



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE

UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2024-2025

N° D'ORDRE : 143

CANDIDAT

Nom : KAMBOU

Prénoms : Sansan

THESE DE DOCTORAT

**Pour l'obtention du grade de Docteur de
l'Université Jean Lorougnon Guédé**

Mention : Biologie-Santé

Spécialité : Biotechnologie et Pharmacologie

Valorisation des insectes médicinaux en Côte
d'Ivoire : étude ethnobiologique, potentiels
antibactériens et modèle d'infection *in vivo*

JURY

Président : Mme ADOHI KROU Viviane, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. ANGAMAN Djédoux Maxime, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : M. M'BOH Gervais Melaine, Maître de Recherche, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Rapporteur : M. AKRE Djako Sosthène Thierry, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Examineur : M. TANO Djè Kévin Christian, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Examineur : M. MOROH Jean-Luc Aboya, Maître de Conférences, Université Péléforo GON COULIBALY

Soutenue publiquement
le : 27/06/2025

Table de matières

TABLE DE MATIERES

DEDICACE.....	viii
AVANT-PROPOS	xiii
REMERCIEMENTS	xiii
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
LISTE DES ANNEXES.....	xviii
Introduction	1
Première partie : Généralités	6
1.1. Insectes : diversité, rôles écologiques et utilisations humaines.....	7
1.1.1. Définition	7
1.1.2. Diversité et classification des insectes	7
1.1.3. Rôles écologiques des insectes	8
1.1.4. Utilisation des insectes par l'homme	9
1.2. Insectes en médecine : usages traditionnels, activités biologiques et composés bioactifs	9
1.2.1. Aperçu historique de l'utilisation des insectes dans différentes cultures	9
1.2.1.1. Civilisations anciennes	10
1.2.1.1.1. Egypte ancienne.....	10
1.2.1.1.2. Antiquité gréco-romaine.....	10
1.2.1.2. Traditions asiatiques.....	11
1.2.1.2.1. Médecine traditionnelle chinoise (MTC)	11
1.2.1.2.2. Médecine ayurvédique en Inde.....	12
1.2.1.3. Amérique latine	12
1.2.1.3.1. Médecine traditionnelle des peuples autochtones	12
1.2.1.3.2. Utilisation contemporaine.....	13
1.2.1.4. Cultures africaines.....	14

Table de matières

1.2.1.5. Problématique sur l'ethno-entomologie en Côte d'Ivoire.....	15
1.2.2. Fonctions biologiques et ingrédients actifs des insectes	16
1.2.2.1. Effets antitumoraux	18
1.2.2.2. Potentiel antioxydant.....	18
1.2.2.3. Activité anti-inflammatoire	19
1.2.2.4. Effets immunomodulateurs	20
1.2.2.5. Activités antimicrobiennes	21
1.2.3. Peptides antimicrobiens d'insectes : une alternative prometteuse aux antibiotiques conventionnels	21
1.2.3.1. Définition et importance.....	21
1.2.3.2. Production des PAM chez les insectes	21
1.2.3.3. Régulation de l'expression des peptides antimicrobiens chez les insectes	22
1.2.3.4. Diversité des PAM chez les insectes.....	24
1.2.3.5. Propriétés courantes des PAM d'insectes	25
1.2.3.6. Plasticité évolutive des PAM d'insectes	25
1.2.3.7. Structures des PAM.....	26
1.2.3.7.1. PAM à structure α -hélicoïdale	26
1.2.3.7.2. PAM riches en cystéine formant des feuillets β	27
1.2.3.7.3. PAM riches en proline	28
1.2.3.7.4. PAM riches en glycine	28
1.2.3.8. Fonctions des PAM chez les insectes.....	29
1.2.3.9. Mécanismes d'action.....	30
1.2.3.9.1. Formation des pores.....	31
1.2.3.9.2. Mécanisme d'action non membranolytique des peptides antimicrobiens .	32
1.2.3.10. Applications potentielles des PAM d'insectes	33
1.2.3.10.1. En Médecine	33
1.2.3.10.2. En Agriculture	35

Table de matières

1.2.3.10.3. En agroalimentaire.....	36
1.3. Insectes dans le domaine de la recherche : perspectives d'utilisation comme modèles animaux <i>in vivo</i>	36
1.3.1. Importance des modèles <i>in vivo</i> dans la recherche antibactérienne.....	36
1.3.1.1. Evaluation de l'efficacité des traitements	37
1.3.1.2. Evaluation de la sécurité et des effets secondaires.....	37
1.3.1.3. Simulation des conditions inflammatoires et immunologiques	37
1.3.1.4. Optimisation des protocoles de traitements	38
1.3.2. Limites des modèles animaux classiques.....	38
1.3.3. Perspectives d'utilisation de modèles animaux alternatifs	38
1.3.4. <i>Drosophila melanogaster</i> comme modèle d'infection bactérienne.....	38
1.3.4.1. Génétique bien connue	39
1.3.4.2. Avantages éthiques.....	39
1.3.4.3. Cycle de vie court et grande prolificité	40
1.3.4.4. Facilité de manipulation	41
1.3.4.5. Réponses biologiques similaires aux mammifères.....	41
1.3.4.6. Infections bactériennes et réponses immunitaires chez la drosophile.....	41
1.3.4.6.1. Techniques d'infection	41
1.3.4.6.2. Réponses aux infections : mécanismes de défense innés	42
1.4. Zone d'étude.....	43
Deuxième partie : Matériel et Méthodes	45
2.1. Matériel.....	46
2.1.1. Matériel biologique	46
2.1.1.1. Espèces de coléoptères étudiées pour les tests antibactériens.....	46
2.1.1.2. Souche de drosophile étudiée dans le modèle d'infection	46
2.1.1.3. Souches bactériennes.....	47
2.1.2. Matériel chimique	48

Table de matières

2.1.2.1. Antibiotiques testés	48
2.1.2.2. Milieux de cultures et autres produits employés	49
2.1.3. Matériel technique	49
2.2. Méthodes	51
2.2.1. Enquête ethnobiologique sur les insectes médicinaux dans trois villes de la Côte d'Ivoire.....	51
2.2.1.1. Approches éthiques	51
2.2.1.2. Collecte de données.....	51
2.2.2. Étude de la réponse immunitaire et de l'activité antibactérienne de l'hémolymph des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> et <i>Oryctes owariensis</i> infectées par des bactéries	52
2.2.2.1. Immunisation des larves.....	52
2.2.2.2. Collecte de l'hémolymph	52
2.2.2.3. Purification de l'hémolymph	53
2.2.2.4. Mesure de Degré Brix (DB)	53
2.2.2.5. Détermination de la concentration en protéines solubles.....	53
2.2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne	53
2.2.2.6.1. Détection de l'activité par diffusion sur un milieu gélosé.....	54
2.2.2.6.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'hémolymph <i>via</i> un milieu liquide	54
2.2.3. Mise en place du modèle d'infection bactérienne chez l'espèce <i>Drosophila melanogaster</i>	55
2.2.3.1. Elevage des drosophiles	55
2.2.3.2. Culture bactérienne.....	55
2.2.3.3. Tests préliminaires	56
2.2.3.3.1. Standardisation de la culture bactérienne	56
2.2.3.3.2. Sélection des composés antibactériens utilisés dans le modèle.....	57
2.2.3.4. Infection des mouches	58

Table de matières

2.2.3.4.1. Préparation de la suspension bactérienne	58
2.2.3.4.2. Injection de la suspension bactérienne	59
2.2.3.4.3. Suivi de la survie post-injection	60
2.2.3.4.4. Évaluation de la charge bactérienne post-injection	60
2.2.3.4.5. Méthode de traitement des mouches infectées	61
2.2.4. Traitement des données et analyses statistiques	61
Troisième partie : Résultats et Discussion	63
3.1. Résultats.....	64
3.1.1. Pratiques et perceptions de l'entomothérapie dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa	64
3.1.1.1. Caractéristiques sociodémographiques des participants	64
3.1.1.2. Connaissance de l'entomothérapie par les individus interrogés	66
3.1.1.3. Pratique de l'entomothérapie par les individus interrogés.....	68
3.1.1.4. Insectes médicinaux répertoriés et leurs bienfaits thérapeutiques.....	68
3.1.1.5. Formes d'utilisation et modes d'administration.....	73
3.1.2. Potentiel antibactérien des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> et <i>Oryctes owariensis</i>	74
3.1.2.1. Caractéristiques physico-chimiques des extraits d'hémolymph.....	74
3.1.2.2. Pouvoir antibactérien des extraits d'hémolymph de <i>R. phoenicis</i> et de <i>O. owariensis</i>	74
3.1.2.2.1. Activité antibactérienne <i>in vitro</i> sur milieu solide.....	74
3.1.2.2.2. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale bactéricide (CMB) des extraits d'hémolymph testés	76
3.1.3. <i>Drosophila melanogaster</i> comme modèle d'infection bactérienne	79
3.1.3.1. Résultats préliminaires sur les souches étudiées et les bactéries du microbiote de la souche de drosophile w ¹¹¹⁸	79
3.1.3.1.1. Corrélation entre la Densité Optique (DO) et la concentration bactérienne en Unités Formant Colonies (UFC/mL) des souches étudiées.	79

Table de matières

3.1.3.1.2. Sensibilité des souches bactériennes étudiées aux antibiotiques et produits naturels.....	80
3.1.3.1.3. Sensibilité des bactéries du microbiote de la drosophile W ¹¹¹⁸ à l'érythromycine	80
3.1.3.2. Impact des infections à <i>Providencia burhodogranariae</i> et <i>Serratia marcescens</i> sur <i>Drosophila melanogaster</i>	81
3.1.3.2.1. Infection à <i>Providencia burhodogranariae</i>	81
3.1.3.2.2. Infection à <i>Serratia marcescens</i>	83
3.1.3.3. Effet des traitements antibiotiques sur la survie de l'hôte et l'évolution de la charge bactérienne.....	87
3.1.3.3.1. Effet de l'ampicilline et de la tétracycline sur les mouches infectées par <i>P. burhodogranariae</i>	87
3.1.3.3.2. Effet de la tétracycline, gentamicine et streptomycine sur les mouches infectées par <i>Serratia marcescens</i>	89
3.2. Discussion.....	93
3.2.1. Evaluation de l'entomothérapie dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa	93
3.2.1.1. Connaissance traditionnelle restreinte et défis d'accessibilité.....	93
3.2.1.2. Influence des facteurs démographiques	94
3.2.1.3. Diversité des insectes médicinaux recensés : répertoire et pathologies ciblées.....	95
3.2.1.4. Influence de la nature de l'insecte sur le mode de préparation et d'administration des remèdes.....	98
3.2.2. Analyse du potentiel antimicrobien de l'hémolymph larvaire : cas des larves de <i>Rhynchophorus phoenicis</i> et <i>Oryctes owariensis</i>	99
3.2.3. Modèle d'infection bactérienne chez <i>Drosophila melanogaster</i> : un outil pour l'évaluation de thérapies antimicrobiennes	102
3.2.3.1. Réponses différentielles de la drosophile aux infections bactériennes : perspectives sur <i>Providencia burhodogranariae</i> et <i>Serratia marcescens</i>	102
3.2.3.2. Evaluation de l'efficacité des antibiotiques dans le contrôle de l'infection	104

Table de matières

3.2.3.2.1. Réactions de l'ampicilline et de la tétracycline face à la dynamique de l'infection chronique par <i>Providencia burhodogranariea</i>	104
3.2.3.2.2. Efficacité de la streptomycine et limites de la gentamicine et de la tétracycline face à l'infection à <i>Serratia marcescens</i>	106
Conclusion et Perspectives	109
Conclusion	110
Perspectives	111
Références	112
Annexes	xix
Publications	xxiii

DEDICACE

"Je puis tout par celui qui me fortifie."

Philippiens 4:13

AVANT-PROPOS

Mon aventure avec les insectes a commencé de manière inattendue ou plutôt suite à une orientation proposée par mon directeur de mémoire de master. C'est lui qui m'a proposé de travailler sur les insectes comestibles. A l'époque, je n'aurais jamais imaginé m'intéresser un jour de manière aussi sérieuse à des insectes telles que les mouches ou les scarabées. Et pourtant, ce sujet, aussi inattendu qu'original, a tout de suite éveillé ma curiosité. Sans m'en rendre compte immédiatement, j'entrais ainsi dans un champ d'exploration scientifique qui allait structurer mes années de recherche à venir.

Lorsque j'ai décidé de poursuivre en doctorat, il était pour moi évident que je souhaitais continuer dans cette voie. Il me restait alors à définir un axe d'exploration pertinent. C'est alors qu'est née une intuition simple, mais porteuse de sens : certains insectes vivent dans des milieux extrêmement riches en microbes, parfois insalubres, sans pour autant être affectés par des infections. Il m'est alors venu cette question : et si ces insectes développaient des stratégies naturelles pour se défendre contre les agents pathogènes ? Mieux encore, si certains d'entre eux, déjà utilisés dans des traditions médicales anciennes, pouvaient offrir des pistes nouvelles face à des enjeux contemporains, comme la résistance bactérienne aux antibiotiques ?

C'est cette idée directrice qui a guidé mon travail de thèse. Elle m'a orienté vers l'étude des savoirs endogènes relatifs à l'usage médicinal des insectes en Côte d'Ivoire, vers la caractérisation de leurs propriétés antibactériennes, et enfin vers la conception d'un modèle *in vivo* original, basé sur la drosophile. A une époque où les comités d'éthique appellent à limiter l'usage des vertébrés en laboratoire, il m'a semblé essentiel d'explorer des alternatives viables, peu coûteuses, et scientifiquement robustes.

Au-delà de l'aspect scientifique, cette thèse représente aussi une véritable aventure personnelle et académique. De Daloa à Toulouse, le chemin parcouru a été jalonné de découvertes, de rencontres, de remises en question, mais aussi de belles opportunités. J'ai eu la chance d'évoluer dans des environnements stimulants, grâce à l'accompagnement bienveillant de plusieurs institutions qui ont cru en mon projet. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'Université Jean Lorougnon Guédé, où tout a commencé ainsi qu'au programme ERASMUS+, qui, à travers la Mobilité Internationale des Enseignants et du Personnel (MIEP), m'a offert la possibilité de réaliser une partie de mes recherches à Toulouse.

Remerciements

REMERCIEMENTS

A l'issue de cette aventure intellectuelle et humaine, il m'est impossible de refermer ce chapitre sans exprimer toute la gratitude qui emplit mon cœur. Je voudrais adresser mes sincères remerciements à tous ceux qui ont rendu cette thèse possible, par leur soutien, leurs conseils et leurs encouragements constants.

Je voudrais tout d'abord exprimer ma profonde gratitude au Professeur ADOHI KROU Viviane, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE et Présidente du jury de cette thèse. Madame la Présidente, merci pour l'honneur que vous me faites en acceptant de présider le jury de cette thèse. C'est un réel privilège pour moi de pouvoir compter sur votre présence pour l'évaluation de ce travail.

Je souhaite également remercier les professeurs SORO Dogniméton et KONE Issiaka, tous deux, Vice-présidents de l'Université Jean LOROUNGON Guédé, pour leurs engagements et leurs contributions à la gestion efficace de cette institution.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de Docteur KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE et Directeur de l'UFR de l'Agroforesterie, pour son soutien et son engagement à promouvoir un environnement académique de qualité au sein de l'UFR.

Je dis merci au Professeur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation, pour m'avoir donné l'occasion d'intégrer son laboratoire. Ce cadre a été idéal pour la réalisation de mes activités de thèse.

Je voudrais adresser une reconnaissance toute particulière à mon Directeur de thèse, Professeur ANGAMAN Djédoux Maxime. Trouver les mots justes pour exprimer ma profonde gratitude à votre égard est un défi, tant votre impact sur mon parcours est immense. Plus qu'un simple guide académique, vous avez été un mentor exceptionnel et un modèle de rigueur scientifique depuis la Licence 3. Votre patience, votre disponibilité constante et votre bienveillante exigence ont non seulement enrichi mes recherches, mais ont également façonné ma vision de la science et m'ont inspiré à rechercher l'excellence.

J'exprime ma reconnaissance aux rapporteurs de cette thèse, les Docteurs M'BOH Gervais Melaine et AKRE Djako Sosthène Thierry respectivement Maître de Recherche en Biochimie-Nutrition à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE. Chers maîtres, je vous suis

Remerciements

profondément reconnaissant pour le temps, l'attention et la bienveillance que vous avez consacrés à l'examen de ce manuscrit. Merci pour la rigueur de votre lecture, la justesse de vos analyses et la pertinence de vos remarques, qui ont grandement enrichi la qualité scientifique de ce travail.

Toute ma reconnaissance au Docteur TANO Djè Kévin Christian, Maître de Conférences en Entomologie Agricole à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE et au Docteur MOROH Jean-Luc Aboya, Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie à l'Université Peleforo GON COULIBALY, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de siéger en tant qu'examineurs au sein du jury de cette thèse. Merci chers maîtres pour le temps et l'attention que vous avez bien voulu consacrer à l'évaluation de ce manuscrit.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous les membres de PharmaDev pour leur accueil chaleureux et leur soutien dans mon intégration à Toulouse. Je dis un merci particulier au Docteur François CHASSAGNE, mon superviseur de stage. Merci de m'avoir accueilli dans votre laboratoire et de m'avoir offert l'opportunité de rejoindre votre équipe. Je vous suis infiniment reconnaissant pour tout ce que vous m'avez enseigné, tant sur le plan technique en microbiologie que sur le plan rédactionnel. Toute ma reconnaissance à Agathe GINESTE et Emma WANG, les talentueuses stagiaires, avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer sur le projet « infection-drosophile » au sein de PharmaDev. Votre enthousiasme et votre engagement ont été essentiels tout au long de cette aventure. Merci à toutes les deux pour votre esprit d'équipe, votre créativité et votre dévouement, qui ont grandement contribué à la réussite de nos travaux. J'apprécie sincèrement tout ce que nous avons accompli ensemble pendant cette période enrichissante. Je dis également merci à tous les autres doctorants et stagiaires de PharmaDev : Chengmei LIU, Doriane TITON, Thibault TAM-HUI, Louise FRELAT, Rahma LAHRIGA et Mahina HITTER. J'ai eu le plaisir de partager le laboratoire avec vous, et vos échanges amicaux ainsi que nos moments de collaboration ont rendu cette période encore plus agréable.

Je tiens également à remercier le Docteur David DUNEAU du « Queen's Medical Research Institute ». Votre soutien en tant que guide tout au long de ce projet « infection-drosophile » a été inestimable. Je vous remercie particulièrement pour vos conseils éclairés et votre attention aux détails, tant sur le plan technique que statistique. Votre expertise a grandement contribué à la réussite de cette étude.

A mes chers amis, Docteurs et doctorants du laboratoire de l'Agrovalorisation, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude. Un remerciement tout particulier aux Docteurs BOKO Eunice,

Remerciements

N'ZI Parfait et GBEGBE Aristide, dont les conseils avisés et le soutien constant ont été d'une aide précieuse tout au long de mon parcours doctoral. Toute ma reconnaissance aux doctorants N'GUESSAN Abraham, KOUASSI Tatiana, YAO Liliane et KACOU Christophe. Merci à chacun d'entre vous pour nos échanges enrichissants et la collaboration fructueuse qui ont contribué à faire de cette expérience un moment mémorable.

Pour finir, je souhaite exprimer toute mon affection et ma reconnaissance à mes parents, véritables piliers de ma vie, dont l'amour, le soutien constant et les sacrifices silencieux ont rendu ce parcours possible. A toi, *Papa*, l'architecte infatigable de mes rêves, qui a posé chaque pierre avec confiance et persévérance, bâtissant les fondations solides de mon avenir. A toi, *Maman*, le pilier indéfectible sur lequel je m'appuie, source inépuisable d'amour, de réconfort et d'inspiration, toujours présente, silencieuse et forte. A vous, mes chers frères et sœurs, les étoiles constantes de mon firmament, qui illuminent les moments les plus sombres et magnifient chaque succès par leur éclat. A toi, *Tantie*, pour ton accueil généreux et ta patience infinie, tu as su créer un environnement propice à mon travail et à mon épanouissement. A tous ceux qui ont cru en moi, cette œuvre est le fruit de votre foi, un témoignage vivant de votre soutien indéfectible et de votre confiance inébranlable.

Liste des sigles et abréviations

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AMP	: Ampicilline
ATCC	: American Type Culture Collection (Collection américaine de culture de référence)
BGSC	: <i>Bacillus</i> Genetic Stock Center (Centre de stockage génétique de <i>Bacillus</i>)
BLSE	: Beta-Lactamase à Spectre Elargi
BSA	: Bovine Serum Albumin (albumine de sérum bovin)
CHR	: Centre Hospitalier Regional
CMB	: Concentration Minimale Bactéricide
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
DO	: Densité Optique
DTT	: Dithiothréitol
EDB	: Evolution et Diversité Biologique
FAO	: Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GENTA	: Gentamicine
HR	: Hazard Ratio
IMD	: Immune deficiency (Voie de signalisation immunodéficience)
INT	: Chlorure d'iodonitrotetrazolium
IPCI	: Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
LB	: Luria Bertani
MH	: Mueller Hinton
Meti-R	: Résistance à la méticilline
MTC	: Médecine Traditionnelle Chinoise

Liste des sigles et abréviations

OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PAM	: Peptides antimicrobiens
PBS	: Phosphate-Buffered Saline (solution saline tamponnée au phosphate)
PharmaDev	: Pharmacochimie et biologie pour le développement
PSM	: Poste de Sécurité Microbiologique
RAM	: Résistance aux antimicrobiens
SPBL	: Set Point Bacterial Load (charge bactérienne au point de stabilisation)
STREPTO	: Streptomycine
TETRA	: Tétracycline
UFC	: Unités Formant Colonies
UFR	: Unité de Formation et de Recherche
UR	: Use Report (Rapport d'utilisation)

Liste des tableaux

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Souches bactériennes impliquées dans l'étude	48
Tableau II : Description des appareils et équipements utilisés	50
Tableau III : Caractéristiques sociodémographiques des informateurs	65
Tableau IV : Insectes médicinaux et leurs usages thérapeutiques rapportés dans les trois localités enquêtées.....	71
Tableau V : Diamètres des zones d'inhibition de l'hémolymph de <i>O. owariensis</i> sur les différentes souches bactériennes étudiées	75
Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition de l'hémolymph de <i>R. phoenicis</i> sur les différentes souches bactériennes étudiées	76
Tableau VII : Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide de l'hémolymph des larves de <i>O. owariensis</i>	77
Tableau VIII : Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide de l'hémolymph des larves de <i>R. phoenicis</i>	78
Tableau IX : Concentration Minimale inhibitrice (CMI) en µg/mL des antibiotiques sur la croissance des bactéries étudiées	80

Liste des figures

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Diversité et classification des espèces d'arthropodes identifiées	8
Figure 2 : Fonctions biologiques des substances actives issues d'insectes et leurs mécanismes d'action potentiels.....	17
Figure 3 : Principales voies de régulation de l'expression des peptides antimicrobiens chez les insectes	24
Figure 4 : Représentation structurale des peptides à structure α -hélicoïdale	27
Figure 5 : Différentes fonctions des PAM chez les insectes	30
Figure 6 : Représentation schématique de l'interaction des peptides antimicrobiens (PAM) avec la membrane bactérienne	32
Figure 7 : Représentation des mécanismes d'action non membranolytique des PAM	33
Figure 8: Cycle de vie de <i>Drosophila melanogaster</i> montrant les quatre stades de développement	40
Figure 9: Carte de la Côte d'Ivoire montrant les localités d'étude	44
Figure 10: Larves de deux espèces de Coleoptères utilisées pour l'étude	46
Figure 11: Souche de drosophile étudiée	47
Figure 12: Méthode de standardisation de la culture bactérienne	57
Figure 13: Méthode de préparation de la suspension bactérienne pour l'injection	59
Figure 14: Injection de la suspension bactérienne	60
Figure 15 : Connaissance de l'entomothérapie en fonction de l'âge, du sexe, de la localité, de la profession et du groupe ethnique	67
Figure 16 : Citation des espèces en fonction des trois localités enquêtées	69
Figure 17 : Photos de quelques insectes médicinaux ainsi que leurs produits dérivés répertoriés dans les trois localités.	72
Figure 18 : Méthodes de préparation et d'administration des remèdes rapportés	73
Figure 19: Droite d'étalonnage du dosage des protéines selon la méthode de Bradford.....	74
Figure 20: Photos des boîtes de pétri montrant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'hémolymphes des larves de <i>R. phoenicis</i>	75
Figure 21: Photos des boîtes de pétri montrant la CMB de l'hémolymphes de <i>R. phoenicis</i> sur les souches bactériennes étudiées.....	78
Figure 22: Courbe de corrélation entre la densité optique (DO) et la concentration bactérienne (UFC/mL) des souches étudiées.....	79
Figure 23: Survie des mouches infectées par <i>P. burhodogranariae</i> en fonction de la dose	82

Liste des figures

Figure 24 : Evolution de la charge bactérienne intra-hôte chez les mouches infectées par <i>P. burhodogranariae</i>	83
Figure 25 : Impact de la dose de <i>S. marcescens</i> sur la survie de l'hôte.....	84
Figure 26: Impact de la dose infectieuse de <i>Serratia marcescens</i> sur l'évolution de la charge bactérienne intra-hôte.....	86
Figure 27: Effets de l'ampicilline et de la tétracycline sur la survie des mouches infectées par <i>P. burhodogranariae</i>	88
Figure 28: Impact du traitement à l'ampicilline et à la tétracycline sur la réduction de la charge bactérienne chez les mouches infectées par <i>P. burhodogranariae</i>	89
Figure 29: Effets de traitements antibiotiques (tétracycline, gentamicine et streptomycine) sur la survie des mouches infectées par <i>S. marcescens</i>	90
Figure 30: Impact du traitement antibiotique sur la réduction de la charge bactérienne chez les drosophiles infectées par <i>S. marcescens</i>	92

Liste des annexes

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Aperçu de la fiche d'enquête	xx
Annexe 2: Photos de quelques équipements utilisés	xxi
Annexe 3: Méthode d'élevage des mouches	xxii
Annexe 4: Image montrant la coloration du corps d'une mouche morte d'une infection à <i>Serratia marcescens</i> (B) par rapport à une mort naturelle (A)	xxiii

Introduction

Introduction

Longtemps relégués au rang de nuisibles ou considérés comme de simples curiosités entomologiques, les insectes ont, au fil du temps, révélé un potentiel insoupçonné dans de nombreux domaines. L'essor de l'entomophagie, c'est-à-dire la consommation d'insectes, s'inscrit dans une dynamique de réévaluation. Les insectes, autrefois dédaignés, sont désormais reconnus comme une source nutritive et écologique d'aliments (van Huis *et al.*, 2013). Riches en protéines, acides gras essentiels, vitamines et minéraux, ils offrent une alternative durable aux sources traditionnelles de protéines animales (Rumpold & Schlüter, 2013 ; Liceaga *et al.*, 2022).

Mais les insectes ne se contentent plus d'être une simple alternative alimentaire. Leur potentiel thérapeutique, longtemps sous-estimé, ouvre aujourd'hui des perspectives prometteuses pour la recherche biomédicale (Devi *et al.*, 2023). En effet, certaines espèces d'insectes recèlent une large gamme de composés bioactifs notamment des protéines, peptides, enzymes et composés phénoliques, capables d'interagir positivement dans divers processus biologiques. Les propriétés biologiques de ces substances issues d'insectes incluent des effets anticancéreux, la modulation du système immunitaire ainsi que des activités antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires (Lange & Nakamura, 2021 ; Aguilar-Toalá *et al.*, 2022 ; Nowakowski *et al.*, 2022). Ces découvertes ont ouvert la voie à l'exploration de nouveaux traitements mettant en évidence de nombreuses applications thérapeutiques potentielles des insectes.

Bien que le développement et la commercialisation de nouveaux médicaments issus d'insectes soient encore à un stade exploratoire, des avancées notables ont été réalisées. Des exemples concrets incluent l'utilisation de la cantharidine, un composé extrait de la mouche espagnole (*Lytta vesicatoria*) et commercialisé sous le nom de "Cantharone" aux États-Unis. Cette molécule permet de traiter les verrues. La chitine et le chitosane extraits des carapaces d'insectes tels que *Bombyx mori*, *Tenebrio molitor* et *Hermetia illucens*, sont de plus en plus utilisés en médecine sous formes de Bandages médicaux, gels hémostatiques ou de suppléments diététiques en gélules (Baharlouei & Rahman, 2022 ; Triunfo *et al.*, 2022 ; Rehman *et al.*, 2023). De plus, des progrès significatifs ont été réalisés quant à l'utilisation de certains peptides antimicrobiens (PAM) d'insectes tels que la cécropine, la défensine et l'attacine qui ont démontré à la fois des activités anticancéreuses puissantes et une efficacité notable contre des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques conventionnels (Yi *et al.*, 2014 ; Xu *et al.*, 2020 ; Zhou *et al.*, 2023).

Introduction

Parallèlement à leur potentiel thérapeutique, les insectes s'affirment également comme des modèles biologiques *in vivo* précieux pour la recherche scientifique. Leur petite taille, leur cycle de vie court et leur structure génétique simple en font des organismes idéaux pour l'étude de mécanismes biologiques complexes (Cutuli *et al.*, 2019 ; Demir & Turna Demir, 2023). La mouche des fruits, *Drosophila melanogaster* ou les larves de *Galleria mellonella* sont de plus en plus étudiées dans ce sens pour comprendre certains processus biologiques notamment les interactions hôte/pathogènes et la réponse au traitement (Seok *et al.*, 2013). Dans un contexte où les exigences éthiques autour de l'expérimentation animale sont devenues de plus en plus strictes, l'utilisation de ces modèles alternatifs, en accord avec le principe des 3R (Réduction, Raffinement, Remplacement), jouerait un rôle clé pour accélérer la découverte de nouveaux médicaments (Tannenbaum & Bennett, 2015 ; Ménard *et al.*, 2021).

Loin d'être une innovation, l'utilisation thérapeutique des insectes s'enracine dans des pratiques anciennes, qui motivent et inspirent les sciences biomédicales contemporaines. Elle remonte à l'Antiquité, comme en témoigne le Papyrus Ebers du XVI^e siècle avant notre ère, qui décrit des remèdes à base d'insectes et d'arachnides (Weiss, 1947). Cette tradition est également documentée dans le livre "Insectotheologie" de 1699, illustrant l'usage thérapeutique des insectes à travers les âges (Berenbaum, 1995). Historiquement, de nombreuses cultures ont exploité les propriétés curatives des insectes pour traiter diverses maladies. Par exemple, les vers à soie (*Bombyx mori*) sont utilisés depuis des millénaires dans la médecine traditionnelle chinoise, et les larves de certaines mouches ont été employées depuis longtemps pour soigner les plaies infectées (Zimian *et al.*, 1997).

L'usage préventif et thérapeutique des insectes, appelé « entomothérapie », implique plus de 1 000 espèces à travers le monde. Cette pratique est de plus en plus reconnue pour ses bienfaits médicaux (Costa-Neto, 2005 ; Devi *et al.*, 2023). En Chine, environ 300 espèces d'insectes médicaux sont recensées, parmi 5700 autres ingrédients médicaux d'origine végétale, animale ou minérale (Feng *et al.*, 2009 ; Meyer-Rochow, 2017). Des utilisations similaires sont également observées en Inde, au Japon, en Corée, en Espagne, en Turquie, en Afrique et en Amérique du Sud (Meyer-Rochow, 2017 ; Mozhui *et al.*, 2021 ; Choudhary *et al.*, 2022 ; Devi *et al.*, 2023).

En Afrique de l'Ouest, bien que la recherche sur l'entomothérapie soit encore limitée, certaines études ont documenté son usage. Au Nigéria, une étude de 2007 a répertorié 17 insectes utilisés dans la médecine traditionnelle, dont 9 pour des rituels magiques (Lawal & Banjo, 2007).

Introduction

Au Bénin, une enquête initiale à Ouidah a identifié 13 espèces d'insectes traitant 23 affections (Hedanou, 2017), tandis qu'une étude ultérieure a répertorié 64,7 % d'insectes parmi 38 invertébrés utilisés pour traiter 50 maladies (Loko *et al.*, 2019). Au Burkina Faso, une enquête auprès de 60 praticiens de la médecine traditionnelle a révélé l'utilisation de 19 espèces d'insectes pour traiter 78 maladies et symptômes (Ouango *et al.*, 2022).

En Côte d'Ivoire, les insectes sont largement utilisés à des fins alimentaires, avec 11 espèces recensées (Niaba *et al.*, 2012 ; Ehounou *et al.*, 2018 ; Boko *et al.*, 2020). Leur valeur nutritive et leur digestibilité sont bien reconnues, mais ils pourraient également offrir un potentiel médicinal encore sous-exploré. De plus, il n'existe pas d'étude approfondie sur l'utilisation médicinale traditionnelle des insectes dans les cultures ivoiriennes, ni sur les propriétés pharmacologiques des substances qui pourraient en être extraites. L'absence de documentation et d'étude spécifique sur l'entomothérapie dans ce contexte culturel soulève des préoccupations sur la préservation et l'exploitation future de ces pratiques traditionnelles. Quelles sont les pratiques actuelles d'entomothérapie en Côte d'Ivoire ? Quels types d'insectes sont utilisés à des fins médicinales et pour quelles pathologies ? Quel est le potentiel pharmacologique des espèces d'insectes utilisées traditionnellement en Côte d'Ivoire ? Comment ces pratiques peuvent-elles être intégrées dans la médecine moderne pour valoriser le savoir traditionnel tout en répondant aux défis de la santé contemporaine ? Il devenait urgent de recenser les méthodes traditionnelles de soins faisant appel à l'entomofaune, afin d'en préserver la richesse thérapeutique. Sans cette démarche, ces savoirs risquaient de tomber dans l'oubli et de disparaître avec les générations. Dans ce contexte, cette étude vise à documenter les connaissances ancestrales et les ressources associées aux pratiques entomothérapiques en Côte d'Ivoire, et à explorer le potentiel des insectes en tant qu'antibactériens et modèles d'infection.

De façon spécifique, il s'est agi de :

- évaluer l'utilisation actuelle des insectes à des fins médicinales dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa ;
- étudier l'activité antibactérienne de l'hémolymph de deux espèces de Coléoptères (*Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*) comestibles ;
- établir un modèle d'infection bactérienne chez *Drosophila melanogaster* pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés antibactériens.

Outre l'introduction, la conclusion et les références bibliographiques, ce manuscrit est structuré en trois parties principales. La première partie est une synthèse bibliographique qui présente

Introduction

une vue d'ensemble des pratiques entomothérapeutiques à travers le monde, et souligne l'intérêt médical des insectes par le biais de leurs substances bioactives et leur avantage en tant que modèles animaux *in vivo*. La seconde partie détaille le matériel et les méthodes utilisés pour mener cette étude tandis que la troisième partie est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus.

Première partie : Généralités

1.1. Insectes : diversité, rôles écologiques et utilisations humaines

1.1.1. Définition

Les insectes sont apparus il y a environ 420 millions d'années, au cours de l'ère dévonienne (Grimaldi, 2010 ; Engel *et al.*, 2013). Ce sont des organismes caractérisés par un corps segmenté en trois parties distinctes à savoir, la tête, le thorax et l'abdomen (Headrick & Gordh, 2009). Ils possèdent généralement trois paires de pattes articulées, une paire d'antennes, et, chez la plupart des espèces, une ou deux paires d'ailes (Packard, 2023). Présents dans presque tous les écosystèmes terrestres, ils constituent le groupe d'organismes le plus diversifié de la biosphère.

1.1.2. Diversité et classification des insectes

Les insectes appartiennent à l'embranchement des arthropodes, qui est divisé en quatre sous-phylums : Crustacea, Myriapoda, Chelicerata et Hexapoda (Figure 1a). La classe Insecta, intégrée au sous-phylum des Hexapoda, comprend environ 30 ordres, parmi lesquels les plus diversifiés sont les Coléoptères, Lépidoptères, Diptères, Hyménoptères, Hémiptères et Orthoptères (Figure 1b). A ce jour, environ 1 million d'espèces d'insectes ont été formellement identifiées, représentant environ 55 % de la diversité spécifique et 85 % de la biodiversité animale (Motte-Florac, 2012). Des estimations plus récentes, réalisées à l'aide d'outils statistiques plus précis, suggèrent qu'il existerait actuellement environ 5,5 millions d'espèces d'insectes, dont 1,5 million de coléoptères (Stork, 2018). Avec 1 million d'espèces d'insectes déjà décrites, cela implique que 80 % restent encore à découvrir, en particulier dans des groupes peu étudiés comme certains coléoptères, diptères et hyménoptères (Stork, 2018). Bien que les analyses ADN aient permis d'identifier de nouvelles espèces, les études menées sur des faunes bien documentées montrent que seulement 1 à 2 % des espèces sont véritablement cryptiques, c'est-à-dire morphologiquement indiscernables mais génétiquement distinctes (Tihelka *et al.*, 2021 ; Li & Wiens, 2023).

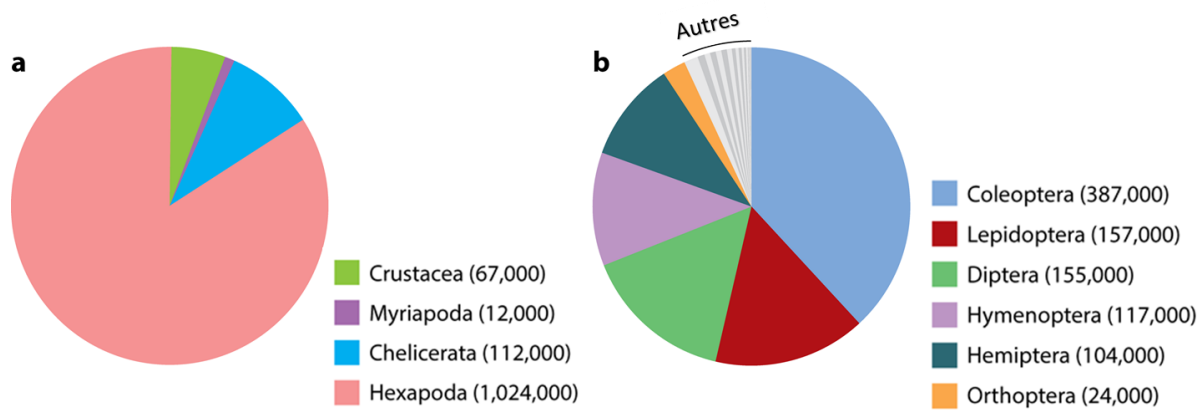


Figure 1: Diversité et classification des espèces d'arthropodes identifiées (Zhang, 2011)

Proportions relatives des espèces nommées dans (a) les quatre sous-phylums constituant les Arthropodes et (b) les ordres des Insectes, avec les nombres entre parenthèses.

1.1.3. Rôles écologiques des insectes

L'importance écologique des insectes découle de leurs multiples rôles et interactions au sein des écosystèmes (Kalita & Das, 2023). L'un des services écologiques les plus importants fournis par les insectes est la pollinisation. En effet, de nombreuses plantes à fleurs dépendent d'insectes tels que les abeilles, les papillons ou les coléoptères pour transporter le pollen d'une fleur à l'autre, ce qui permet la fécondation et la production de graines et de fruits (Ollerton, 2017 ; Jankielsohn, 2018). On estime qu'environ 80 % des plantes à fleurs dépendent des pollinisateurs animaux, parmi lesquels les insectes figurent comme les plus efficaces et les plus largement répandus. En plus de leur rôle central dans la pollinisation, les insectes assurent d'autres fonctions écologiques toutes aussi fondamentales. Ils contribuent notamment au recyclage de la matière organique en facilitant la décomposition des déchets végétaux et animaux, ce qui permet de restituer les nutriments au sol et de maintenir la fertilité des écosystèmes (Bennett, 2010 ; Verma *et al.*, 2023). Des ordres d'insectes telles que les Coléoptères, les Diptères et les Hyménoptères se nourrissent de matière végétale et animale morte, accélérant ainsi la décomposition et le recyclage des nutriments essentiels (Shah & Shah, 2022). Ils favorisent ainsi la croissance des plantes. De plus, les larves d'insectes, comme les asticots, consomment la matière en décomposition, améliorant encore le processus de décomposition (Casallas *et al.*, 2024). Au-delà de ces fonctions, les insectes jouent aussi un rôle clé dans les réseaux trophiques. Ils occupent divers niveaux trophiques dans les chaînes alimentaires et jouent un rôle crucial dans l'équilibre et le flux d'énergie (Verma *et al.*, 2023). Ils agissent en tant que consommateurs primaires et proies pour des consommateurs de niveau

supérieur tels que les oiseaux, les reptiles, les amphibiens et les mammifères (Price *et al.*, 2011). Les animaux insectivores dépendent largement des insectes pour leur subsistance, et leur présence contribue à la régulation des populations d'insectes.

1.1.4. Utilisation des insectes par l'homme

L'utilisation des insectes par l'homme est très variée et remonte à des millénaires. Les insectes ont toujours joué un rôle clé dans de nombreux domaines, tant dans les sociétés traditionnelles que modernes. Leur rôle écologique fondamental en fait des acteurs clés en agriculture où ils interviennent comme pollinisateurs, agents de lutte biologique contre les ravageurs et contributeurs à la biorécupération des sols (Casallas *et al.*, 2024). Cependant, c'est dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique que l'intérêt pour les insectes connaît une expansion significative, portée par la recherche et les enjeux de durabilité (van Huis *et al.*, 2015 ; Devi *et al.*, 2023). L'entomophagie ou la consommation d'insectes, est non seulement une tradition alimentaire dans certains pays, mais elle est également considérée comme une alternative nutritive et durable face aux défis liés à la production alimentaire mondiale (van Huis *et al.*, 2013). A ce jour, plus de 2141 espèces d'insectes sont consommées par environ 2 milliards de personnes dans 113 pays, principalement en Afrique, en Asie, en Australie et en Amérique latine (van Itterbeeck & Pelozuelo, 2022). Riches en protéines, acides gras essentiels, vitamines et minéraux, ils offrent une alternative durable aux sources traditionnelles de protéines animales (Rumpold & Schlüter, 2013 ; Liceaga *et al.*, 2022). Mais les insectes ne se contentent plus d'être une simple alternative alimentaire. Leur potentiel thérapeutique, longtemps sous-estimé, ouvre aujourd'hui des perspectives prometteuses pour la médecine moderne (Devi *et al.*, 2023).

1.2. Insectes en médecine : usages traditionnels, activités biologiques et composés bioactifs

1.2.1. Aperçu historique de l'utilisation des insectes dans différentes cultures

Les insectes ont été utilisés à des fins thérapeutiques et médicinales dans diverses cultures à travers l'histoire. L'utilisation préventive ou thérapeutique des insectes est appelée « entomothérapie », et les insectes concernés sont désignés sous le nom d'« insectes médicinaux » (Costa-Neto, 2005 ; Devi *et al.*, 2023). Actuellement, le nombre d'espèces d'insectes utilisées à des fins thérapeutiques est estimé à plus de 1 000 dans diverses régions du monde. Les sections ci-dessous fournissent un aperçu détaillé de l'utilisation des insectes dans différentes traditions médicales à travers le monde.

1.2.1.1. Civilisations anciennes

1.2.1.1.1. Egypte ancienne

Le Papyrus Ebers, l'un des documents médicaux les plus anciens et les plus complets connus de l'Égypte antique mentionne l'utilisation de produits apicoles tels que le miel et la propolis pour leurs propriétés antiseptiques et cicatrisantes (Weiss, 1947). La propolis était utilisée dans le processus d'embaumement des cadavres (Costa-Neto, 2005). Ses propriétés antimicrobiennes et antifongiques aidaient à préserver les corps en empêchant la décomposition causée par les micro-organismes. La propolis, en combinaison avec d'autres substances comme les huiles et les résines, jouait un rôle crucial dans la momification, permettant de maintenir les corps en bon état pour l'au-delà. Une des sections du Papyrus Ebers qui traite des infections oculaires décrit un remède où les mouches sont séchées, réduites en poudre, et mélangées avec d'autres ingrédients pour créer une pommade ou un collyre destiné à traiter les infections des yeux (Nunn, 2002). Voici une citation possible du texte : "*Pour traiter les infections des yeux, prenez des mouches séchées, réduisez-les en poudre et mélangez-les avec du miel. Appliquez cette préparation sur les yeux.*" (Paraphrasé du Papyrus Ebers). Le livre "Insecto-theology" explore également les croyances et les utilisations des insectes dans la civilisation ancienne de l'Égypte antique. Il met en lumière le rôle particulier des scarabées, insectes dotés de significations symboliques et religieuses profondes au sein de la culture égyptienne. Ces coléoptères étaient vénérés en raison de leur association étroite avec le dieu du soleil, Rê, et leur lien avec les concepts de régénération et de protection (Costa-Neto, 2005).

1.2.1.1.2. Antiquité gréco-romaine

La médecine grecque antique initialement imprégnée de pratiques mythiques et religieuses, a évolué significativement à partir de la seconde moitié du V^e siècle avant Jésus-Christ. Sous l'influence de médecins comme Hippocrate, qui ont introduit une approche basée sur l'observation des symptômes et des effets des traitements (Byl, 2011). Leur savoir a été consigné dans le Corpus Hippocratique, marquant les premières descriptions des effets thérapeutiques de substances produites par des insectes telles que le miel, reconnu pour ses propriétés antiseptiques et cicatrisantes dans le traitement des plaies (Werner & Laccourreye, 2011 ; Motte-Florac, 2012). Hippocrate recommandait fréquemment l'utilisation de pansements au miel pour accélérer la guérison des plaies, soulignant son efficacité à maintenir la propreté de la plaie et à apaiser la douleur (paraphrasé du Corpus Hippocratique) (Motte-Florac, 2012).

A partir de la seconde moitié du II^e siècle avant Jésus-Christ, les médecins grecs ont étendu leur influence sur la pratique médicale dans l'Empire romain, transmettant leur savoir aux

Romains. Cette transmission de connaissances a été vaste et diversifiée au fil des siècles, comme en témoigne l'œuvre de Pline le Naturaliste au 1er siècle, "Histoire naturelle". Compilant vingt mille observations à partir de deux mille volumes, Pline y détaille l'utilisation thérapeutique d'une gamme variée d'insectes (Motte-Florac, 2012). Parmi ces insectes, la cantharide, connue sous le nom de mouche espagnole (*Lytta vesicatoria*), occupait une place notable. Utilisée principalement pour ses propriétés vésicantes, elle était employée pour traiter diverses affections cutanées comme les verrues et les callosités. De plus, elle stimulait la circulation sanguine et favorisait la guérison des plaies et des ulcères, tout en étant réputée comme aphrodisiaque (Smakosz, 2022). Pline mentionne également d'autres insectes utilisés en médecine, tels que la blatte, le bupreste, la chenille des pins, la cigale, le grillon, le criquet, la mouche, l'abeille, la guêpe (*Pseudosphex*), la punaise, chacun étant décrit pour ses propriétés thérapeutiques spécifiques et les méthodes de préparation des remèdes associés (Motte-Florac, 2012).

1.2.1.2. Traditions asiatiques

1.2.1.2.1. Médecine traditionnelle chinoise (MTC)

La médecine traditionnelle chinoise est renommée pour ses pratiques ancestrales, notamment l'utilisation médicinale des insectes qui remonte à des millénaires (Siddiqui *et al.*, 2023). Les abeilles (*Apis mellifera* L.) ont été documentées pour la première fois durant la dynastie Xizho (1100-771 av. J.-C.). Le "Mingyi Bielu" de Tao Hongjing, pendant les dynasties du Sud et du Nord (420-589 ap. J.-C.), a étendu le "Shennong Bencaojing" en incluant neuf espèces supplémentaires d'insectes médicinaux. Dans son ouvrage "Compendium of Materia Medica" (1587), Li Shizhen a répertorié soixante-treize insectes différents utilisés à des fins médicales. Plus tard, Zhao Xuemin (dynastie Qing, 1616-1911 ap. J.-C.) a inclus cent cinq espèces d'insectes dans une version enrichie du "Compendium of Materia Medica" (Siddiqui *et al.*, 2023). Ces insectes ont servi de remèdes à une variété d'affections. Depuis 3000 ans, le ver à soie (*Bombyx mori*) et les larves de certaines mouches sont utilisés pour la cicatrisation des blessures (Zimian *et al.*, 1997). Ces chenilles sont souvent séchées et broyées pour être utilisées sous forme de poudre ou d'extraits. De même, les fourmis noires de l'espèce *Polyrhachis vicina* sont prisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et toniques. Elles sont consommées entières ou sous forme d'extraits pour traiter les douleurs articulaires, les maux de dos et d'autres affections (Kaur *et al.*, 2023).

Actuellement, environ 300 espèces d'insectes, réparties en 14 ordres, 63 familles et 70 genres, sont employées dans près de 1700 remèdes différents en médecine traditionnelle chinoise (Feng

et al., 2009). Yi *et al.* (2010) ont recensé 22 espèces d'insectes utilisées à des fins thérapeutiques, tandis que Zimian *et al.* (1997) ont rapporté 60 arthropodes terrestres médicinaux, dont 57 insectes. Parmi ceux-ci, 24 espèces possèdent des propriétés anticancéreuses. Jiang (1990) a également répertorié 77 insectes médicinaux pour le traitement des tumeurs ou du cancer dans le système de médecine traditionnelle chinoise. Les insectes les plus couramment utilisés pour leurs propriétés anticancéreuses et antitumorales incluent les fourmis, les abeilles, les larves, les mouches domestiques, les espèces de *Mylabris*, les vers à soie et les guêpes (Feng *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2023). Ces pratiques montrent que les insectes ont longtemps été une partie intégrante de la pharmacopée chinoise, offrant des traitements naturels pour une variété de maux.

1.2.1.2.2. Médecine ayurvédique en Inde

En Inde, la médecine ayurvédique possède une longue tradition d'utilisation des insectes pour leurs propriétés médicinales. De nombreux chercheurs ont documenté l'usage d'insectes et de leurs dérivés dans diverses tribus. Mozhui *et al.* (2021) ont répertorié 50 espèces d'insectes médicinaux chez les Naga du Nagaland, dans le nord-est de l'Inde, pour le traitement de 50 pathologies. Les affections les plus fréquemment citées incluent la toux, la gastrite, l'arthrite rhumatoïde, les maux d'estomac et la cicatrisation des plaies. Dans la région de Semkhor, Kemprai *et al.* (2022) ont identifié cinquante espèces d'insectes médicinaux appartenant à 21 familles et 9 ordres, utilisées pour le traitement d'au moins 53 affections humaines. Ces insectes jouent un rôle crucial dans la médecine traditionnelle locale et montrent la richesse de la biodiversité entomologique utilisée à des fins thérapeutiques.

Par ailleurs, au Bangladesh, neuf espèces d'insectes ont été utilisées par les communautés ethniques pour traiter des affections telles que la toux, la fièvre, les émissions nocturnes, les brûlures et la gastro-entérite (Dev *et al.*, 2020). Dans la région administrative de Dehradun, 13 espèces d'insectes médicinaux ont été rapportés, démontrant l'importance continue des insectes dans les pratiques de guérison traditionnelles (Jabbar *et al.*, 2023).

1.2.1.3. Amérique latine

1.2.1.3.1. Médecine traditionnelle des peuples autochtones

Les peuples indigènes d'Amérique latine ont utilisé divers insectes pour leurs propriétés médicinales depuis plus d'un millénaire. Les Mayas, par exemple, auraient utilisé des asticots à des fins thérapeutiques il y a mille ans (Costa-Neto, 2002). Cette méthode, connue sous le nom de débridement larval, est basée sur le fait que les asticots se nourrissent de tissus

nécrotiques tout en laissant les tissus sains intacts, accélérant ainsi le processus de guérison. Les sauterelles sont connues pour leurs propriétés diurétiques, utilisées dans le traitement des maladies rénales. Elles aident également à réduire les gonflements et à soulager les douleurs associées aux troubles intestinaux lorsqu'elles sont consommées.

Il a été rapporté que les populations autochtones d'Amérique centrale utilisaient les fourmis comme instruments médicaux. En particulier, les soldats de la fourmi légionnaire étaient récoltés et employés comme sutures vivantes (Choudhary *et al.*, 2022). En agitant une fourmi et en plaçant ses mandibules sur les bords de la plaie, celle-ci mordait et on retirait ensuite le thorax et l'abdomen, laissant la tête maintenir les bords de la plaie ensemble (Sherman *et al.*, 2000). Les sécrétions des glandes salivaires de la fourmi étaient réputées pour leurs propriétés antibiotiques (de Conconi & Moreno, 1988). Le venin de la fourmi moissonneuse rouge était également employé pour traiter le rhumatisme, l'arthrite et la poliomyélite en déclenchant une réaction immunologique par sa piqure.

1.2.1.3.2. Utilisation contemporaine

Dans certaines régions rurales, les insectes continuent d'être intégrés aux remèdes traditionnels, témoignant d'un savoir ancestral qui perdure. Costa-Neto (2002) a rapporté que l'utilisation des insectes comme remède a été signalé dans 13 différents Etats du Brésil depuis l'époque coloniale. Dans l'État de Bahia dans le Nord-Est, au moins 50 espèces d'insectes seraient utilisés à des fins médicinales pour traiter une variété de maladies (Costa-Neto, 2003). En Amérique centrale et du Sud, les pupes du ver à soie (*Bombyx mori*) continuent d'être utilisées dans la médecine populaire pour traiter des troubles respiratoires et circulatoires. Des extraits de *Bombyx mori* sont également incorporés dans certains compléments alimentaires visant à améliorer la santé générale. Par exemple, les Indiens Pankararé et les populations rurales en général dissolvent les nids de guêpes en boue (Sphecidae) dans de l'eau et appliquent ce mélange pour traiter les oreillons. En outre, la poudre de sauterelle grillée ou séchée est utilisée pour préparer un thé pour traiter l'asthme et l'hépatite (Costa-Neto, 2002). Le coléoptère ténébrionide *Palembus dermestoides*, introduit au Brésil par des immigrants asiatiques, est utilisé pour traiter l'asthme, l'arthrite, la tuberculose et l'impuissance sexuelle, d'où son surnom "insecte d'amour" (Costa-Neto, 1999).

Ramos-Elorduy (2001) a répertorié 210 espèces d'insectes utilisées dans la médecine traditionnelle mexicaine. Les ordres les plus couramment utilisés sont les Coléoptères, les Hyménoptères, les Orthoptères et les Homoptères. Par exemple, la piqure de la fourmi

Pogonomyrmex sp. est réputée pour guérir les rhumatismes, tandis que *Aegiale hesperiaris* est vantée pour ses propriétés digestives, antirhumatismales et aphrodisiaques (Costa-Neto, 2005). De plus, le venin de la fourmi moissonneuse rouge (*Solenopsis spp.*) est toujours utilisé dans certaines régions rurales du Mexique pour traiter des affections comme le rhumatisme et l'arthrite. Cette méthode repose sur l'induction d'une réaction immunologique par des piqûres contrôlées de fourmis, une pratique ancienne qui persiste dans les traitements contemporains. En outre, le médecin mexicain Crisenzia Rodriguez Nieves utilise les punaises pour traiter les goitres en raison de leur richesse en iode, qui est essentiel pour contrer cette affection causée par une carence en iode. Elle utilise également les sauterelles pour traiter l'anémie, la cire d'abeille pour les rhumatismes, et traite les kystes oculaires avec des mouches (Costa-Neto, 2005).

1.2.1.4. Cultures africaines

L'utilisation des insectes en Afrique est profondément enracinée dans l'histoire et la culture du continent. Grâce à leur disponibilité abondante et à leur haute valeur nutritionnelle, les insectes sont considérés non seulement comme une ressource précieuse pour l'alimentation, mais ils occupent également une place importante dans la pharmacopée traditionnelle africaine (Kelemu *et al.*, 2015 ; Hlongwane *et al.*, 2020 ; Djouffa *et al.*, 2021 ; Ishara *et al.*, 2022). Contrairement à la Chine et à l'Inde, l'usage médicinal des insectes en Afrique varie considérablement selon les peuples (Choudhary *et al.*, 2022). Par exemple, à travers toute l'Afrique, le miel est reconnu comme un ingrédient essentiel dans les préparations médicamenteuses traditionnelles et est fréquemment prescrit par les guérisseurs pour diverses utilisations (van Huis *et al.*, 2013).

Les espèces de sauterelles sont couramment consommées dans de nombreuses sociétés africaines, chacune ayant des utilisations médicinales spécifiques. En Zambie, elles sont utilisées pour soigner les caries dentaires et les douleurs mammaires. Au Zimbabwe, elles servent à prévenir l'énurésie nocturne chez les enfants. A Madagascar, elles sont employées pour traiter diverses affections telles que les maux d'estomac, les maladies vénériennes, les problèmes de foie et l'eczéma infantile (Mbata, 1999 ; van Huis *et al.*, 2022). Cette consommation est fondée sur la croyance que les sauterelles se nourrissent de végétaux contenant des substances actives bénéfiques.

Dans le sud-ouest du Nigéria, Fasoranti & Ajiboye (1993) souligne que le contenu intestinal des grillons-taupes est appliqué sur les pieds infectés comme traitement. Au Sénégal et en Zambie, la poudre du grillon-taupe grillé est utilisée pour traiter respectivement les douleurs

thoraciques et la toux (Mbata, 1999). Cette espèce d'insecte est également utilisée au Bénin par les Nagot pour deux usages : l'insecte grillé est mélangé à de l'huile de palme et consommé oralement pour améliorer l'expression chez les enfants ayant des difficultés à parler. Il est également appliqué localement et administré en décoction par voie orale contre les morsures de serpent et les piquûres de scorpion (Loko *et al.*, 2019).

Ces dernières années, les études d'ethno-entomologie ont permis de documenter une riche tradition d'utilisation des insectes à des fins thérapeutiques grâce à des enquêtes de terrain approfondies dans certaines tribus de la région ouest-africaine. Cette recherche a mis en lumière l'importance culturelle et médicale profonde de ces pratiques dans diverses cultures africaines. Par exemple, une étude menée par Lawal & Banjo (2007) dans le sud-ouest du Nigéria a identifié 17 espèces d'insectes utilisées par les Yorubas pour traiter une multitude de maladies humaines, notamment les maladies infantiles, les plaies, les fractures osseuses, les troubles oculaires et les problèmes de libido chez les hommes. Au Bénin, une étude initiale a enquêté sur 150 individus à Ouidah, identifiant 13 espèces d'insectes médicinaux utilisées pour traiter 23 affections (Hedanou, 2017). Deux ans plus tard, une autre étude menée auprès de 145 informateurs du département du Plateau, dans le sud-est du Bénin, a documenté 38 espèces d'invertébrés, dont 64,7 % étaient des insectes utilisés pour traiter 50 maladies (Loko *et al.*, 2019). Au Burkina Faso, 60 praticiens traditionnels ont été interviewés dans cinq localités des zones soudanaises et soudano-sahéliennes, identifiant 19 espèces d'insectes utilisées comme remèdes pour 78 maladies et symptômes (Ouango *et al.*, 2022).

Les insectes sont non seulement perçus comme des ressources alimentaires et médicinales, mais aussi comme des éléments culturels profondément enracinés, enrichissant le tissu social et économique des sociétés africaines. La valorisation de ces pratiques traditionnelles nécessite une compréhension approfondie de leur contexte écologique, social et historique, ainsi que des efforts pour préserver la biodiversité associée et promouvoir leur utilisation durable et respectueuse de l'environnement.

