

► L'entomologie médico-légale est l'utilisation des insectes afin de calculer l'intervalle post-mortem (temps écoulé entre la découverte d'un corps et la mort réelle de l'individu). Connaître la biologie, la physiologie et le comportement de ces insectes sur l'écosystème représenté par le cadavre est d'une importance primordiale pour améliorer les expertises entomologiques. C'est sur quoi se focalise l'unité de taphonomie médico-légale, unique équipe de recherche en France experte sur ce sujet. ◀

La découverte d'un corps humain en décomposition n'est pas chose rare. Elle va être à l'origine de la mise en place d'une procédure judiciaire qui permettra d'identifier la victime, les causes de sa mort et de dater le décès. La détermination de la date de la mort peut reposer sur différentes méthodes. Ce sont, le plus souvent, les médecins légistes qui, grâce aux rigidités cadavériques, aux lividités, et à la température corporelle, en donneront une valeur plus ou moins précise [1]. Plus la date du décès est éloignée de celle de la découverte du corps, plus la température du cadavre sera proche de la température de l'environnement dans lequel il a été découvert. Le calcul de la date du décès, se fondant sur la différence entre la température du corps et celle de son environnement [2], ne sera précis qu'au cours de la période de refroidissement du cadavre qui excède rarement 72 heures. Au-delà ou complémentaiement, et si les conditions le permettent, une autre technique sera nécessaire pour déterminer cette date de mort : l'entomologie forensique ou médico-légale. Il n'est pas rare d'observer, sur un cadavre en décomposition, la présence d'insectes nécrophages, en particulier de diptères. Ces insectes, principalement représentés par les mouches Calliphoridae, utilisent le corps comme ressource alimentaire, comme lieu d'accouple-

Vignette (Photo © Wikimedia Commons).

Cindy Aubernon est lauréate du prix médecine/sciences décerné à un étudiant en formation dans une école doctorale. Ce prix est attribué, après évaluation par un jury académique, à la meilleure présentation, selon les critères de la revue (excellence et divulgation scientifiques), réalisée au cours des journées doctorales de l'école, en l'occurrence, l'École Doctorale ED 446 - Biologie-Santé - Lille.

Prix médecine/sciences

Les larves de diptères nécrophages en entomologie médico-légale : une histoire de température

Cindy Aubernon, Valéry Hédouin, Damien Charabidzé



Univ. Lille, CHU de Lille
EA 7367 – UTML – unité
de taphonomie médico-légale,
1, place de Verdun,
59045 Lille, France.
cindy.aubernon@gmail.com

ment, de ponte et de croissance des larves que l'on appelle communément asticots. Ce corps représente ainsi un véritable écosystème : un lieu de compétition, de prédation ou encore de parasitisme [3]. Les insectes qui s'y développent pourront être prélevés à des fins d'expertise entomologique. Ainsi, l'identification des espèces présentes permettra d'estimer un intervalle *post-mortem* (IPM) et de dater le décès. L'entomologie médico-légale représente donc une expertise majeure lors de la découverte d'un corps. Cependant, connaître la biologie des insectes nécrophages, leur physiologie et leur comportement reste primordial pour que cette méthode puisse être exploitée à son maximum. Dans cette revue, nous présenterons les principes de l'expertise entomologique ainsi que les dernières recherches qui apportent une réflexion et des éléments permettant de l'affiner. Les travaux que nous relatons ont été réalisés au sein de l'unité de taphonomie médico-légale de Lille, une équipe de recherche unique en France sur cette thématique [4].

