nombreux et diversifiés.

Si l'on prend le point de vue de l'être humain, on dit que certains sont nuisibles, d'où leur mauvaise réputation mondiale, tandis que d'autres sont utiles.

- En ce qui concerne les rôles utiles :
  - La pollinisation : les insectes qui la pratiquent jouent un rôle central dans les écosystèmes car ils sont, avec le vent, responsables de la fécondation d'un grand nombre de végétaux dont les étamines et les pistils sont sur des fleurs séparées. Ils portent le pollen jusqu'aux stigmates des autres fleurs et permettent la fécondation.
  - Certains insectes sont carnivores et jouent le rôle de régulateurs en dévorant d'autres insectes nuisibles aux récoltes. Par exemple, les coccinelles détruisent les pucerons ou encore les guêpes s'attaquent aux chenilles de papillons.
  - D'autres nous débarrassent des matières en décomposition. C'est l'exemple des mouches et des coléoptères. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle ils sont utilisés, dans la police scientifique, pour déterminer l'état de décomposition des cadavres.
  - On retrouve aussi des insectes ayant un rôle d'éboueur. C'est le cas des scarabées et des bousiers qui aèrent la terre en la débarrassant de matières fécales.
  - On peut aussi citer l'abeille qui produit des substances qui nous sont utiles aussi bien dans l'alimentation (le miel) que pour notre santé (la propolis), sans oublier la cire.
  - On pourrait encore en citer des dizaines mais je terminerai par ce point : beaucoup d'insectes sont consommés dans le but de s'alimenter car ils sont riches en protéines ou dans le but de se soigner (la médecine traditionnelle). La consommation d'insectes est surtout répandue en Asie, en Afrique et en Amérique du sud et peine à se faire une place en Europe.
  
- À propos des insectes nuisibles, on entend parler des ravageurs de plantes et cultures comme certaines chenilles qui sont les larves de papillons (exemple : la larve de la Piéride du chou) mais surtout des insectes vecteurs de maladies humaines pouvant être très graves pour l'homme et à l'origine d'épidémies. Le moustique anophèle femelle transmet le paludisme, le moustique tigre transmet la dengue et le chikungunya, la mouche tsé-tsé transmet la maladie du sommeil, la punaise transmet la maladie de Chagas, etc...

## **I.G) Impact de l'Homme sur les populations d'insectes et conséquences**

L'Homme a, depuis ces derniers siècles, un impact négatif sur les populations d'insectes (mais aussi d'autres animaux, végétaux...) et donc sur la santé des écosystèmes. Ceci s'explique de différentes façons notamment par la pollution et le changement climatique, l'utilisation massive de pesticides et l'introduction d'espèces dans des milieux autres que leurs milieux d'origine.

### **I.G.1) Pollution et réchauffement climatique**

La pollution engendrée par l'ensemble de la population mondiale et l'utilisation de toutes les ressources terrestres contribuent au changement climatique de notre planète.

Les effets sur les populations d'insectes peuvent être :

- Directs en affectant leur physiologie, en influant sur le cycle et la durée de leur développement entraînant une mortalité accrue.
- Indirects en agissant sur leurs plantes hôtes ou en affectant les interactions avec leurs compétiteurs et ennemis naturels.

Cela est surtout dû au réchauffement climatique mais aussi aux précipitations, à la concentration accrue en CO<sub>2</sub>, à la durée d'insolation et à l'humidité relative qui agissent sur les plantes hôtes des insectes.

### **I.G.2) Utilisation de pesticides**

Les pesticides sont utilisés par l'homme dans le but de détruire une ou plusieurs espèces d'êtres vivants qui lui sont nuisibles. Ils sont regroupés en plusieurs classes en fonction des organismes qu'ils détruisent : les herbicides, les insecticides, les fongicides...etc. Ils sont le plus souvent de nature chimique. Ils sont surtout utilisés dans l'agriculture depuis l'arrivée des pesticides de synthèse dans les années 1940.

Les insecticides ne sont pas spécifiques à une seule espèce et peuvent avoir des répercussions néfastes sur d'autres espèces d'insectes. Par exemple les néonicotinoïdes, interdits en France depuis septembre 2019, ont eu des effets néfastes sur des pollinisateurs tels que les abeilles et les papillons, en agissant sur les récepteurs à la nicotine dans leur système nerveux. Un autre exemple est celui du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) de la famille des organochlorés qui était l'insecticide le plus utilisé entre 1940 et 1970 mais qui a ensuite été interdit dans la plupart des pays en raison de son impact environnemental et sanitaire élevé.

Un herbicide, le glyphosate, est utilisé depuis 1974 dans le monde entier, surtout dans l'agriculture. Le glyphosate a été reconnu comme avoir une action néfaste sur les populations d'abeilles en modifiant leur microbiote intestinal, les rendant plus fragiles et exposées aux infections. Le glyphosate est un composé cancérigène, il pollue l'air mais aussi les réserves d'eau et nappes phréatiques et représente donc un danger pour la santé humaine. Ce composé est sur la sellette depuis plusieurs années mais continue à être homologué, il devrait être interdit en Europe d'ici 2023.

Un autre problème lié à ces pesticides est qu'ils persistent longtemps dans l'environnement, même plusieurs années après leur interdiction.

Ces pesticides qui agissent sur les pollinisateurs sont un vrai danger pour la santé des écosystèmes et l'environnement. Les populations d'insectes baissent considérablement et de plus en plus rapidement ces dernières années.

Depuis les années 1980, des biopesticides voient le jour, tels que les baculovirus qui infectent et tuent des insectes et les pièges à phéromones qui les attirent et les piègent. Ces biopesticides sont hautement spécifiques à l'espèce donc ne représentent pas de dangers pour les autres êtres vivants. Par exemple, la carpovirusine est un baculovirus qui infecte le lépidoptère *Cydia pomonella* dont la larve se développe à l'intérieur des pommes et des poires. Malheureusement, l'utilisation des biopesticides est restreinte en raison des difficultés de production et de coût et reste en retrait par rapport à l'utilisation des pesticides de synthèse encore homologués aujourd'hui. (Moscardi et al., 2011)

### **I.G.3) Introduction d'espèces**

Dans leur milieu d'origine, les insectes occupent des niches écologiques spécifiques et sont en équilibre avec les autres éléments de leur écosystème. Leurs populations sont régulées par la compétition et la prédation avec d'autres espèces. Mais si l'Homme introduit une espèce dans une niche écologique vacante ne correspondant pas à son milieu d'origine, cela pose problème dans la chaîne alimentaire (très fréquemment, il n'y a pas d'ennemis naturels ni de compétiteurs pour limiter leurs effectifs) et de l'équilibre de l'écosystème occupé. Suite à leur introduction, soit ils prolifèrent et deviennent des pestes, soit ils n'arrivent pas à s'acclimater et meurent.

Dans le premier cas, ils peuvent devenir des compétiteurs plus robustes que les espèces autochtones ou même des prédateurs de ces derniers et peuvent conduire à leur extermination.

En tout cas, l'introduction d'espèces est une catastrophe pour les milieux naturels et leurs espèces autochtones. Par exemple, la coccinelle *Coccinella septempunctata* introduite aux Etats-Unis dans les années 1990 pour lutter contre les pucerons, s'est attaquée aux œufs et aux chenilles d'un lépidoptère autochtone en voie d'extinction, *Everes comyntas*. (Malausa, 2000)

## **II) Généralités sur l'ordre des Lépidoptères**

### **II.A) Définition du lépidoptère**

Les lépidoptères sont un ordre d'insectes ptérygotes (aillés) et holométaboles (à métamorphose complète) dont les ailes sont recouvertes d'écaillés colorées. En grec, *lepidos* signifie « écaille » et *pteron*, « aile ». La forme adulte imago est communément appelée « papillon ». La larve est une « chenille » et la nymphe immobile est nommée « chrysalide ».

C'est l'ordre le plus répandu, le plus connu, représentant parmi les insectes les plus évolués.

Les lépidoptères sont apparus il y a 150 à 200 millions d'années selon certaines traces fossiles, pendant l'ère du mésozoïque et plus particulièrement la période du crétacé. Ils ont donc cohabité avec les dinosaures et leur apparition a dû accompagner l'expansion des plantes à fleur (angiospermes) puisqu'ils représentent les premiers insectes pollinisateurs.

### **II.B) Classification phylogénétique des lépidoptères**

Il est difficile d'établir une classification phylogénétique exacte des lépidoptères tant elle est en constante évolution et que les scientifiques ne sont pas tous d'accord sur celle-ci.

On sépare classiquement et depuis longtemps, les lépidoptères en deux grands groupes :

- Les hétérocères ou « papillons de nuit » : ils ont des antennes se terminant en massue. Ils possèdent un frein (nommé « frenulum ») qui est un crin (ou soie) raide situé à la partie inférieure des secondes ailes, qui passe dans un anneau des premières ailes assurant la solidarité de l'aile supérieure avec l'aile inférieure.
- Les rhopalocères ou « papillons de jour » : ils ont des antennes de formes diverses. Ils ne possèdent pas de frein.

Cette séparation est pratique mais la classification actuelle montre qu'elle n'est pas parfaitement exacte. En effet, ces distinctions basées sur des caractères superficiels

sont pratiquement abandonnées au profit d'analyses phylogénétiques morphologiques et moléculaires.

Ensuite, on a fait la distinction entre les individus « homoneures » qui ont la même nervation sur les ailes antérieures et postérieures, et les « hétéroneures » qui ont la nervation différente sur les ailes antérieures et postérieures.

La nouvelle classification s'est fondée sur l'un des caractères les plus importants, les parties génitales de la femelle. Les lépidoptères ont donc été séparés en deux groupes :

- Les Ditrysiens : les femelles possèdent deux ouvertures sexuelles distinctes, une pour l'accouplement et l'autre pour la ponte des œufs.
- Les Monotrysiens : les femelles ne possèdent qu'un seul orifice génital.

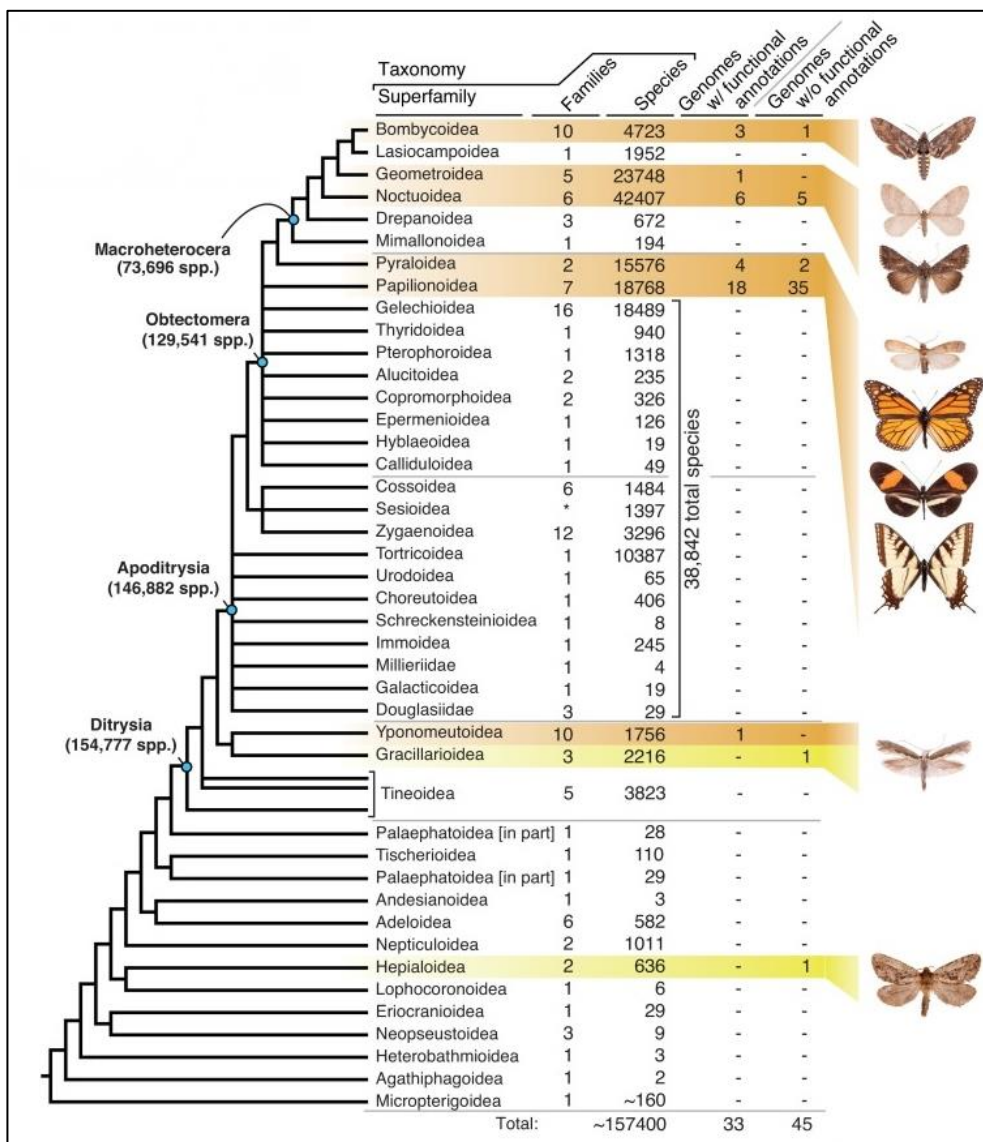
D'autres scientifiques séparaient les lépidoptères en deux groupes : les microlépidoptères et les macrolépidoptères mais cette classification est désormais obsolète.

Aujourd'hui, les lépidoptères sont divisés en quatre sous-ordres rassemblant quarante-six super-familles et plus de cent vingt familles. Voici les quatre sous-ordres :

- Les *Zeugloptera* : ils ne sont représentés que par la super-famille des *Micropterygoidea* et une seule famille qui est celle des *Micropterigidae*. Ce sont des papillons primitifs dont les pièces buccales sont de type broyeur à l'âge adulte. Ils n'ont pas de trompe et leurs ailes antérieures sont plus grandes que les ailes postérieures.
- Les *Aglossata* : ils n'ont pas de vraie trompe et sont considérés aussi comme primitifs. Ce clade comporte l'unique super-famille des *Agathiphagoidea* et l'unique famille des *Agathiphagidae*.
- Les *Heterobathmiina* : ils sont représentés par la seule super-famille des *Heterobathmioidea* et la famille des *Heterobathmidae*. Ils sont aussi considérés comme primitifs.
- Les *Glossata* : ils représentent 99% des papillons actuels. Leurs pièces buccales sont modifiées en trompe ou « proboscis » pendant la métamorphose. Ils sont divisés en quarante super-familles. Parmi les plus importantes en nombre d'espèces, on retrouve :
  - Les *Bombycoidea* qui regroupent près de 4500 espèces de papillons nocturnes.



- Les *Geometroidea* et les *Noctuoidea* qui rassemblent près de 65000 espèces à elles seules. Ce sont des papillons nocturnes.
- Les *Pyraloidea* qui sont de petits papillons nocturnes, divisés en deux familles et près de 16000 espèces.
- Les *Papilionoidea* composés de sept familles et près de 19000 espèces. Ce sont des papillons diurnes d'assez grande taille. Cette super-famille correspond, à une famille près, à l'ancien clade des rhopalocères.
- Etc...



**Figure 33 : Arbre phylogénétique des lépidoptères**

(Ruggiero et al., 2015; Triant et al., 2018)

## **II.C) Cycle de vie et développement**

Les lépidoptères sont des insectes au développement holométabole, c'est-à-dire un développement avec une métamorphose complète passant par un stade nymphal.

Comme la plupart des insectes, les lépidoptères sont ovipares. De l'œuf va sortir la chenille (stade larvaire) qui va se transformer en chrysalide (stade nymphal) et qui donnera au final un papillon adulte, suite à la métamorphose.

### **L'œuf :**

C'est la première étape du cycle de vie du papillon. Les œufs sont déposés, un à un, en grappes ou en tas par la femelle, directement sur les plantes hôtes dont les futures chenilles vont se nourrir. En général, l'éclosion a lieu dans les 5 à 10 jours après la ponte.

### **La chenille :**

Les œufs éclosent pour donner naissance à la chenille. Celle-ci n'a qu'un seul objectif, se nourrir. Etant donné que la chenille est la seule phase de croissance du papillon, elle doit accumuler les réserves nécessaires à cette croissance et à sa transformation en adulte. Par exemple, certaines espèces multiplient leur poids initial par 1000.

Cette prise de poids, qui dure en général quelques semaines, nécessite quelques arrangements physiologiques. C'est pour cette raison que la peau de la chenille n'est pas directement rigide comme l'est celle de l'adulte. Cependant, elle n'est pas indéfiniment extensible, elle devra subir des mues, au nombre de 5 généralement (de 4 à 6 mues).

Finalement, la chenille va chercher un lieu propice pour se transformer en chrysalide, lors de la nymphose. Une fois le lieu trouvé, elle s'y fixe et entame sa transformation en chrysalide.

En résumé, le stade chenille est important pour l'accumulation de réserves nécessaires à la croissance et à la transformation future en adulte.

## **La chrysalide :**

C'est l'étape « nymphe » chez les lépidoptères. C'est une phase de latence, pendant laquelle la chenille, enfermée dans un étui de protection, se transforme en adulte lors de la mue nympho-imaginale. Certains de ses organes disparaissent et d'autres sont en développement (notamment les organes de la reproduction).

La durée de vie de la chrysalide peut aller de 7 jours à plusieurs mois, suivant le climat et les espèces.

A la fin de cette période, l'enveloppe de la chrysalide se rompt et laisse émerger l'imago au prix d'efforts importants. Cependant, l'adulte devra attendre que ses ailes se défroissent avant de prendre son premier envol.

## **L'imago :**

C'est l'étape « adulte » des lépidoptères.

La durée de vie de l'adulte s'étale de quelques jours à plusieurs mois (jusqu'à 7 mois pour certaines espèces). Elle dure en général 4 à 5 semaines pour les papillons communs.

C'est l'étape qui doit assurer la dispersion de l'espèce et sa reproduction. Les deux sexes, mâle et femelle, assurent la reproduction.

Les adultes se nourrissent du nectar des fleurs qui leur donne l'énergie nécessaire à leur déplacement. Par ce fait, ils ont une place très importante dans la pollinisation de certains végétaux.

Pour finaliser le cycle, deux adultes de sexes différents vont s'accoupler et la femelle finira par pondre les œufs.

## **II.D) Morphologie des lépidoptères**

### **II.D.1) Morphologie de la larve**

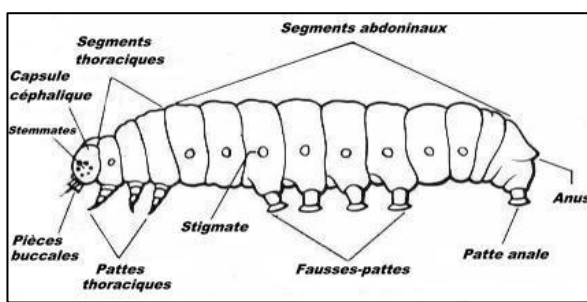
Dans l'ordre des lépidoptères, la larve est de type éruciforme (en latin, *eruca* signifie « chenille »). Elle peut mesurer jusqu'à 190mm.

Comme tous les insectes, la larve a 3 paires de pattes d'origine thoracique, peu développées.

Les chenilles n'ont pas d'yeux. Leur tête est une grosse capsule céphalique ayant une paroi externe sclérifiée rigide, de forme sphérique, généralement. Cette capsule céphalique comprend deux calottes hémisphériques : les épïcôrânes, enserrant le front. Sur la partie basse des épïcôrânes se trouvent 6 paires de stemmates disposés en arc de cercle. Les stemmates sont des ocelles, des « yeux rudimentaires ». De la tête partent 2 antennes très courtes.

Les pièces buccales de type broyeuses comprennent un labre, des mandibules robustes et en dessous se trouvent les maxilles dont les soies servent à goûter la nourriture et à la maintenir en position favorable.

Sur l'abdomen, on retrouve souvent 5 paires de fausses pattes non articulées. Ce sont de petits tubes sclérifiés ressemblant à des ventouses qui servent au maintien de la chenille sur son support.



**Figure 34 : Schéma général d'une larve de lépidoptère (chenille)**

## **II.D.2) Morphologie de la nymphe**

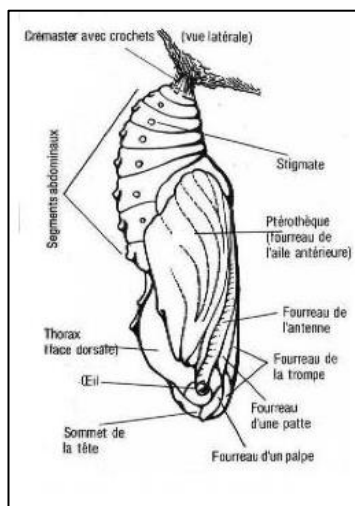
La chrysalide est suspendue à son support par le crémaster d'où partent une multitude de crochets (des espèces n'en présentent que quelques-uns). Ces crochets s'accrochent aux fils de soie préalablement déposés par la chenille avant que la nymphose n'ait lieu.

Au fil du développement, les chrysalides durcissent et changent de couleur.

D'autres espèces sont, également, suspendues mais cachées dans des feuilles enroulées. D'autres encore sont libres dans le sol ou dans les feuilles mortes et certaines sont protégées par un cocon de soie.

Les segments abdominaux, au nombre de dix, sont plus ou moins visibles, selon les espèces.

A ce stade, les appendices peuvent être soudés, à suture incomplète ou libres.



**Figure 35 : Schéma général d'une nymphe de lépidoptère (chrysalide)**

### **II.D.3) Morphologie de l'adulte**

La taille d'un imago est très variable selon l'espèce. Elle peut aller de 3 à 290mm.

Sa durée de vie est, la plupart du temps, de quelques jours mais peut aller jusqu'à plus d'un an.

Le corps est divisé en trois tagmes : La tête, le thorax et l'abdomen.

- **La tête :**

Les pièces buccales sont de type « suceur » et sont constituées de la coaptation des galéas et des maxilles pour former une trompe flexible (deux gouttières formant un canal). La coaptation antérieure est formée de soies tandis que la coaptation postérieure est formée d'une multitude de crochets qui ferment hermétiquement la trompe, permettant ainsi l'aspiration des éléments nutritifs. La trompe, également nommée « proboscis », peut mesurer jusqu'à 13cm et s'enroule en spirale lors du vol. Toutes les autres pièces buccales sont atrophiées ou absentes, à l'exception des palpes labiaux fréquemment bien développés et qui servent de protection à la trompe lorsqu'elle est enroulée. Chez les papillons primitifs, la trompe est atrophiée et parfois remplacée par des mandibules. Le proboscis permet donc à l'adulte de boire, par aspiration, le nectar des fleurs, indispensable donc, pour fournir toute l'énergie nécessaire à son vol.

Sur le dessus de la tête, les adultes possèdent une paire d'antennes prenant des formes diverses selon les espèces (forme de massue, de brosse, de plume...etc) et qui leur sert d'organes sensoriels olfactifs. La femelle a souvent des antennes filiformes alors que le mâle possède des antennes en forme de râteau pourvu de sensilles. Celles-ci sont des récepteurs chimiques lui permettant de capter les phéromones sexuelles émises par la femelle vierge.

La tête a une mobilité très restreinte mais comprend deux yeux composés qui procurent au papillon une vision quasiment panoramique et très sensible aux mouvements. Ces yeux composés sont des milliers de petits yeux simples permettant donc une vue très élargie. Les papillons adultes peuvent voir jusqu'à 4 à 5 mètres mais leur acuité visuelle reste limitée.

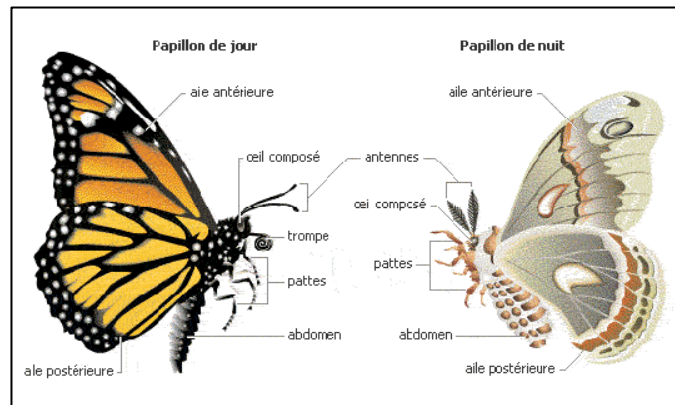
- **Le thorax** :

Il est dans le prolongement de la tête. Il est soudé à cette dernière, d'où la faible mobilité de la tête. Il comporte les organes et appendices de la locomotion : les muscles, les ailes et les pattes. Il possède deux paires d'ailes, l'une sur son 2<sup>ème</sup> segment et l'autre sur son 3<sup>ème</sup> segment. Il possède également trois paires de pattes.

- **L'abdomen** :

Contrairement à la tête et au thorax, l'abdomen d'un lépidoptère est mou et flexible. Il contient essentiellement les organes de la digestion (intestins, tubes de Malpighi), le cœur sous forme d'une pompe qui fera circuler l'hémolymphe dans tout le corps, les ganglions nerveux et les genitalia ou organes reproducteurs.

En principe, l'abdomen est constitué de 11 segments mais le 11<sup>ème</sup> est souvent réduit, invaginé dans l'abdomen, voire absent. Pour la plupart des espèces de lépidoptères, l'abdomen comporte donc 10 segments. Les 8 premiers segments possèdent chacun une pièce ventrale et une pièce dorsale réunies par une membrane où se situent les stigmates. Chacun de ces segments porte une paire de stigmates permettant la respiration. Les 2 derniers segments sont plus soudés et compacts et renferment l'appareil reproducteur. L'abdomen des femelles est habituellement plus volumineux que celui des mâles car il contient les œufs avant la ponte.



**Figure 36 : Schéma général de l'imago d'un lépidoptère (papillon)**

## **II.E) Reproduction des lépidoptères**

### **II.E.1) Déroulement de la reproduction**

Le déroulement de la reproduction des lépidoptères peut se résumer en trois étapes : une parade nuptiale, suivie d'un accouplement et pour finir de la ponte.

Les mâles et les femelles peuvent se sentir à plusieurs kilomètres à la ronde grâce aux phéromones et à leurs antennes très sensibles. Les phéromones sont des molécules chémiochimiques qui ont une activité intraspécifique, c'est-à-dire sur les individus d'une même espèce. Les femelles produisent des phéromones sexuelles captées à des kilomètres par les antennes des mâles.

Une fois à proximité, l'un de l'autre, la parade nuptiale peut commencer. C'est une vraie opération de séduction du mâle qui s'adonne à des danses et poursuit la femelle qui feint de s'enfuir. Souvent, plusieurs mâles luttent pour la même femelle et doivent donc chacun dégager un parfum différent des autres individus pour attirer cette dernière. Lorsque la femelle rejette un mâle car elle a déjà été fécondée ou qu'elle n'est pas prête, elle le lui fait savoir en levant son abdomen pratiquement à 90°. Une fois le mâle choisi, elle participe à ses danses et l'accouplement peut avoir lieu.

Lors de l'accouplement, les deux adultes se placent côte à côte de façon à mettre en contact leurs abdomens. Une fois ce contact réalisé, ils se placent dos à dos. Ainsi le

mâle peut transférer le liquide séminal dans l'abdomen de la femelle. C'est à ce moment qu'a lieu la fécondation.

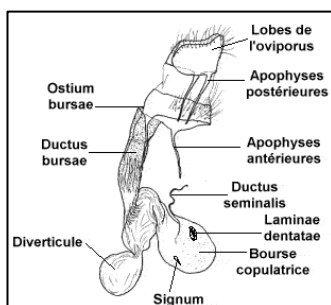
L'accouplement dure en général 30 minutes mais peut aller jusqu'à 3 heures. S'ils sont dérangés, le mâle et la femelle sont tout à fait capables de s'envoler, tout en gardant leurs abdomens en contact et dans la même position.

