



HAL
open science

Etude de la biologie des insectes nécrophages et application à l'expertise en entomologie médico-légale

Damien Charabidze

► **To cite this version:**

Damien Charabidze. Etude de la biologie des insectes nécrophages et application à l'expertise en entomologie médico-légale. Sciences du Vivant [q-bio]. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2008. Français. NNT: . tel-00343660

HAL Id: tel-00343660

<https://theses.hal.science/tel-00343660>

Submitted on 2 Dec 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Lille 2

THÈSE

Présentée en vue d'obtenir le grade de

DOCTEUR en BIOLOGIE

par

Damien CHARABIDZÉ

DOCTORAT DÉLIVRÉ PAR L'UNIVERSITÉ DE LILLE 2

Étude de la biologie des insectes nécrophages Et application à l'expertise en entomologie médico-légale

Soutenue le 20/11/2008 devant le jury d'examen :

Président	Pr. D. GOSSET	(IML – Université Lille 2)
Rapporteur	Pr. D. CHERIX	(LEE - Université de Lausanne)
Rapporteur	Pr. J.L. DENEUBOURG	(LES - Université Libre de Bruxelles)
Membre	Pr. D. DUPONT	(ERASM – HEI)
Membre	Dr. A. NEL	(DES - MNHN)
Co-directeur de Thèse	Dr. B. BOUREL	(LES - Institut Catholique de Lille)
Directeur de Thèse	Pr. V. HEDOUIN	(IML - Université Lille 2)

Thèse préparée au sein du laboratoire d'Entomologie de l'Institut de Médecine Légale

École Doctorale Biologie et Santé, Équipe d'accueil 3609

REMERCIEMENTS

Cette thèse est dédiée :

A Gaëlle, en remerciement de sa patience et de son soutien,
A mes parents, pour leur compréhension et leur stoïcisme,
A Elise, dont la thèse ne saurait tarder,
A Benoît... pour tout le reste.

Cette recherche a été réalisée avec le soutien financier de la Fondation Norbert Segard.

L'auteur tient à remercier l'ensemble des membres du jury (international !) pour leur intérêt et leurs conseils.

Daniel, Alexandre, Gildas & Robin : travailler avec vous est un plaisir !

Un grand merci également à toutes les personnes, et elles sont nombreuses, qui ont participé directement ou indirectement à ce travail.

RÉSUMÉ

Lors de la découverte d'un corps, les enquêteurs ont besoin de déterminer précisément la date et l'heure du décès. La médecine légale doit fournir cette information grâce à l'étude des caractéristiques du cadavre et de son état de décomposition. Cependant, ces techniques ne sont efficaces que durant une courte période, et passés quelques jours après le décès, l'estimation de l'intervalle *post mortem* (IPM) devient délicate et imprécise. Dans ce cas, il est possible de recourir à l'entomologie médico-légale, technique consistant à étudier l'entomofaune nécrophage retrouvée sur le corps afin d'estimer la date de la mort. L'objectif est alors de dater les premières pontes en calculant l'âge des insectes prélevés.

La présente étude vise en premier lieu à améliorer les connaissances fondamentales quant au développement et au comportement des principales espèces de diptères nécrophages. Les expériences réalisées portent sur l'évolution saisonnière des populations d'insectes nécrophages, les variations intrinsèques de la vitesse de développement des larves, leur vitesse de déplacement, la structuration et le comportement des agrégats larvaires, ainsi que le comportement thermique du cadavre. Pour chacun de ces points, une étude bibliographique approfondie a été réalisée. Le dispositif expérimental ainsi que les résultats obtenus sont présentés puis analysés et replacés dans le contexte de l'entomologie médico-légale.

Les données et observations obtenues au cours de ces recherches ont également constitué la base de développement d'un modèle informatique simulant le comportement et le développement des larves de diptères nécrophages sur un corps. Outre son aspect explicatif, cet outil de simulation constitue le premier niveau d'un système d'analyse plus vaste. Destiné à la réalisation d'expertises en entomologie médico-légale, ce programme permet d'estimer, à partir de la comparaison entre résultats de simulations et prélèvements effectués sur un corps, le moment de la mort et la marge d'erreur de cette estimation.

Cette thèse répond ainsi à un double objectif : enrichir les connaissances concernant certains aspects de la biologie des insectes nécrophages, et améliorer la précision et la fiabilité des expertises entomologiques grâce au développement de méthodes informatiques de raisonnement et d'analyse.

ABSTRACT

When a cadaver is discovered, investigators need to determine precisely the date and time of death. This information is provided by forensic examiners through the study of cadaver characteristics and decomposition state. However, these techniques are effective only during a few days after the death. After this delay, the *post mortem* interval (PMI) estimation based on these parameters becomes difficult and imprecise. In this case, is it possible to use forensic entomology, the analysis of necrophagous insects sampled on the cadaver to estimate the time of the death. The main goal is to date the first eggs layed on the cadaver by calculating the age of sampled insects.

The first aim of the present study is to improve the knowledge about the behaviour and the development of necrophagous dipterans. Experiments performed cover the seasonal trend in necrophagous insects populations, variations in the intrinsic speed of development of larvae, their displacement speed, the structure and behaviour of maggot masses, and the thermal behaviour of corpses. For each of these points, a detailed literature review was conducted. Material, methods and the results are detailed and analyzed, and replaced in the forensic entomology application field.