L'entomologie forensique ou médico-légale

Les mouches de la famille Calliphoridae sont poïkilothermes : leur température corporelle dépend en effet de celle de leur environnement. Leur développement, soumis à un cycle (Figure 1), est fonction de la température qu'elles rencontrent : plus la température est élevée, plus

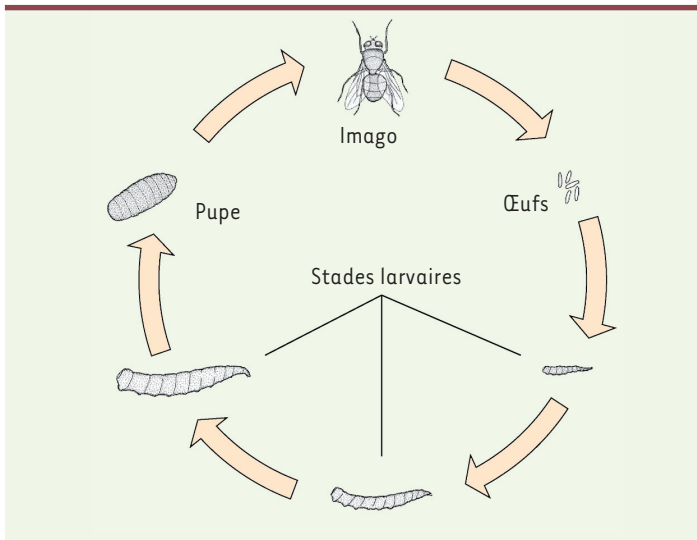


Figure 1. Cycle de développement ou métamorphose complète des diptères Calliphoridae. L'adulte (ou imago) pond ses œufs sur le corps. Les larves qui en résultent subiront trois stades de développement avant de se transformer en cocon, la pupa, d'où émergera le nouvel adulte.

il sera rapide [5]. La durée du cycle est également dépendante de l'espèce [6]. Cette relation entre température, durée de développement et espèce est bien connue. Elle permet de déterminer un pourcentage de développement par unité de temps et de température [7]. Ainsi, pour *Lucilia sericata*¹, la croissance des larves, à 20 °C, est de 5,33 % par jour [8]. La datation entomologique nécessite donc d'identifier, en premier lieu, les espèces présentes sur le cadavre. En s'appuyant sur les données météorologiques passées, il sera ensuite possible de calculer l'âge des insectes afin de déterminer la date des premières pontes. Ceci permettra de donner un IPM minimum, c'est-à-dire une date de ponte, correspondant à un instant T où la victime était déjà décédée [9]. À partir de ce temps T, il appartiendra à l'expert d'estimer la date du décès en fonction des informations concernant le lieu de découverte et l'accessibilité au cadavre [10]. Le délai de colonisation (c'est-à-dire le temps nécessaire pour obtenir les premières pontes sur le corps) dépend, en effet, du climat mais également du lieu de découverte [10] : il est plus aisé, pour une mouche, d'atteindre un corps nu dans une forêt par une journée ensoleillée de printemps, qu'un cadavre situé au 5^e étage d'un immeuble, enroulé dans des draps de lit, en plein hiver. L'estimation de ce délai de colonisation, ajoutée à l'IPM minimum, permettra de préciser la date du décès [9].

Afin d'optimiser cette datation du décès, les recherches actuelles portent sur les paramètres qui influent sur le développement des larves de diptères nécrophages, notamment la température. Beaucoup d'études se sont en effet intéressées à la biologie [11], à l'écologie [12], à la physiologie [13] ou encore au comportement des larves des insectes nécrophages [14]. Ces études ont apporté un grand nombre de données désormais prises en considération pour les expertises médico-légales.

Comportement d'agrégation des insectes

Au stade larvaire, les mouches Calliphoridae ont un comportement d'agrégation marqué [15]. Les asticots se rassemblent et vivent en groupes pouvant contenir des dizaines de milliers d'individus. Ce phénomène social est primordial pour leur survie et leur développement : le cadavre étant un écosystème éphémère, il est en effet important pour ces larves qui composent le groupe d'acquérir des stratégies évolutives afin de se développer vite et bien [16]. Dans ce contexte, le grégarisme apporte de nombreux bénéfices comme la protection contre les prédateurs, la coopération sociale (effet Allee²) [17] ou encore la génération de chaleur [18]. Ce dernier phénomène, appelé *larval-mass effect*, repose notamment sur la taille du groupe. On peut en effet observer des températures, au sein des masses larvaires, qui dépassent de 20 °C la température ambiante. Cette augmentation de la température locale permet un développement plus rapide des larves, ce qui limite leur séjour sur le cadavre. Tous ces bénéfices associés au grégarisme permettent un développement optimisé des larves en limitant la prédation, le parasitisme ou la compétition et le risque de manque de ressources [19].