1.2.1.5. Problématique sur l'ethno-entomologie en Côte d'Ivoire

Des études menées en Côte d'Ivoire ont révélé une utilisation significative des insectes à des fins alimentaires, avec 11 espèces consommées par plus de 60 % de la population (Niaba *et al.*, 2012 ; Ehounou *et al.*, 2018 ; Boko *et al.*, 2020). Ces insectes sont prisés non seulement pour leurs bonnes caractéristiques sensorielles et nutritionnelles, mais aussi pour des considérations culturelles et de santé (Ehounou *et al.*, 2018 ; Boko & Angaman, 2021). Cependant, aucune de

ces études n'accorde une attention particulière à l'usage des insectes comme ingrédients dans les préparations médicamenteuses en ethnopharmacopée ivoirienne. Alors que l'entomothérapie est une pratique bien documentée et établie dans les pays de la sous-région, il existe un manque notable de documentation sur cette pratique en Côte d'Ivoire. Ce déficit de données empêche une compréhension complète de l'étendue et de la diversité des pratiques entomothérapeutiques dans cette région spécifique. En l'absence d'études systématiques, de nombreuses questions restent sans réponse : Quelles espèces d'insectes sont utilisées en Côte d'Ivoire ? Pour quelles maladies sont-elles employées ? Comment ces pratiques diffèrent-elles de celles observées dans les pays voisins ? Quels sont les savoirs ancestraux en matière d'entomothérapie qui risquent de disparaître sans documentation appropriée ? L'absence de données empiriques limite non seulement la reconnaissance de ces pratiques traditionnelles, mais entrave également leur intégration potentielle dans les systèmes de santé modernes et la conservation des savoirs indigènes. Ainsi, il est crucial de combler cette lacune pour valoriser les connaissances traditionnelles et explorer les applications possibles de l'entomothérapie dans le contexte médical contemporain.

1.2.2. Fonctions biologiques et ingrédients actifs des insectes

Ces dernières années, l'essor de l'entomophagie a suscité un intérêt croissant pour les insectes intégrés dans l'alimentation humaine, ce qui a conduit à de nombreux travaux scientifiques sur leur sécurité et leur valeur nutritionnelle. Ces études ont non seulement mis en évidence la richesse nutritionnelle des insectes, mais ont également révélé que leurs composés bioactifs offrent une large gamme d'effets fonctionnels bénéfiques pour la santé humaine (Figure 2). D'une manière générale, les effets biologiques des insectes incluent la suppression des tumeurs, la modulation du système immunitaire, l'activité antibactérienne, ainsi que des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Lange & Nakamura, 2021 ; Aguilar-Toalá *et al.*, 2022 ; Nowakowski *et al.*, 2022). De plus, les insectes peuvent contribuer à la régulation de la glycémie et des lipides, à la réduction de la pression artérielle, à l'équilibre de la flore intestinale, et à la protection du système cardiovasculaire (Lee *et al.*, 2021).

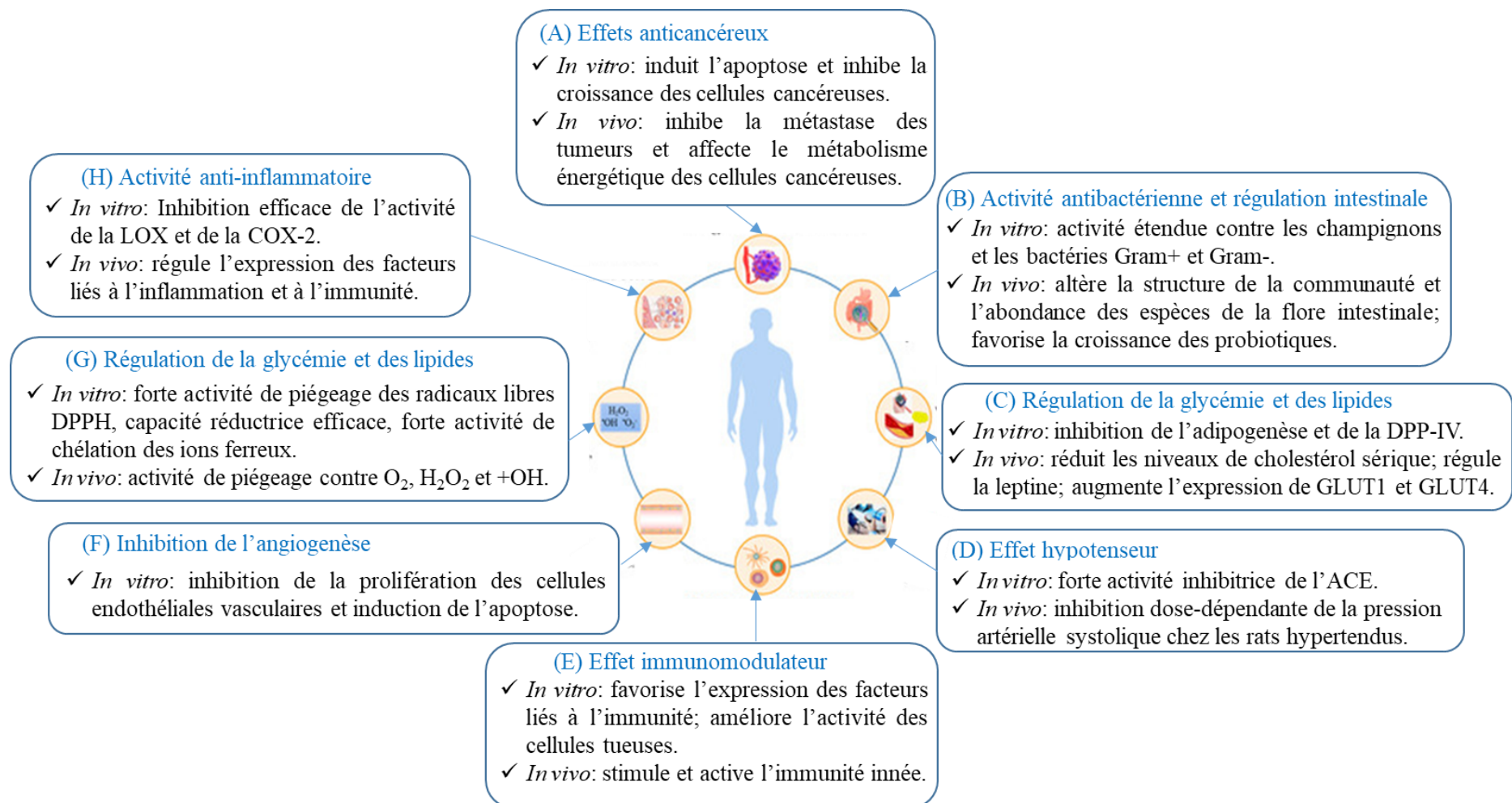


Figure 2 : Fonctions biologiques des substances actives issues d'insectes et leurs mécanismes d'action potentiels (Zhou *et al.*, 2022)

1.2.2.1. Effets antitumoraux

L'activité antitumorale est l'un des effets les plus marquants des substances bioactives dérivées des insectes. Elle suscite un intérêt particulier chez les chercheurs (Qian *et al.*, 2022). De nombreux insectes ainsi que certains de leurs produits dérivés tels que le miel et les venins d'abeille ou de fourmis ont été annoncés comme étant de potentiels sources de composés anticancéreux (Park *et al.*, 2011 ; Al-Tamimi *et al.*, 2018 ; Kwon *et al.*, 2022). Parmi les composés anticancéreux issus d'insectes, on retrouve les protéines spécifiques, les peptides bioactifs, les oligo-éléments, les vitamines, ainsi que des substances comme le chitosane qui ont démontré un potentiel significatif dans la lutte contre le cancer (Tonk *et al.*, 2016 ; Zhou *et al.*, 2022). Des recherches approfondies, menées tant *in vivo* qu'*in vitro*, ont révélé que ces composants actifs sont capables de freiner la progression de divers cancers, incluant ceux du foie, de l'estomac, du côlon, des poumons, du sein, de la peau, et de l'œsophage (Xu *et al.*, 2020 ; Zhou *et al.*, 2023). Ce qui rend ces composés encore plus captivants, c'est leur capacité à cibler sélectivement les cellules cancéreuses, tout en épargnant les cellules saines. Par exemple, la cécropine D, un peptide antimicrobien isolé du papillon *Bombyx mori*, présente des caractéristiques pro-apoptotiques et cible le cancer de l'œsophage en déstabilisant les membranes mitochondriales (Ramos-Martín *et al.*, 2022). D'autres peptides tels que les défensines d'insectes peuvent agir en synergie avec la molécule Eiger, une protéine de type TNF trouvée chez la drosophile, pour induire la mort des cellules tumorales (Zhou *et al.*, 2024). Cette interaction ciblée renforce l'idée que les insectes représentent une ressource précieuse pour la découverte de nouvelles thérapies anticancéreuses. Elle ouvre ainsi la voie à des traitements plus efficaces et potentiellement moins toxiques.

1.2.2.2. Potentiel antioxydant

L'activité antioxydante est cruciale pour la santé humaine car elle joue un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Lorsque les radicaux libres s'accumulent en excès, ils peuvent provoquer un stress oxydatif, un état déséquilibré où les défenses antioxydantes naturelles du corps sont dépassées. Ce stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreuses maladies chroniques notamment les maladies cardiovasculaires, certains types de cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer ainsi que le vieillissement prématuré (Rahal *et al.*, 2014). Les insectes renferment plusieurs types de composés ayant des propriétés antioxydantes. Parmi ceux-ci, on retrouve des flavonoïdes, des polyphénols, des caroténoïdes, des vitamines (vitamine E et C), ainsi que des enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase. Par

exemple, l'extrait aqueux de chitosane soluble de *Clanis bilineata* montre de fortes propriétés antioxydantes et anti-âge chez la souris. Il augmente les activités des enzymes antioxydantes et réduit les marqueurs de stress oxydatif, ce qui suggère son potentiel en tant que complément alimentaire pour ralentir le vieillissement (Wu *et al.*, 2017). Ghosh *et al.* (2020) ont rapporté que les polyphénols issus des sous-produits du vers à soie présentent une capacité antioxydante significative, mesurée *in vitro* par les tests DPPH et ABTS. Zielińska *et al.* (2017) ont signalé d'excellentes activités antioxydantes et anti-inflammatoires des hydrolysats et fractions peptidiques issus d'insectes comestibles. Les composés purifiés sont efficaces pour prévenir les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif grâce à plusieurs mécanismes : ils piègent les radicaux libres, chélatent les ions, possèdent un pouvoir réducteur, et inhibent les enzymes lipoxigénase et cyclooxygénase-2.

1.2.2.3. Activité anti-inflammatoire

La réponse inflammatoire est un mécanisme de défense du corps face à des perturbations causées par des facteurs externes ou internes indésirables. Cette réponse joue un rôle crucial dans divers processus biologiques au sein de l'organisme (Medzhitov, 2021). Certains insectes comestibles contiennent des composés majoritairement constitués de protéines aux propriétés anti-inflammatoires dont la fonction est souvent liée à d'autres activités biologiques bénéfiques (Dutta *et al.*, 2019). Les peptides hydrolysés issus du traitement thermique de trois insectes comestibles notamment *Gryllodes sigillatus*, *Tenebrio molitor*, et *Schistocerca gregaria* ont également été examinés pour leur propriétés anti-inflammatoires (Zielińska *et al.*, 2017). Les peptides de *Gryllodes sigillatus* particulièrement affichent des inhibitions significatives de la lipoxigénase (LOX) et de la cyclooxygénase-2 (COX-2), des enzymes clé dans la production de médiateurs inflammatoires et la formation de prostaglandines impliquées dans l'inflammation et la douleur. De même, les fractions peptidiques de *Tenebrio molitor*, *Schistocerca gregaria* et *Gryllodes sigillatus* ont démontré une efficacité contre la LOX et la COX-2, les peptides de *Schistocerca gregaria* étant les plus efficaces. Les traitements thermiques ont renforcé l'activité anti-inflammatoire de ces peptides. En outre, les hydrolysats de *Bombyx mori* ont montré une activité anti-inflammatoire significative dans des modèles de macrophages, tandis que le venin de *Nasonia vitripennis* et l'hémolymphe de *Lycorma delicatula* ont aussi montré des effets anti-inflammatoires *in vitro* (Yoon *et al.*, 2019). Des études *in vivo* réalisés sur des rats en arthrites chroniques ont également révélé que les glycosaminoglycanes des criquets (*Gryllus bimaculatus*) et les extraits protéiques de la mouche domestique (*Musca domestica*) possédaient des propriétés anti-inflammatoires comparables à

celles des médicaments anti-inflammatoires (Ahn *et al.*, 2014). En Chine, la fourmi noire comestible, *Polyrhachis dives* est réputée pour ses propriétés protectrices et anti-inflammatoires. A partir de cette fourmi, treize composés azotés non peptidiques ont été extraits par une méthode d'extraction à l'éthanol suivie d'une séparation chromatographique. Les recherches biologiques ont révélé que plusieurs de ces composés possédaient des activités anti-inflammatoires et immunosuppressives notables (Zhou *et al.*, 2022). Ces résultats soulignent le potentiel des insectes comestibles comme source de composés bioactifs pour le développement de traitements contre l'inflammation, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour comprendre pleinement leur sécurité et leur efficacité.

1.2.2.4. Effets immunomodulateurs

L'immunomodulation fait référence à la capacité d'une substance à modifier la réponse du système immunitaire, soit en la renforçant, soit en la diminuant. Cette fonction est cruciale dans le traitement des maladies auto-immunes, des allergies et des infections ainsi que dans la gestion de la réponse inflammatoire. Les insectes et leurs extraits contiennent divers composés bioactifs tels que les peptides, les protéines, les glucides et les lipides qui ont montré des capacités à stimuler le système immunitaire. Ces composés peuvent influencer la production de cytokines, l'activité des cellules immunitaires et d'autres aspects de la réponse immunitaire. Ratcliffe *et al.* (2011) ont identifié des polysaccharides bioactifs, diptérose et silicorose, provenant des pupes de mouche du melon (*Bactrocera cucurbitae*) et de soie de chêne japonais (*Anatherea yamamai*) possédant des propriétés immunomodulatrices. Ces polysaccharides acides, composés de neuf monosaccharides, stimulent la production de monoxyde d'azote et l'expression de cytokines pro-inflammatoires et d'interféron gamma via la voie TLR4/NF- κ B dans les macrophages murins RAW264. Récemment, Ali *et al.* (2018) ont purifié un autre polysaccharide silkrose-BM du ver à soie (*Bombyx mori*) qui empêche efficacement la vibriose dans les crevettes pénéaïdes via l'activation de l'immunité. En outre, des peptides dérivés d'insectes comme *Tenebrio molitor* et *Gryllodes sigillatus* ont montré des capacités à moduler l'activité des cellules T et des macrophages, influençant ainsi la réponse inflammatoire et immunitaire (Tang & Dai, 2016 ; Mun *et al.*, 2024). Le chitosane, un polysaccharide extrait des exosquelettes d'insectes, a démontré des propriétés immunomodulatrices en stimulant la production de cytokines anti-inflammatoires et en régulant la réponse des cellules immunitaires (Hoemann & Fong, 2017). Certains composés peuvent activer ou inhiber des cellules immunitaires spécifiques, comme les macrophages ou les lymphocytes T, pour moduler la réponse immunitaire.

1.2.2.5. Activités antimicrobiennes

Grâce à leur incroyable diversité biologique et leur capacité d'adaptation à divers environnements, les insectes produisent une vaste gamme de composés antimicrobiens. Ces substances, souvent synthétisées en tant que mécanismes de défense ou pour la communication, trouvent des applications dans de nombreux domaines allant de la médecine et la pharmacologie à la biotechnologie et à l'agriculture (Mylonakis *et al.*, 2016). Parmi ces composés, on trouve des protéines, des alcaloïdes et des terpènes, de la chitine et ses dérivés, des hormones et des phéromones, ainsi que des lipides, des acides gras et des polysaccharides. Chacun de ces éléments offre des opportunités pour développer des solutions innovantes aux défis actuels. Mais ce sont les peptides antimicrobiens (PAM) qui se démarquent le plus, suscitant un intérêt particulier pour leur efficacité dans la lutte contre les infections résistantes (Yi *et al.*, 2014).

1.2.3. Peptides antimicrobiens d'insectes : une alternative prometteuse aux antibiotiques conventionnels

1.2.3.1. Définition et importance

Les peptides antimicrobiens (PAM) sont de courtes molécules protéiques composées généralement de 12 à 50 acides aminés. Ils constituent une partie intégrante du système immunitaire inné de presque tous les organismes vivants, allant des bactéries aux plantes et aux animaux (Rima *et al.*, 2021 ; Hasnan *et al.*, 2023). Il s'agit principalement de peptides présentant une charge positive (+2 à +9), dominés par des résidus cationiques de lysine et d'arginine, et composés d'environ 50 % de résidus hydrophobes (Patyra & Kwiatek, 2023). Chez les insectes, les PAM jouent un rôle crucial en offrant une protection rapide et efficace contre une large gamme de microorganismes pathogènes, y compris les bactéries, les virus, les champignons et les parasites (Bulet *et al.*, 1999 ; Azmiera *et al.*, 2022). Les insectes, dépourvus d'une immunité adaptative sophistiquée comme celle des vertébrés, dépendent fortement des PAM pour se protéger contre les infections.

1.2.3.2. Production des PAM chez les insectes

Les insectes produisent un large répertoire de PAM, surpassant tout autre groupe taxonomique, avec une variation notable du nombre de PAM selon les individus (Yi *et al.*, 2014 ; Mylonakis *et al.*, 2016). Les quantités et les types de PAM présents chez les insectes varient considérablement d'une espèce à l'autre (Hargraves *et al.*, 2020). A une extrémité du spectre, la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis* est connue pour produire plus de 50 PAM différents (Vilcinskas *et al.*, 2013). Ces peptides lui permettent de se défendre efficacement contre une vaste gamme de pathogènes. A l'autre extrémité, le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum* ne

produit aucun PAM connu efficace contre les bactéries (Gerardo *et al.*, 2010). Le répertoire de PAM d'une espèce est probablement lié à la nature et à l'intensité des menaces pathogènes qu'elle rencontre au cours de son évolution. Les espèces exposées à une plus grande diversité de pathogènes et à des environnements plus pathogènes ont tendance à développer un ensemble plus large et plus varié de PAM. Cette capacité d'adaptation est cruciale pour la survie dans des environnements hostiles (Mylonakis *et al.*, 2016).

En générale, l'expression des gènes codant pour les peptides anti-infectieux varie selon les organismes et peut être locale ou systémique, constitutive ou induite. Dans de nombreux organismes, l'expression des PAM est généralement locale. Par exemple, chez les animaux, les PAM sont produits par les cellules phagocytaires et les épithéliums des systèmes cutané, respiratoire, digestif, urinaire et génital. Chez les plantes, ils sont exprimés dans les graines, les racines et les feuilles. En revanche, les insectes sont uniques car ils produisent des PAM dans le cadre d'une réponse systémique inductible (Andres & Dimarcq, 2007). Lorsqu'ils sont confrontés à une agression microbienne, les insectes sécrètent des PAM dans l'hémolymph, qui représente le sang chez les insectes. Cette sécrétion systémique permet une diffusion rapide des PAM à travers tout l'organisme, assurant une protection étendue contre les infections (Bulet *et al.*, 2004). Ce mécanisme de défense est particulièrement crucial pour ces organismes, qui sont dépourvus de tout système immunitaire adaptatif et ne possèdent ni lymphocytes ni anticorps.

1.2.3.3. Régulation de l'expression des peptides antimicrobiens chez les insectes

Chez les insectes, Hoffmann & Reichhart (2002) ont identifié deux principales voies de signalisation notamment les voies Toll et Immune deficiency (Imd) qui régulent l'expression des gènes des peptides antimicrobiens (PAM) en réponse à une infection (Figure 3). En effet, lorsque les insectes sont exposés à des pathogènes (bactéries, champignons, virus), leur système immunitaire inné est rapidement activé. Cette activation commence souvent par la reconnaissance de motifs moléculaires pathogènes conservés appelés PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns), par des récepteurs spécifiques à la surface des cellules de l'insecte comme les récepteurs de type Toll ou les récepteurs de type Imd (Immune deficiency). Ces récepteurs déclenchent ensuite des voies de signalisation intracellulaires distinctes. La voie Toll par exemple, est principalement activée en présence de peptidoglycanes de type Lys provenant de bactéries Gram-positives tandis que la voie Imd est activée par les peptidoglycanes de type DAP des bactéries Gram-négatives. Une fois activées, ces voies de signalisation initient une cascade d'événements moléculaires, conduisant à l'activation de

facteurs de transcription tels que NF- κ B (Relish ou Dif). Ces facteurs de transcription se lient à l'ADN et déclenchent la transcription des gènes codant pour les PAM (Alejandro *et al.*, 2022). La voie Toll répond également aux infections fongiques via la reconnaissance du β -1,3-glucane. Chez la drosophile, le peptidoglycane de type Lys est reconnu par les protéines de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP) extracellulaires PGRP-SA et -SD tandis que le peptidoglycane de type DAP est reconnu par les PGRP transmembranaires PGRP-LC et intracellulaires PGRP-LE (Lemaitre & Hoffmann, 2007). Certaines PGRP (PGRP-SB, -SC, -LB, -LD) possèdent une activité amidase essentielle pour le contrôle du microbiote intestinal (Kordaczuk *et al.*, 2023). L'activation des voies Toll et Imd conduit à la translocation nucléaire des facteurs de transcription Dorsal/Dif et Relish, respectivement, membres de la famille NF- κ B. L'expression des gènes des PAM est induite localement dans les cellules épithéliales, les cellules du corps gras et les hémocytes, produisant ainsi une réponse systémique à l'infection (Zhang *et al.*, 2021). Dans les épithéliums où les PAM peuvent être exprimés de manière constitutive, la voie Imd est principalement active. En réponse à une infection, la voie Jak-STAT peut également être activée (Zhai *et al.*, 2018). Cependant, l'expression des gènes des PAM peut aussi être déclenchée par d'autres signaux non liés aux pathogènes envahissants. Chez les insectes non infectés, les changements métaboliques, les facteurs de stress et le vieillissement peuvent induire l'expression des PAM. Cette réponse est régulée par les voies de signalisation similaire à l'insuline (ILS) et de la cible de la rapamycine (TOR), impliquant des facteurs de transcription de la famille Forkhead Box (Fox).

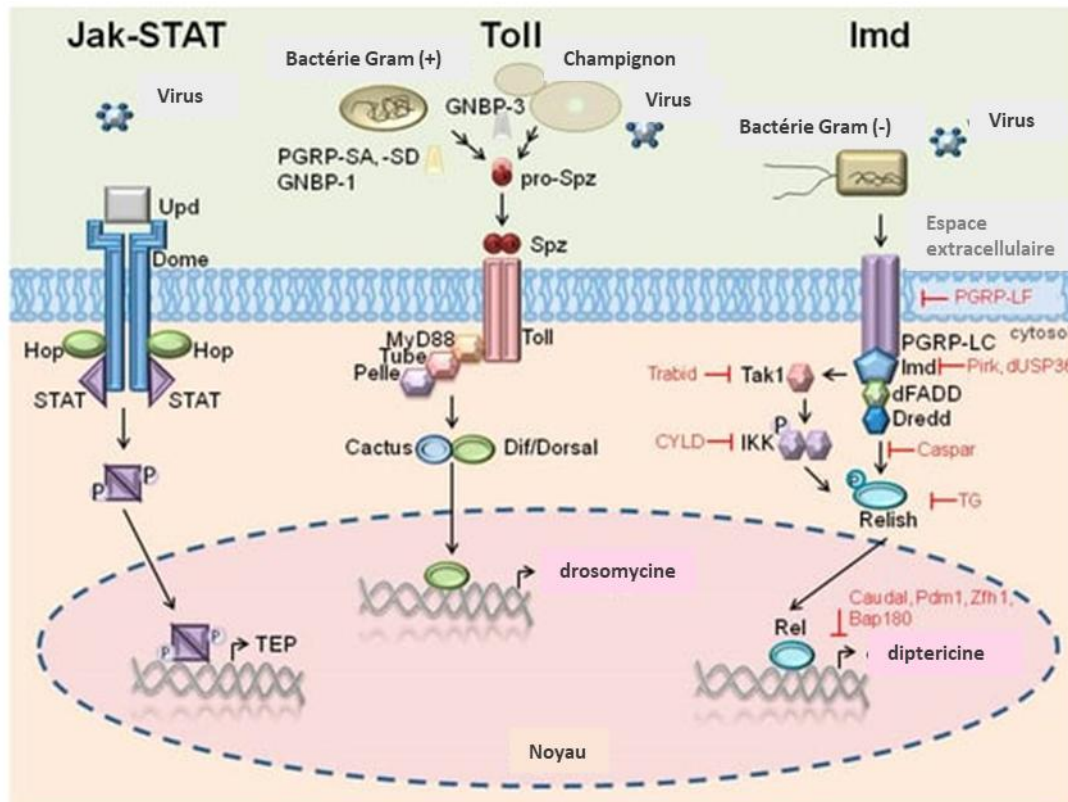


Figure 3 : Principales voies de régulation de l'expression des peptides antimicrobiens chez les insectes (Stączek *et al.*, 2023)

1.2.3.4. Diversité des PAM chez les insectes

Le premier peptide antimicrobien (PAM) découvert chez les insectes fut la cécropine, ainsi nommée car elle est produite par les larves du grand papillon de nuit *Hyalophora cecropia*. Ce peptide est le prototype des PAM linéaires à structure en hélice α et est actif contre les bactéries Gram-négatives telles qu'*Escherichia coli* (Mylonakis *et al.*, 2016). Différentes familles de peptides antimicrobiens (PAM) ont par la suite été identifiées chez *Drosophila melanogaster* (Diptera), notamment les cécropines, les défensines, les drosocines, les drosomycines, les dipterocines, les metchnikowines et les attacines (Bulet, 1999). Chez les lépidoptères, tels que la grande mite de la cire *Galleria mellonella* et le ver à soie du mûrier *Bombyx mori*, on trouve également des cécropines, des défensines, des gloverines, des moricines, des peptides riches en proline, des attacines et des peptides antimicrobiens anioniques (Nesa *et al.*, 2020 ; Wojda *et al.*, 2020). En janvier 2024, la base de données des peptides antimicrobiens répertoriait un total de 3150 peptides d'origine naturelle, parmi lesquels 364 sont issus des insectes (APD3, 2024).

1.2.3.5. Propriétés courantes des PAM d'insectes

Bien que les peptides antimicrobiens (PAM) présentent une grande diversité en termes de structure et d'activité antimicrobienne, ils partagent plusieurs propriétés essentielles telles que la stabilité thermique, la charge positive, l'hydrophobie et l'amphipathie. Ces caractéristiques influencent à la fois leur activité et leur sélectivité :

- ✓ Structure cationique : La majorité des PAM d'insectes possèdent une charge nette positive. Cette nature cationique leur permet d'interagir efficacement avec les composants chargés négativement des membranes microbiennes par attraction électrostatique. Cette interaction est fondamentale pour l'agrégation séquentielle des PAM sur la surface microbienne et pour atteindre la concentration nécessaire à la rupture de la membrane. Des études montrent également qu'une augmentation appropriée de la charge positive peut accroître l'activité antimicrobienne des PAM (Gagnon *et al.*, 2017).
- ✓ Hydrophobie : Cette propriété est cruciale pour déterminer l'étendue de l'insertion des PAM dans la bicouche de phospholipides de la membrane microbienne. Les PAM possèdent des résidus hydrophobes en proportion importante, souvent jusqu'à 50 %. Une hydrophobie optimale est nécessaire pour une activité antimicrobienne efficace, tandis qu'une hydrophobie trop faible ou trop élevée peut entraîner une inactivation des PAM (Chen *et al.*, 2007).
- ✓ Amphiphilie : Les PAM possèdent une région hydrophile chargée positivement qui interagit avec les composants chargés négativement des membranes microbiennes, ainsi qu'une région hydrophobe qui se lie aux lipides. L'amphiphilie est une caractéristique clé qui permet aux PAM de perturber la structure des membranes microbiennes (Kumar *et al.*, 2018).

Ces caractéristiques, telles que la charge et l'hydrophobie, influencent également la sélectivité des PAM. Par exemple, les PAM cationiques ont une attraction plus marquée pour les bactéries chargées négativement par rapport aux cellules de l'hôte, car les membranes des cellules de l'hôte sont composées de phospholipides zwitterioniques (Eleftherianos *et al.*, 2021).

1.2.3.6. Plasticité évolutive des PAM d'insectes

Les PAM des insectes montrent une plasticité évolutive remarquable. Cette plasticité se manifeste par des gains, des pertes et des changements fonctionnels des gènes codants pour ces peptides (Vilcinskis, 2013). Un processus clé dans cette évolution est la duplication des gènes

suivie d'une divergence évolutive qui peut conduire à de nouvelles fonctions pour les paralogues résultants. Cette néo-fonctionnalisation permet non seulement une adaptation aux pathogènes émergents mais peut aussi lier les fonctions immunitaires à des rôles non liés à l'immunité (Mylonakis *et al.*, 2016).

Cette capacité à adapter et à innover leur répertoire de PAM permet aux insectes de répondre efficacement à une variété de défis pathogènes. La duplication et la divergence des gènes de PAM facilitent l'émergence de nouvelles fonctions, offrant ainsi une flexibilité évolutive essentielle pour la survie dans des environnements changeants. Cette diversité et cette capacité d'innovation sont essentielles pour comprendre comment les insectes ont survécu et prospéré face à des menaces pathogènes constantes, offrant également des pistes potentielles pour le développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes.

1.2.3.7. Structures des PAM

La plupart des PAM produits par les insectes sont amphipathiques, ce qui signifie qu'ils possèdent des régions hydrophobes et hydrophiles distinctes, permettant une interaction efficace avec les membranes cellulaires des pathogènes. Les PAM des insectes sont généralement classés en quatre groupes principaux sur la base de leur séquence et de leur structure secondaire (Hoffmann & Reichhart, 2002 ; Yi *et al.*, 2014 ; Wu *et al.*, 2018)

1.2.3.7.1. PAM à structure α -hélicoïdale

Les peptides antimicrobiens à structure α -hélicoïdale connus chez les insectes incluent les cecropines et les mélittines (Figure 4). Ces peptides adoptent une structure en hélice alpha en présence de membranes ou de solvants apolaires (Patyra & Kwiatek, 2023). Cette conformation facilite leur insertion et la perturbation des membranes cellulaires des pathogènes (Tonk & Vilcinskas, 2017). Les cecropines ont été identifiées chez des insectes appartenant à divers ordres, notamment les diptères, les coléoptères et les lépidoptères. Les plus courantes sont les cecropines A, B et D, composées de 35 à 37 résidus sans cystéine. Les cecropines d'insectes sont actives contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Elles peuvent lyser les membranes cellulaires bactériennes, inhiber l'absorption de la proline et provoquer une fuite des composants intracellulaires (Patyra & Kwiatek, 2023).

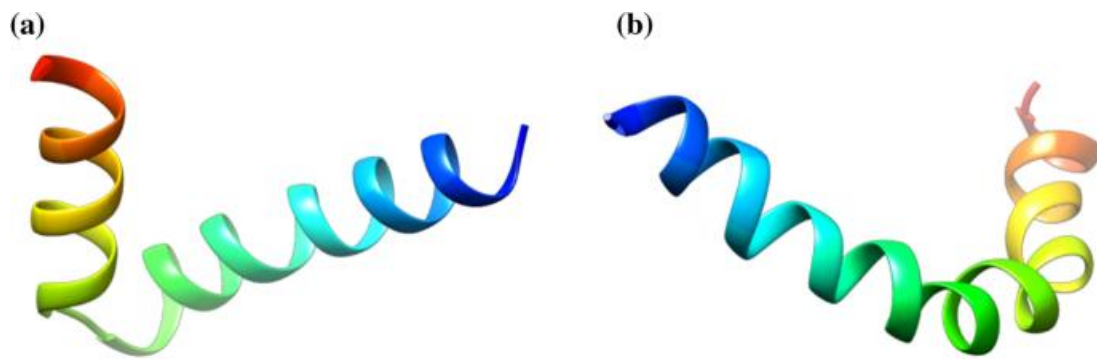


Figure 4 : Représentation structurale des peptides à structure α -hélicoïdale

(a) Papiliocine, identifiée chez l'insecte *Papilio xuthus* et (b) peptide de type cecropine GK d'*Aedes aegypti*. Ces peptides ont été obtenus à partir de la banque de données sur les protéines (Manniello *et al.*, 2021)

1.2.3.7.2. PAM riches en cystéine formant des feuillets β

Les défensines sont de petits peptides cationiques dus à la présence d'acides aminés basiques, en particulier l'arginine (Ganz & Lehrer, 1995). Elles contiennent plusieurs ponts disulfure, stabilisant des structures en feuillets bêta qui peuvent perturber les membranes des pathogènes. Les défensines ont été identifiées chez divers insectes, y compris les diptères, hémiptères, coléoptères, lépidoptères, odonates et hyménoptères. Actuellement, près de 170 défensines sont répertoriées chez les invertébrés (Sultana *et al.*, 2021). Chez les insectes, les gènes des défensines sont principalement exprimés dans le corps gras, mais chez les insectes hématophages, tels qu'*Anopheles gambiae* et *Stomoxys calcitrans*, ces gènes s'expriment aussi dans l'intestin moyen. Les premières défensines d'insectes, la sapécine et les défensines A et B, ont été isolées respectivement à partir de la lignée cellulaire de *Sarcophaga peregrina* (Diptera) et de l'hémolymphe de larves immunisées de *Phormia terranova* (Diptera). Les défensines d'insectes contiennent entre 32 et 52 résidus d'acides aminés (3 à 6 kDa) (Koehbach, 2017). Le nombre d'acides aminés formant l'hélice α et les deux feuillets β est hautement conservé dans toutes les défensines d'insectes connues, bien que la longueur de la boucle N-terminale varie.

Les défensines agissent en modifiant la perméabilité de la membrane cytoplasmique des bactéries Gram-positives, créant des canaux dans celle-ci (Gao & Zhu, 2014). En revanche, elles manquent généralement d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram-négatives. Le mécanisme d'action de la défensine A isolée consiste en la formation d'oligomères dans la membrane bactérienne, ce qui provoque des dommages, une dépolarisation partielle, la perte d'ions K^+ de la cellule, l'inhibition des processus respiratoires et une réduction du niveau cytoplasmique d'adénosine triphosphate (ATP) (Yi *et al.*, 2014). Les défensines d'insectes sont particulièrement actives contre les bactéries Gram-positives telles que *Bacillus subtilis*,

Staphylococcus aureus, *Bacillus megaterium* et *Micrococcus luteus*. Cependant, certaines défensines d'insectes montrent également une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-négatives comme *E. coli* (Patyra & Kwiatek, 2023).

1.2.3.7.3. PAM riches en proline

Ces peptides, caractérisés par une forte présence de proline et composés généralement de 20 à 35 résidus d'acides aminés, possèdent une flexibilité structurelle leur permettant d'interagir avec des cibles intracellulaires (Scocchi *et al.*, 2011). La plupart des peptides antimicrobiens riches en proline exercent leur action en traversant la membrane cellulaire bactérienne et en pénétrant dans l'espace périplasmique (Veldkamp *et al.*, 2022). Une fois à l'intérieur de la cellule, ils inhibent divers processus intracellulaires, tels que la synthèse de l'ADN et de l'ARN ainsi que les systèmes de transport. Grâce à leurs caractéristiques spécifiques, ces peptides peuvent pénétrer les cellules et introduire des molécules dans des cellules habituellement imperméables.

La drosocine et l'apidaecine sont des exemples de peptides antimicrobiens riches en proline isolés chez des insectes appartenant aux ordres des Lépidoptères, Hyménoptères, Hémiptères et Diptères (Bulet, 1999). Leur mécanisme d'action consiste à interférer avec la synthèse de l'ADN et de l'ARN et à se lier aux acides nucléiques. Ces peptides montrent une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae* (Otvos, 2002).

1.2.3.7.4. PAM riches en glycine

Ces peptides possèdent de nombreux résidus glycine qui leur confèrent une structure flexible et une capacité à pénétrer les membranes cellulaires (Brady *et al.*, 2019). Le mécanisme d'action des peptides riches en glycine consiste en la destruction des membranes cellulaires. Ces peptides sont actifs contre les bactéries à Gram négatif, ainsi que contre les champignons et les cellules tumorales. Des peptides riches en glycine tels que la sarcotoxine IIA, l'hyménoptæcine, l'attacine, la dipterisine et la coléoptéricine ont été identifiés chez diverses espèces d'insectes, notamment : *Glossina morsitans* Westwood (Diptera), *Bombyx mori* L. (Lepidoptera), *Heliothis virescens* Fabricius (Lepidoptera), *Musca domestica* L. (Diptera), *Samia ricini* (Lepidoptera : Noctuidae) et *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera) (Bulet & Stocklin, 2005). La forte teneur en résidus de glycine (14-22%) des peptides antimicrobiens (PAMs) influence la fonction de la structure tertiaire des protéines en bloquant la synthèse des protéines de la membrane externe

chez les bactéries à Gram négatif en division, telles que *E. coli*, perturbant ainsi l'intégrité de la paroi cellulaire (Rolff & Schmid-Hempel, 2016).

1.2.3.8. Fonctions des PAM chez les insectes

Au-delà de leur rôle principal d'antimicrobiens efficaces contre divers pathogènes tel que rapporté par divers chercheurs, les PAM seraient également impliqués dans d'autres processus physiologiques (Manniello *et al.*, 2021 ; Stączek *et al.*, 2023). Parmi ces rôles figurent la régulation du microbiote, l'implication dans l'activité du système nerveux et le vieillissement (Figure 5). Les recherches sur la mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*, ont permis de bien élucider la plupart de ces fonctions parfois inattendues des PAM, car il existe de nombreux mutants et outils génétiques disponibles facilitant le développement de modèles de maladies humaines chez la drosophile (Stączek *et al.*, 2023):

- ❖ Défense antimicrobienne directe : ils détruisent ou inhibent la croissance des pathogènes par divers mécanismes, notamment la perturbation des membranes cellulaires, l'inhibition de la synthèse des protéines, de l'ADN ou de l'ARN (Lemaitre & Hoffmann, 2007);
- ❖ Modulation de la réponse immunitaire : en plus de leurs effets antimicrobiens directs, les PAM peuvent moduler la réponse immunitaire de l'hôte en activant ou en attirant d'autres cellules immunitaires pour renforcer la défense contre les infections (Wojda *et al.*, 2020);
- ❖ Régulation de la flore microbienne : les PAM aident à maintenir l'équilibre des microbiotes de surface et intestinaux en contrôlant les populations de microbes, empêchant ainsi les surcroissances pathogènes (Marra *et al.*, 2021).
- ❖ Impact des PAM sur le vieillissement et la longévité : le vieillissement chez *Drosophila* est caractérisé par un déclin des fonctions immunitaires et une augmentation de l'expression des gènes des PAM. Bien qu'ils soient initialement associés à la lutte contre les infections, leur expression accrue avec l'âge est liée à des effets néfastes tels que la dépolarisation des membranes mitochondriales et l'apoptose des cellules (Badinloo *et al.*, 2018). Des études ont montré que réduire l'expression de Relish, un facteur de transcription, prolonge la longévité, tandis que la surexpression des gènes AMP, comme attacin A, defensin, metchnikowin et cecropinA1, réduit significativement la durée de vie (Ganesan *et al.*, 2010 ; Takeuchi *et al.*, 2022)
- ❖ Les PAM dans le système nerveux : Il a été démontré que certains peptides antimicrobiens (PAM) jouent un rôle crucial dans la régulation des fonctions normales

du cerveau des insectes, telles que le sommeil et l'apprentissage non associatif chez *Drosophila* (Montanari & Royet, 2021 ; van Alphen *et al.*, 2022). Les recherches menées par Dissel *et al.* (2015) ont révélé une augmentation différentielle des niveaux de transcrits de metchnikowin (Mtk), drosocin (Dro) et attacin (Att) dans les glies, les neurones et le corps gras de la tête, respectivement, chez les mouches privées de sommeil. Ils ont également mis en évidence que l'expression de Mtk dans les glies (mais pas dans les neurones) et l'expression de Dro dans les neurones (mais pas dans les glies) avaient un effet négatif sur la mémoire, tout en modifiant le sommeil de manière opposée.

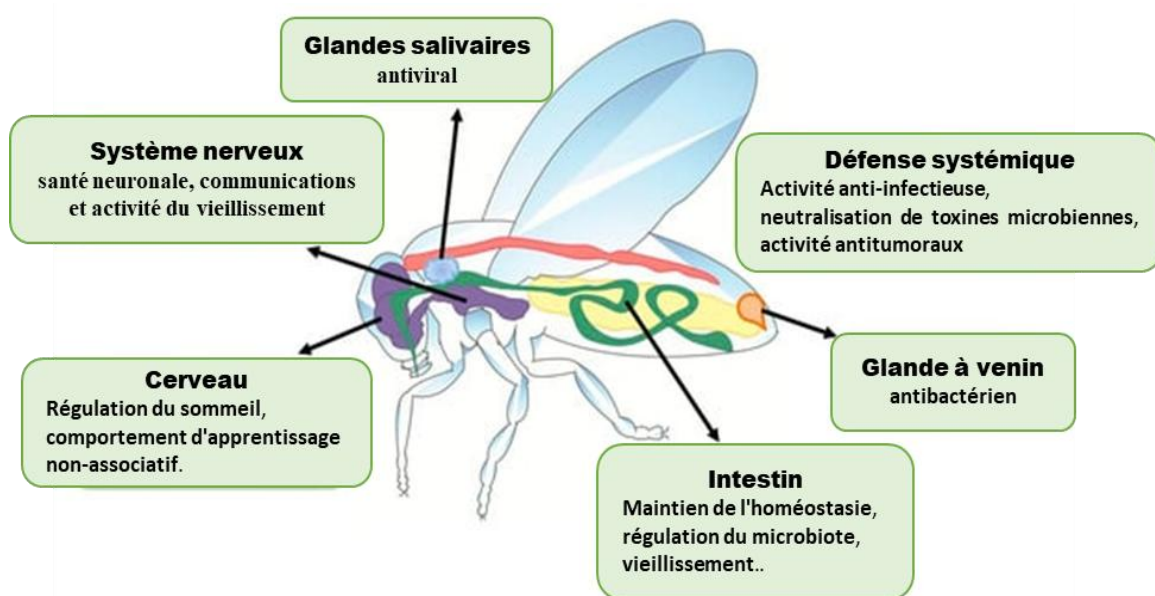


Figure 5 : Différentes fonctions des PAM chez les insectes (Stączek *et al.*, 2023)

1.2.3.9. Mécanismes d'action

Le mécanisme précis par lequel les peptides antimicrobiens exercent leurs effets n'est pas encore complètement élucidé. Cependant, leur mode d'action semble dépendre de diverses propriétés physico-chimiques telles que la séquence d'acides aminés, la charge, l'amphipathie, ainsi que la structure primaire et secondaire du peptide (Seyfi *et al.*, 2020). La majorité de ces peptides interagissent avec les phospholipides de la membrane cytoplasmique des microbes cibles pour induire sa perméabilisation selon plusieurs modèles basés sur la formation de pores. Cette action conduit à la lyse des cellules et à leur mort (Figure 6) (Mahlapuu *et al.*, 2016 ; Bayer *et al.*, 2017). D'autres peptides antimicrobiens peuvent agir différemment sans perturber la stabilité de la membrane. Leur action passe par l'inhibition de processus essentiels tels que

la biosynthèse des acides nucléiques, la traduction, la division cellulaire, la biosynthèse de la paroi cellulaire ou encore par l'induction de l'apoptose.

1.2.3.9.1. Formation des pores

Pour décrire l'activité contre les membranes, quatre modèles différents ont été proposés jusqu'à présent :

-  **Modèle du canon** : après avoir atteint la concentration seuil, les PAM pivotent et s'insèrent dans la bicouche membranaire, formant des pores. La surface des pores est constituée par la quantité de peptides en hélice α . Un exemple de mécanisme d'action de type canon est donné par l'Alaméthicine ;
-  **Modèle du tapis (d)** : les PAM avec ce mécanisme tendent à s'accumuler à la surface de la membrane, avec le côté hydrophile associé aux groupes de têtes polaires. Après avoir atteint une concentration adéquate, la portion hydrophobe pivote vers la chaîne hydrophobe de la bicouche lipidique, créant une discontinuité de la membrane de manière similaire à un détergent (Lohner, 2017). La plupart des crécopines d'insectes suit ce mode d'action ;
-  **Modèle des pores toroïdaux (c)**: selon ce modèle, l'insertion de multiples molécules conduit à un repliement local de la membrane, de sorte que les pores sont formés à la fois par les PAM et par la membrane repliée. Un exemple est donné par la magainine 2 (Manniello *et al.*, 2021).

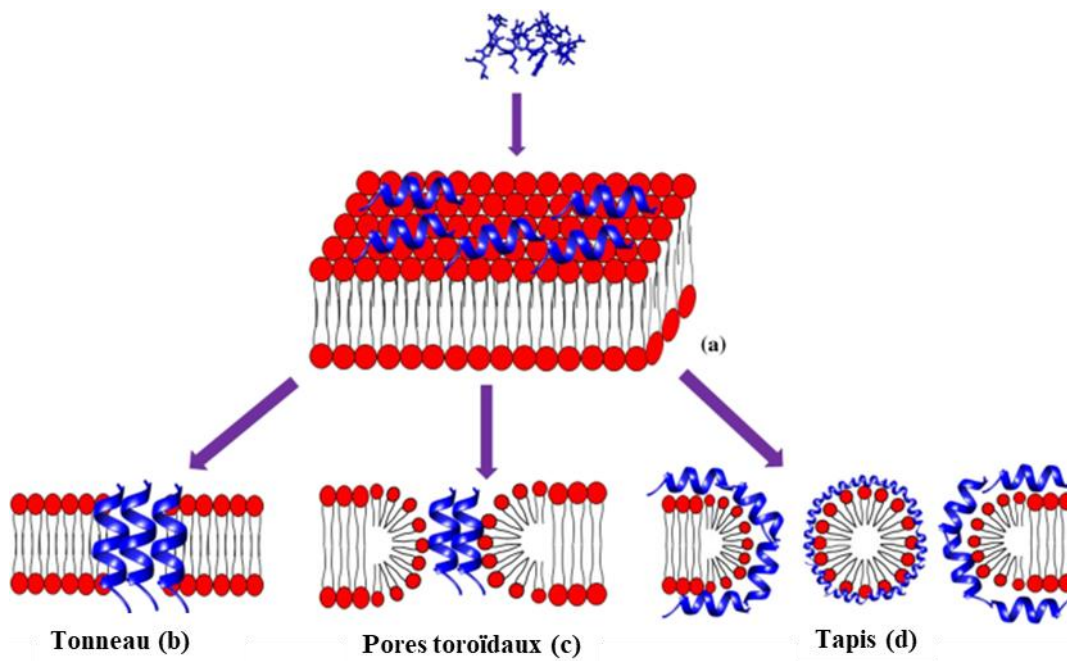


Figure 6 : Représentation schématique de l'interaction des peptides antimicrobiens (PAM) avec la membrane bactérienne (Manniello *et al.*, 2021)

Les mécanismes membranolytiques commencent par l'adsorption du PAM sur la membrane de la cellule cible (a). Dans le modèle en tonneau, les peptides pénètrent à travers la bicouche lipidique (b); dans le mécanisme des pores toroïdaux, les peptides interagissent avec les têtes lipidiques, provoquent la courbure de la bicouche et s'insèrent perpendiculairement dans la membrane (c); dans le modèle en tapis, les peptides recouvrent toute la membrane, avec leurs chaînes latérales non polaires liées au noyau hydrophobe de la membrane et leurs résidus polaires associés aux phosphates lipidiques, formant des micelles avec les fragments de membrane.

1.2.3.9.2. Mécanisme d'action non membranolytique des peptides antimicrobiens

Dans ce cas, les PAM peuvent pénétrer dans la cellule bactérienne sans rompre la membrane, entraînant la mort bactérienne en interagissant avec des cibles intracellulaires, y compris l'ADN et les protéines impliquées dans la division cellulaire ou la synthèse des protéines (Figure 7).

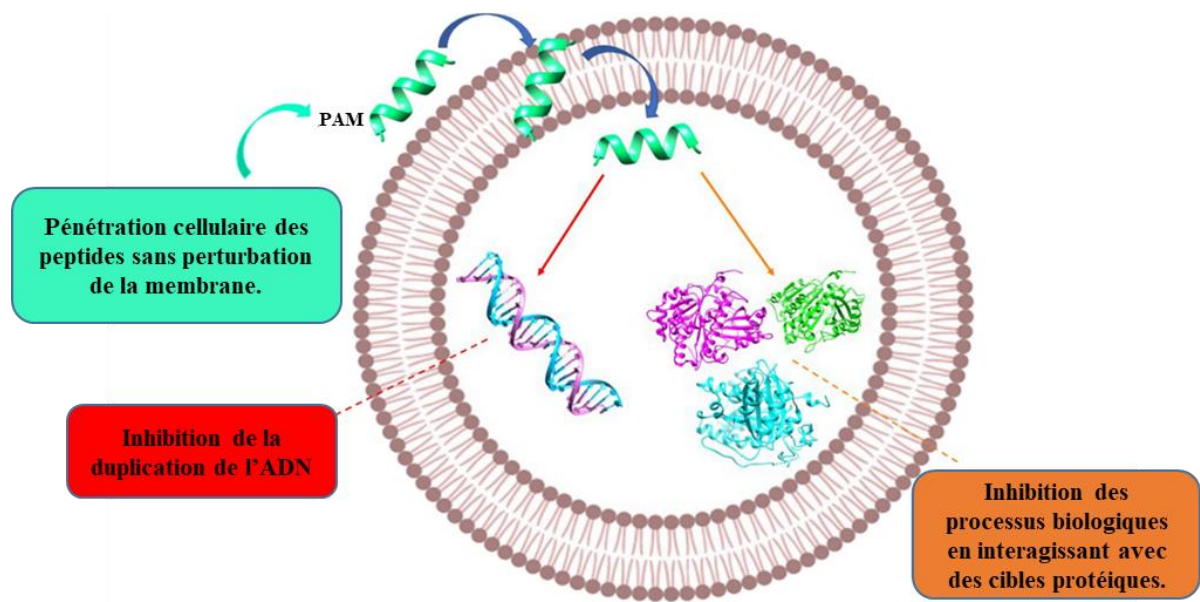


Figure 7 : Représentation des mécanismes d'action non membranolytique des PAM (Manniello *et al.*, 2021)

1.2.3.10. Applications potentielles des PAM d'insectes

Les peptides antimicrobiens (PAM) issus d'insectes peuvent avoir des applications potentielles dans de nombreux secteurs d'activité humaine, notamment en médecine, en agriculture, dans l'industrie agroalimentaire, et en biotechnologie.

1.2.3.10.1. En Médecine

Les gramicidines, des peptides antibiotiques d'origine bactérienne, ont été les premiers à être commercialisés (Mylonakis *et al.*, 2016). De nombreux auteurs ont rapporté que les peptides antimicrobiens (PAM) issus d'insectes présentent un potentiel thérapeutique considérable en médecine humaine et vétérinaire (Yi *et al.*, 2014). Ces peptides, grâce à leur activité antimicrobienne naturelle, offrent des solutions prometteuses pour traiter diverses infections et pour développer de nouveaux médicaments. Les PAM d'insectes, tels que la cécropine, la défensine et l'attacine, ont démontré une efficacité contre des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques conventionnels. Cela les rend particulièrement intéressants pour le développement de nouvelles classes d'antibiotiques capables de traiter des infections résistantes.

L'usage médical de peptides dérivés de *L. sricata* constitue un cas concret de l'application des PAM en médecine. Ces peptides sont formulés dans des hydrogels pour tester leur efficacité en

tant que traitements contre des pathogènes dermatologiques. Cette approche innovante est explorée à la fois pour les pansements médicaux et comme ingrédients dans des produits cosmétiques, visant à prévenir les infections cutanées et à améliorer la santé de la peau (Rahnamaeian & Vilcinskas, 2015).

De plus, les peptides antimicrobiens dérivés de l'insecte *Galleria mellonella*, tels que l'IMPI (Insect-Microbial Peptide Inhibitor), ont montré des avancées notables dans le développement de traitements pour les plaies chroniques (Serrano *et al.*, 2023). Ces peptides présentent un potentiel significatif pour accélérer la guérison des plaies en inhibant les infections microbiennes, qui compromettent souvent le processus de réparation. Les recherches indiquent que l'IMPI peut non seulement combattre les agents pathogènes résistants aux antibiotiques, mais aussi moduler la réponse immunitaire locale pour favoriser une guérison plus rapide et plus efficace.

Un autre potentiel thérapeutique des peptides antimicrobiens (PAM) d'insectes réside dans leur capacité à cibler sélectivement les cellules cancéreuses et à promouvoir l'apoptose cellulaire (Jin *et al.*, 2010 ; Sinha & Choudhury, 2024). Par exemple, la cécropine D de *Bombyx mori* présente des caractéristiques pro-apoptotiques et cible le cancer de l'œsophage en déstabilisant les membranes mitochondriales (Ramos-Martín *et al.*, 2022). Les défensines peuvent agir en synergie avec la molécule Eiger, une protéine de type TNF trouvée chez la drosophile pour induire la mort des cellules tumorales (Zhou *et al.*, 2024). Cette collaboration entre les défensines et Eiger renforce l'efficacité de l'apoptose cellulaire, ce qui ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses basées sur les PAM d'insectes. Ce mécanisme synergique pourrait potentiellement améliorer la sélectivité et l'efficacité des traitements contre divers types de cancer tout en minimisant les effets secondaires sur les cellules saines. De plus, certains PAM dérivés d'insectes comestibles ont démontré des activités antioxydantes remarquables, ce qui en fait des candidats prometteurs pour le traitement de pathologies liées au stress oxydatif comme la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), les complications du diabète, l'obésité et l'hypertension (Quah *et al.*, 2023). Ces propriétés antioxydantes des PAM d'insectes pourraient non seulement aider à atténuer les dommages cellulaires causés par les radicaux libres mais aussi à améliorer la gestion et le traitement de maladies chroniques en réduisant l'inflammation et en protégeant les tissus contre les dommages oxydatifs.

Un domaine de recherche particulièrement novateur concerne l'administration de PAM à l'aide de microparticules inhalables. Des analogues recombinants de PAM dérivés d'insectes peuvent être délivrés directement aux poumons via ces microparticules, ce qui optimise leur efficacité contre les infections pulmonaires. En outre, l'application simultanée de PAM présentant une activité synergique pourrait permettre de réduire les quantités nécessaires pour obtenir un effet thérapeutique, rendant les traitements plus efficaces et moins invasifs.

1.2.3.10.2. En Agriculture

Les peptides antimicrobiens (PAM) sont de plus en plus utilisés en agriculture comme alternatives aux antibiotiques afin de prévenir le développement de la résistance aux antimicrobiens (Patyra & Kwiatek, 2023 ; Sibinga *et al.*, 2023 ; Zhou *et al.*, 2024). De nombreuses études ont mis en lumière l'efficacité des PAM d'insectes pour combattre divers pathogènes agricoles. Par exemple, la recherche de Brachet & Beven (2022) a montré l'efficacité de ces peptides dans la lutte contre des agents pathogènes spécifiques. Un cas concret de cette application est l'utilisation de la cécropine AD comme complément alimentaire en remplacement des antibiotiques. Cette approche a permis de réduire significativement l'incidence des diarrhées bactériennes chez les porcelets, démontrant ainsi l'efficacité de cette alternative pour améliorer la santé animale tout en minimisant les risques de résistance antimicrobienne.

L'utilisation des peptides antimicrobiens (PAM) en agriculture pourrait également contribuer à réduire l'emploi des pesticides chimiques. L'incorporation de gènes codant pour des PAM dans des plantes transgéniques permet de diminuer la dépendance aux pesticides. Les plantes ainsi modifiées peuvent produire ces peptides de manière endogène, ce qui leur confère une résistance accrue aux infections. Par exemple, les travaux de Mitsuhara *et al.* (2000) et d'Ohshimazaki *et al.* (1999) ont démontré que l'expression transgénique de la défensine de l'insecte *Galleria mellonella* (gallerimycine) et de la cécropine (sarcotoxine-IA) dans le tabac confère une résistance aux champignons pathogènes (Yi *et al.*, 2014). D'autres cécropines ont été exprimées dans des plantes transgéniques telles que le riz et la tomate, conférant une résistance aux pathogènes bactériens et fongiques (Sharma *et al.*, 2000 ; Montesinos *et al.*, 2016). Un autre exemple est la métchnikowine, un peptide riche en proline, exprimée dans l'orge transgénique pour améliorer la résistance (Rahnamaeian & Vilcinskas, 2012). Cependant, l'expression de peptides antimicrobiens dans des plantes transgéniques peut affecter l'expression des gènes hôtes ou la condition physique des plantes hôtes (Nadal *et al.*, 2012).

Les peptides antimicrobiens (PAM) peuvent également être utilisés pour prévenir les infections post-récolte, qui sont une cause majeure de perte de rendement agricole. En traitant certains aliments tels que les fruits et légumes avec des solutions contenant des PAM, il est possible de prolonger leur durée de conservation et de réduire les pertes dues à des maladies microbiennes. Montesinos (2007) a exploré cette approche en montrant que l'application de peptides antimicrobiens sur les récoltes de fruits pouvait réduire significativement les infections post-récolte.

1.2.3.10.3. En agroalimentaire

Face aux préoccupations croissantes concernant la sécurité alimentaire, de plus en plus de consommateurs privilégient les produits alimentaires comportant moins de conservateurs chimiques et bénéficiant de traitements minimaux. Cette tendance croissante vers l'utilisation de conservateurs naturels dans l'industrie alimentaire met en lumière les peptides antimicrobiens (PAM) comme des alternatives intéressantes aux conservateurs traditionnels. Les PAM offrent divers avantages, notamment une activité bactéricide étendue, une stabilité thermique, une résistance aux environnements acides et alcalins, et une dégradation facile par les protéases humaines (Zhou *et al.*, 2024). Les PAM sont utilisés comme agents bio-bactériostatiques dans la conservation de produits tels que la viande, les fruits, le jus, et le lait de soja. Certains peptides antimicrobiens ont même été approuvés par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis en tant qu'additifs alimentaires (Rai *et al.*, 2022). En outre, les PAM peuvent aider à réduire l'oxydation des lipides, un processus qui génère des composés nocifs lors de la conservation de la viande (Chen *et al.*, 2023).

1.3. Insectes dans le domaine de la recherche : perspectives d'utilisation comme modèles animaux *in vivo*

1.3.1. Importance des modèles *in vivo* dans la recherche antibactérienne

La découverte de nouveaux médicaments repose sur des tests *in vivo* qui impliquent généralement l'utilisation de modèles animaux. Ces modèles, choisis pour leurs caractéristiques biologiques bien documentées sont privilégiés en raison de leur similitude avec les mécanismes physiopathologiques humains (Brunetti *et al.*, 2016). Les vertébrés tels que le rat, la souris, le lapin, le porc et parfois les primates constituent les organismes modèles les plus couramment utilisés. Ces modèles animaux offrent des résultats impossibles à obtenir par des tests *in vitro*, permettant ainsi de tester l'efficacité des nouveaux médicaments dans un environnement biologique complet (Fruhworth *et al.*, 2018 ; Jebbawi, 2021 ; Mukherjee *et al.*, 2022). En

infectiologie, les modèles animaux sont essentiels pour simuler les conditions inflammatoires et immunologiques complexes, ce qui offre un cadre indispensable pour comprendre les réponses biologiques des hôtes et les interactions avec les agents pathogènes (Seok *et al.*, 2013 ; Bielen *et al.*, 2017).