The data and observations obtained during this research have also formed the basis for a computer based development model, which simulates the development and behaviour of dipterans necrophagous larvae on a body. In addition to its explanatory function, this simulation tool is the first level of a bigger reasoning system. Designed to achieve expertise in forensic entomology, this program can estimate the moment of death from the comparison between simulations results and specimens sampled on a body.

Thus, this thesis focuses on a dual goal: to increase the knowledge on the biology of necrophageous insects, and to improve the accuracy and reliability of entomological expertises through the development of computer analysis.

CONTENU

INTRODUCTION	10
I. PREMIÈRE PARTIE : CONTEXTE	13
A. Rôle et biologie des insectes nécrophages	15
A.1. Dégradation des matières organiques	15
A.1.a. Le recyclage des matières organiques	16
A.1.b. Processus de décomposition d'un corps	19
A.1.c. Rôle des insectes	22
A.2. Populations d'insectes nécrophages et colonisation d'un corps	24
A.2.a. Aperçu systématique des insectes associés aux cadavres	24
A.2.b. Détection d'un corps et déclenchement des pontes	27
A.2.c. Succession des espèces et notion d'escouades	29
A.3. Développement des larves de diptères nécrophages sur un corps	33
A.3.a. Cycle de développement	33
A.3.b. Grégarisme et augmentation locale de température	35
A.3.c. Alimentation et compétition inter-individuelle	38
A.4. Synthèse : le cadavre en tant qu'écosystème	44
B. Utilisation des insectes nécrophages pour dater le décès	47
B.1. Médecine légale, entomologie et datation des corps	47
B.1.a. Datation des corps en médecine légale	48
B.1.b. Apports de l'entomologie médico-légale	51
B.1.c. Aperçu historique de la méthode entomologique	56
B.2. Principes et méthodes en entomologie médico-légale	58
B.2.a. Réalisation des prélèvements et scellés	59
B.2.b. Relation entre la vitesse de développement et la température	64
B.2.c. Méthode de datation dans le cas d'un intervalle <i>post mortem</i> court	69
B.2.d. Autres méthodes de datation	72
B.3. Conclusions quant à l'entomologie médico-légale	75
C. Synthèse	76
II. SECONDE PARTIE : PROBLÉMATIQUES & EXPÉRIMENTATIONS	78
D. Populations d'insectes nécrophages	82
D.1. État des connaissances	82
D.1.a. Variabilité temporelle des insectes attirés par un corps en décomposition	83
D.1.b. Modèles populationnels	86
D.2. Protocole expérimental	88
D.2.a. Matériel et méthodes de piégeage	88
D.2.b. Traitement des données	90

D.3. Résultats et analyse	91
D.3.a. Espèces récoltées et sex-ratio	91
D.3.b. Effets du climat et périodes préférentielles d'activité	94
D.4. Modélisation	97
D.5. Discussion et conclusion	102
E. Vitesse de développement des larves de diptères nécrophages	108
E.1. Connaissances actuelles	108
E.1.a. Observation et caractérisation de la vitesse de développement des insectes	108
E.1.b. Variabilité inter-individuelle du temps de développement	109
E.2. Synthèse des données publiées et perspectives	111
E.2.a. Création d'une base documentaire et analyse des données publiées	111
E.2.b. Perspectives liées à l'utilisation d'une base de données	116
E.3. Étude et modélisation de la variabilité des vitesses de développement	117
E.3.a. Étude des vitesses individuelles de développement	117
E.3.b. Modélisation de la variabilité	120
E.3.c. Conclusion	126
F. Vitesse de déplacement des larves de diptères nécrophages	129
G. Caractérisation de la structure et du comportement thermique des masses de larves	135
G.1. Etat des connaissances	135
G.1.a. Observations et interprétations	135
G.1.b. Premières expériences et structure des masses de larves	137
G.2. Nouveaux résultats et analyse	139
G.2.a. Structure des masses et origine du dégagement thermique	139
G.2.b. Enregistrements de température en conditions contrôlées	147
G.3. Discussion	153
H. Inertie thermique d'un cadavre	157
H.1. Introduction	157
H.1.a. Importance de la température du corps en médecine légale	157
H.1.b. Modèles thermiques	160
H.2. Modélisation de l'inertie thermique d'un cadavre	163
H.2.a. Principe des automates cellulaires	163
H.2.b. Modélisation du corps humain	164
H.2.c. Règles de transfert thermique	165
H.3. Validation expérimentale	167
H.3.a. Comparaison avec le modèle de référence	167
H.3.b. Simulation de la température interne d'un cadavre de porc	167
H.4. Comparaisons in silico	169
H.5. Discussion et conclusions	172
H.5.a. Validité et utilisation du modèle en médecine légale	172
H.5.b. Conséquences sur la vitesse de développement des insectes nécrophages	174
I. Problématiques & expérimentation : synthèse	179

III. TROISIÈME PARTIE : FORENSEEK, UN PROGRAMME DE SIMULATION ET D'AIDE A LA DÉCISION DÉDIÉ À L'ENTOMOLOGIE MÉDICO-LÉGALE 180

J. Objectifs et méthodes 181

J.1. Place de la simulation dans l'expertise entomologique	183
J.1.a. Méthodes d'analyse	183
J.1.b. Rôle d'un outil d'aide à la décision	187
J.2. Structure du projet ForenSeek	190
J.2.a. Simulation du développement des insectes nécrophages	190
J.2.b. Architecture globale du système	194