Partant de ces constats, l'hypothèse qu'il existerait pour chaque espèce une température préférentielle de développement, qui serait une température optimale pour un développement efficace tout en limitant la mortalité des larves, a été émise [20]. Cette température permettrait également d'optimiser le succès reproducteur des insectes adultes [21]. De ce fait, cela suppose que les larves devraient trouver cette température préférentielle ou une valeur s'en approchant dans leur environnement qu'est le corps en décomposition.

Préférences thermiques

Une étude [22], fondée sur l'utilisation d'un dispositif innovant nommé le Thermograde³, a révélé la sélection préférentielle d'une température. Cette analyse, qui a porté sur les larves de troisième stade de trois espèces majeures d'intérêt forensique (*Lucilia sericata*, *Calliphora vomitoria*⁴ et *Calliphora vicina*⁵), montre en

¹ Isolée par l'entomologiste allemand Johann Wilhelm Meigen en 1826.

² L'effet Allee est un phénomène de dépendance à la densité des populations. Il se caractérise par une corrélation positive entre densité d'une population et taux de croissance.

³ Dispositif permettant le développement des larves dans un milieu nutritif soumis à un gradient thermique linéaire.

⁴ Isolée par le naturaliste suédois Carl Linnæus en 1758.

⁵ Isolée par le médecin français André Jean Baptiste Robineau-Desvoidy en 1830.

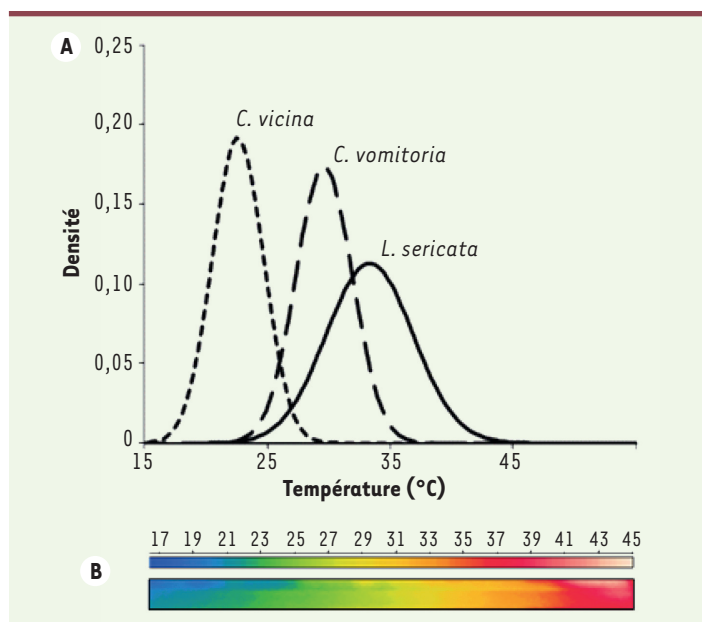


Figure 2. Courbe représentative de la fonction de densité. **A.** Distribution des larves des trois espèces le long du Thermograde. À la suite de résultats expérimentaux, l'aire sous la courbe représente la somme (égale à 1) des probabilités d'observer, lors de prochains tests, une larve à la température sélectionnée sur l'intervalle 15-45 degrés. Lors de prochains tests, il y aura davantage de chances d'observer, au sein du Thermograde, une larve de *L. sericata* aux alentours de 33 degrés qu'à une autre température. **B.** Photographie thermique du Thermograde en vue du dessus.

effet que les insectes se regroupent à une température déterminée mais que celle-ci dépend de l'espèce, avec une sélection de $33,3 \pm 1,5$ °C pour *L. sericata*, de $29,6 \pm 1,6$ °C pour *C. vomitoria*, et de $22,4 \pm 1,5$ °C pour *C. vicina* (Figure 2). Bien que ces températures élevées soient rares et saisonnières dans nos régions, il est justifié de penser que les larves puissent être en continuelle recherche de cette température sur un cadavre.