## **II.E.2) Organes reproducteurs des lépidoptères**

### **II.E.2.a) Organes reproducteurs des femelles**

Le système reproducteur femelle est composé d'une paire d'ovaires (glandes produisant les ovules), de glandes accessoires, d'une ou plusieurs spermathèques (aussi appelés « réceptacles séminaux », poches où est stocké le sperme venant du mâle) ainsi que d'oviductes latéraux (canaux par lesquels les ovules sont expulsés des ovaires) qui relient tous ces organes ensemble. La spermathèque est un tube ou sac qui entrepose et conserve les spermatozoïdes jusqu'à l'ovulation.

Les glandes accessoires produisent des substances qui jouent un rôle dans la lubrification et l'enrobage final des œufs comme le chorion qui est l'enveloppe la plus externe de l'œuf.



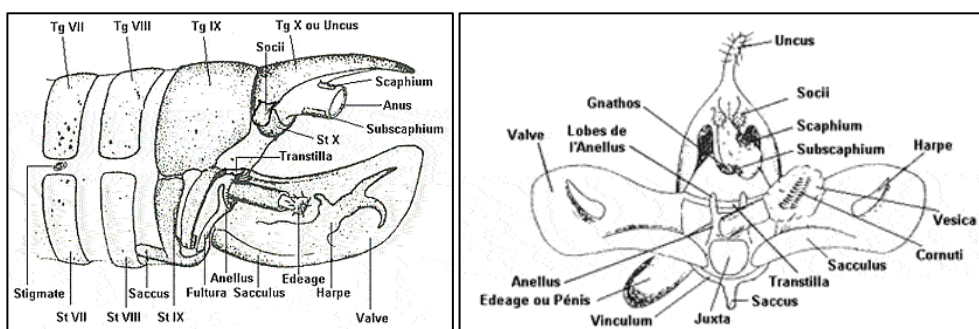
**Figure 37 : Schéma de l'organe reproducteur d'une femelle de lépidoptère**

### **II.E.2.b) Organes reproducteurs des mâles**

Ils ont deux testicules en suspension dans la cavité abdominale. Ces testicules sont constitués de tubes séminifères (les follicules) et à l'intérieur, on retrouve un sac qui contient des spermatozoïdes. Les tubes séminifères sont connectés aux canaux



déférents qui serviront à l'évacuation du sperme par l'intermédiaire d'un canal éjaculateur. La partie terminale de ce canal est sclérifiée pour former le « pénis » du papillon mâle appelé l'édeage.



**Figure 38 et Figure 39 : Schémas de l'organe reproducteur d'un lépidoptère, vue de profil et vue de face**

## **II.F) Répartition géographique des lépidoptères**

Les lépidoptères sont présents sur l'ensemble du globe terrestre à l'exception des régions les plus froides mais chaque espèce a une aire de distribution qui lui est spécifique. Certaines espèces sont sédentaires, d'autres se disséminent et d'autres encore sont migratrices sur des distances plus ou moins longues.

En ce qui concerne la taille et la beauté, les espèces sont d'autant plus nombreuses et remarquables que l'on s'avance vers des régions plus chaudes.

Il existe environ 165000 espèces répertoriées dans le monde dont près de 7000 en Europe. En France, on en compte un peu plus de 5000 différentes, réparties dans 120 familles et 46 super-familles.

## **II.G) Rôles des lépidoptères**

Les lépidoptères ont un rôle majeur dans les écosystèmes. L'état de population des papillons reflète fidèlement le niveau de qualité des différents milieux naturels dont ils dépendent. Les lépidoptères sont parmi les meilleurs bio-indicateurs témoignant de la santé des écosystèmes.

Ils jouent un rôle très important dans les chaînes alimentaires et l'équilibre des écosystèmes, en tant que proies pour les oiseaux, les chauves-souris et les batraciens et en tant que pollinisateurs des plantes.

Ils ont des rôles divers, que l'on peut scinder en deux, les rôles utiles et les nuisibles pour l'homme.

### **II.G.1) Effets nuisibles pour l'homme**

99% des chenilles de lépidoptères sont phytophages, c'est-à-dire elles se nourrissent des plantes sur lesquelles elles vivent. Parfois, cela constitue un rôle utile si les plantes sont envahissantes mais dans la plupart des cas, les lépidoptères sont des ravageurs de cultures.

En Europe, il existe environ 7000 espèces dont 650 sont considérées comme nuisibles sur les cultures, surtout sur les légumineuses.

Par exemple :

- La noctuelle des moissons ou *Agrotis segetum* nuit aux salades, persil, épinards, choux...etc
- La noctuelle de la tomate ou *Helicoverpa armigera* détruit les tomates, poivrons...etc
- La teigne des crucifères ou *Plutella xylostella* détruit choux, choux-fleurs, brocolis...etc
- La teigne du poireau ou *Acrolepiosis assectella* détruit les plants de poireaux
- La piéride du chou ou *Pieris brassicae* détruit les choux cultivés
- La tordeuse du pois ou *Laspeyresia nigricana* détruit les petits pois
- On retrouve aussi des ravageurs dans les familles des cossidés, des pyralidés...etc

### **II.G.2) Rôles utiles**

Ce sont des marqueurs et acteurs de la santé des écosystèmes :

- En tant que proies : cela concerne aussi bien les adultes que les œufs et les chenilles mais surtout ces dernières.
- En tant que pollinisateurs : ils agissent souvent sur des fleurs en forme de tube étroit dont seule la trompe du papillon peut atteindre le pollen. En passant de fleur en fleur pour aspirer leur nectar, ils emportent le pollen sur leur trompe et féconderont ainsi d'autres fleurs. Les lépidoptères tiennent ce rôle avec d'autres

insectes, notamment les abeilles. Sans pollinisation, il n'y aurait donc pas de reproduction végétale, pas de fruits, pas de légumes ni de grains.

Certains lépidoptères sont utiles dans le textile :

On utilise la soie du « ver à soie » qui est la chenille de *Bombyx mori*.

L'homme est parvenu à domestiquer plusieurs espèces d'insectes dont le ver à soie. La fibre produite par la larve pour faire son cocon a permis à la Chine depuis plus de 5000 ans de développer une industrie textile qui a rayonné, par la suite, dans le monde entier.

Depuis des centaines d'années, on utilise les lépidoptères, en médecine traditionnelle, pratiquement dans toute la planète mais surtout en Asie, en Amérique du sud et en Afrique. Cette utilisation fait l'objet de la partie 2 de cette thèse.

Plus récemment, l'utilisation des lépidoptères concerne le secteur de la recherche, surtout au niveau cellulaire et pour l'élaboration de traitements. La partie 3 de cette thèse y est consacrée.

## **PARTIE 2 : UTILISATION DES LEPIDOPTERES EN** **MEDECINE TRADITIONNELLE**

### **I) La médecine traditionnelle**

#### **I.A) Définition de la médecine traditionnelle**

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), la médecine traditionnelle est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales.

Cela implique, le plus souvent, à des fins médicales, l'usage de plantes, de parties d'animaux, de minéraux, de thérapies spirituelles, de techniques et d'exercices manuels. Elle est pratiquée, depuis plus de 5000 ans, afin de préserver la santé ou de prévenir et traiter des maladies, en particulier les maladies chroniques. Elle a la réputation d'être ancestrale et dépassée mais elle constitue une part importante, et souvent sous-estimée, des services de santé face à la médecine occidentale moderne. Elle est surtout présente en Asie, en Afrique et en Amérique latine où elle est utilisée par 80% de la population locale. Même si une cohabitation entre la médecine traditionnelle et la médecine moderne s'est installée dans la plupart des pays, elle est encore beaucoup plus prédominante en Asie, par exemple, où elle couvre plus de 80% des besoins de santé. C'est donc sur ce continent qu'elle est la plus développée.

Depuis les années 1990, elle fait une apparition remarquable dans de nombreux pays développés et en développement comme en Europe où on la connaît sous le nom de « médecine douce », ou « médecine parallèle » ou encore « médecine alternative ».

Son succès s'explique par le fait que les tradipraticiens sont présents jusque dans les zones les plus reculées des pays concernés, donnant ainsi un accès facile à cette médecine aux habitants de ces zones. Elle est également beaucoup moins onéreuse que la médecine moderne.

Ailleurs, elle a mauvaise réputation car un manque d'informations probantes sur les remèdes utilisés se fait sentir. Pour certains, la médecine traditionnelle relèverait plus du charlatanisme que de la médecine.

En médecine traditionnelle, aucune limite n'existe entre la nourriture, les aliments toniques et les médicaments. L'homme utilise des substances d'origine naturelle, souvent sous forme de mélanges qui contiendront des dizaines voire des centaines de molécules différentes. C'est pourquoi il est difficile de faire des investigations sur chaque remède et de prouver leur efficacité.

Pour l'élaboration de remèdes, l'homme utilise surtout des plantes (environ 60%) car leur biomasse accessible est supérieure à celle des animaux par exemple, et l'on peut les multiplier facilement.

Dans les mœurs, les insectes ont mauvaise réputation mais sont utilisés de façon non négligeable depuis environ 5000 ans (on a retrouvé des tablettes mésopotamiennes datant de cette époque et les mentionnant).

(Lupoli, 2010a)

### **I.B) Utilisation des insectes en médecine traditionnelle**

Ce qui est intéressant chez les insectes, c'est qu'ils sont capables de produire des molécules sémiochimiques, suite à l'ingestion et à la séquestration de molécules toxiques de plantes par exemple. Ces molécules s'avèrent avoir une activité sur le corps humain.

Les molécules sémiochimiques sont des métabolites secondaires du métabolisme cellulaire et sont des molécules chimiques actives sur les animaux.

Elles ont des rôles divers, dans la communication, la reproduction, la prédation, le parasitisme, la défense et les relations avec les plantes à la différence des métabolites primaires qui sont, eux, indispensables au fonctionnement basique de la cellule.

Les molécules sémiochimiques sont produites par les cellules de glandes spécialisées, parfois relayées par des systèmes d'injection particuliers comme les dards, les pièces buccales ou les épines. Elles peuvent être produites aussi directement dans l'hémolymphe.

Il existe deux catégories de molécules sémi-chimiques :

- Les phéromones qui ont une activité intra-spécifique, c'est-à-dire agissant sur les individus d'une même espèce. Ce sont de petites molécules volatiles, composées de 6 à 20 atomes de carbone et agissant à distance pour attirer (ex. les phéromones sexuelles produites par la femelle pour attirer le mâle). Ces molécules n'ont pas d'intérêt pharmacologique car elles sont volatiles donc instables et disparaissent rapidement après la mort de l'insecte. Les modes de préparation utilisés en médecine traditionnelle dénaturent souvent les phéromones. La plupart des phéromones sexuelles des femelles de Lépidoptères sont des alcools ou des acides à longue chaîne (de 10 à 16 atomes de carbone), sous forme d'acétates ou d'aldéhydes. (Pain, 1988)
- Les molécules allélochimiques qui ont une activité inter-spécifique, c'est-à-dire agissant sur des espèces différentes. Elles se scindent en 2 sous-catégories :
  - Les kairomones : ce sont des molécules bénéfiques à l'animal récepteur. Elles permettent par exemple, à des prédateurs ou parasites, de détecter leur proie ou hôte à grande distance. Elles ont les mêmes propriétés que les phéromones : elles sont volatiles et instables. Elles n'ont donc pas d'intérêt pharmacologique.
  - Les allomones : ce sont des molécules bénéfiques à l'animal producteur, comme les molécules de défense, les molécules répulsives, celles constituant des venins. Elles sont de taille plus importante, donc plus variées, plus stables et moins volatiles. Elles agissent par contact. Ce sont donc les allomones qui confèrent à l'insecte ses propriétés médicinales.

Les allomones sont soit de nature :

- Protéique : c'est-à-dire constituées d'un enchaînement d'acides aminés (allant de 10 à 10 000). Elles ne résistent pas bien aux modes de préparation des remèdes de médecine traditionnelle. Elles sont donc moins conservées au sein de ces remèdes.
- Ou organique : ces molécules ont une masse molaire de 100 à 1000 g/mol (comme la masse de la plupart des médicaments), c'est-à-dire l'équivalent de la masse de 1 à 10 acides aminés. Elles résistent en général à la cuisson, au séchage, à l'infusion et à la décoction. Ces molécules représentent celles qui auront le plus grand intérêt en médecine traditionnelle.

## **II) Description de quelques espèces de lépidoptères utilisées en médecine traditionnelle**

### **II.A) Le Bombyx du mûrier (*Bombyx mori*)**

#### **II.A.1) Classification**

*Bombyx mori* est un hétérocère ou papillon nocturne appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à la super-famille des *Bombycoidea* (regroupant près de 4500 espèces à travers le monde), à la famille des *Bombycidae* (comprenant environ 300 espèces dans le monde) et au genre *Bombyx*. On le trouve sous le nom de *Bombyx mori* *Linnaeus* car il a été décrit par Carl Von Linné en 1758.

#### **II.A.2) Répartition géographique**

*Bombyx mori* provient d'Asie, plus précisément du nord de la Chine où existe un climat de mousson et d'hiver tiède nécessaires à son développement. Il a besoin d'une forte humidité et d'une température ambiante de 20 à 25 °C. Cependant, il n'existe plus à l'état sauvage. C'est le seul insecte domestiqué au monde, depuis plus de 4000 ans, à cause de la soie qu'il produit. L'homme a mis en place la sériciculture, c'est-à-dire la culture de la soie, nécessitant l'élevage en masse de cette espèce. *Bombyx mori* n'est désormais plus capable de voler correctement. Il a besoin de l'intervention de l'homme pour se reproduire.

Pour parler de répartition géographique, on peut dire que l'on peut le trouver dans toutes les régions où l'on pratique encore la sériciculture : en Asie (surtout en Chine, au Japon et en Inde), au Proche-Orient, en Europe (Italie, Espagne et France) et également en Russie.

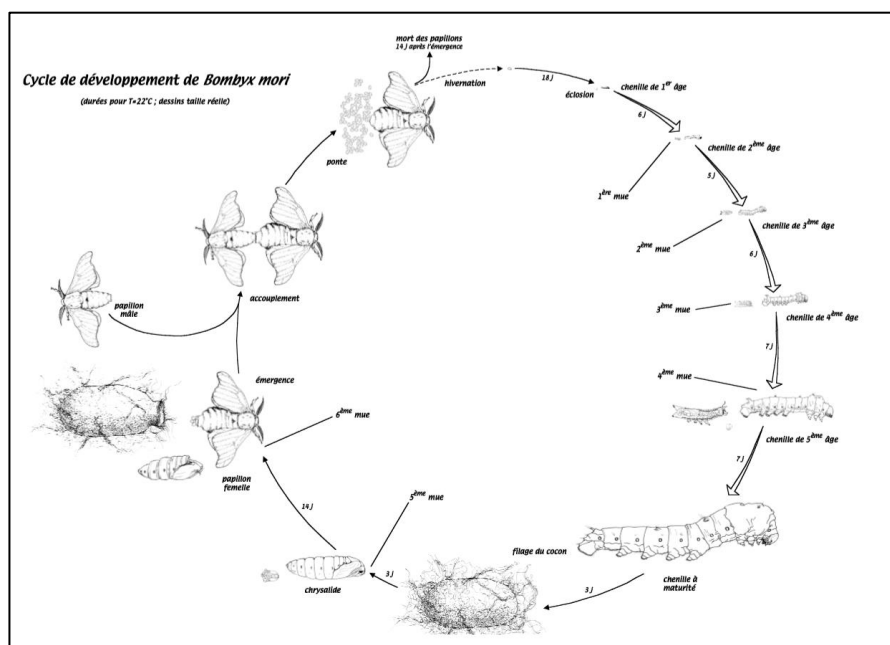
#### **II.A.3) Cycle de développement**

Son cycle de développement est classiquement celui des lépidoptères à une exception près : au stade nymphal, la chrysalide s'entoure d'un cocon de soie. Le cycle de vie complet de *Bombyx mori* dure 8 semaines environ : 5 semaines pour les stades chenille, 2 semaines pour le stade chrysalide et quelques jours pour le stade adulte.

La femelle pond les œufs. Il existe deux sortes d'œufs, l'un hibernant et l'autre non. En ce qui concerne la diapause ou arrêt du développement pendant la saison froide, le *Bombyx mori* présente une particularité singulière qui a lieu au stade œuf. Les œufs pondus à la mi-juin entrent en diapause et leur éclosion s'effectue au début du mois de mai de l'année suivante.

Les œufs non-hibernants éclosent environ 14 jours après la ponte, à une température de 25°C environ. Ils laissent apparaître une larve de stade 1 (L1), qui va se nourrir en continu et grossir. Le stade larvaire dure de 25 à 50 jours pendant lesquels la larve subira 4 mues pour arriver à son stade final L5.

Ensuite, la larve s'entoure d'un cocon de soie qu'elle fabrique grâce à ses glandes séricigènes. Il est formé d'un unique fil de soie ininterrompu. Puis, la larve (ou chenille) va se transformer en nymphe (ou chrysalide). Le stade nymphal dure environ 15 jours. Pour finir, l'adulte sortira de la chrysalide, pendant la métamorphose nympho-imaginale, en perçant son cocon par une des extrémités à l'aide de la sécrétion d'un liquide alcalin. Le seul but de l'adulte sera la reproduction. La femelle envoie des messages olfactifs au mâle, sous forme de phéromones sexuelles. Le mâle les perçoit grâce à ses antennes. S'en suivra l'accouplement. La femelle pondra de 300 à 700 œufs, un à deux jours après l'accouplement. L'adulte vit en moyenne une à deux semaines. (Vallard, 2017)



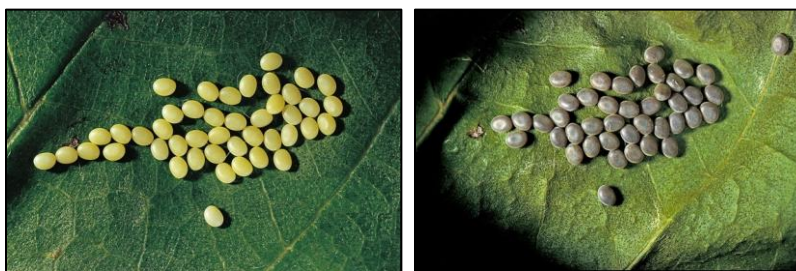
**Figure 40 : Cycle de développement de *Bombyx mori***



## II.A.4) Aspect morphologique

### II.A.4.a) Aspect de l'œuf

L'œuf de *Bombyx mori* est de forme ellipsoïdale. Il est petit et plat, recouvert d'une membrane dure. Sa couleur va du blanc laiteux au un jaune soutenu. Il mesure de 1 à 2 millimètres de diamètre. Au bout de quelques jours, il noircit.



**Figure 41 et Figure 42 : Œufs de *Bombyx mori***

### II.A.4.b) Aspect de la chenille

La chenille de *Bombyx mori* est communément appelée « ver à soie ». A l'éclosion de l'œuf, elle mesure de 3 à 4 millimètres et présente un aspect noirâtre dû aux poils qu'elle possède.



**Figure 43 et Figure 44 : Larves de premier stade (L1) de *Bombyx mori***

Elle prend rapidement du poids et du volume, suite à l'ingestion de feuilles de mûrier blanc, et change de couleur. La chenille est de couleur blanc écru. Elle comporte 12 segments. Son tégument a un aspect glabre et lisse, dû à la perte des poils pendant l'évolution. Elle possède quelques soies cependant. La chenille possède un éperon dirigé vers l'arrière (excroissance en forme de corne) sur son avant-dernier segment.

Elle a un aspect annelé avec l'alternance de parties blanches et de parties sombres correspondant aux soudures entre les segments.

Sa tête est globuleuse et de couleur marron clair. Les trois premiers segments présentent chacun une paire de pattes terminées par un ongle pointu et recourbé servant à la progression et au maintien de la chenille sur la feuille du mûrier blanc.

Durant sa croissance, la larve de *Bombyx mori* subira 4 mues et atteindra une taille moyenne allant de 4 à 9 centimètres ainsi qu'un poids maximal de 5 grammes. La durée de son développement dépend de la température et peut aller de 25 jours à 40°C jusqu'à 50 jours à 5°C.



**Figure 45 : Larve de 5<sup>ème</sup> stade (L5) de *Bombyx mori***

Arrivée à la fin de son développement, elle diminue sa fringale, puis la stoppe. Elle change alors d'aspect et devient plus transparente. A partir de ce moment, elle va produire de la soie grâce à ses glandes séricigènes pour former le cocon dans lequel elle va s'enfermer par la suite. Le fil de soie est déposé sous forme de 8 couches minuscules. Le cocon est produit en 4 à 5 jours. Suite à cela a lieu la mue nymphale, la transformation en chrysalide.

#### **II.A.4.c) Aspect de la chrysalide**

La chrysalide est peu visible car elle est entourée du cocon de soie fait d'un fil ininterrompu pouvant atteindre 1500 mètres de long. Celui-ci est de forme ovale et de couleur jaune clair.



**Figure 46 : Formation du cocon de soie**

**Figure 47 : Cocon de soie de *Bombyx mori***

A l'intérieur du cocon, la chrysalide a une forme ovoïde de couleur rouge brunâtre. Elle est revêtue d'une cuticule continue, sauf au niveau des orifices respiratoires. Elle n'a ni bouche ni anus. Elle mesure environ 30 millimètres de long.

Ce stade nymphal dure environ 15 jours.



**Figure 48 et Figure 49 : Chrysalides de *Bombyx mori***

#### **II.A.4.d) Aspect de l'imago**

Une fois formé à l'intérieur du cocon, le papillon va percer ce dernier grâce à sa salive qui est capable de dissoudre la soie. L'adulte sort ainsi du cocon. Il possède une tête, un corselet et un abdomen de 9 anneaux. Au-dessus des yeux se situent les antennes portant chacune une double rangée de fins prolongements poilus et parallèles. Elles sont dites de type « plumeux ». Les adultes ne possèdent ni mandibules ni trompe, ni aucun autre organe pouvant servir à la mastication ou à la préhension de nourriture. Ils ne peuvent donc ni boire ni manger et leur système digestif est atrophié. Ils ne vivent que sur leurs réserves : plus ils sont gros, plus ils vivront longtemps.

Le thorax, ou corselet, est formé par la fusion de 3 segments et porte 3 paires de pattes articulées et deux paires d'ailes courtes et épaisses. Ces dernières ne leur permettent

pas de voler correctement, faculté qu'ils ont perdu depuis qu'ils sont domestiqués par l'homme pour la sériciculture.

L'abdomen ne comporte aucun appendice. Il est percé de 7 orifices respiratoires.

Un épais feutrage de poils blancs revêt tout le corps, y compris les pattes.



**Figure 50 : Adulte de *Bombyx mori* vu de face**

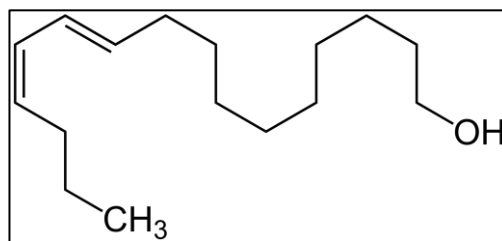
La femelle est plus volumineuse que le mâle. Elle porte l'ensemble des œufs (jusqu'à 600) et est incapable de voler. Elle reste à l'endroit où le cocon se trouve. Le mâle vole maladroitement pour rejoindre la femelle qui l'a préalablement attiré grâce à des phéromones (le bombykol\*). Puis, ils s'accouplent. Les ailes sont légèrement plus développées chez le mâle et tendent plus vers la couleur grisâtre que blanche. Les antennes de ce dernier sont plus volumineuses et développées que celles de la femelle. Les adultes, mâles et femelles, mesurent environ de 18 à 20 millimètres et ont une envergure pouvant aller jusqu'à 40 millimètres.

Leur durée de vie va d'une à deux semaines. En effet, ce stade ne sert qu'à la reproduction. Après l'accouplement et la ponte, les adultes se laissent mourir. Il ne leur reste plus qu'une semaine de vie environ.



**Figure 51 : Accouplement de *Bombyx mori*, mâle à gauche, femelle à droite**

\*le bombykol ou hexadécadiénol est un alcool qui déclenche une réaction aphrodisiaque se traduisant par les frémissements des ailes du mâle.



**Figure 52 : Molécule de bombykol (hexadécadiénol)**

## **II.A.5) Parties utilisées/effets thérapeutiques**

### **II.A.5.a) Utilisation des œufs**

Les œufs du *Bombyx mori* sont utilisés en Chine. Ils sont brûlés avec le papier sur lequel ils ont été pondus. Les cendres, en résultant, sont utilisées par voie orale pour soigner les saignements intestinaux, génitaux, les épistaxis, les vomissements de sang, les hémorroïdes et la dysenterie (diarrhée sanglante). Ce remède soigne donc les désordres sanguins et les maladies du sang. (Tsuneo et al., 1988)

Ces cendres sont également utilisées localement : on les applique sur les furoncles, les abcès, les gingivites et pour calmer les maux de dents. (Lupoli, 2010a)

### **II.A.5.b) Utilisation des larves et dérivés de larves**

- Les larves :
  - Au Mexique, les larves sont bouillies avant d'être ingérées. On les utilisait pour soigner l'apoplexie (ce que l'on peut rapprocher de l'accident vasculaire cérébral, l'apoplexie résulte de lésions cérébrales), l'aphasie (trouble du langage), les bronchites, les pneumonies ainsi que pour calmer les convulsions. (Conconi & Moreno, 1988)
  - En Chine, les larves sont utilisées pour traiter toutes sortes de rhumatismes. (Zimian et al., 1997)
  - Au Proche-Orient, on les utilise pour soigner les plaies, les inflammations de la gorge et les hémorroïdes. (Lev, 2006)

- Les excréments de larves :
  - En Chine, les excréments des larves sont séchés au soleil puis utilisés localement dans un linge que l'on chauffe et qui est appliqué sur les zones à traiter. Ce remède, appelé également « Can Sha » a une visée plutôt antalgique. Il est utilisé pour soulager les douleurs lombaires, les douleurs des genoux et des articulations, les désordres sanguins féminins comme les ménorragies et métrorragies. Il peut aussi être préparé en décoction puis mélangé à du vin jaune et bu, pour les utilisations précédemment citées. Il est également utilisé pour soigner les éruptions cutanées (comme l'eczéma, l'urticaire et les prurits) et les rhumatismes inflammatoires, soit en local, soit en lavage (dilué dans de l'eau) deux fois par jour. Enfin, il est utilisé pour soulager les maux de ventre, les coups de chaleur, les nausées et vomissements, la constipation et même l'hémiplégie. (Boulos, 2016)
  - Au Mexique, les excréments des larves étaient également ingérés pour soulager les vomissements et les diarrhées induites par le choléra, ainsi que pour améliorer la circulation sanguine. (Conconi & Moreno, 1988)
  - En Corée du Sud, ce remède à base d'excréments de larves est utilisé pour soigner le diabète. Il a des effets analgésiques pour soulager l'arthrite, les engourdissements du corps, les névralgies, les douleurs du pied et douleurs lombaires ainsi que les paralysies. En application locale, il peut traiter les éruptions cutanées et les conjonctivites. (Pemberton, 1999)



**Figure 53 : Excréments de *Bombyx mori* (Can Sha)**

- Les larves infectées :

- Les larves infectées et tuées par un champignon entomopathogène dénommé *Beauveria bassiana* constituent un des remèdes les plus réputés, répandus et connus de la médecine traditionnelle chinoise. Le mécanisme létal est tel que, quand une spore de *Beauveria bassiana* infecte le ver à soie, elle sécrète de la chitinase qui dissout l'épiderme et la paroi corporelle de la larve et envahit son corps. Elle se reproduit de manière continue et provoque éventuellement la mort de la larve de *Bombyx mori*. Une fois infectée, elle devient raide et sa surface est recouverte de conidies blanches de *Beauveria bassiana*, donnant l'aspect d'une pruinosité blanche. (M. Hu et al., 2017)

- Ce remède est connu sous le nom « Bai Jiang Can » ou encore « Bombyx batryticatus ». Les larves blanchies sont séchées au soleil, réduites en poudre et diluées dans une boisson avant leur utilisation. Ce remède est prescrit en Chine pour calmer les convulsions, en particulier les convulsions infantiles et les pleurs nocturnes des enfants. Il a aussi une action sur le système digestif en permettant l'expulsion des trois types de vers intestinaux parasites et en calmant les démangeaisons du scrotum. Ce remède améliorerait également le teint. (Tsuneo et al., 1988)

Il soigne également les tumeurs cancéreuses, en particulier le cancer du poumon. (Feng et al., 2009)

- En Corée du sud, les larves infectées par ce même champignon entomopathogène sont utilisées pour traiter les accidents vasculaires cérébraux et les troubles de la parole qu'ils induisent, pour soulager les maux de tête, les angines, les amygdalites, les pharyngites, les infections urinaires, la rubéole, les lymphoedèmes et les lymphadénites tuberculeuses. Elles soulagent les convulsions et les tremblements. (Pemberton, 1999)

En utilisation externe, il traite les infections de la peau, les blessures, les mucosités, les furoncles, les mastites, l'érysipèle et l'eczéma. (Lupoli, 2010a)



**Figure 54 : Larves de *Bombyx Mori* infectées par *Beauveria bassiana* (Bai Jiang Can)**

- Les mues des larves :
  - En Chine, ce remède est connu sous le nom de « Can Tui » et il est utilisé pour soigner les maladies du sang et les désordres sanguins, surtout chez la femme. (Tsuneo et al., 1988)
- Le méconium :
  - En Chine, le remède « Chien Lu Chih » correspond à un liquide jaunâtre qui est évacué par la chenille à l'intérieur du cocon, avant de passer au stade de chrysalide. On le prépare en décoction, il sert à traiter les plaies cutanées, la gale. Il sert à la toilette des bébés ayant des furoncles ou qui sont atteints de la gale. (Tsuneo et al., 1988)  
Ce remède a aussi une action antihelminthique contre les vers intestinaux. (Lupoli, 2010a)

#### **II.A.5.c) Utilisation des chrysalides**

- Au Mexique, les chrysalides étaient bouillies et utilisées par voie orale. On les utilisait pour traiter les hémorragies, soulager la polyurie et calmer les envies fréquentes d'uriner. (Conconi & Moreno, 1988)
- Au Japon, elles sont utilisées comme tonifiant pour les personnes faibles ou atteintes de tuberculose. Elles sont aussi recommandées pour soulager les maux de gorge. (Lupoli, 2010a)
- En Chine, on les grille et leur poudre est utilisée localement pour traiter l'impétigo et les furoncles. Ce remède est appelé « T'san Yung ». Ces chrysalides ont aussi une action contre le ver solitaire et *Ascaris lumbricoides* lorsqu'elles sont utilisées par voie orale. (Lupoli, 2010a)



#### **II.A.5.d) Utilisation des cocons de soie**

On utilise les cocons percés et vides (l'adulte est sorti du cocon).

