

Comment les insectes communiquent-ils au sein de l'"écosystème-cadavre"? L'écologie chimique des insectes nécrophages et nécrophiles

Jessica Dekeirsschieter^{(1)*}, François Verheggen⁽¹⁾, Christine Frederickx⁽¹⁾, Christelle Marlet⁽²⁾, Georges Lognay⁽²⁾ & Eric Haubruge⁽¹⁾

⁽¹⁾ Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Unité d'Entomologie fonctionnelle et évolutive (Prof. Eric Haubruge). Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique. Tél.: +32 81 62 22 87; fax: +32 81 62 23 12. E-mail: entomologie.gembloux@ulg.ac.be. *Auteur pour correspondance: jdekeirsschieter@ulg.ac.be

⁽²⁾ Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Unité de Chimie Analytique. Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique.

Reçu le 3 décembre 2010, accepté le 12 mai 2011

L'entomologie forensique est une discipline des sciences forensiques qui étudie les insectes et d'autres arthropodes dans un contexte médico-légal. Les insectes nécrophages et nécrophiles, principalement des Diptères et des Coléoptères, sont fréquemment retrouvés au sein de l'écosystème-cadavre. Pour ces insectes, le cadavre est une ressource éphémère très riche qu'ils vont coloniser de manière plus ou moins prévisible. L'entomofaune des cadavres seraient attirées par les odeurs cadavériques émises par le corps en décomposition. A l'heure actuelle, la thanatochimie est encore peu étudiée et l'information disponible concernant les COVs émis après la mort est limitée. Grâce à l'utilisation des méthodes de chimie analytique ((TDS)GC-MS, GCxGC-TOF-MS), la signature olfactive d'un cadavre peut être étudiée au cours du processus de décomposition. L'"odeur de la mort" est constituée par un mélange de plus de cent composés organiques volatils qui évoluent au cours de la décomposition. Cependant, les sémiouchimiques qui sont réellement attractifs pour les insectes nécrophages et/ou nécrophiles ne sont pas encore clairement identifiés. Les espèces pionnières pourraient être attirées par des COVs cadavériques. Toutefois, les espèces plus tardives pourraient aussi être attirées par d'autres types de sémiouchimiques produits par les insectes sarcosaprophages eux-mêmes (par exemple: des asticots, des insectes nécrophages). Plusieurs techniques d'écologie chimique peuvent être utiles en vue d'investiguer le rôle des sémiouchimiques cadavériques dans le comportement des insectes sarcosaprophages. Une meilleure compréhension de l'écologie chimique des insectes nécrophages/nécrophiles et la thanatochimie pourraient avoir de nombreuses applications en science forensique et plus particulièrement en entomologie forensique.

Mots clés: Entomologie forensique, chémo-écologie, thanatochimie, insectes nécrophages, décomposition, COVs cadavériques, odeurs cadavériques.

Forensic entomology is a branch of the forensic sciences which studies insects and other arthropods in a medico-legal context. The carrion insects, mainly Diptera and Coleoptera, have particular relationships with decomposing remains which constitute a rich ephemeral resource. These insects are attracted to the cadaver that they colonize in a relative predictable sequence called the entomofaunal succession. It is speculated that the volatile organic compounds (VOCs) released during the decomposition process attract a wide range of insects. Thanatochemistry, also named "chemistry of death", is poorly studied and the available information regarding the VOCs released after death are rather limited. Thanks to the use of analytical chemistry methods ((TDS)GC-MS, GCxGC-TOF-MS), the olfactive signature of a death body may be studied during the decomposition process. The smell of death is constituted by a blend of hundreds of volatile organic compounds which change during the decay process. However, the semiochemicals which are really attractive for necrophagous insects are not yet clearly identified. Pioneer species may be attracted by cadaveric VOCs. However, later necrophagous species may be also attracted by different kind of semiochemicals produced by carrion insects themselves (e.g. maggot, necrophagous insects). Various techniques of chemical ecology (EAG, GC-EAD, olfactometry) are efficient tools to investigate the role of cadaveric semiochemicals in carrion insect behaviour. A better understanding of the chemical ecology of the necrophagous insects and thanatochemistry could have many applications in forensic sciences.

Keywords: Forensic entomology, Chemoecology, Thanatochemistry, Necrophagous insects, Decay process, Cadaveric VOCs, Cadaveric odours.

1. INTRODUCTION

Lorsqu'une espèce animale meurt, elle est rapidement visitée et colonisée par de nombreux organismes tels que des bactéries, des champignons, des arthropodes dont les insectes ainsi que des vertébrés (mammifères et oiseaux) (Carter, 2007). Au sein de nos écosystèmes terrestres tempérés, parmi les animaux consommateurs, les insectes nécrophages sont les plus spécialisés. Associés aux décomposeurs, ils participent à la minéralisation des matières organiques. Leur rôle est donc primordial au sein des écosystèmes terrestres où ils remplissent la fonction "d'éboueurs entomologiques" (Leclercq & Verstraeten, 1992; Marchenko, 2001). Le cadavre constitue pour ces différentes espèces un substrat nourricier, un site de reproduction, un refuge ou encore un territoire idéal bien que fluctuant au rythme des processus de décomposition. Parmi les insectes nécrophages, deux ordres sont largement présents sur les carcasses animales en décomposition: les Diptères et les Coléoptères. L'utilisation des insectes et d'autres arthropodes (acariens) à des fins médico-légales est le centre d'intérêt de l'entomologie forensique. On parle aussi d'entomologie (médico)-légale, judiciaire ou criminelle (Hall, 2001).