En effet, un corps en décomposition, en raison de l'activité bactérienne [23], de celle des larves [18], ou encore de son exposition lumineuse [24], présente des niveaux de température hétérogènes. Il peut ainsi présenter des « microclimats » où la température est supérieure à celle de son environnement [25]. Ces zones seraient donc potentiellement attractives pour les larves se développant sur le corps, modifiant ainsi leur historique thermique par rapport à la température ambiante.

Comportement thermique

Les larves des mouches Calliphoridae sont à la recherche de leur température préférentielle sur le corps : une stratégie de régulation thermique, qui permettrait d'optimiser leur développement, semble donc exister. La question se pose donc de savoir si ce comportement de régulation thermique permet également aux larves de se prémunir des températures extrêmes. En effet, du fait de l'augmentation de chaleur due aux masses de larves, il n'est pas rare d'observer, au sein d'un agrégat, des tempé-

ratures très élevées pouvant dépasser le seuil létal supporté par les individus [8]. Il a longtemps été postulé que le déplacement des larves leur permettait de se refroidir, en périphérie de l'agrégat, avant qu'elles ne réintègrent le centre, point le plus chaud de la masse. La température qu'elles rencontrent au sein même de la nourriture qu'elles prélèvent a un impact sur leur comportement [26]. En effet, en utilisant un logiciel de suivi vidéo, l'analyse du comportement d'une larve de *L. sericata* soumise à de la nourriture chauffée à 25 °C (expérience témoin), à 34 °C (température préférentielle de l'espèce [22]) ou à 38 °C (température létale pour l'espèce [8]) a montré que les larves pouvaient se nourrir quelle que soit la température de la nourriture fournie. Cependant, dans les conditions de températures élevées, le temps total passé dans la zone nutritive et la durée de chaque passage des larves sont diminués. Dans ces conditions, les asticots se nourrissent donc rapidement, puis s'éloignent de la zone chaude pour se placer dans des conditions de température plus faible, limitant ainsi leur exposition aux températures extrêmes. Un comportement de régulation thermique fort semble donc exister. Ces observations confirment celles montrant un *turn-over* continu au sein des masses larvaires [27]. Elles corroborent l'hypothèse d'une stratégie permanente d'optimisation thermique chez les larves de diptères nécrophages.

Il est cependant important de garder à l'esprit que les larves forment continuellement des groupes et qu'il existe, en plus de la température, un potentiel effet des congénères sur les comportements individuels, aboutissant à l'émergence d'un choix collectif différent de la somme des décisions individuelles.

Impact des congénères sur le comportement

Les congénères et le groupe peuvent avoir un effet sur le comportement individuel des larves, affectant ainsi leurs choix sur le cadavre et leur thermorégulation. Le groupe a un effet attractif sur les individus [28], orientant la larve dans son choix de localisation et donc, potentiellement, de température. Le groupe a également un effet rétentif [29]. Il limite le déplacement de la larve pouvant l'empêcher de quitter la zone dans laquelle se situe l'agrégat. Ces effets de groupe sont observables pour des interactions homo-spécifiques (entre mêmes espèces) et hétérospécifiques (entre espèces différentes). La taille du groupe semble néanmoins plus importante que la nature de l'espèce présente au sein de l'agrégat.

Ces phénomènes d'attraction, de rétention et de dégage- ment thermique, produits par les masses larvaires, permettent donc l'apparition de « boucles de