1.3.1.1. Evaluation de l'efficacité des traitements

Contrairement aux tests *in vitro*, qui peuvent ne pas refléter la complexité des interactions biologiques dans un organisme vivant, les études *in vivo* fournissent des informations sur la réponse thérapeutique dans des tissus et organes spécifiques (Revest *et al.*, 2016). Par exemple, les modèles animaux tels que les souris infectées par *Staphylococcus aureus* sont utilisés pour évaluer la capacité des antibiotiques à éliminer les infections et à promouvoir la guérison (Van Staden *et al.*, 2016 ; Plumet *et al.*, 2022).

1.3.1.2. Evaluation de la sécurité et des effets secondaires

Les études *in vivo* sont également cruciales pour évaluer la sécurité des nouveaux médicaments. Elles permettent de détecter des effets secondaires potentiels et de surveiller la toxicité dans des systèmes biologiques complets. Les modèles animaux sont utilisés pour étudier la biodistribution, le métabolisme et les interactions des antibiotiques. Ces études fournissent des données sur la sécurité qui ne peuvent être obtenues à partir des tests *in vitro* seuls (Brunetti *et al.*, 2016). Des modèles *in vivo* impliquant des organismes murins sont de plus en plus utilisés pour évaluer la toxicité de nouvelles familles de composés antibactériens en cours de développement tels que les bactériocines, les peptides antimicrobiens et les composés issus de plantes (Benítez-Chao *et al.*, 2021).

1.3.1.3. Simulation des conditions inflammatoires et immunologiques

Les infections bactériennes provoquent souvent des réponses inflammatoires et immunologiques complexes. Les modèles *in vivo* permettent de simuler ces conditions et d'observer comment les nouveaux antibiotiques interagissent avec le système immunitaire (Seok *et al.*, 2013). De nombreuses études ont souligné l'importance des modèles murins de pneumonie et d'infections chroniques pour analyser l'effet des traitements sur les réponses inflammatoires et les interactions immunitaires (Bielen *et al.*, 2017). Par ailleurs, Seok *et al.* (2013) ont exploré les similitudes et les différences entre les réponses inflammatoires chez les souris et les humains, mettant en lumière la pertinence des modèles murins dans ce type de recherche.

1.3.1.4. Optimisation des protocoles de traitements

Les modèles *in vivo* sont également utilisés pour optimiser les protocoles de traitement tels que les doses et la fréquence des administrations (Srivastava & Gumbo, 2011 ; Fruhwirth *et al.*, 2018 ; Jebbawi, 2021). Cela permet de concevoir des régimes thérapeutiques plus efficaces et adaptés aux besoins cliniques spécifiques. Par exemple, les études de pharmacocinétique et de pharmacodynamie *in vivo* aident à déterminer les meilleures pratiques pour maximiser l'efficacité tout en minimisant les risques de résistance (Zhao *et al.*, 2021).

1.3.2. Limites des modèles animaux classiques

Depuis plusieurs décennies, les modèles vertébrés ont été au cœur de la découverte de nouveaux médicaments, entraînant des coûts considérables tant sur le plan financier qu'en termes de vies animales (Pereira *et al.*, 2018 ; Tannenbaum, 2023). Actuellement, entre 75 et 100 millions de vertébrés sont utilisés chaque année à des fins scientifiques principalement des souris et des rats (Bismuth *et al.*, 2019). Face à cette utilisation massive des mammifères, la réglementation sur la protection animale s'est considérablement renforcée imposant une stricte application des principes des 3R : Réduire, Remplacer et Raffiner, tels que définis par Russel et Burch (Tannenbaum & Bennett, 2015 ; Ménard *et al.*, 2021). En conséquence, les exigences éthiques sont devenues plus rigoureuses nécessitant des autorisations qui peuvent provoquer des retards significatifs dans les processus d'approbation.

1.3.3. Perspectives d'utilisation de modèles animaux alternatifs

L'utilisation de modèles alternatifs permettant d'allier reproductibilité physiopathologique et rentabilité permettrait d'accélérer la recherche de nouveaux remèdes. Dans ce contexte, l'emploi des poissons zèbres (*Danio rerio*), des larves de *Galleria mellonella* (chenille de la fausse-teigne) ou de la mouche des fruits (*Drosophila melanogaster*) comme modèles biologiques a gagné en popularité (Cutuli *et al.*, 2019 ; Choi *et al.*, 2021 ; Robert, 2023). Ces modèles présentent l'avantage de coûts réduits et de cycles de reproduction rapides, tout en offrant des systèmes immunitaires et des réponses biologiques comparables à ceux des mammifères.

1.3.4. *Drosophila melanogaster* comme modèle d'infection bactérienne

La drosophile ou *Drosophila melanogaster* est un organisme modèle largement utilisé en biologie et en génétique en raison de ses caractéristiques expérimentales avantageuses. Cette petite mouche a joué un rôle central dans la découverte de nombreux principes fondamentaux

de la biologie, de la génétique et du développement. Elle présente de nombreux atouts pour être utilisé comme modèles d'infection *in vivo* (Chambers *et al.*, 2019 ; Touré *et al.*, 2023).

1.3.4.1. Génétique bien connue

La drosophile possède un génome relativement simple et bien cartographié. Le premier article scientifique portant sur *Drosophila melanogaster* en tant qu'organisme expérimental a été publié il y a plus de 100 ans. Intitulé "The reactions of the pomace fly (*Drosophila ampelophila* Loew) to light, gravi, and mechanical stimulation", cet article a été rédigé par Frederick W. Carpenter en 1905. Carpenter y explore les réactions de la drosophile aux stimuli lumineux, gravitationnels et mécaniques, ouvrant ainsi la voie à son utilisation extensive en biologie et en génétique. Cela facilite l'étude des mutations génétiques et des processus biologiques fondamentaux. Depuis cette première publication, *Drosophila melanogaster* est devenue un modèle de recherche essentiel, révolutionnant notre compréhension de nombreux processus biologiques fondamentaux. Ces premières recherches sur la génétique des drosophiles ont permis de formuler les principes de l'hérédité dont les célèbres lois de Mendel (Roberts, 2006).

1.3.4.2. Avantages éthiques

L'utilisation de la drosophile comme modèle de recherche contribue à réduire les préoccupations éthiques tout en permettant des avancées scientifiques significatives. En tant qu'organisme modèle, la drosophile diminue le besoin d'utiliser des animaux plus complexes tels que les rongeurs et les primates dans les expériences de laboratoire (Yamaguchi & Yamamoto, 2022). De plus, les modèles de maladies développés avec la drosophile offrent des perspectives importantes tout en évitant les contraintes éthiques associées aux animaux plus complexes. Les études sur la drosophile permettent souvent de comprendre les bases biologiques des maladies humaines de manière plus directe et avec un impact moindre sur les animaux (Ong *et al.*, 2015). Grâce à son cycle de vie rapide et à sa petite taille, la drosophile peut être élevée et étudiée en grand nombre dans un espace réduit, ce qui minimise le nombre total d'animaux nécessaires pour obtenir des résultats statistiquement significatifs. Cette approche contribue à une réduction globale du nombre d'animaux utilisés dans la recherche. Enfin, la recherche sur la drosophile est perçue comme éthiquement responsable en raison de la transparence des méthodes et des résultats. Les protocoles expérimentaux sont généralement bien documentés, facilitant l'évaluation des pratiques éthiques et le respect des normes de bien-être animal.

1.3.4.3. Cycle de vie court et grande prolificité

Le cycle de vie de *Drosophila melanogaster* varie en fonction de la température. Il dure exactement 10 jours à 25°C, environ deux semaines à 22°C, et prend deux fois plus de temps à 18°C (Dupont *et al.*, 2015). Ce cycle complet comprend quatre stades : trois stades larvaires suivis d'une phase immobile (pupe) durant laquelle se déroule la métamorphose qui aboutit à la formation de l'individu adulte ou imago (Figure 8) (Ong *et al.*, 2015). Dans la nature, les femelles pondent environ 400 œufs dans des fruits en putréfaction ou dans d'autres matières organiques et les œufs mesurent environ 0,5 millimètre de longueur. Les larves émergent après 24 heures et croissent durant cinq jours en muant deux fois, 24 et 48 heures après l'éclosion. Pendant leur croissance, elles se nourrissent des micro-organismes qui décomposent le fruit ainsi que des sucres du fruit lui-même. Ensuite, les larves s'encapsulent dans la pupa et subissent une métamorphose de cinq jours à l'issue de laquelle les adultes émergent. En reproduisant ces paramètres, on peut maintenir une culture de drosophile saine et productive, essentielle pour des recherches génétiques et d'autres études scientifiques.

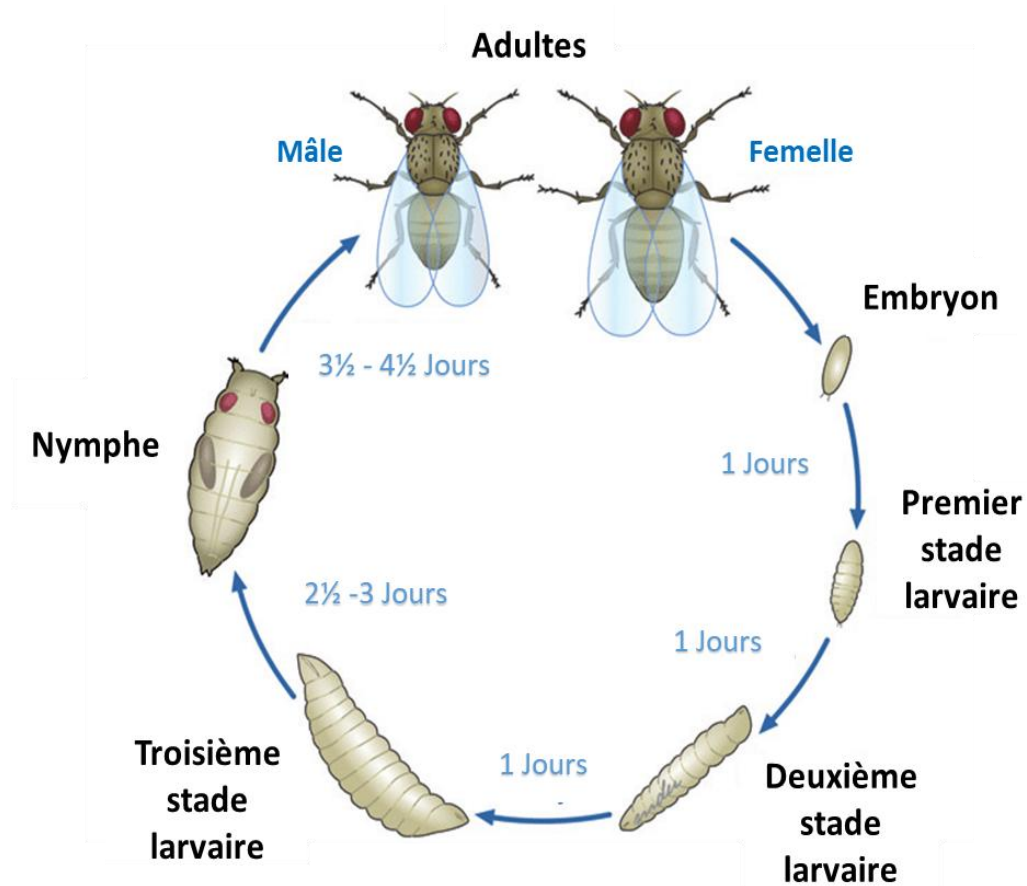


Figure 8: Cycle de vie de *Drosophila melanogaster* montrant les quatre stades de développement (Ong *et al.*, 2015)

1.3.4.4. Facilité de manipulation

L'élevage des drosophiles est relativement simple et peu coûteux. Ces insectes nécessitent peu d'espace et peuvent être maintenus dans des conditions standard de laboratoire, ce qui en fait un modèle accessible pour de nombreux chercheurs. Pour élever des mouches de la drosophile, il est essentiel de maintenir une température optimale entre 20 et 25°C et une humidité entre 60 et 70% (Linford *et al.*, 2013). De plus, une bonne ventilation est nécessaire pour prévenir la condensation et la croissance de moisissures. L'utilisation de bouchons en mousse ou en coton est particulièrement adaptée car elle permet une circulation d'air tout en empêchant les mouches de s'échapper. Par ailleurs, une lumière indirecte ou artificielle douce avec un cycle lumineux de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité, contribue à maintenir des conditions proches de leur environnement naturel.

1.3.4.5. Réponses biologiques similaires aux mammifères

Les drosophiles partagent de nombreux processus biologiques fondamentaux avec les humains, tels que les voies de signalisation cellulaires, les mécanismes de régulation du développement et les réponses au stress, ce qui les rend pertinentes pour l'étude des maladies humaines (Lau *et al.*, 2003 ; Panayidou *et al.*, 2014). Les principales voies de signalisation immunitaire telles que les voies Toll et Imd sont conservées entre la drosophile et les mammifères. Ces voies jouent des rôles essentiels dans la détection et la réponse aux pathogènes. En outre, d'autres voies conservées entre la drosophile et les humains comme Hedgehog, Wnt, Notch et JAK/STAT, jouent des rôles clés dans le développement et les maladies y compris le cancer et les troubles congénitaux (Wang *et al.*, 2014). De plus, le rôle des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le vieillissement et la neurodégénérescence a été largement étudié chez la drosophile, offrant des perspectives précieuses pour la santé humaine (Sinenko *et al.*, 2021 ; Gera *et al.*, 2022).

1.3.4.6. Infections bactériennes et réponses immunitaires chez la drosophile

1.3.4.6.1. Techniques d'infection

Les techniques d'infection bactérienne chez *Drosophila melanogaster* sont variées et permettent de modéliser différents aspects des interactions hôte-pathogène en fonction de l'objectif de l'étude.

1.3.4.6.1.1. Infection par ingestion (per os)

Cette méthode consiste à exposer les mouches à des bactéries via leur alimentation. La suspension bactérienne est généralement incorporée dans des solutions sucrées ou dans des aliments solides (Liehl *et al.*, 2006 ; Fink *et al.*, 2016). Cette technique imite bien une infection

naturelle par injection et est moins invasive. Toutefois, cette technique ne permet pas de contrôler la dose exacte ingérée et reproduit difficilement les infections systémiques car les bactéries doivent d'abord traverser la barrière intestinale.

1.3.4.6.1.2. Infection par piqûre septique

Cette méthode consiste à simuler une infection en introduisant directement des agents pathogènes dans l'organisme par piqûre. Pour ce faire, une aiguille est immergée dans une suspension bactérienne, puis enfoncée dans le corps des mouches (Khalil *et al.*, 2015). Bien que relativement simple, l'injection par piqûre reste une procédure invasive qui peut entraîner des dommages mécaniques aux tissus de l'hôte ou induire du stress, ce qui pourrait affecter les résultats expérimentaux.

1.3.4.6.1.3. Aérosolisation

Cette technique permet d'exposer les mouches à des bactéries en suspension dans l'air. Elle est surtout utilisée pour modéliser des infections respiratoires ou simuler l'exposition à des bactéries aérosolisées (Qin *et al.*, 2008 ; Åhlund *et al.*, 2010). Elle a également l'avantage d'imiter de façon réaliste l'exposition environnementale aérienne aux pathogènes. Cependant, elle est limitée aux pathogène affectant les voies respiratoires des insectes.

1.3.4.6.1.4. Injection de la suspension bactérienne (nanoinjection)

Cette technique consiste à injecter directement dans l'hémocoel de la drosophile, un volume précis de suspension bactérienne à l'aide d'un injecteur (Nanoject) (Khalil *et al.*, 2015 ; Wukitch *et al.*, 2023). Elle permet de reproduire une infection systémique avec une dose bactérienne contrôlée. L'injection nécessite une précision et peut provoquer des dommages mécaniques à la mouche.

1.3.4.6.2. Réponses aux infections : mécanismes de défense innés

Le système immunitaire inné de la mouche des fruits, *Drosophila melanogaster*, est l'un des mieux caractérisés parmi les métazoaires. Il a été étudié en profondeur pour sa similarité avec les réponses immunitaires des vertébrés (Hoffmann & Reichhart, 2002 ; Harnish *et al.*, 2021). La drosophile ne possédant pas de système immunitaire adaptatif, sa défense contre les infections repose exclusivement sur l'immunité innée qui est à la fois humorale et cellulaire (Hoffmann & Reichhart, 2002).

La première ligne de défense est assurée par la cuticule, une barrière physique robuste qui empêche la pénétration de la plupart des agents pathogènes et des particules nocives.

Cependant, lorsque cette barrière est franchie, notamment lors d'une blessure ou d'une injection de pathogènes comme dans le cas expérimental, l'organisme active des mécanismes internes de défense sophistiqués (Gold & Brückner, 2015). La première réponse mobilise les hémocytes, des cellules immunitaires spécialisées présentes dans l'hémolymphe. Ces hémocytes assurent principalement la phagocytose, c'est-à-dire l'ingestion et la destruction des micro-organismes (Lemaitre & Hoffmann, 2007 ; Melcarne *et al.*, 2019). Ce processus est crucial dans les premières heures suivant l'infection, car il permet d'éliminer rapidement une grande partie des bactéries avant qu'elles ne se multiplient dans l'organisme. Les hémocytes peuvent également participer à d'autres mécanismes de défense comme l'encapsulation et la mélanisation lorsque la phagocytose n'est pas suffisante. Mais l'encapsulation intervient lorsque le pathogène est trop grand pour être phagocyté comme dans le cas des infections parasitaires. Une fois encapsulé, le pathogène subit généralement la mélanisation, une réponse immunitaire clé dans laquelle la drosophile produit de la mélanine autour du pathogène. Ce processus non seulement isole le pathogène, mais il génère également des espèces réactives de l'oxygène (ERO), des composés toxiques qui contribuent à détruire les micro-organismes (Moghadam *et al.*, 2021).

Parallèlement à ces réponses cellulaires, l'immunité humorale se met en place et se manifeste par la production des peptides antimicrobiens (PAM), qui constituent une défense immunitaire puissante contre les infections bactériennes et fongiques. Ces peptides sont produits principalement dans le tissu adipeux en réponse à l'activation des voies de signalisation Toll et Imd, qui reconnaissent les motifs moléculaires des pathogènes (Gold & Brückner, 2015).

1.4. Zone d'étude

La zone d'étude englobe trois villes : Bondoukou, Bouaké et Daloa, situées dans des régions géographiquement diverses de la Côte d'Ivoire (Figure 9).

Bondoukou (8,03° de latitude Nord et 2,80° de longitude Ouest) est la capitale du district de Zanzan et le centre administratif de la région du Gontougo, une zone caractérisée par un climat tropical. Cette localité connaît des températures élevées tout au long de l'année, avec une saison sèche et une saison des pluies favorable à la végétation de savane boisée. Des précipitations abondantes contribuent à des terres fertiles, influençant ainsi la biodiversité de la région.

Bouaké (7,69° de latitude Nord et 5,03° de longitude Ouest), la capitale du district de la Vallée du Bandama et le centre administratif de la région de Gbêkê, présente des caractéristiques similaires à Bondoukou, avec un climat tropical caractérisé par des températures élevées toute

l'année. La végétation de savane boisée prédomine dans cette région où des précipitations modérées définissent la saison des pluies.

Daloa, capitale de la région du Haut-Sassandra, est située à $6,87^{\circ}$ de latitude Nord et $6,45^{\circ}$ de longitude Ouest, au centre-ouest de la Côte d'Ivoire. Cette localité connaît également un climat tropical caractérisé par des températures élevées constantes. Cependant, cette ville se distingue de Bondoukou et de Bouaké en raison des précipitations annuelles abondantes qui influent sur la diversité de sa végétation, principalement composée de forêts tropicales.

Le choix de ces régions a été motivé par plusieurs critères, notamment la diversité démographique, les différences culturelles, les pratiques médicales et les habitudes alimentaires, telles que la consommation d'insectes parmi les résidents (Boko & Angaman, 2021). De plus, ces zones se caractérisent par un cosmopolitisme prononcé, accueillant des communautés aux traditions alimentaires et médicinales diverses (Gogbé, 2011 ; Ehounou *et al.*, 2018). Ces centres urbains ont donc offert une gamme variée de contextes culturels et environnementaux pour l'étude menée.

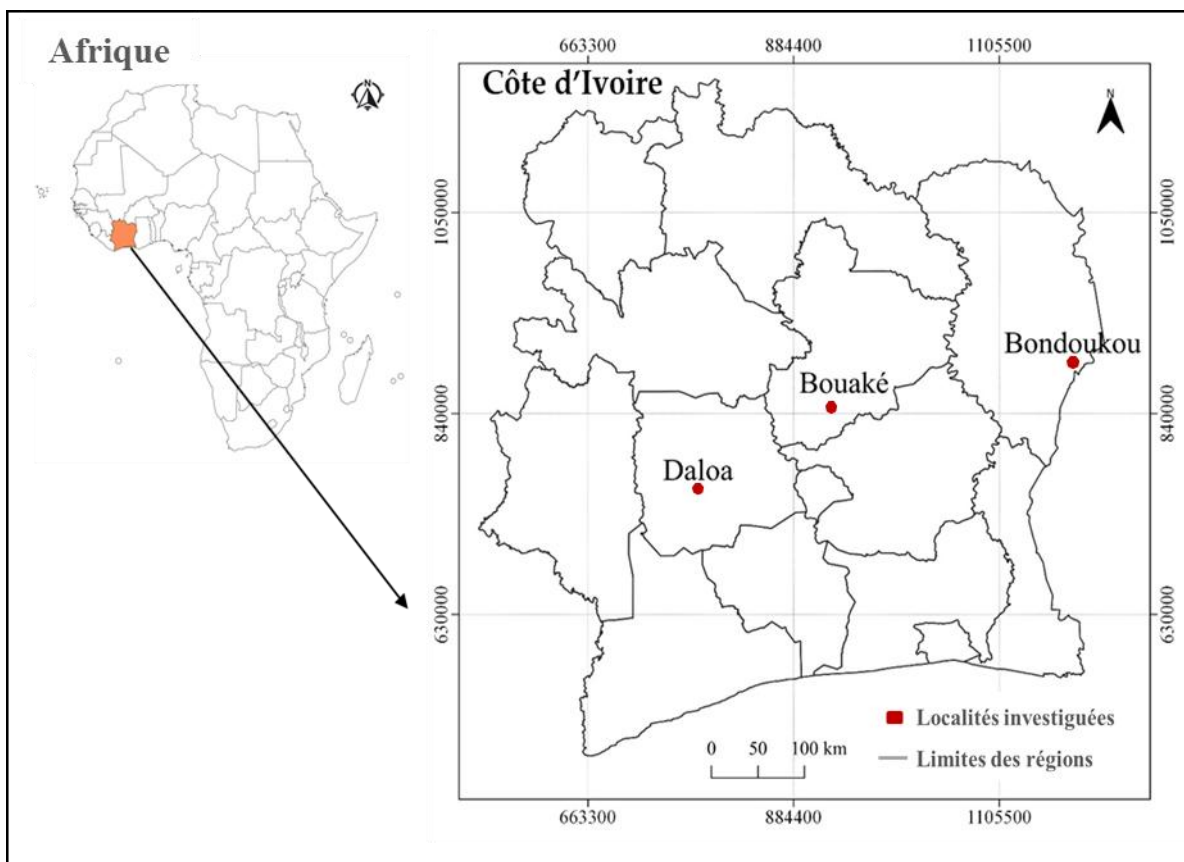


Figure 9: Carte de la Côte d'Ivoire montrant les localités d'étude

Deuxième partie : Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel biologique

2.1.1.1. Espèces de coléoptères étudiées pour les tests antibactériens

Dans le cadre de cette étude, deux espèces de coléoptères, *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*, ont été examinées pour leurs propriétés antibactériennes (Figure 10). Les spécimens adultes ont été collectés dans le cœur de palmiers en décomposition, principalement *Elaeis guineensis* et *Raphia spp.*. Par la suite, ces insectes ont été élevés en laboratoire dans des conditions contrôlées pour permettre une observation détaillée et des analyses approfondies de leurs propriétés antibactériennes. Les larves du dernier stade larvaire, juste avant la formation des cocons, ont été utilisées pour les analyses.



Figure 10: Larves de deux espèces de Coleoptères utilisées pour l'étude

A : *Rhynchophorus phoenicis* ; B : *Oryctes owariensis*

2.1.1.2. Souche de drosophile étudiée dans le modèle d'infection

L'étude a porté sur la souche white (w^{1118}) de *Drosophila melanogaster*, une lignée génétiquement modifiée qui se distingue par la couleur blanche de ses yeux (Figure 11). La souche white est caractérisée par une mutation du gène *w* (CG2759), qui code pour un transporteur ABC impliqué dans la pigmentation des yeux (Pepling & Mount, 1990). Les mouches w^{1118} sont isogéniques, ce qui minimise la variabilité interindividuelle. Cette souche est largement utilisée en biologie en raison de sa capacité à intégrer et à suivre facilement de nouvelles mutations. Les expériences ont été réalisées sur des mouches mâles et femelles âgés de 5 à 8 jours.



Figure 11: Souche de drosophile étudiée

2.1.1.3. Souches bactériennes

Dans cette étude, plusieurs souches bactériennes ont été utilisées à la fois pour les tests antibactériens et comme agents pathogènes dans les tests d'infection (Tableau I). Ces souches comprennent des bacilles Gram-négatives et Gram-positives (BG-, BG+) et des cocci Gram-positifs (BG+) fournies par des centres collaboratifs (IPCI, BGSC, USA, EDB Toulouse). A cela s'ajoute une souche hospitalière isolée au Centre Hospitalier Régional (CHR) de Daloa.

Les souches *Escherichia coli* E1 (Gram-négative) et *Staphylococcus aureus* S1 (Gram-positif) ont été choisies pour immuniser les larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*, car ces bactéries représentent deux types de parois cellulaires distinctes qui activent différentes voies de signalisation immunitaire (Knutelski *et al.*, 2022). *E. coli* E1, en tant que bacille Gram-négatif, est particulièrement efficace pour stimuler la voie IMD, tandis que *S. aureus* S1, cocci Gram-positif, active principalement la voie Toll. Cette activation des voies IMD et Toll favorise la production de composés antibactériens par les larves.

L'hémolymph extraite des larves, immunisées ou non, a ensuite été testée pour son activité inhibitrice *in vitro* contre six souches bactériennes aux caractéristiques variées. Parmi elles, *Escherichia coli* E1 est une souche résistante aux bêta-lactamines grâce à la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), tandis que *E. coli* ATCC 25922 est une souche de référence de phénotype sensible. Deux souches de *Staphylococcus aureus*, S1 et S2, ont été incluses dans les tests, toutes deux multirésistantes à la méticilline (Méti-R). L'étude a également intégré une

Matériel et Méthodes

souche clinique de *Salmonella spp.*, isolée au Centre Hospitalier Régional de Daloa, et une souche de *Bacillus subtilis* 1A786, naturellement sensibles aux antibiotiques.

Par ailleurs, *Providencia burhodogranareia* et *Serratia marcescens*, des espèces entomopathogènes, ont été utilisées comme agents infectieux dans le modèle d'infection de la drosophile (Duneau *et al.*, 2017). Ces dernières ont été obtenues auprès de David Duneau (Queen's Medical Research Institute) via le laboratoire Evolution et Biodiversité Biologique (EDB) Toulouse.

Tableau I : Souches bactériennes impliquées dans l'étude

Espèces bactériennes	Références	Phenotypes
<i>Escherichia coli</i> 25922	ATCC	Sauvage
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	BGSC, USA	Sauvage
<i>Salmonella spp.</i>	CHR, Daloa	Sauvage
<i>Escherichia coli</i> E1	(N'zi <i>et al.</i> , 2022)	BLSE
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	(N'zi <i>et al.</i> , 2022)	Meti-R
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	(N'zi <i>et al.</i> , 2022)	Meti-R
<i>Providencia burhodogranareia</i>	EDB, Toulouse	Sauvage
<i>Serratia marcescens</i>	EDB, Toulouse	Sauvage

ATCC : American Type Culture Collection ; BGSC : *Bacillus* Genetic Stock Center ; BLSE : β -lactamase à Spectre Elargi (Résistante aux β -lactamines) ; Meti-R : Multi-Résistante à la Mécilline ; CHR : Centre Hospitalier Régional ; EDB : laboratoire Evolution et Diversité Biologique

2.1.2. Matériel chimique

2.1.2.1. Antibiotiques testés

Pour la mise en place du modèle d'infection, cinq (5) antibiotiques de référence ont été utilisés. Ces antibactériens ont été obtenus sous forme de poudre auprès de SIGMA-ALDRICH. En fonction de l'expérience réalisée, chaque composé est dissous dans un solvant approprié ou dans un milieu à une concentration bien précise. La Tétracycline (T7660-5G), l'Ampicilline (A0165-5G), la Gentamicine (PHR1077-1G) et la Streptomycine (S6501-5G) ont montré une activité antibactérienne *in vitro* avérée contre les bactéries infectantes (*P. burhodogranareia* et *S. marcescens*). De ce fait, ces antibiotiques ont été dissous dans une solution de sucre 5% et administrés comme traitement aux mouches infectées. L'érythromycine (E5389-5G), à laquelle *S. marcescens* et *P. burhodogranareia* sont naturellement résistantes, a été utilisée comme

agent sélectif. Elle a été incorporée dans la gélose Luria-Bertani (LB) à une concentration de 5 µg/mL pour isoler ces bactéries de la flore microbienne des mouches après l'infection.

2.1.2.2. Milieux de cultures et autres produits employés

Dans cette étude, deux types de milieux de culture ont été utilisés : les milieux Luria-Bertani (LB) solide et liquide (SIGMA ALDRICH, L3147-1KG) et le bouillon Mueller-Hinton (MH, SIGMA ALDRICH, 90922). La gélose LB a servi pour le repiquage régulier des souches et pour évaluer la charge bactérienne en Unités Formants Colonies par millilitre (UFC/mL). Elle favorise une croissance rapide des bactéries. Le bouillon LB a été utilisé pour les cultures bactériennes en milieu liquide. Le milieu MH, quant à lui, a été utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques. La plupart des composés sont dissous dans de l'eau distillée et le tampon PBS (Phosphate Buffered Saline, SIGMA ALDRICH, 806552) a été utilisé pour les dilutions.

2.1.3. Matériel technique

Le matériel technique comprenait divers équipements essentiels utilisés au cours des différentes étapes de l'expérimentation. En plus du matériel standard et des consommables courants en bactériologie, des équipements spécifiques ont été nécessaires pour l'injection et l'élevage des insectes (Tableau II). Quelques photographies du matériel technique sont présentées en annexe 2.

Matériel et Méthodes

Tableau II : Description des appareils et équipements utilisés

Matériel	Références	Description
Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) Type II	TechGen	Cet équipement offre une protection en trois volets : elle protège l'opérateur par aspiration de l'air contaminé, préserve l'environnement en filtrant l'air de l'enceinte, et protège le produit manipulé par un flux d'air descendant.
Lecteur microplaque multi-mode RUO Syner	FISCHER SCIENTIFIC, 17134534	Il permet de mesurer la Densité Optique (DO) de la suspension bactérienne, ce qui permet d'estimer la charge bactérienne.
Nanoinjecteur Nanoject III	Drummond (3-000-207)	Utilisé pour l'infection des drosophiles. Il permet d'injecter un nano-volume dans la mouche
Incubateur pour drosophile	Memmert	Maintient des stocks de mouches à une température de 25°C, avec 60% d'humidité et avec un cycle jour/ nuit de 12h/ 12h.
Microscope stéréoscopique	Stemi 305	Observation détaillée : facilite le tri et une manipulation minutieuse des mouches
Centrifugeuse	SIGMA 2-16P®	Cet appareil est utilisé dans la séparation et la purification des extraits d'hémolymphes et du culot bactérien
Microseringue	Hamilton 7000 series	Utilisée pour l'injection d'un micro-volume (0,5-25 µL) : elle a été employée dans l'immunisation des coléoptères.
Etireur de capillaire	MODEL PP-830	Cette machine permet d'allonger et affiner des tubes capillaires en verre pour l'injection des drosophiles

2.2. Méthodes

2.2.1. Enquête ethnobiologique sur les insectes médicinaux dans trois villes de la Côte d'Ivoire

2.2.1.1. Approches éthiques

Avant de commencer cette étude, un protocole détaillé a été préparé en collaboration avec des représentants de la communauté pour intégrer les considérations éthiques. La sensibilité culturelle a été le pilier central de cette approche. Des dialogues ouverts et transparents ont été initiés avec les leaders communautaires pour garantir le respect des traditions locales, prévenir toute forme d'exploitation et assurer une utilisation responsable des données collectées. Chaque participant a également reçu une explication détaillée de l'étude, ses objectifs, sa méthodologie et l'utilisation des informations recueillies. Leur consentement, librement donné et éclairé, a été obtenu avant leur participation à l'enquête. Des mesures strictes d'anonymisation et de confidentialité ont été mises en place pour garantir la sécurité des données personnelles.

2.2.1.2. Collecte de données

Entre mars et août 2022, une enquête de terrain a été menée au sein des ménages situés dans les trois villes. Une sélection aléatoire de ménages a été effectuée dans différents quartiers et des informateurs clés, âgés de plus de 18 ans, ont été sélectionnés au sein de ces ménages. L'objectif principal de cette enquête était d'évaluer la compréhension et l'usage répandu de l'entomothérapie, de dresser une liste des insectes utilisés comme remèdes, et de comprendre les différentes méthodes de préparation, d'administration, ainsi que les motivations et les résultats perçus liés à ces pratiques.

Un questionnaire structuré, conçu pour couvrir un large éventail de sujets, a été administré aux participants. En plus de recueillir des informations sociodémographiques telles que le genre, l'âge, l'ethnie, l'occupation et le niveau d'étude, le formulaire abordait également les aspects suivants : types d'insectes utilisés, pathologies traitées, méthodes de préparation et d'administration, conditions d'utilisation, ainsi que les retours d'expérience des utilisateurs classés selon leur niveau de satisfaction (insatisfait, quelque peu satisfait, satisfait et très satisfait). Des entretiens individuels, ont été menés principalement en français, avec l'aide d'un interprète compétent, lorsque cela était nécessaire. De plus, une feuille contenant des photographies illustrant certains insectes médicinaux et leurs produits a été fournie pour compléter le questionnaire. Les réponses obtenues ont été collectées conformément au questionnaire pour garantir une collecte de données précise et exhaustive. Enfin, les spécimens

d'insectes mentionnés ont été collectés et conservés dans de l'alcool pour identification en étroite collaboration avec des entomologistes.

2.2.2. Étude de la réponse immunitaire et de l'activité antibactérienne de l'hémolymphe des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis* infectées par des bactéries

2.2.2.1. Immunisation des larves

Les larves du dernier stade larvaire, ont été immunisées à l'aide d'un mélange d'*Escherichia coli* E1 et de *Staphylococcus aureus* S1, selon la méthode décrite par Knutelski *et al.* (2021). Ainsi, les bactéries préalablement conservées à -80 °C, ont été réactivées en étant cultivées sur le milieu gélosé Luria-Bertani (LB) pendant 16 heures à 37 °C. Ensuite, une colonie de chaque culture bactérienne a été prélevée et inoculée dans 10 mL de bouillon LB, puis incubée sous agitation à 600 rpm et 37 °C pendant 17 heures. Cent microlitres de cette pré-culture ont été de nouveauensemencés dans 10 mL de LB et incubés pendant 3 heures sous agitation à 600 rpm. Après centrifugation, le culot bactérien a été lavé, resuspendu dans 10 mL de tampon PBS (Phosphate-Buffered Saline), et diluée jusqu'à une concentration d'environ 10^3 UFC/mL ($DO_{600} = 0,0001$). Avant l'injection, les inocula provenant des deux bactéries ont été mélangés. Pour l'injection, les larves ont d'abord été anesthésiées sur de la glace pendant 10 minutes afin de minimiser le stress et de faciliter la manipulation. Ensuite, elles ont été immunisées avec 5 μ L du mélange d'inoculum bactérien (1:1, v/v) à l'aide d'une micro-seringue Hamilton (diamètre 0,35 mm, longueur 40 mm) par ponction abdominale. Les individus ainsi traités ont été placés dans des bacs contenant de la nourriture et conservés sous une hotte ventilée pendant 24 heures. Des larves injectées avec du PBS stérile ont servi de témoins à toutes les étapes de l'étude.

2.2.2.2. Collecte de l'hémolymphe

Pour le prélèvement de l'hémolymphe les larves ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet pour éliminer les débris alimentaires, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 0,5 % (dans de l'eau distillée, v/v) et de l'éthanol à 70 % (dans de l'eau distillée, v/v). Ensuite, elles ont été anesthésiées sur de la glace, et percées entre le dernier et l'avant-dernier métamère avec une aiguille stérile. L'hémolymphe a été recueilli dans des tubes eppendorfs stériles en présence du dithiothréitol (DTT). Chaque expérience a été réalisée en regroupant des échantillons d'hémolymphe prélevés sur 20 larves.

2.2.2.3. Purification de l'hémolymph

Les extraits d'hémolymph ont été soumis à deux centrifugations successives afin de précipiter et éliminer les protéines de grande taille ainsi que d'autres composés volumineux. La première centrifugation a été réalisée à 10 000 xg pendant 15 minutes à 4 °C, après quoi le surnageant a été récupéré et le culot contenant les grosses protéines a été éliminé. Une deuxième centrifugation a ensuite été effectuée à 16 000 xg pendant 30 minutes à 4 °C. Pour chaque échantillon, la phase supérieure, concentrée en peptides antimicrobiens, a été collectée et conservée à -80 °C.

2.2.2.4. Mesure de Degré Brix (DB)

L'extrait sec des différents échantillons d'hémolymph a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre pour évaluer la concentration des solutés dissous. Pour ce faire, une goutte de chaque extrait, obtenue après les étapes de centrifugation, a été déposée sur le prisme du réfractomètre. Le réfractomètre a ensuite été orienté vers une source de lumière afin de permettre la lecture du degré Brix, qui indique le taux d'extrait sec de l'échantillon.

2.2.2.5. Détermination de la concentration en protéines solubles

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de Bradford, une technique bien établie pour la quantification des protéines (Scieuzo *et al.*, 2023). Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation du bleu brillant de Coomassie, un colorant qui absorbe initialement à 470 nm. Lorsqu'il se lie spécifiquement aux protéines qui absorbent à 280 nm, un complexe se forme et absorbe spécifiquement à 595 nm. Cette propriété permet de mesurer précisément la concentration des protéines dans une solution.

Pour ce faire, une gamme étalon de sérum albumine a été préparée avec des concentrations de 0, 20, 40, 60, 80 et 100 µg de protéines par tube, à partir d'une solution mère à 1 mg/mL. Cette gamme étalon a servi de référence pour établir la courbe d'étalonnage, essentielle pour la détermination précise des concentrations de protéines inconnues dans les échantillons expérimentaux.

2.2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits d'hémolymph a été évaluée qualitativement à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose, et quantitativement par la technique de dilution en milieu liquide suivie d'un ensemencement en stries sur gélose, conformément aux normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM/EUCAST, 2023).

2.2.2.6.1. Détection de l'activité par diffusion sur un milieu gélosé

Cette technique permet de détecter la présence d'inhibition de croissance bactérienne par diffusion de composés antibactériens sur le milieu gélosé Mueller Hinton. Les tests ont été réalisés sur les six (06) souches bactériennes présentées dans le tableau I. Environ 20 mL du milieu gélosé Mueller Hinton sont coulés dans une boîte de Pétri (90 mm de diamètre). Après solidification, le milieu est ensemencé avec un inoculum bactérien d'opacité équivalente à 0,5 Mc Farland. Ensuite, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés par aspiration à vide à l'aide d'une pipette pasteur en verre stérile. Dans chaque puits est déposé 50 µL des différents extraits d'hémolymphes à tester à une concentration de 100 mg/mL préparé dans un mélange de Tween/eau (1 :10). L'incubation des boîtes s'est faite pendant 24 heures à 37 °C. Un témoin constitué uniquement du mélange Tween/eau (1 :10) a été réalisé en parallèle pour s'assurer de la non toxicité de l'émulsifiant (Tween 20). L'inhibition de la croissance est détectée par la présence d'un halo d'inhibition autour des puits contenant les échantillons à tester. L'importance de l'inhibition est évaluée par mesure de la taille du halo d'inhibition (diamètre d'inhibition) à l'aide du logiciel ImageJ.exe (Shumbula *et al.*, 2024).

2.2.2.6.2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'hémolymphes via un milieu liquide

Le test de microdilution en milieu liquide a permis de déterminer les paramètres d'inhibition de croissance bactérienne notamment la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB). Un inoculum bactérien standardisé à une concentration de 10^5 UFC/mL a été préparé à partir d'une culture bactérienne de 16 heures dans le bouillon Mueller-Hinton. Un millilitre de cet inoculum a été ajouté à une série de tubes numérotés de 1 à 8. Dans le premier tube, 200 mg de l'extrait d'hémolymphes ont été ajoutés, puis le volume a été complété à 2 mL avec la suspension bactérienne. À partir de cette concentration initiale, une série de dilutions successives en facteur 2 a été effectuée pour obtenir huit concentrations décroissantes (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 et 0,78 mg/mL). Les tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37 °C. La plus faible concentration d'agent antimicrobien dans la série de dilutions pour laquelle aucun signe de croissance (turbidité ou culot bactérien) n'a été observé a été considérée comme la CMI.

Après lecture de la CMI, la gélose Mueller Hinton a été coulée dans des boîtes de pétri et ensemencée en stries par 100 µL des contenus des tubes ayant une concentration supérieure à la CMI dans la série de dilution précédente. Dans les mêmes conditions, des dilutions décimales

de l'inoculum de départ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) ont été effectuées etensemencée. La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est déterminée après une incubation des boîtes à 37 °C pendant 24 heures. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance. L'effet antibactérien a été jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport CMB/CMI. Ainsi, l'extrait est considéré comme bactéricide lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4, et comme bactériostatique lorsque ce rapport est supérieur à 4 (Karimou *et al.*, 2024 ; Mascary, 2023).

2.2.3. Mise en place du modèle d'infection bactérienne chez l'espèce *Drosophila melanogaster*

2.2.3.1. Elevage des drosophiles

Les mouches mâles et femelles sont élevées ensemble dans un incubateur, maintenu à une température constante de 25°C, une humidité relative de 60 %, et un cycle jour/nuit de 12 heures chacun. Les drosophiles sont hébergées dans des tubes spécialisés de 95 mm de hauteur et 22,5 mm de diamètre. Ces tubes contiennent un milieu nutritif, constitué de gélose standard, qui remplit environ un quart du tube et comprend :

- Farine de maïs (74 g/L), fournissant des glucides complexes ;
- Sucre (40 g/L), apportant une source d'énergie rapide ;
- Levure (28 g/L), source de protéines et de vitamines ;
- Agar (8 g/L), pour la solidification du milieu ;
- Acide propionique (3 g/L), utilisé comme conservateur pour prévenir la croissance des moisissures ;
- Moldex (10 mL/L), un agent antifongique pour maintenir la stérilité du milieu.

Le milieu nutritif est renouvelé toutes les semaines pour garantir un apport constant en nutriments et maintenir des conditions de croissance optimales. Les tubes sont régulièrement inspectés pour éviter l'accumulation de moisissures ou autres contaminants et assurer un environnement sain pour le développement des drosophiles.

2.2.3.2. Culture bactérienne

Les souches bactériennes sont conservées en triplicata à -80°C dans des cryotubes contenant une solution de glycérol à 50 %. Pour la culture et l'entretien régulier, les bactéries sontensemencées sur un milieu solide non sélectif Luria-Bertani (LB Miller, SIGMA ALDRICH) et incubées à 37°C pendant environ 17 heures pour permettre une croissance optimale. Après l'incubation, les boîtesensemencées sont conservées au réfrigérateur à 4°C pour éviter la

surcroissance et maintenir la viabilité des bactéries. Chaque semaine, les cultures sont repiquées sur milieu solide LB pour revitaliser les souches. Le nombre de passages sur gélose est limité à quatre pour préserver la stabilité génétique et la pureté des cultures. Pour des applications expérimentales, une colonie sélectionnée de ces cultures est transférée dans un milieu liquide LB. Cette culture liquide est incubée à 37°C pendant une nuit avec agitation pour favoriser une croissance homogène et optimale des bactéries.

2.2.3.3. Tests préliminaires

2.2.3.3.1. Standardisation de la culture bactérienne

Cette expérience visait à établir une corrélation entre la Densité Optique (DO) de chaque souche bactérienne étudiée et la concentration bactérienne en Unités Formant Colonies par millilitre de suspension (UFC/mL) (Figure 12).

Conformément à la section 2.2.3.2, une colonie de chaque souche bactérienne a été inoculée dans 3 mL de milieu liquide LB et incubée à 37 °C pendant une nuit. Cette culture bactérienne a ensuite été diluée en série par facteurs de 10 jusqu'à une dilution finale de 10^{-9} . Deux cents microlitres de chaque suspension diluée ont été transférés dans une plaque à 96 puits, et la densité optique (DO) a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque. Parallèlement, 10 μ L de chaque suspension diluée ont étéensemencés en quintuple sur gélose LB. Le jour suivant, le nombre de colonies sur la gélose a été compté pour déterminer la concentration bactérienne en unités formant colonies par millilitre (UFC/mL). Une courbe représentant l'évolution du nombre d'UFC en fonction de la densité optique (DO) a permis de déterminer une équation de régression. Cette équation est utilisée pour calculer la concentration bactérienne en UFC/mL dans une suspension à partir de sa densité optique mesurée, et inversement.

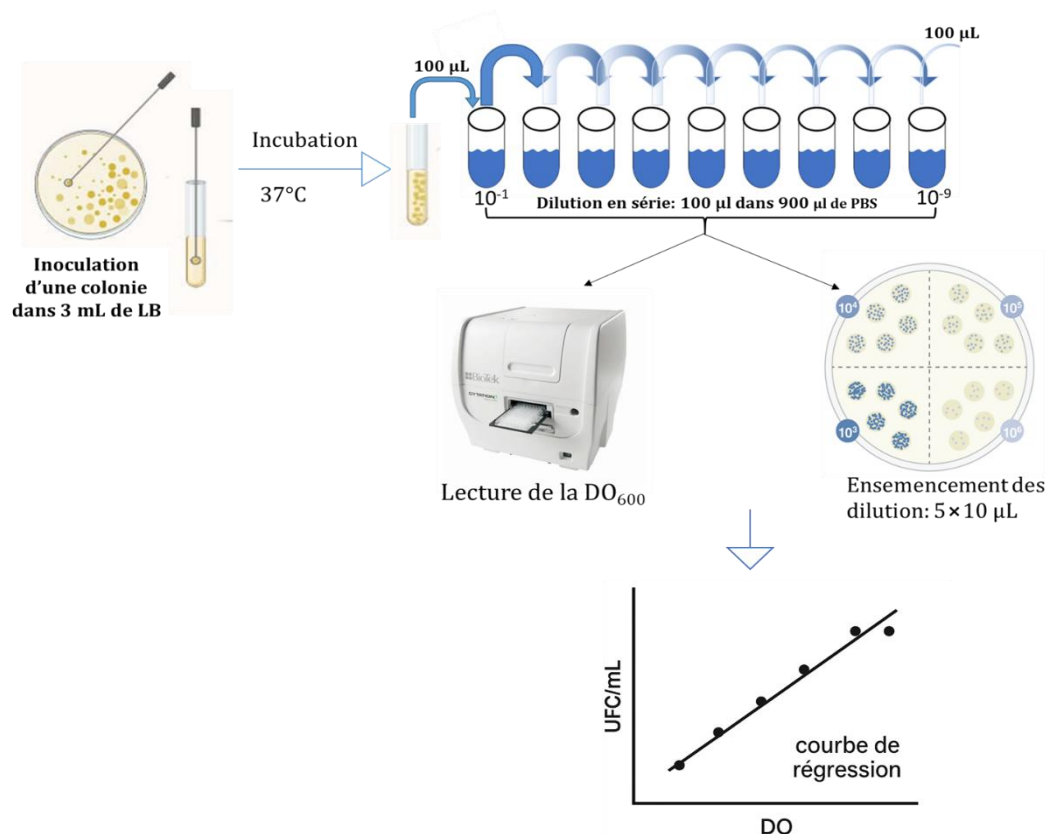


Figure 12: Méthode de standardisation de la culture bactérienne

2.2.3.3.2. Sélection des composés antibactériens utilisés dans le modèle

Les antibiotiques et produits naturels testés sur le modèle ont d'abord été évalués pour leur activité antibactérienne *in vitro*. Cette expérience a été réalisée conformément aux normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM/EUCAST, 2023). Cela a consisté en la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des composés antimicrobiens sur chaque souche bactérienne étudiée selon Carrol *et al.* (2020). La CMI étant définie comme la plus faible concentration capable d'inhiber au moins 90 % de la croissance bactérienne par rapport au contrôle, caractérisée par une absence visuelle de turbidité dans le puits.

Pour effectuer ce test, une culture bactérienne de 18 heures a été préparée dans le milieu liquide LB. Elle a ensuite été standardisée à une concentration de $5 \cdot 10^5$ UFC/mL dans le milieu Mueller Hinton (MH), conformément à la droite de régression précédemment établie. Les composés antibactériens notamment les antibiotiques de référence ont été testés à différentes gammes de concentrations allant de 0,5 à 64 µg/mL, à l'aide de dilutions en série. Chaque série de tests comprenait des contrôles appropriés, notamment un contrôle négatif (culture bactérienne non

traitée), un contrôle du milieu Mueller Hinton pour s'assurer de sa stérilité et un contrôle de solvant dans lequel est dissout l'antibiotique. La Densité Optique (DO₆₀₀) a été mesurée dans les différents puits au temps t=0 et après 18 heures d'incubation des plaques à 37°C.

Le pourcentage d'inhibition de croissance a été déterminé à partir de la formule suivante :

$$\% inhibition = (1 - \frac{DO_{t18} - DO_{t0}}{moy(DO_{solv,t18} - DO_{solv,t0})})100$$

DO_{t18} et DO_{t0} : Densités optiques (DO₆₀₀) des puits du composé testé après 18h ou 0h d'incubation ; DO_{solv,t18} et DO_{solv,t0} : Densités optiques à 600 nm des puits du solvant après 18h ou 0h.

Le chlorure d'iodonitrotétrazolium (INT) (SIGMA ALDRICH I8377-1G) a été utilisé pour vérifier l'inhibition de croissance dans les cas où les composés colorés pourraient altérer la valeur de la densité optique (Štumpf *et al.*, 2020). L'INT est un indicateur métabolique qui, en présence de bactéries vivantes, est réduit en un formazan rouge insoluble. Cette coloration rouge permet de visualiser facilement les bactéries viables dans les puits, rendant ainsi possible l'évaluation de l'effet du produit testé sur la croissance bactérienne. Grâce à cette méthode, il est possible de distinguer les puits où la croissance bactérienne a été inhibée de ceux où elle a été maintenue, même en présence de composés colorés.

2.2.3.4. Infection des mouches

2.2.3.4.1. Préparation de la suspension bactérienne

L'inoculum injecté a été préparé à partir d'une culture bactérienne de 16 heures dans le milieu liquide LB selon la méthode décrite par Khalil *et al.* (2015) (Figure 13). La culture initiale a d'abord été centrifugée à 6000 xg pendant 5 minutes pour obtenir un culot bactérien, le surnageant étant éliminé. Le dépôt a ensuite été resuspendu dans du tampon PBS 1x pour préparer la suspension mère. Cette suspension a été standardisée par des dilutions appropriées pour atteindre les densités optiques souhaitées à 600 nm.

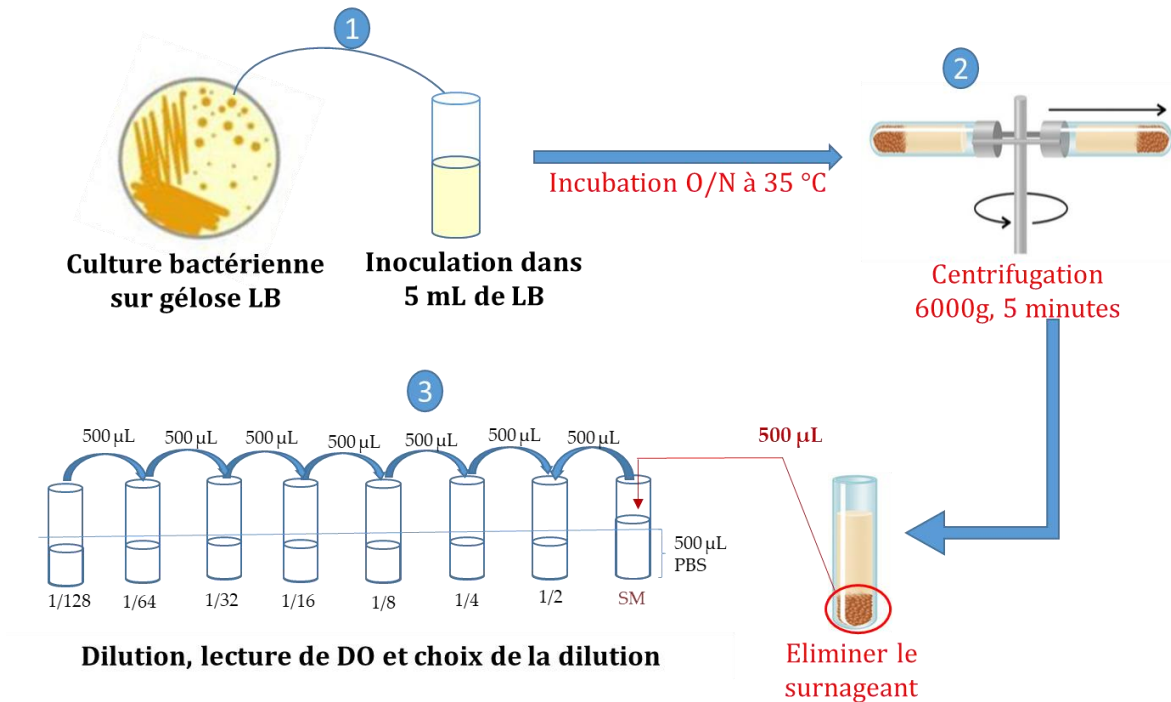


Figure 13: Méthode de préparation de la suspension bactérienne pour l'injection

2.2.3.4.2. Injection de la suspension bactérienne

L'injection a été réalisée dans l'abdomen des mouches sous une loupe binoculaire à l'aide du nano-injecteur programmable Nanoject III (Figure 14). Les mouches préalablement anesthésiées sous flux de CO₂ ont reçu chacune un volume de 23 nL de suspension bactérienne, délivré à une vitesse de 200 nL/sec. Après infection, les mouches ont été transférées directement dans des boîtes contenant leur aliment standard. Dans les expériences où l'on cherchait à étudier l'impact de l'infection sur l'hôte, les mouches injectées avec du PBS ont servi de témoins. Selon l'expérience réalisée, la survie des mouches et l'évolution de la charge bactérienne post-injection ont été étudiées.

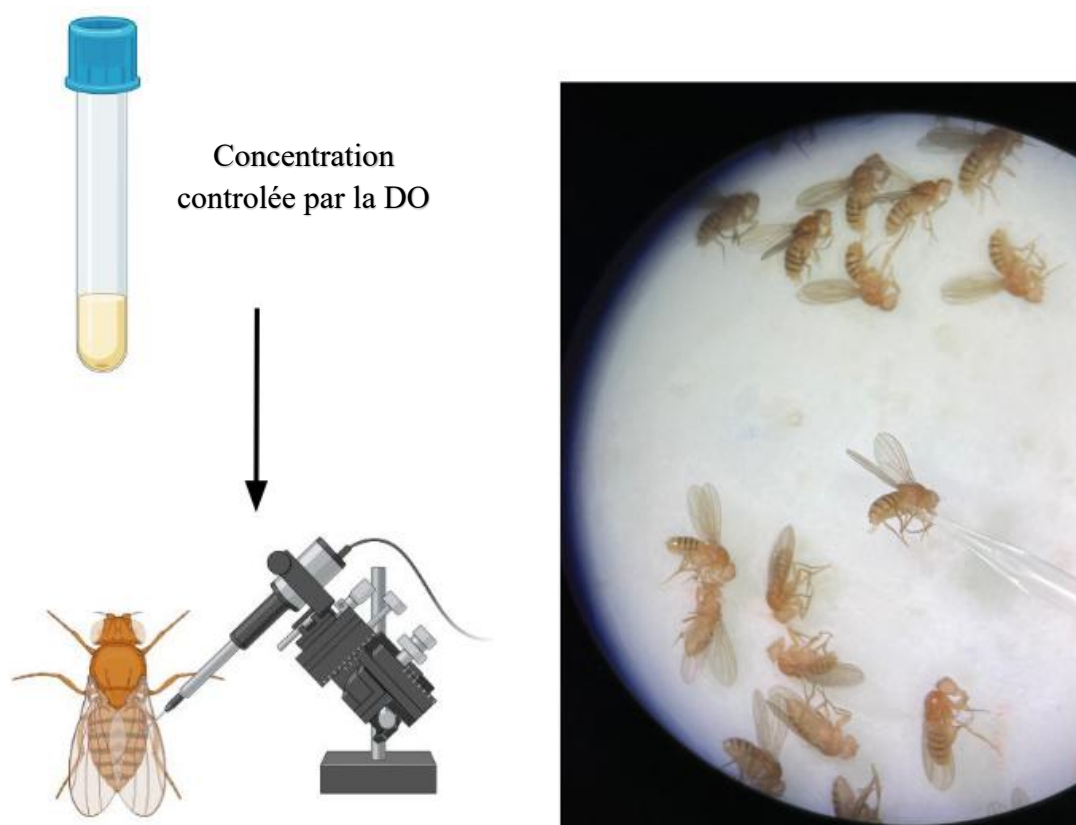


Figure 14: Injection de la suspension bactérienne

2.2.3.4.3. Suivi de la survie post-injection

La survie des mouches a été suivie pendant une à deux semaines après l'infection ou traitement. Chaque jour, les mouches mortes ont été retirées de leur habitat et dénombrées afin de mesurer précisément la mortalité quotidienne et d'évaluer l'impact de l'infection sur la viabilité des mouches.

2.2.3.4.4. Évaluation de la charge bactérienne post-injection

Pour suivre la croissance bactérienne à l'intérieur des mouches, la charge bactérienne a été évaluée à différents temps post-injection. Pour ce faire, 10 à 20 mouches ont été prises au hasard dans la population des mouches infectées vivantes, puis broyées individuellement dans 250 μL de PBS dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL. Le broyat a été transféré dans une plaque de 96 puits et les dilutions appropriées ont été effectuées. Le contenu de chaque puits a ensuite étéensemencé (cinq fois 5 μL) sur gélose LB enrichie à l'érythromycine (5 $\mu\text{g/mL}$) pour sélectionner la bactérie d'intérêt, *P. burhodogranariea* ou *S. marcescens*. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant environ 17 heures, après quoi les colonies émergentes ont été

dénombrées afin d'estimer la charge bactérienne en Unités Formant Colonie par millilitre (UFC/mL).