- Au Maroc, le cocon de ver à soie était autrefois consommé par voie orale. On l'utilisait pour traiter les mauvaises digestions. Les chirurgiens se servaient du fil de soie pour effectuer des sutures. (Bellakhdar, 1998)

Dans ce cas, les cocons sont ébouillantés pour tuer la chrysalide avant la naissance de l'imago et pour ne pas endommager la continuité du fil de soie

- Au même titre que les larves, les cocons de soie étaient utilisés au Proche-Orient pour soigner les plaies, les inflammations de la gorge et les hémorroïdes. (Lev, 2006)
- En Chine, les cocons sont brûlés et leurs cendres sont dissoutes dans du vin. On utilise ce remède pour traiter les abcès, les furoncles, le méléna (présence de sang dans les selles) et l'hématurie (présence de sang dans les urines) et les métrorragies. En décoction, les cendres de cocons sont utilisées pour traiter le diabète, les inflammations de la vessie, les nausées et parasitoses intestinales à *Ascaris lumbricoides*. (Lupoli, 2010a)

#### **II.A.5.e) Utilisation des adultes**

- En Chine, les adultes mâles de *Bombyx mori* sont utilisés pour stimuler l'érection, comme tonique séminal, pour rallonger le coït et retarder l'émission de sperme et plus généralement de tonifiant sexuel. Ce remède est connu sous les noms « Hsiung Yuan T'san O » et « Xiong Can E », il est constitué des corps grillés auxquels on a préalablement retiré les pattes et les ailes. Sous forme de poudre il est connu sous le nom « Xiong Can E Fen ». Ce remède favorise la croissance normale du corps ainsi que la formation et l'évolution des organes de reproduction masculins. Il est utilisé pour renforcer le foie et le rein, accélérer la formation de sperme et moelle osseuse et stimuler le système nerveux. L'adulte mâle de *Bombyx mori* est considéré en Asie comme un tonique et un stimulant sexuel extrêmement puissant. Les croyances étaient telles que l'on disait que puisque ce papillon était capable de copuler en continu jusqu'à sa mort, il constituait un bon tonifiant sexuel. (Tsuneo et al., 1988)



**Figure 55 : Corps grillés de *Bombyx mori* adultes (Xiong Can E)**

**Figure 56 : Poudre de *Bombyx mori* adultes grillés (Xiong Can E Fen)**

- En Corée du sud, on utilise aussi les adultes mâles, dans le but de traiter l'impuissance, l'éjaculation précoce, la pyurie (c'est la présence de pus dans les urines) et les ulcères. (Pemberton, 1999)

## **II.A.6) Composés actifs et leur origine**

### **II.A.6.a) La 1-deoxynojirimycin**

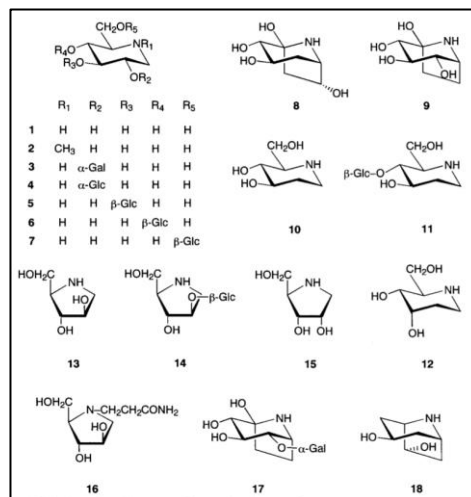
(Asano et al., 2001; Lupoli, 2010a; Yin et al., 2010)

En 1976, des agrochimistes japonais ont isolé la 1-deoxynojirimycin de l'écorce de racine de mûrier blanc et l'ont appelée moranoline. Son isolement a été fait en sachant que les extraits de mûrier pouvaient supprimer l'augmentation de la glycémie qui suit l'alimentation et que cette composante pourrait être bénéfique pour le diabète.

En 1985, Hikino et son équipe ont découvert que l'extrait d'écorce de racine de *Morus alba* montrait un effet antihyperglycémique significatif chez des souris normales et des souris atteintes d'hyperglycémie induite par l'alloxane.

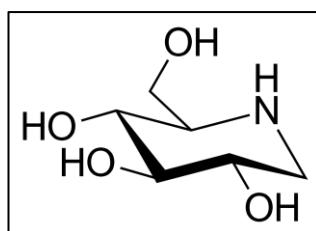
En 1995, Kimura et son équipe ont constaté que l'extrait de feuille de *Morus alba* montrait un puissant effet antihyperglycémique chez des souris souffrant d'un diabète induit par la streptozotocine.

En 2001, Asano et son équipe ont isolé 18 alcaloïdes des feuilles de mûrier blanc dont la plupart ont montré des effets inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases qui sont des enzymes intervenant dans la dernière étape de digestion des sucres complexes en monosaccharides.



**Figure 57 : Alcaloïdes issus des feuilles de *Morus alba***

Parmi ces alcaloïdes se retrouve principalement la n°8 qui est la 1-deoxynojirimycin ou moranoline, à des concentrations élevées dans toutes les parties du mûrier blanc.



**Figure 58 : Molécule de la 1-deoxynojirimycin ou moranoline**

Ils ont testé ces alcaloïdes sur des  $\alpha$ -glucosidases dont celles de l'intestin de rat. Certains de ces alcaloïdes ont montré un puissant effet inhibiteur des  $\alpha$ -glucosidases de mammifères. Les inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases ont un potentiel pour traiter le diabète car ils réduisent l'hyperglycémie post-prandiale et la sécrétion endogène d'insuline, en inhibant les  $\alpha$ -glucosidases intestinales. En 1997, le miglitol, qui est un dérivé N-hydroxyéthyle de la 1-deoxynojirimycin a été introduit sur le marché sous le nom commercial Glyset® (et Diastabol®) comme antidiabétique avec un effet durable in vivo. Il réduit l'hyperglycémie post-prandiale mais également la glycémie à jeun.

Les larves de *Bombyx mori* se nourrissent exclusivement de feuilles de *Morus alba* et semblent accumuler la moranoline dans leur corps. La teneur en alcaloïdes y est 2,7 fois supérieure à celle du mûrier blanc. On n'a pas retrouvé de moranoline dans le

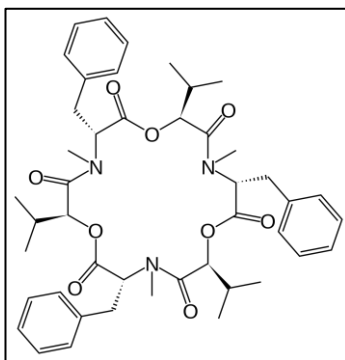
corps des vers à soie ayant été nourri avec un régime alimentaire sans feuilles de mûrier, ce qui confirme que la moranoline retrouvée dans les larves de *Bombyx mori* provient de *Morus alba*. Il semble que les larves mâles peuvent l'accumuler plus efficacement que les femelles. (Yin et al., 2010)

Asano et son équipe ont montré que les  $\alpha$ -glucosidases digestives du ver à soie étaient beaucoup moins sensibles aux inhibiteurs isolés des feuilles de mûrier que les enzymes digestives des mammifères. La valeur IC50 de la moranoline pour la maltase de l'intestin moyen du ver à soie était 400 fois plus élevée que celle pour la maltase intestinale de rat. Bien que la moranoline ait été un puissant inhibiteur de la maltase de l'intestin chez le rat, elle n'a montré aucune inhibition envers la maltase intestinale du ver à soie. Cela suggère que le ver à soie s'est développé une résistance aux inhibiteurs d' $\alpha$ -glucosidases présents dans *Morus alba* et est donc devenu un herbivore spécialisé peu affecté par l'effet antihyperglycémique de ces alcaloïdes.

La moranoline n'étant pas absorbée par l'intestin du ver à soie, elle se retrouve donc dans ses excréments. Ce qui vient confirmer l'utilisation de ces excréments dans le traitement de l'hyperglycémie en médecine traditionnelle chinoise et coréenne.

#### **II.A.6.b) La beauvericine**

La beauvericine est un métabolite secondaire synthétisé par le champignon *Beauveria bassiana*. C'est un hexadepsipeptide cyclique ayant une masse molaire de 783,95 grammes par mole. Elle a été isolée du champignon *Beauveria bassiana*, pour la première fois en 1969, par des chercheurs américains. (Hamill et al., 1969)



**Figure 59 : Molécule de la beauvericine**

Plus tard, en 1985, elle a été isolée à partir de poudre de chrysalides de *Bombyx mori* infectées par ce champignon entomopathogène. (Lupoli, 2010a)

Elle est également synthétisée par plusieurs autres espèces de champignons appartenant aux genres *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Polyporus* et *Isoria*.

La beauvericine a un large éventail d'activités biologiques qui ont été démontrées par des scientifiques au cours des dernières années, notamment antibiotique, insecticide, herbicide, antirétrovirale, cytotoxique, anti-métastatique, anti-cholestérol, chimiosensibilisante, et dans la répression de la formation des plaques amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer.

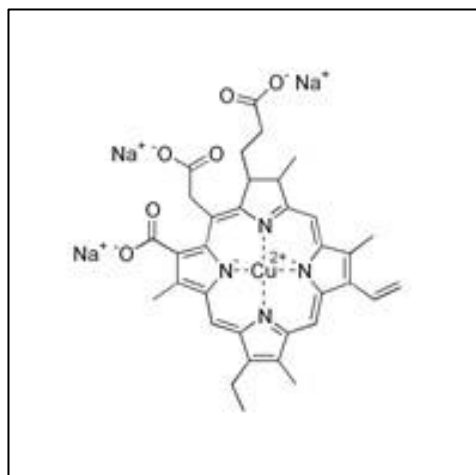
En 2007, des chercheurs aux Etats-Unis ont testé la beauvericine, *in vitro*, sur quatre lignées cellulaires cancéreuses humaines qui sont NCI-H460 (cancer du poumon non à petites cellules), MIA Pa Ca-2 (cancer du pancréas), MCF-7 (cancer du sein) et SF-268 (cancer du SNC) et ont montré qu'elle avait une activité cytotoxique sur toutes ces lignées. Ils ont ensuite évalué l'action de la beauvericine sur la migration cellulaire de deux lignées cellulaires cancéreuses métastatiques qui sont PC-3M (prostate) et MDA-MB-231 (sein) et ont montré qu'elle avait une activité inhibitrice de la migration cellulaire à des concentrations sublétales, inhibant ainsi la métastase.

Pour finir, ils ont évalué l'activité angiogénique de la beauvericine en testant sa capacité à interférer avec la formation d'un réseau de cellules endothéliales HUVEC-2. La beauvericine a clairement montré une puissante activité antiangiogénique à des concentrations sublétales, en perturbant complètement la formation du réseau HUVEC-2.

(Zhan et al., 2007)

### **II.A.6.c) La chlorophylline**

Les chlorophyllines sont un groupe de sels hydrosolubles dérivés de la chlorophylle, se différenciant par l'identité des cations associés aux anions. La forme retrouvée dans les excréments de *Bombyx mori* est un dérivé auquel sont associés des ions sodium ( $\text{Na}^+$ ) et un ion cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) central, appelé « complexe cuivrique de la chlorophylline sodique ». Sous cette forme, il a été utilisé comme colorant alimentaire (E141 de couleur verte) dans différents pays.



**Figure 60 : Structure du complexe cuivrique de la chlorophylline sodique**

En 2003, des scientifiques chinois ont testé l'activité de la chlorophylline dérivée des excréments des larves de *Bombyx mori* (constituant le remède « Can sha » de médecine traditionnelle chinoise) *in vitro* sur différentes lignées cellulaires cancéreuses. Ces cellules sont celles de la leucémie promyélocitaire humaine HL-60, les cellules K-562 de la leucémie myéloïde humaine, les cellules S-180 du sarcome de la souris et les cellules du cancer du sein humain MCF-7. Les cellules des différentes lignées ont été incubées avec des doses croissantes de chlorophylline pendant 72 heures. Pour les trois premières lignées cellulaires, la densité cellulaire a été mesurée à l'aide d'un hématocytomètre. Pour la lignée MCF-7, ils ont utilisé une méthode de marquage des cellules au BrdU suivie d'un test ELISA pour déterminer la densité cellulaire. Ils ont montré que la chlorophylline inhibait la prolifération de toutes ces lignées cellulaires, qu'elles soient en suspension (pour HL-60, K-562 et S-180) ou adhérentes (pour MCF-7). (Chiu et al., 2003)

Ces scientifiques précisent également qu'il n'y a pas d'effets indésirables à une dose de 450 milligrammes par jour et pour une personne d'un poids standard de 60 kilogrammes. (Chiu et al., 2003)

Ils ont aussi montré que cet effet cytostatique ne dépendait pas de l'éclairage, comme l'avaient laissé penser des scientifiques lors de précédentes recherches. Ceux-ci affirmaient, à tort, que l'extrait « Can sha » réduisait significativement le poids des tumeurs seulement s'il était dynamisé par de la lumière artificielle monochromatique assez intense et que cette activité photosensibilisatrice antitumorale était liée à la présence de dérivés et de molécules de dégradation de la chlorophylle. (Lupoli, 2010a)

## **II.B) *Antheraea pernyi***

### **II.B.1) Classification**

*Antheraea pernyi* est un hétérocère ou papillon de nuit appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à la super-famille des *Bombycoidea*, à la famille des *Saturniidae* (qui comprend environ 1400 espèces dans le monde) et au genre *Antheraea*.

L'espèce *Antheraea pernyi* a été décrite en 1855 par Guérin-Méneville suite à son introduction en Europe.

On le retrouve sous plusieurs autres noms vernaculaires tels que le « Bombyx chinois », le « Bombyx de Perny », le « ver à soie du chêne », le « Tussah de Chine » ou encore « the Chinese Oak Silkmoth » en anglais. (Delfosse & Duprez, 2005)

### **II.B.2) Répartition géographique**

Les *Saturniidae* sont des papillons de très grande taille que l'on trouve surtout dans les forêts tropicales humides.

*Antheraea pernyi* est une espèce originaire de Chine septentrionale, du nord de la Chine. On la retrouve depuis la région de l'Amour en Russie jusqu'au sud de la Chine, en passant par la Mandchourie. (Guyot, 1997) Elle est élevée pour la production de la soie Tussah, une soie grossière et de couleur beige, depuis environ 3500 ans et a eu sa plus grande importance commerciale pendant la dynastie des Han en Chine. On estime qu'aujourd'hui la production des cocons de soie Tussah est de 60 000 tonnes par an. (C.-X. Zhang et al., 2008)

En 1855, Guérin-Méneville l'a introduite en France pour revitaliser la sériciculture. Des populations sauvages ont pu se disperser et se maintenir en Europe, par exemple, dans le nord-est de l'Espagne dans la région de Barcelone, ainsi qu'aux Baléares. Ces populations accidentelles ont perduré jusque dans les années 50-60, elles sont désormais considérées comme éteintes.

Cette espèce a aussi été introduite au Japon et serait présente dans l'est de la Russie, à Taïwan et en Corée. Aujourd'hui, *Antheraea pernyi* est élevé à des fins commerciales surtout en Chine (90%), en Inde et au Japon. (Delfosse & Duprez, 2005) (Liu et al., 2010)

### II.B.3) Cycle de vie

Comme pour *Bombyx mori*, le cycle de développement d'*Antheraea pernyi* se démarque par la présence d'un cocon entourant la chrysalide au stade nymphal.

Cette espèce peut présenter de 1 à 2 cycles par an, selon la latitude. Par exemple, en Chine du sud elle sera univoltine, ce qui veut dire qu'elle ne présentera qu'une génération par an. Tandis qu'en Chine du nord, elle sera bivoltine et présentera deux cycles par an. Le deuxième cycle entrera en diapause nymphale pendant l'hiver.

Tout d'abord, la femelle va pondre les œufs. Elle en pond de 80 à 400, 200 en moyenne. La ponte dure de 3 à 5 jours. Les œufs sont pondus sur la plante hôte qui est le chêne (toutes les plantes du genre *Quercus*), dont la larve se nourrira, et sont collés en général sous les feuilles.

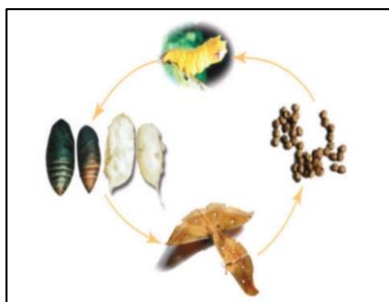
L'éclosion a lieu 10 à 15 jours plus tard, laissant apparaître de toutes petites larves du stade L1. Au cours de sa vie larvaire, la larve va se nourrir et subir 4 mues pour grossir et atteindre le stade L5. Les larves du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> stade se nourrissent de feuilles de chêne tendres et vivent dans une forte humidité (environ 80% d'humidité) tandis que les larves du 4<sup>ème</sup> au 5<sup>ème</sup> stade préfèrent se nourrir de vieilles feuilles de chêne et vivent dans des conditions plus sèches. Le stade larvaire dure environ de 40 à 55 jours pour des températures optimales comprises entre 21 et 27°C.

Une fois la taille optimale atteinte, la larve L5 produit un fil de soie grâce à ses glandes séricigènes et s'entoure avec afin de former un cocon dans un groupe de feuilles de chêne, fixé au rameau ou directement aux feuilles grâce à un pédoncule. A la fin de ce processus, la larve sécrète des sucs digestifs qui font passer l'état du cocon de doux à rigide et élastique. Le fil de ce cocon peut atteindre jusqu'à 5000 mètres de long.

La chrysalide se forme à l'intérieur du cocon de soie. Ce stade nymphal va permettre à *Antheraea pernyi* d'acquérir les caractères d'adulte. Ce stade dure de 22 à 25 jours en général. La mue entre la larve et la chrysalide (ou nymphose) a lieu début juillet pour la première génération. La seconde génération se développant au cours du mois d'août ou septembre, verra son stade nymphal entrer en diapause pendant 8 à 10 mois avant d'effectuer la métamorphose.



Quand la métamorphose en adulte a eu lieu, l'imago sécrète un liquide alcalin pour percer le cocon et s'en extraire. En général, le mâle sort avant la femelle pour être prêt à s'accoupler. C'est ce que l'on appelle scientifiquement la protandrie. Les adultes ont une durée de vie allant de 3 à 15 jours. Ce stade ne sert qu'à l'accouplement. Les adultes ne se nourrissent pas. Le mâle est attiré par les phéromones sexuelles diffusées dans l'air par la femelle. L'accouplement a lieu et dure quelques heures. Environ 24 heures après l'accouplement, la femelle commence à pondre les œufs.



**Figure 61 : Cycle de développement de *Antheraea pernyi***

#### **II.B.4) Aspect morphologique**

##### **II.B.4.a) Aspect de l'œuf**

L'œuf a une forme ovale, et il est dorso-ventralement plat. Sa couleur de base est blanc cassé (ou porcelaine) mais il est recouvert d'une substance colloïdale de couleur brun-marron. Il possède un chorion assez épais. Il mesure de 2,2 à 3,2 millimètres de long et de 1,8 à 2,6 millimètres de large. Un œuf pèse en moyenne entre 8 et 10 milligrammes.



**Figure 62 et Figure 63 : Œufs de *Antheraea pernyi***

#### **II.B.4.b) Aspect de la chenille**

L'éclosion des œufs laisse apparaître des larves de 1<sup>er</sup> stade L1 qui mesurent en moyenne 5 millimètres. Elles ont la tête d'une couleur allant de l'orange au brun rougeâtre. Le reste du corps de la chenille est de couleur noire, orné de 6 rangs longitudinaux de tubercules surmontés chacun de cinq ou six soies blanches assez longues.



**Figure 64 et Figure 65 : Larves de stade L1 de *Antheraea pernyi***

Dès le stade larvaire suivant, la couleur change et passe au vert clair (ou jaune-cyan). Mais il existe plusieurs variétés d'*Antheraea pernyi*, issues de la domestication de cette espèce, dont les larves ont des couleurs différentes. Ces variétés différentes sont classées selon quatre grands groupes de couleurs : jaune-cyan, blanc, bleu et jaune. (Liu et al., 2010) La couleur la plus souvent retrouvée à l'état naturel comme en élevage est la couleur verte tendant vers le jaune. Les larves du stade L2 au stade L5 ont 5 tâches sombres sur chaque lobe du visage. La capsule céphalique, les pattes antérieures et les stigmates sont beige plus ou moins foncé.

La larve pèse environ 5,5 milligrammes à la naissance et atteint 16,5 grammes à terme, ce qui représente un facteur multiplicateur de 3 000.

Elle comporte, notamment lorsqu'elle est plus âgée, de petites taches bleues sur le côté du corps. Des arêtes coniques paires ornent son dos et favorisent son camouflage dans la nature. Des tâches bleu clair sont présentes sous chaque stigmate, de chaque côté de la tête et au-dessus des vraies pattes.

Les larves du stade L2 mesurent en moyenne 1 centimètre, celles du stade L3 mesurent en moyenne 2 centimètres et celles du stade L4 mesurent environ 4 à 5 centimètres. La taille du dernier stade varie entre 60 et 95 millimètres et peut même atteindre 10 centimètres. (Delfosse & Duprez, 2005) (Guyot, 1997)



**Figure 66 et Figure 67 : Larves de stade L5 de *Antheraea pernyi***

#### **II.B.4.c) Aspect de la chrysalide**

La chrysalide est de forme fusiforme, effilée aux extrémités, avec une longueur de 3 à 4 centimètres et une largeur de 1,8 à 2,2 centimètres. Le poids d'une chrysalide varie de 8 à 15 grammes. Elle est de couleur jaune au début et vire au brun foncé après 3 à 5 jours.



**Figure 68 : Nymphes de *Antheraea pernyi***

La chrysalide est entourée d'un cocon de soie précédemment tissé par la chenille. Ce cocon a une forme ovoïde, est dur et a une couleur brun clair. Il mesure environ 5 à 8 centimètres de longueur pour environ 2 à 3 centimètres de largeur. Le cocon est relié au rameau ou directement à la feuille à l'aide d'un pédoncule de soie.



**Figure 69 et Figure 70 : Cocons de soie de *Antheraea pernyi***

#### **II.B.4.d) Aspect de l'imag**

On distingue les mâles des femelles par leur différence de taille. Le corps du mâle mesure de 26 à 32 millimètres tandis que celui de la femelle mesure de 30 à 38 millimètres. Dans de rares cas, la longueur du corps peut aller jusqu'à 50 millimètres. De même pour l'envergure, celle des mâles mesure de 95 à 134 millimètres tandis que celle des femelles peut aller jusqu'à 150 millimètres. Mais la différence la plus marquante est au niveau de l'abdomen, celui des femelles étant nettement plus volumineux que celui des mâles, de façon à pouvoir accueillir les centaines d'œufs résultant de l'accouplement. Leur abdomen est fusiforme.

La couleur des adultes n'est pas très variable, ils sont de couleur fauve ou brun-grisâtre. On les trouve plus rarement de couleur brun-chocolat.

Leurs antennes sont caractéristiques, elles sont de forme plumeuse et sont 4 fois plus développées chez le mâle que la femelle.



**Figure 71 et Figure 72 : Adultes de *Antheraea pernyi*, vue de face et vue du dessus**

De chaque côté des ailes antérieures et des ailes postérieures, il y a une paire d'ocelles entourées de noir avec une rayure blanche et du jaune avec quelques reflets rouges à l'intérieur. Le centre des ocelles reste de couleur noire. Chez le mâle, les ailes antérieures sont nettement falciformes et sont recouvertes d'androconies. Les androconies sont des écailles spéciales odoriférantes de couleur noir velouté, regroupées en touffe et contenant les phéromones sexuelles mâles.

Le corps et les pattes sont recouverts d'un duvet de soies de même couleur que les ailes, sauf au niveau des articulations, laissant apparaître une couleur noire à ce niveau-là. (Delfosse & Duprez, 2005; Guyot, 1997; Silva et al., 2018)



**Figure 73 : Ocelle d'une aile d'adulte**

**Figure 74 : Adulte de *Antheraea pernyi***

## **II.B.5) Parties utilisées/effets thérapeutiques**

### **II.B.5.a) Utilisation des œufs**

En Chine, les œufs d'*Antheraea pernyi* ont été utilisés pour traiter des maladies gynécologiques grâce à une molécule qui en est extraite : l'embryosine.