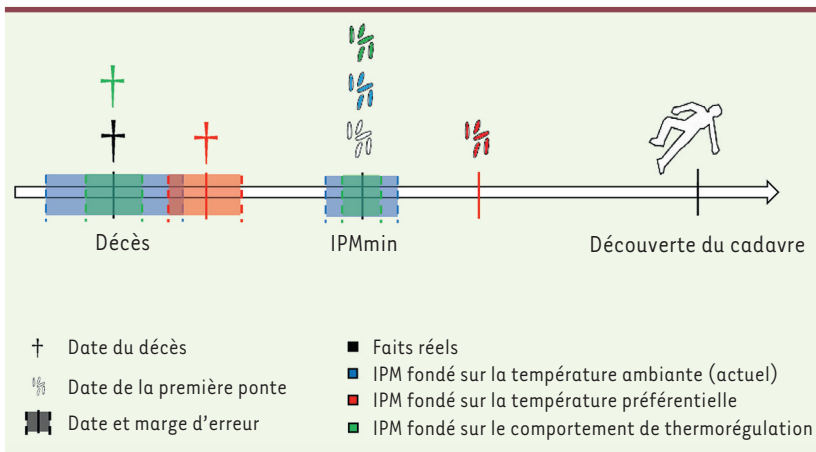


Figure 3. Représentation des estimations de la date du décès en fonction du paramètre utilisé pour le calcul de l'IPM minimum. En noir, ce qui s'est réellement passé. En bleu, le calcul actuel, en utilisant la température ambiante et les marges d'erreur associées. En rouge, le calcul en utilisant la température préférentielle qui surestime la vitesse de développement. En vert, le calcul en utilisant le comportement de thermorégulation qui permet de réduire la marge d'erreur et d'affiner l'expertise. IPM : intervalle post-mortem.

renforcement » aboutissant à l'auto-amplification du phénomène de groupe, ce qui augmente les bénéfices du groupe et optimise le développement larvaire : plus le groupe sera important, plus il émettra de chaleur et plus il sera attractif pour les individus. Il est donc finalement difficile de connaître avec certitude l'historique thermique d'une larve. Il dépendra non seulement de son comportement, mais également d'un ensemble d'interactions complexes entre les individus et l'environnement local de l'agrégat.

Thermorégulation et application à l'expertise

L'expertise entomologique est réalisée en utilisant la température ambiante comme référence (évaluée par des thermostats en condition intérieure, ou des stations météorologiques, quand il s'agit de l'extérieur [30]). Les études qui ont permis de déterminer les durées de développement des espèces à différentes températures ont été, jusqu'à présent, réalisées dans des conditions stables, contrôlées, dans lesquelles les fluctuations de température reposaient sur la précision d'incubateurs (Figure 3). Ces données ne reproduisent donc pas l'effet réel de la température ambiante sur le développement larvaire. Elles ne prennent pas en compte l'émission de chaleur au sein des agrégats, le comportement de thermorégulation des larves, ni l'impact des congénères sur le groupe. Connaître avec précision l'historique thermique des larves se développant sur un corps est donc difficile avec ces paramètres pré-déterminés. L'estimation de l'IPM inclut, dans le protocole actuel de datation, une marge d'erreur qui est appropriée. Cependant, l'utilisation de la température ambiante comme référence ne semble donc pas adaptée aux conditions précises d'expertises. Bien que les larves soient en recherche, sur le cadavre, de leur température préférentielle, ou d'une zone s'en rapprochant, l'utilisation de la température ambiante comme unique paramètre pour la détermination de la date de mort reste imprécise : il est en effet nécessaire de connaître l'historique de la cartographie thermique de la victime (la chronologie des températures présentes dans toutes les zones du cadavre) (Figure 3). Il est de plus indispensable que cette température soit toujours mesurable sur le corps en décomposition. Ce paramètre, qui dépend de nombreux phénomènes comme l'activité bactérienne ou l'ensoleillement, n'est, à ce jour, absolument

pas prédictible. Elle ne permet donc pas de mettre en évidence de potentielles zones sur le cadavre qui soient attractives pour les larves.

Les recherches actuelles tentent d'affiner les connaissances sur le comportement complexe de thermorégulation des larves en déterminant de nouveaux paramètres. Il est ainsi important de connaître le réel impact des congénères sur les individus et de confronter cet effet à celui qu'a la température sur ces individus. Soumettre une larve à ces deux paramètres simultanément devrait permettre de comprendre comment les larves réagissent face à un groupe ou une nouvelle zone de température optimale et ainsi, de distinguer un strict choix, d'un compromis. Il est également important de connaître avec précision le développement des larves dans des conditions qui leur permettent d'exprimer leurs comportements de thermorégulation dans toute leur complexité. Ceci permettra d'identifier des divergences pouvant exister avec les données actuelles relatives au développement des larves, qui sont, jusqu'à présent, fondées sur des expériences de privation de leur capacité de régulation thermique. Ces nouvelles données permettront d'introduire le comportement de thermorégulation dans le calcul de l'intervalle post-mortem minimum et ainsi d'augmenter la précision de la datation du décès, en réduisant la marge d'erreur tolérée pour l'expertise (Figure 3).