2. L'"ECOSYSTEME – CADAVRE"

2.1. L'entomofaune des cadavres

Les insectes sont généralement les premiers organismes à arriver sur le corps peu après la mort et le colonisent selon une séquence plus ou moins prédictible (Smith, 1986; Anderson, 2001). Les insectes utilisent le micro-habitat créé par le cadavre comme un substrat nourricier, un site de pontes (reproduction), un refuge ou encore comme un territoire de chasse. En fonction de leurs caractéristiques écologiques, on distingue quatre groupes écologiques autour d'un cadavre (Leclercq, 1978; Smith, 1986; Wyss & Chérix, 2006), une cinquième catégorie est parfois citée, il s'agit des espèces dites accidentelles dont la présence sur le corps est le fait du hasard (Arnaldos *et al.*, 2005):

- les **espèces nécrophages**: se nourrissent des tissus cadavériques et plus spécifiquement des

liquides. On peut citer parmi cette catégorie, les Diptères appartenant aux familles des Calliphoridae et des Sarcophagidae, mais également des Coléoptères des familles des Silphidae et des Dermestidae;

- les **espèces nécrophiles**: sont prédateurs ou parasites des espèces nécrophages, principalement des larves et des pupes de Diptères. On rencontre régulièrement des Coléoptères (Silphidae, Histeridae, Staphylinidae), des Diptères (Calliphoridae et Stratiomyidae) ainsi que des Hyménoptères (Campobasso *et al.*, 2001; Wyss & Chérix, 2006). Les larves de certains Diptères peuvent devenir prédatrices à partir d'un certain stade de développement. C'est le cas, par exemple, des larves de stade III appartenant au genre *Muscina* (Diptère, Muscidae) (Gaudry, 2002) et de certaines *Chrysomya* (Diptère, Calliphoridae) (Leclercq, 1978);
- Les **espèces omnivores**: se nourrissent tant du cadavre que des espèces dites nécrophages et nécrophiles présentent sur la dépouille. Les principales espèces omnivores sont généralement des Hyménoptères (fourmis et guêpes) ainsi que des Coléoptères;
- Les **espèces opportunistes**: perçoivent la présence du cadavre comme une extension de leur habitat. Elles utilisent le cadavre comme une annexe de leur biotope afin de s'abriter, se réchauffer, hiberner et parfois même pour se nourrir (Leclercq & Verstraeten, 1992). Elles sont originaires de la végétation environnante ou de la pédofaune et peuvent exceptionnellement être prédateur des espèces nécrophages (Campobasso *et al.*, 2001). On y dénombre des collemboles, des araignées, des mille-pattes, des Lépidoptères mais aussi des acariens qui se nourrissent des moisissures et champignons qui peuvent se développer sur le corps en décomposition (Campobasso *et al.*, 2001; Wyss & Chérix, 2006).

Seuls les deux premiers groupes sont utiles en entomologie forensique, ils regroupent un grand nombre de Diptères et de Coléoptères (Amendt *et al.*, 2004).

2.2. La décomposition d'un cadavre à l'air libre

La décomposition d'un corps comporte une série de processus dynamiques qui vont entraîner des changements physiques, chimiques et biologiques au niveau du cadavre (Anderson, 2001). Hormis la décomposition biologique du corps par des microorganismes (bactéries, champignons saprophytes), des Arthropodes (dont les Insectes) et sa destruction par les Vertébrés (mammifères, oiseaux) (Marchenko, 2001), le corps subit une thanatomorphose. Après la mort, les processus de décomposition s'enclenchent plus ou moins rapidement selon les conditions environnantes (température et humidité principalement) (Anderson, 2001). Les entomologistes forensiques divisent le processus de décomposition en plusieurs stades ou phases. Cependant, ces phases de dégradation du corps doivent être interprétées comme étant une séquence de phénomènes qui se superposent et se combinent et non comme étant des stades clairement identifiables les uns des autres. En effet, il n'y a pas de distinction précise entre la fin d'un stade et le début du suivant (Campobasso *et al.*, 2001; Goff, 2009). On distingue classiquement cinq stades de

décomposition (Figure 1) (Anderson & VanLaerhoven, 1996; Galloway, 1997; Goff, 2009): le stade initial, le gonflement, la décomposition active, la décomposition avancée et la squelettisation. La plupart des cadavres vont se putréfier, cependant, sous certaines conditions environnementales, la putréfaction n'a pas lieu et fait place à d'autres mécanismes tels que la momification du corps ou la formation d'adipocire (Campobasso *et al.*, 2001). La putréfaction est la destruction des tissus mous du corps sous l'action des microorganismes (bactéries, protozoaires et champignons) endogènes et exogènes (Leclercq, 1978; Vass, 2001). La décomposition d'un corps à l'air libre provoque l'écoulement de nombreux liquides putrides qui vont progressivement imprégner le sol (*gravesoil*). Ces infiltrations vont enrichir le sol et former des îlots de décomposition cadavériques (CDI) (Carter *et al.*, 2007).

3. LA COMMUNICATION CHIMIQUE CHEZ LES INSECTES

La communication chimique ou chimioréception est le principal mode d'interaction des grands



Figure 1: Les stades de décomposition d'une carcasse de vertébrés (cochon domestique) exposée à l'air libre.

groupes d'animaux incluant les insectes (Brossut, 1996; Picimbon, 2002). Les insectes nécrophages n'y font pas exception (Leblanc & Logan, 2010). On peut définir la chiomoréception comme étant l'aptitude des organismes vivants à identifier des composés chimiques naturels ou synthétiques présents dans leur environnement et à en évaluer les concentrations (Meierhenrich *et al.*, 2004). La décomposition du corps va entraîner des changements physiques et biochimiques importants, celui-ci va émettre en se décomposant des odeurs plus attractives pour certaines espèces et d'autres moins attractives (Leclercq, 1978; Anderson, 2001). La principale caractéristique de la communication chimique est la spécificité (Cassier *et al.*, 2000). L'insecte est capable d'extraire du bruit de fond odorant qui l'entoure un certain nombre de molécules odorantes qui peuvent déclencher chez lui des comportements spécifiques (Cassier *et al.*, 2000). C'est principalement l'olfaction qui permet à l'insecte de détecter et de reconnaître les signaux chimiques provenant de son environnement (Cassier *et al.*, 2000). La décomposition d'un corps à l'air libre provoque l'émission d'une large gamme de molécules chimiques dans l'environnement très facilement perceptibles par les insectes sarcosaprophages grâce à leur système olfactif très sensible aux effluves cadavériques (Statheropoulos *et al.*, 2005).