Les œufs sous forme de poudre sont utilisés pour traiter la neurasthénie ou comme complément alimentaire pour les patients âgés ou les patients ayant subi des actes chirurgicaux. Toujours sous forme de poudre, ils sont utilisés pour leurs propriétés tonifiantes sur les muscles et les os et pour nettoyer le foie et les reins. Pour finir, ils amélioreraient l'immunité, permettent de résister à la fatigue et auraient même des effets anti-tumoraux. (W. Li et al., 2017)

### **II.B.5.b) utilisation des larves**

En Chine, les larves étaient utilisées comme tranquillisant. Cela a été retrouvé dans l'une des plus anciennes monographies médicales de Chine, datant d'il y a environ 2000 ans, intitulée « Shennong Bencaojing ». Dans cette monographie, 21 sortes d'insectes ont été enregistrées pour avoir des propriétés médicinales. Ces insectes étaient divisés en trois grades en fonction de leurs propriétés et fonctions. *Antheraea pernyi* est classé parmi ceux du grade 2, qui étaient considérés comme partiellement toxiques et pouvaient être consommés en toute sécurité en quantité limitée. (Zimian et al., 1997)

En tant qu'aliments nutritifs, les larves du 5ème stade (L5) sont consommées par les humains. On les fait frire, sauter, rôtir ou bouillir. Ces larves sont traditionnellement consommées dans la région de Tonghua, dans la province du Jilin, mais ont gagné en popularité également dans d'autres régions de la Chine. (W. Li et al., 2017)

### **II.B.5.c) Utilisation des chrysalides**

Les chrysalides sont consommées comme aliment traditionnel en Chine, frites avec des oignons et considérées comme un met d'exception. (Lupoli, 2010a)

Elles sont consommées comme aliments après avoir été frites, sautées, rôties ou bouillies. De nos jours, une quarantaine de plats à base de chrysalides d'*Antheraea pernyi* existent, notamment sous forme de pain, de biscuits, de pâtisseries ou encore de conserves. (W. Li et al., 2017)

On retrouve ces chrysalides en tant qu'aliment traditionnel dans les marchés et épicerie surtout dans le nord-est de la Chine. (C.-X. Zhang et al., 2008)

Le médicament « Shenganning », qui est principalement composé de chrysalides diapausantes, a été utilisé en médecine traditionnelle chinoise pour traiter la glomérulonéphrite, le syndrome néphrotique, l'hépatite et la cirrhose. (W. Li et al., 2017)



**Figure 75 et Figure 76 : Remèdes « Shenganning » de médecine traditionnelle chinoise**

L'huile de chrysalides est très utilisée dans les médicaments (en tant qu'adjuvant) et dans les cosmétiques, pour ses effets hydratants. L'huile a des propriétés défatiguantes, elle lutte contre le vieillissement cutané et favorise la croissance des cheveux. (Liu et al., 2010; W. Li et al., 2017)

### **II.B.5.d) Utilisation des adultes**

En Chine, les adultes d'*Antheraea pernyi* sont consommés comme aliments ou vins de santé. On leur attribue des vertus de renforcement du corps humain, de lutte contre la fatigue et le vieillissement. Il prolongerait également la durée de vie des humains. (W. Li et al., 2017; C.-X. Zhang et al., 2008)

Sous forme de fluide concentré, il agit comme un protecteur du foie. (W. Li et al., 2017)  
Pour préparer le remède suivant, on récupère les testicules et les glandes séminales des papillons mâles vierges, que l'on appelle les « zooïdes ». Il a une action contre le vieillissement, augmente la longévité, améliore le développement des muscles ainsi que la cicatrisation. Il permet d'avoir plus d'énergie, mais surtout, il est utilisé depuis des centaines d'années en Chine pour améliorer les performances sexuelles chez l'homme. (X. Chen et al., 2009; Lupoli, 2010a)

## **II.B.6) Expérimentations et recherches scientifiques sur *Antheraea pernyi***

### **II.B.6.a) Sur les larves de *Antheraea pernyi***

En 2006, des scientifiques ont fait des recherches sur les effets de la poudre de larves de *Antheraea pernyi*. Ils ont nourri des souris mâles et femelles avec un régime alimentaire contenant 4% de poudre de larves pendant une semaine. Ils ont comparé leurs résultats avec un modèle murin de diabète alloxanique, c'est-à-dire des souris avec un diabète expérimental induit par l'alloxane. Leurs résultats ont montré que la poudre de larves avait pour effet de faire baisser le taux de sucre dans le sang de ces souris. Après cette semaine de régime, la glycémie des souris mâles avait baissé de 23% et celle des femelles de 10%. (Y. Jiang & al, 2006)

Les molécules actives seraient des flavonoïdes provenant des feuilles du chêne et auraient une activité inhibitrice de l'alpha-glucosidase, expliquant l'effet hypoglycémiant. (LUO et al., 2012)

En 2011, des scientifiques chinois ont cherché à évaluer la composition nutritionnelle des larves de 5<sup>ème</sup> stade de *Antheraea pernyi*. Leurs résultats ont montré que la teneur en eau était d'environ 80% et que les taux de graisses et de protéines étaient respectivement de 17,93% et 62,72% du poids sec des larves. La teneur en acide alpha linoléique était élevée et représentait 45,33% de la teneur en acides gras. De plus, elle est riche en oligo-éléments. Ce qui montre que la larve de *Antheraea pernyi* est une ressource alimentaire riche d'un point de vue nutritif. (Tian et al., 2011)

### **II.B.6.b) Sur les chrysalides**

De par leur importance en tant qu'aliments traditionnels, les chrysalides de *Antheraea pernyi* ont fait l'objet de recherches sur leur composition nutritionnelle et leur sécurité. Les insectes sont connus pour être une très bonne source de protéines, de 40 à 60% de leur poids sec (en comparaison avec les viandes rouges ou blanches qui n'en contiennent en moyenne que 20%).

En 2006, la protéine de chrysalide de *Antheraea pernyi* (PSP=protein of silkworm pupae) a été évaluée. Il s'avère que la PSP est une protéine de grande qualité, elle est composée de 18 acides aminés dont 8 sont des acides aminés essentiels chez l'homme, elle a donc un grand potentiel pour réduire les déficits en acides aminés essentiels chez l'homme. La PSP peut équilibrer la nutrition humaine et servir de complément alimentaire alternatif. Les scientifiques ont démontré qu'il n'y avait pas de toxicité à des doses de 15g/kg chez la souris. On peut donc utiliser sans problème la PSP à des doses allant jusqu'à 15mg/kg et par jour chez l'homme. De plus, via des tests de mutation *in vitro* et *in vivo*, il a été montré que la PSP n'était ni mutagène, ni génotoxique. Ils n'ont pas relevé d'effet indésirable suite à la consommation de la PSP par les souris. (Zhou & Han, 2006)

En 2009, la composition et les effets de l'huile de chrysalides de *Antheraea pernyi* sur le taux de graisses dans le sang ont été évalués en Chine. L'huile a été extraite des chrysalides au moyen d'éther de pétrole, puis purifiée via une méthode d'inclusion à l'urée pour isoler les acides gras polyinsaturés. Ensuite, la chromatographie en phase gazeuse a montré que la teneur en acides gras insaturés était assez élevée, en particulier en acide linoléique. Pour analyser les effets, l'expérience a été effectuée sur des souris mâles. Les résultats ont montré que l'huile de chrysalides de *Antheraea pernyi*, et donc les acides gras polyinsaturés, ont eu un effet positif sur la réduction du taux de graisse dans le sang. Cette huile peut être utilisée pour contrôler le taux de mauvaises graisses dans le sang. (X. Wang et al., 2009)

En 2011, d'autres scientifiques ont analysé la composition en acides gras de l'huile de chrysalide. L'analyse a été faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à la



spectrométrie de masse. Les résultats ont prouvé que cette huile était très riche en acides gras insaturés. (Pan et al., 2011)

En 2011, des expériences ont été faites sur des sections de peau humaine par des scientifiques chinois. Il a été montré que l'huile de chrysalides de *Antheraea pernyi* pouvait rendre la couche cornée de la peau plus fine, accroître l'activité de la couche épidermique, enrichir les fibres de collagène de la couche épidermique, augmenter la taille des fibroblastes ainsi que favoriser le métabolisme. (Wang, 2011) Ces expériences confirment les propriétés anti vieillissement cutané, anti fatigue et de favorisation de la croissance des cheveux. (Wang et al, 2009)

### **II.B.6.c) Sur les adultes de *Antheraea pernyi***

En 2002, des scientifiques chinois ont testé l'efficacité de deux remèdes de médecine traditionnelle : « Hu-Bao » (HB) et « Seng-Bao » (SB). Ces deux médicaments sont composés de nombreuses plantes médicinales et d'adultes mâles de *Antheraea pernyi*.

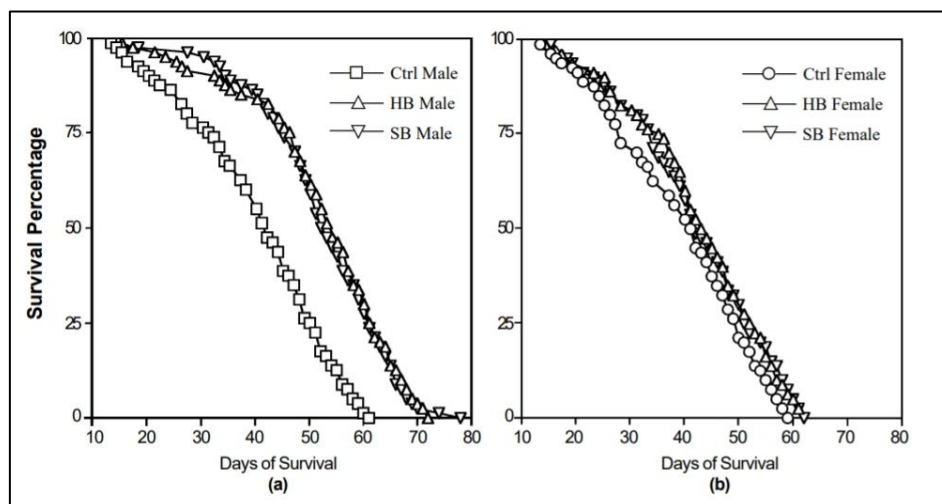
HB	SB
* <i>Glycyrrhiza uralensi</i>	* <i>Glycyrrhiza uralensi</i>
* <i>Panax ginseng</i>	* <i>Panax ginseng</i>
*Silkworm moth ( <i>Antherea pernyi</i> )	*Silkworm moth ( <i>Antherea pernyi</i> )
<i>Cinnamomum cassia</i>	<i>Acanthopanax senticosus</i>
<i>Cuscuta chinensis</i>	<i>Angelica sinensis</i>
<i>Epimedium brevicornum</i>	<i>Astragalus membranaceus</i>
<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Dioscorea batatas</i>
<i>Lonicera japapicus</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Ophiopogon japonicus</i>	<i>Lycium chinese</i>
<i>Raphanus sativu</i> (seeds)	<i>Morinda officinalis</i>
Young antler ( <i>Cerus nippon</i> )	<i>Panax pseudo-ginseng</i>
<i>Zingiber officinale</i>	<i>Rehmannia glutinosa</i>
	<i>Rhodiola sachalinensis</i>
	<i>Schisandra sphenanthera</i> (fruits)

\*Common ingredients in HB and SB.

**Figure 77 : Composition du « Hu-Bao » (HB) et du « Seng-Bao » (SB)**

Ces scientifiques ont utilisé, comme modèle de longévité, la drosophile ou mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster*. Leurs résultats ont montré que les effets étaient sexospécifiques et donc que les deux remèdes n'étaient actifs que sur les mâles. Après l'ajout de HB et SB aux milieux de culture, la durée de vie était considérablement augmentée chez les drosophiles mâles. En revanche, ni HB ni SB n'ont eu beaucoup

d'efficacité sur les femelles. L'adulte mâle de *Antheraea pernyi*, à lui seul, augmentait la durée de vie des drosophiles de l'ordre de 10%, mais il a été prouvé que le mélange avec les diverses plantes de ces deux remèdes provoquait une synergie d'action et des effets plus prononcés.



**Figure 78 : Effet de HB et SB sur la durée de vie du mâle (a) et de la femelle (b) de *Drosophila melanogaster***

(K. Hu et al., 2002)

Dans les années 2000, des études ont été menées sur les effets du fluide concentré d'adultes mâles de *Antheraea pernyi*.

- En 2004, des scientifiques ont utilisé des souris dont le foie était intoxiqué par du tétrachlorure de carbone pour analyser l'effet du fluide concentré sur le foie. Les résultats ont montré qu'il pouvait protéger les cellules du foie chez les souris intoxiquées et qu'il pouvait réduire la dénaturalisation et la nécrose des cellules hépatiques. (S. Hu et al., 2004)
- En 2006, les effets de protection du foie et de baisse du taux des enzymes hépatiques ont été démontrés. (Hu et al, 2006).
- En 2006, l'immunité chez la souris blanche a été testée suite à l'utilisation de produits de santé à base de fluide concentré d'adultes mâles de *Antheraea pernyi*. Les résultats ont indiqué que le fluide concentré avait une action de régulation de l'immunité spécifique cellulaire et d'amélioration de la fonction immune des souris blanches. (D. Zou et al., 2006)

En 2009, des chercheurs ont testé l'efficacité des zooïdes de *Antheraea pernyi* sur des rats atteints de sarcomes et traités par radiothérapie. Le but était d'évaluer l'effet de l'extrait de zooïde mâle sur la fonction immunitaire spécifique et non spécifique des rats atteints de tumeur. Des modèles de tumeurs ont été établis en injectant des cellules tumorales W256 dans 60 rats Wistar par voie sous-cutanée. Et les rats ont été divisés au hasard en 3 groupes : le groupe modèle (MG), le groupe radiation (RG) et le groupe test / expérimental (TG / EG). Les résultats ont indiqué que l'extrait de zooïde mâle peut augmenter de manière significative le nombre de lymphocytes T CD4 + et le rapport CD4 + / CD8 + des rats porteurs de W256 par rapport au groupe sous radiothérapie. En conclusion, cet extrait de zooïde mâle a pour effet de renverser l'immunosuppression induite par les radiations et pourrait être considéré comme un agent auxiliaire principal associé à la radiothérapie traditionnelle pour les tumeurs malignes. (Y. Zhang et al., 2009)

## **II.C) Thitarodes**

### **II.C.1) Classification**

Le genre *Thitarodes* a été créé par Viette en 1968 sur la base de *Hepialus armoricanus* (décrit par Oberthür en 1909). La plupart des espèces décrites sous le genre *Hepialus* (par Fabricius en 1775) ont été transférées au genre *Thitarodes* cette année-là. Selon Viette, le caractère propre à ce genre était la présence d'une épine dépassant de la partie basale de la valve des organes génitaux masculins. Les scientifiques chinois n'ont pas adopté le genre *Thitarodes* dans leur système de classification, considérant que le caractère décrit par Viette permettait de distinguer des espèces, et non des genres. Nielsen et son équipe, en 2000, ont créé une liste mondiale des *Hepialidae*, répertoriant 51 espèces dans le genre *Thitarodes*. (N. Jiang et al., 2016)

En 2010, des entomologistes chinois ont réorganisé l'ancien genre *Hepialus*, qui contenait 68 espèces, en 4 nouveaux genres : *Parahepialus*, *Ahamus*, *Hepialus* et *Thitarodes* avec 40 espèces. (Z.-W. Zou et al., 2010) Des doutes subsistent quant à l'établissement de ces nouveaux genres, la taxonomie de *Thitarodes* doit être révisée à l'avenir. Le modèle qui paraît le plus utilisé reste celui de Nielsen en 2000.

Les papillons de ce genre sont des hétérocères à activité crépusculaire appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à l'infra-ordre des *Exoporia*, à la super-famille des *Hepialoidea* et à la famille des *Hepialidae* qui regroupe 60 genres et environ 500 espèces à travers le monde. L'infra-ordre des *Exoporia* ne contient que deux super-familles, et rassemble des papillons dont les femelles ont un canal externe entre l'ostium et l'ovipore par lequel le sperme est transféré dans l'ovule pendant l'accouplement.

Les papillons du genre *Thitarodes* sont aussi appelés « papillons fantômes » (Ghost moth).

Ce sont des papillons primitifs, ne possédant pas de trompe, ayant de courtes antennes et dont les femelles ont un appareil reproducteur atypique.

## II.C.2) Répartition géographique

Les espèces du genre *Thitarodes* se trouvent pratiquement exclusivement en Asie orientale, essentiellement en Himalaya, dans les pâturages sur les hauts plateaux du Tibet, du Bhoutan, du Népal et dans les régions du nord-est de l'Inde. On les retrouve en général dans des zones froides, à une altitude comprise entre 3000 et 5000 mètres. On retrouve quelques rares espèces à Taïwan et au Japon. (Maczey et al., 2010a)



**Figure 79 : Zone de répartition des espèces du genre *Thitarodes***

## II.C.3) Cycle de vie

Le cycle de vie de ces espèces du genre *Thitarodes* est très long (l'un des plus longs chez les insectes) et dure en général 3 à 5 ans selon les espèces. Depuis le 20<sup>ème</sup> siècle, des scientifiques se mettent à la culture artificielle de quelques espèces de *Thitarodes*. Dans des conditions de culture optimales (température, humidité, lumière et alimentation), la durée du cycle de vie a été abaissée à 1 à 2 ans.

Prenons comme exemple *Thitarodes pui* qui est une espèce endémique du mont Sejila qui se situe à une altitude comprise entre 4100 et 4650 mètres d'altitude au Tibet et dont le cycle de vie a été observé et étudié. Un cycle complet incluant l'œuf, les stades larvaires, la chrysalide et l'adulte dure environ 3 à 4 ans.

Les femelles pondent les œufs par diffusion et non à un endroit précis, c'est-à-dire qu'elles les dispersent pendant leur vol, ce qui est le cas pour une grande partie des *Hepialidae*. La femelle pond en moyenne 600 à 800 œufs dans les prés du mont Sejila.

Les œufs se développent, ils éclosent entre 41 et 47 jours après la ponte laissant apparaître une larve de stade L1. Les stades larvaires vont jusque 7 à 9 stades (rarement 10). (J.-F. Li et al., 2011)

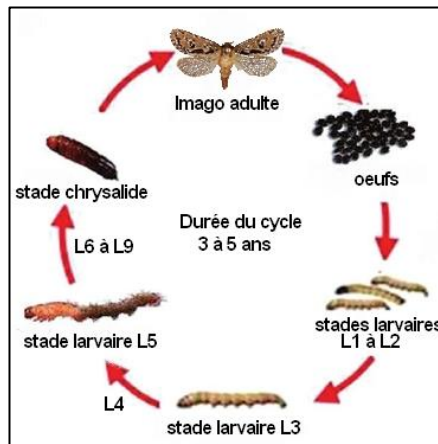
Les larves sont souterraines, vivant dans un sol humide la plupart du temps mais congelé de novembre à mars. La température moyenne annuelle dans cette région est inférieure à 5°C et le sol est périodiquement congelé et décongelé. Elles vivent dans des tunnels creusés dans le sol allant de 5 à 25 cm de profondeur. Les larves de L1 à L3 favorisent les tunnels moins profonds tandis que les larves de L4 à L7 préfèrent les plus profonds. Elles peuvent survivre dans le sol à une température de -8°C à 0°C. Les larves gelées peuvent hiverner dans un sol gelé. Elles seront capables de se déplacer et manger lorsque la température ambiante sera supérieure à 0°C. (Z. Zou et al., 2011)

Elles sont phytophages et radiciphages, elles se nourrissent des racines et parties souterraines de certaines plantes, notamment de *Kobresia sp.*, des cypéracées aux souches fibreuses et gazonnantes. Mais elles se nourrissent également de graminées et des herbacées alpines comme les *Polygonum sp.*, les *Astragalus sp.*, les *Meconopsis sp.*, ainsi que des plantes à bulbes et des petits arbustes. (van Panhuys-Sigler, 2013a)

La durée de l'ensemble des stades larvaires va de 990 à 1350 jours, c'est l'étape la plus longue des espèces du genre *Thitarodes*. Pendant ce temps, les infections par des champignons entomopathogènes sont fréquentes et donc le taux de survie des larves de *Thitarodes pui* est de 2,6% (généralement en dessous de 10% pour toutes les espèces du genre *Thitarodes*).

La nymphose a lieu fin avril début mai. Elle passe par un stade pré-pupal avec des corps plus épais et plus courts. Dans les tunnels du sol, les chrysalides montent et descendent en fonction des changements de température et d'humidité. Les chrysalides se rapprochent de la surface du sol au moment de l'émergence. On remarque que lorsque la nymphose a lieu au stade L7, les adultes seront plus souvent des mâles, tandis que les larves du stade L9 donneront plus souvent des nymphes et adultes femelles. Le stade nymphal dure entre 35 et 41 jours.

Les adultes s'extirpent de la chrysalide au début de l'été, de fin juin à début juillet. Leur durée de vie est très courte, de 3 à 8 jours et ne sert qu'à la reproduction de l'espèce. Ils ont une activité crépusculaire. Les mâles et femelles vont danser et s'accoupler au crépuscule. Et enfin, la femelle pondra ses œufs par centaines en plein vol au-dessus des alpages. (J.-F. Li et al., 2011)



**Figure 80 : Cycle de vie des espèces du genre *Thitarodes***

#### **II.C.4) Aspect morphologique**

Prenons comme exemple *Thitarodes armoricanus* (encore souvent retrouvé sous le nom de *Hepialus armoricanus* dans les publications scientifiques) qui est l'espèce-type du genre *Thitarodes*.

##### **II.C.4.a) Aspect de l'œuf**

Les œufs sont de toute petite taille. Ils mesurent environ 0,06 centimètres de large pour environ 0,09 centimètres de hauteur. La coquille est dure mais peut rétrécir dans des conditions de faible humidité. Ils sont de couleur blanche juste après la ponte, mais noircissent quelques heures plus tard (2 à 5 heures). (Tao et al., 2016)

##### **II.C.4.b) Aspect de la chenille**

Les chenilles sont de type éruciforme, comportent 3 paires de vraies pattes sur le thorax et 5 paires de fausses pattes sur l'abdomen. Elles sont constituées de 13 segments et comportent quelques soies sur leur tégument. Leurs pièces buccales sont de type broyeur, elles se nourrissent de racines et de parties souterraines de plantes. Elles ont des glandes séricigènes, elles sécrètent de la soie pour éviter le dessèchement en cas de faible humidité du sol.

Leur taille varie de 0,2 à 0,5 centimètres pour les larves de stade L1 à plus de 6 centimètres de long pour les larves du stade L9. Le poids varie de 28 milligrammes en

moyenne pour les larves du stade L1 à 33 grammes en moyenne pour les larves du stade L9. Leur croissance est plus rapide entre les stades L1 et L7 et plus lente entre L7 et L9.

Elles sont de couleur blanche au début et changent de couleur au fur et à mesure des stades, en passant du blanc au beige-jaune pâle. Leur capsule céphalique est de couleur claire au début et vire jusqu'au rouge clair au stade L9. (Z.-W. Zou et al., 2012)



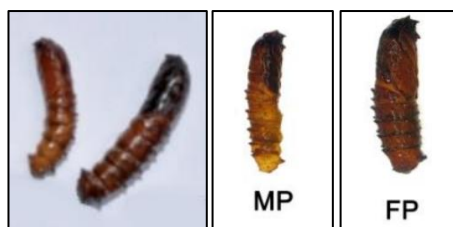
**Figure 81 : Œufs, larves de L1 à L9, nymphes et imagos mâle et femelle de *Thitarodes armoricanus***

**Figure 82 : Chenille des espèces du genre *Thitarodes***

#### **II.C.4.c) Aspect de la chrysalide**

Les chrysalides se forment sous terre. Elles mesurent 3 à 4 centimètres de long. Les chrysalides mâles sont de taille inférieure à celle des chrysalides femelles. Le poids d'une nymphe femelle est en moyenne de 630 milligrammes tandis que le poids d'une nymphe mâle sera aux alentours de 430 milligrammes.

Au début, la couleur des nymphes est d'un blanc laiteux puis varie séquentiellement en passant par le jaune pâle, le marron clair, puis marron foncé et enfin le noir. Elles sont mobiles et possèdent quelques crochets tégumentaires. En général, elles s'entourent d'un cocon sommaire constitué de soie et de terre. (Tao et al., 2016; Z.-W. Zou et al., 2012)



**Figure 83 : Chrysalides mâles (MP) et femelles (FP) de *Thitarodes***



#### **II.C.4.d) Aspect de l'imago (description générale du genre *Thitarodes*)**

(J.-F. Li et al., 2011; Maczey et al., 2010a; Tao et al., 2016; Z.-W. Zou et al., 2011)

Les imagos des espèces du genre *Thitarodes* sont primitifs. Ils présentent des traits archaïques comme la petite taille des antennes, l'absence de trompe ou proboscis et l'absence de frein ou frenulum, remplacé par une excroissance de l'aile antérieure, le jugum, qui vient chevaucher l'aile postérieure en vol. Le dimorphisme sexuel est prononcé, les mâles sont en général plus petits que les femelles. Leurs corps mesurent entre 15 et 25 millimètres.

- La tête comporte deux antennes courtes et de type filiforme. Elle ne comporte ni trompe ni palpes maxillaires, les pièces buccales sont rudimentaires et non fonctionnelles.
- Le thorax est long et comporte 3 paires de pattes et deux paires d'ailes allongées. La nervation des ailes est de type homoneure, elle est sensiblement similaire sur les ailes antérieures et postérieures. Le mécanisme de couplage est constitué d'un lobe situé près de la marge postérieure de l'aile antérieure que l'on appelle le jugum, et c'est l'aile antérieure qui est maintenue au-dessus de l'aile postérieure. La différence de taille entre l'aile antérieure et l'aile postérieure est faiblement marquée. Les ailes antérieures sont généralement plus colorées que les postérieures et les mâles sont légèrement plus colorés que les femelles. Leur vol est vif, ils ont une envergure de 30 à 50 millimètres. Lorsque l'adulte est au repos, les ailes sont rabattues le long du corps.

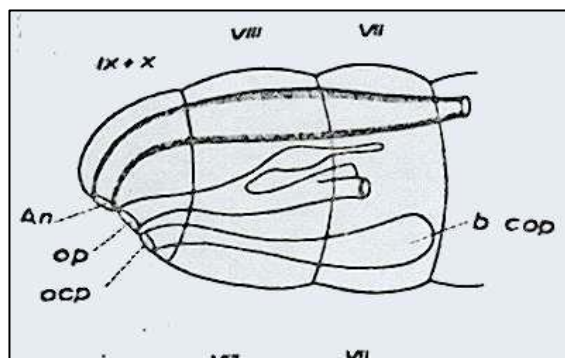


**Figure 84 : Nervation des ailes des *Hepialidae***

**Figure 85 : *Thitarodes* adulte au repos**

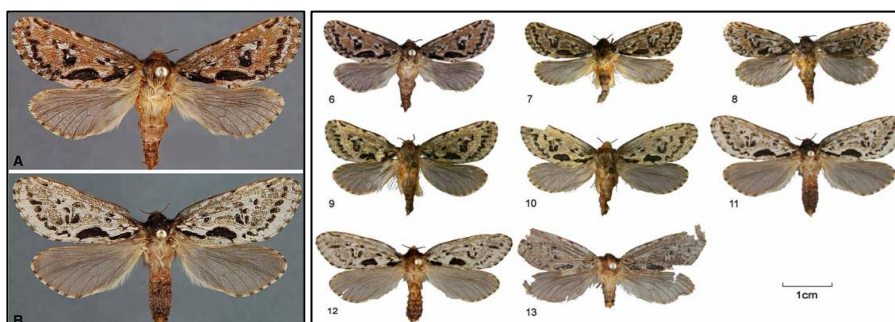
- L'abdomen est constitué de 9 segments et contient les organes reproducteurs, situés au 9<sup>ème</sup> segment. L'appareil reproducteur femelle est de type exoporien : la bourse copulatrice est isolée de l'appareil génital et débouche à

l'extérieur par une ouverture distincte réservée à la copulation (orifice de copulation) placée ventralement par rapport à l'orifice de ponte. Les deux orifices débouchent sur le 9e segment. Ce type n'est connu que chez les *Hepialidae*.



**Figure 86 : Appareil reproducteur d'une femelle de *Thitarodes* (bcop=bourse copulatrice, op=orifice de ponte, ocp=orifice de copulation, An=anus)**

L'abomen des femelles est plus développé et volumineux que celui des mâles. Il en va de même pour la taille du corps entier. Leur corps est allongé et recouvert d'écaillés et de soies mélangées.