K. Modélisation de l'entomofaune nécrophage et de son environnement 197

K.1. Introduction à la simulation et aux systèmes multi-agents	197
K.2. Cadavre et colonisation	201
K.2.a. Le corps et son environnement	201
K.2.b. Populations de diptères et règles de ponte	203
K.3. Développement et comportement des larves	205
K.3.a. Vitesse et état de développement	205
K.3.b. Cycle comportemental	208
K.3.c. Effet des masses de larves	213

L. Résultats et discussion 217

L.1. Analyse des résultats de simulation et datation du décès	217
L.1.a. Gestion des simulations, abduction et heuristique	218
L.1.b. Sous-modèles de simulation et fusion de données	222
L.2. Discussion et perspectives	226
L.2.a. Limites de l'approche	226
L.2.b. Validation	233

M. Modélisation : synthèse 238

V. CONCLUSION 241

IV. PERSPECTIVES 245

BIBLIOGRAPHIE 249

ANNEXES 261

INTRODUCTION

Lors de la découverte d'un cadavre, les enquêteurs ont besoin de déterminer précisément la date et l'heure du décès. Grâce à l'étude des caractéristiques du corps et de son état de décomposition, la médecine légale peut généralement fournir cette information. Ainsi, la présence de rigidités cadavériques, l'étude des lividités ou la mesure de la température rectale sont autant de méthodes permettant d'estimer précisément l'heure du décès. Cependant, ces techniques ne sont efficaces que durant une courte période : passés quelques jours après le décès, l'estimation de l'intervalle *post mortem* (IPM) par les critères thanatologiques classiques devient délicate et imprécise. La seule méthode fiable permettant de dater le décès est alors l'entomologie médico-légale. Cette branche de l'entomologie, rattachée aux sciences criminelles, s'intéresse à l'étude des insectes nécrophages pour estimer le délai écoulé depuis le décès.

La réalisation d'une expertise est un processus délicat. Elle nécessite une parfaite connaissance de la biologie et de l'écologie des insectes et des caractéristiques de l'environnement durant leur développement. La première étape consiste à prélever sur le corps un échantillon représentatif de l'entomofaune, puis à identifier les espèces récoltées et leurs stades de développement.

Lorsque le cadavre est découvert peu de temps après le décès, seuls les insectes les plus précoces (espèces pionnières) ont pu coloniser le cadavre. Dans ce cas, l'objectif est de déterminer précisément l'âge des individus prélevés. La vitesse de croissance des larves étant principalement contrôlée par la température, il est en effet possible de calculer la durée nécessaire au développement d'un stade. Elle est

déterminée par des relations mathématiques issues de données expérimentales et liant temps et température. Une fois déterminé, l'âge des insectes révèle ainsi le moment des premières pontes. On considère dans la majorité des cas que, lorsque la température est suffisamment élevée, les premiers colonisateurs arrivent sur le corps dans les douze heures suivant la mort. L'heure de ponte estimée correspond alors à celle du décès à cet intervalle près. Cependant, lorsque les températures sont très basses ou lorsque le corps n'est pas accessible, le décès et l'arrivée des premiers insectes peuvent être distants de plusieurs jours. Dans tous les cas, l'IPM estimé est toujours un IPM minimum.

Lorsque le décès remonte à quelques semaines ou quelques mois, plusieurs vagues d'insectes se sont généralement développées sur le corps. Il est alors nécessaire de calculer à la fois le temps de développement de chaque génération, mais également de reconstituer dans quel ordre les espèces se sont succédées. Contrairement à l'idée répandue, il n'existe pas de successions «standard» permettant de dater le décès : une parfaite connaissance de la biologie des espèces nécrophages et de leur environnement est nécessaire. Le principe est d'associer à chaque espèce et stade une période durant laquelle les conditions climatiques et l'état du corps étaient compatibles avec le développement. Ce travail est délicat et la précision des conclusions dans ce type d'expertise se chiffre en semaines.

Dans tous les cas, la datation du décès sur la base de l'entomofaune nécrophage fait appel à un ensemble complexe de connaissances et de méthodes. Le but est d'assurer un maximum de fiabilité à l'analyse tout en conservant sa précision. En effet, les conclusions d'une expertise peuvent être citées dans le cadre d'un procès, et doivent donc être à la fois fiables et exemptes de toute ambiguïté scientifique.

Pionnier en Europe et seule structure française de recherche et d'expertise, le laboratoire d'entomologie médico-légale de Lille est un témoin privilégié de ces besoins. L'activité d'expertise entomologique, débutée il y a quinze ans, illustre les évolutions majeures traversées par le domaine. Si les premières datations effectuées se réfèrent à des méthodes aujourd'hui abandonnées et à un corpus limité de données, c'est que la recherche dans le domaine a depuis réalisé des avancées considérables. Les nombreuses études et observations dont la littérature se fait écho ont en effet permis une meilleure compréhension de la biologie des insectes et de l'ensemble de l'écosystème. Revers de la médaille, le spécialiste se retrouve confronté à une quantité croissante de données. Le problème de l'intégration de ces nouvelles informations aux techniques existantes de datation se pose alors. Comment tenir compte de ces connaissances dans le cadre d'une expertise ? Le manque de méthodes adaptées rend souvent impossible l'exploitation de ces avancées, tandis que le contexte juridique soulève le problème de la réfutabilité des datations déjà effectuées. Le développement d'outils pertinents basés sur des bases scientifiques solides et à même de répondre à ces problématiques est donc un enjeu majeur.