3.1. L'olfaction chez les insectes

Chez les insectes, l'olfaction joue un rôle vital dans la reconnaissance de leur environnement en leur permettant de détecter les signaux chimiques environnants (Cassier *et al.*, 2000; Picimbon, 2002; Reinhard, 2004). Le système olfactif des insectes est composé de quatre unités distinctes (Cassier *et al.*, 2000). On distingue en partant du niveau périphérique au niveau centrale: les antennes qui sont le support des organes sensoriels ou sensilles olfactives, les lobes antennaires qui sont le premier relais synaptique et enfin, le second relais synaptique composé des corps pédonculés ou *mushroom bodies* (Nagnan-le Meillour, 1998) où le traitement de l'information olfactive conduit à déclencher ou à modifier un comportement (Cassier *et al.*, 2000). L'olfaction s'organise en trois étapes: la réception, la transduction et l'intégration du message olfactif (Brossut, 1996; Picimbon, 2002):

- **La réception:** les molécules odorantes qui pénètrent dans les sensilles olfactives par de nombreux pores cuticulaires sont véhiculées dans la lymphe sensillaire par un système de pores-tubules extracellulaires et de protéines de transport (les *Odorant Binding Proteins*, OBPs, et les *Pheromon Binding Proteins*, PBPs) jusqu'aux dendrites des neurones sensoriels (Cassier *et al.*, 2000; Reinhard, 2004; Rutzler & Zwiebel, 2005). Les molécules odorantes, molécules hydrophobes et volatiles, qui pénètrent à l'intérieur du sensille peuvent soit activer le récepteur (complexe OBP/PBP-molécule odorante), soit l'inactiver et être éliminées par une estérase sensillaire (ODEs: *Odor Degrading Enzymes*) (Picimbon, 2002; Rutzler & Zwiebel, 2005). Les sensilles, spécifiques à une molécule ou à une famille de molécules chimiques, fonctionnent comme des microcapteurs périphériques des molécules odorantes de l'environnement (Picimbon, 2002). Il existe une grande diversité morphologique de sensilles; on retrouve principalement trois types de sensilles sur les antennes: les sensilles trichodéiques, les sensilles basiconiques et des sensilles placodéiques ou plaques olfactives (Picimbon, 2002; Jefferis, 2005). La fixation de la molécule odorante sur la partie extracellulaire du récepteur va induire son activation ainsi qu'une succession d'interactions moléculaires intracellulaires, c'est la transduction (Nagnan-le Meillour, 1998);
- **La transduction ou transmission:** Les neurones olfactifs, encore appelés neurones sensoriels ou récepteurs (= ORNs: *Olfactory Receptor Neurons*) sont le siège de la transduction (Cassier *et al.*, 2000; Rutzler & Zwiebel, 2005). Ils permettent la transformation d'un signal chimique, l'odeur, en un signal électrique, un potentiel d'action (Cassier *et al.*, 2000). L'activation du récepteur membranaire dendritique induit une succession d'interactions cytoplasmiques qui vont provoquer l'ouverture des canaux ioniques et finalement aboutir à la formation d'un potentiel d'action qui va se propager le long de l'axone (Nagnan-le Meillour, 1998; Cassier *et al.*, 2000). Chez les insectes, il n'existe qu'une seule voie pour la transduction olfactive, il s'agit de la voie de l'inositol triphosphate (IP3) (Brossut, 1996; Cassier *et al.*, 2000). Le signal

Sémiochimiques

Allélochimiques interspécifiques	Phéromones intraspécifiques
<p>Allomones Action bénéfique pour l'individu émetteur</p>	<p>Phéromones incitatrices (<i>releasers</i>) Signaux chimiques induisant une modification du comportement. <u>Exemples:</u> phéromones sexuelles, d'alarme, de piste, d'agrégation, sociales</p>
<p>Kairomones Action bénéfique pour l'individu receveur</p>	
<p>Synomones Action bénéfique pour l'individu émetteur et l'individu receveur</p>	<p>Phéromones modificatrices (<i>primers</i>) Signaux chimiques induisant d'importantes modifications de la physiologie ou du développement de l'individu receveur, mais n'induisant pas de changement immédiat du comportement. <u>Exemples:</u> substance royale de la reine des abeilles, phéromones de grégarisation</p>
<p>Apneumones Substances émises par un matériel non vivant. Action bénéfique pour l'individu receveur</p>	

Figure 2: Classification des sémiochimiques impliqués dans l'olfaction chez les insectes (adaptés de Cassier *et al.*, 2000; Arnaud *et al.*, 2003; Leblanc & Logan, 2010).

sensoriel est ensuite envoyé jusqu'au centre de traitement primaire du système nerveux. Ensuite, cette information est transmise aux régions centrales du système nerveux où aura lieu l'intégration du message sensoriel (Nagnan-le Meillour, 1998);

- **L'intégration:** La réunion des axones de chaque neurone sensoriel forment les nerfs antennaires qui vont conduire le signal sensoriel jusqu'au premier relais synaptique: les lobes antennaires (un par hémisphère cérébral) qui sont situés dans le deutérocérebion (Brossut, 1996). Le traitement de l'information est ensuite effectué par les régions centrales du système nerveux et va aboutir à l'identification d'une molécule en tant qu'odeur (Nagnan-le Meillour, 1998). Les lobes antennaires, formés d'un ensemble de glomérules interconnectés via des interneurons locaux, constituent les centres de convergence entre les dendrites des récepteurs sensoriels et les centres d'intégration supérieurs (Brossut, 1996; Reinhard, 2004). Des neurones de projection assurent le

cheminement du signal vers ces centres d'intégration supérieurs, notamment vers les corps pédonculés localisés dans le protocérébron (Brossut, 1996; Reinhard, 2004). C'est donc au niveau du protocérébron qu'ont lieu que les phénomènes de mémorisation et d'apprentissage des informations olfactives (Brossut, 1996).