**Figure 87 : Adulte mâle (A) et adulte femelle (B) de *Thitarodes armoricanus* et**

**Figure 88 : Exemples d'adultes du genre *Thitarodes***

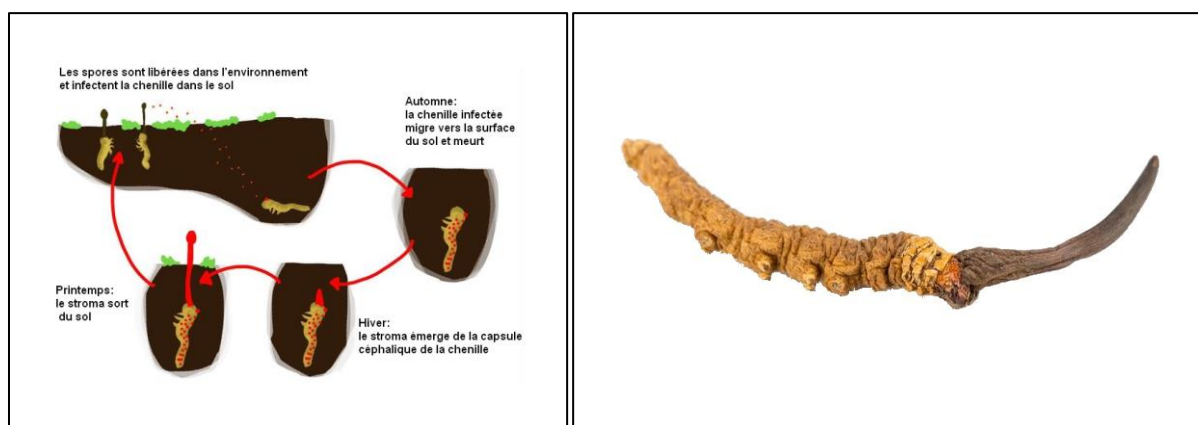
## II.C.5) Utilisation en médecine traditionnelle

### II.C.5.a) Parties utilisées

(Lupoli, 2010b; Maczey et al., 2010b; Shrestha & Bawa, 2013, 2013; van Panhuys-Sigler, 2013b)

On utilise les larves de *Thitarodes* infectées par un champignon entomopathogène qui est *ophiocordyceps sinensis* classé dans la famille des *Ophicordycipitaceae* (anciennement connu sous le nom de *cordyceps sinensis* et classé dans la famille des *Clavicipitaceae*). *Ophiocordyceps sinensis* peut infecter une cinquantaine d'espèces différentes de la famille des *hepialidae* (genre *Thitarodes*). (X.-L. Wang & Yao, 2011)

Son cycle biologique suit les étapes suivantes : les spores du champignon infectent les larves de papillon du genre *Thitarodes* à la fin de l'automne, elles entrent dans l'hémocoel des larves (surtout des stades L4 à L6 qui sont plus propices aux infections). Ensuite, les larves infectées vont migrer jusqu'à 2 à 5 centimètres en dessous de la surface du sol et vont mourir, la tête orientée vers le haut. Pendant tout l'hiver, le champignon va se nourrir du corps de la chenille, il se développe à partir de la tête de l'insecte pour former un bourgeon appelé stroma, qui gèle en hiver. Au début du printemps, le corps fructifère du champignon (stroma) émerge à la surface du sol.



**Figure 89 : Cycle biologique d'*Ophiocordyceps sinensis***

**Figure 90 : Aspect du champignon-chenille**

Le complexe formé par la chenille d'un *Thitarodes* et le champignon *Ophiocordyceps sinensis* est un remède connu depuis près de 2000 ans en Chine. Il alimente les légendes et mythes chinois car il est vénéré et supposé guérisseur.

Le premier enregistrement écrit, évoquant ce remède, date de l'année 620 pendant la dynastie Tang. Cet écrit remplace le récit d'autrefois, qui parlait d'une créature dont l'existence faisait allusion à une transformation de l'animal en plante durant l'été, puis de la plante à l'animal, en hiver. (Holliday & Cleaver, 2008)

Il a ensuite largement été documenté, en 1757 pendant la dynastie Qing, dans le Bencao « Congxin ».

Historiquement, il était utilisé par les médecins du roi, mais il est maintenant accessible à tous et utilisé dans toute l'Asie.

Ce remède a été popularisé en 1993 lorsque deux athlètes chinoises ont battu trois records du monde en course de fond. En effet, elles avaient consommé des décoctions de ce remède pendant leur préparation.

Le prix de ce remède est élevé car il est rare et difficile à récolter. Chaque année au printemps, des milliers de personnes arpentent les hauts plateaux du Tibet, à la recherche du champignon-chenille qui est récupéré à la main à l'aide d'une pioche. Ils peuvent être payés jusqu'à 100 euros par semaine, ce qui est un très bon salaire en Chine. Cette activité dure 2 mois et représente trois quarts du revenu annuel des récolteurs. Mais du fait de sa rareté, le gouvernement chinois limite maintenant la récolte. Des méthodes de culture ont été développées, pour en abaisser le prix, mais l'élevage des chenilles de *Thitarodes* n'est pas encore au point donc le processus se fait sur des milieux artificiels et le remède naturel reste le plus prisé en Asie.

Pour son utilisation, il est généralement réduit en poudre et consommé à raison de 3 à 15 grammes par jour (1 à 3 grammes par prise) en décoction ou directement dans l'alimentation comme dans des soupes. (Lupoli, 2010b)

Maintenant, on le retrouve en vente sur internet sous forme de poudre ou de gélules. Son prix est souvent moins élevé que le remède naturel entier, mais il est difficile de savoir si le produit provient du champignon-chenille, ou s'il vient de la culture artificielle de *Cordyceps*.



**Figure 91 : Champignon-chenille naturel**

**Figure 92 et Figure 93 : Champignon-chenille (broyé) en gélules**

### **II.C.5.b) Effets thérapeutiques**

On trouve le remède sous différentes dénominations signifiant toutes « Chenille d'hiver, brindille d'été » ou plus simplement « Ver d'hiver, herbe d'été »

- « Dong Chong Xiao Cao » en Chine
- « Yartsa Gunbu » au Tibet
- « Yarsagumba » au Népal

Ce remède est plus communément retrouvé sous le nom de « Cordyceps ».

- En Chine, Dong Chong Xiao Cao est utilisé comme tonique. Il améliore l'état de santé général, donne de l'énergie et de l'endurance, augmente la vitalité, permet de retrouver de l'appétit et un sommeil efficace, en particulier chez les personnes âgées ou convalescentes. Ses propriétés sont comparables à celles du Ginseng. (Lupoli, 2010b; Shrestha & Bawa, 2013)
- Au Népal, Yarsagumba est surtout préconisé comme aphrodisiaque. Il agirait contre l'impuissance, l'hyposexualité et l'éjaculation précoce. Il est d'ailleurs présenté comme le « Viagra himalayen » par les médias populaires partout dans le monde. (Lupoli, 2010b; van Panhuys-Sigler, 2013b)

Mais ses effets ne se résument pas qu'à cela, il a un large spectre d'action et est utilisé à travers toute l'Asie et de plus en plus depuis ces 30 dernières années.

Les praticiens de médecine traditionnelle chinoise recommandent son usage pour combattre le stress et la fatigue, pour renforcer la résistance aux infections comme le rhume et la grippe, pour améliorer l'homéostasie générale du patient. Il permet, selon eux, de stimuler le système immunitaire et la fonction sexuelle, ralentir le vieillissement et renforcer l'énergie vitale et physique.

Ce remède est recommandé pour améliorer la fonction pulmonaire en calmant l'asthme, les gênes bronchiques, la bronchite pulmonaire chronique obstructive (BPCO), les toux chroniques et les problèmes d'halitose. Il limite la production de mucus et est, par conséquent, préconisé dans les toux productives. Il limite aussi la production de larmes et de la transpiration.

Il est aussi connu pour avoir des effets bénéfiques sur la fonction rénale et sur la fonction hépatique.(Holliday & Cleaver, 2008)

Il aurait aussi une activité hémostatique et permettrait d'arrêter les hémorragies. Il est également utilisé dans des maladies cardiovasculaires et dans l'hyperlipidémie. (Buenz et al., 2005; Lupoli, 2010b; Shrestha & Bawa, 2013; van Panhuys-Sigler, 2013b)

(Holliday & Cleaver, 2008)

La science tente de confirmer l'efficacité de ce remède pour la plupart de ses utilisations traditionnelles, cependant, la plupart des études médicales concernant son efficacité restent incomplètes.

## **II.C.6) Composés actifs et leur origine**

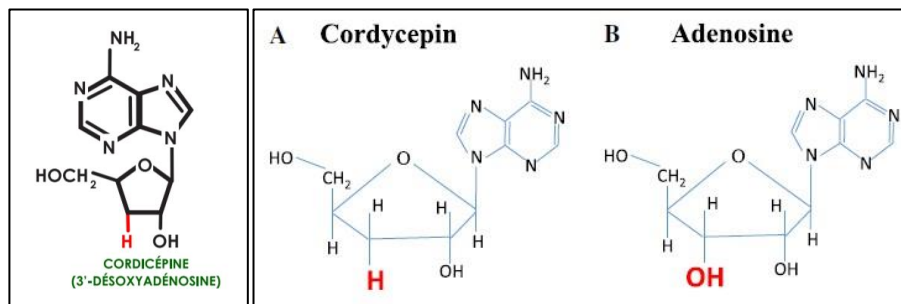
Plusieurs composés naturels actifs ont été extraits. Parmi eux, des polysaccharides, l'acide cordycépine et les nucléosides modifiés comme la cordycépine sont ceux qui montrent le plus d'activités biologiques.

### **II.C.6.a) La cordycépine**

Ce biométabolite a été isolé de *Cordyceps Militaris* dans les années 1950 pour la première fois.

Il se retrouve également dans le champignon-chenille. La cordycépine provient en fait du mycélium du *Cordyceps*.

La cordycépine (ou 3'désoxyadénosine) est un analogue nucléosidique structurellement semblable à l'adénosine sauf qu'il lui manque un groupement hydroxyle sur le troisième carbone.



**Figure 94 : Structure de la cordycépine**

**Figure 95: Structure de la cordycépine comparée à celle de l'adénosine**

Cette différence structurelle augmente sa puissance d'action et lui permet d'interférer avec un certain nombre de processus biochimiques et moléculaires dans les cellules, comme la biosynthèse des purines, la synthèse de l'ARN et l'ADN. En plus de ces activités, la cordycépine agit sur d'autres cibles moléculaires, induisant l'apoptose, l'arrêt du cycle cellulaire, inhibant la métastase, l'agrégation plaquettaire et bloquant les médiateurs de l'inflammation.

De par ses effets sur les processus biochimiques et moléculaires, de nombreuses recherches ont été menées pour montrer les effets anticancéreux de la cordycépine :

- **In vitro** :  
Des études ont montré que la cordycépine induisait l'apoptose de lignées cellulaires cancéreuses en régulant l'expression de protéines intervenant dans l'apoptose, soit en induisant l'expression de protéines pro-apoptotiques, soit en inhibant l'expression de protéines anti-apoptotiques. (Buenz et al., 2005)  
Par exemple, la cordycépine a induit l'apoptose dans les lignées cellulaires des cancers colorectaux humains SW-480 et SW-620, du cancer du sein MDA-MB-231, des leucémies U-937 et THP-1, du neuroblastome humain SK-NBE(2)-C et du mélanome humain SK-Mel-2.  
La cordycépine inhibe aussi les métastases. En effet, elle inhibe les niveaux d'expression de protéines MMP qui sont des enzymes dégradant le collagène de type IV qui est un composant essentiel de la membrane basale. Ainsi, la cellule cancéreuse ne peut pas envahir la matrice extracellulaire et les vaisseaux sanguins, ce qui l'empêche de migrer vers d'autres tissus et organes. (Tuli et al., 2013)
- **In vivo** :  
-Un essai clinique de phase 1 a été mené de 1997 à 2001 sur l'utilisation de la cordycépine combinée à la pentostatine pour traiter des patients atteints de leucémie lymphoïde aiguë et leucémie myéloïde chronique. La pentostatine est

un puissant inhibiteur de l'adénosine désaminase qui a une activité maximale dans les cellules du système lymphoïde. Les résultats ont conduit à des essais de phase 2 qui sont toujours en cours, mais la dernière mise à jour date de 2009. Il y a des limites à ce traitement car les chercheurs ont mis en évidence une toxicité non négligeable. Les recherches sont en cours pour identifier une co-drogue synergique moins toxique que la pentostatine.(Tuli et al., 2013)

-Récemment, une étude a été menée pour évaluer l'efficacité de la cordycépine sur différentes lignées cellulaires du cancer du poumon non à petites cellules. Les résultats ont montré l'inhibition de la prolifération, de la migration et de l'invasion, l'inhibition de la progression du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses, sans effets indésirables sur les cellules pulmonaires normales. Cela a été démontré *in vitro* également. Les chercheurs ont montré que la puissance de l'effet anticancéreux était comparable à l'Afatinib® et meilleur que le Gécéfinib® (deux traitements utilisés dans le traitement du cancer du poumon non à petites cellules). Cela offrirait des options thérapeutiques supplémentaires pour traiter les patients résistant aux médicaments actuellement sur le marché.(Wei et al., 2019)

Une étude montre que la cordycépine peut stimuler de manière significative *in vitro* et *in vivo* la stéroïdogénèse (production de testostérone) dans les cellules de Leydig de la souris, suggérant une amélioration fonctionnelle de la reproduction masculine et des performances sexuelles.(Y.-C. Chen et al., 2017)

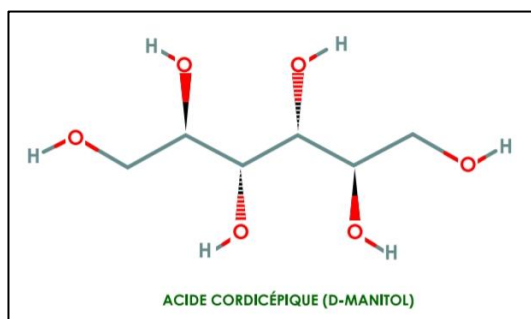
Un effet antiagrégant plaquettaire a été montré. La cordycépine inhibe l'agrégation plaquettaire induite par le collagène en diminuant les concentrations intracellulaires de calcium et de tromboxane A2 et en augmentant les taux intracellulaires d'AMPc et de GMPc.(Tuli et al., 2013)

Des recherches ont montré que la cordycépine avait une action anti-inflammatoire, notamment en inhibant les médiateurs de l'inflammation comme les cytokines et chimiokines. En effet, selon les chercheurs, elle diminuerait la libération des cytokines M1 (IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$ ) mais aussi des médiateurs COX-2, PGE2 et l'oxyde nitrique NO. Parallèlement, la cordycépine augmente l'expression de l'interleukine 10 (IL-10) dans les cellules mononucléaires du sang périphérique chez l'homme. IL-10 est connue pour inhiber la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et inflammatoires.



### II.C.6.b) L'acide cordycépique

L'acide cordycépique a été isolé d'*Ophiocordyceps sinensis* en 1957, il en est l'un des principaux composés (environ 3,4% du poids sec). Il est connu sous le nom de D-mannitol.



**Figure 96 : Structure de l'acide cordycépique**

C'est un polyol (« sucre-alcool ») qui s'avère avoir des activités diurétiques, antitussives et antioxydantes.

Il est utilisé en médecine dès les années 1960 sous forme de solutés hypertoniques à administrer en IV pour réduire la pression intracrânienne et pour traiter les patients atteints d'insuffisance rénale oligurique.

Dans l'industrie agroalimentaire, le D-mannitol est utilisé comme additif (E421) pouvant remplacer le sucre (son pouvoir sucrant est 30% inférieur à celui du sucre blanc raffiné). (S. P. Li et al., 2006)

### II.C.6.c) Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères de la famille des glucides constitués de plusieurs oses liés entre eux par des liaisons osidiques. On en retrouve un certain nombre dans le mycélium d'*Ophiocordyceps sinensis*.

De nombreuses recherches ont été menées afin d'évaluer l'activité de ces composés bioactifs par leur extraction du mycélium du champignon en culture et leur purification. L'ensemble de ces recherches a montré que les polysaccharides avaient en général des activités modérées d'immunomodulation, antitumorales, antioxydantes et hypoglycémiantes.

- Immunomodulation : elle passe par l'activation des macrophages et la stimulation de la production de diverses cytokines par les polysaccharides. (Yan et al., 2014)
- Anti-tumeur : les chercheurs ont isolé divers polysaccharides avec une activité antitumorale, entraînant des effets inhibiteurs sur de nombreux types de tumeurs telles que le sarcome-180, le carcinome d'Ehrlich, le sarcome-37, le sarcome de Yoshida et le carcinome pulmonaire de Lewis. Ces effets résultent de quatre lignes d'actions des polysaccharides :
  - La prévention de l'oncogénèse
  - L'induction de l'apoptose des cellules tumorales
  - L'amélioration de l'immunité contre les tumeurs présentes
  - La prévention de la migration des cellules tumorales vers d'autres tissus
 (Yan et al., 2014)
- Effet hypoglycémiant : des études ont été menées *in vivo* sur des souris normales, des souris diabétiques induites par l'alloxane et des rats diabétiques induits par la streptozotocine. Il a été montré que des polysaccharides (CS-F30 et CS-F10 par exemple) abaissaient le taux de glucose plasmatique. CS-F10 augmente également l'activité de la glucokinase hépatique et baisse la production de glucose hépatique. (Kiho et al., 1999; Yan et al., 2014)
- Effet antioxydant : un polysaccharide, le CPS-1, composé de glucoses mannoses et galactoses, a révélé une forte activité antioxydante dans des cellules de phéochromocytome du rat. Son activité est notamment due à l'activation des enzymes antioxydantes comme la glutathion peroxydase qui va agir contre les radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ces résultats ont montré un lien entre l'activité antioxydante et la protection vis-à-vis de l'insuffisance rénale (Y. Wang et al., 2009)
- D'autres effets de ces polysaccharides ont été mis à jour :  
Le polysaccharide CPS-2, constitué de glucoses et de mannoses, modifie le taux d'urée dans le sang ainsi que le taux de créatinine sérique. Cela montre que CPS-2 peut soulager de manière significative l'insuffisance rénale chronique. (Y. Wang et al., 2010)

# **PARTIE 3 : LES LEPIDOPTERES DANS LA** **RECHERCHE THERAPEUTIQUE**

## **I) Production de protéines recombinantes**

### **I.A) Introduction**

À l'origine, les protéines d'intérêt thérapeutique étaient extraites de sources naturelles telles que le sang, le placenta ou autres extraits de tissus humains ou animaux. Toutefois, les quantités restaient limitées et les produits étaient potentiellement dangereux pour les patients, du fait de risques de contamination par des virus ou des prions, qui furent notamment en cause dans le développement de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez des patients traités à l'hormone de croissance d'origine humaine.

L'essor de la génomique et des technologies de l'ADN recombinant dans les années 1970 a permis le développement de nouveaux procédés de production de protéines, mettant en œuvre divers systèmes d'expression. L'identification, puis le clonage des gènes gouvernant la synthèse des principales protéines humaines d'intérêt thérapeutique, ont rendu possible la production de celles-ci par des organismes. Ces protéines, dites recombinantes, ont constitué une alternative aux protéines d'extraction. Aujourd'hui, la quasi-totalité des protéines thérapeutiques produites sont des protéines recombinantes.

Un système d'expression de protéines recombinantes, faisant intervenir des cellules de lépidoptères et des virus infectant des lépidoptères, a vu le jour au début des années 1980. Ce système BEVS (Baculovirus Expression Vector System) a tout d'abord permis la production de l'interféron  $\beta$  humain.

Cette partie détaille le système BEVS faisant intervenir l'espèce de lépidoptère *Spodoptera frugiperda* et son application à la production du vaccin antigrippal Flublok®.

## **I.B) Le système de vecteur d'expression du baculovirus (BEVS)**

### **I.B.1) Baculovirus**

#### **I.B.1.a) Description**

Les baculovirus sont des virus de la famille des *baculoviridae* qui infectent uniquement les arthropodes. Ils sont responsables de l'infection de plus de 600 espèces d'insectes, dans un certain nombre d'ordres, mais aussi de quelques espèces de crustacés.

Ces virus sont en forme de bâtonnets d'environ 350 nm de long et 35 nm de diamètre. Leur génome viral correspond à une molécule d'ADN circulaire bicaténaire et surenroulée, dont la taille varie entre 90 et 180 kpb. (Chaabihi, 2015)

Dans la nature, ils jouent un rôle clé dans la régulation des populations d'insectes. L'infection à baculovirus est un processus lytique hautement spécifique à l'espèce, le virus ne peut pas se répliquer chez les mammifères, les baculovirus ont donc été utilisés avec succès comme pesticides en raison de leur spécificité d'hôte et de leur sécurité pour l'environnement et la santé humaine. (Chambers et al., 2018)

#### **I.B.1.b) Cycle viral**

En général, le cycle viral des baculovirus se déroule de la façon suivante :

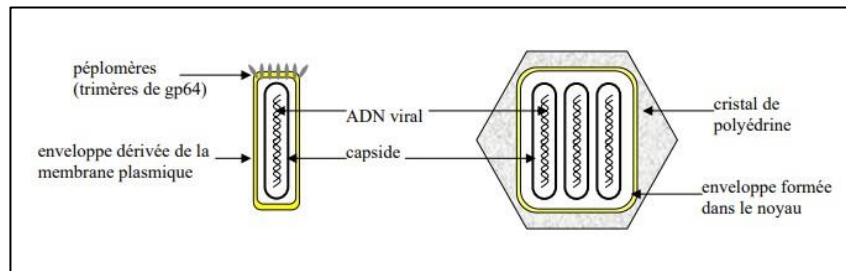
Les virions sont inclus dans des structures cristallines appelées polyèdres constitués en majorité de polyédrine qui est une protéine de 28,6 kDa. Sous cette forme, les virus sont capables de résister aux conditions physico-chimiques de l'environnement.

Ensuite, les polyèdres sont ingérés par les larves d'arthropodes, ils sont dissous par le pH alcalin de leur tube digestif et les virions sont alors libérés.

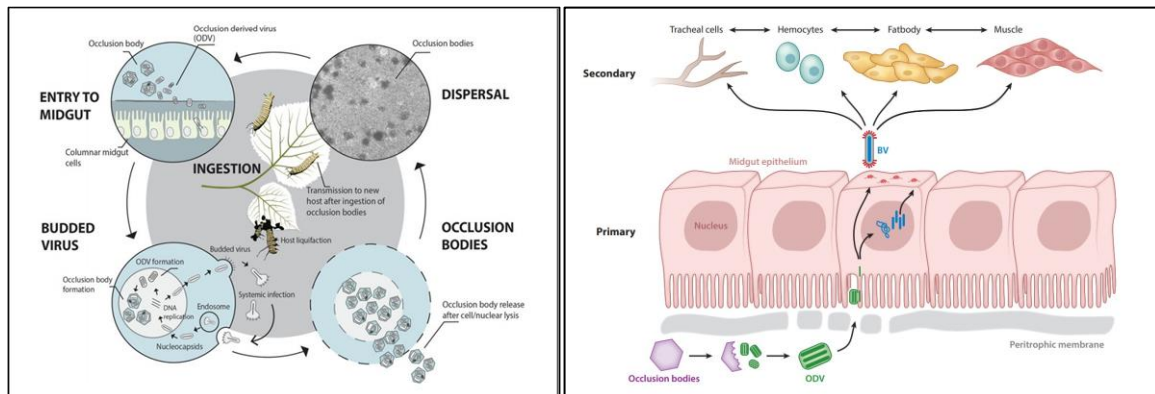
Les virions infectent les cellules de l'épithélium du tube digestif, qui à leur tour produisent des particules virales de manière à répandre l'infection dans les autres tissus. (Chaabihi, 2015)

Au cours de son cycle, le baculovirus prend deux formes fonctionnellement distinctes :

- Des particules virales extracellulaires enveloppées (BV) responsables de la transmission verticale ou systémique (d'un tissu à l'autre).
- Des particules virales incluses dans des polyèdres (ODV). Ces dernières sont la forme de résistance responsable de la transmission horizontale du baculovirus (d'un insecte à l'autre).



**Figure 97 : Schéma des particules virales de baculovirus (BV et ODV)**



**Figure 98 : Cycle viral du baculovirus**

**Figure 99 : Transmission verticale du virus à partir de l'épithélium intestinal de l'insecte**

L'infection systémique ou horizontale, au cours de laquelle le virus se propage dans tous les tissus, est due à ces particules enveloppées, qui sont couvertes de la glycoprotéine gp64. Cette glycoprotéine est très conservée chez les baculovirus du genre NPV (nucléopolyèdre virus). Elle s'assemble en trimères qui forment des épines ou péplomères. Elle est indispensable au bourgeonnement des particules enveloppées (BV) à partir de la membrane plasmique. (Blissard & Theilmann, 2018)

### **I.B.1.c) Baculovirus utilisés**

Parmi les baculovirus, plusieurs virus du genre *alphabaculovirus* ont été étudiés le plus intensivement : *Autographa californica* multiple nucléopolyèdre virus (AcMNPV), *Bombyx mori* nucléopolyèdre virus (BmNPV), *Orgyia pseudotsugata* multiple nucléopolyèdre (OpMNPV), *Lymantria dispar* multiple nucléopolyèdre virus (LdMNPV), *Spodoptera exigua* multiple nucléopolyèdre virus (SeMNPV) et *Helicoverpa armigera* nucléopolyèdre virus (HearNPV). (Blissard & Theilmann, 2018) Cependant, les études détaillées sur la biologie des baculovirus se sont concentrées sur le baculovirus modèle AcMNPV qui a été décrit au début des années 1970. AcMNPV a été isolé des cellules de larves d'*Autographa californica*, un lépidoptère de la famille des *noctuidae*. (Blissard & Theilmann, 2018)

### **I.B.2) *Spodoptera frugiperda* : espèce de lépidoptère utilisée**

#### **I.B.2.a) Classification**

*Spodoptera frugiperda* est un lépidoptère hétérocère nocturne appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à la super-famille des *Noctuoidea* et à la famille des *Noctuidae*, communément appelée la famille des « noctuelles ». C'est l'une des familles de lépidoptères les plus diversifiées, avec environ 12 000 espèces décrites.

*Spodoptera frugiperda* a été décrit par J.E. Smith en 1797. Son nom vernaculaire est le « légionnaire d'automne ». (Sparks, 1979)

#### **I.B.2.b) Répartition géographique**

Cette espèce est originaire des régions tropicales et subtropicales du continent américain, en particulier l'Amérique centrale et l'Amérique du sud.

Puis elle s'est implantée depuis 2016 sur le continent africain et depuis 2018 en Asie. Sa chenille polyphyllophage, c'est-à-dire qu'elle est capable de se nourrir d'un certain nombre de végétaux différents (plus de 300 espèces de végétaux dont plus de 80 espèces de cultures). Elle est considérée comme ravageuse des cultures (notamment le maïs, le millet, le sorgho, la canne à sucre et le coton) et fait donc l'objet d'une surveillance particulière dans le monde.

### **I.B.2.c) Cycle de développement**

La nuit, la femelle va pondre entre 1000 et 2000 œufs regroupés en grappes de 100 à 400 œufs, collées sur la surface inférieure de la plante hôte. Les œufs sont recouverts d'une couche protectrice composée de soies abdominales de la femelle.

L'éclosion a lieu entre 2 et 10 jours. Le stade larvaire passe par 6 stades et dure environ 14 à 21 jours. Les jeunes larves (stades L1 et L2) se nourrissent de la face inférieure ou du sommet des jeunes feuilles de la plante hôte, provoquant un effet squelettisant caractéristique. A partir du stade L2, les chenilles deviennent en partie cannibales, de façon à ce qu'on ne retrouve plus qu'une à deux larves par plante. Le cannibalisme est largement répandu dans la classe des insectes et ne se limite pas qu'à cette espèce de lépidoptère.

La nymphose a lieu dans le sol. La larve quitte la plante hôte et creuse dans le sol de façon à s'enterrer de 2 à 8 centimètres en dessous de la surface du sol. Elle s'entoure d'un cocon lâche, fait de soie et de terre. Le stade nymphal dure en moyenne 9 à 15 jours (peut durer jusqu'à 30 jours si la température est basse).

Les adultes émergent la nuit et volent pendant environ 3 à 5 jours sur de longues distances pouvant aller jusqu'à 500 kilomètres, avant de s'accoupler et s'installer pour effectuer la ponte. Les adultes vivent en moyenne de 7 à 21 jours.