Le grégarisme étant le premier stade de socialité, ce comportement est fortement étudié chez d'autres arthropodes et insectes [18]. De fortes similitudes sont en effet retrouvées entre les espèces grégaires. Il est donc possible d'appliquer les théories proposées à d'autres modèles animaux. Parallèlement, les larves de *L. sericata* sont utilisées en asticothérapie⁶ [31]. En effet, ces larves assainissent les plaies en les désinfectant et

⁶ Thérapie fondée sur l'utilisation des larves pour réduire les tissus nécrosés en particulier.



en facilitant la cicatrisation. Apporter de nouvelles données sur le comportement des asticots permettrait donc non seulement d'améliorer le protocole actuel d'expertise, mais également d'optimiser l'utilisation de ces larves dans ce domaine médical.

Généralement considérés comme rebutants et associés à la pourriture, les asticots représentent pourtant une source pour appréhender les phénomènes sociaux et les stratégies évolutives. La compréhension de leur comportement est également importante pour des applications dans des domaines comme la justice ou la médecine. Poursuivre ces recherches devrait conduire, sur le long terme, à affiner les protocoles d'expertises et médicaux, facilitant ainsi leur utilisation au quotidien. ♦

SUMMARY

Thermoregulation behavior in necrophagous dipteran larvae

The forensic entomology is the use of insects to date the death. The forensic expert assessment is based on the development of necrophagous insects which are growing on the cadaver, to calculate their age and then estimate the Post-Mortem Interval. This development depends on a number of parameters like temperature, species or behavior. The French Forensic Taphonomy unit, the only expert team on the subject in France, works on the biology, physiology and ethology of the necrophagous insects. Their works are focused on thermoregulation behavior and thermal preferendum of maggot masses, aggregation phenomenon and social interaction or on food intake. These works are particularly of interest to understand the pre-social parameters and evolution strategies. More importantly, their aim is to better understand the development of necrophagous insects and, *in fine*, to improve the forensic expert assessment. ♦