3.2. Les sémiochimiques

Les sémiochimiques sont des médiateurs chimiques faisant intervenir des organes sensoriels externes et favorisant les interactions entre organismes (Arnaud *et al.*, 2003). Les sémiochimiques impliqués dans l'olfaction appartiennent à deux grandes catégories: les phéromones et les allélochimiques (Cassier *et al.*, 2000). Les phéromones interviennent dans les communications intraspécifiques et les allélochimiques interviennent dans les relations interspécifiques (Cassier *et al.*, 2000, Arnaud *et al.*, 2003). La classification des sémiochimiques est reprise à la Figure 2. On parlera plus

particulièrement d'apneumones dans le cas de substances chimiques émises par un matériel non vivant et bénéficiant à l'organisme récepteur (Cassier *et al.*, 2000; LeBlanc & Logan, 2010), en l'occurrence l'entomofaune des cadavres lors de la décomposition d'un corps. Les odeurs émises au cours de la décomposition sont constituées d'un très grand nombre de molécules chimiques (Dekeirsschieter *et al.*, 2009; LeBlanc & Logan, 2010) et peuvent être perçues très rapidement par les insectes nécrophages alors qu'aucune odeur cadavérique n'est perceptible à l'odorat humain (LeBlanc & Logan, 2010).

4. LES TECHNIQUES DE L'ÉCOLOGIE CHIMIQUE APPLIQUÉES AUX INSECTES DES CADAVRES

Très peu étudiée à l'heure actuelle, l'écologie chimique axée sur un organisme animal en décomposition permettrait de mieux comprendre les interactions au sein d'un écosystème particulier: le cadavre (Dekeirsschieter *et al.*, 2010). Cependant, on n'a pas encore pu identifier ce qui attire vraiment les insectes sur un corps en décomposition et qui déclenche une modification du comportement telle que l'accouplement ou encore l'oviposition sur le cadavre (LeBlanc & Logan, 2010). Il semblerait que les odeurs émises par le cadavre (ou ses hôtes) attirent une grande diversité d'insectes au sein de cet écosystème si particulier (Anderson, 2001; Hart & Whitaker, 2005; Statheropoulos *et al.*, 2007; Dekeirsschieter *et al.*, 2009, LeBlanc & Logan, 2010). Encore faut-il pouvoir identifier ces odeurs afin de décrypter le "langage des insectes". Les odeurs sont constituées d'un ensemble de molécules chimiques volatiles, appelées Composés Organiques Volatils (COVs), qu'il faut pouvoir prélever, identifier et quantifier. Il faut également pouvoir identifier le rôle de ces molécules odorantes sur la physiologie et le comportement des insectes nécrophages. En combinant des études électrophysiologiques et comportementales, il est possible de mettre en évidence le rôle des molécules cadavériques sur les insectes nécrophages.

4.1. Les odeurs cadavériques

Les odeurs cadavériques forment un mélange complexe de molécules chimiques volatiles qui changent au cours de la décomposition

(Dekeirsschieter *et al.*, 2009). Le cadavre dégage des odeurs très fortes surtout pendant les phases de décomposition humide lorsque la production de gaz putréfactifs et d'amines est la plus forte (Dix & Graham, 2000). En général, l'odeur de décomposition tend à se dissiper avec la disparition progressive des tissus mous du corps. Les cadavres momifiés et/ ou partiellement squeletisés ont tendance à dégager une odeur de moisi tandis que les restes complètement squeletisés n'émettent plus d'odeur perceptible à l'odorat humain (Dix & Graham, 2000). Le prélèvement de ces molécules odorantes est un pré-requis nécessaire à leur identification et à la caractérisation de la signature olfactive d'un corps en décomposition.

Les méthodes de prélèvements d'odeurs et leurs analyses

Il existe deux grands types de prélèvements d'odeurs: l'échantillonnage dynamique et l'échantillonnage passif ou statique. La distinction entre ces deux types d'échantillonnage est la mise en mouvement de l'air ou non autour de la source d'émissions de molécules volatiles. Contrairement aux méthodes passives, les techniques dynamiques requièrent des dispositifs actifs tels que des pompes pour faire circuler le flux d'air et des débitmètres (Namiesnik *et al.*, 2004). Les méthodes dynamiques se basent sur la mise en mouvement de l'air contenu dans l'espace de tête de l'organisme étudié (*headspace collection*). Un système de filtrage de l'air va permettre de piéger les molécules volatiles sur un adsorbant (Charbon actif, Tenax®, PDMS®, Porapak®, *etc*) (Millar & Sims, 1998; Jones & Oldham, 1999). Le principe de l'échantillonneur passif est basé sur la diffusion des molécules volatiles dans l'air ambiant, celles-ci vont se fixer sur un support adsorbant (loi de Fick) (Cocheo *et al.*, 1996; Varshney & Singh, 2003). Outre la SPME (Microextraction sur phase solide) qui est très souvent utilisée pour étudier les odeurs, il existe également de nombreux types d'échantillonneurs passifs que l'on peut employer. Dans la plupart des échantillonneurs passifs, le parcours diffusif est axial, il existe cependant des capteurs dont la géométrie est radiale (Cocheo *et al.*, 1996). C'est le cas du dispositif Radiello®. Les prélèvements peuvent se faire en enceinte close, semi-ouverte ou ouverte (Tholl *et al.*, 2006) ou encore directement *in situ*. Concernant les COVs cadavériques les deux méthodes de prélèvements d'odeurs ont déjà été utilisées avec