### **I.B.2.d) Aspect morphologique**

- **Les œufs :**

Ils mesurent 0,4 millimètre de diamètre et 0,3 millimètre de haut.

Ils sont de couleur jaune pâle ou crème à la ponte et virent au brun clair à l'éclosion.



**Figure 100 : Œufs de *Spodoptera frugiperda***

- **Les larves :**

Elles mesurent de 1,7 à 3,5 millimètres de long au stade L1 et atteignent jusqu'à 3 centimètres au stade L6. A l'éclosion, elles sont de couleur verte avec des rayures longitudinales et des tâches noires. Au cours de leur croissance, elles prennent une teinte brune voire noire ou alors restent de couleur verte.



**Figure 101 et Figure 102 : Larves de *Spodoptera frugiperda***

- **Les nymphes :**

Elles mesurent environ de 1,3 à 1,7 centimètres de long et sont de couleur brun brillant.

- **Les adultes :**

-Les mâles mesurent environ 1,6 centimètres de long et ont une envergure moyenne de 3,7 centimètres. Leurs ailes antérieures sont tachetées (de couleur brun clair, gris et paille) avec une cellule discale de couleur paille et brun foncé. Il y a des taches blanches triangulaires sur les extrémités ainsi qu'au centre de leurs ailes antérieures. Leurs ailes postérieures sont de couleur paille avec une marge extérieure de couleur brun foncé.

-Les femelles mesurent environ 1,7 centimètres de long et ont une envergure moyenne de 3,8 centimètres. Leurs ailes antérieures sont d'un brun grisâtre uniforme et leurs ailes postérieures sont de couleur paille avec une marge de couleur brun foncé.



**Figure 103 et Figure 104 : Mâle et femelle adultes de *Spodoptera frugiperda***



### **I.B.2.e) Parties utilisées pour la production de protéines recombinantes**

Pour la technique BEVS, on utilise des lignées cellulaires issues de différentes espèces, de différents tissus, à différents stades de développement.

Concernant *Spodoptera frugiperda*, on a établi les lignées cellulaires Sf21 et Sf9. La lignée de cellules Sf21 provient du tissu ovarien des nymphes. Sf9 est un clone cellulaire de la cellule mère Sf21. Ces lignées cellulaires sont les mieux connues et les plus utilisées. La lignée Sf9 est souvent préférée à la lignée mère Sf21 pour la bio-production. Il existe différentes variantes de cette lignée. Elles sont généralement issues de sélections et d'adaptations leur permettant notamment de pousser à très haute densité dans un milieu sans sérum animal et de produire des protéines de qualité pharmaceutique. C'est le cas, par exemple, de la lignée expresSF+ de Protein sciences Corp.

Ces cellules se cultivent à un optimum de température compris entre 25 et 30°C, en milieu tamponné (pH de 6,2 à 6,4) ne nécessitant pas la présence de CO<sub>2</sub> ni d'humidité. Elles prennent une structure en monocouche (en tapis cellulaire) ou peuvent croître en suspension à haute densité. Elles sont adaptées à la culture sans sérum. Le temps de doublement de ces populations de cellules est compris entre 18 et 22 heures. (Tagu & Moussard, 2003a)

### **I.B.3) Description de la technique**

Avec deux composantes, un vecteur viral d'une part (baculovirus AcMNPV) et une lignée cellulaire de l'autre (Sf9), ce système de bio-production de protéines occupe une place particulière parmi les dispositifs existants. Le virus est construit indépendamment et porte le ou les gènes à exprimer, tandis que les lignées cellulaires seront utilisées à la fois pour préparer et amplifier les virus, mais aussi lors de l'étape de production en bioréacteur.

Dans l'expression des gènes du baculovirus AcMNPV, on distingue généralement 4 phases. Les gènes de la phase très précoce (de 0 à 4h après l'infection) et de la phase précoce (de 5 à 7h après l'infection) s'expriment avant la réplication de l'ADN. Les gènes tardifs (de 8 à 18h après infection) codent des protéines de structure, dont la

protéine de capsid P39. En phase très tardive (après 18h post-infection) deux gènes sont très fortement exprimés car ils possèdent un promoteur très fort : le gène p10 et celui de la polyédrine.

Cependant, les protéines p10 et la polyédrine ne sont pas nécessaires à la pathogénie et à la réplication de l'ADN viral dans la cellule *in vitro*. Cela permet aux gènes de ces deux protéines d'être remplacés par presque n'importe quelles séquences nucléotidiques d'intérêt, qui seront exprimées au même niveau que les gènes initiaux. Les gènes codant pour ces deux protéines peuvent donc être remplacés par des gènes d'intérêt qui coderont pour des molécules d'intérêt.

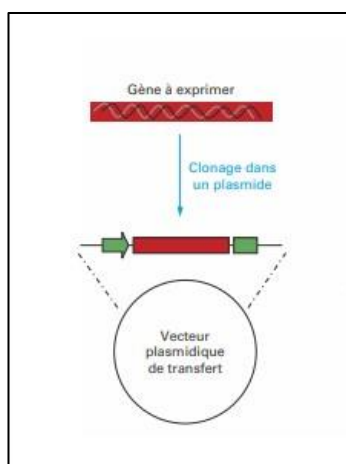
Ces observations ont conduit Smith et al. (1983) à utiliser pour la première fois AcMNPV comme vecteur pour produire l'interféron  $\beta$ . Depuis, des milliers de gènes ont été exprimés dans ce système. (Marchal, 2001)

### **I.B.3.a) Formation d'un vecteur de transfert**

La première étape consiste en la formation d'un vecteur de transfert qui comportera la séquence du gène d'intérêt.

Pour cela, on utilise un plasmide d'origine bactérienne qui comporte le gène de la polyédrine par exemple. On le met en présence de l'exonucléase BAL 31 qui va grignoter la région codante du gène tout en laissant intact son promoteur « polh ». Ensuite, la région codante du gène d'intérêt est placée dans ce vecteur plasmidique par clonage.

On obtient donc un vecteur plasmidique chargé qui comporte le gène d'intérêt. (Devauchelle, 2000)

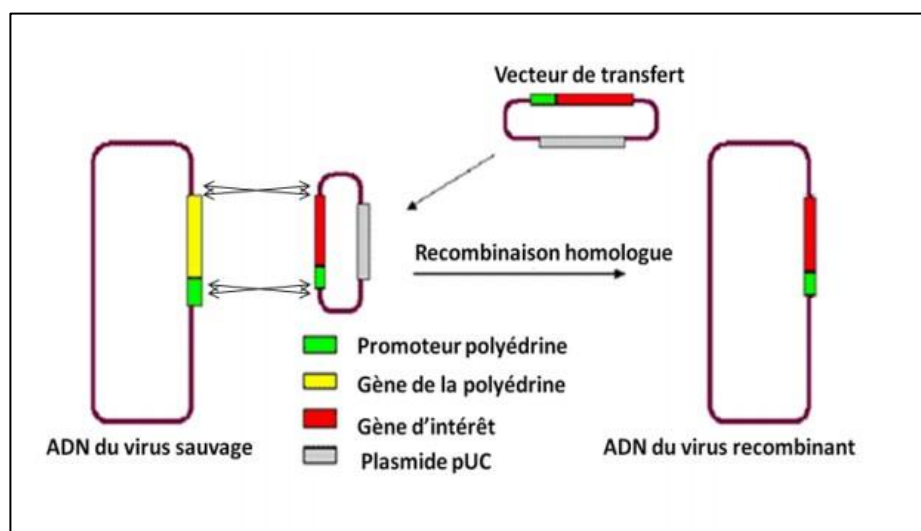


**Figure 105 : Schéma de la formation d'un vecteur de transfert**

### **I.B.3.b) Co-transfection dans les cellules Sf9**

On intègre le plasmide chargé et le baculovirus AcMNPV dans les cellules de *Spodoptera frugiperda* Sf9 *in vitro*, cette étape est la co-transfection.

Dans la cellule a lieu une recombinaison homologue entre le génome de l'AcMNPV et le plasmide concernant le gène de la polyédrine. On obtient alors un baculovirus recombinant comportant dans son génome, le gène d'intérêt que l'on cherche à exprimer à la place du gène de la polyédrine. Ce baculovirus recombinant est nu mais reste infectieux. (Devauchelle, 2000)



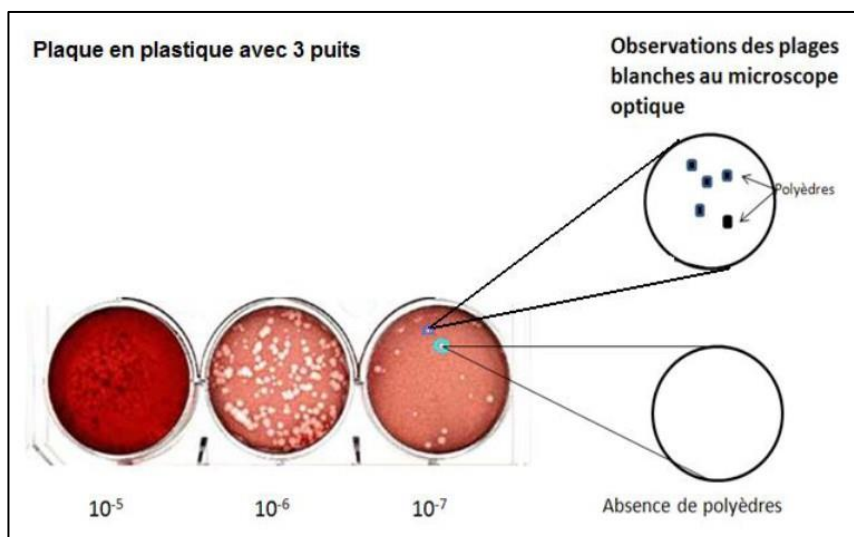
**Figure 106 : Schéma de l'obtention d'un virus recombinant**

### **I.B.3.c) Récolte et amplification des baculovirus recombinants**

Cette recombinaison homologue reste rare (de l'ordre de 0,5 à 3%), mais les virions recombinants qui en résultent se multiplient aussi bien et se distinguent facilement des virions non recombinés grâce à l'absence de polyèdres. C'est pourquoi il va falloir trier les virus recombinants dans la culture de cellules Sf9.

En pratique, on utilise la méthode des plages. Le mélange de virus recombinants et non recombinants est mis en présence de cellules Sf9 sur lesquelles est ensuite étalé un milieu semi-gélifié (de l'agarose) permettant la croissance cellulaire mais limitant la dispersion des virions aux cellules voisines. En quelques jours (5 environ), des plages

de lyse sont visibles dans le tapis cellulaire grâce à la coloration avec du rouge neutre. Le rouge neutre ne colore que les cellules vivantes. Sous microscope, on regarde uniquement les plages de lyse, qui sont donc de couleur blanche. Au microscope, on peut voir la structure des polyèdres. On peut donc distinguer nettement les plages de lyse avec polyèdres des plages de lyse sans polyèdre, correspondant aux virus recombinants. On peut alors prélever aisément les virus recombinants. (Devauchelle, 2000)



**Figure 107 : Méthode des plages de lyse**

L'isolement des baculovirus recombinants par cette méthode est long et fastidieux. Cela a conduit au développement de nouvelles méthodologies nettement plus efficaces comme celle qui repose sur le fait que l'ADN du baculovirus linéarisé par coupure enzymatique perd son caractère infectieux. De cette façon, un ADN viral linéarisé au niveau du locus polyédrine, par exemple, permet de réduire fortement le bruit de fond du virus parental et permet également d'obtenir un meilleur taux de recombinants (généralement 10 à 20 %) lorsqu'il est utilisé en co-transfection avec un plasmide de transfert. (Chaabihi, 2015)

Une fois les virus recombinants isolés, on les amplifie dans un milieu sans sérum sur des cellules Sf9, de façon à obtenir un stock à titre plus élevé de virus recombinants.

### **I.B.3.d) Production et purification des protéines recombinantes**

Cette étape fait intervenir de nouveau l'utilisation des cellules de *Spodoptera frugiperda*. Les solutions hautement titrées en virus recombinants sont mises en présence de solutions de cellules Sf9 dans des bioréacteurs, de façon à ce qu'elles soient infectées. L'expression du gène d'intérêt sera alors effectuée dans la cellule hôte. Le gène est traduit en protéine recombinante d'intérêt.

La cellule d'insecte est capable d'effectuer des opérations post-traductionnelles (comme la glycosylation, la phosphorylation, la formation de ponts disulfures...etc) de manière quasi identique aux cellules de vertébrés, ce qui rend l'efficacité de la protéine acceptable.

Elle est aussi capable de sécréter les protéines recombinantes dans le milieu de culture.

Pour finir, les protéines sont récupérées et purifiées avant d'être évaluées et testées. (Chaabihi, 2015; Marchal, 2001; Tagu & Moussard, 2003b)

### **I.B.4) Avantages et inconvénients de cette technique**

#### **I.B.4.a) Avantages**

L'un des principaux avantages de cette technique est sa sécurité. Le baculovirus est hautement spécifique à l'espèce. En effet, aucun virus de vertébré ou prion ne peut se multiplier dans les cellules d'insectes et les baculovirus ne peuvent infecter les cellules de vertébrés et accomplir leur cycle lytique dans ces dernières.

Grâce à ce système, on peut obtenir des vecteurs recombinants en un temps assez court.

La culture en cellules d'insectes est plus simple car elle ne nécessite pas la présence de CO<sub>2</sub> ni de sérum, le coût est donc moindre par rapport aux systèmes de culture en cellules de mammifères.

Les vecteurs recombinants obtenus ont un taux d'expression très haut, permettant une production importante de protéines recombinantes (de l'ordre de 1 à 100 milligrammes par litre de culture).

Pour finir, les cellules d'insectes réalisent la plupart des modifications post-traductionnelles des protéines, de manière satisfaisante.

#### **I.B.4.b) Inconvénients**

Ce système est lytique, c'est-à-dire qu'il provoque la lyse des cellules infectées, il faut donc procéder à la réinfection virale à chaque nouvelle culture. Le fait qu'il soit lytique est aussi une limite à son utilisation pour des productions industrielles de protéines recombinantes.

Une protéolyse (dégradation des protéines produites) due à des enzymes virales peut parfois être à l'origine de niveaux de production plus faibles.

Les niveaux d'expression des protéines étant très hauts, la maturation et la sécrétion des protéines sont engorgées. Ce qui explique en partie que les modifications post-traductionnelles ne se fassent pas parfaitement.

Les glycosylations ne sont pas parfaitement identiques à la méthode via les cellules de mammifères, ce qui pose problème. Beaucoup de recherches sont menées afin d'améliorer la glycosylation des protéines recombinantes générées par ce système.

#### **I.C) Application à la production de vaccins**

Le système baculovirus/cellules d'insectes connaît un formidable développement dans le domaine des vaccins (vétérinaires et humains). Sa rapidité de mise en œuvre est sans doute l'un de ses principaux avantages. Elle s'avère primordiale dans le cas des vaccins contre les différents virus de la grippe.

Les méthodes classiquement utilisées pour la production de vaccins antigrippaux reposent sur l'amplification du virus sur des œufs embryonnés de poule. Le virus produit doit ensuite être inactivé pour être utilisable en vaccination. L'antigène principal de ces vaccins est l'hémagglutinine (HA), une protéine de surface du virus de la grippe, celle-ci doit donc correspondre à celle de la souche grippale prédominante en circulation. La procédure totale de production de virus, de purification et d'inactivation peut être longue et causer, dans certains cas, des réactions allergiques fortes aux protéines de l'œuf.

La production d'hémagglutinine recombinante (rHA) dans les cellules d'insectes en culture associe la précision du génie génétique à la rapidité des procédés de production. Elle offre également la possibilité de produire en parallèle différentes

molécules de HA afin d'élargir le spectre de protection, si cela s'avère nécessaire. À partir de la caractérisation des souches en circulation ou de l'identification d'un foyer viral susceptible de devenir épidémique, des lots de vaccins peuvent être préparés en moins de trois mois par la méthode baculovirus/cellules d'insectes. (Chaabihi, 2015) Un vaccin antigrippal sous le nom commercial Flublok® a ainsi vu le jour aux Etats-Unis.

### **I.C.1) Production de Flublok®**

Ce vaccin quadrivalent est produit par le système de vecteur d'expression du baculovirus.

Premièrement, les gènes des protéines de surface HA des 4 souches de grippe (A H1N1, A H3N2, B Yamagata et B Victoria) sont isolés à partir d'un virus vaccinal de grippe d'origine naturelle. Ces gènes sont clonés indépendamment dans un vecteur plasmidique contenant le promoteur du gène de la polyédrine.

Puis, a lieu la recombinaison homologue entre ce vecteur et le baculovirus AcMNPV. Le virus recombinant obtenu est autorisé à se répliquer dans les cellules expresSF+ du lépidoptère *Spodoptera frugiperda* (ce sont des lignées cellulaires à haut rendement dérivées des cellules Sf9).

Ensuite, on passe à l'étape d'expression des protéines HA dans les cellules expresSF+ dans un milieu sans sérum. Les protéines HA sont extraites des cellules avec un tampon et un détergent.

Pour finir, on procède à la purification des protéines recombinantes obtenues. La purification est obtenue par la combinaison de techniques de chromatographie par échange d'ions et par interaction hydrophobe et de techniques de filtration permettant d'arriver à une pureté de plus de 90%. Cette pureté est évaluée par électrophorèse des protéines sur gel et densitométrie par balayage. (Cox et al., 2015)

Contrairement aux protéines HA de virus adaptés à la croissance en œuf de poule, les protéines HA recombinantes correspondent exactement aux protéines HA des souches de grippe sélectionnées par l'OMS pour l'inclusion dans le vaccin annuel contre la grippe saisonnière. La production via ce système est rapide et se fait en

grande quantité par rapport aux autres procédés. Elle a été adaptée avec succès à des bioréacteurs de 21 000 litres. (Cox et al., 2015)

### **I.C.2) Mécanisme d'action**

Le mécanisme d'action de Flublok® est similaire à celui des vaccins antigrippaux inactivés habituels. C'est à dire l'induction d'anticorps HAI (anticorps d'inhibition de l'hémagglutination) faisant intervenir l'immunité humorale, pour prévenir l'infection grippale. En cas d'infection grippale, ces anticorps seront dirigés contre les protéines de surface HA du virus, afin de le combattre. (Cox et al., 2008)

### **I.C.3) Essais cliniques**

A l'origine, cinq principales études cliniques (PSC01, PSC03, PSC04, PSC06 et PSC11) ont été menées pour évaluer l'immunogénicité, l'efficacité et la sécurité du vaccin Flublok® trivalent. Elles ont soutenu son homologation par la FDA (Food and Drug Administration) aux USA, dans le cadre du mécanisme d'approbation accélérée. Ces essais cliniques ont aussi servi à soutenir l'homologation du Flublok® quadrivalent.

Pour toutes ces études cliniques, les titres d'anticorps HAI ont été mesurés dans des sérums obtenus 28 jours après la vaccination. Des rapports spontanés d'effets indésirables ont été collectés pendant 28 jours suivant la vaccination et les sujets ont été activement interrogés sur les effets indésirables graves jusqu'à 6 mois après la vaccination.

#### **I.C.3.a) Essai PSC01**

C'est un essai de phase II qui a été réalisé au cours des années 2004 et 2005 afin d'évaluer l'immunogénicité, la sécurité et l'efficacité clinique de Flublok®. Cet essai randomisé en double aveugle a été mené sur un échantillon de 458 sujets sains âgés de 18 à 49 ans répartis en 3 groupes. Le 1er groupe a reçu une vaccination par Flublok® à faible dose (3 fois moins dosé en antigènes que Flublok®), le 2<sup>ème</sup> groupe



a reçu une vaccination par Flublok® à dose standard et le 3<sup>ème</sup> groupe a reçu une vaccination par un placebo.

### **I.C.3.b) Essai PSC03**

C'est un essai de phase III qui a été réalisé au cours des années 2006 et 2007 pour comparer l'immunogénicité et l'innocuité entre Flublok® et Fluzone® comme contrôle actif, un vaccin inactivé trivalent commercialisé aux Etats-Unis et produit par Sanofi-Pasteur. Cet essai randomisé en double aveugle a été mené sur un échantillon de 869 sujets sains âgés de 65 ans et plus dont la moitié a reçu une vaccination par Flublok® et l'autre moitié par Fluzone® à dose standard.

### **I.C.3.c) Essai PSC04**

C'est un essai de phase III réalisé entre 2007 et 2008 pour évaluer la sécurité, l'immunogénicité et l'efficacité de Flublok® par rapport à un placebo. Cet essai randomisé en double aveugle a été mené sur un échantillon de 4648 sujets sains âgés de 18 à 49 ans dont la moitié environ a reçu une vaccination par Flublok® et l'autre partie ayant reçu un placebo.

### **I.C.3.d) Essai PSC06**

Cet essai de phase III, réalisé en même temps que PSC04, compare l'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité entre Flublok® et Fluzone® comme témoin actif, sur un échantillon de 602 sujets sains âgés de 50 à 64 ans.

### **I.C.3.e) Essai PSC11**

Cet essai de phase IV a été réalisé après la commercialisation du vaccin, pour collecter des données supplémentaires de sécurité et pour la pharmacovigilance. Il évalue la sécurité et les effets indésirables de type hypersensibilité du vaccin Flublok® par rapport à Afluria®, un vaccin antigrippal inactivé commercialisé en Australie et produit par CSL-bio CSL Limited. Cet essai randomisé en double aveugle a été mené sur un échantillon de 2627 sujets sains âgés de 50 ans et plus.

### **I.C.3.f) Résultats des essais cliniques**

En ce qui concerne :

- L'efficacité : l'étude PSC04 montre que Flublok® est efficace dans la prévention de la grippe. Les autres études (PSC01, PSC03 et PSC06) suggèrent que la teneur en antigène plus élevée de Flublok® peut contribuer à une meilleure protection, notamment par rapport aux vaccins antigrippaux inactivés.
- L'immunogénicité : les études de PSC01 à PSC06 montrent que la concentration plus élevée en hémagglutinine de Flublok® améliore l'immunogénicité par rapport à Fluzone® (pour les souches de la grippe A, mais pas pour celles de la grippe B). Et l'immunogénicité est comparable à celle du vaccin inactivé à haute dose.
- La sécurité : en raison de la pureté du vaccin recombinant, un nombre d'éléments indésirables utilisés habituellement pour inactiver le virus sont absents de Flublok®, ce qui abaisse le risque d'effets indésirables de type hypersensibilité. Durant ces études, quelques effets indésirables sont apparus mais aucun n'a été considéré comme lié à l'utilisation de Flublok®, mise à part une réactogénicité au site d'injection. Cette réactogénicité demeure moins fréquente qu'avec l'utilisation des vaccins inactivés, malgré la teneur en protéines HA plus élevée dans Flublok®.

### **I.C.4) Avantages de Flublok®**

(Cox et al., 2015; Dunkle et al., 2015, 2017)

De nombreux avantages reposent sur son mode de production par le système BEVS :

- Sa rapidité de production fait de Flublok® une réponse rapide à l'apparition de virus grippaux tardifs ou pandémiques.
- Ce système de production ne nécessite pas de confinement biologique car il n'utilise pas de virus grippaux infectieux. Il n'y a donc pas d'utilisation de produits chimiques visant à inactiver les virus grippaux.
- Étant donné que les œufs de poule ne sont pas utilisés pour la culture de Flublok®, on ne retrouve ni ovalbumine, ni antibiotiques ou résidus chimiques dans le produit final, ce qui réduit considérablement le risque d'allergie.

En comparaison aux vaccins grippaux inactivés conventionnels, Flublok® a plusieurs avantages :

- Les antigènes qu'il contient (rHA) correspondent exactement à ceux des souches sauvages sélectionnées pour les vaccins saisonniers, garantissant sa sécurité.

- Son immunogénicité est améliorée car la teneur en hémagglutinine est plus importante (il en contient 3 fois plus), induisant des titres plus élevés en anticorps.
- Son efficacité semble être nettement améliorée par rapport aux vaccins inactivés conventionnels (mais semblable à celle du vaccin Fluzone® à forte dose).
- La réactogénicité locale est moins fréquente.
- Il pourrait inclure des HA recombinantes qui imitent celles des virus de la grippe qui ont muté, lui permettant d'être efficace contre les souches mutantes du virus de la grippe.

### **I.C.5) Commercialisation**

Protein Sciences, une société privée de biotechnologie située à Meriden, dans l'État du Connecticut, est à l'origine de la production et de la commercialisation de Flublok®. En janvier 2013, Protein Sciences a reçu l'approbation de la FDA pour son vaccin Flublok® trivalent aux USA pour l'immunisation active contre les virus de grippe saisonnière chez les personnes de 18 ans et plus.

Une réunion avec l'agence européenne des médicaments (EMA) a eu lieu en octobre 2012, mais finalement aucune demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) n'a été soumise dans l'Union Européenne, donc Flublok® n'a jamais été autorisé dans l'UE. Protein Sciences a pris la décision stratégique de développer la forme quadrivalente du vaccin antigrippal recombinant, dont l'enregistrement est prévu dans l'UE dans les années à venir.

En octobre 2016, la FDA leur a donné son approbation pour la forme quadrivalente de ce vaccin. C'est le seul vaccin antigrippal quadrivalent à base de protéine recombinante approuvé par la FDA à ce jour.

Flublok® a aussi été homologué au Japon et au Mexique.

Fin 2017, la firme Protein Sciences a été rachetée par la société française Sanofi en vue d'élargir son portefeuille de vaccins antigrippaux et d'avoir un vaccin produit sans avoir recours aux œufs. Sanofi-Pasteur, la branche de Sanofi consacrée aux vaccins, est l'un des leaders mondiaux du marché des vaccins et notamment des vaccins saisonniers contre la grippe.

Ce vaccin est commercialisé aux Etats-Unis, au Mexique et au Japon.

Mais en Europe, il n'est toujours pas commercialisé. La Commission européenne a autorisé la commercialisation en Europe de Flucelvax Tetra® début 2019, un vaccin

antigrippal quadrivalent produit sur des cultures de cellules de mammifères, destiné aux personnes de plus de 9 ans et produit par le laboratoire Arrow. En France, la Haute Autorité de Santé (HAS) considère que « le vaccin Flucelvax Tetra® peut être utilisé selon son AMM à partir de l'âge de 9 ans et dans le cadre de la stratégie vaccinale française vis-à-vis de la grippe saisonnière, consistant à éviter les formes graves et les décès ».

Suite au rachat de Protein Sciences, Sanofi pourrait se positionner pour la mise en circulation de son vaccin Flublok® en Europe dans les années à venir.



**Figure 108 et Figure 109 : Photos des vaccins Flublok®**

## **II) Production de peptides anti-microbiens**

### **II.A) Définition des peptides anti-microbiens**

Les peptides anti-microbiens (PAMs) sont les principales molécules effectrices de l'immunité innée chez les organismes multicellulaires animaux et végétaux. Ces peptides multifonctionnels jouent un rôle biologique fondamental, notamment dans l'élimination de micro-organismes pathogènes tels que les bactéries ou les champignons microscopiques. La plupart des PAMs sont dit « cationiques » du fait de leur charge globale positive (il en existe d'autres sortes qui ne seront pas traitées dans cette partie).

Les insectes étant dépourvus de système immunitaire adaptatif et d'immunité acquise, ils ne peuvent compter que sur leur système immunitaire inné pour se défendre contre les pathogènes. Les insectes sont les seuls animaux à produire des PAMs dans le cadre d'une réponse systémique inductible. Ces PAMs sont ainsi sécrétés dans l'hémolymphe en réponse à une agression microbienne.

Structurellement, les peptides sont des protéines de petite taille : moins de 100 acides aminés (en moyenne 20 à 50). Ce sont des chaînes d'acides aminés ayant une structure secondaire en hélice  $\alpha$  et/ou en feuillet  $\beta$  et une structure tertiaire découlant du repliement de la chaîne sur elle-même et des liaisons intramoléculaires par des ponts disulfures.