L'objectif de la présente étude est l'obtention d'un ensemble de données biologiques et le développement d'un outil informatique d'aide à la décision dédié à la réalisation d'expertises en entomologie médico-légale.

La première partie de ce travail présente de manière détaillée l'état actuel des connaissances concernant les principales espèces d'insectes nécrophages présentes en France. Les premières études et observations documentées datent du début du 20^{ème} siècle, et apportent des informations particulièrement utiles quant au comportement des larves de diptères nécrophages. Par la suite, ce type d'observations a été délaissé au profit d'études concernant majoritairement la

cinétique de développement des larves en fonction de la température et la succession des espèces sur un corps, car ce type de données est directement applicable dans le cadre de l'entomologie médico-légale. Il est de ce fait particulièrement intéressant de se reporter aux publications réalisées dans le cadre de l'écologie, de la modélisation ou aux revues vétérinaires, qui couvrent un champ de connaissances un peu en marge des études disponibles en entomologie médico-légale *stricto sensu*.

Les méthodes permettant l'utilisation des insectes prélevés sur un corps pour estimer le moment de la mort sont ensuite présentées. De nombreuses publications et monographies traitent de ce sujet de manière détaillée : il est cependant nécessaire de bien comprendre le processus de réalisation d'une expertise afin de mesurer les implications potentielles des travaux présentés dans la suite de cette thèse.

La seconde partie du travail réalisé s'appuie sur cet état des connaissances afin de mettre en évidence certains points mal connus de la biologie des larves de diptères nécrophages. Ceux-ci ont été retenus sur la base de leurs implications potentielles dans le cadre de l'entomologie médico-légale, mais également de leur adéquation avec le projet de modélisation présenté dans la dernière partie de cette thèse. Pour chacun des points étudiés, une étude bibliographique plus approfondie permet de replacer l'étude dans son contexte. Les expériences réalisées sont ensuite présentées, ainsi que les résultats obtenus. La discussion permet de synthétiser les apports de la recherche effectuée, et d'illustrer ses applications lors de la réalisation d'expertises. Ces différentes recherches ne constituent cependant pas uniquement une réponse circonstanciée à des problématiques particulières découlant de l'entomologie médico-légale. Elles s'inscrivent dans une démarche plus globale visant à considérer le développement des insectes sur un corps comme un élément central mais indissociable d'un ensemble plus vaste : l'écosystème constitué par le cadavre,

son environnement et l'entomofaune qui s'y développe. Un schéma de cet écosystème, rappelé au début de chaque partie, permet ainsi de replacer chaque élément de recherche dans son contexte.

Enfin, un programme de modélisation du développement des insectes sur un corps et d'aide à l'expertise en entomologie médico-légale, baptisé projet ForenSeek*, est détaillé. L'étude bibliographique ainsi que les expériences réalisées permettent en effet de mettre en évidence la complexité du système étudié et les failles du processus « traditionnel » de datation de la mort grâce aux insectes nécrophages. Ces limites sont inhérentes à la complexité du système, mais également à un manque de données et surtout de méthodes permettant d'intégrer certains paramètres fondamentaux au calcul du temps de développement des insectes. Les méthodes de raisonnement employées par les experts sont également limitées par les possibilités d'analyse de ces derniers. L'utilisation de l'outil informatique permet à la fois d'intégrer de nouveaux paramètres à l'analyse, et de disposer d'une grande puissance de calcul et de traitement de l'information. L'objectif du programme est donc double : permettre une prise en compte de l'ensemble des facteurs influençant la colonisation d'un corps et le développement des insectes et proposer un outil d'analyse plus précis et plus fiable, permettant notamment le calcul de la marge d'erreur lors de l'estimation du moment de la mort.

L'ensemble de la démarche présentée doit donc être considéré comme un tout ayant pour objectif une meilleure connaissance de l'entomofaune nécrophage et l'amélioration du processus d'expertise en entomologie médico-légale.

* Le nom ForenSeek vient de la contraction des termes "forensic", qui se réfère en anglais aux sciences criminelles, et du verbe "to seek" : chercher.

I. PREMIÈRE PARTIE : CONTEXTE

LA BIOLOGIE DES INSECTES NECROPHAGES ET LEUR UTILITE EN MEDECINE LÉGALE

I. PREMIÈRE PARTIE : CONTEXTE

A. Rôle et biologie des insectes nécrophages	15
A.1. Dégradation des matières organiques	15
A.1.a. Le recyclage des matières organiques	16
A.1.b. Processus de décomposition d'un corps	19
A.1.c. Rôle des insectes	22
A.2. Populations d'insectes nécrophages et colonisation d'un corps	24
A.2.a. Aperçu systématique des insectes associés aux cadavres	24
A.2.b. Détection d'un corps et déclenchement des pontes	27
A.2.c. Succession des espèces et notion d'escouades	29
A.3. Développement des larves de diptères nécrophages sur un corps	33
A.3.a. Cycle de développement	33
A.3.b. Grégarisme et augmentation locale de température	35
A.3.c. Alimentation et compétition inter-individuelle	38
A.4. Synthèse : le cadavre en tant qu'écosystème	44
B. Utilisation des insectes nécrophages pour dater le décès	47
B.1. Médecine légale, entomologie et datation des corps	47
B.1.a. Datation des corps en médecine légale	48
B.1.b. Apports de l'entomologie médico-légale	51
B.1.c. Aperçu historique de la méthode entomologique	56
B.2. Principes et méthodes en entomologie médico-légale	58
B.2.a. Réalisation des prélèvements et scellés	59
B.2.b. Relation entre la vitesse de développement et la température	64
B.2.c. Méthode de datation dans le cas d'un intervalle <i>post mortem</i> court	69
B.2.d. Autres méthodes de datation	72
B.3. Conclusions quant à l'entomologie médico-légale	75
C. Synthèse	76