succès soit sur cadavres ou restes humains (Vass *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2005, 2006, 2007; Vass *et al.*, 2008; Hoffman *et al.*, 2009) soit sur carcasses animales (LeBlanc, 2008; Dekeirsschieter *et al.*, 2009; Kalinova *et al.*, 2009). La SPME a quant à elle été utilisée par une équipe de chercheurs américains afin de caractériser les composés organiques volatils présents dans l'espace de tête de différents types de tissus humains en décomposition (Hoffman *et al.*, 2009). Cette technique a également été utilisée afin de caractériser la signature olfactive de carcasses de souris en décomposition (Kalinova *et al.*, 2009). Les composés organiques volatils piégés seront désorbés soit par solvant (élution avec un solvant pur ou un mélange de solvants organiques) soit par thermodésorption (Millar & Sims, 1998; Tholl *et al.*, 2006). Les molécules piégées doivent être séparées avant de pouvoir être identifiées, la chromatographie en phase gazeuse (GC) est une méthode couramment utilisée pour analyser des composés volatils ou semi-volatils (Heath & Dueben, 1998). L'identification des composés odorants est rendue possible grâce à l'utilisation d'un détecteur couplé au GC tel que le spectromètre de masse (GC-MS). Le GC-MS permet d'obtenir directement le spectre de masse de chaque constituant d'un mélange au fur et à mesure de leur séparation sur la colonne chromatographique qui fonctionne en amont du spectromètre de masse (Strebler, 1989). Dans les études de thanatochimie, la méthode d'analyse des COVs cadavériques est généralement la chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (Vass *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2005, 2006, 2007; Vass *et al.*, 2008; Dekeirsschieter *et al.*, 2009; Hoffman *et al.*, 2009). Cependant, une récente étude utilise la chromatographie bidimensionnelle couplée à un spectromètre de masse à temps de vol (GCxGC-TOFMS) (Kalinova *et al.*, 2009).

Les COVs cadavériques

Les composés organiques volatils émis au cours de la décomposition sont en fait des produits de décomposition intermédiaires (Vass *et al.*, 2002). Il s'agit de co-produits issus du catabolisme des molécules biologiques: les protéines, les acides nucléiques, les lipides et les glucides (Vass *et al.*, 2002; Statheropoulos *et al.*, 2005). La dégradation complète de ces macromolécules biologiques conduira à la restitution de leurs constituants (carbone, hydrogène, soufre, azote, phosphore,

oxygène) dans l'écosystème (Vass *et al.*, 2002; Statheropoulos *et al.*, 2005). La dégradation des protéines (protéolyse) fournit des gaz (CO₂, H₂S, CH₄, SO₂, NH₃), des diamines (putrescine et cadavérine), des composés soufrés (diméthylsulfide, diméthyltrisulfide) et des composés phénoliques (indole, scatole) (Clark *et al.*, 1997; Vass, 2001; Vass *et al.*, 2002; Dent *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2005). La dégradation des lipides produit des acides gras (ex: acides oléique et palmitique) et des composés oxygénés, azotés et phosphorés ainsi que des hydrates de carbone (Gill-King, 1997; Statheropoulos *et al.*, 2005). Les glucides sont principalement dégradés en composés oxygénés tels que des acides organiques, des alcools, des cétones, des esters et des aldéhydes (Gill-King, 1997; Dent *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2005). Concernant les COVs cadavériques émis au cours du processus de décomposition, toutes les études menées jusqu'à présent mettent en avant un grand nombre de molécules chimiques qui peuvent varier d'une étude à l'autre (Vass *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2005, 2006, 2007; LeBlanc, 2008; Vass *et al.*, 2008; Dekeirsschieter *et al.*, 2009; Hoffman *et al.*, 2009; Kalinova *et al.*, 2009). Si certains composés sont identiques dans toutes les études (LeBlanc & Logan, 2010) telles que le DMDS ou le DMTS; il n'y a aucune signature chimique unique de la décomposition (LeBlanc & Logan, 2010) que ce soit sur cadavres ou carcasses animales.

4.2. L'approche électrophysiologique

Connaitre la composition des odeurs cadavériques est un pré-requis nécessaire à la compréhension des interactions entre le cadavre et la faune des cadavres. Mais, elle ne permet pas de discriminer quels sont les composés odorants réellement perçus par l'insecte et qui vont induire chez lui un comportement spécifique. L'approche électrophysiologique permet d'identifier les composés odorants détectés par les antennes de l'insecte et plus précisément par les neurones récepteurs olfactifs (Bjostad, 1998).

L'électroantennographie (EAG) et le *Single Cell Recording* (SCR) sont deux techniques électrophysiologiques qui permettent de mesurer respectivement la réponse électrique antennaire pour l'EAG et d'une seule sensille olfactive pour le SCR (Bjostad, 1998). Cependant, l'utilisation de l'électroantennographie est plus fréquente et