2.2.3.4.5. Méthode de traitement des mouches infectées

Les antibiotiques et les produits naturels ont été dissous dans un solvant approprié (eau distillée ou éthanol) pour préparer une solution concentrée (50 ou 100 mg/mL), puis dilués dans une solution de sucrose à 5 % pour atteindre les concentrations expérimentales souhaitées. Un volume de 100 µL de cette solution a ensuite été appliqué sur un carré de papier absorbant Whatman (1,5 cm x 1,5 cm) placé au fond d'un tube à drosophiles. Les mouches infectées ont été exposées à cette solution pendant cinq heures par jour, après une période de jeûne de deux heures, sur une durée de trois à neuf jours, en fonction des protocoles expérimentaux. Un témoin a été constitué en utilisant une solution de sucrose à 5 % sans antibiotiques ni produits naturels. À la fin de chaque période d'exposition, les mouches ont été replacées dans leurs tubes d'origine contenant de la nourriture standard. Comme dans la méthode précédente, les mouches mortes et vivantes sont dénombrées chaque jour et la charge bactérienne a été évaluée à différents, temps post-traitement.

2.2.4. Traitement des données et analyses statistiques

Le logiciel Sphinx (v. 4.5) a été utilisé pour la conception du questionnaire, la saisie et le pré-traitement des données. Ces données ont ensuite été exportées vers Excel (v. 2016), puis analysées sous R (v. 4.2.2) via RStudio. Divers packages R, tels que *questionr*, *gtsummary*, *ggplot2* et *GGally*, ont été utilisés pour générer des tableaux de contingence. Des tests d'indépendance entre les variables ont été effectués à l'aide du test du chi carré (χ^2), et les résidus de Pearson ont permis d'identifier les proportions statistiquement significatives. Par ailleurs, une analyse de variance (ANOVA à un facteur) a été réalisée pour évaluer les différences significatives entre les diamètres des zones d'inhibition, suivie du test post-hoc de Tukey pour des comparaisons multiples, mettant en évidence les groupes présentant des différences significatives. Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes $\pm$ écart-type, avec un seuil de significativité statistique fixé à $P < 0,05$, indiquant une probabilité inférieure à 5 % que les résultats observés soient dus au hasard.

Concernant les données du modèle d'infection, l'analyse a été effectuée avec le logiciel GraphPad Prism (version 10). Les courbes de survie des différents groupes ont été comparées à l'aide du test non paramétrique de Log-Rank (Mantel-Cox), où l'hypothèse nulle (H_0) stipule l'absence de différence de survie entre les groupes, et l'hypothèse alternative (H_1) propose

l'existence d'une différence significative. Le Log Hazard Ratio (HR) et son intervalle de confiance à 95 % ont été calculés pour visualiser plus précisément les écarts entre les groupes, en tenant compte de la répliquabilité des expériences. Pour l'évaluation de la charge bactérienne, une ANOVA unidirectionnelle a été réalisée lorsque les données remplissaient les conditions nécessaires (normalité validée par le test de Kolmogorov-Smirnov et homoscedasticité confirmée par le test de Bartlett). Un test post-hoc de Tukey a ensuite été utilisé pour des comparaisons deux à deux entre les moyennes. Si les conditions de normalité n'étaient pas remplies, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis, suivi du test post-hoc de Dunn, a été employé. Dans ces analyses, l'hypothèse nulle (H_0) stipule l'absence de différence significative entre les médianes des groupes, tandis que l'hypothèse alternative (H_1) indique qu'au moins une différence significative existe entre les échantillons.

Troisième partie : Résultats et Discussion

3.1. Résultats

3.1.1. Pratiques et perceptions de l'entomothérapie dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa

3.1.1.1. Caractéristiques sociodémographiques des participants

L'étude a impliqué un total de 612 participants répartis comme suit : 208 à Daloa, 303 à Bouaké et 101 à Bondoukou (Tableau III). Ces participants, âgés de 18 à 80 ans, avaient un âge moyen de 42,5 ans et un âge médian de 43 ans. Ils appartenaient à 32 ethnies distinctes regroupés en cinq catégories, parmi lesquelles les Akans (29,73 %) et les Voltaïques (25,32 %) étaient les plus représentés. Plus précisément, les Baoulés (21,0 %), les Agnis (3,4 %) et les Abrons (2,1 %) étaient les groupes les plus représentés parmi les Akans, tandis que les Sénoufos (8,5 %), les Lobis (7,0 %) et les Koulangos (6,5 %) prédominaient parmi les Voltaïques. En outre, d'autres groupes ethniques tels que les Mandés (Malinkés, Bambaras et Dioulas) et les Krous (Bétés, Yacoubas, Wè, Didas et Gouros) ont été enregistrés en nombre significatif, représentant respectivement 20,3 % et 13,9 %. Le groupe des étrangers (citoyens non-ivoiriens), composé d'individus originaires de pays de la sous-région ouest-africaine, notamment le Burkina Faso, le Mali, la Guinée et le Bénin, représentait 10,8 % (n=66) de la population interrogée. Les participants appartenaient à diverses professions et plus d'un tiers d'entre eux (34 %) n'avaient reçu aucune éducation formelle.

Résultats et discussion

Tableau III : Caractéristiques sociodémographiques des informateurs

Caractéristiques	Effectif	pourcentage (%)
Sexe		
Homme	303	49,5
Femme	309	50,5
Age		
18-30 ans	111	18,1
31-45 ans	262	42,8
46-60 ans	181	29,5
Plus de 60 ans	58	9,4
Niveau d'étude		
Illettré	208	34,0
Primaire	137	22,4
Secondaire	164	26,8
Supérieur	103	16,8
Groupe ethnique		
Akan	182	29,7
Mandé	124	20,3
Voltaïque	155	25,3
Krou	85	13,9
Etranger	66	10,8
Profession		
Agriculteurs	93	15,2
Commerçants	148	24,2
Artisans	104	17,0
Elèves & Etudiants	56	9,1
Sans emplois	113	18,5
Retraités	11	1,8
Fonctionnaires	87	14,2
Localité		
Bondoukou	101	16,5
Bouaké	303	49,5
Daloa	208	34,0

3.1.1.2. Connaissance de l'entomothérapie par les individus interrogés

Parmi tous les participants à l'étude, seuls 87 individus, soit 14 % des personnes interrogées, possèdent des connaissances sur l'entomothérapie ou l'utilisation des insectes à des fins médicinales. Une analyse statistique utilisant le test du chi carré (χ^2) a révélé une corrélation significative entre ces connaissances et la position géographique des répondants ($\chi^2 = 27,145$, ddl = 2, valeur de $p = 1,275 \times 10^{-6}$) : les habitants de la région de Bondoukou présentent un niveau d'information plus élevé (30,7 %) par rapport aux autres régions (Figure 16). De plus, cette disparité de connaissances est remarquable en ce qui concerne l'âge ($\chi^2 = 8,347$, ddl = 3, valeur de $p = 0,03936$), l'appartenance ethnique ($\chi^2 = 20,208$, ddl = 4, valeur de $p = 0,00045$) et les occupations des répondants ($\chi^2 = 15,011$, ddl = 6, valeur de $p = 0,02017$). Par exemple, les individus plus âgés semblent posséder une compréhension plus approfondie, avec des taux de 18,2 % pour le groupe d'âge de 46 à 60 ans et de 20,7 % pour ceux de plus de 60 ans. En ce qui concerne le groupe ethnique, les groupes Voltaïque et Akan se distinguent avec des niveaux de connaissance respectifs de 22,6 % et 17 %. Au niveau des professions, les agriculteurs et les chômeurs étaient les plus informés, affichant des taux de 22,8 % et 19,5 %, respectivement. Enfin, les participants ont indiqué que leurs connaissances sur les insectes médicinaux proviennent principalement de la transmission familiale (71 %) et des cercles sociaux (29 %).

Résultats et discussion

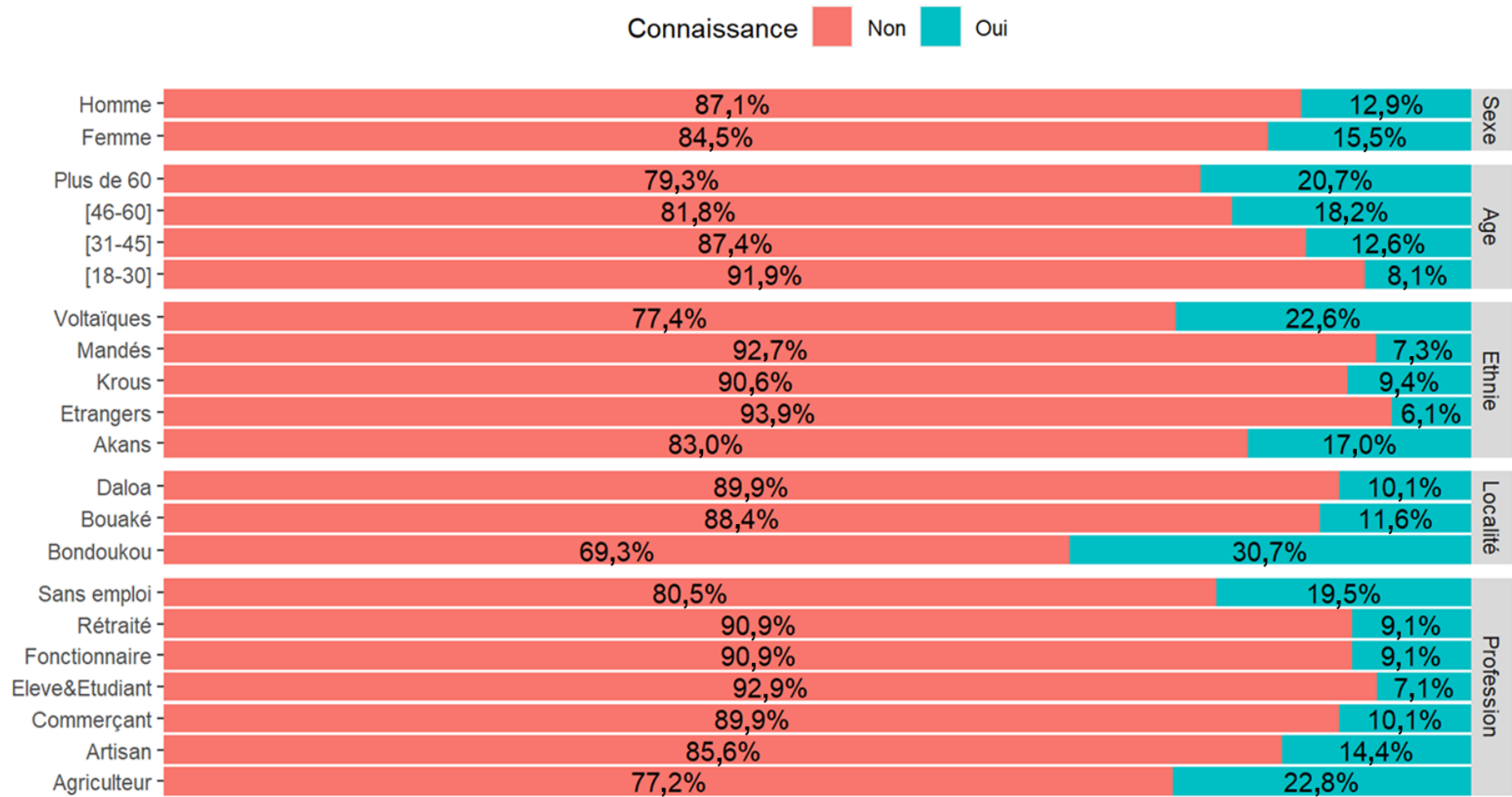


Figure 15 : Connaissance de l'entomothérapie en fonction de l'âge, du sexe, de la localité, de la profession et du groupe ethnique

3.1.1.3. Pratique de l'entomothérapie par les individus interrogés

Parmi les répondants connaissant les insectes médicinaux, près de la moitié ($n = 42$, 48 %) ont déjà eu recours à cette thérapie. Cependant, son usage reste occasionnel pour la majorité : 42,5 % l'ont utilisée une fois et 37,5 % deux fois au cours de leur vie. Seuls 20 % des utilisateurs y ont eu recours trois fois ou plus.

Malgré son utilisation peu régulière, les remèdes à base d'insectes ont été généralement bien accueillis. En effet, environ 90,24 % des personnes ayant utilisé ces traitements se sont dites satisfaites. Parmi ces utilisateurs satisfaits, 24,39 % ont même qualifié leur expérience de "très satisfaisante", soulignant ainsi un haut degré d'appréciation et de confiance dans les remèdes à base d'insectes. Cependant, une petite proportion de l'échantillon, environ 9,75 %, a considéré cette approche comme quelque peu insatisfaisante.

Il est important de noter qu'aucun effet indésirable n'a été signalé pour les insectes autres que les fourmis. Les répondants ayant utilisé des fourmis pour traiter les maladies infantiles ont rapporté que des traitements prolongés de plus d'un mois pourraient entraîner des changements comportementaux graves chez l'enfant, notamment une agitation marquée.

3.1.1.4. Insectes médicinaux répertoriés et leurs bienfaits thérapeutiques

Au total, 10 espèces d'insectes médicinaux ont été mentionnées par les 87 répondants familiers à cette pratique (Tableau IV). Parmi ceux-ci, 74 individus ont mentionné une seule espèce, 10 ont mentionné deux espèces différentes et seulement 3 répondants ont pu identifier jusqu'à trois espèces d'insectes médicinaux.

Les espèces répertoriées sont réparties entre six ordres et huit familles distinctes. Parmi ces ordres, les Hyménoptères se distinguent comme les plus représentés, avec trois familles : les Apidés (*Apis mellifera*, UR=15), les Sphecidae (*Sceliphron sp.*, UR=12), et les Formicidés (*Camponotus sp.*, UR=36 ; *Oecophylla smaragdina*, UR=10 ; *Dorylus sp.*, UR=2). D'autres insectes cités appartiennent aux ordres Dictyoptera (*Periplaneta americana*, UR=20), Coleoptera (*Rhynchophorus phoenicis*, UR=3), Isoptera (*Macrotermes subhyalinus*, UR=2), Hemiptera (*Cicada orni*, UR=1), et Mantodea (*Mantis religiosa*, UR=2).

Les insectes ayant un faible nombre de citations ($UR < 3$) sont exclusivement signalés dans une seule localité (Figure 16). Par exemple, la mante religieuse (*Mantis religiosa*, UR=2) est exclusivement mentionnée à Bondoukou, tandis que *Macrotermes subhyalinus* (UR=2) est uniquement cité à Daloa. De plus, des insectes comme *Dorylus sp.* (UR = 2) et *Cicada orni* (UR =1) sont signalés uniquement dans la ville de Bouaké. Seules cinq espèces à savoir *Apis*

Résultats et Discussion

mellifera, *Sceliphron sp.*, *Periplaneta americana*, *Camponotus sp.*, et *Oecophylla longinoda*, ont été mentionnées dans les trois localités, bien que leurs occurrences varient considérablement. Cependant, malgré ces disparités, ces insectes sont utilisés à des fins médicinales similaires indépendamment de la position géographique.

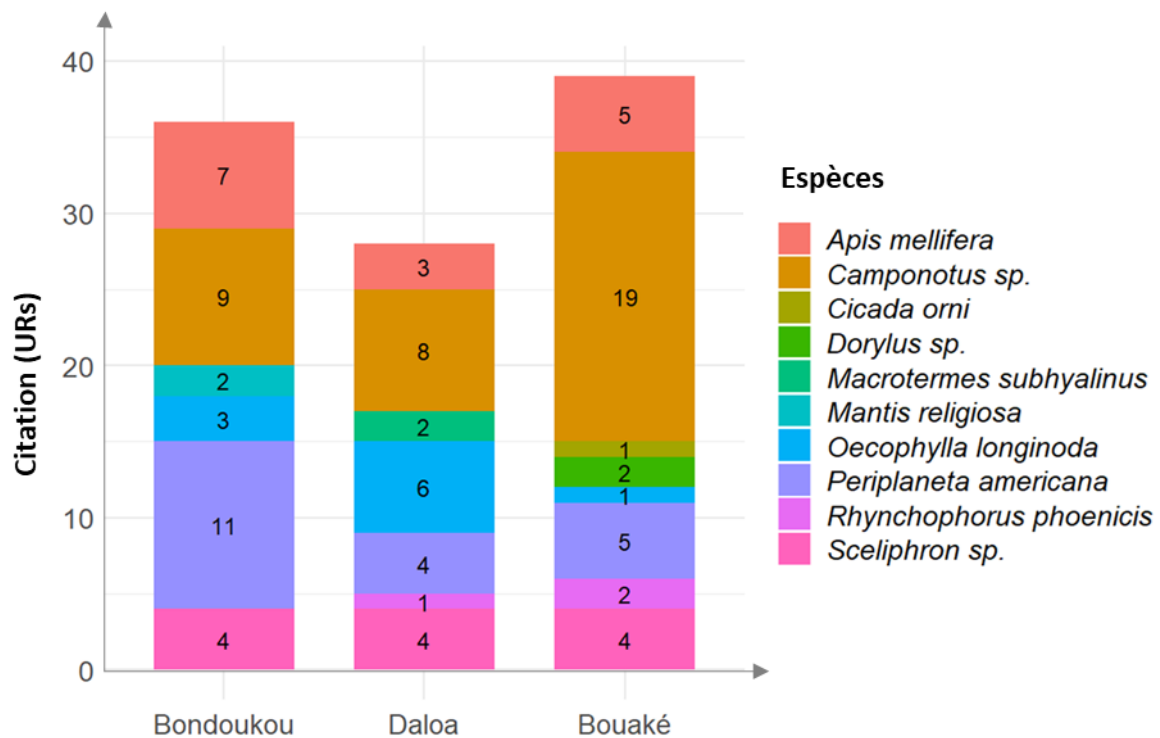


Figure 16 : Citation des espèces en fonction des trois localités enquêtées

Les différentes espèces d'insectes mentionnées et leurs dérivés sont utilisées pour préparer les remèdes de seize (16) pathologies et symptômes distincts. Parmi ces remèdes, les infusions à base de fourmis noires et de fourmis légionnaires (*Camponotus sp.* et *Dorylus sp.*) ont été les plus citées. Ces infusions sont préparées de manière traditionnelle. Ainsi, les fourmis, récoltées, sont broyées sur une pierre en combinaison avec des plantes médicinales locales. Cette mixture est ensuite infusée dans de l'eau tiède, puis filtrée pour obtenir une solution. Cette préparation est administrée aux enfants par voie anale sous forme de purge pour traiter la fièvre, renforcer l'immunité et améliorer la mobilité. Les parents rapportent que cette méthode stimule la marche des enfants et favorise leur développement moteur. De même, l'infusion préparée à partir de la fourmi rouge, *Oecophylla longinoda*, une fourmi redoutée pour sa piqure a été rapportée pour soulager diverses affections telles que la toux, les fièvres et les vomissements. La

Résultats et Discussion

consommation régulière de cet insecte séché, combinée à du manioc cru servirait à traiter les tremblements.

Un autre remède noté est le cataplasme élaboré à partir de la blatte (*Periplaneta americana*), pour traiter diverses affections notamment les infections cutanées et les maux d'oreilles. En effet, la blatte broyée entièrement en pâte fine et mélangée à du beurre de karité est appliquée sur le cordon ombilical des nouveau-nés pour prévenir les infections et accélérer la guérison. Cette formulation est également utilisée pour traiter les maux d'oreilles et les furoncles.

Les larves du charançon du palmier, *Rhynchophorus phoenicis*, connues sous le nom de "chenille du palmier" ou "anonkplin" en langue baoulé, sont consommées sous diverses formes non seulement pour leur valeur nutritive, mais également en raison de croyances thérapeutiques. Selon certains informateurs, la consommation régulière de ces larves par les femmes enceintes pourrait faciliter l'accouchement. De plus, l'hémolymph extraite de ces larves, mélangée à du cœur de palmier écrasé, est utilisée pour traiter les brûlures. D'autres insectes, comme la reine termite *Macrotermes subhyalinus*, la cigale (*Cicada orni*) et la mante religieuse (*Mantis religiosa*), ont des applications spécifiques pour le traitement des hémorroïdes, des maux de dents et des entorses, respectivement.

Outre les insectes eux-mêmes et leurs parties, certains produits dérivés jouent également un rôle crucial dans les pratiques médicales traditionnelles. Ainsi, le miel, élaboré par les abeilles (*Apis mellifera*), est particulièrement valorisé par les informateurs pour ses propriétés apaisantes et curatives. Il est couramment utilisé ou associé à d'autres ingrédients pour soulager les maux de gorge, atténuer les toux et traiter les ulcères d'estomac. De même, le nid de la guêpe maçon est prisé pour ses effets bénéfiques dans le traitement des entorses et des inflammations (Figure 17). Ce nid est pétri avec du beurre de karité et appliqué sur la zone affectée en cataplasme pour les enflures et accompagné de massage pour les entorses.

Résultats et Discussion

Tableau IV : Insectes médicinaux et leurs usages thérapeutiques rapportés dans les trois localités enquêtées

Ordre	Nom scientifique	Organe ou produit utilisé	Nom commun	Nom vernaculaire (Langue locale)	Rapport d'utilisation (UR)	Méthode de préparation	Combiné avec	Administration	Apport thérapeutique
Dictyoptera	<i>Periplaneta americana</i>	Entier (11) Hémolymph (9)	Cafard	Dalèq (Senoufo)	20	Broyer ou presser pour extraire l'hémolymph	Beurre de karité	Topical (poultice, auricular)	-Maux d'oreille (13) -Plaies (5) -Furoncle (2)
Coleoptera	<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	Entier (2) Hémolymph (3)	Charançon du palmier	Anonklin (Baoulé)	3	Soupe ou frais	Cœur du palmier	Consommer cru avec le cœur du palmier	-Accouchement (2) -Brulure (1) -Toux (1)
Hemiptera	<i>Cicada orni</i>	Entier	Cigale	-	1	Vivant	-	Mastiquer avec la dent affectée	Maux de dent (1)
	<i>Apis mellifera</i>	Miel	Abeille (Miel)	Wongô (Koulango)	15	Brute	Jus de citron	Consommer oralement	-Toux (5) -Plaies (5) -Ulcère (3) -Mal de ventre (2)
	<i>Camponotus</i> sp.	Entier	Fourmi noire	Tih-trè (Bété)	36	Broyer infuser dans l'eau tiède pendant 15 minutes et filtrer	Plantes	Purger le filtrat à l'aide d'un purgeoir	-Faire marcher les enfants (13) -Fièvre (11) -Immunité (5)
Hymenoptera	<i>Dorylus</i> sp.	Entier	Grosse fourmi	Danhan (Tagbana)	2	Broyer infuser dans l'eau tiède pendant 15 minutes et filtrer	Plantes	Purger le filtrat	-Améliorer le système immunitaire (2)
	<i>Oecophylla smaragdina</i>	Entier	Fourmi rouge	Kacadjé (Baoulé)	10	-Sécher, réduire en poudre et infuser -cru	Manioc cru (1)	Boire l'infusion ou consommer cru	-Toux (4) -Fièvre (3) -Vomissement (2) -Tremblote (1)

Résultats et Discussion

	<i>Sceliphron</i> sp.	Nid	Guêpe maçonne Nid	Kalankâ (Lobi)	12	Brute	Beurre de karité	Application locale (massage)	-Entorse (8) -Enflure (4)
Isoptera	<i>Macrotermes subhyalinus</i>	Entier	Reine de termite	Louh (Bété)	2	Forme brute	-	Avaler cru	-Hémorroïde (2)
Mantodea	<i>Mantis religiosa</i>	Entier	Mante religieuse	Assi Congo (Baoulé)	2	Vivant	-	Poser sur l'organe affecté	-Entorse (2)

Les valeurs entre parenthèse designent le nombre de citation ou rapport d'utilisation (Use Report)

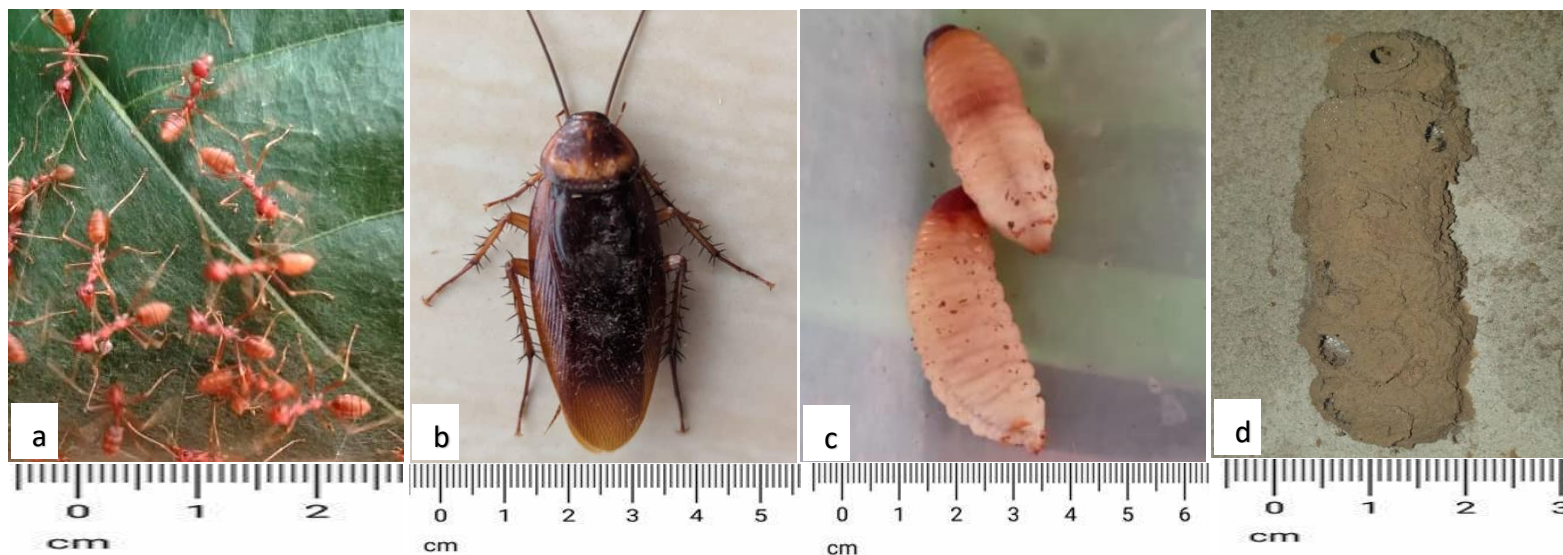


Figure 17 : Photos de quelques insectes médicinaux ainsi que leurs produits dérivés répertoriés dans les trois localités.

a: *Oecophylla longinoda*; **b:** *Periplaneta americana*; **c:** *Rhynchophorus phoenicis*; **d:** nid de *Sceliphron* sp.

3.1.1.5. Formes d'utilisation et modes d'administration

La majorité des préparations médicinales mentionnées repose sur l'utilisation de l'insecte entier (65 %). Cependant, l'utilisation d'autres produits tels que l'hémolymph (9,7 %), le nid (11,6 %) ou le miel (14,6 %) a également été signalée. Ces composants sont utilisés individuellement ou en combinaison avec d'autres produits locaux, notamment des plantes médicinales ou du beurre de karité. Les remèdes à base d'insectes sont employés sous forme d'infusion (43,1 %), écrasés (21 %) ou à l'état brut (29,4 %). Dans d'autres cas, ils sont utilisés vivants (3 %) ou consommés sous forme de soupe (3 %) (Figure 18). Ces préparations sont généralement administrées par voie anale (38,9 %), topique (28,4 %), orale (18,9 %) et auriculaire (13,7 %). Cependant, des différences peuvent être observées entre les méthodes d'administration selon le mode de préparation médicinale. Par exemple, l'administration par voie anale ou la purge est exclusivement réservée aux formes infusées. Les extraits bruts ou les formes écrasées sont appliqués topiquement. En revanche, l'administration orale est utilisée pour différentes préparations, sauf pour les formes écrasées.

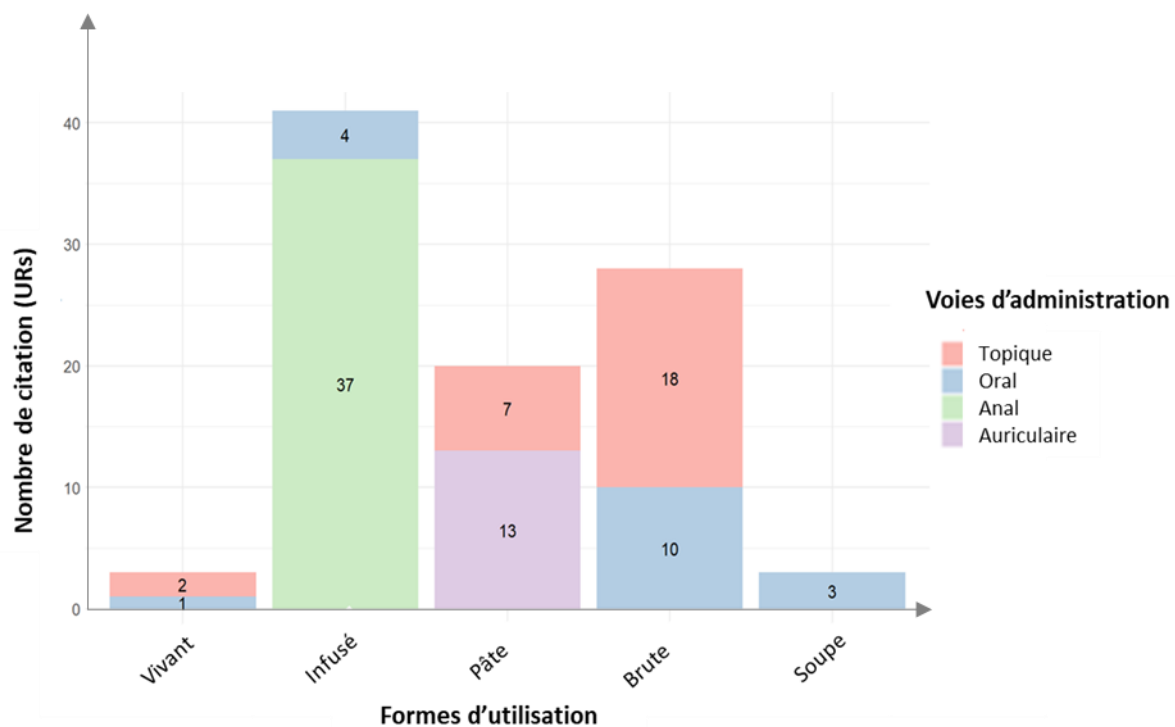


Figure 18 : Méthodes de préparation et d'administration des remèdes rapportés

3.1.2. Potentiel antibactérien des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*

3.1.2.1. Caractéristiques physico-chimiques des extraits d'hémolymphe

Les extraits d'hémolymphe des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis* présentent des caractéristiques physico-chimiques relativement similaires, bien que certaines différences notables soient observées. Chez les deux espèces, l'hémolymphe présente une coloration jaune claire, qui noircit au contact de l'air, probablement en raison de processus d'oxydation. L'hémolymphe de *O. owariensis* présente un Degré Brix de $3,1 \pm 0,64$, tandis que celle de *R. phoenicis* affiche une valeur plus élevée, de $7,1 \pm 0,1$. Après centrifugation, la concentration en protéines solubles a été déterminée par la méthode de Bradford, à l'aide d'une courbe d'étalonnage avec la BSA comme standard (Figure 19). La teneur en protéines solubles de l'hémolymphe purifiée est de 3,24 mg/mL pour *Rhynchophorus phoenicis* et de 3,48 mg/mL pour *Oryctes owariensis*.

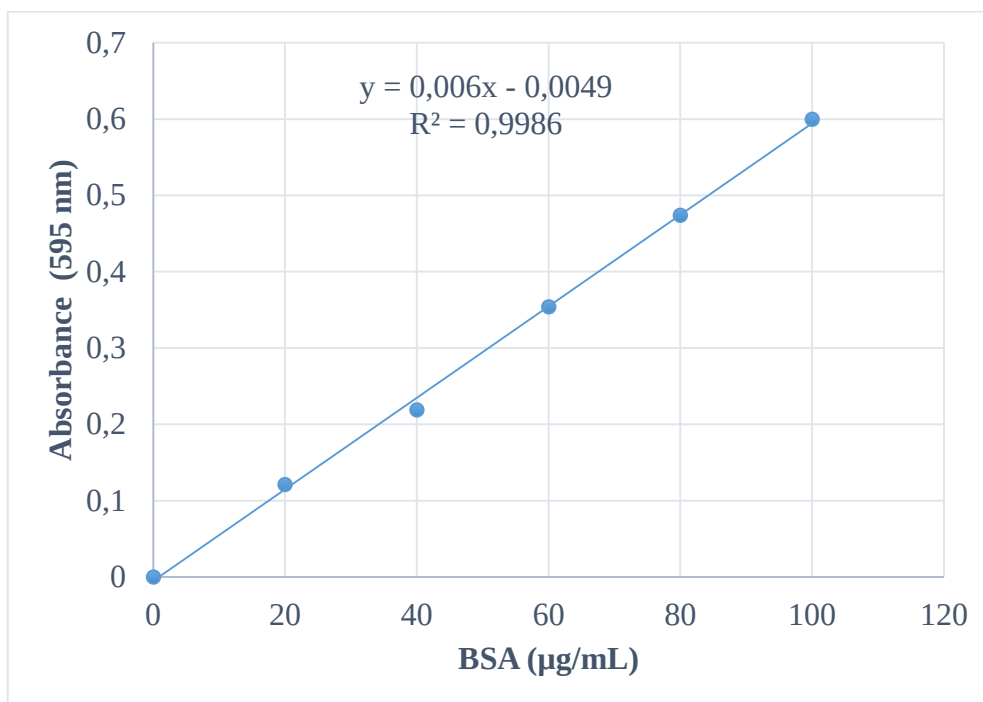


Figure 19: Droite d'étalonnage du dosage des protéines selon la méthode de Bradford

3.1.2.2. Pouvoir antibactérien des extraits d'hémolymphe de *R. phoenicis* et de *O. owariensis*

3.1.2.2.1. Activité antibactérienne *in vitro* sur milieu solide

Le test d'inhibition de la croissance bactérienne réalisé sur milieu gélosé MH a révélé une sensibilité des souches bactériennes à l'hémolymphe des deux coléoptères étudiés. L'activité

Résultats et Discussion

antibactérienne s'est manifestée par des zones d'inhibition bien visibles (Figure 20). Chez l'espèce *Oryctes owariensis*, les diamètres des différentes zones d'inhibition étaient compris entre $19,12 \pm 2,88$ mm (*Escherichia coli* ATCC 25922) et $22,58 \pm 2,18$ mm (*Staphylococcus aureus* S1) pour l'hémolymph des larves immunisées (Tableau V). Ces diamètres étaient identiques à ceux obtenus avec l'hémolymph des larves témoins non immunisées qui variaient de $18,23 \pm 1,20$ mm (*E. coli* ATCC 25922) à $21,69 \pm 2,88$ mm (*S. aureus* S1).

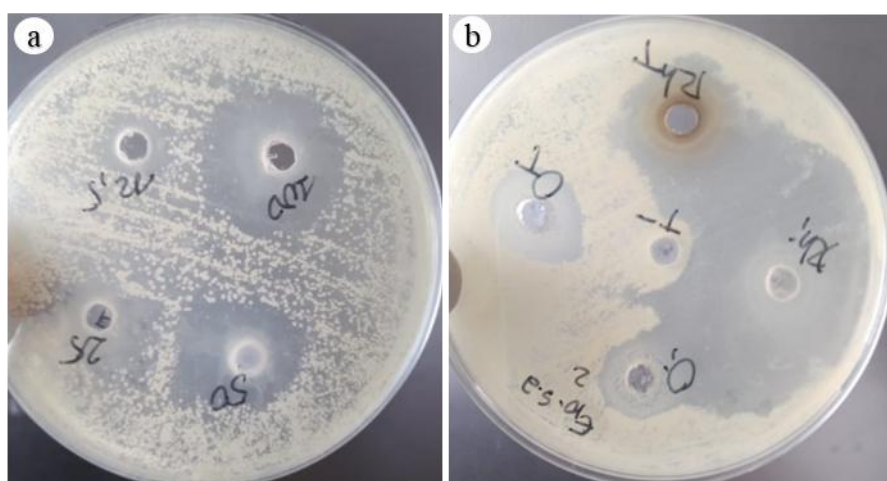


Figure 20: Photos des boîtes de pétri montrant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'hémolymph des larves de *R. phoenicis*

a) Inhibition de *E. coli* et b) inhibition de *S. aureus*

Tableau V : Diamètres des zones d'inhibition de l'hémolymph de *O. owariensis* sur les différentes souches bactériennes étudiées

	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	Immunisée	Témoin
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	$20,48 \pm 3,14^a$	$19,45 \pm 2,38^a$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	$19,12 \pm 2,88^a$	$18,23 \pm 1,20^a$
<i>Escherichia coli</i> E1	$21,82 \pm 4,21^a$	$19,12 \pm 1,12^a$
<i>Salmonella</i> sp.	$22,55 \pm 0,97^a$	$21,21 \pm 1,44^a$
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	$22,58 \pm 2,18^a$	$21,69 \pm 2,88^a$
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	$21,52 \pm 1,31^a$	$19,43 \pm 2,74^a$

Les lettres identiques (a) indiquent l'absence de différence significative entre les diamètres des zones d'inhibition induits par l'hémolymph des larves immunisées et ceux des témoins (non immunisés). Le test de Student a été appliqué pour comparer les moyennes au seuil de signification de $p < 0,05$.

Résultats et Discussion

Chez l'espèce *Rhynchophorus phoenicis*, les diamètres des zones d'inhibition pour les larves immunisées variaient de $26,22 \pm 0,69$ mm pour *Bacillus subtilis* à $35,30 \pm 2,4$ mm pour *Staphylococcus aureus* S1 (Tableau VI). Ils étaient significativement plus grands que ceux obtenus avec l'hémolymphe des larves témoin non immunisées qui étaient compris entre $15,84 \pm 0,61$ mm pour *Bacillus subtilis* et $22,46 \pm 3,11$ mm pour *Salmonella* spp.

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition de l'hémolymphe de *R. phoenicis* sur les différentes souches bactériennes étudiées

	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	
	Immunisée	Témoin
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	$26,22 \pm 0,69^b$	$15,84 \pm 0,61^a$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	$32,03 \pm 2,06^b$	$18,74 \pm 0,15^a$
<i>Escherichia coli</i> E1	$34,03 \pm 3,30^b$	$20,58 \pm 0,40^a$
<i>Salmonella</i> sp.	$34,35 \pm 0,89^b$	$22,46 \pm 3,11^a$
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	$35,30 \pm 2,42^b$	$21,19 \pm 2,63^a$
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	$27,73 \pm 1,25^b$	$18,02 \pm 0,31^a$

Les lettres différentes (a) et (b) indiquent une différence significative entre les diamètres des zones d'inhibition induites par l'hémolymphe des larves immunisées et celles des témoins (non immunisés). La comparaison des moyennes a été réalisée à l'aide du test de Student, avec un seuil de signification fixé à $p < 0,05$.

3.1.2.2.2. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale bactéricide (CMB) des extraits d'hémolymphe testés

Les paramètres bactériens, en particulier la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), ont permis d'évaluer quantitativement l'activité antibactérienne des extraits d'hémolymphe issus des larves immunisées.

Concernant l'hémolymphe des larves de *O. owariensis*, la CMI a été atteinte à une concentration de 12,5 mg/mL contre les bactéries à Gram positif, notamment *Bacillus subtilis* 1A786 et *Staphylococcus aureus*, multirésistante à la méticilline. La CMB qui définit la plus faible concentration d'extrait capable d'éliminer 99,9 % des cellules bactériennes était de 25 mg/mL. En revanche, cet extrait s'est montré visiblement moins actif sur les bactéries à Gram négatif testées (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella* spp.). Pour ces dernières, la CMI était de 50 mg/mL et la CMB de 100 mg/mL. Cependant, le rapport CMB/CMI égal à 2 indique que l'extrait exerce un effet bactéricide sur l'ensemble des souches testées.

Résultats et Discussion

Tableau VII : Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide de l'hémolymph de larves de *O. owariensis*

	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMB/CMI	Effet antibactérien
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	12,5	25	2	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50	100	2	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i> E1	50	100	2	Bactéricide
<i>Salmonella</i> sp.	50	100	2	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	12,5	25	4	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	12,5	25	2	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide

Pour l'hémolymph de larves immunisées de *R. phoenicis*, une forte sensibilité a été observée chez toutes les souches bactériennes testées avec de faibles valeurs de CMI et de CMB (Tableau VIII). Pour l'ensemble des souches, la CMI a été atteinte à une concentration de 3,12 mg/mL avec une CMB de 6,25 mg/mL. Le rapport CMB/CMI était égal à 2 pour toutes les souches étudiées. Ce rapport indique que l'extrait possède un effet bactéricide. En d'autres termes, la quantité d'extrait requise pour tuer 99,9 % des bactéries est deux fois plus élevée que celle nécessaire pour bloquer leur croissance (Figure 21).

Résultats et Discussion

Tableau VIII : Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide de l'hémolymph de larves de *R. phoenicis*

	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	Rapport CMB/CMI	Effet antibactérien
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Escherichia coli</i> E1	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Salmonella</i> sp.	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	3,12	6,25	2	Bactéricide

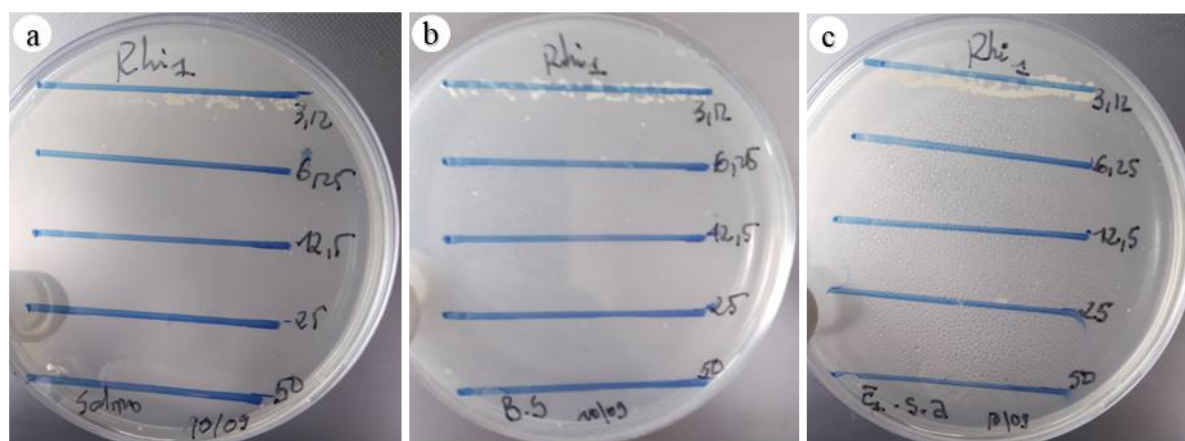


Figure 21: Photos des boîtes de pétri montrant la CMB de l'hémolymph de *R. phoenicis* sur les souches bactériennes étudiées

La CMB a été atteinte à 6,25 mg/mL pour a : *Salmonella* sp. ; b : *Bacillus subtilis* 1A786 et c : *Staphylococcus aureus* S1.

3.1.3. *Drosophila melanogaster* comme modèle d'infection bactérienne

3.1.3.1. Résultats préliminaires sur les souches étudiées et les bactéries du microbiote de la souche de drosophile w¹¹¹⁸

3.1.3.1.1. Corrélation entre la Densité Optique (DO) et la concentration bactérienne en Unités Formant Colonies (UFC/mL) des souches étudiées.

La Densité Optique (DO) est un paramètre clé pour estimer la concentration bactérienne dans une suspension. En suivant la méthode décrite dans la section 2.2.3.3.1, une courbe de régression a été établie, représentant la relation entre le nombre d'Unités Formant Colonies par millilitre (UFC/mL) et la Densité Optique pour les bactéries étudiées (Figure 22). Cette courbe a permis de déterminer les équations de régression suivantes : $C = 1 \times 10^9 \cdot DO + 255\,319$ pour *P. burhodogranariae*, et $C = 2 \times 10^9 \cdot DO + 167\,979$ pour *S. marcescens*, où DO correspond à la densité optique et C au nombre de colonies formant unité (UFC/mL). La densité optique correspondant à la concentration standard de $5 \cdot 10^5$ UFC/mL est d'environ 0,0002 pour les deux souches.

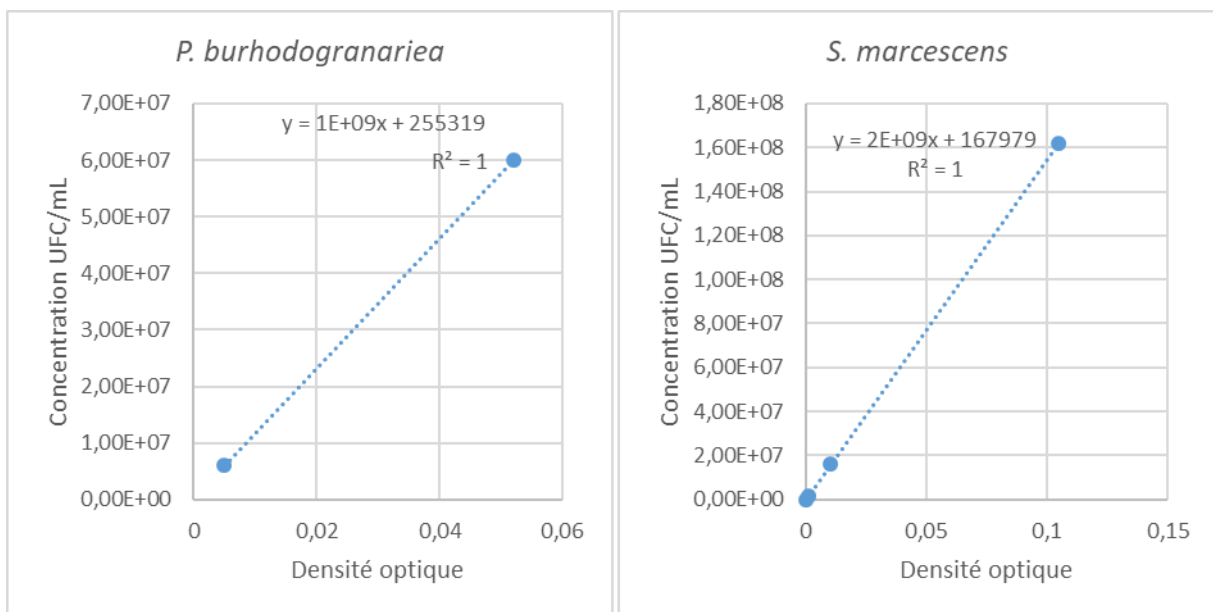


Figure 22: Courbe de corrélation entre la densité optique (DO) et la concentration bactérienne (UFC/mL) des souches étudiées

3.1.3.1.2. Sensibilité des souches bactériennes étudiées aux antibiotiques et produits naturels

Le test d'inhibition de la croissance bactérienne a permis d'évaluer la sensibilité des souches étudiées à divers antibiotiques (Tableau IX).

Providencia burhodogranariae s'est révélée sensible à l'ampicilline (CMI = 4 µg/mL), à la tétracycline (CMI = 1 µg/mL), à la gentamicine (CMI < 0,5 µg/mL) et à la streptomycine (CMI = 2 µg/mL). En revanche, elle a montré une résistance à l'érythromycine, qui n'a pas permis d'inhiber 90 % de la croissance bactérienne à la plus forte concentration testée (64 µg/mL).

De manière similaire à *P. burhodogranariae*, *Serratia marcescens* n'est pas sensible à l'érythromycine. Toutefois, elle reste sensible à la gentamicine, à la streptomycine et à la tétracycline, avec des CMI respectives de 1 µg/mL, 4 µg/mL et 16 µg/mL.

Tableau IX : Concentration Minimale inhibitrice (CMI) en µg/mL des antibiotiques sur la croissance des bactéries étudiées

	<i>Providencia burhodogranariae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Ampicilline	4	NA*
Tétracycline	1	16
Gentamicine	< 0,5	1
Streptomycine	2	4
Erythromycine	> 64	> 64

*NA : Non Attribué, l'ampicilline n'a pas été testé sur *S. marcescens* en raison de sa résistance naturelle à cet antibiotique.

3.1.3.1.3. Sensibilité des bactéries du microbiote de la drosophile W¹¹¹⁸ à l'érythromycine

Après l'infection des mouches, il était essentiel de pouvoir estimer précisément la charge bactérienne injectée, sans interférer avec la croissance d'autres bactéries. Des tests de croissance ont été effectués sur des broyats de mouches, révélant que les bactéries du microbiote de la drosophile prolifèrent sur une gélose LB simple, mais ne se développent pas sur une gélose LB supplémentée en érythromycine à 5 µg/mL. Ces résultats indiquent que les bactéries indigènes de la drosophile sont sensibles à l'érythromycine. Ensuite, des suspensions de *P. burhodogranariae* et *S. marcescens* ont été ensemencées sur les deux types de géloses, LB simple et LB avec érythromycine à 5 µg/mL. Le nombre de colonies de chacune des deux

bactéries s'est révélé similaire sur les deux géloses (test de Student : $p = 0,9151$), ce qui confirme que ces souches sont toutes deux résistantes à l'érythromycine.

La dernière étape du processus de sélection de l'antibiotique a consisté à vérifier l'apparition de colonies de *P. burhodogranariae* et *S. marcescens* sur gélose LB enrichie en érythromycine après infection des drosophiles. Les colonies des bactéries ciblées ont pu croître sur la gélose à partir des broyats de mouches infectées, démontrant ainsi que la gélose LB avec érythromycine à 5 µg/mL peut spécifiquement sélectionner *P. burhodogranariae* et *S. marcescens*, tout en confirmant que ces bactéries ne sont pas présentes naturellement dans le microbiote de la souche w^{1118} de drosophile utilisée.

3.1.3.2. Impact des infections à *Providencia burhodogranariae* et *Serratia marcescens* sur *Drosophila melanogaster*

3.1.3.2.1. Infection à *Providencia burhodogranariae*

Dans le but d'évaluer l'impact de l'infection sur la survie de l'hôte, trois concentrations distinctes de *Providencia burhodogranariae* ont été testées : DO 0,01 (235 UFC/mouche), DO 0,1 (2305 UFC/mouche) et DO 1 (23005 UFC/mouche), avec le PBS utilisé comme témoin. Les résultats montrent que l'infection est globalement tolérée par les mouches à de faibles concentrations bactériennes (DO 0,01 et DO 0,1). En effet, à l'issue de sept jours post-infection, les mouches témoins et celles ayant reçu les doses faibles (DO 0,01 et DO 0,1) ont montré une mortalité similaire, ce qui indique que ces doses ne semblent pas affecter significativement la survie de l'hôte (Figure 23 : A-B). En revanche, la dose la plus élevée (DO 1) a provoqué une mortalité plus élevée, avec 60% de mortalité dès le deuxième jour post-infection. Les résultats statistiques montrent une différence importante entre ce groupe et les autres, suggérant que la dose élevée de *Providencia burhodogranariae* affecte de manière significative la survie de l'hôte (test de Log-Rank (Mantel-Cox) : PBS : $p < 0,0001$; DO 0,01 et DO 0,1 : $p = 0,0004$). Après le quatrième jour, la mortalité a commencé à se stabiliser, avec une réduction progressive du taux de mortalité.

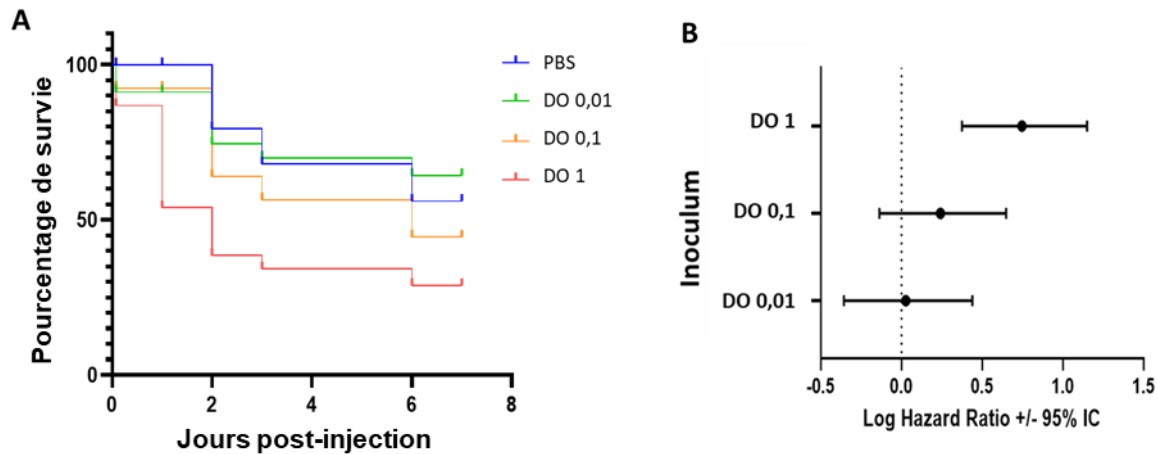


Figure 23: Survie des mouches infectées par *P. burhodogranariea* en fonction de la dose

Les mouches ont été injectées avec du PBS ($n = 59$) ou une suspension bactérienne de *P. burhodogranariea* : $DO_{600} = 0,01$ (235 UFC/mouche, $n = 192$) ; $DO_{600} = 0,1$ (2350 UFC/mouche, $n = 187$) ou $DO_{600} = 1$ (23500 UFC/mouche, $n = 196$). (A) Survie des drosophiles sur sept jours post infection (Log-Rank (Mantel-Cox) test : $df = 3$; $\chi^2 = 31,38$; $p < 0,0001$). (B) Log Hazard Ratio de la survie par rapport au PBS (ligne pointillée). Log (HR) > 0 signifie un risque de mortalité accru par rapport au témoin ; Log (HR) < 0 indique un risque réduit, une meilleure survie par rapport au témoin (PBS). Log(HR) = 0 montre qu'il n'y a pas de différence de survie avec le témoin.

Pour mieux comprendre le lien entre la mortalité et la prolifération bactérienne chez l'hôte, la charge bactérienne des mouches a été mesurée immédiatement après l'infection, puis aux jours 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 7 post-infection (Figure 24 : A-C). Toutes les mouches infectées avec une suspension de *Providencia burhodogranariea* ont développé une infection chronique. Toutefois, la charge bactérienne supportée lors de l'infection chronique dépend de la dose injectée. Plus la concentration initiale était élevée, plus la charge bactérienne mesurée était importante. La charge bactérienne se stabilise à environ 228 ± 139 UFC/mouche pour la DO 0,01, 2566 ± 705 UFC/mouche pour la DO 0,1 et 37000 ± 2600 UFC/mouche pour la DO 1.

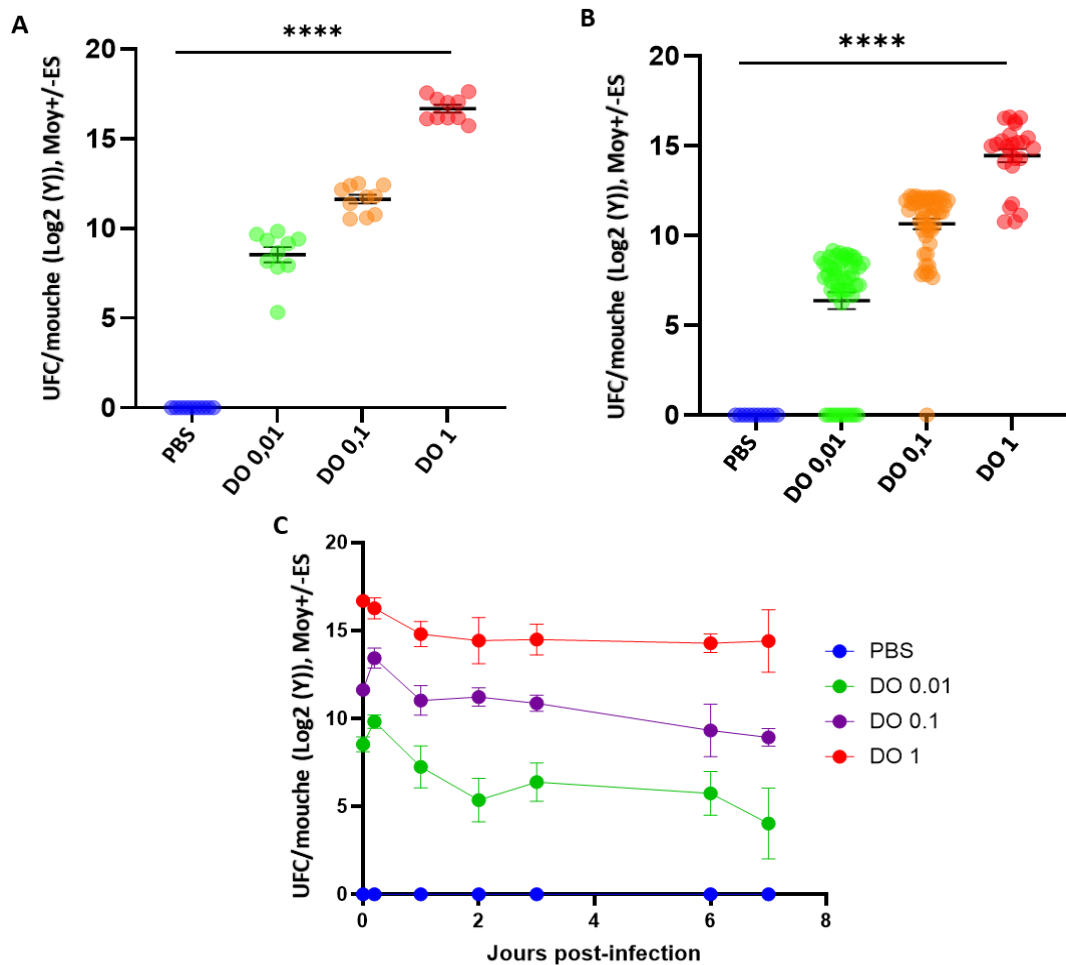


Figure 24 : Evolution de la charge bactérienne intra-hôte chez les mouches infectées par *P. burhodogranariae*

La charge bactérienne des mouches survivantes à l'infection a été mesurée immédiatement après l'injection, puis aux jours 1, 2, 3, 4, 6 et 7 post-infection. (A) Charge bactérienne immédiatement après l'injection (test ANOVA à un facteur : $p < 0,0001$, suivi d'un test post-hoc de Tukey) et (B) trois jours après l'infection (test de Kruskal-Wallis : $p = 0,0004$, suivi d'un test post-hoc de Dunn). C) l'évolution de la charge bactérienne persistante. Les annotations utilisées sont les suivantes : ns (non significatif) : $p > 0,05$; * : $0,01 < p < 0,05$; ** : $0,001 < p < 0,01$; *** : $0,0001 < p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

3.1.3.2.2. Infection à *Serratia marcescens*

Pour *Serratia marcescens*, les concentrations injectées correspondaient à des densités optiques (DO) de 0,01, 0,1 et 1, équivalentes à environ 463, 4630 et 46300 UFC/mouche, respectivement. Le risque de mortalité des mouches infectées, comparé aux témoins injectés avec du PBS, a été évalué à l'aide du calcul du Hazard Ratio (HR). Contrairement à *P. burhodogranariae*, l'infection par *S. marcescens* s'est révélée sévère entraînant une mortalité rapide de l'hôte. Après 10 jours post-infection, la quasi-totalité des mouches infectées avaient succombé, indépendamment de la dose administrée (Figure 25 : A-B). Toutefois, le risque de mortalité augmentait proportionnellement à la concentration bactérienne injectée indiquant

Résultats et Discussion

ainsi un effet dose-dépendant. Ainsi, les mouches ayant reçu la plus forte dose (DO 1) ont montré une réduction rapide de leur survie par rapport aux mouches témoins injectées avec du PBS (test du Log-Rank (Mantel-Cox) : $p < 0,0001$). Plus de 80 % des mouches exposées à cette dose létale ont succombé dans les 48 heures suivant l'injection, illustrant la virulence et la dangerosité de cette concentration.