Les insectes représentent environ 80% des espèces animales recensées, et sont présents dans l'ensemble des écosystèmes du globe, à l'exception du milieu marin. Leur taille varie de moins d'un millimètre à plusieurs dizaines de centimètres et leurs modes de vie sont également extrêmement diversifiés : on trouve parmi eux des phytophages, des parasites, des prédateurs, des xylophages, des coprophages... ainsi que des espèces nécrophages. Ces dernières jouent un rôle déterminant dans le recyclage des matières organiques animales au sein des écosystèmes.

Après un bref aperçu du rôle et de la position systématique des principales espèces d'insectes associées aux cadavres, les connaissances actuelles concernant la biologie et le développement de l'entomofaune nécrophage seront présentées. L'utilisation de ces données comme base d'une nouvelle branche au sein des sciences criminelles sera par la suite détaillée, ainsi que les méthodes permettant, sur la base des insectes prélevés sur un corps, d'estimer l'heure et les circonstances du décès.

A. Rôle et biologie des insectes nécrophages

A.1. Dégradation des matières organiques

Les insectes nécrophages peuvent être replacés dans un contexte plus vaste : celui du recyclage des matières organiques. Cette action, fondamentale dans l'ensemble des écosystèmes, reste cependant mal connue. Certains exemples permettent pourtant de mieux comprendre les nombreuses interactions et le rôle des différents acteurs impliqués dans le processus de décomposition et de redistribution de la matière morte.

« Pour expurger la terre des souillures de la mort et faire rentrer dans les trésors de la vie la matière animale défunte, il y a des légions d'entrepreneurs charcutiers. »

(Fabre 1923)

A.1.a. Le recyclage des matières organiques

La matière organique est constituée d'éléments tels que l'azote, l'oxygène et l'hydrogène structurés autour de squelettes carbonés. Sa composition varie suivant les organismes, mais elle est généralement caractérisée par sa capacité à être fragmentée, minéralisée puis réutilisée par certains êtres vivants : on parle de matière biodégradable.

Le principal constituant de la masse des êtres vivants, l'eau, est rapidement libéré par évaporation et écoulement à la mort des organismes. En revanche, la matière organique sèche va subir un processus de dégradation plus lent et plus complexe avant de retourner dans l'écosystème sous forme minérale, c'est à dire directement assimilable par les producteurs primaires que sont les végétaux. La vitesse de recyclage de cette biomasse (turn-over) dépend fortement des écosystèmes, et du type de matière en jeu. Ainsi, chez les animaux, certaines parties chitineuses comme la carapace des insectes ou les poils et les ongles des mammifères, ou des structures calcifiées comme les os, ont une persistance très importante tandis que les tissus « mous » sont dégradés et recyclés beaucoup plus rapidement. De même, chez les végétaux, les parties ligneuses (bois) persistent nettement plus longtemps dans l'écosystème que le parenchyme. Les organismes impliqués dans la dégradation de chaque type de tissus et la vitesse de réalisation du cycle sont propres à chaque écosystème et n'ont pas lieu d'être détaillés ici. Il est cependant intéressant d'observer que les processus de dégradation restent globalement similaires et sont toujours dépendants de deux catégories d'organismes :

- les détritivores, qui vont se nourrir de tissus animaux ou végétaux morts, et ainsi fragmenter le substrat et amorcer sa dégradation. Une partie importante de la

matière organique ingérée est convertie en biomasse et en énergie directement exploitée par l'organisme. Le reste est excrété dans l'environnement.

- les décomposeurs, microorganismes qui achèvent la minéralisation des éléments rejetés par les détritivores.

Les études concernant le rôle des détritivores et décomposeurs au sein des écosystèmes sont relativement récentes. Elles représentent cependant un enjeu économique et écologique important. En effet, le recyclage des matières organiques occupe une place fondamentale dans les écosystèmes en contrôlant directement les ressources nécessaires aux producteurs primaires. De plus, la présence de ces organismes est un bon indicateur de l'activité et de l'état de santé d'un milieu. Ce rôle en tant que maillon élémentaire de la chaîne trophique a par exemple été mis en évidence lors d'études sur l'ivermectine, un traitement anti-parasitaire fréquemment employé dans les élevages bovins (Halley *et al.* 1993, Ridsdill-Smith 1993, Strong 1993, Wardhaugh *et al.* 1993, Iglesias *et al.* 2006). Ces analyses ont mis en évidence un double effet du traitement sur les populations de vers (lombrics et nématodes) et d'insectes coprophages, et sur la vitesse de dégradation des excréments. Cet impact, mesurable à court terme, a permis la mise en place d'indicateurs de toxicité destinés à évaluer l'effet de ces traitements sur les organismes détritivores et l'impact potentiel à plus long terme sur le recyclage des matières organiques dans les zones de pâturages (King 1993, Boxall *et al.* 2007).