permet de détecter les composés électrophysiologiquement actifs pour un insecte. L'électroantennographe va enregistrer et amplifier des variations de potentiel électrique entre deux électrodes placées sur les antennes de l'insecte lorsque celui-ci est soumis à un stimulus odorant. On observera une différence de potentiel lorsque l'antenne est stimulée par une molécule odorante active. L'EAG peut également être couplé à un chromatographe en phase gazeuse (GC-EAD) (Moorhouse *et al.*, 1969; Bjostad, 1998), celui-ci permet de détecter et de positionner sur un chromatogramme les composés électrophysiologiquement actifs présents dans un mélange d'odeurs complexe (LeBlanc & Logan, 2010). Le même principe de couplage existe pour le SCR, on parlera de GC-SCR (Wadhams *et al.*, 1982). Lorsque le composé testé (EAG) ou un des composés du mélange testé (GC-EAD) induit une réponse électrique, on observera une dépolarisation des sensilles qui se marquera sur l'électroantennogramme par une variation d'amplitude du signal EAG (Jones & Oldham, 1999). Cette variation de potentiel électrique peut aller de quelques microvolts à plusieurs millivolts et dépend de plusieurs facteurs tels que la nature et la concentration du stimulus olfactif, mais également de l'espèce, de l'âge et du sexe de l'insecte testé (Verheggen, 2005). Au vu du grand nombre d'insectes que l'on peut retrouver au sein de l'écosystème-cadavre et d'une certaine phénologie dans la colonisation postmortem du cadavre, les études électrophysiologiques sur les insectes appartenant à cet écosystème particulier devraient mettre en avant des différences dans les composés actifs perçus par les insectes "nécrophages".

En effet, certains insectes tels que les Calliphoridae colonisent très rapidement les corps (= espèces pionnières), attirés semble-t-il par les odeurs cadavériques apparaissant au début du processus de décomposition (Greenberg, 1991; Wall & Warnes, 1994; Anderson, 2001; LeBlanc & Logan, 2010). Tandis que d'autres insectes seraient attirés par des stades de décomposition plus avancés voir par l'entomofaune déjà présente sur le cadavre ou encore repoussés par les odeurs de décomposition précoces (LeBlanc & Logan, 2010). A ce jour, très peu d'études électrophysiologiques ont été effectuées avec des insectes appartenant à cet écosystème (Stensmyr, 2004; Frederickx, 2008; LeBlanc, 2008; Kalinova *et al.*, 2009). On peut notamment citer les travaux

de GC-EAD d'Hélène LeBlanc (LeBlanc, 2008) sur *Calliphora vomitoria* (Diptera, Calliphoridae), de Frederickx (Frederickx, 2008) qui a réalisé de l'EAG sur *Nasonnia vitripennis* (Hymenoptera, Braconidae), un parasite de pupes de Diptères. Des composés soufrés ont également été testés sur *Nicrophorus vespilloides* et *Nicrophorus vespillo* (Coleoptera, Silphidae) par EAG (Kalinova *et al.*, 2009).

L'approche électrophysiologique donne des informations sur la perception des odeurs par l'insecte, mais elle ne nous fournit pas d'information sur l'impact des composés odorants sur le comportement de l'insecte étudié. Une approche complémentaire est nécessaire, il s'agit d'une approche comportementale.

4.3. L'approche comportementale

Identifier les composés électrophysiologiquement actifs ne permet pas de comprendre le rôle biologique de ces composés odorants sur le comportement des insectes étudiés. Une approche comportementale olfactométrique permet de mieux cerner les réactions comportementales de l'insecte lorsque celui-ci est exposé à un stimulus olfactif. Cette approche comportementale se base sur l'utilisation d'olfactomètres. Les olfactomètres sont des dispositifs permettant l'étude du comportement d'un organisme lorsque celui-ci est mis en présence d'une source d'odeurs (Strebler, 1989; Verheggen, 2005). Le choix du type d'olfactomètre sera fonction de l'espèce d'insecte étudiée et du type de comportement induit par les stimuli olfactifs (Strebler, 1989). Il existe deux grandes catégories d'olfactomètres, les appareillages statiques qui ne nécessitent pas la mise en mouvement de l'air au sein du dispositif et les systèmes dynamiques qui reposent sur la circulation d'un flux d'air au sein de l'enceinte (Hare, 1998).

Au sein des dispositifs dynamiques, un système de pompes met en mouvement l'air qui va entraîner avec lui le composé volatil testé. Tandis qu'au sein des dispositifs statiques, un diffuseur dispersa la molécule odorante dans le dispositif (Hare, 1998). L'analyse comportementale permet donc d'identifier l'influence d'une ou plusieurs molécule(s) odorante(s) sur l'insecte étudié, et permet par exemple de démontrer l'effet attractif d'un composé sur un insecte.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Une meilleure compréhension de l'écologie chimique des insectes nécrophages et/ou nécrophiles permettrait de mieux cerner l'écosystème-cadavre et d'identifier les composés odorants responsables de l'attraction de ces insectes sur un cadavre. Outre une meilleure connaissance de la chemoécologie des insectes nécrophages, la caractérisation de la signature olfactive d'un corps en décomposition trouve des applications dans de nombreux domaines des sciences forensiques. Parmi celles-ci, on peut citer la mise au point d'appareils de détection de cadavre (Vass *et al.*, 2004; Statheropoulos *et al.*, 2006; Vass *et al.*, 2008) un meilleur entraînement des chiens pisteurs (*rescue dog* et/ou *cadaver dog*) (Killam, 1990; Komar, 1999; Oesterhelweg *et al.*, 2008; Hoffman *et al.*, 2009) ou encore une nouvelle méthode pour déterminer l'intervalle postmortem (IPM) (Vass, 2001; Statheropoulos *et al.*, 2007; LeBlanc & Logan, 2010). Les recherches en thanatochimie se poursuivent et les composés organiques volatils qui caractérisent la décomposition de matière organique animale ouvrent de larges perspectives. Cependant, les insectes restent encore une des seules méthodes fiables pour déterminer l'intervalle postmortem (LeBlanc & Logan, 2010), notamment lorsque les méthodes médicales font défaut. Malgré tout, l'étude conjointe des odeurs cadavériques (thanatochimie) et des insectes nécrophages (entomologie forensique) doit aller plus loin afin de déterminer les liens spécifiques qui existent entre la datation de la mort par des méthodes entomologiques et les processus de décomposition (LeBlanc & Logan, 2010). Une approche chemoécologique de l'écosystème-cadavre permettrait de mieux comprendre les interactions spécifiques qui évoluent au gré du processus de décomposition.