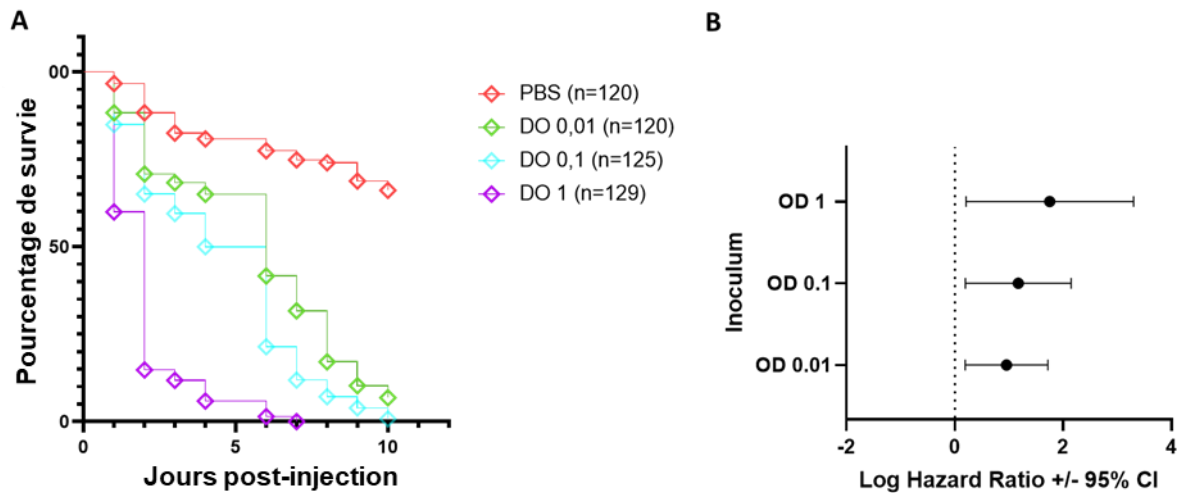


Figure 25 : Impact de la dose de *S. marcescens* sur la survie de l'hôte

Les suspensions de *S. marcescens* injectées : $DO_{600} = 0,01$ (463 UFC/mouche, $n = 120$) ; $DO_{600} = 0,1$ (4630 UFC/mouche, $n = 125$) ou $DO_{600} = 1$ (46300 UFC/mouche, $n = 129$) et PBS (témoin, $n=120$). (A) Survie des drosophiles sur dix jours post infection (Log-Rank (Mantel-Cox) test : $df = 3$; $\chi^2 = 35,23$; $p < 0,0001$). (B) Log Hazard Ratio de la survie par rapport au PBS (ligne pointillée). Le Hazard Ratio (HR) représente le rapport des risques de mortalité entre les groupes expérimentaux et le groupe témoin (PBS), exprimé sur une échelle logarithmique. $\text{Log}(\text{HR}) > 0$ signifie un risque de décès accru par rapport au témoin ; $\text{Log}(\text{HR}) < 0$ indique un risque réduit, une meilleure survie par rapport au témoin (PBS). $\text{Log}(\text{HR}) = 0$ montre qu'il n'y a pas de différence de survie avec le témoin.

Pour suivre la prolifération bactérienne au sein de l'hôte, la quantité de bactéries par mouche a été mesurée à des moments clés : immédiatement après l'infection (t_0), puis à 24H (t_1), 48H (t_2) et 72H (t_3) post-infection. Les résultats montrent que la sévérité de l'infection est étroitement liée à la dose bactérienne, avec une relation directe entre la quantité de bactéries injectées et le délai avant la mort de l'hôte (Figure 26). La charge bactérienne injectée augmente continuellement jusqu'à la mort de l'hôte. Les mouches meurent lorsque la charge bactérienne atteint environ 2^{20} UFC/mouche. En effet, chez les individus survivants, cette valeur n'a jamais été dépassée. Elle a donc été définie comme le seuil critique au-delà duquel la survie de l'hôte est compromise. La virulence et la létalité de l'infection sont étroitement liées à la capacité de la dose initiale à atteindre ce seuil critique. Par exemple, chez les mouches infectées avec la DO 1, la charge bactérienne critique est atteinte très rapidement. Dès 24 heures post-infection, la

Résultats et Discussion

majorité des mouches exposées à cette dose (7 sur 10) présentaient une charge bactérienne comprise entre 2^{18} (262 144) et 2^{20} (1 048 576) UFC/mouche, soit une valeur proche du seuil critique de mortalité. Cette augmentation explique le taux élevé de mortalité observé dès le deuxième jour pour cette dose. En revanche, les mouches infectées par les doses plus faibles mettent plus de temps pour atteindre le seuil, ce qui retarde l'issue fatale et permet une observation prolongée de l'infection avant la mort de l'hôte.

De manière générale, l'infection par *Serratia marcescens* échappe totalement au contrôle du système immunitaire de la mouche. Après l'injection de la bactérie, la charge bactérienne augmente rapidement et de façon incontrôlée, conduisant inévitablement à la mort de l'hôte. Cette progression se manifeste visiblement par une coloration rouge de tout l'organisme de la mouche, signe distinctif des colonies de *S. marcescens*, qui envahissent entièrement le corps, souvent peu de temps avant ou immédiatement après la mort (Annexe 4). L'objectif de cette partie était de déterminer la dose infectieuse optimale qui retarde la mortalité de l'hôte, afin de permettre l'application d'un traitement antibactérien. En raison de ses caractéristiques, la dose DO 0,01 a été choisie comme la plus appropriée pour les étapes suivantes de l'expérience avec *S. marcescens*.

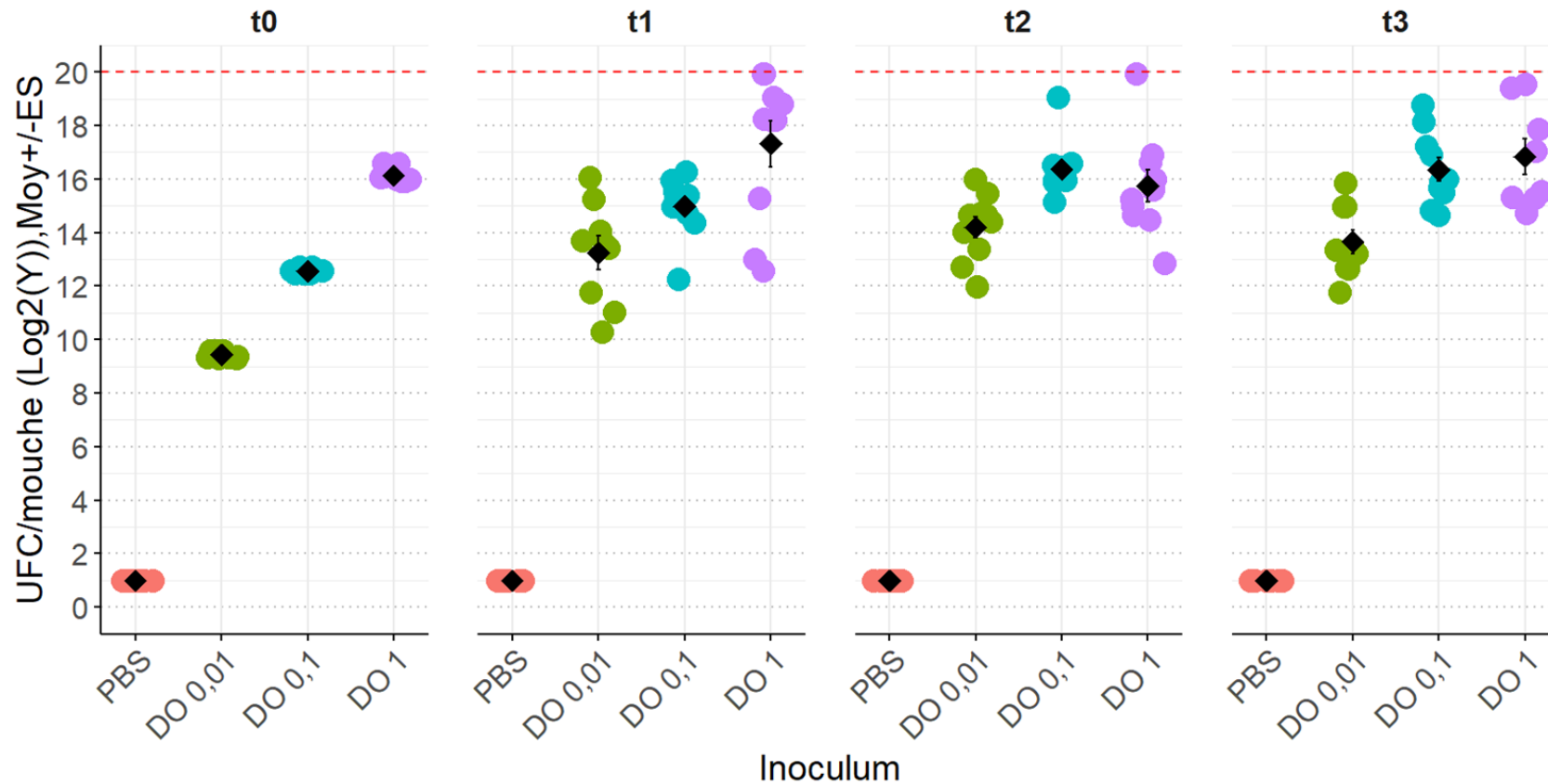


Figure 26: Impact de la dose infectieuse de *Serratia marcescens* sur l'évolution de la charge bactérienne intra-hôte.

Les mouches ont été injectées avec une suspension de *S. marcescens* à différentes concentrations : $DO_{600} = 0,01$ (463 UFC/mouche) ; $DO_{600} = 0,1$ (4630 UFC/mouche) ou $DO_{600} = 1$ (46300 UFC/mouche) et PBS (témoin, 0 UFC/mouche). La charge bactérienne des mouches qui survivent à l'infection a été évaluée en UFC/mouche (Unités Formants Colonies par mouche) sur 10 mouches survivantes à différents moments post infection. **t0** : directement après infection (One-Way ANOVA test : $\chi^2 = 25,94$, $df = 2$, $p = 2,33 \times 10^{-6}$, suivie d'un test post-hoc de Tukey) ; **t1** : 24H après infection (Kurskal-Walis test : $\chi^2 = 10,22$, $df = 2$, $p = 0,006$, suivi d'un test post-hoc de Dunn) ; **t2** : 48H post infection (Kurskal-Walis test : $\chi^2 = 11,41$, $df = 2$, $p = 0,003$, suivi d'un test post-hoc de Dunn) ; **t3** : 72H après infection (Kurskal-Walis test : $\chi^2 = 11,91$, $df = 2$, $p = 0,002$, suivi d'un test post-hoc de Dunn).

3.1.3.3. Effet des traitements antibiotiques sur la survie de l'hôte et l'évolution de la charge bactérienne

3.1.3.3.1. Effet de l'ampicilline et de la tétracycline sur les mouches infectées par *P. burhodogranariae*

L'ampicilline et la tétracycline ont démontré une activité antibactérienne *in vitro* contre *Providencia burhodogranariae*, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) respectives de 4 µg/mL et 1 µg/mL. En raison de ces résultats prometteurs, ces antibiotiques ont été sélectionnés pour évaluer leur efficacité *in vivo* dans le modèle d'infection chronique à *P. burhodogranariae*. Différentes concentrations d'ampicilline ou de tétracycline allant de 0,05 mg/mL à 1 mg/mL ont été préparées dans du saccharose 5%, comme détaillé dans la section 2.2.3.4.5. Les mouches ont été exposées à ces solutions d'antibiotique ou de saccharose 5% (témoin) pendant dix ou quatorze jours après infection par la bactérie ($DO_{600} = 0,5$). La survie des mouches a été surveillée quotidiennement, et la charge bactérienne a été mesurée à divers moments après le traitement.

Le traitement antibiotique a révélé un impact significatif sur la survie des mouches infectées par *Providencia burhodogranariae* (Figure 27). Une exposition à l'ampicilline à 1 mg/mL a entraîné une augmentation du taux de survie par rapport aux mouches témoins traitées avec une solution de sucrose à 5 % (Figure 27 : A-B). Cependant, lorsque la concentration d'ampicilline est augmentée à 5 mg/mL, aucune amélioration supplémentaire notable de la survie n'a été observée par rapport à 1 mg/mL, comme l'indique le test Log-Rank Mantel-Cox ($df = 1$; $\chi^2 = 1,307$; $p = 0,25$). En ce qui concerne la tétracycline, son effet se révèle particulièrement bénéfique pour les mouches infectées. Quelle que soit la concentration utilisée, elle a considérablement boosté leur survie (Figures 27 : C–D). Jusqu'au quatorzième jour post-traitement, les taux de survie vont de 70 % pour la concentration la plus faible (0,05 mg/mL) à 100 % pour la concentration la plus élevée (1 mg/mL), alors que les témoins non traités affichent une survie nulle.

Résultats et Discussion

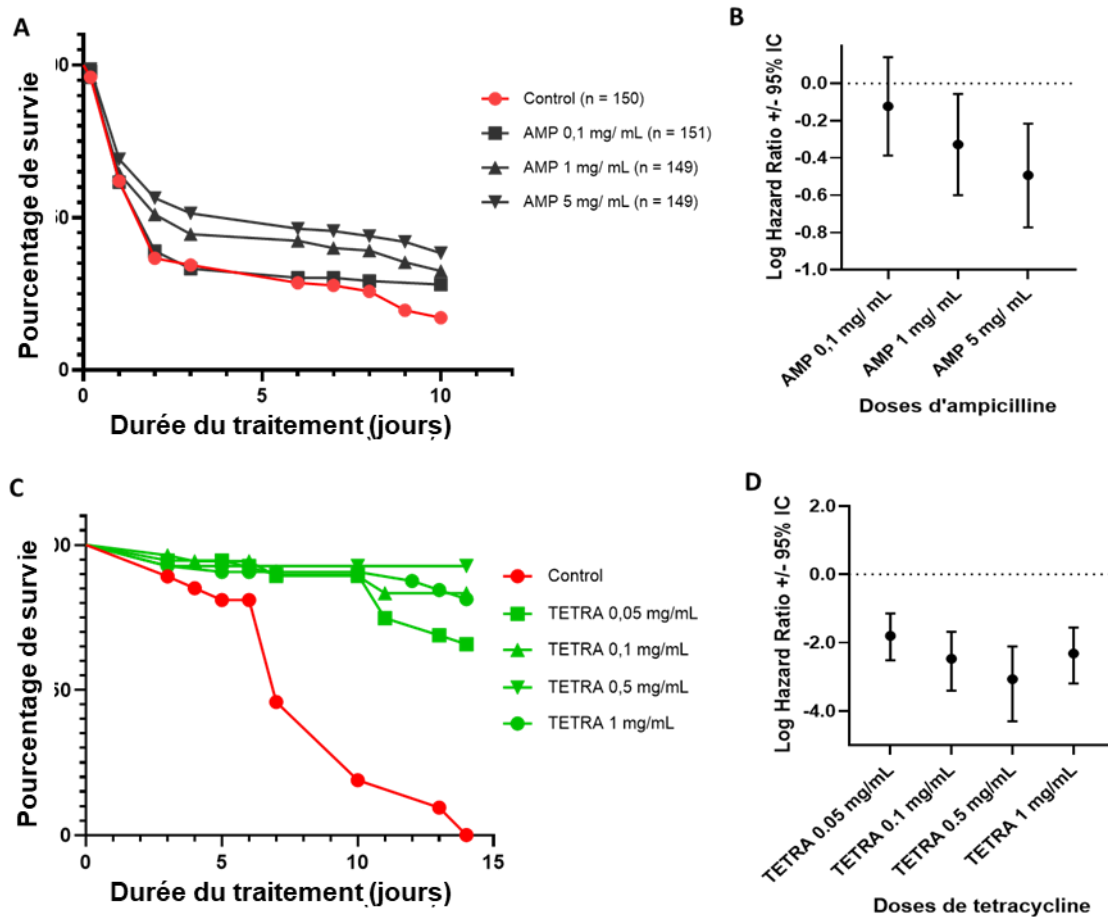


Figure 27: Effets de l'ampicilline et de la tétracycline sur la survie des mouches infectées par *P. burhodogranariae*

Les mouches ont été infectées avec 23 nL d'une suspension de *P. burhodogranariae* ($DO_{600}=0,5$ soit 11750 UFC/mouche) et traitées avec des solutions d'ampicilline (AMP) et de tétracycline (TETRA) à différentes concentrations préparées dans du sccharose 5% (Control). A) La survie a été évaluée sur dix jours post traitement à l'ampicilline (Log-Rank (Mantel-Cox) test : $df = 3$; $\chi^2 = 14,53$; $p = 0,0023$). (B) Log Hazard Ratio de la survie par rapport au contrôle (ligne pointillée). (C) La survie a été évaluée sur 14 jours post traitement à la tétracycline (Log-Rank (Mantel-Cox) test : $df = 3$; $\chi^2 = 97,38$; $p < 0,0001$). (D) Log Hazard Ratio de la survie par rapport au contrôle (ligne pointillée). Log (HR) > 0 signifie un risque de décès accru par rapport au témoin ; Log (HR) < 0 indique un risque réduit, une meilleure survie par rapport au témoin (PBS). Log(HR) = 0 montre qu'il n'y a pas de différence de survie avec le témoin.

L'effet attendu des antibiotiques sur la charge bactérienne des drosophiles est une réduction significative, voire une élimination complète de la bactérie chez les mouches traitées. Toutefois, l'ampicilline, quelle que soit la concentration ou la durée du traitement, n'a eu aucun impact significatif sur la charge bactérienne des mouches infectées par *Providencia burhodogranariae* ($OD = 0,5$) (Figure 28). A l'inverse, la tétracycline a montré une bien meilleure efficacité. Dès le premier jour de traitement avec une solution de sucrose contenant 1 mg/mL de tétracycline, la charge bactérienne a fortement diminué, passant d'environ 20 000 à 11 000 UFC par mouche.

Cependant, un traitement prolongé sur cinq jours n'a pas entraîné d'amélioration supplémentaire par rapport à la réduction observée dès le premier jour.

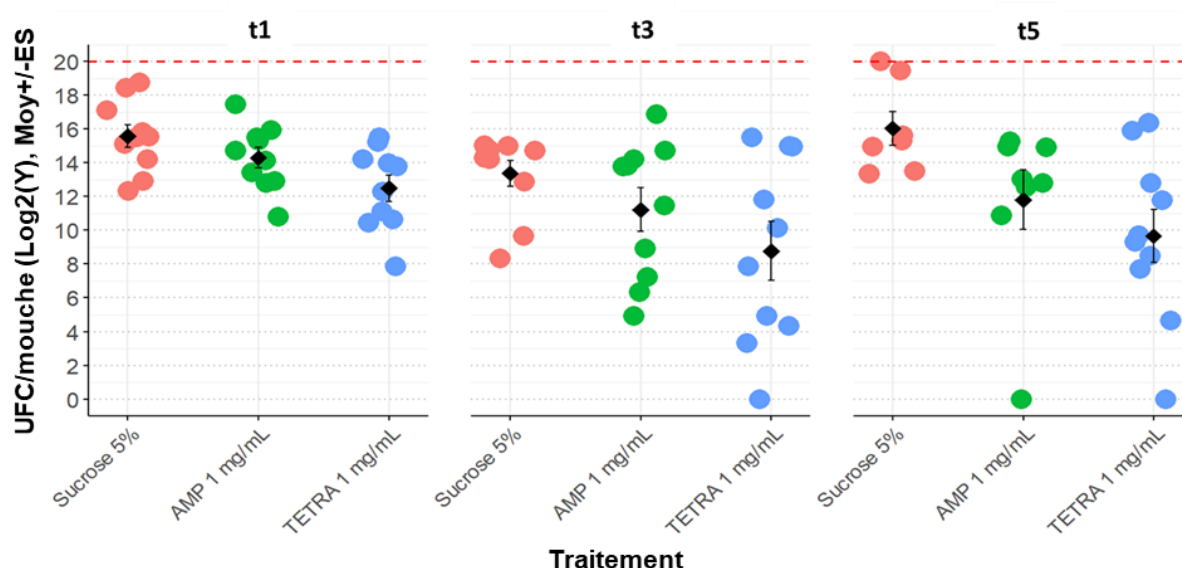


Figure 28: Impact du traitement à l'ampicilline et à la tétracycline sur la réduction de la charge bactérienne chez les mouches infectées par *P. burhodogranariea*

Les mouches ont été infectées avec 23 nL d'une suspension de *P. burhodogranariea* ($DO_{600}=0,5$ soit 11750 UFC/mouche) et traitées avec des solutions d'ampicilline (AMP) et de Tétracycline (TETRA). Un groupe traité avec une solution de saccharose 5 % (Sucrose 5%) a été utilisé comme contrôle. La charge bactérienne des mouches qui survivent à l'infection a été mesurée à **t1** : après un jour de traitement (One-Way ANOVA : test $p = 0,0102$, suivie d'un test post-hoc de Tukey) ; **t3** : après trois jours de traitement (Kruskal-Wallis test : $p = 0,1689$ suivi d'un test post-hoc de Dunn) et **t5** : après cinq jours de traitement (Kruskal-Wallis test : $p = 0,0169$ suivi d'un test post-hoc de Dunn).

3.1.3.3.2. Effet de la tétracycline, gentamicine et streptomycine sur les mouches infectées par *Serratia marcescens*

Les antibiotiques de référence, notamment la tétracycline, la gentamicine et la streptomycine, ont révélé une efficacité *in vitro* remarquable contre *Serratia marcescens*, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 16 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ et 4 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Forts de ces résultats encourageants, nous avons décidé d'évaluer leur efficacité *in vivo* en utilisant le modèle de drosophiles infectées par *S. marcescens*. Les mouches infectées par *S. marcescens* ($DO_{600} = 0,01$: 463 UFC/mouche) ont été traitées pendant 10 jours. La survie a été surveillée quotidiennement et la charge bactérienne a été mesurée à 1, 3 et 9 jours de traitement.

Le traitement par les trois antibiotiques a révélé des différences marquées dans la survie des drosophiles infectées par *S. marcescens* (Figure 29 : A-B). Chaque antibiotique a montré un

Résultats et Discussion

effet distinct par rapport au groupe témoin traité avec du sucrose 5 % (Log Rank (Mantel-Cox), $P < 0,0001$). Les rapports de risque (HR) indiquent que la streptomycine (0,1725) a le plus grand impact sur la survie des mouches, réduisant le risque de mortalité de 82,75 % par rapport au groupe témoin. La tétracycline a également montré une efficacité notable avec un HR de 0,4758, soit une réduction du risque de mortalité de 52,42 %. En revanche, la gentamicine, bien que moins performante, a tout de même contribué à une amélioration de la survie, réduisant le risque de mortalité de 33,51 % (HR = 0,6649) par rapport au groupe témoin.

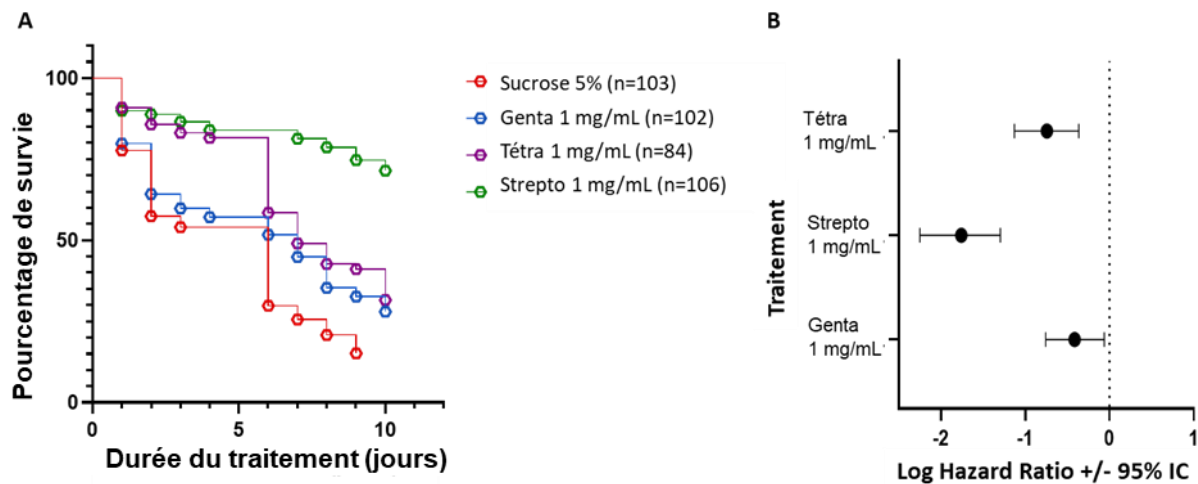


Figure 29: Effets de traitements antibiotiques (tétracycline, gentamicine et streptomycine) sur la survie des mouches infectées par *S. marcescens*

Les mouches ont été injectées avec une suspension de *S. marcescens* ($DO_{600} = 0,01$; 463 UFC/mouche) et traitées avec des solutions de Gentamicine (Genta), Tétracycline (Tétra) et de Streptomycine (Strepto) à une concentration de 1 mg/mL préparées dans du Saccharose 5 % (sucrose 5 %). Un lot de mouches traitées avec du saccharose 5 % a été considéré comme le lot témoin. (A) La survie a été suivie sur une période de dix jours post-traitement. (B) Le risque relatif de mortalité, représenté par le Log Hazard Ratio par rapport au groupe témoin (ligne pointillée), a été estimé avec un intervalle de confiance à 95 % (IC 95 %). Log (HR) > 0 signifie un risque de décès accru par rapport au témoin ; Log (HR) < 0 indique un risque réduit, une meilleure survie par rapport au témoin (PBS). Log(HR) = 0 montre qu'il n'y a pas de différence de survie avec le témoin.

Les trois antibiotiques testés ont montré des différences notables dans leur capacité à contrôler l'infection (Figure 30 : A-C). En particulier, seule la streptomycine a réduit de manière significative ($P = 0,0004$, ANOVA suivie du test de Tukey) la charge bactérienne et a complètement éradiqué la bactérie chez certaines des drosophiles traitées. Dès le premier jour de traitement (t1), la charge bactérienne médiane dans le groupe traité à la streptomycine a été réduite par un facteur de sept par rapport au groupe témoin traité avec du sucrose à 5 %. Cette tendance s'est intensifiée après 72 heures et trois traitements successifs (t3) : parmi les 20 mouches examinées, quatre étaient totalement exemptes de bactéries, et dix avaient une charge

Résultats et Discussion

bactérienne considérablement réduite à moins de 2^{10} UFC/mouche, indiquant une forte diminution de la population bactérienne. Au neuvième jour post-traitement (t9), avec sept administrations successives, le traitement par streptomycine a conduit à une éradication complète de la bactérie chez 40 % des mouches (Figure 30B). En revanche, malgré leur efficacité *in vitro* avérée, la gentamicine et la tétracycline n'ont pas réussi à induire une réduction significative et durable de la charge bactérienne. Bien qu'une diminution notable ait été observée dès le premier jour de traitement ($P = 0,01$) avec la gentamicine, cet effet s'est avéré transitoire. Au cours de l'expérience, ni la gentamicine ni la tétracycline n'ont pu stopper la réplication de *Serratia marcescens*, et les bactéries ont continué de proliférer chez les mouches traitées, atteignant finalement des niveaux comparables à ceux observés dans le groupe témoin nourri au sucre.

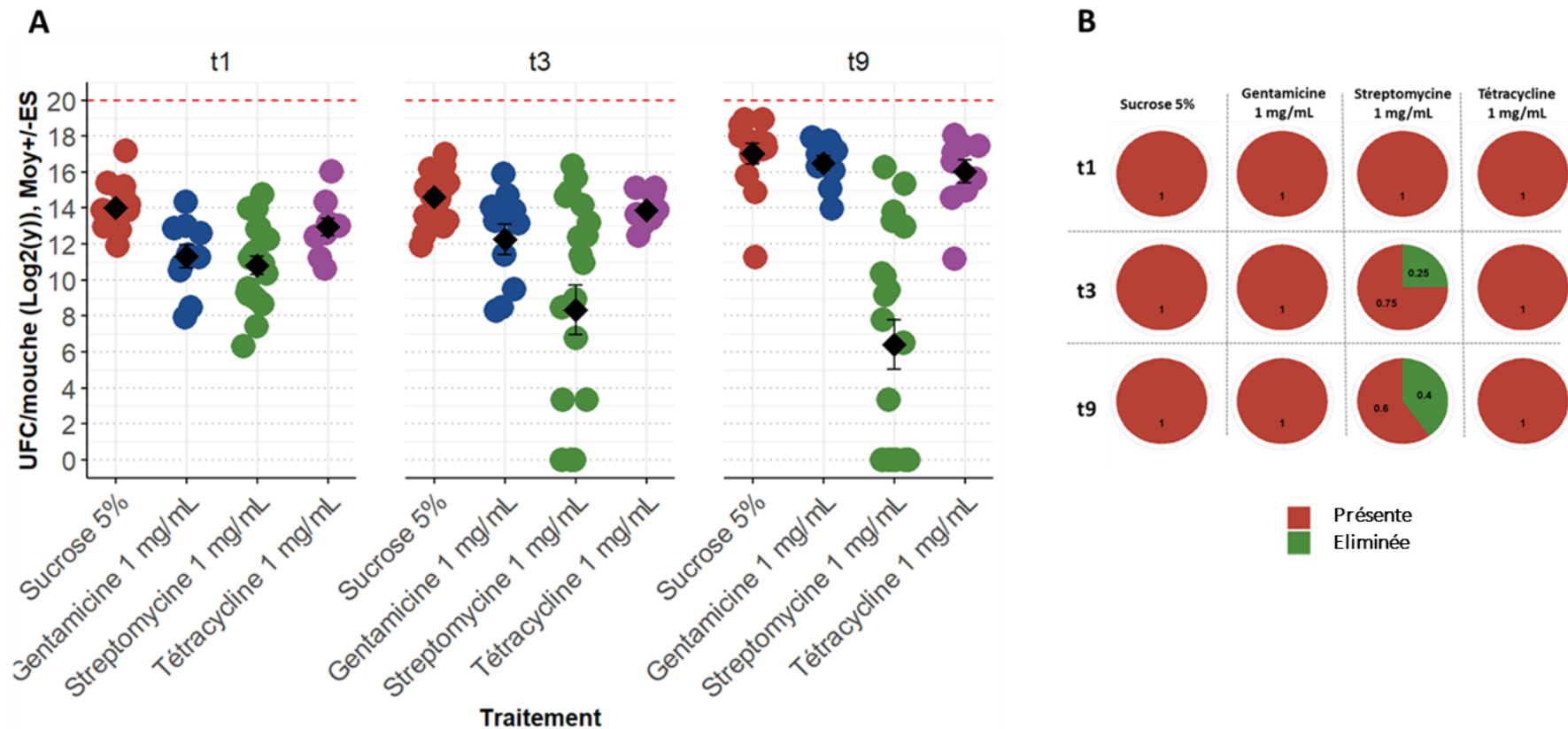


Figure 30: Impact du traitement antibiotique sur la réduction de la charge bactérienne chez les drosophiles infectées par *S. marcescens*

Les mouches ont été infectées avec une suspension de *S. marcescens* ($DO_{600} = 0,01$; 463 UFC/mouche) et nourries avec des solutions d'antibiotiques et/ou de saccharose 5 % (sucrose 5%) (5 heures d'exposition par jour). **A**) La charge bactérienne des mouches survivantes a été mesurée à différents temps post-traitement. **t1** : après un jour de traitement ou (One-Way ANOVA : $p = 0,0004$, suivi d'un test post-hoc) ; **t3** : après trois jours de traitement (One-Way ANOVA : $p < 0,0001$, suivi du test post-hoc de Tukey) ; **t9** : Neuf jours post-traitement (7×5 heures d'exposition) (Kruskal-Wallis : $p < 0,0001$, suivi du test post-hoc de Dunn). **B**) Proportion de mouches avec une charge bactérienne nulle (0 UFC) : en orange, les mouches chez lesquelles la bactérie est encore détectable ; en vert, celles chez lesquelles elle a été totalement éliminée.

3.2. Discussion

3.2.1. Evaluation de l'entomothérapie dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa

3.2.1.1. Connaissance traditionnelle restreinte et défis d'accessibilité

L'utilisation d'insectes à des fins médicinales, reste relativement peu répandue dans les régions de l'étude. Seulement 14 % (n=87) des participants à l'étude ont eu recours à cette pratique au moins une fois. En effet, parmi eux, 18 ont déclaré avoir utilisé les insectes une fois, 16 les ont utilisés deux fois, et 8 en ont fait usage trois fois. Malgré ces taux relativement bas, ces chiffres indiquent clairement l'existence de cette pratique au sein des systèmes de soins traditionnels des populations locales. Cette situation rejoint des observations faites dans d'autres pays de la sous-région ouest-africaine comme le Burkina Faso, le Bénin et le Nigeria (Lawal & Banjo, 2007 ; Loko *et al.*, 2019 ; Ouango *et al.*, 2022). Elle suggère que bien que les pratiques d'entomothérapie soient présentes, elles sont souvent limitées à des cadres culturels spécifiques et peuvent ne pas être largement reconnues ou pratiquées au-delà de certaines communautés. Cette faible diffusion reflète le manque de visibilité de l'entomothérapie dans la conscience collective des populations étudiées. Ce constat renforce l'idée que les savoirs traditionnels liés à l'utilisation des insectes à des fins médicinales en Afrique sont des secrets bien gardés au sein des familles, contrairement à la Chine et l'Inde, où ces connaissances sont transmises à travers des institutions académiques (Chakravorty *et al.*, 2011). Cette situation met en lumière l'urgence de mener des recherches approfondies sur ces pratiques entomothérapeutiques, afin d'élargir leur diffusion et de les préserver avant qu'elles ne se perdent dans l'oubli collectif (Costa-Neto, 2005).

Un aspect clé qui pourrait expliquer l'utilisation limitée de l'entomothérapie est la disponibilité saisonnière de certaines espèces d'insectes médicinaux. Les commentaires recueillis lors de l'enquête, tels que "*ils ne sont pas facilement trouvés*" ou "*ils sont difficiles à collecter*", soulignent des défis d'accessibilité importants. Ces obstacles peuvent limiter l'accès aux remèdes traditionnels, même lorsque la connaissance de leur utilisation existe (Lawal & Banjo, 2007). Au Nigeria, Fazoranti & Ajiboye (1993) avaient rapporté que les termites, particulièrement appréciés pour leurs propriétés médicinales, sont plus abondants pendant la saison des pluies. De même, au Bénin, Loko *et al.* (2019) ont noté que les chenilles et les sauterelles, utilisées pour traiter diverses maladies, sont principalement disponibles durant les mois de pluie, influençant ainsi leur intégration dans les pratiques médicinales traditionnelles. Une meilleure compréhension de ces dynamiques saisonnières pourrait contribuer à améliorer

la documentation et la préservation des pratiques médicinales traditionnelles, tout en permettant une gestion plus efficace des ressources naturelles utilisées en entomothérapie.

3.2.1.2. Influence des facteurs démographiques

Les différences de connaissance selon la région géographique, l'âge, l'ethnie et la profession soulignent l'impact de ces facteurs sur la transmission et la préservation des savoirs traditionnels. Les habitants de Bondoukou étaient mieux informés sur l'utilisation médicinale des insectes, ce qui pourrait s'expliquer par l'influence de traditions locales. En effet, cette familiarité avec l'entomothérapie pourrait être attribuée aux pratiques médicinales traditionnelles des communautés voltaïques, culturellement proches du Burkina Faso (ancienne Haute-Volta), où l'utilisation thérapeutique des insectes est a été rapportée (Ouango *et al.*, 2022). Il est probable que cette communauté ait su préserver et transmettre ces pratiques médicales au fil du temps, malgré les migrations et les changements sociaux.

La corrélation significative observée entre l'âge des participants et leurs connaissances sur les utilisations médicinales des insectes renforce l'idée que les individus plus âgés, ayant eu plus de temps pour accumuler et transmettre des savoirs, détiennent une part importante de ces connaissances traditionnelles (Costa-Neto, 2005). En revanche, les jeunes générations, probablement plus influencées par la médecine moderne, semblent moins familières avec ces pratiques ancestrales, ce qui soulève des inquiétudes quant à la possible érosion de ce savoir au fil du temps. Il est également intéressant de noter que la majeure partie des informations recueillies sur l'entomothérapie provient de la transmission familiale (71 %) et des cercles sociaux (29 %), soulignant la persistance de la tradition orale dans la préservation de ces connaissances. Ces résultats sont en accord avec ceux de Loko *et al.* (2019), qui ont rapporté que la plupart des préparations médicinales à base d'insectes dans les foyers du département du Plateau au Bénin étaient principalement transmises par les parents (67,3 %) et les amis (27,3 %). De plus, l'occupation des individus semble influencer leur niveau de connaissance : les agriculteurs et les personnes sans emploi sont parmi les plus informés. Cette tendance pourrait s'expliquer par leur proximité avec le cadre familial et rural, favorisant une transmission intergénérationnelle des savoirs, notamment au sein de la cellule familiale.

3.2.1.3. Diversité des insectes médicinaux recensés : répertoire et pathologies ciblées

La répartition des insectes médicinaux dans cette étude révèle une prédominance des hyménoptères, avec 5 espèces sur 10 identifiées. Cette tendance se retrouve dans diverses cultures africaines, soulignant l'importance thérapeutique considérable des hyménoptères. Au Burkina Faso, Ouango *et al.* (2022) ont identifié 8 espèces d'hyménoptères parmi les 19 insectes médicinaux répertoriés dans les communautés provinciales de Houët et de Kadiogo. Au Cameroun, Tamesse *et al.* (2018) ont rapporté que les fourmis et les abeilles sont couramment vendues par les guérisseurs traditionnels et utilisées pour traiter diverses maladies, telles que les rhumatismes, la varicelle, l'inflammation de la rate, l'hernie ombilicale, les oreillons, les crampes et les os fragiles. Cette importance thérapeutique des hyménoptères ne se limite pas à l'Afrique. En Inde, Mozhui *et al.* (2021) ont documenté 20 % d'hyménoptères parmi les onze (11) ordres d'insectes médicinaux employés par la communauté de Nagaland. De même, en Amérique du Sud, Costa-Neto (2005) a enregistré 9 ordres distincts d'insectes médicinaux dans la médecine traditionnelle de Bahia, au Brésil, parmi lesquels 22 espèces étaient des Hyménoptères. L'importance des hyménoptères en tant qu'agents thérapeutiques réside dans les sécrétions qu'ils produisent pour se défendre contre les prédateurs. Des études pharmacologiques récentes, basées sur des caractérisations biochimiques et transcriptomiques des venins d'hyménoptères, ont permis de mieux comprendre les propriétés thérapeutiques de ces sécrétions (Menk *et al.*, 2023). En effet, ces venins contiennent une variété de composés bioactifs tels que des polypeptides, des enzymes, des alcaloïdes, des amines biogènes, de l'acide formique, des hydrocarbures et des peptides antimicrobiens, qui ont des propriétés pharmacologiques remarquables telles que des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, neurotoxiques et anticancéreuses (Touchard *et al.*, 2015 ; Menk *et al.*, 2023).

Ces résultats pourraient expliquer l'utilisation d'espèces de fourmis telles que *Camponotus sp.*, *Dorylus sp.* et *Oecophylla longinoda* dans le traitement de la fièvre, de la toux et pour stimuler le développement moteur chez les enfants. Les échanges avec les mères et les grandes mères, gardiennes de ces savoirs ancestraux permettent de mieux comprendre le contexte socioculturel de cette pratique. Les infusions de fourmis (*Camponotus sp.*, *Dorylus sp.*) utilisées pour les lavements chez les enfants reposent sur la croyance que cette pratique offre une protection contre les maladies infantiles et favorise une acquisition rapide de la mobilité, prévenant ainsi les retards de développement. Les mères associent la nature malade et les difficultés motrices des enfants en âge de marcher à un système immunitaire affaibli. Cette croyance se manifeste par des expressions telles que "il/elle est toujours malade" ou "il/elle est trop calme.". Cette

pratique est considérée comme purifiant le corps de l'enfant, favorisant ainsi son développement psychomoteur. Ces pratiques ne sont pas nouvelles et ont déjà été observées dans d'autres cultures du monde. Il a été rapporté que les Arawaks en Guyane encourageaient les piqures de *Paraponera clavata* communément appelée "fourmi balle de fusil" sur leurs bébés pour stimuler la marche précoce (Costa-Neto, 2005). Loko *et al.* (2019) ont mentionné l'utilisation de la fourmi *Oecophylla longinoda* dans le traitement de l'hypertension et des douleurs corporelles au Bénin. En Chine, la médecine à base de fourmis est considérée comme un traitement utile pour diverses affections liées au foie, les performances sexuelles masculines et féminines et les problèmes de cancer (Choudhary *et al.*, 2022). De même, chez les Nagas, une décoction bouillie d'*Oecophylla smaragdina* est administrée par voie orale pour traiter efficacement les toux et les fièvres (Mozhui *et al.*, 2021). L'importance médicale et l'utilisation concomitante des hyménoptères dans diverses pharmacopées traditionnelles à travers le monde sont des facteurs cruciaux à prendre en compte pour de nouvelles découvertes en pharmacologie.

L'utilisation thérapeutique du cafard, *Periplaneta americana*, pour traiter des affections cutanées telles que les furoncles, les plaies et les maux d'oreilles est une pratique médicinale traditionnelle bien établie malgré les perceptions parfois folkloriques et les préjugés qui l'entourent. Des recherches scientifiques ont montré que l'hémolymphe de *Periplaneta americana* renferme des composés bioactifs, notamment des peptides antimicrobiens, capables d'inhiber efficacement des pathogènes comme *E. coli* et *M. luteus* (Basseri *et al.*, 2016 ; Martin & Channe, 2020). Cette approche trouve une justification logique dans le mode de vie des cafards, qui prospèrent souvent dans des conditions insalubres, leur permettant de développer une immunité naturelle contre les bactéries (Dossey, 2010). Ces découvertes corroborent l'emploi historique des blattes dans la médecine populaire de plusieurs régions africaines. Au Burkina Faso, dans les provinces de Kadiogo et de Houët, un mélange de *Periplaneta americana* écrasé avec du beurre de karité est utilisé pour traiter les maux de tête, les otites, les brûlures et le zona (Ouango *et al.*, 2022). En Zambie, la pharmacopée traditionnelle mentionne l'usage de six espèces de cafards pour traiter les furoncles causés par des infections des follicules pileux et d'autres blessures (Mbata, 1999).

Les larves de *Rhynchophorus phoenicis*, également connues sous le nom de charançons des palmiers, occupent une place importante dans les pratiques d'entomophagie en Afrique (Ehounou *et al.*, 2018 ; Siddiqui *et al.*, 2024). Leur consommation est motivée non seulement par leur richesse nutritionnelle et leurs qualités organoleptiques, mais également par des croyances populaires selon lesquelles elles pourraient soulager certaines affections. Cette étude

révèle que ces larves sont utilisées pour traiter des problèmes tels que la toux et les brûlures. De telles utilisations trouvent un écho dans d'autres traditions culturelles : certaines tribus indiennes les exploitent pour atténuer les symptômes de toux et de douleurs corporelles (Posey, 2003). Au Bénin, les adultes de *Rhynchophorus phoenicis* sont employés pour traiter divers troubles tels que les maux de tête, les caries dentaires et la fièvre (Loko *et al.*, 2019). Cette pratique s'inscrit dans une longue tradition d'utilisation des insectes à des fins médicinales dans la région, où les croyances traditionnelles et les pratiques médicales convergent souvent. L'importance thérapeutique des larves de charançons des palmiers est soutenue par des preuves scientifiques récentes. Une étude récente a révélé que l'hémolymph extraite de ces larves possède des propriétés antimicrobiennes significatives, avec une activité efficace contre plusieurs souches bactériennes pathogènes, dont *E. coli* et *S. aureus* et *Salmonella sp.*. Ces découvertes confirment les avantages médicaux traditionnellement attribués à ces insectes, offrant une explication scientifique à leur utilisation dans les pratiques médicales populaires.

L'utilisation thérapeutique de la reine du termite *Macrotermes subhyalinus*, notée pour le traitement des hémorroïdes, s'aligne avec ses applications plus larges dans la médecine traditionnelle. Les reines de termite sont très appréciées dans les pharmacopées africaines pour leurs effets aphrodisiaques (Motte-Florac & Le Gall, 2022). Parmi diverses communautés telles que les Nagot au Bénin, les Wolofs au Sénégal et les Shonas au Zimbabwe, ces reines sont reconnues pour améliorer la virilité. En parallèle, chez les Yorubas au Nigeria et les Kabayes au Togo, elles sont réputées pour améliorer la fertilité féminine (Motte-Florac & Le Gall, 2022). De plus, en Chine, il a été observé que certaines personnes intriguées par leurs propriétés aphrodisiaques les consomment avec un peu d'alcool ou les trempent dans de l'alcool avant ingestion (Durst *et al.*, 2010). L'utilisation convergente des reines de termite en Asie et en Afrique pour améliorer la santé globale, la fertilité ou comme aphrodisiaque pourrait être attribuable à leur richesse en écdystéroïdes. Ces composés ont la capacité de stimuler la synthèse des protéines chez les humains et pourraient offrir des effets anabolisants, améliorant ainsi les performances physiques et l'endurance (Lupoli, 2010).

La cigale (*Cicada orni*) et la mante religieuse (*Mantis religiosa*) sont également utilisées par certains des individus interrogés pour traiter respectivement les maux de dents, les otites et les entorses. Dans une revue des insectes utilisés comme remèdes dans différentes cultures humaines, l'utilisation de la cigale *Huechys sanguinea* a également été signalée pour soulager les migraines et les infections de l'oreille dans les provinces chinoises de Fujian, Guangdong, Guangxi, Jiangsu, Sichuan et Zhejiang (Bairagi, 2019). Meyer-Rochow (2017) a mentionné

l'utilisation de la mante religieuse comme remède, bien qu'elle soit plus communément associée au traitement d'autres affections telles que la fièvre, le bérubéri, les maux de dents, ainsi que les problèmes capillaires et respiratoires.

Outre les insectes dans leur ensemble ou leurs composants, certains dérivés d'insectes servent aussi d'ingrédients pour les remèdes traditionnels. Un exemple marquant est le miel, un produit fabriqué par les abeilles (*Apis mellifera*), largement reconnu pour ses nombreuses propriétés curatives. De façon moins surprenante, les populations interrogées l'utilisent pour traiter la toux et les troubles gastriques, des usages soutenus par des preuves scientifiques de son efficacité (Abdulrhman *et al.*, 2010 ; Syaripudin *et al.*, 2024). Aujourd'hui, le miel est intégré dans divers produits pharmaceutiques en raison de ses propriétés antimicrobiennes, antitumorales et anti-inflammatoires (Fauzi *et al.*, 2011 ; Balas, 2015). Cependant, il est important de souligner que ces résultats proviennent principalement d'études *in vitro* et de modèles animaux, et que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces effets chez l'homme.

En plus du miel, les nids de guêpes maçonnes sont également utilisés comme agents thérapeutiques pour traiter les entorses et les enflures. En comparaison, les nids de guêpes potières, *Eumene sp.*, ont été rapportés comme étant utilisés par les Mishings et les Bodos ainsi que d'autres tribus assamaïses en Inde pour soulager les maux de tête et les brûlures. Les propriétés pharmacologiques des nids de guêpes proviennent des éléments constitutifs du nid, en particulier de l'argile et de la salive de guêpe (Wenzel, 1998). L'argile est très appréciée pour ses diverses propriétés pharmacologiques, notamment dans la réduction de l'inflammation et le soulagement de la douleur associée aux entorses (Lefief-Delcourt, 2012). Quant à la salive de guêpe, elle se compose d'un mélange complexe de composés chimiques tels que des enzymes, des protéines et des amines biogènes, possédant diverses propriétés biologiques telles que des effets analgésiques, anti-inflammatoires ou antimicrobiens (Beaudouin *et al.*, 2022).

3.2.1.4. Influence de la nature de l'insecte sur le mode de préparation et d'administration des remèdes

Le choix des méthodes de préparation et d'administration semble être influencée par la nature des insectes utilisés. Par exemple, l'administration par voie anale, observée avec les préparations de *Camponotus sp.*, pourrait être liée aux propriétés spécifiques des composants chimiques de cet insecte. Ces composants chimiques pourraient être mieux absorbés ou plus efficaces lorsqu'ils sont appliqués directement sur les muqueuses internes. Cette méthode

d'administration par voie anale, pourrait également être choisie pour des raisons culturelles ou traditionnelles. Certaines régions perçoivent cette voie comme plus efficace pour traiter des affections systémiques ou des maladies internes. En Côte d'Ivoire, par exemple, la pratique de la purge par voie anale pour les troubles digestifs ou les parasitoses est largement acceptée, non seulement pour ses résultats perçus, mais aussi pour sa capacité à prévenir les maladies avant qu'elles ne se manifestent pleinement (Moyabi *et al.*, 2021). La croyance en une absorption plus rapide et une efficacité accrue par cette méthode démontre une perception très développée des voies d'administration en fonction des pathologies. L'utilisation spécifique de certaines voies d'administration, telles que la voie cutanée pour les infections ou les inflammations locales, suggère une spécialisation des pratiques. Cette spécialisation pourrait être le résultat d'observations empiriques, où l'application directe sur la peau a démontré une efficacité particulière dans le traitement de plaies, d'ulcères, ou d'autres affections cutanées (Barbosa *et al.*, 2018). Par ailleurs, la préparation de ces insectes pour une application topique implique souvent des techniques de broyage, qui peuvent libérer des substances actives plus concentrées ou immédiatement disponibles pour une action rapide.

L'utilisation des insectes dans la médecine traditionnelle offre une perspective unique sur les avantages thérapeutiques potentiels que ces organismes peuvent offrir. Bien que l'entomothérapie soit relativement sous-utilisée dans les zones étudiées, elle représente une ressource médicinale potentielle méritant une attention scientifique accrue pour sa documentation et sa préservation. Les résultats de cette étude pionnière soulignent la nécessité de poursuivre les recherches pour documenter ces systèmes de connaissances traditionnelles tout en explorant leur potentiel pharmacologique. Ces recherches pourraient ouvrir la voie à l'intégration de ces pratiques traditionnelles dans les soins de santé modernes, offrant de nouvelles perspectives pour le traitement de diverses affections. Étant donné que les insectes médicinaux sont directement prélevés dans la nature, des systèmes d'élevage d'insectes médicinaux devraient être envisagés pour promouvoir la conservation de la biodiversité des insectes et garantir leur utilisation durable dans la médecine traditionnelle. Un autre aspect non abordé dans cette étude, l'utilisation symbolique des insectes pour des rituels magiques et religieuse pourrait aider à mieux comprendre cette pratique.

3.2.2. Analyse du potentiel antimicrobien de l'hémolymphe larvaire : cas des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*

L'injection de la suspension bactérienne dans les larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis* a efficacement déclenché une réponse immunitaire chez les individus infectés. La

Résultats et Discussion

survie de toutes les larves après l'infection indique que les bactéries injectées ont été rapidement neutralisées par le système immunitaire de ces insectes, démontrant une résilience remarquable de ces coléoptères face à l'agression pathogène (Knutelski *et al.*, 2021). Ces observations sont en accord avec la présence de composés antibactériens dans l'hémolymphe des spécimens étudiés, lesquels jouent un rôle déterminant dans la défense immunitaire.

L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'extrait d'hémolymphe a confirmé cette hypothèse, révélant une inhibition significative de la croissance de diverses souches bactériennes, y compris des souches cliniques de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Bacillus subtilis* 1A786) et de *Staphylococcus aureus*, multirésistante à la méticilline. Les zones d'inhibition observées étaient particulièrement étendues, illustrant l'efficacité des composés bioactifs présents dans l'hémolymphe, et soulignant leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens puissants.

Chez *Oryctes owariensis*, les zones d'inhibition *in vitro* de la croissance bactérienne obtenues avec l'hémolymphe des larves immunisées par le mélange bactérien (*E. coli* et *S. aureus*) s'est avérée statistiquement équivalente à celles observées chez les larves non infectées (témoins). Cela suggère la présence d'une activité antibactérienne constitutive et intrinsèque dans l'hémolymphe de cette espèce, potentiellement liée à des mécanismes de défense innée. Cette propriété pourrait être attribuée à l'action d'enzymes comme les phénoloxydases, impliquées dans la cascade de mélanisation, ou à des protéines antimicrobiennes naturellement présentes, telles que les lysozymes et les lectines, qui jouent un rôle clé dans la reconnaissance et la neutralisation des pathogènes (Soliman *et al.*, 2022). En outre, ce phénomène pourrait être dû à une expression constitutive des peptides antimicrobiens, indépendante de l'exposition à des agents pathogènes externes. En effet, des études ont montré que, dans certains cas, les peptides antimicrobiens chez les insectes sont également induits en réponse à des stress non infectieux (Matsumura *et al.*, 2018). Cela suggère que la production de ces peptides pourrait être régulée par des mécanismes de défense plus généraux, permettant aux insectes de maintenir une réponse antimicrobienne active même en l'absence d'infections spécifiques. La plus faible concentration minimale inhibitrice (CMI) mesurée sur les bactéries Gram-positives, soit 12,5 mg/mL, révèle leur vulnérabilité à l'hémolymphe de *O. owariensis*. Une étude similaire menée par Mastore *et al.* (2019) a également rapporté une sensibilité accrue des bactéries Gram-positives (*B. subtilis* et *M. luteus*) à l'hémolymphe des larves de *R. ferrugineus*, qu'elles soient immunisées ou naïves. En effet, l'absence de membrane externe dans la paroi des bactéries Gram-positives les rend plus vulnérables aux changements environnementaux, tels que la température, le pH et les

composés naturels (El Harras, 2020). L'activité antimicrobienne de l'hémolymph pourait également être attribuée à certains peptides antimicrobiens spécifiques aux insectes, notamment les coléoptéricines et les défensines d'insectes, qui montrent une efficacité accrue contre les bactéries Gram-positives (Park *et al.*, 2015 ; Patyra & Kwiatek, 2023)

Chez l'espèce *Rhynchophorus phoenicis*, l'analyse de l'hémolymph a révélé une activité antibactérienne nettement supérieure chez les individus infectés par rapport au groupe témoin non infecté. Les zones d'inhibition mesurées vont de $26,22 \pm 0,69$ mm contre *Bacillus subtilis* à $35,30 \pm 2,4$ mm contre *Staphylococcus aureus*. En revanche, les larves non infectées présentent des zones d'inhibition significativement plus petites, avec des diamètres variant de $15,84 \pm 0,61$ mm pour *Bacillus subtilis* à $22,46 \pm 3,11$ mm pour *Salmonella sp.*. Ces différences marquées soulignent l'effet renforcé de l'activation immunitaire en réponse à l'infection, suggérant une augmentation notable de la production de peptides antimicrobiens dans l'hémolymph des larves infectées. Cela démontre l'efficacité accrue du système immunitaire de *R. phoenicis* lorsqu'il est confronté à des agents pathogènes, par rapport aux conditions normales observées chez les larves non infectées. Des études précédentes sur *Rhynchophorus ferrugineus* ont montré que l'induction de la réponse immunitaire par l'immunisation des larves améliore de manière significative l'activité antimicrobienne de leur hémolymph (Mastore *et al.*, 2019 ; Zhang *et al.*, 2023). De plus, la concentration minimale inhibitrice (CMI) mesurée est uniforme (3,12 mg/mL) pour toutes les souches testées, qu'elles soient Gram-positives ou Gram-négatives, et qu'elles présentent des phénotypes sensibles ou résistants. Cette constatation démontre le large spectre d'activité des composés antimicrobiens présents dans l'hémolymph. L'uniformité de la CMI suggère que ces composés sont capables d'inhiber efficacement une grande variété de pathogènes, indépendamment de leur classification bactérienne ou de leur profil de résistance. Ce résultat confirme non seulement l'efficacité potentielle de la réponse antimicrobienne de l'hémolymph mais aussi le large spectre d'activité des potentiels peptides antimicrobiens présents (Yi *et al.*, 2014 ; Manniello *et al.*, 2021). Les PAMs à structure α -hélicoïdale tels que les cécropines et les mélittines isolés chez les insectes agissent principalement par des mécanismes membranolytiques, ce qui explique leur efficacité contre une vaste gamme de pathogènes, y compris ceux résistants aux traitements conventionnels (Patyra & Kwiatek, 2023 ; Manniello *et al.*, 2021). Ces caractéristiques offrent une perspective prometteuse pour le développement de nouveaux traitements antimicrobiens basés sur ces composés.

Les résultats mettent en lumière le potentiel des insectes étudiés comme sources prometteuses de composés antibactériens. Ces molécules intrinsèques de l'hémolymphe, véritables acteurs de l'immunité innée, démontrent une activité étendue contre divers types de bactéries, y compris celles résistantes aux traitements actuels. Cette découverte souligne l'importance d'explorer les facteurs environnementaux et biologiques influençant la production de ces composés, dans le but d'optimiser leur utilisation potentielle en tant qu'agents thérapeutiques naturels. Pour approfondir ces résultats, plusieurs pistes de recherche sont à considérer. D'abord, l'isolement et la caractérisation des peptides antimicrobiens spécifiques pourraient révéler de nouvelles molécules à fort potentiel thérapeutique. Ensuite, une meilleure compréhension des mécanismes d'action de ces peptides permettrait d'optimiser leur efficacité. Enfin, le développement de traitements combinant ces peptides avec des antibiotiques classiques pourrait offrir des solutions innovantes pour combattre les infections résistantes, tout en élargissant l'arsenal des thérapies antimicrobiennes.

3.2.3. Modèle d'infection bactérienne chez *Drosophila melanogaster* : un outil pour l'évaluation de thérapies antimicrobiennes

3.2.3.1. Réponses différentielles de la drosophile aux infections bactériennes : perspectives sur *Providencia burhodogranariae* et *Serratia marcescens*

L'infection bactérienne chez *Drosophila melanogaster* ne présente pas des tendances uniformes, et cette variabilité peut dépendre de la bactérie infectante (Duneau *et al.*, 2017 ; Wukitch *et al.*, 2023). Dans ce modèle, les deux souches bactériennes utilisées, *Providencia burhodogranariae* et *Serratia marcescens*, illustrent des processus infectieux distincts, entraînant des réponses immunitaires différentes chez l'hôte.