Le rôle fondamental des vers de terre sur l'activité des décomposeurs et le recyclage des matières organiques du sol a également été prouvé et illustre bien la complémentarité entre acteurs biologiques et caractéristiques physico-chimiques (Drake & Horn 2007). L'activité géophage de ces vers se traduit également par une

forte exposition aux polluants du sol et une accumulation de ceux-ci dans les tissus. Leur présence est donc non seulement un indicateur de la qualité des sols et de la richesse du milieu, mais également un outil précieux d'étude quantitative de la pollution d'un milieu (Römbke *et al.* 2005, Kammenga *et al.* 2007). De même, l'étude des populations de coléoptères saproxyliques (liés au cycle de décomposition du bois) est un bon indice de l'âge et de l'état de santé du peuplement forestier (Brustel 2001).

Si le rôle des détritivores est désormais prouvé et reconnu, le cas particulier de la dégradation des cadavres par la faune nécrophage a fait l'objet d'un nombre restreint d'études écologiques à grande échelle. L'importance de ces « éboueurs entomologiques bénévoles » est ainsi mentionnée par Marcel Leclercq, expert belge et pionnier de l'entomologie médico-légale en Europe, dans un article de 1992 (Leclercq & Verstraeten 1992). Dans une étude plus récente et plus détaillée, Carter avance le chiffre de 5000 kg de cadavres introduits par km² et par an dans certains écosystèmes, soit plus de 1% de la matière organique totale entrante (Carter *et al.* 2007). Bien que la majorité des milieux soit très probablement en dessous de cette valeur, il semble évident que l'impact de cette biomasse ne peut être négligé (Towne 2000, Carter *et al.* 2007).

A.1.b. Processus de décomposition d'un corps

La décomposition d'un cadavre est un processus physico-chimique complexe dépendant à la fois des caractéristiques propres du corps, de son environnement et des facteurs climatiques. La branche de la médecine légale spécialisée dans l'étude de ces phénomènes est appelée taphonomie (Efremov 1940, Haglund & Sorg 1997). L'analyse de la séquence caractéristique conduisant à la dégradation intrinsèque d'un cadavre permet de mieux comprendre la variabilité spatiale et temporelle de ce « milieu » particulier. Les phases et durées indiquées ci-après correspondent à un cadavre se décomposant en conditions standard (corps allongé sur le sol, température constante, corpulence moyenne, etc.) et sont données à titre indicatif, le processus de décomposition étant susceptible de varier fortement suivant ces différents paramètres.

La décomposition d'un corps humain débute quelques minutes seulement après le décès (Vass 2001). L'absence d'oxygène entraîne une acidification du sang tandis que les enzymes cellulaires amorcent le processus d'autolyse des tissus. La rapidité de ce phénomène dépend des types de tissus et de leur concentration en eau, mais il est généralement visible au bout de quelques jours. Parallèlement, la rigidité cadavérique se forme habituellement dès trois à quatre heures après le décès, puis disparaît rapidement lorsque la putréfaction débute. De même, les lividités caractéristiques induites par l'absence de circulation sanguine traduisent de profonds changements physico-chimiques. Ces phénomènes sont très utilisés dans le cadre de la médecine légale pour estimer l'heure du décès.

Cette première phase de dégradation entraîne le développement d'une forte activité des micro-organismes (bactéries et champignons principalement) qui se multiplient dans les fluides corporels riches en nutriments. Leur activité conduit à la dégradation de ces molécules organiques complexes en gaz et en fragments protéiques élémentaires. Cette activité s'accompagne de l'apparition d'une coloration verdâtre, observable notamment au niveau de l'abdomen, et d'un gonflement de cette même région sous l'effet des gaz accumulés. L'absence d'oxygène conduit à une activité de fermentation qui produit de l'acide butyrique et propionique (Gill-King *in* Haglund & Sorg 1997). Ces gaz finissent par s'échapper par les voies naturelles mais peuvent provoquer la rupture de l'abdomen.

La phase de putréfaction active débute ensuite ; elle se caractérise par la dégradation des muscles et la production d'acides gras volatils : indole, skatole, putrescine, cadavérine, etc. (Vass 2001, Dekeirsschieter *et al.* 2008). Ce processus peut s'accompagner de la formation d'adipocérose due à la dégradation des tissus gras par une faune bactérienne anaérobie particulière (genre *Clostridium*) (Dent *et al.* 2004). Cette phase est comparativement plus longue (quelques semaines). L'ensemble du processus de décomposition aboutit à une momification plus ou moins complète du corps : les zones les plus riches en eau et les plus fragiles sont décomposées tandis que la peau se déshydrate et se rétracte. La momification est d'autant plus importante et rapide que l'environnement du corps est sec et chaud (Haglund & Sorg 1997, Bourel *et al.* 2001, Tibbett *et al.* 2004, Carter & Tibbett 2006). Vass (2001) propose une formule issue de données expérimentales et permettant d'estimer la durée nécessaire à la squelettisation d'un corps humain en conditions standard :

$$\text{Temps (jours)} = 12825 / \text{Température moyenne (}^{\circ}\text{C)}.$$

La décomposition des os et de la peau devenue parcheminée est extrêmement lente : il s'agit d'un processus de minéralisation conduisant à la substitution d'éléments minéraux aux éléments organiques initialement présents. Ce processus peut s'étendre sur plusieurs années, mais est accentué par l'action du climat (chocs thermiques, gel) qui permet d'accélérer la fragmentation des restes du corps.