De par leurs effets antibactérien et antifongique, ils ont fait et font encore l'objet de sérieuses recherches dans le domaine de la recherche thérapeutique. Face à l'émergence des résistances aux antimicrobiens, ils représentent une classe de molécules intéressante et innovante.

Dans les années 1970, la drosomycine est l'un des premiers PAMs découvert chez les insectes, plus précisément chez *Drosophila melanogaster*, un insecte de l'ordre des *Diptères*. Depuis, les recherches se multiplient pour identifier de nouveaux PAMs. Aujourd'hui, plus de 1500 PAMs ont été identifiés dans les plantes et chez les animaux. Dans cette partie seront exposées la découverte d'un PAM chez une espèce de lépidoptère et son avancée en tant que candidat médicament.

## **II.B) Découverte de l'héliomicine**

L'héliomicine est un PAM qui a été isolé de l'hémolymphe de la larve du lépidoptère *Heliothis virescens*. Il présente une activité fongicide contre les champignons responsables de maladies des plantes et les champignons responsables de pathologies humaines ou animales.

### **II.B.1) *Heliothis virescens***

#### **II.B.1.a) Classification**

(Capinera, 2001)

*Heliothis virescens* est un lépidoptère hétérocère nocturne appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à la super-famille des *Noctuoidea*, à la famille des *Noctuidae* et à la sous-famille des *Heliothinae*.

Il a été décrit en 1777 par Fabricius, un entomologiste danois.

On peut le retrouver sous les noms vernaculaires de « noctuelle des bourgeons du tabac » ou encore « noctuelle verdoyante ».

#### **II.B.1.b) Répartition géographique**

Il est généralement retrouvé dans l'est et le sud-ouest des États-Unis comme par exemple en Louisiane et en Floride. Mais il a aussi été repéré aux Caraïbes, en Amérique centrale (au Mexique, au Guatemala et au Panama), au Brésil et au Canada. Globalement, on ne le retrouve que sur le continent américain.

#### **II.B.1.c) Cycle de développement**

(Capinera, 2001)

Son cycle a lieu surtout pendant les mois chauds, de la fin du printemps au début de l'automne. Pendant ce temps, il peut y avoir 4 à 5 générations de cette même espèce. La femelle pond environ 300 à 500 œufs sur les fleurs, fruits et excroissances terminales des plantes hôtes. Ces plantes hôtes sont en général des plantes cultivées (le tabac, le cotonnier, le lin, le soja) mais peuvent être aussi des plantes potagères (le chou, la laitue, les tomates...etc) ou ornementales (le géranium).

Les œufs éclosent et laissent apparaître les larves qui passeront par 5 à 6 stades avant d'entrer en nymphose. La totalité du stade larvaire dure environ 15 à 20 jours à 25°C et 30 à 35 jours à 20°C.

La nymphose a lieu dans le sol. Le stade nymphal dure environ 13 jours à 25°C et 22 jours à 20°C. La chrysalide peut passer l'hiver dans le sol si la diapause est déclenchée par la courte durée des jours ou la baisse de la température. Dans ce cas, les adultes émergent entre mars et mai.

La longévité des imagos serait de 25 jours à 20 °C à 15 jours à 30 °C.

#### **II.B.1.d) Aspect morphologique**

(Capinera, 2001)

- **Les œufs :**

Ils sont de forme sphérique, avec une base aplatie. Ils mesurent de 0,5 à 0,6 millimètre de diamètre. Ils sont de couleur blanche à jaunâtre initialement et deviennent gris en vieillissant. Des crêtes étroites rayonnent du bout de l'œuf.



**Figure 110 et Figure 111 : Œufs de *Heliothis virescens***

- **Les larves :**

Elles mesurent en moyenne 1,4 millimètre au stade L1 et jusque 36 millimètres de long au stade L6. Elles sont de couleur jaune ou vert jaunâtre au stade L1 et deviennent de couleur verdâtre avec des bandes latérales et dorsales blanchâtres aux stades ultérieurs. La couleur du corps des larves des stades ultérieurs est variable, des formes de couleurs : vert pâle, rosâtre, rougeâtre foncé ou marron, sont parfois trouvées. Leur capsule céphalique est de couleur brun jaunâtre au stade L1 et brun foncé aux derniers stades. Le corps porte de nombreuses petites épines noires.



**Figure 112 et Figure 113 : Larves de différents stades larvaires de *Heliothis virescens***

- **Les nymphes :**

Les nymphes sont de couleur brun rougeâtre brillant, devenant brun foncé avant l'émergence de l'adulte. Elles mesurent en moyenne 18,2 millimètres de long et 4,7 millimètres de large.



**Figure 114 et Figure 115 : Nymphes de *Heliothis virescens***

- **Les imagos :**

Ils ont une envergure de 28 à 35 millimètres. Ils sont de couleur brunâtre et légèrement teintés de vert. Les ailes antérieures sont traversées transversalement par trois bandes sombres, chacune étant souvent accompagnée d'une bordure blanchâtre ou crème. Les ailes postérieures sont blanchâtres, la marge distale portant une bande sombre. Les femelles ont tendance à être de couleur plus foncée que les mâles.



**Figure 116 et Figure 117: Adultes de *Heliothis virescens***

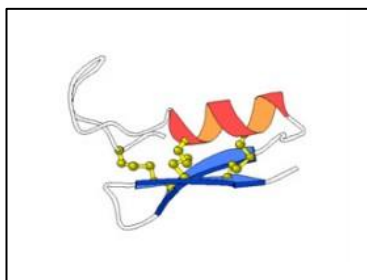


## II.B.2) L'héliomicine

### II.B.2.a) Structure de l'héliomicine

(Dimarcq et al., 2003)

L'héliomicine est un peptide amphiphile présentant une structure tridimensionnelle du type CS $\alpha$  $\beta$  : c'est-à-dire qu'elle est composée d'une hélice  $\alpha$  et un feuillet  $\beta$  antiparallèle reliés par trois ponts disulfures. Elle est de la famille des défensines d'insectes.



**Figure 118 : Structure de l'héliomicine**

La séquence en acides aminés de l'héliomicine est composée de 44 acides aminés, elle est décrite ci-dessous.

1	10	20	30
DKLIGSCVWGAVNYTSDCNGECKRRGYKGG			
40			
HCGSPANVNCWCET			

A	Ala	alanine
C	Cys	cystéine
D	Asp	acide aspartique
E	Glu	acide glutamique
F	Phe	phénylalanine
G	Gly	glycine
H	His	histidine
I	Ile	isoleucine
K	Lys	lysine
L	Leu	leucine
M	Met	méthionine
N	Asn	asparagine
P	Pro	proline
Q	Gln	glutamine
R	Arg	arginine
S	Ser	sérine
T	Thr	thréonine
V	Val	valine
W	Trp	tryptophane
Y	Tyr	tyrosine

**Figure 119 : Séquence en acides aminés de l'héliomicine**

**Figure 120 : Tableau de correspondance des raccourcis et acides aminés**

L'héliomicine possède deux régions, à caractère plutôt hydrophobe, séparées par une région à caractère plutôt hydrophile. En outre la région centrale à caractère hydrophile présente une charge nette positive.

### **II.B.2.b) Mécanisme d'action de l'héliomicine**

L'héliomicine tue les micro-organismes en perméabilisant leur membrane par un effet de type détergent. Elle établit une liaison électrostatique avec des sphingolipides chargés négativement constituant la membrane plasmique de champignons microscopiques, provoquant la perméabilisation de la membrane et la mort du micro-organisme. Le sphingolipide lui servant de site de liaison est de type glucosylcéramide. L'héliomicine n'agit pas sur les glucosylcéramides humains, probablement grâce à une différence structurelle des céramides, ce qui explique sa faible toxicité chez l'homme. (Thevissen et al., 2007)

Il faut noter que ce mécanisme d'action est très rapide, dépend de la concentration et est indépendant de l'interaction avec une cible moléculaire unique, d'où l'absence potentielle de phénomène de résistance. (Andrès & Dimarcq, 2007)

### **II.B.2.c) Activités de l'héliomicine**

L'héliomicine présente un large spectre d'activité antifongique contre les souches fongiques responsables de maladies nosocomiales sévères invasives affectant des patients immunodéprimés, notamment dues aux espèces *Candida sp.*, *Aspergillus sp.* et *Fusarium sp.* De plus, elle montre une activité supérieure contre ces souches par rapport aux traitements de référence comme l'amphotéricine B et les antifongiques azolés. (Andrès & Dimarcq, 2007; Landon, 2004)

### **II.C) Découverte d'un homologue de l'héliomicine : le peptide Ard1**

Le peptide Ard1 est un PAM qui a été isolé de l'hémolymphe de la larve du lépidoptère *Archaeoprepona demophon*.

#### **II.C.1) *Archaeoprepona demophon***

##### **II.C.1.a) Description et classification**

L'espèce *Archaeoprepona demophon* a été décrite par le naturaliste suédois Carl von Linné en 1758, initialement sous le nom de *Papilio demophon*. On trouve cette espèce sous le nom vernaculaire de « leur bleue ».

C'est un lépidoptère diurne, appartenant au sous-ordre des *Glossata*, à la super-famille des *Papilionoidea*, à la famille des *Nymphalidae*, à la sous-famille des *Charaxinae* (qui comporte plus de 400 espèces réparties en 28 genres) et au genre *Archaeoprepona*.

### **II.C.1.b) Répartition géographique**

On le retrouve essentiellement en Amérique centrale et en Amérique du sud : du Mexique à la Bolivie mais il a aussi été repéré au sud du Texas.

Cette espèce vit dans les forêts, à des altitudes comprises entre 0 et 1500 mètres.

### **II.C.1.c) Cycle de développement**

(Bardales et al., 2017; Llorente-Bousquets et al., 1993)

La durée totale du cycle dure environ 80 à 90 jours.

La femelle dépose les œufs sur le dessous des feuilles des plantes hôtes *Annona sp* (*Annonaceae*) et *Malpighia glabra* (*Malpigiaceae*). Elle les dépose individuellement en flottant autour de la plante hôte en effectuant des vols légers. On retrouve jusqu'à environ 20 œufs sur une même feuille.

Les œufs éclosent environ 7 jours après la ponte, laissant apparaître les larves. Les larves passent par 5 stades larvaires pendant lesquels elles se nourrissent, grossissent et changent de couleur, pour une durée totale d'environ 2 mois. Elles se nourrissent des feuilles de la plante hôte, en commençant par l'apex.

Au stade L5, les chenilles quittent la feuille et grimpent pour se réfugier sur une branche. C'est là qu'a lieu le stade pré-pupal, la larve devient verte et adhère à la branche grâce à un substrat à partir de son extrémité caudale. Elle replie sa capsule céphalique vers la partie caudale, elle se recroqueville.

La nymphose a lieu, la chrysalide pend à la branche.

Au bout d'environ 2 semaines, l'adulte émerge. Les adultes se nourrissent de nectar des plantes hôtes, de fruits en décomposition ou de charogne. Ils sont actifs le matin, entre 8h00 et 11h00. Lors de la parade nuptiale, le mâle poursuit la femelle avec des vols très rapides et ils se posent ensuite à la cime des arbres. Les mâles s'approchent lentement derrière les femelles et si elles ne sont pas réceptives, ils persistent et continuent leur persécution jusqu'à ce qu'ils atteignent leur objectif. L'accouplement

peut enfin avoir lieu. Les femelles vivent en moyenne 40 à 45 jours et les mâles 20 à 25 jours.

#### **II.C.1.d) Aspect morphologique**

- **Les œufs :**

Ils sont ronds et mesurent en moyenne 2 millimètres. Ils sont de couleur rose à la ponte et blanchissent par la suite.



**Figure 121 : Oeufs d'*Archaeoprepona demophon***

- **Les larves :**

Elles mesurent environ 5 millimètres de long au stade L1 et atteignent jusqu'à 8 centimètres au stade L5. A l'éclosion, elles sont translucides avec une capsule céphalique noire, puis brunissent au cours de leur développement. Au stade L5, la larve est brune avec une sorte de plastron plus clair sur le dos. Son thorax, en forme de pyramide, est proéminent, sa tête est munie de 2 cornes massives et espacées, l'extrémité de son abdomen est très fine et forme une sorte de « queue ».



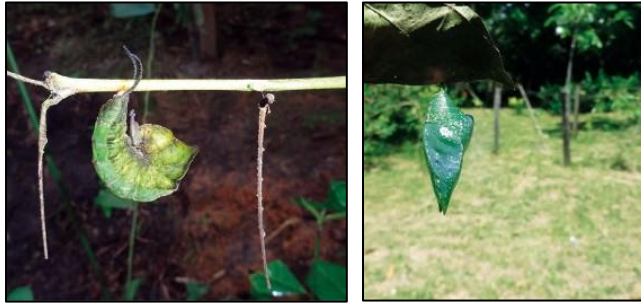
**Figure 122 : Stade L1 d'*Archaeoprepona demophon***

**Figure 123 : Stade L2 d'*Archaeoprepona demophon***

**Figure 124 : Stade L5 d'*Archaeoprepona demophon***

- **Les nymphes :**

Elles sont de forme ovoïde et de couleur vert-bleuâtre avec des taches blanches irrégulières. Elles mesurent environ 4 centimètres.

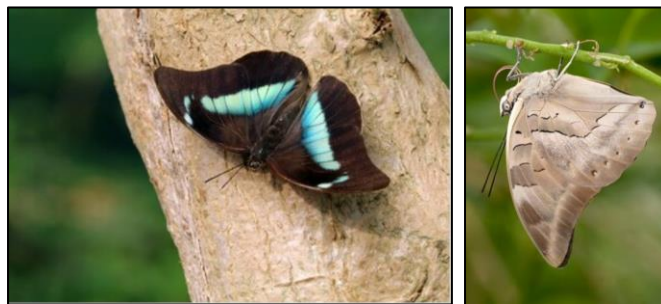


**Figure 125 : Stade pré-nymphal d'*Archaeoprepona demophon***

**Figure 126 : Chrysalide d'*Archaeoprepona demophon***

- **Les adultes :**

Il n'y a pas de dimorphisme sexuel dans cette espèce, les mâles et les femelles ont donc un aspect similaire. Le dessus des ailes va du brun sombre au noir, avec une large bande verticale de couleur bleu brillant qui traverse entièrement les ailes antérieures et postérieures, formant un « V ». Le dessous des ailes est un mélange de beige et de gris. Les adultes ont un corps massif, une trompe courte et leur première paire de pattes est réduite. Ils ont une envergure de 8 à 12 centimètres, les femelles étant légèrement plus grandes que les mâles.



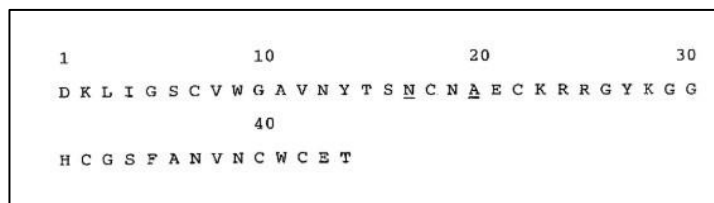
**Figure 127 et Figure 128 : Stade imago d'*Archaeoprepona demophon***

## **II.C.2) Peptide Ard1**

### **II.C.2.a) Structure de Ard1**

Ard1 est un peptide amphiphile ayant une structure tridimensionnelle de type CS $\alpha$  $\beta$ . Sa séquence est composée de 44 acides aminés. Elle diffère de celle de l'héliomicine par seulement deux résidus d'acides aminés : un acide aspartique (D) en position 17 dans l'héliomicine, remplacé par une asparagine (N) et une glycine (G) en position 20, remplacée par une alanine (A), ce qui augmente le caractère cationique du peptide

(+1 par rapport à l'héliomicine). Comme pour l'héliomicine, Ard1 possède deux régions à caractère plutôt hydrophobe séparées par une région à caractère plutôt hydrophile.



**Figure 129 : Séquence en acides aminés du peptide Ard1**

### **II.C.2.b) Mécanisme d'action de Ard1**

Son mécanisme d'action est semblable à celui de l'héliomicine, il tue les micro-organismes en perméabilisant leur membrane par un effet de type détergent.

### **II.C.2.c) Activités de Ard1**

Comme l'héliomicine, Ard1 a une activité antifongique sur les champignons des espèces *Candida sp* et *Aspergillus sp*.

Leurs activités ont été comparées. L'activité anti-*Candida albicans* de Ard1 est de 4 à 8 fois supérieure à celle de l'héliomicine. Et son activité anti-*Aspergillus fumigatus* est 2 fois supérieure à celle de l'héliomicine. (Dimarcq et al., 2003)

Ard1 a une action fongicide y sur les souches de *Candida albicans* résistantes aux antifongiques azolés comme le fluconazole mais également sur les souches de *Fusarium solani* résistantes à l'itraconazole. (Andrès & Dimarcq, 2007; Landon, 2004)

## **II.D) Développement de l'ETD-151**

### **II.D.1) Avant-propos**

Les PAMs sont considérés comme l'une des classes les plus innovantes en matière d'agents anti-infectieux et comme source d'inspiration pour la conception de nouveaux médicaments. Une société de biotechnologie française a été créée par le CNRS en 1999 dans le but d'étudier et améliorer les PAMs naturels déjà connus chez les insectes. Cette société du nom d'EntoMed S.A. est basée à Strasbourg. Entre autre,

elle a pour objectif de développer, à partir de l'héliomicine et du peptide Ard1, de nouvelles molécules antimicrobiennes de lutte contre les infections fongiques graves.

### **II.D.2) Structure de l'ETD-151**

L'ETD-151 est composé d'un enchaînement de 44 acides aminés. Sa séquence d'acides aminés correspond à la séquence de Ard1 sauf qu'à la place de l'Asparagine (N) en position 19, on trouve une Arginine (R).

Sa séquence ne diffère que de 3 acides aminés par rapport à celle de l'héliomicine.

<b>Héliomicine</b>	<u>DKLIGSCVWGAVNYTSDCNGECKRRGYKGGHCGSFANVNCWCET</u>
<b>Peptide Ard1</b>	<u>DKLIGSCVWGAVNYT<u>SN</u>CNAECKRRGYKGGHCGSFANVNCWCET</u>
<b>ETD151</b>	<u>DKLIGSCVWGAVNYT<u>SN</u>CRAECKRRGYKGGHCGSFANVNCWCET</u>

**Figure 130 : Séquence en acides aminés de l'ETD-151 comparée à celles de l'héliomicine et Ard1**

Sa structure en 3D est de type CS $\alpha\beta$ , identique aux défensines d'insectes précédemment nommées.

### **II.D.3) Production de l'ETD-151**

La technologie d'EntoMed S.A s'appuie sur l'héliomicine qui a été sélectionnée pour son spectre anti-infectieux, sa toxicité réduite et sa résistance aux protéases plasmatiques (sécrétées par les micro-organismes dans le but de résister aux traitements).

Les travaux de recherche réalisés ont consisté à effectuer des mutations notamment dans les régions hydrophobes et chargées de façon à augmenter la cationicité (augmenter la charge) et/ou l'hydrophobicité des peptides sans modifier ou en améliorant leur caractère amphiphile, ce qui permet de disposer de peptides présentant des propriétés antifongiques améliorées par rapport à l'héliomicine et Ard1. L'héliomicine et Ard1 ont donc été manipulées génétiquement, par mutagenèse dirigée, dans les régions cationiques ou hydrophobes, en remplaçant des acides

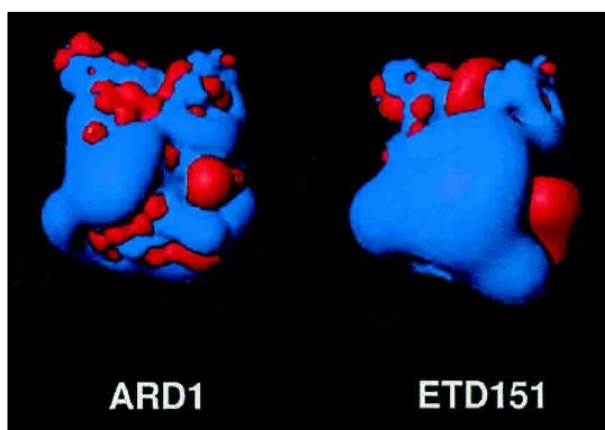
aminés. Plusieurs peptides ont ainsi été créés et testés. Le peptide ETD-151 a été gardé car il possède un large spectre d'action par rapport aux autres.

Cet échange augmente sa cationicité d'une charge de +1 (l'asparagine est neutre et l'arginine est chargée positivement).

#### **II.D.4) Activités de l'ETD-151**

(Landon, 2004)

L'augmentation de la cationicité modifie les propriétés amphipatiques et crée un impact dans la conformation 3D de la molécule. La conformation tridimensionnelle d'ETD-151 met en avant une partie plus importante chargée positivement (visible en bleu, sur la figure 119), ce qui améliore son interaction avec la membrane plasmique des micro-organismes.



**Figure 131 : Potentiels électrostatiques de surface comparés de Ard1 et ETD-151, avec le programme d'analyse moléculaire MOLMOL. En rouge, les contours chargés négativement et en bleu, les contours chargés positivement**

ETD-151 a une activité antifongique supérieure à celle de l'héliomicine et de Ard1 en ce qui concerne les espèces des genres *Candida* et *Aspergillus*. De plus, ETD-151 devient très puissant contre les champignons filamenteux des genres *Scedosporium* et *Fusarium*. (Andrès, 2012)

Les activités de l'ETD-151 sur différentes souches de champignons pathogènes sont évaluées *in vitro* par un test d'inhibition de croissance en milieu liquide réalisé sur des microplaques avec 96 puits. L'activité du peptide est testée pour différentes dilutions.



À partir de ces expériences, la concentration minimale inhibitrice de l'ETD-151 est déterminée (MIC50). (Landon, 2004)

	MIC50 (µg/mL) : concentration qui inhibe 50% de la croissance du champignon					
	<i>C. albicans</i> IHEM 8060	<i>C. albicans</i> No. 245962	<i>C. neoformans</i> A	<i>A. fumigatus</i> GASP4707	<i>F. solani</i> FFUS 8591	<i>S. prolificans</i> FSSP 8591
Heliomicin	12.5	12.5	>50	25	ND	ND
ARD1	6.25	1.56	12.5	12.5	ND	ND
ETD151	3.125	0.4	1.56	6.25	0.4	0.1
Fluconazole	0.25	>64	4 to 8	ND	>64	ND
Itraconazole	ND	0.25	ND	0.125	>16	ND
Amphotericin B	0.03	0.125	0.25	0.5	>16	>16

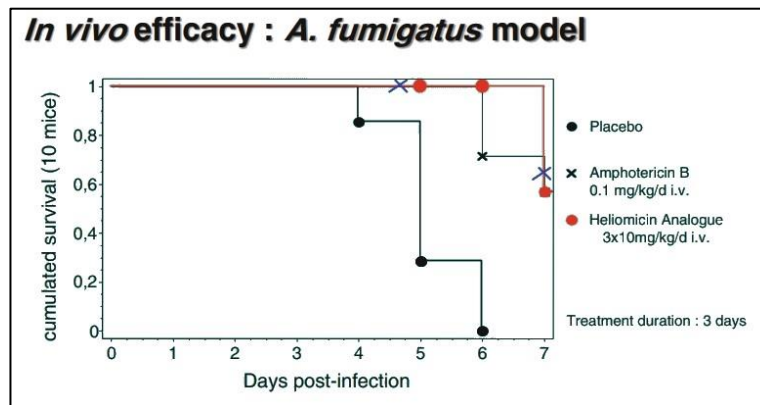
**Figure 132 : MIC50 de l'ETD-151 comparées à celles de l'héliomicine, Ard1, amphotéricine B, fluconazole et itraconazole (ND=non déterminé)**

### **II.D.5) Etudes précliniques**

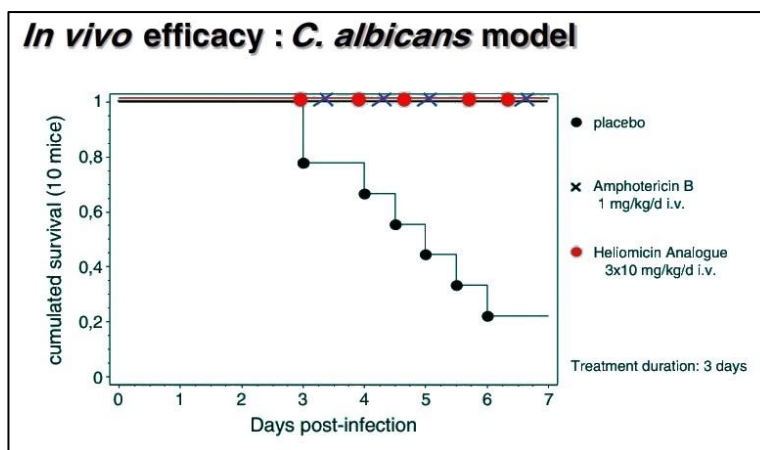
(Andrès, 2012)

ETD-151 a fait l'objet d'études précliniques dans le traitement des infections fongiques graves invasives affectant des patients immunodéprimés, notamment dans des infections à *Candida sp.* et *Aspergillus sp.* Ce programme d'études précliniques a été réalisé sur le modèle animal de la souris Swiss, en vue d'évaluer l'efficacité et la toxicité de l'ETD-151.

Il a été délivré par la voie systémique intraveineuse (perfusion continue intraveineuse) à des souris mâles infectées par *Candida albicans* ou par *Aspergillus fumigatus*. Ces infections sont létales pour la souris. L'efficacité de ETD-151 est comparée à celles de l'amphotéricine B et de divers antifongiques azolés tels que kétoconazole, fluconazole ou itraconazole. À chaque essai, on administre ETD-151 à un échantillon de dix souris, dix autres reçoivent un placebo et enfin un 3<sup>ème</sup> échantillon de dix souris est traité avec un médicament de référence (comme l'amphotéricine B sur les figures ci-dessous). Après un traitement de trois jours, les taux de survie et de morbidité sont comparés pendant sept jours après l'infection.



**Figure 133 : Comparaison de l'efficacité de l'ETD-151 et de l'amphotéricine B dans l'infection à *Aspergillus fumigatus* chez la souris Swiss**



**Figure 134 : Comparaison de l'efficacité de l'ETD-151 et de l'amphotéricine B dans l'infection à *Candida albicans* chez la souris Swiss**

L'EDT-151 s'est également montré comme dépourvu de toute toxicité chez la souris Swiss, même après administration par voie systémique à des doses allant jusqu'à 600mg/kg. (Andrès, 2012)

#### **II.D.6) Abandon du projet**

Malgré ces résultats plus que prometteurs, le programme de l'ETD-151 a été arrêté en 2005 car le coût de fabrication était trop élevé et posait trop de difficultés techniques.

Entomed S.A. s'est alors intéressé aux petites molécules organiques produites par des insectes et qui pourraient avoir des activités anticancéreuses et antibiotiques.

Entomed S.A. a cependant dû arrêter ses travaux et fermer ses portes en juin 2005 par manque d'investissements. N'ayant pas réussi à amener de molécule en phase clinique, la société n'a pas réussi à lever de nouveaux fonds auprès du capital risque (sa dernière levée de fond datait de 2001 et représentait 23,5 millions d'euros grâce à des investisseurs).

La société de biopharmacie Vivalis, spécialisée dans le domaine des vaccins et des antiviraux, a racheté en 2005 la chimiothèque d'EntoMed S.A. (cela correspond au répertoire de toutes les molécules naturelles identifiées et leurs analogues par la société EntoMed).

Le peptide ETD-151, bien que prometteur, n'a pas encore revu le jour.

### **II.E) Avenir des peptides anti-microbiens**

Les peptides antimicrobiens au sens large (pas uniquement d'insectes) sont toujours d'actualité. Plus de 300 brevets ont été déposés entre 1980 et aujourd'hui, avec un pic entre 2000 et 2005. Si l'on considère qu'il faut 15 à 20 ans pour obtenir un nouveau médicament à partir du dépôt du brevet et donc obtenir une AMM, on peut éventuellement prédire qu'un nombre important de PAMs atteindra le marché dans les prochaines années.