L'injection de *Providencia burhodogranariae* dans la circulation générale de la drosophile induit une infection chronique, qui bien que moins létale, se caractérise par une charge bactérienne persistante, étroitement liée à la concentration initiale de l'inoculum (Chambers *et al.*, 2019). La charge bactérienne se stabilise à environ 228 ± 139 UFC/mouche pour la DO 0,01, 2566 ± 705 UFC/mouche pour la DO 0,1 et 37000 ± 2600 UFC/mouche pour la DO 1. Contrairement aux infections plus aiguës, les mouches infectées par *P. burhodogranariae* montrent une capacité remarquable à tolérer une charge bactérienne élevée, sans pour autant réussir à éliminer complètement le pathogène. Ce phénomène s'aligne bien avec le concept de « *disease tolerance* », qui se définit par la capacité de l'hôte à maintenir son intégrité malgré la présence continue de l'agent pathogène (McCarville & Ayres, 2018). En d'autres termes, l'hôte pourrait coexister avec la bactérie tout en atténuant les symptômes de l'infection, ce qui souligne

l'importance de différencier la survie de l'hôte et l'élimination du pathogène dans l'évaluation de l'efficacité des traitements (McCarville & Ayres, 2018). La charge bactérienne seuil observée est comparable à ce que Duneau *et al.* (2017) ont décrit comme le « Set Point Bacterial Load » (SPBL), concept marquant un équilibre dans les infections chroniques. Ce SPBL reflète une interaction dynamique entre la prolifération bactérienne et la réponse immunitaire de l'hôte, où les mouches adoptent une stratégie de coexistence avec le pathogène plutôt que de viser son éradication complète (Galac & Lazzaro, 2011). Duneau et ses collègues ont modélisé cette dynamique par un modèle mathématique d'infection bactérienne. Dans ce modèle, les bactéries prolifèrent de manière exponentielle dans les premières heures suivant l'inoculation, pendant que la réponse immunitaire de l'hôte se met en place (phase désignée par "t^c"). Les auteurs ont alors émis l'hypothèse d'un seuil critique de densité bactérienne : si ce seuil est atteint avant que la réponse immunitaire ne soit pleinement activée, les bactéries continueront à se multiplier jusqu'à provoquer la mort de l'hôte. En revanche, si ce seuil n'est pas atteint, l'infection se stabilise à la densité atteinte à "t^c", devenant alors chronique. Les résultats de cette étude soutiennent ce dernier cas, dans lequel la charge bactérienne demeure stable. La chronicité de l'infection dans ce modèle est particulièrement pertinente, car ces types d'infections posent un défi majeur dans le traitement des maladies infectieuses (Acuña, 2021). Elles sont souvent associées à une réponse immunitaire compromise et à une dysbiose microbienne (Cao *et al.*, 2023). La stabilité de la charge bactérienne ici offre l'opportunité d'explorer des traitements capables de maintenir la survie de l'hôte tout en éradiquant la bactérie sans interférence avec le système immunitaire innée de l'hôte.

A l'inverse, l'infection par *Serratia marcescens* déclenche des réponses immunitaires bien plus sévères, entraînant des taux de mortalité beaucoup plus élevés, comme illustré dans le premier cas du modèle de Duneau *et al.* (2017). Dans la présente étude, plus de 80 % des mouches infectées par une dose de *S. marcescens* à Densité Optique 1 (DO₆₀₀ = 1, soit 60000 UFC/mouche) ont succombé dans les 48 heures suivant l'infection. L'agressivité et la rapidité avec lesquelles *S. marcescens* induit des effets létaux ont été abondamment documentées dans la littérature notamment pour la souche Db11 connue pour sa virulence élevée (Nehme *et al.*, 2007 ; Duneau *et al.*, 2017 ; Gilbert *et al.*, 2020). Cette souche entraîne une mortalité quasi systématique de l'hôte en moins de 24 heures (Chen *et al.*, 2024 ; Duneau *et al.*, 2017 ; Gilbert *et al.*, 2020). Cette progression rapide est particulièrement utile pour l'étude des interactions hôte-pathogène lors d'infections aiguës. Cependant, lorsqu'il s'agit d'évaluer l'efficacité de traitements antibactériens, une telle virulence pose un défi méthodologique, car elle réduit

considérablement la fenêtre temporelle disponible pour observer la dynamique de la réponse au traitement (Vidal *et al.*, 2024). Dans la présente étude, nous avons démontré que la souche sauvage de *S. marcescens* induit une infection plus modérée, caractérisée par une virulence atténuée et une mortalité progressive de l'hôte. Cette progression plus lente suggère une interaction différente avec le système immunitaire de l'hôte. Il est bien établi que *D. melanogaster* possède un système immunitaire inné robuste, reposant principalement sur les voies IMD et Toll, qui constituent la première ligne de défense contre les infections bactériennes (Lemaitre & Hoffmann, 2007 ; Buchon *et al.*, 2014 ; Prakash *et al.*, 2024). Nos observations suggèrent que, face à la souche sauvage, ces mécanismes de défense peuvent temporairement contenir la prolifération bactérienne, retardant ainsi la mortalité de l'hôte. Ce phénomène rappelle certains mécanismes observés lors d'infections bactériennes en phase aiguë, où un équilibre transitoire entre la prolifération bactérienne et la réponse immunitaire permet un sursis temporaire (Duneau *et al.*, 2017). Toutefois, cet équilibre reste fragile, car la persistance prolongée de l'infection, même sur une courte durée, impose une contrainte métabolique significative, susceptible de compromettre la survie de l'hôte à moyen terme (Dardy *et al.*, 2025 ; Blanc, 2023 ; Troha & Ayres, 2020). Aussi, la relation dose-réponse constitue un paramètre clé dans la progression des infections bactériennes, et les résultats confirment que la dose infectieuse est un déterminant majeur du développement de l'infection (Cabrera *et al.*, 2023 ; Chambers *et al.*, 2019 ; Wukitch *et al.*, 2023). Dans le cas de la souche sauvage de *S. marcescens*, une dose plus faible n'empêche pas l'issue fatale, mais en ralentit la progression. Par exemple, à la dose la plus faible ($679,50 \pm 90,63$ UFC/mouche, $OD_{600} = 0,01$), la mortalité devient apparente à partir du sixième jour et dépasse 95 % au dixième jour post-infection. A partir de cette observation, nous avons émis l'hypothèse qu'un traitement antibiotique approprié pourrait significativement réduire la charge bactérienne permettant ainsi à l'hôte de mieux contrôler l'infection et de limiter les dommages.

3.2.3.2. Evaluation de l'efficacité des antibiotiques dans le contrôle de l'infection

3.2.3.2.1. Réactions de l'ampicilline et de la tétracycline face à la dynamique de l'infection chronique par *Providencia burhodogranariae*

Le traitement antibiotique appliqué après l'infection a mis en évidence les interactions entre les antibactériens et l'infection par *Providencia burhodogranariae* chez la drosophile. L'ampicilline, bien que prometteuse *in vitro* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 4 µg/mL, n'a pas réussi à réduire de manière significative la charge bactérienne *in vivo*, même à une concentration plus élevée de 1 mg/mL. Ces résultats sont inattendus, car l'effet attendu des antibiotiques est généralement une réduction marquée, voire une élimination

complète des unités formant colonies (UFC) chez les individus traités. Le manque d'effet de l'ampicilline pourrait être attribuée à un phénomène de tolérance aux antibiotiques, où les bactéries, bien que sensibles aux antibiotiques *in vitro*, survivent en modifiant temporairement leur métabolisme et leur activité en conditions biologiques (Westblade *et al.*, 2020). Les bactéries tolérantes entrent souvent dans un état de dormance ou ralentissent considérablement leur métabolisme, ce qui les rend insensibles aux effets bactéricides des antibiotiques, dont l'action repose généralement sur l'activité cellulaire active (protéosynthèse, division cellulaire, etc.). Des études récentes, telles que celles de Van den Bergh (2022), confirment que les bactéries peuvent développer une tolérance accrue lorsqu'elles se trouvent dans les environnements complexes tels que l'intestin de la drosophile. *Providencia burhodogranaria*, une espèce endogène de l'intestin de *Drosophila melanogaster* (Juneja & Lazzaro, 2009), est probablement soumise à ces pressions physiologiques et immunitaires qui modifient sa réponse aux traitements antibiotiques. L'environnement intestinal, riche en interactions avec le microbiote et les réponses immunitaires de l'hôte, pourrait ainsi jouer un rôle clé dans la persistance bactérienne malgré l'administration d'antibiotiques efficaces *in vitro*. De plus, des études ont montré que les microorganismes dans leur environnement naturel existent en biofilms, une structure multicellulaire protectrice qui peut également contribuer à la tolérance (Flemming *et al.*, 2016 ; Ciofu *et al.*, 2017 ; Bronnec & Alexeyev, 2021). En se nichant dans des biofilms à la surface intestinale, *P. burhodogranaria* peut échapper à la pénétration complète de l'antibiotique, ce qui limite son efficacité. Cette protection naturelle pourrait expliquer pourquoi, même avec des concentrations élevées d'ampicilline, *P. burhodogranaria* persiste chez les mouches infectées.

En revanche, la tétracycline a montré une bien meilleure efficacité en améliorant significativement la survie des mouches infectées par *P. burhodogranaria*. En effet, la totalité des drosophiles traitées avec 0,5 mg/mL de tétracycline ont survécu jusqu'à la fin de l'expérience (14e jour post traitement). Des résultats similaires ont été rapportés par Oh *et al.* (2014), qui ont observé une survie de 100 % chez des mouches infectées par *Mycobacterium abscessus* et traitées avec de la tigécycline, une molécule de la même famille des tétracyclines. En plus de son effet sur la survie, elle a démontré une réduction significative de la charge bactérienne chez les mouches infectées par *P. burhodogranaria*. Cependant, cette réduction, bien que notable, a été moins importante qu'attendu. Dès le premier jour de traitement avec une solution contenant 1 mg/mL de tétracycline, la charge bactérienne a fortement diminué, passant d'environ 20 000 à 11 000 UFC par mouche. Ce changement significatif indiquait une réponse

rapide au traitement. La tétracycline agit efficacement pour réduire la viabilité bactérienne. Grâce à son mécanisme d'inhibition de la synthèse protéique, la tétracycline semble particulièrement bien adaptée pour agir contre les bactéries en phase stationnaire, ce qui explique cette réduction substantielle (Oh *et al.*, 2014). Toutefois, il est intéressant de noter qu'un traitement prolongé sur cinq jours n'a pas entraîné de réduction supplémentaire de la charge bactérienne par rapport à celle observée dès le premier jour. Cela suggère que la tétracycline atteint un plateau d'efficacité après une réponse initiale rapide, ce qui pourrait refléter l'établissement d'un équilibre dynamique entre la charge bactérienne et la réponse immunitaire de l'hôte. Un facteur qui pourrait expliquer l'absence de réduction supplémentaire de la charge bactérienne lors d'un traitement prolongé est l'effet bactériostatique de la tétracycline (Rezaei *et al.*, 2012 ; He *et al.*, 2018). En effet, cet antibiotique, ne tuant pas les bactéries mais inhibant leur prolifération, pourrait justifier la stabilité de la charge bactérienne après le premier traitement.

Enfin, ces résultats mettent en lumière le potentiel du modèle de drosophile comme outil d'évaluation de l'efficacité de composés antibactériens *in vivo*. Ce modèle offre également une plateforme unique pour étudier les interactions complexes entre les antibiotiques et les réponses immunitaires de l'hôte. L'inefficacité de l'ampicilline à réduire la charge bactérienne *in vivo*, malgré son efficacité démontrée *in vitro*, met en lumière l'importance des conditions environnementales et des mécanismes de tolérance bactérienne. La compréhension de ce phénomène pourrait bénéficier d'études plus approfondies sur les mécanismes précis par lesquels *Providencia burhodogranariae*, et d'autres bactéries intestinales, modifient leur réponse aux antibiotiques en présence de divers facteurs immunitaires et microbiens. De futures recherches pourraient tester des molécules bactéricides ou capables de perturber les biofilms en complément des antibiotiques classiques, afin d'améliorer l'efficacité des traitements.

3.2.3.2.2. Efficacité de la streptomycine et limites de la gentamicine et de la tétracycline face à l'infection à *Serratia marcescens*

L'action attendue des antibiotiques dans le modèle d'infection à *Serratia marcescens* semble bien se confirmer révélant un effet protecteur et antibactérien significatif. Etant donné la létalité de *S. marcescens* sur la drosophile, l'hypothèse initiale formulée était que l'administration d'un traitement antibiotique efficace pourrait non seulement prolonger la survie des mouches infectées, mais également réduire, voire éradiquer, la charge bactérienne. Les résultats obtenus avec la streptomycine corroborent cette hypothèse de manière prometteuse. En effet, la streptomycine a démontré une efficacité remarquable après 10 jours de traitement, en réduisant

le risque de décès de 82,75 % par rapport au groupe témoin. Cette amélioration substantielle de la survie est probablement liée à la réduction rapide et significative de la charge bactérienne, empêchant ainsi l'infection de submerger le système immunitaire de l'hôte (Duneau *et al.*, 2017). Son efficacité repose principalement sur son action bactéricide : en bloquant la synthèse des protéines bactériennes, elle entraîne la destruction rapide des cellules pathogènes (Ahmad *et al.*, 2010 ; Donald *et al.*, 2002). Cependant, un effet indirect sur l'immunité de la drosophile pourrait également être impliqué. Certains antibiotiques, comme la rifampicine ou l'amikacine, sont connus pour moduler les réponses immunitaires via l'activation de l'autophagie, un mécanisme essentiel pour éliminer les pathogènes intracellulaires (Kim *et al.*, 2012 ; Tzelepis *et al.*, 2013). Ce processus cellulaire joue un rôle clé dans l'élimination des pathogènes intracellulaires et pourrait avoir permis à l'hôte de restaurer un équilibre immunitaire suffisant pour limiter la progression de l'infection (Hargitai *et al.*, 2022).

L'action de la streptomycine a probablement été rendue possible par sa biodisponibilité optimale chez la mouche. Il est en effet bien connu que la capacité d'un antibiotique à atteindre et à maintenir des concentrations efficaces dans l'organisme hôte est un facteur clé de son activité thérapeutique (Guzelaydin *et al.*, 2025). Une distribution homogène dans l'hémolymph et une diffusion efficace vers les tissus cibles pourraient expliquer pourquoi la streptomycine éradique rapidement *S. marcescens*. Des résultats similaires ont été obtenus dans un modèle d'infection chez *Galleria mellonella*, où la streptomycine a montré une efficacité accrue contre *Francisella tularensis* (Aperis *et al.*, 2007). Ces observations confirment l'importance de la biodisponibilité de l'antibiotique et de sa distribution tissulaire dans son action thérapeutique, des facteurs qui pourraient faire défaut pour la gentamicine. Bien que la gentamicine appartienne à la même famille d'aminoglycosides, elle ne montre aucun effet significatif dans ce modèle, malgré une forte activité *in vitro* (CMI = 1 µg/mL). Ce manque d'efficacité serait probablement dû à une absorption intestinale limitée ou à une élimination rapide par l'organisme de la mouche (Miguel-Aliaga *et al.*, 2018 ; Chopra *et al.*, 2022). De plus, il a été rapporté que la gentamicine traverse difficilement la barrière intestinale de la drosophile, ce qui pourrait limiter son activité dans un modèle d'infection systémique après administration orale (Chen *et al.*, 2024 ; Abu-Basha *et al.*, 2007). Des études pharmacocinétiques adaptées au modèle de *Drosophila* pourraient aider à approfondir ces hypothèses. Toutefois, pour surmonter ces limitations, une approche possible serait l'injection directe du traitement dans l'hémolymph. Cela garantirait une meilleure biodisponibilité et permettrait une évaluation plus précise de l'efficacité intrinsèque de chaque composé. Cette approche est particulièrement envisageable,

Résultats et Discussion

étant donné qu'une deuxième injection ne semble pas induire d'effets secondaires majeurs chez l'hôte (Chambers *et al.*, 2019 ; Wukitch *et al.*, 2023). Une telle méthode de traitement offrirait également l'avantage de réduire la variabilité des réponses au traitement, phénomène observé dans ce modèle, où certaines mouches traitées à la streptomycine éliminent complètement les bactéries, tandis que d'autres restent porteuses. Cela suggère une absorption inégale du traitement, influencée par des facteurs physiologiques individuels tels que le métabolisme, l'état nutritionnel et l'expression des transporteurs membranaires impliqués dans l'absorption intestinale (Miguel-Aliaga *et al.*, 2018 ; Chopra *et al.*, 2022). En ce qui concerne la tétracycline, son inefficacité pourrait être liée à son mode d'action bactériostatique (Rezaei *et al.*, 2012 ; He *et al.*, 2018). Contrairement aux antibiotiques bactéricides comme la streptomycine, qui tuent directement les bactéries, les antibiotiques bactériostatiques inhibent la croissance bactérienne sans les éliminer. Dans un contexte où l'infection est déjà bien installée, l'élimination des bactéries résiduelles repose sur le système immunitaire de l'hôte pour compléter l'action du traitement. Cependant, si la réponse immunitaire chez *Drosophila* est affaiblie par la persistance de l'infection, l'effet de la tétracycline pourrait être insuffisant pour contrôler la charge bactérienne.

Conclusion et Perspectives

Conclusion

L'entomothérapie en Côte d'Ivoire, bien que peu connue, recèle des savoirs traditionnels précieux, enracinés dans certaines pratiques culturelles spécifiques. Une étude ethno-entomologique a permis d'identifier dix insectes médicinaux utilisés pour traiter seize pathologies et symptômes. Ces espèces sont principalement employées sous forme d'infusions, de préparations écrasées, ou directement à l'état naturel, et administrées par voie locale ou anale. Cependant, ces connaissances demeurent restreintes à des groupes spécifiques, leur transmission étant influencée par des facteurs tels que l'âge, la région et la profession. La disponibilité saisonnière limitée des insectes médicinaux et les difficultés d'accès constituent des freins à une utilisation plus répandue de ces remèdes naturels. Face à la modernisation croissante, cette documentation est essentielle pour ne pas perdre ces savoirs ancestraux, qui pourraient enrichir les solutions thérapeutiques modernes. Dans ce cadre, l'activité antibactérienne de deux espèces de coléoptères, *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis*, immunisées par des bactéries, a été étudiée. L'hémolymphe extraite des larves immunisées a montré une activité antibactérienne *in vitro* contre six souches bactériennes, dont *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. L'hémolymphe des larves de *R. phoenicis* s'est révélée la plus active, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 3 mg/mL sur toutes les souches testées. Outre cela, cette étude a exploré le potentiel de *Drosophila melanogaster* comme modèle d'infection bactérienne chronique pour l'évaluation de stratégies thérapeutiques. Les résultats mettent en évidence des réponses variables de la drosophile face à *Providencia burhododranaria* et *Serratia marcescens*. L'infection par *P. burhododranaria* se caractérise par une charge bactérienne persistante, tolérée par l'hôte, tandis que *S. marcescens* provoque une infection aiguë et létale. La streptomycine s'est distinguée en tant que seul antibiotique à montrer une efficacité remarquable contre *Serratia marcescens*, en améliorant significativement la survie des mouches infectées et en réduisant de manière notable la charge bactérienne. Concernant l'infection chronique par *Providencia burhododranaria*, la tétracycline a permis de sauver l'intégralité des individus infectés, bien qu'elle n'ait pas réussi à diminuer la charge bactérienne.

Perspectives

Cette étude pionnière en Côte d'Ivoire ouvre de nombreuses perspectives pour la recherche future sur l'entomothérapie et l'utilisation des insectes en médecine. D'abord, la documentation et la préservation des savoirs traditionnels sur les insectes médicinaux en Côte d'Ivoire doivent être intensifiées. La modernisation rapide et les changements culturels menacent ces pratiques, rendant urgente la mise en place de programmes de recherche ethno-entomologique pour sauvegarder et valoriser ces connaissances ancestrales. Il est également nécessaire d'explorer plus en profondeur le potentiel pharmacologique des insectes identifiés, notamment par le biais de la recherche en bioprospection pour identifier les composés bioactifs et leurs mécanismes d'action. Les résultats prometteurs sur l'activité antibactérienne des coléoptères *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis* ouvrent la voie à la découverte de nouveaux antimicrobiens. Des études complémentaires seront essentielles pour caractériser ces composés et évaluer leur efficacité *in vivo*, comme alternatives aux molécules thérapeutiques classiques dans un contexte de résistance accrue aux antibiotiques. Enfin, le recours à *Drosophila melanogaster* comme modèle d'infection bactérienne chronique constitue un outil puissant pour tester l'efficacité des traitements antibactériens. Ce modèle offre une plateforme simple et évolutive pour comprendre les interactions complexes entre les hôtes et les pathogènes, et pour évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques. L'étude des réponses différentielles à *Providencia burhodogranariae* et *Serratia marcescens* pourrait permettre de développer des thérapies plus ciblées en fonction du type d'infection, chronique ou aiguë.

Références

Références

- Abdulrhman M.A., Mekawy M.A., Awadalla M.M. & Mohamed A.H. (2010). Bee honey added to the oral rehydration solution in treatment of gastroenteritis in infants and children. *Journal of Medicinal Food*, 13(3): 605–609.
- Abu-Basha E.A., Idkaidek N.M. & Al-Shunnaq A.F. (2007). Comparative pharmacokinetics of gentamicin after intravenous, intramuscular, subcutaneous and oral administration in broiler chickens. *Veterinary Research Communications*, 31: 765–773.
- Aguilar-Toalá J.E., Cruz-Monterrosa R.G. & Liceaga A.M. (2022). Beyond human nutrition of edible insects: health benefits and safety aspects. *Insects*, 13(11): 1–17.
- Åhlund M.K., Rydén P., Sjöstedt A. & Stöven S. (2010). Directed screen of *Francisella novicida* virulence determinants using *Drosophila melanogaster*. *Infection and Immunity*, 78(7): 3118–3128
- Ahmad Z., Pinn M.L., Nuernberger E.L., Peloquin C.A., Grosset J.H. & Karakousis P.C. (2010). The potent bactericidal activity of streptomycin in the guinea pig model of tuberculosis ceases due to the presence of persisters. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65: 2172–2175.
- Ahn M.Y., Han J.W., Hwang J.S., Yun E.Y. & Lee B.M. (2014). Anti-Inflammatory effect of glycosaminoglycan derived from *Gryllus bimaculatus* (A type of cricket, insect) on adjuvant-treated chronic arthritis rat model. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77(24): 1332–1345.
- Alejandro A.-D., Lilia J.-P., Jesús M.-B. & Henry R.M. (2022). The IMD and Toll canonical immune pathways of *Triatoma pallidipennis* are preferentially activated by Gram-negative and Gram-positive bacteria, respectively, but cross-activation also occurs. *Parasites & Vectors*, 15(1): 1–13.
- Ali M.F.Z., Yasin I.A., Ohta T., Hashizume A., Ido A., Takahashi T., Miura C. & Miura T. (2018). The silkworm of *Bombyx mori* effectively prevents vibriosis in penaeid prawns via the activation of innate immunity. *Scientific reports*, 8(1): 1–8.
- Al-Tamimi J., Semlali A., Hassan I., Ebaid H., Alhazza I.M., Mehdi S.H., Al-Khalifa M. & Alanazi M.S. (2018). Samsum ant venom exerts anticancer activity through

Références

- immunomodulation *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 33(2): 65–73.
- Andres E. & Dimarcq J.L. (2007). Cationic antimicrobial peptides: from innate immunity study to drug development. Up date. *Medecine et maladies infectieuses*, 37(4): 194–199.
- APD3. (2024). Antimicrobial Peptide Database. University of Nebraska Medical Center, USA. Disponible sur : <https://aps.unmc.edu/> (consultée le 30 juin 2024).
- Aperis G., Fuchs B.B., Anderson C.A., Warner J.E., Calderwood S.B. & Mylonakis E. (2007). *Galleria mellonella* as a model host to study infection by the *Francisella tularensis* live vaccine strain. *Microbes and infection*, 9(6): 729–734.
- Azmiera N., Krasilnikova A., Sahudin S., Al-Talib H. & Heo C.C. (2022). Antimicrobial peptides isolated from insects and their potential applications. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(2): 1–18.
- Badinloo M., Nguyen E., Suh W., Alzahrani F., Castellanos J., Klichko V.I., Orr W.C. & Radyuk S.N. (2018). Overexpression of antimicrobial peptides contributes to aging through cytotoxic effects in *Drosophila* tissues. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 98(4): 1–19.
- Baharlouei P. & Rahman A. (2022). Chitin and chitosan: prospective biomedical applications in drug delivery, cancer treatment, and wound healing. *Marine Drugs*, 20(7): 447–460.
- Bairagi S.H. (2019). Insects with potential medicinal significance: a review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 16(3): 12024–12027.
- Balas F. (2015). Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. Thèse de doctorat, Université de Nice Sophia-Antipolis (Nice, France), 86 p.
- Barbosa J.A.A., Aguiar J.O. & Alves R.R.D.N. (2018). Medicinal use of animals by hunters in North eastern Brazil. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 17(3): 485–493.
- Basseri H.R., Dadi-Khoeni A., Bakhtiari R., Abolhassani M. & Hajihosseini-Baghdadabadi R. (2016). Isolation and purification of an antibacterial protein from immune induced

Références

- haemolymph of American cockroach, *Periplaneta americana*. *Journal of arthropod-borne diseases*, 10(4): 519–527.
- Bayer A., Lammel J., Tohidnezhad M., Lippross S., Behrendt P., Klüter T., Pufe T., Cremer J., Jahr H., Rademacher F., Gläser R. & Harder J. (2017). The antimicrobial peptide human Beta-Defensin-3 Is induced by Platelet-Released growth factors in primary keratinocytes. *Mediators of Inflammation*, 2017(1): 1–8.
- Beaudouin E., Poncet P. & Lavaud F. (2022). Composition des venins d'hyménoptères et de la salive des arthropodes hématophages. *Revue française d'allergologie*, 62(1): 18–31.
- Benítez-Chao D.F., León-Buitimea A., Lerma-Escalera J.A. & Morones-Ramírez J.R. (2021). Bacteriocins: An overview of antimicrobial, toxicity, and biosafety assessment by in vivo models. *Frontiers in Microbiology*, 12: 630–695.
- Bennett A. (2010). The role of soil community biodiversity in insect biodiversity. *Insect Conservation and Diversity*, 3(3): 157–171.
- Berenbaum M.R. (1995). The chemistry of defense: theory and practice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(1): 2–8.
- Bielen K., Bart'S J., Malhotra-Kumar S., Jorens P.G., Goossens H. & Kumar-Singh S. (2017). Animal models of hospital-acquired pneumonia: current practices and future perspectives. *Annals of Translational Medicine*, 5(6): 119–132.
- Bismuth H., Aussel L. & Ezraty B. (2019). La teigne *Galleria mellonella* pour les études hôte-pathogène. *Médecine/sciences*, 35(4): 346–351.
- Boko A.C.E. & Angaman D.M. (2021). Evaluation de l'entomophagie dans quatre grandes villes de Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal, ESJ*, 17(37): 119–136.
- Boko A.C.E., Angaman D.M. & Blei S.H. (2020). Entomophagy evaluation and nutritional potential of two edible insects sold in the markets of the city of Man (Côte d'Ivoire). *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 9(1): 10–15.
- Brachet M.-L. & Beven L. (2022). Evaluation d'un moyen de bio-contrôle innovant vis-à-vis des bactérioses : les peptides antimicrobiens, de la recherche fondamentale à la pratique. *Innovations Agronomiques*, 85: 263–277.

Références

- Brady D., Grapputo A., Romoli O. & Sandrelli F. (2019). Insect cecropins, antimicrobial peptides with potential therapeutic applications. *International journal of molecular sciences*, 20(23): 5840–5862.
- Bronnec V. & Alexeyev O.A. (2021). In vivo model of *Propionibacterium* (Cutibacterium) spp. biofilm in *Drosophila melanogaster*. *Anaerobe*, 72(11): 2029–2036.
- Brunetti J., Falciani C., Roscia G., Pollini S., Bindi S., Scali S., Arrieta U.C., Gómez-Vallejo V., Quercini L. & Ibba E. (2016). *In vitro* and *in vivo* efficacy, toxicity, bio-distribution and resistance selection of a novel antibacterial drug candidate. *Scientific reports*, 6(1): 26065–26077.
- Buchon N., Silverman N. & Cherry S. (2014). Immunity in *Drosophila melanogaster*—from microbial recognition to whole-organism physiology. *Nature Reviews Immunology*, 14(12) : 796–810.
- Bulet P. (1999). Les peptides antimicrobiens de la drosophile. *Médecine sciences*, 15(1): 23–29.
- Bulet P., Hetru C., Dimarcq J.-L. & Hoffmann D. (1999). Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Developmental & Comparative Immunology*, 23(4–5): 329–344.
- Bulet P. & Stocklin R. (2005). Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. *Protein and peptide letters*, 12(1): 3–11.
- Bulet P., Stöcklin R. & Menin L. (2004). Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunological Reviews*, 198(1): 169–184.
- Byl S. (2011). De la médecine magique et religieuse à la médecine rationnelle : Hippocrate. L'Harmattan, Paris (France), 322p.
- Cao X., Scofield J., Xie B., Morton D.B. & Wu H. (2023). *Drosophila melanogaster* as a model to study polymicrobial synergy and dysbiosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13: 1–9.
- Carrol D.H., Chassagne F., Dettweiler M. & Quave C.L. (2020). Antibacterial activity of plant species used for oral health against *Porphyromonas gingivalis*. *PloS one*, 15(10): 1–22.

Références

- Casallas M.B.D., Cortés Salazar N., Correa-Mahecha F., Cuesta-Parra D.M. & García-Trejo J.F. (2024). Valorization of organic wastes by biotransformation with black soldier fly larvae: prospecting of agricultural fertilizers. *Journal-Chemical Engineering Transactions*, 109: 343–348.
- Chakravorty J., Ghosh S. & Meyer-Rochow V.B. (2011). Practices of entomophagy and entomotherapy by members of the Nyishi and Galo tribes, two ethnic groups of the state of Arunachal Pradesh (North-East India). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7(1): 1–14.
- Chambers M.C., Jacobson E., Khalil S. & Lazzaro B.P. (2019). Consequences of chronic bacterial infection in *Drosophila melanogaster*. *PloS one*, 14(10): 1–22.
- Chellappandian M., Mutheeswaran S., Pandikumar P., Duraipandiyan V. & Ignacimuthu S. (2012). Quantitative ethnobotany of traditional Siddha medical practitioners from Radhapuram taluk of Tirunelveli District, Tamil Nadu, India. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2): 540–547
- Chen J., Lin G., Ma K., Li Z., Liégeois S. & Ferrandon D. (2024). A specific innate immune response silences the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in a latent infection model in the *Drosophila melanogaster* host. *PLoS pathogens*, 20(6): 1–31.
- Chen R., Liu X.-C., Xiang J., Sun W. & Tomasevic I. (2023). Prospects and challenges for the application of salty and saltiness-enhancing peptides in low-sodium meat products. *Meat science*, 204: 1–15.
- Chen Y., Guarnieri M.T., Vasil A.I., Vasil M.L., Mant C.T. & Hodges R.S. (2007). Role of peptide hydrophobicity in the mechanism of action of α -Helical antimicrobial peptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(4): 1398–1406.
- Choi T.-Y., Choi T.-I., Lee Y.-R., Choe S.-K. & Kim C.-H. (2021). Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3): 310–317
- Chopra G., Kaushik S. & Kain P. (2022). Nutrient sensing via gut in *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Molecular Sciences* 23(5): 1-27.

Références

- Choudhary P., Sharma A.K., Mishra Y.K. & Nayak S. (2022). Entomotherapy medicinal significance of insects: a review. *The Pharma Innovation Journal*, 11(4): 25–29.
- Ciofu O., Rojo-Molinero E., Macià M.D. & Oliver A. (2017). Antibiotic treatment of biofilm infections. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 125(4): 304–319.
- Costa-Neto E.M. (1999). Healing with animals in Feira de Santana city, Bahia, Brazil. *Journal of ethnopharmacology*, 65(3): 225–230.
- Costa-Neto E.M. (2002). The use of insects in folk medicine in the State of Bahia, Northeastern Brazil, with notes on insects reported elsewhere in Brazilian folk medicine. *Human Ecology*, 30(2): 245–263.
- Costa-Neto E.M. (2003). Insetos como fontes de alimentos para o homem: valoração de recursos considerados repugnantes. *Interciencia*, 28(3): 136–140.
- Costa-Neto E.M. (2005). Entomotherapy, or the medicinal use of insects. *Journal of Ethnobiology*, 25(1): 93–114.
- Cutuli M.A., Petronio Petronio G., Vergalito F., Magnifico I., Pietrangelo L., Venditti N. & Di Marco R. (2019). *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. *Virulence*, 10(1): 527–541.
- de Conconi J.R.E. & Moreno J.M. (1988). The utilization of insects in the empirical medicine of ancient Mexicans. *Journal of Ethnobiology*, 8(2): 195–202.
- Demir E. & Turna Demir F. (2023). *Drosophila melanogaster* as a dynamic in vivo model organism reveals the hidden effects of interactions between microplastic/nanoplastic and heavy metals. *Journal of Applied Toxicology*, 43(2): 212–219.
- Dev S., Hassan K., Claes J., Mozahid M.N., Khatun H. & Mondal M.F. (2020). Practices of entomophagy and entomotherapy in Bangladesh. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(5): 515–524.
- Devi W.D., Bonysana R., Kapesa K., Mukherjee P.K. & Rajashekar Y. (2023). Edible insects: as traditional medicine for human wellness. *Future Foods*, 7: 1–7.

Références

- Dissel S., Seugnet L., Thimgan M.S., Silverman N., Angadi V., Thacher P.V., Burnham M.M. & Shaw P.J. (2015). Differential activation of immune factors in neurons and glia contribute to individual differences in resilience/vulnerability to sleep disruption. *Brain, behavior, and immunity*, 47: 75–85.
- Djouffa K.M.L., Saïdou C., Ali A., Mohammadou B.A. & Tchiegang C. (2021). Edible insects in the Adamawa and eastern regions of Cameroon: collection, processing and consumption. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(4): 483–494.
- Dossey A.T. (2010). Insects and their chemical weaponry: new potential for drug discovery. *Natural product reports*, 27(12): 1737–1757.
- Donald P., Sirgel F., Venter A., Smit E., Parkin D., van de Wal B.W., Doré C. & Mitchison D. (2002). The early bactericidal activity of streptomycin. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 6: 693–698.
- Duneau D., Ferdy J.-B., Revah J., Kondolf H., Ortiz G.A., Lazzaro B.P. & Buchon N. (2017). Stochastic variation in the initial phase of bacterial infection predicts the probability of survival in *D. melanogaster*. *Elife*, 6: 1–43.
- Dupont C.A., Dardalhon-Cuménal D., Kyba M., Brock H.W., Randsholt N.B. & Peronnet F. (2015). Drosophila Cyclin G and epigenetic maintenance of gene expression during development. *Epigenetics & Chromatin*, 8(1): 1–17.
- Durst P.B., Johnson D.V., Leslie R.N. & Shono K. (2010). Forest insects as food: humans bite back. *RAP publication*, 1(1): 1–241.
- Dutta P., Sahu R.K., Dey T., Lahkar M.D., Manna P. & Kalita J. (2019). Beneficial role of insect-derived bioactive components against inflammation and its associated complications (colitis and arthritis) and cancer. *Chemico-biological interactions*, 313: 1–10.
- Ebers G. & Stern L. (1875). Papyrus Ebers: Das Hermetische Buch über die Arzneimittel der alten Ägypter in hieratischer Schrift. Band 1: Einleitung und Text. Leipzig (Allemagne), Engelmann, 145 p.

Références

- Ehounou G.P., Ouali-N'goran S.-W. & Niassy S. (2018). Assessment of entomophagy in Abidjan (Côte D'ivoire, West Africa). *Australian Journal of French Studies*, 12(1): 6–14.
- El Harras A. (2020). Analyse d'interaction de peptides, pseudopeptides et glycoconjugués aux activités antimicrobiennes et anti-leishmaniennes avec différents modèles membranaires. Thèse de Doctorat, Université Rennes 1 (Rennes, France), 228 p.
- Eleftherianos I., Zhang W., Heryanto C., Mohamed A., Contreras G., Tettamanti G., Wink M. & Bassal T. (2021). Diversity of insect antimicrobial peptides and proteins-A functional perspective: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191: 277–287.
- Engel M.S., Davis S.R. & Prokop J. (2013). Insect Wings: The evolutionary development of nature's first flyers. In: *Arthropod biology and evolution*, Edition Springer Berlin Heidelberg, Berlin: 269–298.
- Fasoranti J.O. & Ajiboye D.O. (1993). Some edible insects of Kwara state, Nigeria. *American Entomologist*, 39(2): 113–116.
- Fauzi A.N., Norazmi M.N. & Yaacob N.S. (2011). Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4): 871–878.
- 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.
- Fink C., Hoffmann J., Knop M., Li Y., Isermann K. & Roeder T. (2016). Intestinal FoxO signaling is required to survive oral infection in *Drosophila*. *Mucosal immunology*, 9(4): 927–936.
- Flemming H.-C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S.A. & Kjelleberg S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9): 563–575.

Références

- Fruhworth G.O., Kneilling M., De Vries I.J.M., Weigelin B., Srinivas M. & Aarntzen E.H.J.G. (2018). The potential of in vivo imaging for optimization of molecular and cellular anti-cancer immunotherapies. *Molecular Imaging and Biology*, 20(5): 696–704.
- Gagnon M.-C., Strandberg E., Grau-Campistany A., Wadhwani P., Reichert J., Bürck J., Rabanal F., Auger M., Paquin J.-F. & Ulrich A.S. (2017). Influence of the length and charge on the activity of α -Helical amphipathic antimicrobial peptides. *Biochemistry*, 56(11): 1680–1695.
- Galac M.R. & Lazzaro B.P. (2011). Comparative pathology of bacteria in the genus *Providencia* to a natural host, *Drosophila melanogaster*. *Microbes and infection*, 13(7): 673–683.
- Ganesan S., Aggarwal K., Paquette N. & Silverman N. (2010). NF- κ B/Rel proteins and the humoral immune responses of *Drosophila melanogaster*. In: *NF- κ B in Health and Disease*, Karin Michael, Springer Berlin Heidelberg (Allemagne): 25–60.
- Ganz T. & Lehrer R.I. (1995). Defensins. *Pharmacology & therapeutics*, 66(2): 191–205.
- Gao B. & Zhu S. (2014). An insect defensin-derived β -hairpin peptide with enhanced antibacterial activity. *ACS Chemical Biology*, 9(2): 405–413.
- Gera J., Budakoti P., Suhag M., Mandal L. & Mandal S. (2022). Physiological ROS controls Upd3-dependent modeling of ECM to support cardiac function in *Drosophila*. *Science Advances*, 8(7): 1–11.
- Gerardo N.M., Altincicek B., Anselme C., Atamian H., Barribeau S.M., De Vos M., Duncan E.J., Evans J.D., Gabaldón T., Ghanim M., Heddi A., Kaloshian I., Latorre A., Moya A., Nakabachi A., Parker B.J., Pérez-Brocal V., Pignatelli M., Rahbé Y., Ramsey J.S., Spragg C.J., Tamames J., Tamarit D., Tamborindéguy C., Vincent-Monegat C. & Vilcinskis A. (2010). Immunity and other defenses in pea aphids, *acyrthosiphon pisum*. *Genome Biology*, 11(2): 1–17.
- Ghosh A., Ray M. & Gangopadhyay D. (2020). Evaluation of proximate composition and antioxidant properties in silk-industrial byproduct. *LWT - Food Science and Technology*, 132: 1–8.

Références

- Gilbert R., Torres M., Clemens R., Hateley S., Hosamani R., Wade W. & Bhattacharya S. (2020). Spaceflight and simulated microgravity conditions increase virulence of *Serratia marcescens* in the *Drosophila melanogaster* infection model. *npj Microgravity*, 6(1): 1–9.
- Gogbé T. (2011). Analyse de l'évolution de la ville de Bondoukou entre 1964 et 2008 : étude des impacts sur l'environnement urbain. *GEOTROPE, Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement*, (1): 72 p.
- Gold K.S. & Brückner K. (2015). Macrophages and cellular immunity in *Drosophila melanogaster*. In: *Seminars in Immunology*, Academic Press, San Diego (United States): 357–368.
- Grimaldi D.A. (2010). 400 million years on six legs: on the origin and early evolution of Hexapoda. *Arthropod structure & development*, 39(2–3): 191–203.
- Guzelaydin K., Gunes Y., Anlas C. & Yildirim M. (2025). Pharmacokinetics and oral bioavailability of ampicillin and its prodrug bacampicillin in chickens and turkeys. *Journal of Veterinary Science*, 26(2): 1–10.
- Hargitai D., Kenéz L., Al-Lami M., Szenczi G., L\Horincz P. & Juhász G. (2022). Autophagy controls *Wolbachia* infection upon bacterial damage and in aging *Drosophila*. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10: 1–11.
- Hargraves S., Greub G. & Jacquier N. (2020). Peptides antimicrobiens : une alternative aux antibiotiques ? *Education*, 1: 14–16.
- Harnish J.M., Link N. & Yamamoto S. (2021). *Drosophila* as a model for infectious diseases. *International journal of molecular sciences*, 22(5): 2691–2724.
- Hasnan F.F.B., Feng Y., Sun T., Parraga K., Schwarz M. & Zarei M. (2023). Insects as Valuable Sources of Protein and Peptides: Production, Functional Properties, and Challenges. *Foods*, 12(23): 2410–4243.
- He Y., Huang Y.-Y., Xi L., Gelfand J.A. & Hamblin M.R. (2018). Tetracyclines function as dual-action light-activated antibiotics. *PloS one*, 13(5): 1–15.

Références

- Headrick D.H. & Gordh G. (2009). Anatomy: head, thorax, abdomen, and genitalia. *In: Encyclopedia of Insects*, Edition Academic Press, Amsterdam (Pays-Bas): 11-21.
- Hedanou H.L. (2017). Etude ethno-entomologique et usage des médicinal des insectes au Bénin. Mémoire de Master, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (Ouidah, Bénin), 46 p.
- Hidalgo B. (2021). Living with the enemy: Understanding the dynamics of host defences against persistent bacterial infections. PharmaD Thesis, Freie Universität Berlin (Berlin, Allemagne), 230 p.
- Hidalgo B.A., Silva L.M., Franz M., Regoes R.R. & Armitage S.A. (2022). Decomposing virulence to understand bacterial clearance in persistent infections. *Nature communications*, 13(1): 1-14.
- Hlongwane Z.T., Slotow R. & Munyai T.C. (2020). Indigenous knowledge about consumption of edible insects in South Africa. *Insects*, 12(1): 1–22.
- Hoemann C.D. & Fong D. (2017). Immunological responses to chitosan for biomedical applications. *In: Chitosan Based Biomaterials Volume 1*, Woodhead Publishing, Cambridge (United Kingdom): 45–79.
- Hoffmann J.A. & Reichhart J.-M. (2002). Drosophila innate immunity: an evolutionary perspective. *Nature immunology*, 3(2): 121–126.
- Ishara J., Ayagirwe R., Karume K., Mushagalusa G.N., Bugeme D., Niassy S., Udomkun P. & Kinyuru J. (2022). Inventory reveals wide biodiversity of edible insects in the Eastern Democratic Republic of Congo. *Scientific Reports*, 12(1): 1563–1576.
- Jabbar S., Hassan M., Jamali M.M., Aftab A. & Habib H. (2023). Ethnobiological use of insects in traditional medicine and cultural practices from the administrative region (Rishikesh) Dehradun-India. *International Journal of Entomology Research*, 8 (10): 1–6.
- Jankielsohn A. (2018). The importance of insects in agricultural ecosystems. *Advances in Entomology*, 6(2): 62–73.
- Jebbawi R. (2021). Évaluation et optimisation du potentiel thérapeutique d'un dendrimère anti-inflammatoire par sa formulation dans des vésicules catanioniques pour le traitement

Références

- topique du psoriasis. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier-Toulouse III (Toulouse, France), 236 p.
- Jiang S.J. (1990). Anti-cancer insect medicinal materials in China. *Zhong Yao Cai*, 13: 11–14.
- Jin X., Mei H., Li X., Ma Y., Zeng A., Wang Y., Lu X., Chu F., Wu Q. & Zhu J. (2010). Apoptosis-inducing activity of the antimicrobial peptide cecropin of *Musca domestica* in human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 and the possible mechanism. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 42(4): 259–265.
- Juneja P. & Lazzaro B.P. (2009). *Providencia sneebia* sp. nov. and *Providencia burhodogranariea* sp. nov., isolated from wild *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(5): 1108–1111.
- Kalita H. & Das K. (2023). Exploring the Ecological Role of Insects in Biodiversity and Ecosystems. *Advances in Entomology*, 4: 63–75.
- Karimou R., Salami H.A., Agossou E., Boya B., Assouma F.F., Bouko B.O.M.B., Attakpa E.S., Baba-Moussa L. & Sina H. (2024). Assessment of antimicrobial and anti-biofilm activities of lemongrass and bay leaf extracts on microorganisms from fermented cereal-based porridges in northern Benin. *Scientific African*, 24 : 2468–2276.
- Kaur G., Sarao P.S. & Chhabra N. (2023). Therapeutic use of insects and insect products. *Indian Journal of Entomology*, 85 (3): 798–807.
- Kelemu S., Niassy S., Torto B., Fiaboe K., Affognon H., Tonnang H., Maniania N.K. & Ekesi S. (2015). African edible insects for food and feed: inventory, diversity, commonalities and contribution to food security. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(2): 103–119.
- Kemprai S.R., Tamuli A.K. & Teron R. (2022). Entomotherapy: a study of medicinal insects of three ethnic groups in Semkhor Area, Dima Hasao District, Assam. *International Journal of Scientific Research in Engineering and Management*, 6: 1–26.
- Khalil S., Jacobson E., Chambers M.C. & Lazzaro B.P. (2015). Systemic bacterial infection and immune defense phenotypes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (99): 1–10.

Références

- Kim S.E., Coste B., Chadha A., Cook B., Patapoutian A. (2012). The role of *Drosophila Piezo* in mechanical nociception. *Nature*, 483(7388): 209–212.
- Knutelski S., Awad M., Łukasz N., Bukowski M., Śmiałek J., Suder P., Dubin G. & Mak P. (2021). Isolation, identification, and bioinformatic analysis of antibacterial proteins and peptides from immunized hemolymph of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Biomolecules*, 11(1): 1–20.
- Koehbach J. (2017). Structure-activity relationships of insect defensins. *Frontiers in Chemistry*, 5(45): 1–10.
- Kordaczuk J., Sułek M., Mak P., Śmiałek-Bartyzel J., Hułas-Stasiak M. & Wojda I. (2023). Defence response of *Galleria mellonella* larvae to oral and intrahemocelic infection with *Pseudomonas entomophila*. *Developmental & Comparative Immunology*, 147: 1–15.
- Kumar P., Kizhakkedathu J.N. & Straus S.K. (2018). Antimicrobial peptides: diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. *Biomolecules*, 8(1) : 4–27.
- Kwon N.-Y., Sung S.-H., Sung H.-K. & Park J.-K. (2022). Anticancer activity of bee venom components against breast cancer. *Toxins*, 14(7): 1–11.
- Lange K. & Nakamura Y. (2021). Edible insects as a source of food bioactives and their potential health effects. *Journal of Food Bioactives*, 14: 4–9.
- Lau G.W., Goumnerov B.C., Walendziewicz C.L., Hewitson J., Xiao W., Mahajan-Miklos S., Tompkins R.G., Perkins L.A. & Rahme L.G. (2003). The *Drosophila melanogaster* Toll Pathway participates in resistance to infection by the Gram-Negative human pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Immunity*, 71(7): 4059–4066.
- Lawal O.A. & Banjo A.D. (2007). Survey for the usage of Arthropods in traditional medicine in southwestern Nigeria. *Journal of Entomology*, 4(2): 104–112.
- Lee J.H., Kim T.-K., Jeong C.H., Yong H.I., Cha J.Y., Kim B.-K. & Choi Y.-S. (2021). Biological activity and processing technologies of edible insects: a review. *Food Science and Biotechnology*, 30(8): 1003–1023.

Références

- Lefief-Delcourt A. (2012). L'argile, c'est malin. Éditions Leduc, Paris, France, 160 p.
- Lemaitre B. & Hoffmann J. (2007). The Host Defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*, 25(1): 697–743.
- Li X. & Wiens J.J. (2023). Estimating global biodiversity: the role of cryptic insect species. *Systematic Biology*, 72(2): 391–403.
- Liceaga A.M., Aguilar-Toalá J.E., Vallejo-Cordoba B., González-Córdova A.F. & Hernández-Mendoza A. (2022). Insects as an Alternative Protein Source. *Annual Review of Food Science and Technology*, 13(1): 19–34.
- Liehl P., Blight M., Vodovar N., Boccard F. & Lemaitre B. (2006). Prevalence of local immune response against oral infection in a *Drosophila/Pseudomonas* infection model. *PLoS pathogens*, 2(6): 0551–0561.
- Linford N.J., Bilgir C., Ro J. & Pletcher S.D. (2013). Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (71): 1–9.
- Lohner K. (2017). Membrane-active antimicrobial peptides as template structures for novel antibiotic agents. *Current topics in medicinal chemistry*, 17(5): 508–519.
- Loko L.E.Y., Medegan Fagla S., Orobiyi A., Glinma B., Toffa J., Koukou O., Djogbenou L. & Gbaguidi F. (2019). Traditional knowledge of invertebrates used for medicine and magical–religious purposes by traditional healers and indigenous populations in the Plateau Department, Republic of Benin. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15(66): 1–21.
- Lupoli R. (2010). L'insecte médicinal. Ancyrosoma, Paris, France, 290 p.
- Mahlapuu M., Håkansson J., Ringstad L. & Björn C. (2016). Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6(194): 1–12.
- Manniello M.D., Moretta A., Salvia R., Scieuzo C., Lucchetti D., Vogel H., Sgambato A. & Falabella P. (2021). Insect antimicrobial peptides: potential weapons to counteract the antibiotic resistance. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(9): 4259–4282.

Références

- Marra A., Hanson M.A., Kondo S., Erkosar B. & Lemaitre B. (2021). *Drosophila* antimicrobial peptides and lysozymes regulate gut microbiota composition and abundance. *mBio*, 12(4): 1110–1128.
- Martin R.E. & Channe Y.R. (2020). Partial purification and characterization of antimicrobial peptide from the hemolymph of cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(2): 6–11.
- Mascary J-B. (2023). Etude de Pep16, un nouveau peptide antimicrobien dans différents modèles *in vitro* et *in vivo* d'infections ostéoarticulaires à *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat, Médecine humaine et pathologie, Université de Rennes (Rennes, France), 232 p.
- Mastore M., Quadroni S., Toscano A., Mottadelli N. & Brivio M.F. (2019). Susceptibility to entomopathogens and modulation of basal immunity in two insect models at different temperatures. *Journal of thermal biology*, 79: 15–23.
- Matsumura T., Nakano F., Matsumoto H., Uryu O. & Hayakawa Y. (2018). Identification of a cytokine combination that protects insects from stress. *Insect biochemistry and molecular biology*, 97: 19–30.
- Mbata K.J. (1999). Traditional uses of arthropods in Zambia: II. Medicinal and miscellaneous uses. *Food Insects Newsl*, 12: 1–7.
- McCarville J. & Ayres J. (2018). Disease tolerance: concept and mechanisms. *Current opinion in immunology*, 50: 88–93.
- Medzhitov R. (2021). The spectrum of inflammatory responses. *Science*, 374(6571): 1070–1075.
- Melcarne C., Lemaitre B. & Kurant E. (2019). Phagocytosis in *Drosophila*: From molecules and cellular machinery to physiology. *Insect biochemistry and molecular biology*, 109: 1–12.
- Ménard G., Rouillon A., Cattoir V. & Donnio P.-Y. (2021). *Galleria mellonella* as a suitable model of bacterial infection: past, present and future. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11(782733): 1–18.

Références

- Menk J.J., Matuhara Y.E., Sebestyen-França H., Henrique-Silva F., Ferro M., Rodrigues R.S. & Santos-Júnior C.D. (2023). Antimicrobial peptide arsenal predicted from the venom gland transcriptome of the tropical trap-jaw ant *Ooontomachus chelifer*. *Toxins*, 15(5): 341–345.
- Meyer-Rochow V.B. (2017). Therapeutic arthropods and other, largely terrestrial, folk-medicinally important invertebrates: a comparative survey and review. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(9): 1–31
- Miguel-Aliaga I., Jasper H. & Lemaitre B. (2018). Anatomy and physiology of the digestive tract of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 210(2): 357–396.
- Mitsuhara I., Matsufuru H., Ohshima M., Kaku H., Nakajima Y., Murai N., Natori S. & Ohashi Y. (2000). Induced expression of sarcotoxin IA enhanced host resistance against both bacterial and fungal pathogens in transgenic tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(8): 860-868.
- Moghadam Z.M., Henneke P. & Kolter J. (2021). From flies to men: ROS and the NADPH oxidase in phagocytes. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9: 1–16.
- Montanari M. & Royet J. (2021). Impact of microorganisms and parasites on neuronally controlled drosophila behaviours. *Cells*, 10(9): 2339–2350.
- Montesinos E. (2007). Antimicrobial peptides and plant disease control. *FEMS microbiology letters*, 270(1): 1–11.
- Montesinos L., Bundó M., Izquierdo E., Campo S., Badosa E., Rossignol M., Montesinos E., San Segundo B. & Coca M. (2016). Production of biologically active cecropin A peptide in rice seed oil bodies. *PLoS One*, 11(1): 1–18.
- Motte-Florac E. (2012). Entomologie médicale, ethnoentomologie, entomothérapie. In : *MOTTE-FLORAC, Elisabeth (dir.), Les insectes et la santé, entre nuisances et puissance thérapeutique*. Niort, Mairie de Niort : 17–21.
- Motte-Florac É. & Le Gall P. (2022). Savoureux insectes : De l'aliment traditionnel à l'innovation gastronomique. Presses universitaires François-Rabelais, Tours, 434 p.

Références

- Moyabi A.G.A., Coulibaly F.A., Konan Y.A.O., Kouakou D.K.R. & Koné M.W. (2021). Plantes médicinales utilisées dans le traitement de l'infertilité du couple dans le Département d'Oumé, Centre-Ouest, Côte d'Ivoire. *Afrique Science*, 19(6): 133–145.
- Mozhui L., Kakati L.N. & Meyer-Rochow V.B. (2021). Entomotherapy: a study of medicinal insects of seven ethnic groups in Nagaland, North-East India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 17(1): 17.
- Mukherjee P., Roy S., Ghosh D. & Nandi S.K. (2022). Role of animal models in biomedical research: a review. *Laboratory Animal Research*, 38(18): 1–17.
- Mun S.-K., Jang C.J., Jo S., Park S.-H., Sim H.B., Ramos S.C., Kim H., Choi Y.-J., Park D.-H., Park K.-W., Jeong B.-G., Kim D.H., Kang K.-Y. & Kim J.-J. (2024). Anti-obesity and immunomodulatory effects of oil and fermented extract dried from *Tenebrio molitor* larvae on aged obese mice. *Animal Cells and Systems*, 28(1): 340–352.
- Mylonakis E., Podsiadlowski L., Muhammed M. & Vilcinskas A. (2016). Diversity, evolution and medical applications of insect antimicrobial peptides. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1695): 1–11.
- Nadal A., Montero M., Company N., Badosa E., Messeguer J., Montesinos L., Montesinos E. & Pla M. (2012). Constitutive expression of transgenes encoding derivatives of the synthetic antimicrobial peptide BP100: impact on rice host plant fitness. *BMC Plant Biology*, 12(159): 1–22.
- Nehme N.T., Liégeois S., Kele B., Giammarinaro P., Pradel E., Hoffmann J.A., Ewbank J.J. & Ferrandon D. (2007). A model of bacterial intestinal infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS pathogens*, 3(11): 1694–1709.
- Nesa J., Sadat A., Buccini D.F., Kati A., Mandal A.K. & Franco O.L. (2020). Antimicrobial peptides from *Bombyx mori*: a splendid immune defense response in silkworms. *RSC advances*, 10(1): 512–523.
- Niaba K.V., Atchibri L.O., Gbassi K.G., Beugre A.G., Adou M., Anon A.B. & Gnagri D. (2012). Consumption survey of edible winged termites in Cote d'Ivoire. *International Journal of Agriculture and Food Science*, 2: 149–52.

Références

- Nowakowski A.C., Miller A.C., Miller M.E., Xiao H. & Wu X. (2022). Potential health benefits of edible insects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(13): 3499–3508.
- Nunn J.F. (2002). Ancient egyptian medicine. University of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, 240 p.
- N’zi N.P., Angaman D.M., Gbonon V.C. & Tiekoura K.B. (2022). Etude de la qualité microbiologique des salades de 4ème gamme vendues dans des supermarchés de la ville d’Abidjan (Côte d’Ivoire) durant la période de conservation domestique après ouverture des emballages. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 36(2): 577–587.
- Oh C.-T., Moon C., Park O.K., Kwon S.-H. & Jang J. (2014). Novel drug combination for *Mycobacterium abscessus* disease therapy identified in a *Drosophila* infection model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(6): 1599–1607.
- Ohshimax M., Mitsuhashi I., Okamoto M., Sawano S., Nishiyama K., Kaku F., Natori S. & Ohashi Y. (1999). Enhanced resistance to bacterial diseases of transgenic tobacco plants overexpressing sarcotoxin IA, a bactericidal peptide of insect. *The journal of biochemistry*, 125(3): 431-435.
- Ollerton J. (2017). Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48(1): 353–376.
- Ong C., Yung L.-Y.L., Cai Y., Bay B.-H. & Baeg G.-H. (2015). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*, 9(3): 396–403.
- Otvos, Jr L. (2002). The short proline-rich antibacterial peptide family. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 59(7): 1138–1150.
- Ouango M., Romba R., Drabo S.F., Ouedraogo N. & Gnankiné O. (2022). Indigenous knowledge system associated with the uses of insects for therapeutic or medicinal purposes in two main provinces of Burkina Faso, West Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 18(1): 1–50.
- Packard A. (2023). Guide to the Study of Insects. Anatiposi Verlag, Berlin (Allemagne), 756 p.

Références

- Panayidou S., Ioannidou E. & Apidianakis Y. (2014). Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in *Drosophila*: Disease modeling, lessons, and shortcomings. *Virulence*, 5(2): 253–269.
- Park M.H., Choi M.S., Kwak D.H., Oh K., Yoon D.Y., Han S.B., Song H.S., Song M.J. & Hong J.T. (2011). Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF- κ B. *The Prostate*, 71(8): 801–812.
- Park S.-I., Kim J.-W. & Yoe S.M. (2015). Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Developmental & Comparative Immunology*, 52(1): 98–106.
- Patyra E. & Kwiatek K. (2023). Insect meals and insect antimicrobial peptides as an alternative for antibiotics and growth promoters in livestock production. *Pathogens*, 12(6): 840–854.
- Pepling M. & Mount S.M. (1990). Sequence of a cDNA from the *Drosophila melanogaster* white gene. *Nucleic acids research*, 18(6): 1633–1633.
- Pereira T.C., De Barros P.P., Fugisaki L.R. de O., Rossoni R.D., Ribeiro F. de C., De Menezes R.T., Junqueira J.C. & Scorzoni L. (2018). Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *Journal of Fungi*, 4(4): 109–128.
- Plumet L., Ahmad-Mansour N., Dunyach-Remy C., Kissa K., Sotto A., Lavigne J.-P., Costechareyre D. & Molle V. (2022). Bacteriophage therapy for *Staphylococcus aureus* infections: a review of animal models, treatments, and clinical trials. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12: 1–16.
- Posey D. (2003). Insects, foods, medicine, and folklore in Amazonia. Motte-Florac É. & Thomas JMC éd., Les Insectes dans la tradition orale–Insects in oral literature and traditions. *Peeters, Louvain*, 221–237.
- Prakash A., Fenner F., Shit B., Salminen T. S., Monteith K. M., Khan I. & Vale P. F. (2024). IMD-mediated innate immune priming increases *Drosophila* survival and reduces pathogen transmission. *PLoS Pathogens*, 20(6) : 1–27.