Bibliographie

- Amendt J., Krettek R. & Zehner R. (2004). Forensic entomology. *Naturwissenschaften* **91**, p. 51-65.
- Anderson G.S. (2001). Insect succession on carrion and its relationship to determining time of death. In Castner J.H., Byrd J.L. (éd.), *Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, p. 143-169. CRC Press, Boca Raton.
- Anderson G.S. & VanLaerhoven S.L. (1996). Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science* **41**, p. 617-625.
- Arnaldos M.I., Garcia M.D., Romera E., Presa J.J. & Luna A. (2005). Estimation of post-mortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International* **149**, p. 57-65.
- Arnaud L., Detrain C., Gaspar C. & Haubruge E. (2003). Insectes et communication. *Le journal des ingénieurs* **87**, p. 25-27.
- Bjostad L.B. (1998). Electrophysiological methods. In Millar J.C. & Haynes K.F. (éd.), *Methods in chemical ecology, vol. 1*, p. 339-375. Springer.
- Brossut R. (1996). *Phéromones: La communication chimique chez les animaux*. CNRS Editions, Paris, 143 p.
- Campobasso C.P., Di Vella G. & Introna F. (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International* **120**, p. 18-27.
- Carter D.O., Yellowlees D. & Tibbett M. (2007). Cadaver Decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften* **94**, p. 12-24.
- Cassier P., Bohatier J., Descoins C. & Nagnan-Le Meillour P. (2000). *Communication chimique et environnement*. Belin 8, Paris, 256 p.
- Clark M.A., Worrel M.B. & Pless J.E. (1997). Postmortem changes in soft tissues. In Haglund W.D & Sorg M.H. (éd.), *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, p. 151-160. CRC Press, Boca Raton.
- Cocheo V., Boaretto C. & Sacco P. (1996). High Uptake Rate Radial Diffusive Sampler Suitable for Both Solvent and Thermal Desorption. *American Industrial Hygiene Association Journal* **57**, p. 897-904.
- Dekeirsschieter J., Verheggen F.J., Gohy M., Hubrecht F., Bourguignon L., Lognay G. & Haubruge E. (2009). Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domesticus* L.) in different biotopes. *Forensic Science International* **189**, p. 46-53.
- Dekeirsschieter J., Frederickx C., Verheggen F.J. & Haubruge E. (2010). L'écologie chimique au service de l'entomologie forensique. *Le Journal des ingénieurs* **128**, p. 12-15.
- Dent B.B., Forbes S.L. & Stuart B.H. (2004). Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology* **45**, p. 576-585.
- Dix J. & Graham M.A. (2000). *Time of Death, Decomposition and Identification - an atlas*. CRC Press. Boca Raton, 120 p.

- Frederickx C. (2008). *Etude de l'interaction chimique entre les odeurs émises par les stades de développement de Calliphoridae (Calliphora vicina Robineau-Desvoidy) et le parasitoïde (Nasonia vitripennis Walker)*. Mémoire de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 79 p.
- Galloway A. (1997). The Process of Decomposition: A Model from the Arizona-Sonoran Desert. In Haglund W.D. & Sorg M.H. (éd.), *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, p. 139-149. CRC Press, Boca Raton.
- Gaudry E. (2002). Eight squadrons for one target: the fauna of cadaver described by J.P. Méglin. *Proceeding of the First European Forensic Entomology Seminar*, Rosny-sous-Bois, France, 2002, p. 31-36.
- Gill-King H. (1997). Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In Haglund W.D. & Sorg M.H. (éd.), *Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains*, p. 93-108. CRC Press, Boca Raton.
- Goff M.L. (2009). Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Experimental & Applied Acarology* **49**, p. 21-36.
- Greenberg B. (1991). Flies as forensic indicators. *Journal of Medical Entomology* **28**, p. 565-577.
- Hall R.D. (2001). Perceptions and Status of Forensic Entomology. In Castner J.H. & Byrd J.L. (éd.), *Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations*, p. 1-15. CRC Press, Boca Raton.
- Wadhams L.J., Angst M.E. & Blight M.M. (1982). Responses of the olfactory receptors of *Scolytus scolytus* (F.) (Coleoptera: Scolytidae) to the stereoisomers of 4-methyl-3-heptanol. *Journal of Chemical Ecology* **8**, p. 477-492.
- Hare D.J. (1998). Bioassay methods with terrestrial invertebrates. In Millar J.C. & Haynes K.F. (éd.), *Methods in chemical ecology, vol. 1*, p. 339-375. Springer.
- Hart A.J. & Whitaker A.P. (2005). Forensic entomology. *Antenna* **30**, p. 159-164.
- Heath R.R. & Dueben B.D. (1998). Analytical and preparative gas chromatography. In Millar J.G. & Haynes K.F. (éd.), *Methods in Chemical Ecology, vol. 1*, p. 85-126. Kluwer Academic Publisher Boston, Dordrecht.
- Hoffman E.M., Curran A.M., Dulgerian N., Stockam R. & Eckenrode B.A. (2009). Characterization of the volatile organic compounds present in the headspace of decomposing human remains. *Forensic Science International* **186**, p. 6-13.
- Jefferis G.S.X.E. (2005). Insect olfaction: a map of smell in the brain. *Current Biology* **15**, p. R668-R670.
- Jones G.R. & Oldham N.J. (1999). Pheromone analysis using capillary gas chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A* **843**, p. 199-236.
- Kalinova B., Podskalska H., Ruzicka J. & Hoskovec M. (2009). Irresistible bouquet of death - how are burying beetles (Coleoptera: Silphidae: *Nicrophorus*) attracted by carcasses. *Naturwissenschaften* **96**, p. 889-899.
- Killam E.W. (1990). *The Detection of Human Remains*. Charles C Thomas Pub Ltd, Springfield, 263 p.
- Komar D. (1999). The use of cadaver dogs in locating scattered, scavenged human remains: preliminary fields test results. *Journal of Forensic Science* **44**, p. 405-408.
- Leblanc H. (2008). *Olfactory stimuli associated with the different stages of vertebrate decomposition and their role in the attraction of the blowfly Calliphora vomitoria (Diptera: Calliphoridae) to carcass*. Thèse de doctorat, University of Derby, Angleterre.
- LeBlanc H.N. & Logan J.G. (2010). Exploiting insect olfaction in forensic entomology. In Amendt J., Goff M.L., Campobasso C.P. & Grassberger M. (éd.), *Current concepts in forensic entomology*, p. 205-221. Springer, Dordrecht.
- Leclercq M. (1978). *Entomologie et Médecine légale: Datation de la mort*. Masson, Paris, 100 p.
- Leclercq M. & Verstraeten C. (1992). Eboueurs entomologiques bénévoles dans les écosystèmes terrestres. *Notes Fauniques de Gembloux* **25**, p. 17-23.
- Marchenko M.I. (2001). Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of time of death. *Forensic Science International* **120**, p. 89-109.
- Millar J.G. & Sims J.J. (1998). Preparation, Cleanup and Preliminary Fractionation of Extracts. In Millar J.G. & Haynes K.F. (éd.), *Methods in Chemical Ecology, vol. 1*, p. 1-31 Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- Meierhenrich U.J., Golebiowski J., Fernandez X., Cabrol-Bass D. (2004). The molecular basis of olfactory chemoreception. *Angewandte Chemie International Edition* **43**, p. 6410-6412.
- Moorhouse J.E., Yeadon R., Beevor P.S. & Nesbitt B.F. (1969). Method for use in studies of insect chemical communication. *Nature* **223**, p. 1174-1175.
- Nagnan-Le Meillour P. (1998). Le rôle des protéines liant les odeurs (OBP) dans la transduction olfactive. *Année Biologique* **78**, p. 69-93.