La subdivision de ce processus complexe en phases constantes et stéréotypées est délicate et encore très discutée : certains auteurs dénombrent seulement deux phases distinctes de décomposition (Howden *in* Payne 1965), d'autres quatre (Reed 1958), tandis que Mégnin en propose huit (Megnin 1894). En effet, selon les caractéristiques propres du cadavre, les conditions environnementales et climatiques (notamment la température) et l'intervention d'autres facteurs, dont les insectes, certaines phases de la décomposition seront plus ou moins longues, voir inexistantes (Hewadikaram & Goff 1991, Komar & Beattie 1998, Aturaliya & Lukasewycz 1999, Dent *et al.* 2004, Megyesi *et al.* 2005). De plus, les phénomènes impliqués dans la décomposition d'un cadavre diffèrent dans le cas de corps immergés, enfouis ou brûlés (Rodriguez *in* Haglund & Sorg 1997), et les critères permettant de définir une phase de décomposition varient selon les auteurs (âge, aspect, types d'insectes rencontrés, gaz dégagés, etc.). Si la caractérisation des différentes étapes intervenant lors de la décomposition d'un cadavre s'avère être un outil pratique et efficace, elle n'en reste donc pas moins une simplification importante de la multitude de processus biologiques et chimiques qui s'exercent.

A.1.c. Rôle des insectes

L'intervention des insectes dans le processus de décomposition influe notablement sur la vitesse de dégradation d'un cadavre (Payne 1965, Marchenko 1988, Carter *et al.* 2007). En 1767, Linné postulait déjà que « trois mouches peuvent consommer un cadavre de cheval aussi vite que le ferait un lion » (Linnaeus 1767). En 1965, Payne réalise une comparaison de la vitesse de dégradation de cadavres de porcs en présence ou en l'absence d'insectes. De fortes différences sont observées dans le processus et la vitesse de décomposition, ces phénomènes étant nettement ralentis sur les corps protégés de l'entomofaune nécrophage (figure 1). L'auteur explique cette différence par une dissémination importante des bactéries, une fragmentation mécanique et chimique (enzymes digestives) forte et une augmentation locale de température en présence de larves.

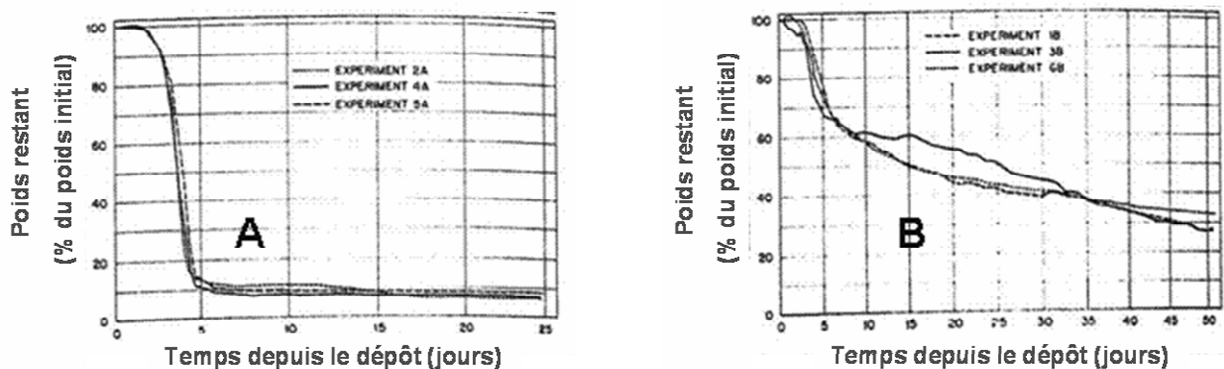


Figure 1

Evolution de la masse de cadavres de porcelets en présence (A) et en absence (B) d'insectes (Payne, 1965 – qualité du document d'origine).

A la suite de nombreuses années d'expérimentations et d'observations menées sur le terrain ainsi qu'au centre de recherche anthropologique de Knoxville (U.S.A.), Mann (1990) propose dans un article de synthèse une classification des différents facteurs affectant la vitesse de décomposition d'un corps. Le tableau ci-dessous (tableau 1) reprend ces différentes variables ainsi que les commentaires de l'auteur.

Paramètre	Impact	Commentaires de l'auteur
Température	5	Effet indirect sur l'activité des insectes.
Accès des insectes	5	La majorité de la destruction des tissus mous est due aux insectes.
Enfouissement	5	L'enfouissement ralentit la décomposition et facilite la squelettisation.
Charognards	4	L'action des chiens et des rongeurs peut briser et disperser les os.
Présence de plaies	4	La présence de plaies attire les insectes.
Humidité	4	Une humidité élevée est corrélée avec une forte activité des insectes.
Précipitations	3	Peu d'effet sur les larves mais fort impact sur les mouches adultes (pontes).
Poids et taille du corps	3	De manière surprenante, effet assez faible.
Embaumement	3	Altère le processus de décomposition et le ralentit.
Vêtements	2	Ils protègent les larves du soleil et conservent l'humidité.
Contact au sol	1	Dégradation plus rapide des corps en contact avec le sol, peut-être en rapport avec l'accès des insectes.