Références

- Price P.W., Denno R.F., Eubanks M.D., Finke D.L. & Kaplan I. (2011). *Insect Ecology: Behavior, Populations and Communities*. Cambridge University Press, Cambridge (Royaume-Uni), 816 p.
- Qian L., Deng P., Chen F., Cao Y., Sun H. & Liao H. (2022). The exploration and utilization of functional substances in edible insects: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 4(11): 1–15.
- Qin Q.-M., Pei J., Ancona V., Shaw B.D., Ficht T.A. & de Figueiredo P. (2008). RNAi screen of endoplasmic reticulum-associated host factors reveals a role for IRE1 α in supporting *Brucella* replication. *PLoS pathogens*, 4(7): 1–16.
- Quah Y., Tong S.-R., Bojarska J., Giller K., Tan S.-A., Ziora Z.M., Esatbeyoglu T. & Chai T.-T. (2023). Bioactive peptide discovery from edible insects for potential applications in human health and agriculture. *Molecules*, 28(3): 1–23.
- Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S. & Dhama K. (2014). Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *BioMed Research International*, 2014: 1–19.
- Rahnamaeian M. & Vilcinskis A. (2012). Defense gene expression is potentiated in transgenic barley expressing antifungal peptide metchnikowin throughout powdery mildew challenge. *Journal of Plant Research*, 125(1): 115–124.
- Rahnamaeian M. & Vilcinskis A. (2015). Short antimicrobial peptides as cosmetic ingredients to deter dermatological pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(21): 8847–8855.
- Rai A., Ferrão R., Palma P., Patricio T., Parreira P., Anes E., Tonda-Turo C., Martins M.C.L., Alves N. & Ferreira L. (2022). Antimicrobial peptide-based materials: Opportunities and challenges. *Journal of Materials Chemistry B*, 10(14): 2384-2429.
- Ramos-Elorduy J. (2001). Tienen los insectos propiedades terapéuticas. In: *Memorias del 15 congreso internacional de medicina tradicional y alternativas terapéuticas*, Academia Mexicana de Medicina Tradicional, México DF (México): 135–136.

Références

- Ramos-Martín F., Herrera-León C. & d'Amelio N. (2022). *Bombyx mori* Cecropin D could trigger cancer cell apoptosis by interacting with mitochondrial cardiolipin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1864(10): 1–12.
- Ratcliffe N.A., Mello C.B., Garcia E.S., Butt T.M. & Azambuja P. (2011). Insect natural products and processes: New treatments for human disease. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(10): 747–769.
- Rehman K. ur, Hollah C., Wiesotzki K., Heinz V., Aganovic K., Rehman R. ur, Petrusan J.-I., Zheng L., Zhang J. & Sohail S. (2023). Insect-derived chitin and chitosan: A still unexploited resource for the edible insect sector. *Sustainability*, 15(6): 4830–4864.
- Revest M., Jacqueline C., Boudjemaa R., Caillon J., Le Mabecque V., Breteche A., Steenkeste K., Tattevin P., Potel G. & Michelet C. (2016). New in vitro and in vivo models to evaluate antibiotic efficacy in *Staphylococcus aureus* prosthetic vascular graft infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(5): 1291–1299.
- Rezaei M., Komijani M. & Javadirad S.M. (2012). Bacteriostatic agents. IntechOpen, Rijeka, Croatia, 355 p.
- Rima M., Rima M., Fajloun Z., Sabatier J.-M., Bechinger B. & Naas T. (2021). Antimicrobial peptides: A potent alternative to antibiotics. *Antibiotics*, 10(9): 1090–1095.
- Robert A. (2023). Les organismes modèles pour étudier l'infection polymicrobienne humaine : intérêt du modèle *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat, Médecine humaine et pathologie, Université Côte d'Azur (Nice, France), 125 p.
- Roberts D.B. (2006). *Drosophila melanogaster*: the model organism. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 121(2): 93–103.
- Rolff J. & Schmid-Hempel P. (2016). Perspectives on the evolutionary ecology of arthropod antimicrobial peptides. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1695): 1–11.
- Rumpold B.A. & Schlüter O.K. (2013). Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17: 1–11.

Références

- Scieuzo C., Giglio F., Rinaldi R., Lekka M.E., Cozzolino F., Monaco V., Monti M., Salvia R. & Falabella P. (2023). In vitro evaluation of the antibacterial activity of the peptide fractions extracted from the hemolymph of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Insects*, 14(5): 1-16.
- Scocchi M., Tossi A. & Gennaro R. (2011). Proline-rich antimicrobial peptides: converging to a non-lytic mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(13): 2317–2330.
- Seok J., Warren H.S., Cuenca A.G., Mindrinos M.N., Baker H.V., Xu W., Richards D.R., McDonald-Smith G.P., Gao H., Hennessy L., Finnerty C.C., López C.M., Honari S., Moore E.E., Minei J.P., Cuschieri J., Bankey P.E., Johnson J.L., Sperry J., Nathens A.B., et al. (2013). Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9): 3507–3512.
- Serrano I., Verdial C., Tavares L. & Oliveira M. (2023). The virtuous *Galleria mellonella* model for scientific experimentation. *Antibiotics*, 12(3): 1–25.
- Seyfi R., Kahaki F.A., Ebrahimi T., Montazersaheb S., Eyvazi S., Babaeipour V. & Tarhriz V. (2020). Antimicrobial peptides (AMPs): roles, functions and mechanism of action. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26, 1451-1463.
- Shah N.A. & Shah N. (2022). Ecological benefits of scarab beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on nutrient cycles: a review article. *Advances in Biochemistry and Biotechnology*, 7(1): 1–6.
- Sharma A., Sharma R., Imamura M., Yamakawa M. & Machii H. (2000). Transgenic expression of cecropin B, an antibacterial peptide from *Bombyx mori*, confers enhanced resistance to bacterial leaf blight in rice. *FEBS Letters*, 484(1): 7–11.
- Sherman R.A., Hall M.J.R. & Thomas S. (2000). Medicinal maggots: An ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annual Review of Entomology*, 45(1): 55–81.
- Shumbula N.P., Ndala Z.B., Nkabinde S.S., Nchoe O., Mpelane S., Shumbula P.M., Muthwa S.F., Mdluli P.S., Mente P., Njengele-Tetyana Z., Tetyana P., Mlambo M. & Moloto N. (2024). Investigation of Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Silver Nanoparticle

Références

- Synthesized using Dopamine as a Reducing and Capping Agent. *ChemistrySelect*, 9(12): 1-11
- Sibinga N.A., Lee M.T., Buchon N., Johnson E.L., Selvaraj V. & Marquis H. (2023). Do antimicrobial peptide levels alter performance of insect-based aquaculture feeds – a study using genetic models of insect immune activation. *Journal of Insects as Food and Feed*, 9(7): 919–934.
- Siddiqui S.A., Li C., Aidoo O.F., Fernando I., Haddad M.A., Pereira J.A., Blinov A., Golik A. & Câmara J.S. (2023). Unravelling the potential of insects for medicinal purposes—a comprehensive review. *Heliyon*, 9(5): 1–37.
- Siddiqui S.A., Thanpandiyana K., Adli D.N., Yudhistira B., Fernando I. & De Palo P. (2024). Overview of the African palm weevil (*Rhynchophorus phoenicis*) as food and feed—A critical review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(aop): 1–28.
- Sinenko S.A., Starkova T.Y., Kuzmin A.A. & Tomilin A.N. (2021). Physiological signaling functions of reactive oxygen species in stem cells: from flies to man. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9(714370): 1–21.
- Sinha B. & Choudhury Y. (2024). Revisiting edible insects as sources of therapeutics and drug delivery systems for cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 15: 1–18.
- Smakosz A.K. (2022). Bug as a Drug. *Lytta vesicatoria* L. Applications in nineteenth century official medicine. *Pharmacognosy Reviews*, 16(31): 27–33.
- Soliman D.E., Amer H.S., Lotfy N.M., Abdel-Mageed W. & Mo'men S.A. (2022). Molecular characterization and evaluation of the antimicrobial activity of phenoloxidase purified from *Spodoptera littoralis* against different array of pathogenic bacteria. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 14(2): 153–162.
- Srivastava S. & Gumbo T. (2011). *In vitro* and *in vivo* modeling of tuberculosis drugs and its impact on optimization of doses and regimens. *Current pharmaceutical design*, 17(27): 2881–2888.

Références

- Stączek S., Cytryńska M. & Zdybicka-Barabas A. (2023). Unraveling the role of antimicrobial peptides in insects. *International journal of molecular sciences*, 24(6): 1–28.
- Stork N.E. (2018). How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? *Annual Review of Entomology*, 63(1): 31–45.
- Štumpf S., Hostník G., Primožič M., Leitgeb M., Salminen J.P. & Bren U. (2020). The effect of growth medium strength on minimum inhibitory concentrations of tannins and tannin extracts against *E. coli*. *Molecules*, 25(12): 1-14.
- Sultana A., Luo H. & Ramakrishna S. (2021). Antimicrobial peptides and their applications in biomedical sector. *Antibiotics*, 10(9): 1–24.
- Syaripudin A., Okta I.R. & Hidayat L.R. (2024). The Effectiveness of honey administration on reducing the frequency of diarrhea in children with acute gastroenteritis in the carnation room of rsud waled cirebon district: Case Study. *Jurnal Multidisiplin Madani*, 4(4): 528–531.
- Takeuchi K., Honda D., Okumura M., Miura M. & Chihara T. (2022). Systemic innate immune response induces death of olfactory receptor neurons in *Drosophila*. *Genes to Cells*, 27(2): 113–123.
- Tamesse J.L., Kekeunou S., Tchouamou C.D. & Meupia M.J. (2018). Villagers' knowledge of some edible insects in southern Cameroon: crickets, termites, honeybees and cockchafer. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(4): 203–209.
- Tang Q. & Dai Y. (2016). Immunomodulatory effects of supercritical fluid CO₂ extracts from freeze-dried powder of *Tenebrio molitor* larvae (yellow mealworm). *Food Science and Technology*, 36: 493–498.
- Tannenbaum J. (2023). The use of animals in the study of human disease: key roles of general ethical principles. In: *Handbook of Bioethical Decisions. Volume I*, eds. Valdés E. & Lecaros J.A., Springer International Publishing, Cham (Switzerland): 475–511.
- Tannenbaum J. & Bennett B.T. (2015). Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *Journal of the American association for laboratory animal science*, 54(2): 120–132.

Références

- Tihelka E., Cai C., Giacomelli M., Lozano-Fernandez J., Rota-Stabelli O., Huang D., Engel M.S., Donoghue P.C. & Pisani D. (2021). The evolution of insect biodiversity. *Current Biology*, 31(19): 1299–1311.
- Tonk M. & Vilcinskas A. (2017). The medical potential of antimicrobial peptides from insects. *Current topics in medicinal chemistry*, 17(5): 554–575.
- Tonk M., Vilcinskas A. & Rahnamaeian M. (2016). Insect antimicrobial peptides: potential tools for the prevention of skin cancer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(17): 7397–7405.
- Touchard A., Dejean A., Escoubas P. & Orivel J. (2015). Intraspecific variations in the venom peptidome of the ant *Odontomachus haematodus* (Formicidae: Ponerinae) from French Guiana. *Journal of Hymenoptera Research*, 47: 87–101.
- Touré H., Herrmann J.-L., Szuplewski S. & Girard-Misguich F. (2023). *Drosophila melanogaster* as an organism model for studying cystic fibrosis and its major associated microbial infections. *Infection and Immunity*, 91(11): 1–14.
- Triunfo M., Tafi E., Guarnieri A., Salvia R., Scieuzo C., Hahn T., Zibek S., Gagliardini A., Panariello L. & Coltelli M.B. (2022). Characterization of chitin and chitosan derived from *Hermetia illucens*, a further step in a circular economy process. *Scientific Reports*, 12(1): 6596–6613.
- Troha K. & Ayres J.S. (2020). Metabolic adaptations to infections at the organismal level. *Trends in immunology*, 41(2): 113-125.
- Tzelepis I., Kapsetaki S.E., Panayidou S. & Apidianakis Y. (2013). *Drosophila melanogaster*: a first step and a stepping-stone to anti-infectives. *Current opinion in pharmacology*, 13(5): 763-768.
- van Alphen B., Stewart S., Iwanaszko M., Xu F., Li K., Rozenfeld S., Ramakrishnan A., Itoh T.Q., Sisobhan S. & Qin Z. (2022). Glial immune-related pathways mediate effects of closed head traumatic brain injury on behavior and lethality in *Drosophila*. *PLoS biology*, 20(1): 1–32.

Références

- van den Bergh B. (2022). Bugs on drugs: A *Drosophila melanogaster* gut model to study *in vivo* antibiotic tolerance of *E. coli*. *Microorganisms*, 10(1): 099–119.
- van Huis A., Itterbeeck J.V., Klunder H., Mertens E., Halloran A., Muir G. & Vantomme P. (2013). Edible insects: future prospects for food and feed security. FAO Forestry Paper, Rome (Italie), 187 p.
- van Huis A., Dicke M. & van Loon J.J. (2015). Insects to feed the world. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(1): 3–6.
- van Huis A., Halloran A., Van Itterbeeck J., Klunder H. & Vantomme P. (2022). How many people on our planet eat insects: 2 billion?. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8(1): 1–4.
- van Itterbeeck J. & Pelozuelo L. (2022). How many edible insect species are there? A not so simple question. *Diversity*, 14(2): 1-11.
- van Staden A.D.P., Heunis T., Smith C., Deane S. & Dicks L.M.T. (2016). Efficacy of lantibiotic treatment of *Staphylococcus aureus*-Induced skin infections, monitored by *in vivo* bioluminescent imaging. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(7): 3948–3955.
- Veldkamp T., Dong L., Paul A. & Govers C. (2022). Bioactive properties of insect products for monogastric animals – a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 8(9): 1027–1040.
- Verma R.C., Waseem M.A., Sharma N., Bharathi K., Singh S., Anto Rashwin A., Pandey S.K. & Singh B.V. (2023). The role of insects in ecosystems, an in-depth review of entomological research. *International Journal of Environment and Climate Change*, 13(10): 4340–4348.
- Vidal M., Arch M., Fuentes E. & Cardona P. J. (2024). *Drosophila melanogaster* experimental model to test new antimicrobials: a methodological approach. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1–17.
- Vilcinskas A. (2013). Evolutionary plasticity of insect immunity. *Journal of insect physiology*, 59(2): 123–129.

Références

- Vilcinskas A., Mukherjee K. & Vogel H. (2013). Expansion of the antimicrobial peptide repertoire in the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1750): 1–9.
- Wang L., Kounatidis I. & Ligoxygakis P. (2014). *Drosophila* as a model to study the role of blood cells in inflammation, innate immunity and cancer. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3(113): 1–17.
- Weiss H.B. (1947). Entomological medicaments of the past. *Journal of the New York Entomological Society*, 55(2): 155–168.
- Wenzel J.W. (1998). Generic key to the nests of hornets, yellowjackets, and paper wasps worldwide (Vespidae: Vespinae, Polistinae). *American Museum Novitates*, 3224: 1–39.
- Werner A. & Laccourreye O. (2011). Le miel en oto-rhino-laryngologie : quand, pourquoi et comment?. *Annales françaises d'oto-rhino-laryngologie et de pathologie cervico-faciale*, 128(3): 153–157.
- Westblade L.F., Errington J. & Dörr T. (2020). Antibiotic tolerance. *PLoS pathogens*, 16(10): 1–7.
- Wojda I., Staniec B., Sułek M. & Kordaczuk J. (2020). The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathogens and disease*, 78(9): 1–15.
- Wu Q., Patočka J. & Kuča K. (2018). Insect antimicrobial peptides, a mini review. *Toxins*, 10(11): 444–461.
- Wu S., Lu M. & Wang S. (2017). Antiageing activities of water-soluble chitosan from *Clanis bilineata* larvae. *International journal of biological macromolecules*, 102: 376–379.
- Wukitch A.M., Lawrence M.M., Satriale F.P., Patel A., Ginder G.M., Van Beek E.J., Gilani O. & Chambers M.C. (2023). Impact of chronic infection on resistance and tolerance to secondary infection in *Drosophila melanogaster*. *Infection and Immunity*, 91(3): 360–376.
- Xu P., Lv D., Wang X., Wang Y., Hou C., Gao K. & Guo X. (2020). Inhibitory effects of *Bombyx mori* antimicrobial peptide cecropins on esophageal cancer cells. *European Journal of Pharmacology*, 887(173434): 1–17.

Références

- Yamaguchi M. & Yamamoto S. (2022). Role of *Drosophila* in human disease research 2.0. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8): 4199–4203.
- Yi C., He Q., Wang L. & Kuang R. (2010). The utilization of insect-resources in Chinese rural area. *Journal of Agricultural Science*, 2(3) : 146-154.
- Yi H.-Y., Chowdhury M., Huang Y.-D. & Yu X.-Q. (2014). Insect antimicrobial peptides and their applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(13): 5807–5822.
- Yoon S., Wong N.A., Chae M. & Auh J.-H. (2019). Comparative characterization of protein hydrolysates from three edible insects: Mealworm larvae, adult crickets, and silkworm pupae. *Foods*, 8(11): 547–563.
- Zhai Z., Huang X. & Yin Y. (2018). Beyond immunity: The Imd pathway as a coordinator of host defense, organismal physiology and behavior. *Developmental & Comparative Immunology*, 83: 51–59.
- Zhang E., Ji X., Ouyang F., Lei Y., Deng S., Rong H., Deng X. & Shen H. (2023). A minireview of the medicinal and edible insects from the traditional Chinese medicine (TCM). *Frontiers in Pharmacology*, 14: 1–14.
- Zhang W., Tettamanti G., Bassal T., Heryanto C., Eleftherianos I. & Mohamed A. (2021). Regulators and signalling in insect antimicrobial innate immunity: Functional molecules and cellular pathways. *Cellular signalling*, 83: 1–21.
- Zhang Z.-Q. (2011). Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa*, 3703: 1-82.
- Zhao S., He N., Zhang Y., Wang C., Zhai S. & Zhang C. (2021). Population pharmacokinetic modeling and dose optimization of vancomycin in Chinese patients with augmented renal clearance. *Antibiotics*, 10(10): 1228–1238.
- Zhou L., Meng G., Zhu L., Ma L. & Chen K. (2024). Insect antimicrobial peptides as guardians of immunity and beyond: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(7): 3812–3835.

Références

- Zhou Y., Ji X., Wang D., Guo Y., Zhao J. & Yan W. (2023). Effect of silkworm pupae (*Bombyx mori*) protein on colon cancer in nude mice: inhibition of tumor growth, oxidative stress and inflammatory response. *Frontiers in Pharmacology*, 14: 1–13.
- Zhou Y., Wang D., Zhou S., Duan H., Guo J. & Yan W. (2022). Nutritional composition, health benefits, and application value of edible insects: a review. *Foods*, 11(24): 3915–3961.
- Zielińska E., Baraniak B. & Karaś M. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of hydrolysates and peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis of selected heat-treated edible insects. *Nutrients*, 9(9): 956–970.
- Zimian D., Yonghua Z. & Xiwu G. (1997). Medicinal insects in China. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2–4): 209–220.

Annexes

Annexes

Annexe 1: Aperçu de la fiche d'enquête

ENQUÊTE SUR L'ENTOMOTHERAPIE EN CÔTE D'IVOIRE

2022 - Université Jean Lorougnon Guédé

SITUATION SOCIO-PROFESSIONNELLE

1. Sexe?

- ☐ 1. Homme ☐ 2. Femme

La réponse est obligatoire.

2. Quel âge avez-vous

La réponse est obligatoire.

3. Tranche d'âge?

- ☐ 1. Moins de 18 ans ☐ 2. 18 à 30 ans ☐ 3. 31 à 45 ans ☐ 4. 46 à 60 ans ☐ 5. Plus de 60 ans

La réponse est obligatoire.

4. Quel est votre niveau d'étude?

- ☐ 1. Jamais scolarisé(e) ☐ 2. Primaire ☐ 3. Secondaire ☐ 4. Supérieur

La réponse est obligatoire.

5. Que faites-vous dans la vie?

- ☐ 1. Agriculteur ☐ 2. Commerçant ☐ 3. Artisan ☐ 4. Fonctionnaire ☐ 5. Elève ou étudiant
☐ 6. AUTRE ☐ 7. Sans emploi

La réponse est obligatoire.

6. Si 'AUTRE', précisez :

7. Quel est votre statut matrimonial?

- ☐ 1. Marié(e) ☐ 2. Célibataire ☐ 3. En couple ☐ 4. Divorcé(e) ☐ 5. Veuf(ve)

La réponse est obligatoire.

8. Quel est votre ethnie?

- ☐ 1. Malinké ☐ 2. Baoulé ☐ 3. Senoufo ☐ 4. Bété ☐ 5. Yacouba ☐ 6. Agni ☐ 7. Koyaka ☐ 8. Guéré
☐ 9. Gouro ☐ 10. AUTRE

La réponse est obligatoire.

9. Si 'AUTRE', précisez :

CONNAISSANCE DES INSECTES MEDICINAUX

10. A quelle médecine avez-vous recours lorsque vous vous sentez malade?

- ☐ 1. Médecine traditionnelle ☐ 2. médecine moderne ☐ 3. Les deux

La réponse est obligatoire.

11. Si médecine traditionnelle, quelles substances utilisez-vous?

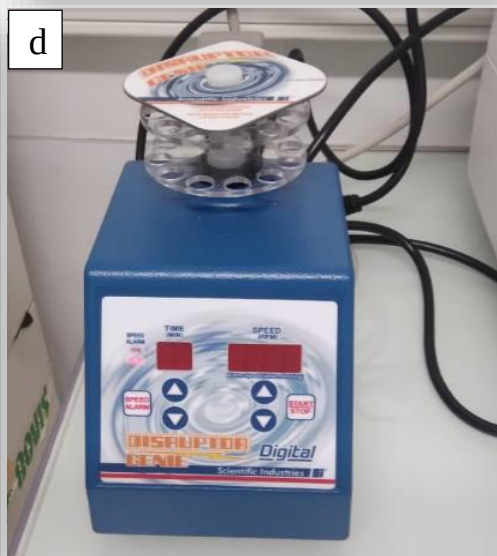
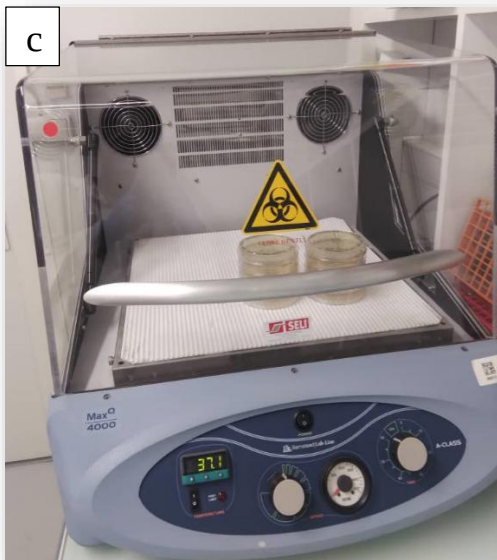
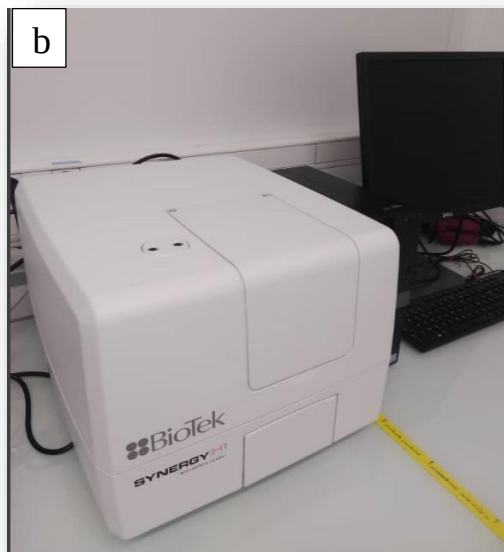
- ☐ 1. Plantes ☐ 2. Matière animale ☐ 3. Autre

La question n'est pertinente que si Type de médecine Parmi "Médecine traditionnelle ; Les deux"

12. Si 'Autre', précisez :

Annexes

Annexe 2: Photos de quelques équipements utilisés



- a) Poste de Sécurité Microbiologique (PSM)
- b) Lecteur de microplaque couplé à un écran
- c) Incubateur pour culture bactérienne
- d) Broyeur de mouche

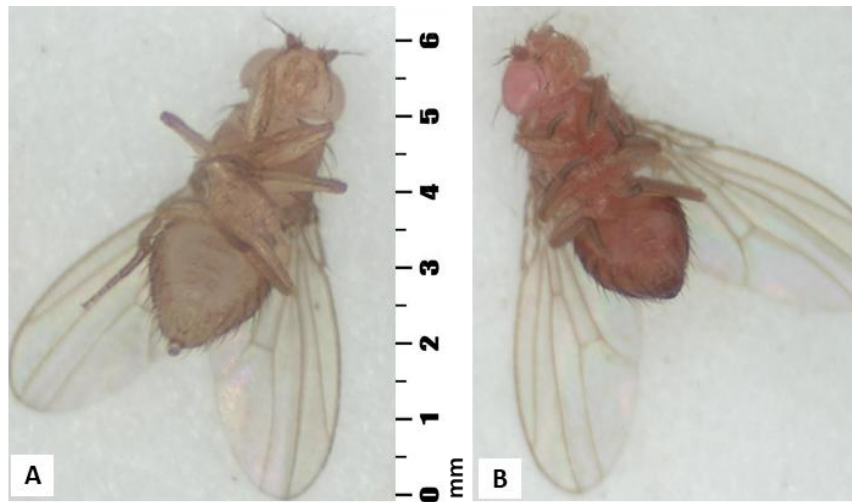
Annexe 3: Méthode d'élevage des mouches



Les mouches sont hébergées dans des tubes spécialisés de 95 mm de hauteur et 22,5 mm de diamètre. Les tubes contiennent un milieu nutritif composé de farine de maïs, glucose, levure, agar, moldex et acide propionique. Ils sont incubés dans un incubateur à 25 °C avec 60 % d'humidité et un cycle jour/nuit de 12 heures chacun.

Annexes

Annexe 4: Image montrant la coloration du corps d'une mouche morte d'une infection à *Serratia marcescens* (B) par rapport à une mort naturelle (A)



Publications



Medicinal insects used in Côte d'Ivoire: a field survey in Central and Northeastern provinces

Sansan Kambou, Adjoua Christiane Eunice Boko, Sika Hortense Blei, François Chassagne and Djédoux Maxime Angaman

Correspondence

Sansan Kambou^{1*}, Adjoua Christiane Eunice Boko², Sika Hortense Blei¹, François Chassagne³ and Djédoux Maxime Angaman¹

¹Université Jean Lorougnon Guédé, Département de Biochimie-Microbiologie, Côte d'Ivoire.

²Université Alassane Ouattara, Département des Sciences et Technologies, Côte d'Ivoire.

³UMR 152 PharmaDev, Université Paul Sabatier, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Toulouse, France.

*Corresponding Author: sansankambou2@gmail.com

Ethnobotany Research and Applications 29:70 (2024) - <http://dx.doi.org/10.32859/era.29.70.1-14>

Manuscript received: 15/10/2024 - Revised manuscript received: 09/12/2024 - Published: 09/12/2024

Research

Abstract

Background: In Côte d'Ivoire, insects hold a crucial role not only in culinary practices but also as vital components in traditional medicinal treatments, a facet often neglected in current research. This study aims to document the insects used in therapeutic practices and evaluate the present utilization of entomotherapy in three distinct district capitals of Côte d'Ivoire: Bondoukou, Bouaké, and Daloa.

Methods: An ethno-entomological survey was conducted in 2022 among 612 informants from four ethnic groups across Central and North-Eastern Côte d'Ivoire. Data collection was performed using a participatory approach with a structured questionnaire addressing sociodemographic characteristics and knowledge about insects used in traditional medicine.

Results: Only 14 % (n = 87) of participants were aware of the medicinal use of insects, with 48 % (n = 42) having personally used them. In total, 10 medicinal insects (103 URs) from six orders and eight families, were used in infusion (43.1 %), crushed (21 %), or in their natural state (29.4 %), often in combination with plants or other local resources, for the treatment of 16 different ailments. Administration routes included anal (38.9 %), cutaneous (28.4 %), oral (18.9 %) and auricular (13.7 %).

Conclusions: This study highlights the significant role of insects in traditional medicine in Côte d'Ivoire, identifying 10 medicinal insects used for 16 ailments. Further research is essential to evaluate the efficacy and safety of these remedies, contributing to the preservation and promotion of this traditional knowledge within a broader anthropological and ecological context.

Keywords: Traditional medicine, Africa, Entomology, Field survey, Therapeutic insects, Ethnomedicine

Background

Terrestrial biodiversity, encompassing a multitude of animals and plants, forms the cornerstone of a complex network of interactions that have a direct impact on human well-being, particularly in the realms of health and nutrition (Barbosa *et al.* 2018, Gahukar 2020). While plants have traditionally dominated remedies, ancestral medicinal practices have also explored, to some extent, animal resources and their derivatives. Among these resources, insects stand out due to their abundance and diversity, representing over 85% of animal biodiversity (Motte-Florac & Le Gall 2022). They have played a central role in indigenous healing methods for generations, providing alternative source rich in medicinal compounds and holding significant cultural importance in many societies (Costa-Neto 2005, Zhang *et al.* 2023). Exploring the use of insects in traditional medicine could lead to the discovery of new therapeutic sources, offering alternatives to traditionally used plants while addressing the health needs of the population in a more holistic manner.

The medicinal use of insects dates back to antiquity, recalled as early as the 16th century BCE in the Ebers Papyrus, an Egyptian medical treatise detailing several remedies derived from insects and arachnids (Weiss 1947). The book 'Insectotheology,' published in 1699, also bears witness to this ancient use of insects for therapeutic purposes (Berenbaum 1995). For millennia, silkworms (*Bombyx mori*) have been used in traditional Chinese medicine and the larvae of certain flies have been employed in the healing of infected wounds (Meyer-Rochow 2017, Zimian & Xiwu 1997).

The preventive or therapeutic use of insects is termed 'entomotherapy,' and the insects involved are referred to as 'medicinal insects' (Costa-Neto 2005, Devi *et al.* 2023). Currently, the number of insect species used for therapeutic purposes is estimated to exceed 1,000 in various regions worldwide (Siddiqui *et al.* 2023, Meyer-Rochow 2017). In China, around 300 species of medicinal insects have been documented alongside 5,700 other ingredients sourced from plants, animals, or minerals (Feng *et al.* 2009). Other regions of the world, such as India, Japan, Korea, Spain, Turkey, Africa, and South America, have also reported the significant use of insects in treating various illnesses (Choudhary *et al.* 2022, Meyer-Rochow 2017). In West Africa, research on the therapeutic use of insects is limited. Of the three studies documented, two were conducted in Benin and one in Burkina Faso. In Benin, an initial study surveyed 150 individuals in Ouidah, identifying 13 species of medicinal insects used to treat 23 conditions (Hedanou 2017). Two years later, another study, conducted in the Southeast of Benin with 145 informants, documented 38 species of invertebrates, of which 64.7 % were insects and were used for treating 50 illnesses (Loko *et al.* 2019). In Burkina Faso, 60 traditional practitioners were interviewed across five locations in the Sudanese and Sudano-Sahelian zones, identifying 19 insect species used as remedies for 78 diseases and symptoms (Ouango *et al.* 2022).

Research in Côte d'Ivoire has revealed the use of insects for food purposes, with a list including 11 species consumed by over 60 % of the population (Boko *et al.* 2020, Ehounou *et al.* 2018, Niaba *et al.* 2012). Among these studies, one identified Bouaké and Daloa as among the most active centers for insect consumption and trade in Côte d'Ivoire (Boko & Angaman 2021). Hence, it is plausible that these insects could also be used for medicinal purposes in these regions, although specific studies are lacking regarding their usage in Ivorian traditional medicine. It is within this context that the present study was conducted, aiming to inventory insects used in therapy and assess the current practice of entomotherapy in three specific localities of Côte d'Ivoire: Bondoukou, Bouaké, and Daloa. This study aims to fill the knowledge gap regarding the traditional use of insects for medicinal purposes in these localities and contribute to a better understanding of this ancient yet often overlooked practice in Ivorian traditional medicine.

Materials and Methods

Study area

The study area encompasses three distinct cities: Bondoukou, Bouaké, and Daloa, situated in geographically diverse regions of Côte d'Ivoire (Figure 1). Bondoukou (8.03° N, 2.8° W) is the capital of the Zanzan district and the administrative center of the Gontougo region, an area characterized by a tropical climate. This province experiences high temperatures throughout the year, with a distinct dry season and a rainy season conducive to wooded savannah vegetation. Abundant precipitation contributes to fertile lands, thereby influencing the region's biodiversity. Bouaké (7.69° N and 5.03° W) the capital of the Vallée du Bandama district and the administrative center of the Gbêkê region shares similar characteristics with Bondoukou, with a tropical climate characterized by high temperatures year-round. Wooded savannah vegetation predominates in this region, where moderate precipitation defines the rainy season. Daloa (6.87° N, 6.45° W) from Haut-Sassandra region also experiences a tropical climate, characterized by constant high temperatures. However, this city is different from Bondoukou and Bouaké due to abundant annual precipitation that influences the diversity of its vegetation, primarily composed of tropical forests.

The selection of these regions was motivated by several criteria, including demographic diversity, cultural differences, medicinal practices, and dietary habits, such as insect consumption among the residents (Boko & Angaman 2021). Furthermore, these areas are characterized by a pronounced cosmopolitanism, hosting communities with diverse dietary and medicinal traditions (Ehounou *et al.* 2018, Gogbé 2011). These urban centers thus provided a diverse range of cultural and environmental contexts for the conducted study.

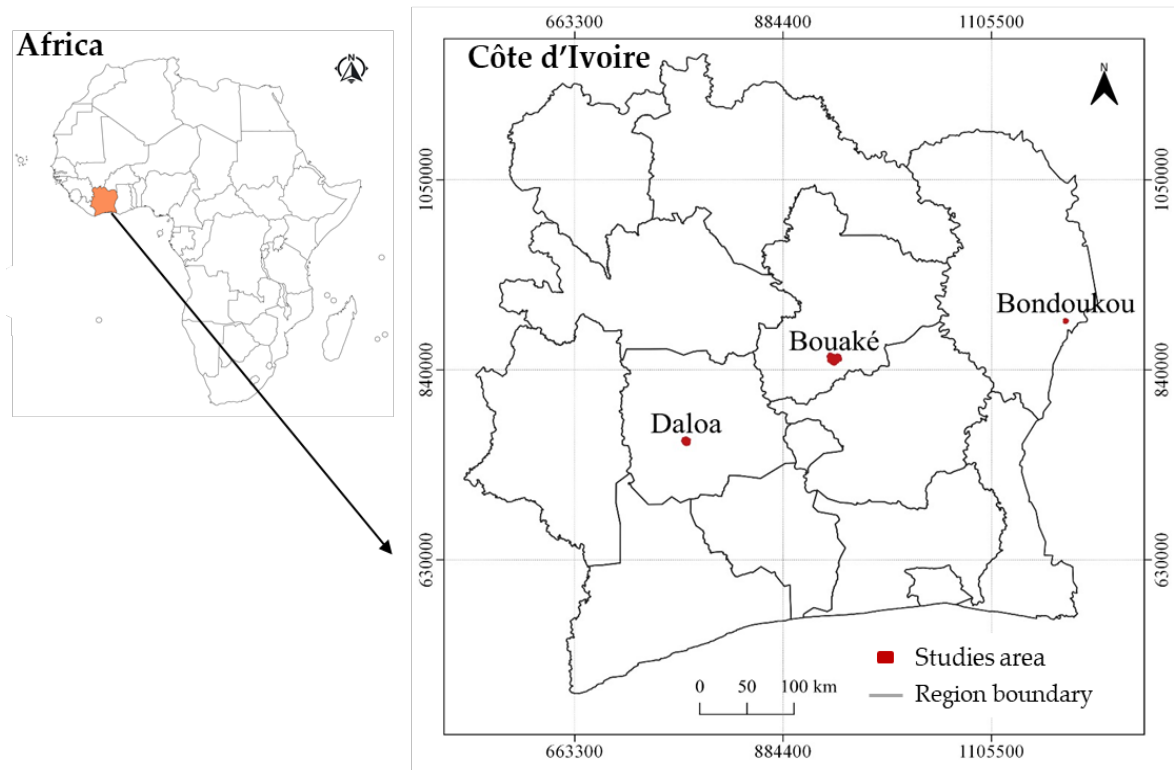


Figure 1. Map of the study area showing the three surveyed localities

Ethical considerations

The ethical points addressed included obtaining informed consent from participants, ensuring confidentiality and anonymization of personal data, as well as respecting local traditions and preventing exploitation. This protocol was formally approved by Université Jean Lorougnon Guédé and community leaders, ensuring that the study adheres to ethical standards. Each participant was carefully informed about the study's objectives, methodology, and the use of collected data. Their voluntary and informed consent was obtained before their participation.

Data collection

A comprehensive field survey was carried out within households located in the three cities indicated above between March and August 2022. A systematic approach was employed, involving a randomized selection of households from diverse neighborhoods, ensuring a well-rounded representation. Key informants, aged over 18, were selected from within these households. The primary objective of this survey was to evaluate the prevailing understanding and application of entomotherapy, collate an inventory of insects utilized as remedies, and gain insight into the diverse methodologies of preparation, administration, as well as the perceived motivations and outcomes associated with these practices.

A structured questionnaire, designed to cover a wide range of topics, was administered to the participants. In addition to gathering sociodemographic information such as gender, age, ethnicity, occupation, and level of education, the form also addressed the following aspects: types of insects used, treated pathologies, methods of preparation and administration, conditions of use, as well as user feedback categorized by their satisfaction levels (unsatisfied, somewhat satisfied, satisfied, and very satisfied). Individual interviews primarily conducted in French with the assistance of a competent interpreter were employed when necessary to accommodate local languages. Additionally, a sheet containing photographs illustrating certain medicinal insects and their products was provided to complement the questionnaire. The responses obtained were meticulously collected in accordance with the questionnaire to ensure precise and exhaustive data collection. Lastly, the mentioned insect specimens were collected and preserved in alcohol for identification in close collaboration with Dr. Tano Kevin, entomologist at the Jean Lorougnon Guédé University of Daloa, Côte d'Ivoire (Scholtz 2016).

Data Analysis

The data collected in this survey were initially analyzed using Sphinx software, version 4.5. Subsequently, these processed data were exported to Microsoft Excel (version 2016) for further analysis within the R 4.2.2 environment via RStudio. Various R packages such as questionr, gtsummary, ggplot2, and GGally were utilized to generate contingency tables. Independence tests between variables were conducted using the chi-square test (χ^2), while Pearson's chi-square residuals were calculated to more accurately determine proportions affected by statistically significant differences.

Additionally, a precise methodology was followed to transform the data into Use Reports (Chellappandian *et al.* 2012). For instance, when an informant recommended the use of a specific species, such as 'A' to treat disease 'x', it resulted in the drafting of a single Use Report (UR). However, if this informant advocated for 'A' in treating both 'x' and 'y' diseases, it led to the creation of two distinct reports.

Results

Sociodemographic characteristics of the participants

The study involved a total of 612 participants distributed as follows: 208 in Daloa, 303 in Bouaké and 101 in Bondoukou (Table 1). These participants aged between 19 and 80 years old, had an average age of 42.5 years and a median age of 43 years. They belonged to 32 distinct ethnic groups, grouped into five categories, among which the Akans (29.73 %) and the Voltaics (25.32 %) were the most represented. Specifically, the Baoules (21.0 %), Agnis (3.4 %), and Abrons (2.1 %) were the most represented groups among the Akans, while the Senoufos (8.5 %), Lobis (7.0 %), and Koulangos (6.5 %) predominated among the Voltaics. Furthermore, other ethnic groups such as the Mandés (Malinkés, Bambaras, and Dioulas) and the Krous (Bétés, Yacoubas, Wès, Didas, and Gouros) were recorded in significant numbers, accounting for 20.3 % and 13.9 % respectively. The group of foreigners (non-Ivorian citizens), consisting of individuals from countries in the West African sub-region, namely Burkina Faso, Mali, Guinea and Benin, accounted for 10.8% (n=66) of the surveyed sample. The participants belonged to various professions, and over a third of them (34 %) had not received any formal education.

Table 1. Socio-demographic profile of 612 participants across three localities in Côte d'Ivoire

Characteristics	Frequency	Percent (%)
Gender		
Male	303	49.5
Female	309	50.5
Age		
18-30 years	111	18.1
31-45 years	262	42.8
46-60 years	181	29.5
Over 60 years	58	9.4
Educational level		
Illiterate	208	34.0
Primary school	137	22.4
Secondary school	164	26.8
University	103	16.8
Ethnic group		
Akan	182	29.7
Mandés	124	20.3
Voltaïque	155	25.3
Krous	85	13.9
Foreigners	66	10.8
Occupation		
Farmer	93	15.2
Merchant	148	24.2
Artisan	104	17.0
Student	56	9.1
Unemployed	113	18.5
Retired	11	1.8
Civil servant	87	14.2
Locality		
Bondoukou	101	16.5
Bouaké	303	49.5
Daloa	208	34.0

Knowledge of entomotherapy among the surveyed individuals

Among all the study participants, only 87 individuals, comprising 14 % of the sample, possess knowledge about insects used for medicinal purposes or entomotherapy. A statistical analysis employing the chi-square test revealed a significant association between this knowledge and the geographical location of the respondents ($\chi^2 = 27.145$, $df = 2$, $p\text{-value} = 1.275 \times 10^{-6}$): individuals from the Bondoukou region exhibit a higher level of information (30.7 %) compared to other regions (Figure 2). Furthermore, this disparity in knowledge is noteworthy concerning age ($\chi^2 = 8.347$, $df = 3$, $p\text{-value} = 0.03936$), ethnicity ($\chi^2 = 20.208$, $df = 4$, $p\text{-value} = 0.0004542$) and the respondents' occupations ($\chi^2 = 15.011$, $df = 6$, $p\text{-value} = 0.02017$). For instance, older individuals seem to possess a more comprehensive understanding, with rates of 18.2 % for the age group of 46 to 60 years and 20.7 % for those over 60 years old. Regarding ethnicity, the Voltaic and Akan groups stand out with respective knowledge levels of 22.6 % and 17 %. Regarding occupations, farmers and unemployed individuals are the most informed displaying rates of 22.8 % and 19.5 %, respectively. An interesting observation was that a higher proportion of individuals with knowledge about medicinal insects belonged to the non-schooled category (illiterate). Finally, participants indicated that their knowledge about medicinal insects primarily comes from familial transmission (71 %) and social circles (29 %).

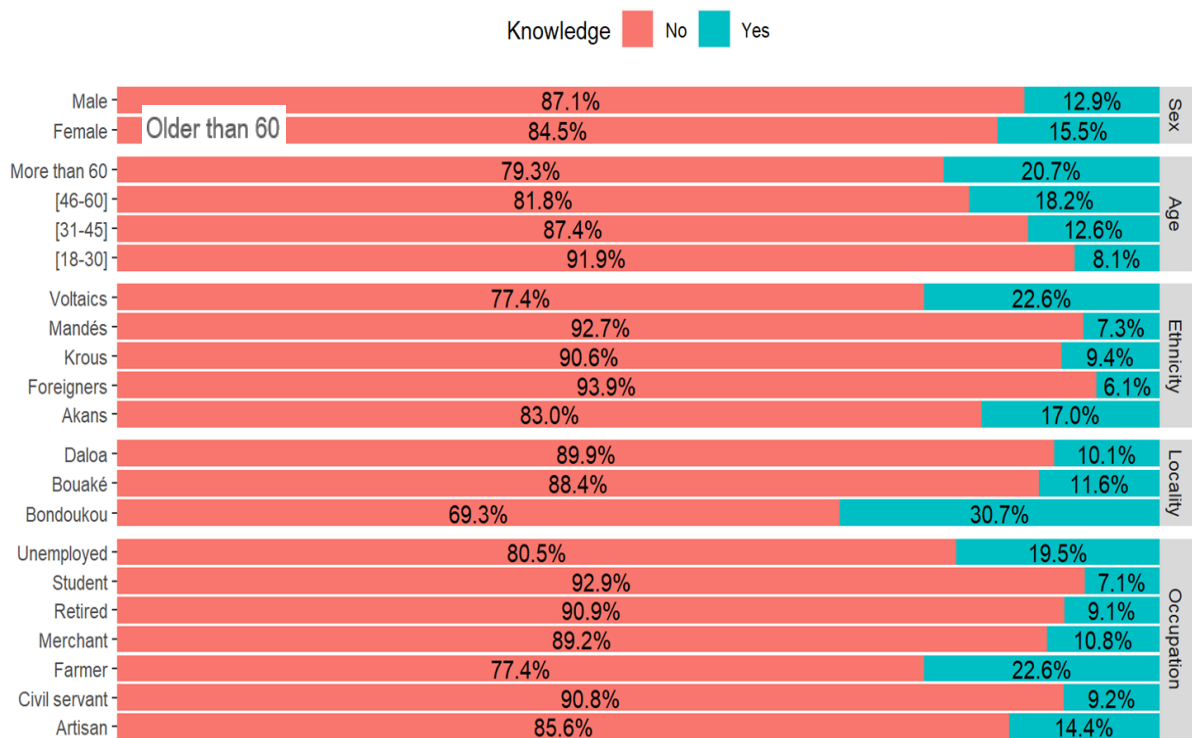


Figure 2. Entomotherapy awareness level based on gender, age group, ethnicity, locality, and occupation of surveyed individuals

Practice of entomotherapy among the surveyed individual

Among the subset of respondents with knowledge of medicinal insects, nearly half ($n=42$, 48 %) claimed to have previously used this form of therapy. However, this practice is not regular in the majority of cases, as most of these users have resorted to entomotherapy once or twice in their lifetime, representing 42.5 % and 37.5 % of the respondents, respectively. A minority, comprising 20 % of those who tried this method, reported using it three times or more for medical purposes.

Despite this, the use of insects for medicinal purposes was generally well received by the users. A vast majority of individuals who underwent this therapy, around 65.85 %, expressed satisfaction with 24.39 % even describing it as 'very satisfactory'. However, a small proportion of the sample, approximately 9.75 %, considered this approach to be somewhat unsatisfactory.

It is important to note that no adverse effects were reported for insects other than ants. Respondents who used ants to treat childhood illnesses reported that prolonged treatments lasting over a month could lead to severe behavioral changes in the child, notably marked restlessness.

Medicinal insects inventoried and their therapeutic benefits

In total, 10 species of medicinal insects were reported by the 87 respondents familiar with the use of medicinal insects (Table 2). Among these, an overwhelming majority of 74 individuals mentioned only one species, 10 mentioned two different species, and only three respondents were able to identify up to three species of medicinal insects.

The listed species are distributed among six orders and eight distinct families. Among these orders, Hymenoptera stands out as the most prolific with three notable families: Apidae (*Apis mellifera*, UR=15), Sphecidae (*Sceliphron* sp., UR=12), and Formicidae (*Camponotus* sp., UR=36; *Oecophylla longinoda*, UR=10; *Dorylus* sp., UR=2). Other cited insects belong to the orders Blattodea (*Periplaneta americana*, UR=20), Coleoptera (*Rhynchophorus phoenicis*, UR=3), Isoptera (*Macrotermes subhyalinus*, UR=2), Hemiptera (*Cicada orni*, UR=1) and Mantodea (*Mantis religiosa*, UR=2).

It is noteworthy that most insects, mentioned a limited number of times (UR < 3), are specifically associated with only one of the studied localities (Figure 3). For example, the praying mantis (*Mantis religiosa*, UR=2) is exclusively mentioned in Bondoukou, while *Macrotermes subhyalinus* (UR=2) is solely cited in Daloa. Furthermore, insects like *Dorylus* sp. (UR = 2) and *Cicada orni* (UR =1) are reported only in the city of Bouaké. Only five species, namely *Apis mellifera*, *Sceliphron* sp., *Periplaneta americana*, *Camponotus* sp. and *Oecophylla longinoda*, were mentioned jointly in all three localities, although their occurrences vary considerably. However, despite these disparities, these insects are used for similar medicinal purposes, regardless of the location.

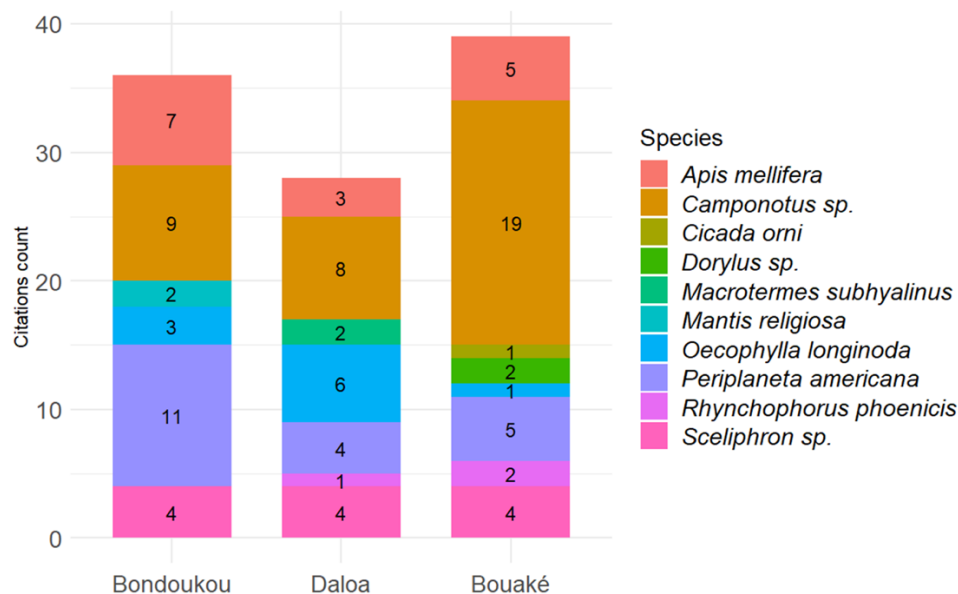


Figure 3. Species citations count across different localities

All of these mentioned insect species and their derivatives are used to treat sixteen different pathologies and symptoms. For instance, infusions derived from black ants and driver ants (*Camponotus* sp. and *Dorylus* sp.) are administered to children to strengthen their immunity and improve their mobility. The infusion made from *Oecophylla longinoda* is known to alleviate various ailments such as cough, fevers, and vomiting. Moreover, it has been reported that regular consumption of this dried insect, combined with raw cassava contributes to the treatment of tremors. Additionally, a poultice made from cockroach (*Periplaneta americana*) is applied to the umbilical cord of newborns to prevent infections and speed up healing. This paste is also used to treat earaches and boils. Palm weevil larvae (*Rhynchophorus phoenicis*), commonly known as "anonkplin" in the Baoulé language, are consumed in various forms to facilitate childbirth. Furthermore, hemolymph extracted from these larvae is mixed with crushed palm heart and applied to treat burns. Other insects such as the termite queen *Macrotermes subhyalinus*, the cicada (*Cicada orni*) and the praying mantis (*Mantis religiosa*) have specific applications in treating hemorrhoids, toothaches and sprains, respectively.

In addition to the insects themselves or their parts, some insect-derived products were also mentioned. Honey, produced by bees (*Apis mellifera*), is used to alleviate sore throats, coughs, and stomach ulcers. The nest of the mason wasp is also used as a remedy for sprains and swelling (Figure 4). It is kneaded with shea butter and applied to the affected area.

Table 2. Medicinal insects and their therapeutic uses reported in the three surveyed localities from Côte d'Ivoire citations count across different localities Medicinal insects and their therapeutic uses reported in the three surveyed localities from Côte d'Ivoire

Order	Scientific name	Organ or product used	Common name	Vernacular name (Ethnic group)	Use Report (UR)	Preparation Method	Combined With	Route of administration	Therapeutic application
Blattodea	<i>Periplaneta americana</i>	Whole (11) Hemolymph (9)	Cockroach	Dalèq (Senoufo)	20	Pulverize into paste or Squeeze to extract hemolymph	Shea butter	Topical (poultice, auricular)	Earache (13) Scar formation (5) Boil (2)
Coleoptera	<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	Whole (2) Hemolymph (3)	Palm weevil	Anonklin (Baoulé)	3	Prepared as a soup or swallowed raw	Heart of palm	Oral Topical	Childbirth (2) Burn (1) Cough (1)
Hemiptera	<i>Cicada orni</i>	Whole	Mountain cicada	-	1	To chew the live insect with one's teeth.	None	Oral	Toothache (1)
Hymenoptera	<i>Apis mellifera</i>	Honey	Bee (Honey)	Wongô (Koulango)	15	Raw form	None	Oral (9) Topical (6)	Cough (5) Scar formation (5) Ulcers (3) Stomachache (2)
	<i>Camponotus</i> sp.	Whole	Little black ant	Tih-trè (Bété)	36	Grind the ants, steep them in warm water for 15 minutes, strain, and administer	Medicinal plants	Anal purging	Infant motor skills (13) Fever (11) Immunity (5)
	<i>Dorylus</i> sp.	Whole	Harvester ant	Danhan (Tagbana)	2	Grind the ants, steep them in warm water for 15 minutes, strain, and administer	Medicinal plants	Anal purging	Immunity (2)
	<i>Oecophylla longinoda</i>	Whole	Red ant	Kacahadjé (Baoulé)	10	Dry the ants, grind them into powder, add the powder to the water, and then filter.	Raw cassava (1)	Oral (4) Anal (6)	Cough (4) Fever (3) Vomiting (2) Tremor (1)

	<i>Sceliphron</i> sp.	Nest	Mason wasp	Kalankâ tièl (Lobi)	12	Mixing the nest with shea butter and applying it to the affected area	Shea butter	Topical (massage or poultice)	Sprain (8) Swelling (4)
Isoptera	<i>Macrotermes subhyalinus</i>	Whole	Termite queen	Louh (Bété)	2	Raw form	None	Oral (swallow)	Hemorrhoid (2)
Mantodea	<i>Mantis religiosa</i>	Whole	Praying mantis	Assi Congo (Baoulé)	2	Walk the live praying mantis over the affected area	None	Apply to the affected organ	Sprain



Figure 4: Photographs of the most cited medicinal insects found in the three localities. **a:** *Ocoephylla smargdina*; **b:** *Periplaneta americana*; **c:** *Rhynchophorus phoenicis*; **d:** *Sceliphron* sp. nest

Forms of use and administration route

The majority of mentioned medicinal preparations rely on the use of the whole insect (65 %). However, the use of other products such as hemolymph (9.7 %), nest (11.6 %) or honey (14.6 %) have been also reported. These components are used individually or in combination with other local products, including medicinal plants or shea butter. Insect-based remedies are employed in the form of infusion (43.1 %), crushed (21 %) or in their raw state (29.4 %). In other cases, they are used alive (3 %) or consumed as soup (3 %) (Figure 5). These diverse preparations are generally administered anally (38.9 %), topically (28.4 %), orally (18.9 %), and auricularly (13.7 %). However, differences can be observed between the methods of administration and the various medicinal preparations. For instance, administration through the anal route or purging is exclusively reserved for infused forms. To create these infusions, ants, combined with medicinal plants, are ground on a stone and steeped in warm water for about 15 minutes. The liquid is then filtered through cloth and administered into the child's rectum using an enema syringe or a bulb syringe. Raw extracts or crushed forms are applied topically or auricularly. Conversely, oral administration is used for different preparations, except for crushed forms.

Discussion

The use of insects for medicinal purposes remains relatively unknown in the various regions surveyed. Indeed, only 14% (n=87) of the surveyed population is aware of this therapy. These findings, though modest, indicate the existence of this practice in the traditional healthcare systems of local populations, reflecting a similar trend observed in many other African countries, especially in the West African sub-region, including Burkina Faso, Benin, and Nigeria (Lawal & Banjo 2007, Loko *et al.* 2019, Ouango *et al.* 2022).

The irregularity observed in the practice of entomotherapy is often attributed to the seasonal availability of certain species of medicinal insects. The challenges associated with this seasonal availability are illustrated by comments collected during the survey, such as "they are not easily found" or "they are difficult to collect". Thus, the unavailability of medicinal species during certain seasons limits access to essential medicinal insects, thereby hindering the continuity of traditional treatments. Local populations adapt their medicinal practices based on the availability of insects, demonstrating a deep understanding and adaptation to natural cycles (Lawal & Banjo 2007). For example, in Nigeria, Fasoranti and Ajiboye (1993) reported that termites, particularly valued for their medicinal properties, are more abundant during the rainy season. Similarly, in Benin, Loko *et al.* (2019) noted that caterpillars and grasshoppers, used to treat various illnesses, are mainly available during the rainy months, thus influencing their incorporation into traditional medicinal practices. A better understanding of these seasonal dynamics could contribute to improving the documentation and preservation of traditional medicinal practices, while also enabling better management of the natural resources used in entomotherapy.

It is noteworthy that residents of Bondoukou appear to have a better understanding of entomotherapy, likely due to the traditional medical practices within the local Voltaic community (Silue 2021). This observation underscores the importance of intergenerational transmission of traditional medical knowledge in African cultures. Furthermore, this community, originating from the former Republic of Upper Volta, now Burkina Faso, where the practice of entomotherapy has been documented (Ouango *et al.* 2022), has likely preserved this medical practice over time through migration and settlement in new regions. This dynamic highlights the resilience and persistence of medical traditions, even in the face of social and environmental changes. These findings underscore the importance of cultural and historical contexts in perpetuating traditional medical practices, including entomotherapy, across borders and generations in Africa.

The distribution of medicinal insects in this study reveals a predominance of Hymenoptera, with 5 out of 10 identified species. This trend is found in various African cultures, highlighting the considerable therapeutic importance of Hymenoptera. For example, in Burkina Faso, Ouango *et al.* (2022) identified 8 species of Hymenoptera among the 19 medicinal insects recorded in the provincial communities of Houët and the Indian Ocean. In Cameroon, Tamesse *et al.* (2018) reported that ants and bees are commonly sold by traditional healers and used to treat various diseases, including rheumatism, chickenpox, spleen inflammation, umbilical hernia, mumps, cramps, and weak bones. This therapeutic importance of Hymenoptera is not limited to Africa. In India, among the Nagas, Mozhui *et al.* (2021) documented that Hymenoptera represent 20% of the 11 orders of medicinal insects. Similarly, in South America, Costa-Neto (2005) recorded 9 distinct orders of medicinal insects in the traditional medicine of Bahia, Brazil, among which 22 species were Hymenoptera.

To better understand the sociocultural context of the use of immunity in the use of ants in children, we further discuss our results here. The use of ants (*Camponotus* sp., *Dorylus* sp. and *Oecophylla longinoda*) infusions for enemas in children is based on the belief that this practice offers protection against childhood diseases and promotes rapid mobility acquisition, thereby preventing developmental delays. Mothers associate the sickly nature and motor difficulties of walking-age children

with a weakened immune system. This belief is expressed through phrases such as "he/she is always sick" or "he/she is too calm." Ants, combined with medicinal plants, are crushed on a stone and infused in warm water for about 15 minutes. The liquid is then filtered through cloth and administered into the child's rectum using a syringe or enema bulb. This practice is believed to purify the child's body, thereby promoting psychomotor development.

This practice exhibits points of convergence with other cultures. For instance, it has been reported that the Arawaks in Guyana encouraged stings from *Paraponera clavata* (the bullet ant) on their babies to stimulate early walking (Costa-Neto 2005). Loko *et al.* (2019) reported the use of the ant *Oecophylla longinoda* in the treatment of hypertension and body pains in Benin, while among the Nagas, a boiled decoction of *Oecophylla smaragdina* is orally administered to treat cough and fever (Mozhui *et al.* 2021). In China, ant medicine is renowned for its effectiveness in treating various issues related to the liver, sexual function, and cancer (Choudhary *et al.* 2022). The medical importance of these animals and their use in different traditional pharmacopeias around the world are crucial aspects to consider for new advancements in pharmacology.