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Hédouin V, Gosset D. Médecine légale et datation du décès. In : Charabidzé D, Gosselin M, eds. *Insectes cadavres et scènes de crime*. Louvain-La-Neuve : De Boeck, 2014 : 39-42.
- Henssge C, Madea B. Estimation of time since death. *Forensic Sci Int* 1992 ; 165 : 182-4.
- Dekeirsschieter J, Verheggen F, Haubruge E. Écologie chimique du cadavre. In : Charabidzé D, Gosselin M, eds. *Insectes cadavres et scènes de crime*. Louvain-La-Neuve : De Boeck, 2014 : 43-56.
- Charabidzé D, Gaudry EF. In : Tomberlin JK, Benbow ME, eds. *Forensic entomology international dimensions and frontiers*. New York : CRC Press, 2016 : 117-26.
- Chapman RF. Thermal relations. In : Simpson SJ, Douglas AE, eds. *The insects structure and functions*. Cambridge : Cambridge University Press, 2013 : 588-621.
- Anderson GS. Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *J Forensic Sci* 2000 ; 45 : 824-32.
- Charabidzé D, Bourel B, Morvan G et al. ForenSeek, un programme de simulation et d'expertise dédié à l'entomologie médico-légale. *J Med Leg Droit Med* 2008 ; 51 : 131-40.
- Grassberger M, Reiter C. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera : Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Sci Int* 2001 ; 120 : 32-6.
- Wells JD, Lamotte LR. Estimating the postmortem interval. In : Byrd JH, Castner JL, eds. *Forensic entomology, the utility of arthropods in legal investigations*. New York : CRC Press, 2010 : 367-88.
- Campobasso CP, Introna F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci Int* 2001 ; 120 : 18-27.
- Abbott CE. The development and general biology of *Creophilus villosus* (Grav.). *J New York Entomol S* 1937 ; 46 : 49-52.
- Anderson RS. Ressource partitioning in carrion beetle (Coleoptera : Silphidae) fauna of southern Ontario : ecological and evolutionary consideration. *Can J Zool* 1982 ; 60 : 1314-25.
- Erzincliglu YZ. Immature stages of British *Calliphora* and *Cynomya* with a re-evaluation of the taxonomic characters of larval Calliphoridae (Diptera). *J Nat Hist* 1985 ; 19 : 69-96.
- Aubernon C, Boulay J, Charabidzé D. Comportement et développement des larves nécrophages. In : Charabidzé D, Gosselin M, eds. *Insectes cadavres et scènes de crime*. Louvain-La-Neuve : De Boeck, 2014 : 79-90.
- Godoy WAC, von Zuben CJ, dos Reis SF. Larval dispersal in *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Dipt., Calliphoridae) : ecological implications of aggregation behavior. *J Appl Entomol* 1996 ; 120 : 423-6.
- Rivers DB, Thompson C, Brogan R. Physiological trade-offs of forming maggot masses by necrophagous flies on vertebrate carrion. *B Entomol Res* 2011 ; 101 : 599-611.
- Courchamp F, Clutton-Brock T, Grenfell B. Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends Ecol Evol* 1999 ; 14 : 405-10.
- Charabidzé D, Bourel B, Gosset D. Larval-mass effect: characterisation of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera : Calliphoridae) larval aggregates. *Forensic Sci Int* 2011 ; 211 : 61-6.
- Costa JT. *The other insect societies*. Cambridge : Harvard University Press, 2006 : 768 p.
- Tarone AM, Picard CJ, Spiegelman C, Foran DR. Population and temperature effects on *Lucilia sericata* (Diptera : Calliphoridae) body size and minimum development time. *J Med Entomol* 2011 ; 48 : 1062-8.
- Zamudio KR, Huey RB, Crill WD. Bigger isn't always better: body size, developmental and parental temperature and male territorial success in *Drosophila melanogaster*. *Anim Behav* 1995 ; 49 : 671-7.
- Aubernon C, Boulay J, Hédouin V, Charabidzé D. Thermoregulation in gregarious dipteran larvae: evidence of species-specific temperature selection. *Entomol Exp Appl* 2016 ; 160 : 101-8.
- Goff L. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Exp Appl Acarol* 2009 ; 49 : 21-36.
- Anderson GS. Comparison of decompositions rates and faunal colonization of carrion in indoor and outdoor environments. *J Forensic Sci* 2011 ; 56 : 136-42.
- Joy JE, Herrell ML, Rogers P. Larval fly activity on sunlit versus shaded raccoon carrion in southwestern west Virginia with special reference to the black blowfly (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol* 2002 ; 39 : 392-7.
- Podhorna J, Aubernon C, Borkovcova M, et al. To eat or get heat : behavioral trade-offs between thermoregulation and feeding in gregarious necrophagous larvae. *Insect Sci* 2017 ; doi: 10.1111/1744-7917.12465.
- Charabidzé D, Hédouin V, Gosset D. Discontinuous foraging behavior of necrophagous *Lucilia sericata* (Meigen 1826) (Diptera : Calliphoridae) larvae. *J Insect Physiol* 2013 ; 59 : 325-31.
- Boulay J, Devigne C, Gosset D, Charabidzé D. Evidence of active aggregation behavior in *Lucilia sericata* larvae and possible implication of a conspecific mark. *Anim Behav* 2013 ; 85 : 1191-7.
- Boulay J, Deneubourg J-L, Hédouin V, Charabidzé D. Interspecific shared collective decision-making in two forensically important species. *P Roy Soc B* 2016 ; 283 : 1824.
- LeBlanc H. Réalisation des prélèvements entomologiques. In : Charabidzé D, Gosselin M, eds. *Insectes cadavres et scènes de crime*. Louvain-La-Neuve : De Boeck, 2014 : 91-104.
- Domp martin-Blanchère A. Intérêt de la larvothérapie dans le traitement des plaies chroniques. *Rev Fr Ger Geronto* 2007 ; 14 : 72-4.

TIRÉS À PART

C. Aubernon