Plusieurs PAMs ou dérivés sont actuellement en cours de développement clinique, essentiellement sous forme de topiques :

- le Pexiganan extrait de la peau du xénope, sous forme de crème, a une action sur l'impétigo et les ulcérations surinfectées chez les diabétiques.
- l'Iseganan provenant des leucocytes de porc, sous forme de bain de bouche, est efficace sur les mucites chimio-induites.

Pour l'instant, aucun de ces peptides n'a bénéficié d'un avis favorable à sa commercialisation.

Le Neuprex, dérivé du clivage de la protéine cationique humaine BPI, est en attente d'autorisation d'utilisation temporaire par la FDA et les instances européennes dans les méningococcémies.

Si ce sont les propriétés antibactériennes qui ont fait découvrir les PAMs, les domaines d'application dépassent aujourd'hui l'anti-infection, et les activités anticancéreuses de certains PAMs sont des pistes prometteuses également. (Michel, 2010)

## Conclusion

Nous avons vu que la médecine traditionnelle est encore bien présente et ancrée dans les parcours de soin en Asie et surtout en Chine où les tradipraticiens et les magasins de médecine traditionnelle chinoise sont bien présents. Ces remèdes peinent à se faire une place dans les pays occidentaux face à la médecine moderne. En effet, ces remèdes sont souvent composés de plusieurs extraits de plantes, d'animaux ou minéraux et comportent donc des centaines de molécules différentes à étudier. Il y a peu d'études scientifiques qui sont réalisées sur ces remèdes ou les composants de ceux-ci et on voit que ce sont surtout des scientifiques asiatiques qui tentent d'en démontrer les effets. Dans la médecine moderne, les scientifiques s'intéressent surtout à une molécule qu'ils isolent et étudient.

Nous avons vu quelques exemples d'utilisation de lépidoptères dans la recherche thérapeutique qui s'avèrent être très intéressants et prometteurs. Les insectes, avec leur million d'espèces recensées sur Terre, forment un répertoire riche de molécules potentielles à découvrir dont certaines pourraient entrer dans la composition des médicaments de demain et pourquoi pas devenir des solutions à l'élimination de souches résistantes aux médicaments actuels (nous avons vu l'exemple du peptide ETD-151).

Mais l'utilisation des insectes dans la recherche pose quelques problèmes. Pour leur récolte, ils sont moins faciles d'accès que les plantes et il faudrait connaître la biologie de chaque insecte pour pouvoir les élever. De plus, les molécules d'intérêt se retrouvent en infime quantité dans chaque insecte donc il faudrait donc récolter de grosses quantités de chaque individu (environ 10 grammes) pour pouvoir identifier une molécule et faire des recherches sur celle-ci. À ces problèmes s'ajoutent les coûts et les difficultés de production, qui ont par exemple conduit à la fermeture d'EntoMed S.A.

Pour développer une molécule jusqu'à l'obtention de l'AMM, les années sont nombreuses, mais le nombre de nouvelles molécules isolées chaque année n'est pas nul et il faudra sans aucun doute compter sur les médicaments provenant des insectes dans les années à venir comme alternative thérapeutique chez des patients en échec

avec les traitements existants ou pour des maladies qui n'ont pas encore de traitement efficace.

D'un point de vue nutritif, les insectes sont sans aucun doute les aliments de demain, riches en protéines, vitamines, minéraux et acides gras essentiels tel que l'acide linoléique. Depuis la fin des années 2000, l'alimentation à base d'insectes commence à faire son entrée en France avec l'ouverture de quelques enseignes et sites internet uniquement dédiés à la vente d'insectes ou dérivés d'insectes destinés à l'alimentation.

Mais tout cela reste possible uniquement si les insectes persistent sur cette planète. Depuis le milieu du 20<sup>ème</sup> siècle, les populations d'insectes décroissent au fur et à mesure et de plus en plus vite. Par exemple, une étude internationale publiée par la revue PLoS One en 2017 fait état d'une baisse de 80% des populations d'insectes en Allemagne (on peut supposer que les chiffres sont similaires en Europe). Aujourd'hui, plus de 30% des espèces d'insectes seraient menacées d'extinction. Cela est dû surtout au réchauffement climatique, à la pollution et à l'utilisation massive de pesticides. Plus que jamais, c'est à l'Homme de prendre soin de la planète de manière à ce que ces nouvelles alarmantes et leurs conséquences irréversibles soient encore réparables.

## Bibliographie

- Andrès, E. (2012). Cationic antimicrobial peptides in clinical development, with special focus on thanatin and heliomicin. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31(6), 881-888. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1430-8>
- Andrès, E., & Dimarcq, J.-L. (2007). Peptides antimicrobiens cationiques : De l'étude de l'immunité innée à la production de médicaments. Mise à jour. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37(4), 194-199. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.09.009>
- Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., Kameda, Y., Kato, A., Nash, R. J., Lee, H. S., & Ryu, K. S. (2001). Polyhydroxylated Alkaloids Isolated from Mulberry Trees (*Morus alba* L.) and Silkworms (*Bombyx mori* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4208-4213. <https://doi.org/10.1021/jf010567e>
- Bardales, J. V., Gómez, R. Z., Sandoval, A. F., García, P. V., Jiménez, J. P., Hernández, J. J. R., & Lamas, G. (2017). Aspectos biológicos de *Archaeoprepona demophon* muson (Fruhstorfer, 1905) (Lepidoptera : Nymphalidae, Charaxinae) en la Amazonía peruana. *Revista Peruana de Biología*, 24(3), 249-254. <https://doi.org/10.15381/rpb.v24i3.13906>
- Beaumont, A., Cassier, P., Truchot, J.-P., & Dauça, M. (2004). *Biologie et physiologie animales* (2ème édition). Dunod. <https://www.dunod.com/sciences-techniques/biologie-et-physiologie-animales>
- Bellakhdar, J. (1998). *La pharmacopée marocaine traditionnelle* (Le fennec, Vol. 1). Ibis Press.
- Blissard, G. W., & Theilmann, D. A. (2018). Baculovirus Entry and Egress from Insect Cells. *Annual Review of Virology*, 5(1), 113-139. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092917-043356>
- Boulos, A. (2016). *Pharmacopée traditionnelle chinoise. Tome 1, Matière médicale* (éditions du cosmogone, Vol. 1).
- Buenz, E. J., Bauer, B. A., Osmundson, T. W., & Motley, T. J. (2005). The traditional Chinese medicine *Cordyceps sinensis* and its effects on apoptotic homeostasis. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 19-29. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.029>
- Capinera, J. L. (2001). *tobacco budworm—Heliothis virescens (Fabricius)*. [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/tobacco\\_budworm.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/tobacco_budworm.htm)
- Chaabihi, H. (2015, mai 10). *Système baculovirus/ cellules d'insecte*. Techniques de l'Ingénieur. <https://www.techniques-ingenieur.fr>
- Chambers, A. C., Aksular, M., Graves, L. P., Irons, S. L., Possee, R. D., & King, L. A. (2018). Overview of the Baculovirus Expression System. *Current Protocols in Protein Science*, 91(1). <https://doi.org/10.1002/cpps.47>
- Chen, X., Feng, Y., & Chen, Z. (2009). Common edible insects and their utilization in China. *Entomological Research*, 39(5), 299-303. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00237.x>
- Chen, Y.-C., Chen, Y.-H., Pan, B.-S., Chang, M.-M., & Huang, B.-M. (2017). Functional study of *Cordyceps sinensis* and cordycepin in male reproduction : A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 197-205. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.020>
- Chiu, L. C.-M., Kong, C. K.-L., & Ooi, V. E. C. (2003). Antiproliferative effect of chlorophyllin derived from a traditional Chinese medicine *Bombyx mori* excreta on human breast cancer MCF-7 cells. *International Journal of Oncology*, 23(3), 729-735. <https://doi.org/10.3892/ijo.23.3.729>
- Conconi, & Moreno. (1988). *THE UTILIZATION OF INSECTS IN THE EMPIRICAL MEDICINE OF ANCIENT MEXICANS*. 8.
- Cox, M. M. J., Izikson, R., Post, P., & Dunkle, L. (2015). Safety, efficacy, and immunogenicity of Flublok in the prevention of seasonal influenza in adults. *Therapeutic Advances in Vaccines*, 3(4), 97-108. <https://doi.org/10.1177/2051013615595595>
- Cox, M. M. J., Patriarca, P. A., & Treanor, J. (2008). FluBlok, a recombinant hemagglutinin influenza vaccine : FluBlok, a recombinant vaccine. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 2(6), 211-219. <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2008.00053.x>
- Dajoz, R. (2010). *Dictionnaire d'entomologie : Anatomie, systématique, biologie* (Vol. 1). Ed. Tec & doc.
- Delfosse, E., & Duprez, J.-N. (2005). (PDF) Le Ver à soie Tussah, *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville, 1855), un Papillon séricigène de Chine très aisé à élever (Insecta : Lepidoptera : Saturniidae). *Le Bulletin d'Arthropoda*, 23, 16 à 28.
- Devauchelle, G. (2000). *Les baculovirus d'insectes, vecteurs d'expression de gènes étrangers*. <https://www.canal->

- u.tv/video/les\_amphis\_de\_france\_5/les\_baculovirus\_d\_insectes\_vecteurs\_d\_expression\_de\_genes\_etrangers.3012
- Dimarcq, J.-L., Legrain, M., & Menin, L. (2003). *Antifungal and/or antibacterial peptides, preparation methods, compositions containing same and methods of treating mammals and/or plants* (United States Patent N° US20030208035A1). <https://patents.google.com/patent/US20030208035A1/en>
- Dunkle, L. M., Izikson, R., Patriarca, P. A., Goldenthal, K. L., Muse, D., & Cox, M. M. J. (2017). Randomized Comparison of Immunogenicity and Safety of Quadrivalent Recombinant Versus Inactivated Influenza Vaccine in Healthy Adults 18–49 Years of Age. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(10), 1219-1226. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix478>
- Dunkle, L. M., Izikson, R., Post, P., & Cox, M. M. (2015). *Introducing Modern Recombinant Technology to the Realm of Seasonal Influenza Vaccine : Flublok® For Prevention of Influenza in Adults*. 11.
- Feng, Y., Zhao, M., He, Z., Chen, Z., & Sun, L. (2009). Research and utilization of medicinal insects in China. *Entomological Research*, 39(5), 313-316. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00236.x>
- Fraval, A. (2011). Les larves 2ème partie. *Insectes*, 160, 31 à 35.
- Gaumont, R. (2018). *DIPTÈRES*. Encyclopædia Universalis. <http://www.universalis.fr/encyclopedie/dipteres/>
- Guyot, H. (1997). *Antheraea pernyi* Guérin. *Insectes*, 105, 15 à 16.
- Hamill, R. L., Higgins, C. E., Boaz, H. E., & Gorman, M. (1969). The structure of beauvericin, a new depsipeptide antibiotic toxic to. *Tetrahedron Letters*, 10(49), 4255-4258. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(01\)88668-8](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(01)88668-8)
- Holliday, J. C., & Cleaver, M. P. (2008). Medicinal Value of the Caterpillar Fungi Species of the Genus *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes). A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 10(3), 219-234. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v10.i3.30>
- Hu, K., Wang, Q., & Hu, P. Q. (2002). The Male Silkworm Moth ( *Antheraea pernyi* ) is a Key Ingredient in Hu-Bao and Sheng-Bao for Specific Prolongation of the Life-Span of the Male Fruit Fly ( *Drosophila melanogaster* ). *The American Journal of Chinese Medicine*, 30(02n03), 263-270. <https://doi.org/10.1142/S0192415X02000429>
- Hu, M., Yu, Z., Wang, J., Fan, W., Liu, Y., Li, J., Xiao, H., Li, Y., Peng, W., & Wu, C. (2017). Traditional Uses, Origins, Chemistry and Pharmacology of *Bombyx batryticatus* : A Review. *Molecules*, 22(10), 1779. <https://doi.org/10.3390/molecules22101779>
- Hu, S., Zhang, W., & Gu, F. (2004). The effect of the concentrated fluid of male Tussah Miller in protecting liver and debasing enzyme. *Shangdong Pharmaceutical Industry*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SDYG200402042.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SDYG200402042.htm)
- Jiang, N., Li, X. X., Li, Q. P., Li, W. J., & Han, H. X. (2016). *Thitarodes Viette*, 1968 : A new generic synonym and a new species from China (Lepidoptera: Hepialidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología*, 44(175). <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=45549999002>
- Jiang, Y., & al. (2006). Research on Effect of Tussah Moth Powder Lowering Blood-glucose Level in Mouse. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-AHNY200601046.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-AHNY200601046.htm)
- Kiho, T., Ookubo, K., Usui, S., Ukai, S., & Hirano, K. (1999). Structural Features and Hypoglycemic Activity of a Polysaccharide (CS-F10) from the Cultured Mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 22(9), 966-970. <https://doi.org/10.1248/bpb.22.966>
- Landon, C. (2004). Lead optimization of antifungal peptides with 3D NMR structures analysis. *Protein Science*, 13(3), 703-713. <https://doi.org/10.1110/ps.03404404>
- Larousse. (2018). *Insecte*. Encyclopédie Larousse. <https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/insecte/61609>
- Lecointre, G., & Le Guyader, H. (2017). *Classification phylogénétique du vivant: Vol. Tome 2* (4ème édition). Belin.
- Lev, E. (2006). Healing with animals in the Levant from the 10th to the 18th century. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-11>
- Li, J.-F., Zou, Z.-W., Liu, X., & Zhang, G.-R. (2011). Biology of *Thitarodes pui* (Lepidoptera, Hepialidae), a host species of *Ophiocordyceps sinensis*. *Journal of Environmental Entomology*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-KCTD201102011.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-KCTD201102011.htm)
- Li, S. P., Yang, F. Q., & Tsim, K. W. K. (2006). Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1571-1584. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.046>

- Li, W., Zhang, Z., Lin, L., & Terenius, O. (2017). *Antheraea pernyi* (Lepidoptera : Saturniidae) and Its Importance in Sericulture, Food Consumption, and Traditional Chinese Medicine. *Journal of Economic Entomology*, 110(4), 1404-1411. <https://doi.org/10.1093/jee/tox140>
- Liu, Y., Li, Y., Li, X., & Qin, L. (2010). The Origin and Dispersal of the Domesticated Chinese Oak Silkworm, *Antheraea pernyi*, in China: A Reconstruction Based on Ancient Texts. *Journal of Insect Science*, 10(180), 1-10. <https://doi.org/10.1673/031.010.14140>
- Llorente-Bousquets, J., Descimon, H., & Johnson, K. (1993). Taxonomy and biogeography of *Archaeoprepona demophoon* in Mexico, with description of a new subspecies (Lepidoptera : Nymphalidae: Charaxinae). *Tropical Lepidoptera Research*, 31-36.
- LUO, X., SUN, Y., LIU, W., & LIU, K. (2012). Flavonoids extracted from *Quercus acutissima* Carr. Leaves purification and inhibit the activity of  $\alpha$ -glucosidase. *School of Bio. & Food Engineering, Chuzhou University*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SPKJ201224029.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SPKJ201224029.htm)
- Lupoli, R. (2010). *L'insecte médicinal* (Ancyrosoma, Vol. 1).
- Maczey, N., Feng, Z., & Cannon, P. F. (2010). Ecology of *Thitarodes* spp., hosts of the economically important entomopathogenic fungus *Ophiocordyceps sinensis* in Bhutan. *Chinese Journal of Grassland*, 32(Supplement), 109-121.
- Malausa, J.-C. (2000). Les introductions d'insectes exotiques comme agents de lutte biologique contre les ravageurs des cultures. *Terre Vie*, 71 à 84.
- Marchal, I. (2001). *Modification des capacités de glycosylation des cellules d'insectes*. 127.
- Michel, A.-S. (2010). *À la découverte des peptides antimicrobiens*. [http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA\\_T\\_2010\\_MICHEL\\_ANNE-SOPHIE.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2010_MICHEL_ANNE-SOPHIE.pdf)
- Moscardi, F., de Souza, M. L., de Castro, M. E. B., Lara Moscardi, M., & Szewczyk, B. (2011). Baculovirus Pesticides: Present State and Future Perspectives. In I. Ahmad, F. Ahmad, & J. Pichtel (Éd.), *Microbes and Microbial Technology : Agricultural and Environmental Applications* (p. 415-445). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7931-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7931-5_16)
- Pain, J. (1988). Les phéromones d'insectes, 30 ans de recherches. *Insectes*, 68, 4.
- Pan, W.-J., Fang, T., Liao, A., Zhang, H., & Wei, Z. (2011). Character and Fatty Acid Composition of Silkworm Pupal Oil. *Food Science*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SPKX201104032.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SPKX201104032.htm)
- Pemberton, R. W. (1999). Insects and other arthropods used as drugs in Korean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 65, 207-216. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00209-8](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00209-8)
- Poinsot, D., Hervé, M., Le Garff, B., & Ceillier, M. (2018). *Diversité animale : Histoire, évolution et biologie des Métazoaires* (1ère édition). deboeck supérieur. <https://www.deboecksuperieur.com/ouvrage/9782807315396-diversite-animale>
- Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. D., & Kirk, P. M. (2015). A Higher Level Classification of All Living Organisms. *PLOS ONE*, 10(4), e0119248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248>
- Shrestha, U. B., & Bawa, K. S. (2013). Trade, harvest, and conservation of caterpillar fungus (*Ophiocordyceps sinensis*) in the Himalayas. *Biological Conservation*, 159, 514-520. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.10.032>
- Silva, S. S., Kundu, B., Lu, S., Reis, R. L., & Kundu, S. C. (2018). Chinese Oak Tasar Silkworm *Antheraea pernyi* Silk Proteins: Current Strategies and Future Perspectives for Biomedical Applications. *Macromolecular Bioscience*, 1800252. <https://doi.org/10.1002/mabi.201800252>
- Sparks, A. N. (1979). A Review of the Biology of the Fall Armyworm. *The Florida Entomologist*, 62(2), 82. <https://doi.org/10.2307/3494083>
- Tagu, D., & Moussard, C. (2003). *Principes des techniques de biologie moléculaire : 2e édition, revue et augmentée*. Quae.
- Tao, Z., Cao, L., Zhang, Y., Ye, Y., & Han, R. (2016). Laboratory Rearing of *Thitarodes armoricanus* and *Thitarodes jianchuanensis* (Lepidoptera : Hepialidae), Hosts of the Chinese Medicinal Fungus *Ophiocordyceps sinensis* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae). *Journal of Economic Entomology*, 109(1), 176-181. <https://doi.org/10.1093/jee/tov319>
- Thevissen, K., Kristensen, H.-H., Thomma, B. P. H. J., Cammue, B. P. A., & François, I. E. J. A. (2007). Therapeutic potential of antifungal plant and insect defensins. *Drug Discovery Today*, 12(21-22), 966-971. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.016>
- Tian, L., Zhu, X., Liu, J., Sun, J., Han, J., & Huang, Y. (2011). Research of Nutrition Composition on Tussah Larvae. *North sericulture*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-BFCY201103006.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-BFCY201103006.htm)



- Triant, D. A., Cinel, S. D., & Kawahara, A. Y. (2018). Lepidoptera genomes : Current knowledge, gaps and future directions. *Current Opinion in Insect Science*, 25, 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.12.004>
- Tsuneo, N., Yong-Hua, M., & Kenji, I. (1988). Insect derived crude drugs in the chinese song dynasty. *Journal of Ethnopharmacology*, 24(2-3), 247-285. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90157-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90157-2)
- Tuli, H. S., Sharma, A. K., Sandhu, S. S., & Kashyap, D. (2013). Cordycepin : A bioactive metabolite with therapeutic potential. *Life Sciences*, 93(23), 863-869. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.09.030>
- Vallard, A. (2017). Quand la vie ne tient qu'à un soupçon de sensibilité. *Techniques Culture*, n° 68(2), 134-161.
- Van Panhuys-Sigler, M. (2013). Une ressource médicale himalayenne extraordinaire. *Insectes*, 171, 13 à 17.
- Wang, X., Wang, X.-Y., Wang, Z., & Li, Y. (2009). Composition Analysis and Effect on Lowering High Blood Fat of Tussah Pupa Oil and Polyunsaturated Fatty Acid Products. *Science of sericulture*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-CYKE200902043.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-CYKE200902043.htm)
- Wang, X.-L., & Yao, Y.-J. (2011). Host insect species of *Ophiocordyceps sinensis* : A review. *ZooKeys*, 127, 43-59. <https://doi.org/10.3897/zookeys.127.802>
- Wang, Y., Wang, M., Ling, Y., Fan, W., Wang, Y., & Yin, H. (2009). Structural Determination and Antioxidant Activity of a Polysaccharide from the Fruiting Bodies of Cultured *Cordyceps sinensis*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 37(05), 977-989. <https://doi.org/10.1142/S0192415X09007387>
- Wang, Y., Yin, H., Lv, X., Wang, Y., Gao, H., & Wang, M. (2010). Protection of chronic renal failure by a polysaccharide from *Cordyceps sinensis*. *Fitoterapia*, 81(5), 397-402. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.11.008>
- Wei, C., Yao, X., Jiang, Z., Wang, Y., Zhang, D., Chen, X., Fan, X., Xie, C., Cheng, J., Fu, J., & Leung, E. L.-H. (2019). Cordycepin Inhibits Drug-resistance Non-small Cell Lung Cancer Progression by Activating AMPK Signaling Pathway. *Pharmacological Research*, 144, 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.03.011>
- Yan, J.-K., Wang, W.-Q., & Wu, J.-Y. (2014). Recent advances in *Cordyceps sinensis* polysaccharides : Mycelial fermentation, isolation, structure, and bioactivities: A review. *Journal of Functional Foods*, 6, 33-47. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.024>
- Yin, H., Shi, X., Sun, B., Ye, J., Duan, Z., Zhou, X., Cui, W., & Wu, X. (2010). Accumulation of 1-deoxynojirimycin in silkworm, *Bombyx mori* L. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 11(4), 286-291. <https://doi.org/10.1631/jzus.b0900344>
- Zhan, J., Burns, A. M., Liu, M. X., Faeth, S. H., & Gunatilaka, A. A. L. (2007). Search for Cell Motility and Angiogenesis Inhibitors with Potential Anticancer Activity: Beauvericin and Other Constituents of Two Endophytic Strains of *Fusarium oxysporum* <sup>1</sup>. *Journal of Natural Products*, 70(2), 227-232. <https://doi.org/10.1021/np060394t>
- Zhang, C.-X., Tang, X.-D., & Cheng, J.-A. (2008). The utilization and industrialization of insect resources in China. *Entomological Research*, 38, S38-S47. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2008.00173.x>
- Zhang, Y., Zhang, W., Wang, Z., Jia, Q., & Wang, Z. (2009). Effect of the Extract from Male Zooid of *Antheraea Pernyi* on Reversing the Radiation-induced Th1/Th2 Shift in Rats Bearing W256 Carcinoma. *Progress in Modern Biomedicine*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SWCX200905009.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SWCX200905009.htm)
- Zhou, J., & Han, D. (2006). Safety evaluation of protein of silkworm (*Antheraea pernyi*) pupae. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 1123-1130. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.01.009>
- Zimian, D., Yonghua, Z., & Xiwu, G. (1997). Medicinal insects in China. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2-4), 209-220. <https://doi.org/10.1080/03670244.1997.9991516>
- Zou, D., Zheng, S., Li, Q.-H., & Zhang, W. (2006). Study on Ingredient Analysis and Immunity Regulation Function of Concentrated Extracts of Tussah Male Moths. *Food Science*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-SPKX200605051.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-SPKX200605051.htm)
- Zou, Z., Sun, Z., Li, J., & Zhang, G. (2011, juin). *Molecular Cloning and Characterization of Two Heat Shock Proteins in Thitarodes Pui (Lepidoptera: Hepialidae)* [Text]. <https://www.ingentaconnect.com/content/cryo/cryo/2011/00000032/00000003/art00005#>

- Zou, Z.-W., Liu, X., & Zhang, G.-R. (2010). Revision of taxonomic system of the genus *Hepialus* (Lepidoptera, Hepialidae) currently adopted in China. *Journal of Hunan University of Science & Technology*. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTTotal-XTKY201001025.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTTotal-XTKY201001025.htm)
- Zou, Z.-W., Liu, X., & Zhang, G.-R. (2011). Two new species of *Thitarodes* (Lepidoptera : Hepialidae) from Tibet in China. *The Pan-Pacific Entomologist*, 87(2), 106-113. <https://doi.org/10.3956/2010-24.1>
- Zou, Z.-W., Zhang, G.-R., & Li, J.-F. (2012). Biology and life cycle of *thitarodes pui* (Lepidoptera, Hepialidae), a host of the caterpillar fungus *ophiocordyceps sinensis* in the Tibetan Plateau. In *Larvae : Morphology, biology and life cycle* (Nova publishers, p. 137 à 151 (chapitre 8)). Kia Pourali and Vafa Niroomand Raad. [https://www.researchgate.net/publication/289664686\\_Biology\\_and\\_life\\_cycle\\_of\\_thitarodes\\_pui\\_Lepidoptera\\_Hepialidae\\_a\\_host\\_of\\_the\\_caterpillar\\_fungus\\_ophiocordyceps\\_sinensis\\_in\\_the\\_Tibetan\\_Plateau](https://www.researchgate.net/publication/289664686_Biology_and_life_cycle_of_thitarodes_pui_Lepidoptera_Hepialidae_a_host_of_the_caterpillar_fungus_ophiocordyceps_sinensis_in_the_Tibetan_Plateau)



**DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE**

Nom et Prénom de l'étudiant : BRACQ Tristan INE : 0901062204P

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 20 / 03 / 2020 à 18 h. 15 Amphithéâtre ou salle : ALLAIS

**Engagement de l'étudiant - Charte de non-plagiat**

J'atteste sur l'honneur que tout contenu qui n'est pas explicitement présenté comme une citation est un contenu personnel et original.

Signature de l'étudiant :

**Avis du directeur de thèse**

Nom : Barmy

Prénom : Vincent

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable : .....

Date : 31/01

Signature:

**Avis du président du jury**

Nom : Barmy

Prénom : Vincent

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable : .....

Date : 31/01

Signature:

**Décision du Doyen**

Favorable

Défavorable

Par délégation,



Le 05/02/2020  
Le Doyen  
B. DÉCAUDIN

NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

NA/ 2018

Université de Lille  
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2019/2020

**Nom : BRACQ**  
**Prénom : TRISTAN**

**Titre de la thèse : UTILISATION DES LEPIDOPTERES EN MEDECINE TRADITIONNELLE ET MODERNE**

**Mots-clés : Lépidoptères, insectes, médecine traditionnelle, protéines recombinantes, Flublok®, peptides antimicrobiens, héliomicine, ETD-151**

---

**Résumé : Avec plus d'un million d'espèces recensées, les insectes forment le groupe contenant le plus grand nombre d'espèces répertoriées et estimées sur Terre, tous règnes confondus. Ils ont souvent mauvaise réputation chez les occidentaux qui les voient comme des vecteurs de maladies et des destructeurs de récoltes uniquement, en oubliant leurs rôles bénéfiques dans l'environnement et la santé des écosystèmes. Dans le reste du monde, ils peuvent être consommés comme aliments ou utilisés comme remèdes de médecine traditionnelle, surtout en Asie, en Afrique et en Amérique du sud. Les insectes constituent pour le milieu médical une source peu exploitée mais riche en nouvelles molécules avec des propriétés pharmacologiques variées. Cette thèse s'intéresse à l'ordre des lépidoptères en décrivant quelques espèces et leurs utilisations dans la médecine traditionnelle et en abordant la place des lépidoptères dans la recherche thérapeutique à travers deux exemples : la production de protéines recombinantes et la recherche sur les peptides antimicrobiens qui pourraient être une alternative aux traitements de souches résistantes de micro-organismes pathogènes.**

---

**Membres du jury :**

**Président et conseiller de thèse :** Docteur Vincent ROUMY, Maître de Conférences, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Pharmacognosie

**Assesseur :** Docteur Philippe GERVOIS, Maître de Conférences, HDR, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, laboratoire de Biochimie

**Membre extérieur :** Docteur Dominique ANGENAULT, Pharmacien d'officine à Bully-les-mines