The therapeutic use of the American cockroach, *Periplaneta americana*, in the treatment of skin conditions such as boils, earaches, and wound healing, is a well-established traditional medicinal practice due to its potential antibacterial effects. This approach finds logical justification in the lifestyle of cockroaches, which thrive in often unsanitary conditions, enabling them to develop a natural immunity against bacteria (Dossey 2010). Despite the occasionally folkloric perceptions associated with its use, scientific studies have revealed that the hemolymph of *Periplaneta americana* contains bioactive compounds, notably antimicrobial peptides, which demonstrate effective antibacterial activity against pathogens such as *Escherichia coli* and *Micrococcus luteus* (Basseri *et al.* 2016, Martin & Channe 2020). These findings support the traditional use of the American cockroach in folk medicine and highlight its real therapeutic potential, while paving the way for further research to better understand its mechanisms of action and clinical efficacy.

The larvae of the species *Rhynchophorus phoenicis*, also known as palm weevils, are cited for the treatment of cough and burns. Similar uses have been reported among certain Indian tribes, where they are used to relieve cough and body pains (Posey 2003). In Benin, the adults of this species are used to treat headaches, dental caries, and fever (Loko *et al.* 2019). A recent study demonstrated that the hemolymph extracted from the larvae of this species possesses antibacterial activity against six strains, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. (Kambou *et al.* 2023).

The therapeutic use of the queen termite *Macrotermes subhyalinus*, noted for the treatment of hemorrhoids, aligns with its broader applications in traditional medicine. Queen termites are highly prized in African pharmacopeias for their aphrodisiac effects (Motte-Florac & Le Gall 2022). Among various communities such as the Nagots in Benin, the Wolofs in Senegal, and the Shonas in Zimbabwe, these queens are recognized for enhancing virility. Concurrently, among the Yorubas in Nigeria and the Kabayes in Togo, they are reputed to improve female fertility (Motte-Florac & Le Gall 2022). In China, it has been observed that some people, intrigued by their aphrodisiac properties, consume them with a bit of alcohol or soak them in alcohol before ingestion (Durst *et al.* 2010). The convergent use of queen termites in Asia and Africa to improve general health, fertility, or as an aphrodisiac could be attributable to their richness in ecdysteroids. These compounds have the ability to stimulate protein synthesis in humans and may offer anabolic effects, thereby enhancing physical performance and endurance (Lupoli 2010).

The cicada (*Cicada orni*) and the praying mantis (*Mantis religiosa*) are also used by some of the surveyed individuals to respectively treat toothaches, earaches and sprains. In a review of insects used as remedies in different human cultures, the use of cicada *Huechys sanguinea* was also reported to alleviate migraines and ear infections in various Chinese provinces (Fujian, Guangdong, Guangxi, Jiangsu, Sichuan, Zhejiang) (Bairagi 2019). Another author mentioned the use of the praying mantis as a remedy, although it is more commonly associated with the treatment of other conditions such as fever, beriberi, toothaches, as well as hair and respiratory problems (Meyer-Rochow 2017).

Just as insects in their entirety or their components, certain derivatives from insects are used for therapeutic purposes. A notable example is honey, a product crafted by bees, widely recognized for its numerous healing properties. Surveyed populations utilize it to treat coughs and stomach ailments, uses supported by scientific evidence of effectiveness (Meyer-Rochow 2017, Balas 2015). Nowadays, honey is included in the composition of various pharmaceutical products due to its antimicrobial, antitumoral and anti-inflammatory properties (Balas 2015, Fauzi *et al.* 2011). However, it is important to note that these results primarily come from in vitro studies and animal models, and further research is needed to confirm these effects in humans.

In addition to honey, the nests of mason wasps are also used as therapeutic agents to treat sprains and swelling. In comparison, nests of potter wasps, *Eumene sp.*, have been reported to be used by the Mishings and the Bodos and other Assamese tribes from India to alleviate headaches and burns. The pharmacological properties of wasp nests come from the constituent elements of the nest, particularly the clay and the wasp saliva (Wenzel 1998). Clay is highly valued for its diverse pharmacological properties, particularly in reducing inflammation and alleviating pain associated with sprains (Lefief-Delcourt 2012). As for wasp saliva, it consists of a complex mixture of chemical compounds such as enzymes, proteins, and biogenic amines, possessing various biological properties such as analgesic, anti-inflammatory or antimicrobial effects (Beaudouin *et al.* 2022).

The diversity observed in insect-based medicinal formulations is also reported in various communities, such as those in the Plateau department in Benin, among the Yoruba people in Nigeria, and among the Nagas in northeast India (Lawal & Banjo 2007, Loko *et al.* 2019, Mozhui *et al.* 2021). This variety of practices highlights the importance of biodiversity in traditional medicines, especially when combining insects with other local resources such as plants. This approach demonstrates a deep understanding of nature and interactions between different species, thus strengthening the connection between humans and their environment (Barbosa *et al.* 2018).

The surveyed populations have developed specific preferences regarding the application of insect-based remedies. Topical application is preferred for targeted conditions, likely because it allows direct contact with the affected area (Barbosa *et al.* 2018). On the other hand, anal administration is preferred for treating more systemic health issues or for overall health maintenance. This practice is commonly used in Côte d'Ivoire for administering traditional remedies, notably to treat digestive disorders and infertility problems (Ambe *et al.* 2015, Moyabi *et al.* 2021, Yapi & Zirihi 2015). Additionally, it becomes an alternative for children when oral administration is impossible, especially in cases of refusal or vomiting.

In most cases, these remedies are administered by the mothers or grandmothers of the children, considered as the custodians of this ancestral knowledge, thus passing down these practices from generation to generation. However, a reported adverse effect of this practice involving ant infusions is that prolonged treatments, exceeding, for example, three months, can make the child very restless and difficult to control in the future. This observation underscores the importance of examining the long-term effects and socio-behavioral implications of administering traditional remedies through unusual routes such as anal administration.

In modern biomedical practices, anal administration is contraindicated in cases of rectal lesions, in immunocompromised individuals, and often requires dosage adjustment as well as special precautions in children to prevent trauma (Santé (AFSSAPS) 2009). However, it is interesting to note the points of convergence between these traditional practices and modern biomedical practices. For instance, rectal or anal administration is recommended for severe nausea, vomiting, or swallowing difficulties, as well as for local treatments of inflammatory rectal conditions or hemorrhoids (Macy *et al.* 2023, Kestenbaum *et al.* 2014). This method also offers the advantage of rapid absorption of active ingredients, thus bypassing potential degradation of drugs by digestive enzymes and the liver (first-pass effect) (Hahn *et al.* 2000). These convergences and divergences between traditional practices and biomedical approaches underscore the importance of understanding the socio-cultural contexts and local perceptions of health and disease for effective and respectful medical care of traditions.

In summary, although entomotherapy is relatively underutilized in the studied areas, it represents a potential medicinal resource deserving increased scientific attention for documentation and preservation. These findings underscore the need for further research to document these traditional knowledge systems while exploring their pharmacological potential (Kutalek and Kassa 2005).

Conclusion

This is the first study focusing on the use of insects in traditional medicine in Côte d'Ivoire. Among the 612 participants from the localities of Bondoukou, Bouaké, and Daloa, only 14 % (N=87) identified at least one insect species used for medicinal purposes, with a maximum of three insects mentioned per person. These respondents use 10 medicinal insects to treat 16 different pathologies and symptoms. These insects are used in the form of infusions (43.1 %), powders (21 %), or whole (29.4 %), often combined with plants or other local resources. Regarding administration, these insects are generally used anally (38.9 %), topically (28.4 %), orally (18.9 %), or auricularly (13.7 %). Although not common in these regions, this practice is present in Ivorian pharmacopeia and highlights the importance of preserving traditional medical practices within the

community. The diversity of insects, their therapeutic applications, and the different methods of preparing and administering remedies highlight the potential pharmacological properties of medicinal insects.

The use of insects in traditional medicine provides a unique perspective on the potential therapeutic benefits that these organisms can offer, justifying increased attention and research in the field of entomotherapy. Exploring the taboos or religious restrictions related to the use of insects in medicine in future research could provide an interesting perspective, as it may reveal important nuances in ethnomedicinal practices. However, thorough pharmacological and clinical studies are needed to evaluate the effectiveness and safety of remedies based on medicinal insects. This research could pave the way for integrating these traditional practices into modern healthcare, offering new perspectives for the treatment of various conditions. Since medicinal insects are directly collected from nature, systems for breeding medicinal insects should be considered to promote the conservation of insect biodiversity and ensure their sustainable use in traditional medicine.

Declarations

List of abbreviations: UR: Use Report

Ethics approval and consent to participate: Verbal prior informed consent was obtained from each informant during the survey.

Consent for publication: Not applicable

Availability of data and materials: The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests: The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Funding: This study did not receive any external funding from public, commercial, or nonprofit financing entities.

Author contributions: Conceptualization: SK, FC, DMA; Investigation: SK; Data curation: SK, ACEB, SHB; Formal analysis: FC, SHB, ACEB, DMA; Supervision: DMA; Writing - original draft: SK; Writing - review and editing: SK, ACEB, SHB, FC, DMA.

Acknowledgements

We express our gratitude to the various respondents who have willingly shared their traditional medical knowledge regarding medicinal insects. Our thanks also extend to the local interpreters who facilitated our exchanges and understanding. We would like to extend our deepest appreciation to the university and provincial authorities, as well as the chiefs of villages/neighborhoods in the different study areas, for granting permission and supporting the execution of this study. Special thanks to Dr. Tano Kevin, entomologist at the Jean Lorougnon Guédé University, for his contribution to the identification of insects collected during the field survey.

Literature cited

Ambe ASA, Ouattara D, Tiebre M-S, Vroh BTA, Zirihi GA, N'guessan KE. 2015. Diversité Des Plantes Médicinales Utilisées Dans Le Traitement Traditionnel de La Diarrhée Sur Les Marchés d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences* 26 (2): 4081-4096.

Bairagi SH. 2019. Insects with Potential Medicinal Significance: A Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 16 (3): 12024-12027.

Balas F. 2015. Les Propriétés Thérapeutiques Du Miel et Leurs Domaines d'application En Médecine Générale: Revue de La Littérature. MD Doctoral Dissertation, Nice, France: Université de Nice Sophia-Antipolis.

Barbosa JAA, Aguiar JO, Alves RRDN. 2018. Medicinal Use of Animals by Hunters in North Eastern Brazil. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 17 (3): 485-493.

Basseri HR, Dadi-Khoeni A, Bakhtiari R, Abolhassani M, Hajihosseini-Baghdadabadi R. 2016. Isolation and Purification of an Antibacterial Protein from Immune Induced Haemolymph of American Cockroach, *Periplaneta americana*. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 10 (4): 519.

Beaudouin E, Poncet P, Lavaud F. 2022. Composition Des Venins d'hyménoptères et de La Salive Des Arthropodes Hématophages. *Revue Française d'allergologie* 62 (1): 18-31.

Berenbaum M R. 1995. The Chemistry of Defense: Theory and Practice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92 (1): 2-8.

- Boko ACE, Angaman DM. 2021. Evaluation de L'entomophagie Dans Quatre Grandes Villes de Côte d'Ivoire. European Scientific Journal, ESJ 17 (37): 119.
- Boko ACE, Angaman DM, Blei SH. 2020. Entomophagy Evaluation and Nutritional Potential of Two Edible Insects Sold in the Markets of the City of Man (Côte d'Ivoire). International Journal of Food and Nutritional Sciences 9 (1): 10-15.
- Chellappandian M, Mutheeswaran S, Pandikumar P, Duraipandian V, Ignacimuthu S. 2012. Quantitative Ethnobotany of Traditional Siddha Medical Practitioners from Radhapuram Taluk of Tirunelveli District, Tamil Nadu, India. Journal of Ethnopharmacology 143 (2): 540-547.
- Choudhary P, Sharma AK, Mishra YK, Nayak S. 2022. Entomotherapy Medicinal Significance of Insects: A. Le Pharma Innovation Journal 11 (4): 25-29.
- Costa-Neto EM. 2005. Entomotherapy, or the Medicinal Use of Insects. Journal of Ethnobiology 25 (1): 93-114.
- Devi WD, Bonysana R, Kapesa K, Mukherjee PK, Rajashekar Y. 2023. Edible Insects: As Traditional Medicine for Human Wellness. Future Foods 7: 100219.
- Dossey AT. 2010. Insects and Their Chemical Weaponry: New Potential for Drug Discovery. Natural Product Reports 27 (12): 1737-1757.
- Durst PB., Johnson DV, Leslie RN, Shono K. 2010. Forest Insects as Food: Humans Bite Back. RAP Publication 1 (1): 1-241.
- Ehounou GP, Ouali-N'goran S-WM, Niassy S. 2018. Assessment of Entomophagy in Abidjan (Côte D'Ivoire, West Africa). Australian Journal of French Studies 12 (1): 6-14.
- Fasoranti JO, Ajiboye DO. 1993. Some Edible Insects of Kwara State, Nigeria. American Entomologist 39 (2): 113-116.
- Fauzi AN, Norazmi MN, Yaacob NS. 2011. Tualang Honey Induces Apoptosis and Disrupts the Mitochondrial Membrane Potential of Human Breast and Cervical Cancer Cell Lines. Food and Chemical Toxicology 49 (4): 871-78.
- 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.
- Gahukar RT. 2020. Edible Insects Collected from Forests for Family Livelihood and Wellness of Rural Communities: A Review. Global Food Security 25: 100348.
- Gogbé T. 2011. Analyse de l'évolution de La Ville de Bondoukou Entre 1964 et 2008: Étude Des Impacts Sur l'environnement Urbain. GEOTROPE, Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement, no. 1: 72.
- Hahn T W, Henneberg SW, Holm-Knudsen RJ, Eriksen K, Rasmussen SN, Rasmussen M. 2000. Pharmacokinetics of Rectal Paracetamol after Repeated Dosing in Children. British Journal of Anaesthesia 85 (4): 512-519.
- Hedanou HL. 2017. Etude Ethno-Entomologique et Usage Médicinal Des Insectes Au Bénin Cas de La Commune de Ouidah. Memoire de Master. Bénin: Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi EPAC/UAC.
- Kambou S, Boko ACE, N'zi NP, Angaman DM. 2023. Activité Antibactérienne in Vitro de l'hémolymphe de Deux Espèces de Coléoptère (*Oryctes owariensis* et *Rhynchophorus phoenicis*) Immunisées Par Des Souches Bactériennes. International Journal of Innovation and Applied Studies 38 (4): 936-943.
- Kestenbaum MG, Vilches AO, Messersmith S, Connor SR, Fine PG, Murphy B, Davis M, Muir JC. 2014. Alternative routes to oral opioid administration in palliative care: a review and clinical summary. Pain Medicine 15(7): 1129-1153.
- Kutalek R, Kassa A. 2005. The Use of Gyrinids and Dytiscids for Stimulating Breast Growth in East Africa. Journal of Ethnobiology 25 (1): 115-128.
- Lawal OA, Banjo AD. 2007. Survey for the Usage of Arthropods in Traditional Medicine in Southwestern Nigeria. Journal of Entomology 4 (2): 104-112.
- Lefief-Delcourt, Alix. 2012. L'argile, c'est Malin. Éditions Leduc.
- Loko LEY, Fagla SM, Orobiyi A, Glinma B, Toffa J, Koukoui O, Djogbenou L, Gbaguidi F. 2019. Traditional Knowledge of Invertebrates Used for Medicine and Magical-Religious Purposes by Traditional Healers and Indigenous Populations in the Plateau Department, Republic of Benin. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 15 (1): 66.

- Lupoli R. 2010. L'insecte Médicinal. Eds Ancyrosoma. 1 vols. Ancyrosoma.
- Macy B, Paxton JH, Lam YF. 2023. Current Updates in Rectal Infusion of Fluids and Medications. *Current Emergency and Hospital Medicine Reports* 11(1): 13-25.
- Martin RE, Channe YR. 2020. Partial Purification and Characterization of Antimicrobial Peptide from the Hemolymph of Cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 8 (2): 6-11.
- Meyer-Rochow VB. 2017. Therapeutic Arthropods and Other, Largely Terrestrial, Folk-Medicinally Important Invertebrates: A Comparative Survey and Review. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 13 (1): 9.
- Motte-Florac E, Le Gall P. 2022. Savoureux insectes : De l'aliment traditionnel à l'innovation gastronomique. *Tables des hommes*. Tours : Presses universitaires François-Rabelais.
- Moyabi AGA, Coulibaly FA, Konan YAO, Kouakou DKR, Koné MW. 2021. Plantes Médicinales Utilisées Dans Le Traitement de l'infertilité Du Couple Dans Le Département d'Oumé, Centre-Ouest, Côte d'Ivoire. *Afrique Science* 19 (6): 133-145.
- Mozhui L, Kakati LN, Meyer-Rochow VB. 2021. Entomotherapy: A Study of Medicinal Insects of Seven Ethnic Groups in Nagaland, North-East India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 17 (1): 17.
- Niaba KV, Atchibri LO, Gbassi KG, Beugre AG, Adou M, Anon AB, Gnakri D. 2012. Consumption Survey of Edible Winged Termites in Cote d'Ivoire. *International Journal of Agricultural and Food Science* 2: 149-152.
- Ouango M, Romba R, Drabo SF, Ouedraogo N, Gnankiné O. 2022. Indigenous Knowledge System Associated with the Uses of Insects for Therapeutic or Medicinal Purposes in Two Main Provinces of Burkina Faso, West Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 18 (1): 50.
- Posey D. 2003. Insects, Foods, Medicine, and Folklore in Amazonia. Motte-Florac É. & Thomas JMC Édts, *Les Insectes Dans La Tradition Orale-Insects in Oral Literature and Traditions*. Peeters, Louvain, 221-237.
- Santé (AFSSAPS), Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de. 2009. *Prise En Charge Médicamenteuse de La Douleur Aiguë et Chronique Chez l'enfant. Recommandations de Bonne Pratique*.
- Scholtz CH. 2016. The Higher Classification of Southern African Insects. *African Entomology* 24 (2): 545-555.
- Siddiqui SA, Li C, Aidoo OF, Fernando I, Haddad MA, Pereira JA, Blinov A, Golik A, Câmara JS. 2023. Unravelling the potential of insects for medicinal purposes-a comprehensive review. *Heliyon*, 9(5): e15938.
- Silue D. 2021. Gestion Therapeutique Des Entorses Et Fractures 'Nikary' Chez Le Peuple Senoufo De La Region Du Poro (Nord De La Côte D'Ivoire). *European Scientific Journal*, ESJ 17 (1): 295.
- Tamesse JL, Kekeunou S, Tchouamou CLD, Meupia MJ. 2018. Villagers' Knowledge of Some Edible Insects in Southern Cameroon: Crickets, Termites, Honeybees and Cockchafer. *Journal of Insects as Food and Feed* 4 (4): 203-209.
- Weiss HB. 1947. Entomological Medicaments of the Past. *Journal of the New York Entomological Society* 55 (2): 155-168.
- Wenzel JW. 1998. Generic Key to the Nests of Hornets, Yellowjackets, and Paper Wasps Worldwide (Vespidae: Vespinae, Polistinae). *American Museum Novitates* 3224: 1-39.
- Yapi AB, Zirihi GN. 2015. Etude Ethnobotanique Des Asteraceae Médicinales Vendues Sur Les Marches Du District Autonome d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9 (6): 2633-2647.
- Zhang E, Ji X, Ouyang F, Lei Y, Deng S, Rong H, Deng X, Shen H. 2023. A Minireview of the Medicinal and Edible Insects from the Traditional Chinese Medicine (TCM). *Frontiers in Pharmacology* 14: 1125600.
- Zimian D, Yonghua Z, Xiwu G. 1997. Medicinal Insects in China. *Ecology of Food and Nutrition* 36 (2-4). Taylor & Francis: 209-220.

Activité antibactérienne in vitro de l'hémolymphe de deux espèces de Coléoptère (*Oryctes owariensis* et *Rhynchophorus phoenicis*) immunisées par des souches bactériennes

[In vitro antibacterial activity of two Coleoptera species hemolymph (*Oryctes owariensis* and *Rhynchophorus phoenicis*) immunized with bacteria]

Sansan KAMBOU, Adjoua Christiane Eunice BOKO, N'goran Parfait N'ZI, and Djédoux Maxime ANGAMAN

Département de Biochimie-Microbiologie, Laboratoire d'Agrovalorisation, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: In insects, the hemolymph is the primary site of antimicrobial effectors produced in response to infection. In this study, the antibacterial activity of hemolymph extract from immunized larvae of *Oryctes owariensis* and *Rhynchophorus phoenicis* has been evaluated. The tests were carried out on *in vitro* growth of six bacterial strains including three clinical isolates (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* spp.) and three strains of food origin (*Escherichia coli* E1, *Staphylococcus aureus* S1 and S2 Meti-R). Activity of the different extracts was detected by diffusion method in a gel medium and quantified by macro-dilution technique in a liquid medium. Results showed that the different extracts demonstrate strong antibacterial activity and bactericidal power. Diameters of inhibition zones varied from 19.12±2.88 mm (*E. coli* ATCC 25922) to 22.58±2.18 mm (*S. aureus* S1) for the extract from *O. owariensis* infected larvae. This extract was more active on Gram positive bacteria with a MIC of 12.5 mg/mL and a MBC between 25 and 50 mg/mL. The extract from *R. phoenicis* infected larvae was very active on all strains with inhibition zone diameters between 26.22±0.69 mm (*B. subtilis*) and 35.30±2, 4 mm (*S. aureus* S1). MIC and MBC were respectively developed at the concentrations of 3.12 mg/mL and 6.25 mg/mL on all the bacterial strains. The sensitivity of bacterial strains to these hemolymph extracts reveals the probable presence of produced antimicrobial peptides.

KEYWORDS: Hemolymph extracts, *Oryctes owariensis*, *Rhynchophorus phoenicis*, bactericidal power, zone of inhibition.

RESUME: Chez les insectes, l'hémolymphe est le principal siège des effecteurs antimicrobiens produits en réponse à une infection. Dans cette étude, l'activité antibactérienne de l'extrait d'hémolymphe des larves immunisées de *Oryctes owariensis* et de *Rhynchophorus phoenicis* a été évaluée. Les tests ont été réalisés sur la croissance *in vitro* de six souches bactériennes dont trois isolats cliniques (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* spp.) et trois souches d'origine alimentaire (*Escherichia coli* E1, *Staphylococcus aureus* S1 et S2 Méti-R). L'activité des différents extraits a été détectée par la méthode de diffusion en milieu gélosé et quantifiée par la technique de macro-dilution en milieu liquide. Les résultats ont montré que les différents extraits possèdent une forte activité antibactérienne et un pouvoir bactéricide. Les diamètres des zones d'inhibition variaient de 19,12±2,88 mm (*E. coli* ATCC 25922) à 22,58±2,18 mm (*S. aureus* S1) pour l'extrait des larves de *O. owariensis* infectées. Cet extrait a été plus actif sur les bactéries Gram positif avec une CMI de 12,5 mg/mL et une CMB comprise entre 25 et 50 mg/mL. L'extrait des larves de *R. phoenicis* infectées s'est montré très actif sur toutes les souches avec des diamètres de zones d'inhibition compris entre 26,22±0,69 mm (*B. subtilis*) et 35,30±2,4 mm (*S. aureus* S1). La CMI et la CMB ont été respectivement atteintes aux concentrations de 3,12 mg/mL et 6,25 mg/mL sur toutes les souches bactériennes. La sensibilité des souches bactériennes à ces extraits d'hémolymphe révèle la présence probable de peptides antimicrobiens produits.

MOTS-CLEFS: Extraits d'hémolymphe, *Oryctes owariensis*, *Rhynchophorus phoenicis*, pouvoir bactéricide, zone d'inhibition.

1 INTRODUCTION

Les insectes sont apparus à l'ère primaire, il y a environ 420 millions d'années et ont atteint aujourd'hui un nombre impressionnant. En réalité, ils sont le groupe de métazoaires le plus important de tous les écosystèmes terrestres avec actuellement près de 1,3 million d'espèces décrites soit 55 % de la biodiversité des espèces et 85 % de la biodiversité animale [1]. Ces animaux sont dotés d'un système de défense remarquable qui leur permet de résister aux bio-agresseurs [2]. A l'instar de tous les arthropodes, ils ne possèdent seulement qu'une immunité innée mais basée sur un système de défense complexe, qui met en jeu des réactions cellulaires et humorales coordonnées. En effet, la cuticule constitue la première barrière physique contre les invasions de micro-organismes et les parasites potentiellement pathogènes présents dans le milieu aquatique ou terrestre [3]. Cependant, suite à une blessure ou lors de la mue, cette barrière n'est plus étanche et les micro-organismes envahissants entrent directement dans la circulation générale puisque le système circulatoire des arthropodes est ouvert [4]. Cela déclenche des réactions cellulaires impliquant directement les constituants de l'hémolymphe [5]. L'activation de ces derniers provoque deux types de réponses liées. L'une relève d'une cascade de réactions purement cellulaires à savoir la phagocytose, la formation de nodules et l'encapsulation des micro-organismes pathogènes ou des corps étrangers [6]. L'autre se manifeste par une libération dans le plasma de molécules intervenant dans différentes réactions immunitaires telles que la mélanisation et la coagulation localisée [7]. Parallèlement, un second mécanisme s'installe et aboutit à la synthèse des peptides antimicrobiens par le corps gras [8]. Après synthèse, ces composés sont libérés dans l'hémolymphe des insectes où ils participent à sa défense contre les agents pathogènes notamment les bactéries, champignons, virus et parasites [9]. Ce sont donc des antibiotiques naturels qui détruisent rapidement les membranes bactériennes et fongiques par une action de type détergente, un mécanisme d'action qui réduit le risque d'apparition du phénomène de résistance chez les microorganismes [2]. Or, des efforts sont présentement déployés pour explorer de nouvelles voies de lutte contre la propagation des maladies infectieuses et la résistance aux antimicrobiens en dehors du paradigme des antibiotiques [10]. Par conséquent, le recours à ces peptides antimicrobiens des insectes s'avère une solution prometteuse. S'inscrivant dans cette logique, cette étude vise à évaluer les propriétés antibactériennes de l'hémolymphe des larves de deux espèces de coléoptères (*Oryctes owariensis* et *Rhynchophorus phoenicis*) immunisées par des bactéries.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL

2.1.1 ESPÈCES D'INSECTE ÉTUDIÉES

Cette étude a été réalisée sur les larves (cinquième stade) de deux espèces de coléoptères de l'entomofaune ivoirienne à savoir *Oryctes owariensis* et *Rhynchophorus phoenicis* (Fig. 1). Les larves ont été collectées dans la région du Hautassandra (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire) dans les tiges de palmier en décomposition.



Larves de *Oryctes owariensis*



Larves de *Rhynchophorus phoenicis*

Fig. 1. Photos des différentes larves étudiées

2.1.2 SOUCHES BACTÉRIENNES

Le tableau 1 ci-dessous présente le matériel bactérien utilisé dans le cadre de cette étude. Les travaux ont été réalisés sur six (06) souches bactériennes dont trois (03) isolats cliniques (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* 1A786 et *Salmonella* spp. A517) et trois (03) souches provenant des salades de quatrième gamme (*Escherichia coli* E1, *Staphylococcus aureus* S1 et *Staphylococcus aureus* S2). Les souches de *staphylococcus aureus* (S1 et S2) sont multi-résistantes à la Mécilline.

Tableau 1. Souches bactériennes étudiées

Espèce bactérienne	Source	Profil
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Clinique	Sauvage
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	Clinique	Sauvage
<i>Salmonella</i> ssp.	Clinique	Sauvage
<i>Escherichia coli</i> E1	Salade de carotte	Sauvage
<i>Staphylococcus aureus</i> S1	Salade de carotte	Méti-R*
<i>Staphylococcus aureus</i> S2	Salade Méli-Melo	Méti-R

*Méti-R: multi-résistantes à la méticilline

2.2 MÉTHODES

2.2.1 IMMUNISATION DES LARVES

Deux types de bactéries ont été utilisés pour l'immunisation des larves selon la méthode [11]. Il s'agit de *Escherichia coli* ATCC 25922 et de *Staphylococcus aureus* S1. Pour ce faire, les bactéries ont été cultivées sur le milieu gélosé Mueller Hinton pendant 16 h à 37 °C. Ensuite, une colonie de la culture bactérienne a été prélevée et déchargée dans 10 mL de Bouillon Mueller Hinton (BMH) et incubé sous agitation (600 rpm) à 37 °C pendant 24 h. Cent microlitres de cette pré-culture a été de nouveau ensemencés dans 10 mL de BMH et incubé pendant 3H sous agitation (600 rpm). Cette culture a été centrifugée pendant 5 minutes à 13000 rpm/min et le culot bactérien est récupéré. Avant l'injection, le culot est lavé dans du tampon PBS afin de limiter les agrégats bactériens puis centrifugé (5 min à 13000 rpm/min). L'inoculum a été dilué dans le tampon PBS à une concentration finale de 10^3 UFC/mL. Les larves du cinquième stade ont été immunisés avec 5 µL du mélange de l'inoculum bactérien (1: 1, v: v) à l'aide d'une aiguille fine (diamètre 0,35 mm, longueur 40 mm) par ponction abdominale. Les animaux ont été mis séparément dans des boîtes de Pétri stérile et conservé sous une hotte ventilée pendant 24 heures.

2.2.2 COLLECTE DE L'HÉMOLYMPHE

Pour le prélèvement de l'hémolymphe les larves ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet pour éliminer les débris alimentaires, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 0,5 % (dans l'eau du robinet, v/v) et de l'éthanol à 70 % (dans de l'eau distillée, v/v). Ensuite, elles ont été anesthésiées sur de la glace, et percées entre le dernier et l'avant-dernier métamère avec une aiguille stérile. L'hémolymphe a été recueilli dans des tubes eppendorfs stériles en présence du dithiothréitol (DTT) comme inhibiteur de protéases. Chaque expérience a été réalisée en regroupant des échantillons d'hémolymphe prélevés sur 25 larves et conservés à -80 °C. L'hémolymphe des larves non infectées ont été considérés comme témoins pour toutes les expériences réalisées.

2.2.3 EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE

La méthode utilisée pour étudier l'activité antibactérienne des différents extraits d'hémolymphe est inspirée de l'antibiogramme classique employée en bactériologie [12]. L'activité antibactérienne des différents extraits d'hémolymphe a été évaluée qualitativement par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé et quantitativement par la technique de dilution en milieu liquide suivie d'un ensemencement par stries sur gélose.

2.2.3.1 DÉTECTION D'ACTIVITÉ PAR DIFFUSION SUR UN MILIEU GÉLOSÉ

Cette technique permet de détecter la présence d'inhibition de croissance bactérienne par diffusion de composés antimicrobiens sur un milieu gélosé [13]. Les tests ont été réalisés sur les six (06) souches bactériennes présentées dans le tableau 1. Environ 20 mL du milieu gélosé Mueller Hinton sont coulés dans une boîte de Pétri (90 mm de diamètre). Après solidification, le milieu est ensemencé avec un inoculum bactérien d'opacité équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de 0,08 à 0,1 lue au spectrophotomètre ($\lambda = 625$ nm). Ensuite, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés par aspiration à vide à l'aide d'une pipette pasteur en verre stérile. Dans chaque puits est déposé 50 µL des différents extraits d'hémolymphe à tester à une concentration de 100 mg/mL préparé dans un mélange de tween/eau (1: 10). L'incubation des boîtes s'est faite pendant 24 h à 37 °C. Un témoin constitué uniquement du mélange tween/eau (1: 10) a été réalisé en parallèle pour s'assurer de la non toxicité de l'émulsifiant (tween 20). L'inhibition de la croissance est détectée par la présence d'un halo d'inhibition autour des

puits contenant les échantillons à tester. L'importance de l'inhibition est évaluée par mesure de la taille du halo d'inhibition (diamètre d'inhibition) à l'aide du logiciel ImageJ.exe. Les hémolymphes des larves infectées ont été retenus pour la détermination des paramètres bactériens (CMI et CMB).

2.2.3.2 DÉTERMINATION DE LA CMI ET DE LA CMB

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été déterminée par la technique de dilution en milieu liquide selon [14]. A partir de la concentration mère (100 mg/mL), une gamme de concentrations décroissantes par dilutions successives de raison 2 a été effectuée pour obtenir huit (08) différentes concentrations (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78). Ensuite, un inoculum bactérien à la concentration 10^5 UFC/mL a été préparé à partir d'une colonie jeune de 24 h dans le bouillon Mueller Hinton. Un millilitre (1 mL) de l'inoculum bactérien est mis en contact avec 1 mL de chaque concentration dans des tubes à hémolyse. Les tubes ont été incubés pendant 24 h à 37 °C. La concentration du premier tube ne présentant ni trouble ni culot bactérien a été considéré comme la CMI.

Après lecture de la CMI, la gélose Mueller Hinton a été coulée dans des boîtes de Pétri et ensemencée en stries par 100 μ L des contenus des tubes ayant une concentration $\geq$ CMI dans la série de dilution précédente. Dans les mêmes conditions, des dilutions décimales de l'inoculum de départ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) ont été effectuées et ensemencées. La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est déterminée après une incubation des boîtes à 37 °C pendant 24 h. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance. L'effet antibactérien sera jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport CMB/CMI.

2.2.4 ANALYSES STATISTIQUES

Les données brutes recueillies ont été reportées sur une base de données « Excel, 2013 » puis traitées et analysées statistiquement à l'aide du logiciel R (R $\times$ 64 4.1.2). L'analyse des variances (ANOVA à un facteur) et le test de Tukey ont été utilisés pour comparer les diamètres des zones d'inhibition obtenues. Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyennes $\pm$ écart-type. Les valeurs de probabilité $P < 0,05$ ont été considérées statistiquement significatives.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 RÉSULTATS

3.1.1 ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES DIFFÉRENTS EXTRAITS D'HÉMOLYPHE EN MILIEU SOLIDE

De grandes zones d'inhibition ont été observées sur toutes les boîtes après incubation. Les diamètres de ces zones d'inhibition sont consignés dans le tableau 2. Pour l'espèce *O. owariensis*, les valeurs varient de $19,12 \pm 2,88$ mm (*E. coli* ATCC 25922) à $22,58 \pm 2,18$ mm (*S. aureus* S1) avec l'hémolymph des larves infectées et de $18,23 \pm 1,20$ mm (*E. coli* ATCC 25922) à $21,69 \pm 2,88$ mm (*S. aureus* S1) pour celui des larves témoins. Aucune différence significative n'a été observée entre les diamètres induits par chacun des deux extraits d'hémolymph sur les souches et entre les diamètres induits par les deux extraits sur une souche bactérienne donnée.

Au niveau de *R. phoenicis*, une différence significative est observée entre les diamètres d'inhibition provoqués par l'hémolymph des larves infectées et ceux induits par l'hémolymph des larves témoins. Les zones d'inhibition sont plus importantes avec l'hémolymph des larves infectées. Elles varient de $26,22 \pm 0,69$ mm (*Bacillus subtilis*) à $35,30 \pm 2,4$ mm (*S. aureus* S1) contre $15,84 \pm 0,61$ mm (*Bacillus subtilis*) à $22,46 \pm 3,11$ mm (*Salmonella* ssp.) pour celui des larves témoins.

Tableau 2. Diamètres d'inhibition induits par les différents extraits d'hémolymph sur les souches bactériennes

	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	O _i	O _T	Rh _i	Rh _T
<i>E. coli</i> ATCC 25922	19.12 ± 2.88^a	18.23 ± 1.20^a	32.03 ± 2.06^b	18.74 ± 0.15^a
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	20.48 ± 3.14^a	19.45 ± 2.38^a	26.22 ± 0.69^b	15.84 ± 0.61^a
<i>Salmonella</i> ssp A517	22.55 ± 0.97^a	21.21 ± 1.44^a	34.35 ± 0.89^b	22.46 ± 3.11^a
<i>E. coli</i> (E1)	21.82 ± 4.21^a	19.12 ± 1.12^a	34.03 ± 3.30^b	20.58 ± 0.40^a
<i>S. aureus</i> (S1)	22.58 ± 2.18^a	21.69 ± 2.88^a	35.30 ± 2.42^b	21.19 ± 2.63^a
<i>S. aureus</i> (S2)	21.52 ± 1.31^a	19.43 ± 2.74^a	27.73 ± 1.25^b	18.02 ± 0.31^a

Oi: extrait d'hémolymphe des larves de *Oryctes owariensis* infectées

O_r: extrait d'hémolymphe des larves de *Oryctes owariensis* non infectée (témoin)

Rhi: extrait d'hémolymphe des larves de *Rhynchophorus phoenicis* infectées

Rh_r: extrait d'hémolymphe des larves de *Rhynchophorus phoenicis* non infectées (témoin)

3.1.2 CMI ET CMB DE L'EXTRAIT D'HÉMOLYPHE DES LARVES DE *O. OWARIENSIS* INFECTÉES

Les valeurs des paramètres bactériens de l'extrait d'hémolymphe des larves de *O. owariensis* infectées sont consignées dans le tableau 3. La CMI a été atteinte à la concentration de 12,5 mg/mL pour les bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* 1A786, *S. aureus* S1 et *S. aureus* S2) et à 50 mg/mL pour les Gram négatif (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* E1 et *Salmonella* ssp. A517). Les différentes valeurs de CMB obtenues sont: 25 mg/mL pour *Bacillus subtilis* 1A786 (**Fig. 2**) et *S. aureus* S2, 50 mg/mL pour *S. aureus* S1 et 100 mg/mL pour les bactéries Gram négatif (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* E1 et *Salmonella* ssp. A517). Toutefois, le rapport CMB/CMI calculé montre que cet extrait d'hémolymphe a un pouvoir bactéricide sur toutes les bactéries testées.

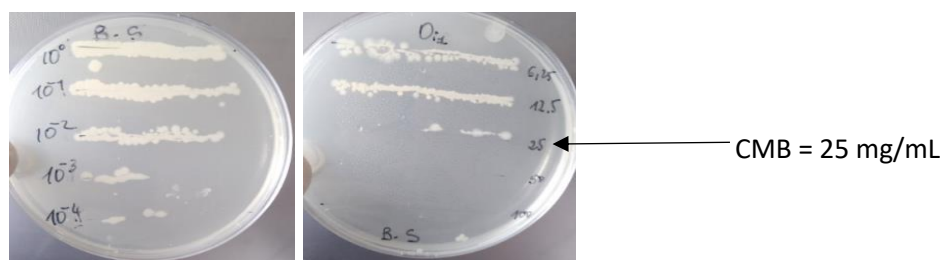


Fig. 2. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de l'extrait d'hémolymphe des larves de *O. owariensis* infectées sur *Bacillus subtilis* 1A786. La fig.2 montre le résultat de la détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de l'extrait d'hémolymphe des larves de *O. owariensis* infectées sur *Bacillus subtilis* 1A786. En se référant au témoin de batéricidie (présenté à gauche sur la fig. 2), la concentration ayant moins de 0,01 % de bactéries viables (CMB) par rapport à l'inoculum de départ est 25 mg/mL

Tableau 3. Paramètres bactériens de l'extrait de l'hémolymphe des larves de *Oryctes owariensis* infectées sur les souches bactériennes étudiées

	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMI/CMB	Pouvoir
<i>E. coli</i> ATCC 25922	50	100	2	Bactéricide
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	12,5	25	2	Bactéricide
<i>Salmonella</i> ssp. A517	50	100	2	Bactéricide
<i>E. coli</i> (E1)	50	100	2	Bactéricide
<i>S. aureus</i> (S1)	12,5	50	4	Bactéricide
<i>S. aureus</i> (S2)	12,5	25	2	Bactéricide

3.1.3 CMI ET CMB DE L'EXTRAIT D'HÉMOLYPHE DES LARVES DE *R. PHOENICIS* INFECTÉES

Les différentes souches bactériennes étudiées ont présenté une grande sensibilité vis-à-vis de l'extrait d'hémolymphe des larves de *R. phoenicis* infectées (Tableau 4). La CMI et la CMB ont été respectivement atteintes aux concentrations de 3,12 mg/mL et 6,25 mg/mL sur toutes les souches bactériennes comme indiqué sur la fig. 3. Le rapport CMB/CMI est égal à 2 pour toutes les souches, ce qui indique un pouvoir bactéricide de l'extrait sur chacune des bactéries étudiées.

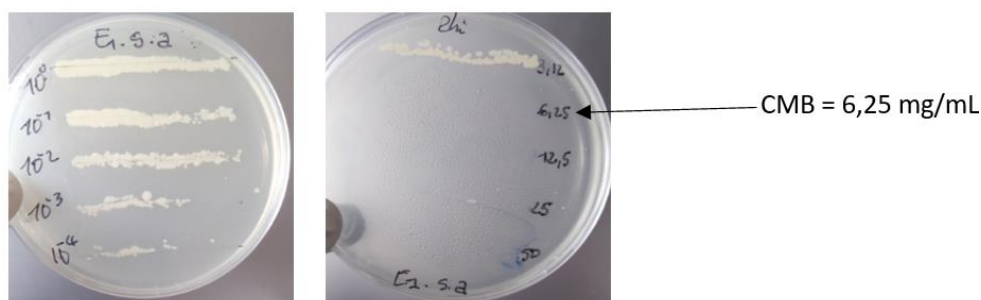


Fig. 3. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de l'extrait d'hémolymphes des larves de *R. phoenicis* infectées sur *Staphylococcus aureus* S1, Méti-R. La fig. 3 montre le résultat de la détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de l'extrait d'hémolymphes des larves de *R. phoenicis* infectées sur *Staphylococcus aureus* S1, Méti-R. En se référant au témoin de bactéricidie (présenté à gauche sur la fig. 3), la concentration ayant moins de 0,01 % de bactéries viables (CMB) par rapport à l'inoculum de départ est 6,25 mg/mL

Tableau 4. Paramètres bactériens de l'extrait de l'hémolymphes des larves de *Rhynchophorus phoenicis* infectées sur les souches bactériennes étudiées

	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)	CMI/CMB	Pouvoir
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Bacillus subtilis</i> 1A786	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>Salmonella</i> ssp A517	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>E. coli</i> (E1)	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>S. aureus</i> (S1)	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>S. aureus</i> (S2)	3,12	6,25	2	Bactéricide

3.2 DISCUSSION

L'activité antibactérienne des extraits d'hémolymphes des deux espèces de coléoptères a été évaluée sur la croissance *in vitro* de six (6) souches bactériennes dont trois souches cliniques de référence, deux souches multi résistantes et une souche sensible. La croissance de ces souches bactériennes a été inhibée par les différents hémolymphes testés avec des diamètres de zones d'inhibition relativement grands. Ceux obtenus avec l'hémolymphes des larves de *O. owariensis* infectées variaient de $19,12 \pm 2,88$ mm (*E. coli* ATCC 25922) à $22,58 \pm 2,18$ mm (*S. aureus* S1) et sont statistiquement identiques à celui des larves témoins. Pour l'hémolymphes des larves de *R. phoenicis* infectées, les diamètres variaient entre $26,22 \pm 0,69$ mm (*Bacillus subtilis*) et $35,30 \pm 2,4$ mm (*S. aureus* S1) contre $15,84 \pm 0,61$ mm (*Bacillus subtilis*) et $22,46 \pm 3,11$ mm (*Salmonella* ssp.) pour celui des larves témoins. Ces résultats montrent que les différents extraits d'hémolymphes testés possèdent une forte activité antibactérienne confirmant ainsi une présence probable de peptides antimicrobiens qui seraient produits en réponse à l'infection expérimentale comme rapporté par plusieurs chercheurs ([8], [15], [16], [11]). Par contre, la présence de composés antimicrobiens dans l'hémolymphes des larves naïves (témoins) pourrait être le résultat d'une infestation naturelle avant l'expérimentation. En effet, ces espèces vivent dans des conditions hygiéniques médiocres où elles sont naturellement exposées à l'attaque de nombreuses bactéries pathogènes présentes dans l'environnement. Ceci pourrait provoquer leur amorçage immunitaire aboutissant à la synthèse de ces composés antibactériens ([17], [18]).

L'activité antibactérienne des hémolymphes des larves infectées a été quantifiée à travers la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) ainsi que le ratio CMB/CMI. Au niveau de l'espèce *O. owariensis*, les plus petites valeurs de CMI et de CMB ont été obtenues sur les bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis*, *S. aureus* S1 et *S. aureus* S2) à la concentration de 12,5 mg/mL pour la CMI et de 25 mg/mL pour la CMB. Cette sensibilité des bactéries Gram positif aux extraits de substances naturelles a été rapportée par plusieurs chercheurs ([19], [20]). En effet, la paroi des bactéries Gram positif est dépourvue de membrane externe et semble être sensible aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH et les extraits naturels [21]. Aussi, l'activité de cette hémolymphes pourrait être due à l'action de certains peptides antimicrobiens des insectes notamment les défensines qui sont plus actifs sur les bactéries Gram positif ([22], [23]). Les composés antimicrobiens produits par les insectes sont de natures diverses, ils peuvent être spécifiques à un groupe de microorganismes ou avoir une action dirigée contre une large gamme de pathogène, ce qui pourrait être le cas avec l'hémolymphes des larves de *R. phoenicis* infectées dont la CMI et la CMB ont été

respectivement atteintes à 3,12 mg/mL et 6,25 mg/mL sur toutes les souches bactériennes. L'activité de ce dernier sur les deux types de bactérie (Gram+ et Gram-) pourrait être le résultat d'une action combinée de plusieurs peptides sécrétés lors de l'infection ou d'un groupe de peptides ayant un spectre d'activité large. Des études ont rapporté que certains peptides antimicrobiens des insectes tels que les cécropines pouvaient être bactéricides aussi bien sur des germes à Gram positif que négatif ([24], [25]).

Toutes les souches bactériennes étudiées, qu'elles soient de Gram positif ou négatif, de phénotype sauvage ou résistant ont présenté une sensibilité vis-à-vis des différentes hémolymphes. Ces espèces bactériennes sont responsables de plusieurs types de maladies chez les humains pouvant aller jusqu'aux infections graves et mortelles tels que les septicémies, les infections du tube digestif et des voies urinaires, les fièvres brutales, les méningites et même les atteintes pulmonaires ([26], [27]). De plus, elles font partie des bactéries qui possèdent les mécanismes de résistance les plus redoutés en ce 21^{ème} siècle ([28], [29]). En effet, les souches de *Staphylococcus aureus* multi-résistantes à la Méticilline (SARM), de *E. coli* et de salmonelle multi-résistantes aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération sont devenues une préoccupation majeure en milieu hospitalier et même en médecine communautaire ([30], [31], [32], [33]). Ces phénomènes constituent une menace croissante pour la santé du fait de la diffusion des souches résistantes et du manque d'un remède efficace pour le traitement des infections résultantes. Alors, ces antibiotiques naturels, au regard de leur action biocide sur les souches multi-résistantes pourraient aider à lutter contre ces phénomènes de résistance.

4 CONCLUSION

Ce travail a été réalisé en vue d'évaluer les propriétés antibactériennes de l'hémolymphe de deux espèces de coléoptères issues de l'entomofaune ivoirienne. Les tests ont concerné des larves de *Oryctes owariensis* et de *Rhynchophorus phoenicis* immunisées par des bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*E. coli*). L'activité in vitro de l'hémolymphe de ces larves a été évaluée sur la croissance de six (06) souches bactériennes responsables de plusieurs infections courantes en Afrique. Toutes ces bactéries étudiées, qu'elles soient de Gram positif ou négatif, de phénotype sauvage ou résistant ont présenté une sensibilité vis-à-vis des différentes hémolymphes. Les diamètres d'inhibition varient de $19,12 \pm 2,88$ mm (*E. coli* ATCC 25922) à $22,58 \pm 2,18$ mm (*S. aureus*, S1) pour l'extrait d'hémolymphe des larves de *O. owariensis* infectées et de $26,22 \pm 0,69$ mm (*Bacillus subtilis* 1A786) à $35,30 \pm 2,4$ mm (*S. aureus*, S1) pour celui des larves de *R. phoenicis* infectées. Le pouvoir bactéricide des extraits a été confirmé à de très faible concentration. Les plus petites valeurs de CMI (3,12 mg/mL) et de CMB (6,25 mg/mL) ont été obtenues avec l'extrait de l'hémolymphe des larves de *R. phoenicis* immunisées. Ces résultats montrent que ces hémolymphes contiennent de puissants composés antibactériens pouvant aider à lutter contre les maladies provoquées par ces pathogènes.

REFERENCES

- [1] Motte-Florac, Elisabeth. "Entomologie médicale, ethnoentomologie, entomothérapie.", pp. 17-21, 2012
- [2] Folliet, Aurélie. "Les arthropodes: sources de médicaments et de substances d'intérêt médical.", 2006
- [3] Neuberg, Patrick. *Isolement de substances antimicrobiennes d'insectes: Synthèse chimique et préparation d'analogues structuraux*. Diss. Strasbourg 1, 2002
- [4] R. Krautz, B. Arefin and U. Theopold. "Damage signals in the insect immune response." *Frontiers in plant science*, p. 342, (2014)
- [5] Masson, Florent. *Régulations immunitaires et cellulaires impliquées dans le maintien et le contrôle des bactéries endosymbiotiques du charançon des céréales du genre Sitophilus spp*. Diss. INSA de Lyon, 2015
- [6] V. J. Marmaras and M. Lampropoulou, "Regulators and signalling in insect haemocyte immunity." *Cellular signalling*, vol. 21, no. 2, pP. 186-195, 2009
- [7] Y. Carton and A. J. Nappi, "Drosophila cellular immunity against parasitoids." *Parasitology today*, vol. 13, no. 6, pp. 218-227, 1997
- [8] P. Bulet, "Les peptides antimicrobiens de la drosophile." *MS. Médecine sciences*, vol. 15, no. 1, pp. 23-29, 1999
- [9] C. Rosales and E. Uribe-Querol, "Phagocytosis: a fundamental process in immunity." *BioMed research international*, 2017, vol. 2017
- [10] P. Renesto and E. Jouvin-Marche, "L'Antibiorésistance: stratégie de la France face à une menace sanitaire mondiale", 2022
- [11] S. Knutelski, M. Awad and N. Łukasz *et al.*, "Isolation, Identification, and bioinformatic analysis of antibacterial proteins and peptides from immunized hemolymph of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*." *Biomolecules*, vol. 11, no. 1, p. 83, 2021

- [12] F. Jehl, A. Chabaud and A. Grillon, " L'antibiogramme: diamètres ou CMI?." *Journal des Anti-infectieux*, vol. 17, no. 4, pp. 125-139, 2015
- [13] Defer, D., Bourgougnon, N. and Fleury Y., " *Recherche d'activités antimicrobiennes chez des mollusques marins. Purification et caractérisation partielle de peptides antimicrobiens isolés à partir de l'hémolymph de Crassostrea gigas et de bactéries associées.*" Diss. Université de Bretagne Sud, 2009
- [14] N. J. Kouadio, N. K. Guessennd, M. W. Kone, B. Moussa, Y. M. Koffi, K. B. Guedé,... and M. Dosso, "Evaluation de l'activité des feuilles de Mallotus oppositifolius (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique." *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 9, no. 3, pp. 1252-1262, 2015
- [15] A. J. Nappi and E. Ottaviani, "Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates." *Bioessays*, vol. 22, no. 5, pp. 469-480, 2000
- [16] Anselme, Caroline. *Réponse immunitaire de l'hôte dans la symbiose bactérienne intracellulaire du charançon Sitophilus zeamais*. Diss. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2006
- [17] A. Dubuffet, C. Zanchi, G. Boutet, J. Moreau, M. Teixeira, and Y. Moret. "Trans-generational Immune Priming Protects the Eggs Only against Gram-Positive Bacteria in the Mealworm Beetle." *PLoS Pathogens* 11, vol. 11, no. 10, p. e10051782015
- [18] J. Dhinaut, M. Chogne, and Y. Moret, "Immune priming specificity within and across generations reveals the range of pathogens affecting evolution of immunity in an insect." *Journal of Animal Ecology*, 2018, vol. 87, no. 2, pp. 448-463
- [19] L. Boutabia, S. Telailia, I. Bouguetof, F. Guenadil and A. Chefrou, " Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie)." *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, vol. 85, pp. 174-189, 2016
- [20] Ryma, L. A. B. I. O. D. *Valorisation des huiles essentielles et des extraits de Satureja calamintha nepeta: activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide*. Diss. Université BADJI Mokhtar Annaba, 2016
- [21] El Harras, Abderrakef. *Analyse d'interaction de peptides, pseudopeptides et glycoconjugués aux activités antimicrobiennes et anti-leishmaniennes avec différents modèles membranaires*. Diss. Université Rennes 1, 2020.
- [22] J. A. Hoffmann, J. M. and Reichhart, "Drosophila innate immunity: an evolutionary perspective." *Nature immunology*, vol. 3, no 2, pp. 121-126, 2002.
- [23] S. I. Park, J. W. Kim and S. M. Yoe, "Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (Hermetia illucens) larvae." *Developmental & Comparative Immunology*, vol. 52, no. 1, pp. 98-106, 2015.
- [24] M. C. Hofmann, S. Narisawa, R. A. Hess and J. L. Mill n, "Immortalization of germ cells and somatic testicular cells using the SV40 large T antigen." *Experimental cell research*, vol. 201, no. 2, pp. 417-435, 1992.
- [25] Benmoussa, Khaddouj. *Impact du peptide antimicrobien issu du venin de la fourmi Tetramorium bicarinatum P17 sur la polarisation et l'acquisition des fonctions antifongiques des macrophages humains vis-à-vis de Candida albicans*. Diss. Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2017.
- [26] Y. Millemann, "Le pouvoir pathogène des salmonelles: facteurs de virulence et modèles d'étude." *Veterinary Research*, vol. 29, no 5, p. 385-407, 1998.
- [27] Balière, Charlotte. *Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral: cas des STEC et des EPEC*. Diss. Université de Bretagne Occidentale, 2016.
- [28] H. M. Lode, "Clinical impact of antibiotic-resistant Gram-positive pathogens. *Clinical microbiology and infection*", vol. 15, no. 3, pp. 212-217, 2009.
- [29] Amine, Alioua Mohamed. *Les Staphylocoques: sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de Staphylococcus aureus Résistant à la Méticilline*. Diss. Université Badji Mokhtar, 2015.
- [30] A. Manzur, A. M. González, A. Pozos, D. Silva-Herzog and S. Friedman, "Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial." *Journal of Endodontics*, vol. 33, no. 2, pp. 114-118, 2007.
- [31] Allaouchiche, B., Puel, C., Doligez, N., Hayi-Slayman, D., Boselli, E. and Bouvet, L. Infections communautaires chirurgicales graves à staphylocoque: rôle pathogène des SARM. In: *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. Elsevier Masson, p. A223, 2014.
- [32] M. R. Tagajdid, L. Boumhil, M. Iken, M. Adnaoui and A. Benouda, "Étude de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération." *Médecine et maladies infectieuses*, vol. 40, no. 2, pp. 70-73, 2015.
- [33] E. J. Klemm, S. Shakoar, A. J. Page, F. N. Qamar, K. Judge, D. K. Saeed, and R. Hasan, "Emergence of an extensively drug-resistant Salmonella enterica serovar Typhi clone harboring a promiscuous plasmid encoding resistance to fluoroquinolones and third-generation cephalosporins.", *MBio*, vol. 9, no. 1, p. e00105-18, 2018.

Résumé

Face à la crise alarmante de la résistance aux antimicrobiens, les insectes émergent comme une source potentielle de solutions thérapeutiques novatrices et captivantes. Bien qu'ils aient été employés dans diverses traditions médicales à travers le monde, aucune étude scientifique n'avait jusqu'alors exploré ce sujet en Côte d'Ivoire. Cette étude a été initiée pour combler ce vide et contribuer à une valorisation efficiente des insectes médicinaux de l'entomofaune ivoirienne. Elle a débuté par une caractérisation ethnobiologique et antibactérienne des insectes médicinaux utilisés dans trois villes de Côte d'Ivoire : Bondoukou, Bouaké et Daloa. Elle explore également l'utilisation de la mouche des fruits, *Drosophila melanogaster*, en tant que modèle d'infection *in vivo*. Il ressort de cette étude que seulement 14 % des enquêtés possèdent des connaissances sur l'utilisation thérapeutique des insectes. Au total, 10 espèces d'insectes médicinaux ont été rapportés comme remèdes à 16 pathologies et symptômes. Les hémolymphes extraites des larves de *Rhynchophorus phoenicis* et *Oryctes owariensis* immunisées ont montré une activité antibactérienne *in vitro* contre six souches bactériennes, dont *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., et *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. L'exploration de *Drosophila melanogaster* comme modèle d'infection bactérienne chronique pour l'évaluation de stratégies thérapeutiques a révélé son efficacité. Les résultats montrent que l'infection de la drosophile par *P. burhodogranariae* se caractérise par une charge bactérienne persistante, tolérée par l'hôte, tandis que l'infection par *S. marcescens* provoque une infection aiguë et létale. Ces deux modèles ont offert des processus infectieux uniques pour évaluer l'efficacité de quelques antibiotiques sélectionnés. La streptomycine s'est distinguée en tant que seul antibiotique à montrer une efficacité remarquable contre *Serratia marcescens*, en améliorant significativement la survie des mouches infectées et en réduisant de manière notable la charge bactérienne. Concernant l'infection chronique par *P. burhodogranariae*, la tétracycline a permis de sauver l'intégralité des individus infectés, bien qu'elle n'ait pas réussi à diminuer la charge bactérienne. L'ensemble des résultats obtenus témoignent du rôle essentiel que les insectes médicinaux pourraient jouer dans l'élaboration de nouvelles thérapies antimicrobiennes.

Mots clés : Résistances aux antimicrobiens, insectes médicinaux, solutions thérapeutiques, *Drosophila melanogaster*, streptomycine, *Providencia burhodogranariae*, *Serratia marcescens*

Abstract

In the face of the alarming crisis of antimicrobial resistance, insects are emerging as a potential source of novel and captivating therapeutic solutions. Although they have been employed in various medical traditions around the world, no scientific study had yet explored this subject in Côte d'Ivoire. This study was initiated to fill this gap and contribute to the effective valorization of medicinal insects from the Ivorian entomofauna. It began with an ethnobiological and antibacterial characterization of medicinal insects used in three cities in Côte d'Ivoire: Bondoukou, Bouaké, and Daloa. It also explores the use of the fruit fly, *Drosophila melanogaster*, as an *in vivo* infection model. The study revealed that only 14% of respondents have knowledge of the therapeutic use of insects. In total, 10 species of medicinal insects were reported as remedies for 16 diseases and symptoms. Hemolymph extracted from immunized larvae of *Rhynchophorus phoenicis* and *Oryctes owariensis* showed *in vitro* antibacterial activity against six bacterial strains, including *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The exploration of *Drosophila melanogaster* as a model of chronic bacterial infection for evaluating therapeutic strategies demonstrated its efficacy. The results show that *Drosophila melanogaster* infection by *P. burhodogranariae* is characterized by a persistent bacterial load, which is tolerated by the host, while infection by *S. marcescens* leads to an acute and lethal infection. These two models offered unique infection processes for assessing the effectiveness of selected antibiotics. Streptomycin stood out as the only antibiotic to show remarkable efficacy against *Serratia marcescens*, significantly improving the survival of infected flies and notably reducing the bacterial load. Regarding the chronic infection caused by *P. burhodogranariae*, tetracycline saved all infected individuals, although it failed to reduce the bacterial load. The overall results highlight the essential role that medicinal insects could play in developing new antimicrobial therapies.

Keywords : Antimicrobial resistance, medicinal insects, therapeutic solutions, *Drosophila melanogaster*, streptomycin, *Providencia burhodogranariae*, *Serratia marcescens*