- Namiesnik J., Zabiegala B., Kot-Wasik A., Partyka M. & Wasik A. (2005). Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **381**, p.279-301.
- Picimbon J.F. (2002). Les péri-récepteurs chimiosensoriels des insectes. *Médecine/Sciences* **11**, p. 1089-1094.
- Oesterhelweg L., Krober S., Rottmann K., Willhoft J., Braun C., Thies N., Puschel K., Silkenath J. & Gehl A. (2008). Cadaver dogs - a study on detection of contaminated carpet squares, *Forensic Science International* **174**, p. 35-39.
- Reinhard J. (2004). Insect Chemical Communication. *ChemoSense* **6**, p. 1-6.
- Rutzler M. & Zwiebel L.J. (2005). Molecular biology of insect olfaction: recent progress and conceptual models. *Journal of Comparative Physiology A* **191**, p. 777-790.
- Smith K.G.V. (1986). *A manual of Forensic entomology*. British Museum Natural History, London, 205 p.
- Statheropoulos M., Spiliopoulou C. & Agapiou A. (2005). A study of volatile organic compounds evolved from decaying human body. *Forensic Science International* **153**, p. 147-155.
- Statheropoulos M., Mikedi K, Agapiou A., Georgiadou A. & Karma S. (2006). Discriminant analysis of volatile organic compounds data related to a new location method of entrapped people in collapsed buildings of an earthquake. *Analytica Chimica Acta* **566**, p. 207-216.
- Statheropoulos M., Agapiou A., Spiliopoulou C., Pallis G.C. & Sianos E. (2007). Environmental aspects of VOCs evolved in the early stages of human decomposition. *Science of the Total Environment* **385**, p. 221-227.
- Stensmyr M.C. (2004). *The fly nose – Function and Evolution*. Thèse de doctorat, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Suède, 50 p.
- Strebler G. (1989). *Les médiateurs chimiques. Leur incidence sur la bioécologie des animaux*. Lavoisier, Paris, 246 p.
- Tholl D., Boland W., Hansel A., Loreto F., Rose U.S.R. & Schnitzler J.-P. (2006). Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal* **45**, p. 540-560.
- Varshney C.K. & Singh A.P. (2003). Passive Samplers for NOx Monitoring: A Critical Review. *The Environmentalist* **23**, p. 127-136.
- Vass A.A. (2001). Beyond the grave - understanding human decomposition. *Microbiology Today* **28**, p. 190-192.
- Vass A.A., Smith R.R., Thompson C.V., Burnett M.N., Wolf D.A., Synsteliën J.A., Dulgerian N. & Eckenrode B.A. (2004). Decompositional Odor Analysis Database. *Journal of Forensic Science* **49**, p. 760-769.
- Vass A.A, Smith R.R., Thompson C.V., Burnett M.N., Dulgerian N. & Eckenrode B.A. (2008). Odor analysis of decomposing buried human remains. *Journal of Forensic Science* **53**, p. 384-391.
- Verheggen F. (2005). *Contribution à l'étude des relations tritrophiques entre la tomate (Lycopersicon esculentum Miller), le puceron vert du pêcher (Myzus persicae Sulzer) et le syrphé ceinturé (Episyrphus balteatus DeGeer)*. Mémoire de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 75 p.
- Wall R. & Warnes M.L. (1994). Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* to carrion odour and carbon dioxide. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **73**, p. 239-246.
- Wyss C. & Cherix D. (2006). *Traité d'entomologie forensique. Les insectes sur la scène de crime*. Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne. 317 p.

(61 réf.)