Tableau 1

Classification (sur une échelle allant de 1 à 5, 5 étant l'effet maximum) des facteurs affectant la vitesse de décomposition d'un cadavre (d'après Mann et al. 1990).

Ces conclusions montrent clairement le rôle fondamental joué par les insectes : qu'il s'agisse d'un effet direct ou d'une conséquence indirecte, sept des onze facteurs mentionnés ci-dessus sont liés à la possibilité de colonisation et de développement des insectes sur le corps.

A.2. Populations d'insectes nécrophages et colonisation d'un corps

*« Quand on voit des mouches, on peut dire : ça a été des vers,
Quand on voit des hommes, on peut dire : ça en sera. »*

Raymond Queneau, Foutaises

La colonisation d'un cadavre par les insectes nécrophages est un processus dynamique et variable. De très nombreux paramètres influent sur les populations de diptères, leurs comportements de ponte ou le développement de leurs larves. Bien que certains points restent mal compris, un certain nombre d'études (que nous détaillerons par la suite) ont permis de mettre en évidence les processus majeurs qui sous-tendent la dynamique du cadavre en tant qu'écosystème.

A.2.a. Aperçu systématique des insectes associés aux cadavres

Les insectes font partie des arthropodes, animaux invertébrés caractérisés par un exosquelette rigide et la présence de pattes articulées. Au sein de cette classe, on trouve de nombreux ordres déterminés notamment grâce à la morphologie des ailes. Nous nous intéresserons ici principalement à quatre ordres d'insectes : les diptères, les coléoptères, les hyménoptères, les lépidoptères. Les espèces de ces ordres sont holométaboles, c'est-à-dire à métamorphose complète, et ptérygotes (*i.e* les adultes possèdent deux paires d'ailes, avec possibilité de perte secondaire). Parmi celles-ci, certaines sont fréquentes et largement répandues tandis que d'autres sont plus sporadiques. Dans le cadre de l'entomologie médico-légale, les espèces les plus représentées sont des diptères appartenant aux familles des Calliphoridae et Muscidae.

- **Les diptères**

Les diptères sont caractérisés par la présence d'une seule paire d'ailes, antérieures, les ailes postérieures étant transformées en balanciers ou haltères. Le mésothorax est très développé, en relation fonctionnelle avec les muscles du vol, tandis que le prothorax et le métathorax ont régressés. Au sein des diptères, les Brachycères adultes présentent des antennes courtes et trapues à leur base. Les larves sont hémicéphales ou acéphales (capsule céphalique très réduite) et les mandibules sont présentes sous forme de crochets mobiles ventraux insérés verticalement. Les Schizophores présentent une cicatrice frontale correspondant à la trace du ptilinum, un organe spécialisé que l'insecte gonfle pour briser la puppe. Cette suture est absente chez les Aschizes. Enfin, les Schizophores sont divisés en Acalyptères et Calyptères : ces derniers présentant des cuillerons thoraciques bien développés, contrairement aux Acalyptères (tableau 2). Environ 30 espèces de diptères nécrophages sont communément trouvées en France.

Certaines espèces de coléoptères, d'hyménoptères et de lépidoptères sont également associées aux corps en décomposition, mais elles interviennent plus tardivement et sont donc moins fréquentes. De plus, alors que les larves de diptères Calliphoridae sont nécrophages *stricto sensu*, c'est-à-dire qu'elles se nourrissent de tissus animaux en décomposition, la majorité des coléoptères et des hyménoptères sont nécrophiles. Il s'agit de prédateurs attirés sur les cadavres par la présence de nombreuses proies potentielles. On observe également la présence d'hyménoptères parasitoïdes, qui pondent leurs œufs à l'intérieur des larves ou des pupes de diptères (genre *Nasonia*). Nous nous intéresserons pour la suite de ce travail principalement aux diptères Calyptères, qui regroupent les espèces les plus fréquentes et les plus informatives dans le cadre de l'entomologie médico-légale.

Brachycères Cyclorrhaphes		
Aschizes	Schizophores	
	Haplostomates (Acalyptères)	Thecostomates (Calyptères)
Phoridae	Ephydridoides Drosophilidae	Tachinidés Calliphoriens Calliphoridae Sarcophagidae
	Tetanoceroides Piophilidae Sepsidae	
Syrphidae	Scatophagidoides Sphaeroceridae Heleomyzidae	Muscidés Muscinae Anthomyiinae (Fannia)

Tableau 2

Classification dichotomique (sens vertical) simplifiée des principales familles de diptères.

- **Les coléoptères**

Les coléoptères possèdent des ailes antérieures sclérifiées appelées élytres, qui sont repliées au repos et recouvrent ainsi les ailes postérieures. Une vingtaine d'espèces françaises sont régulièrement trouvées associées aux cadavres, dont la grande majorité appartient aux Dermestidae, aux Staphylinidae, aux Silphidae et aux Histeridae.

Les Dermestidae larves et adultes sont nécrophages mais interviennent très tardivement dans le processus de décomposition, lorsque les tissus sont complètement momifiés et que seuls subsistent la peau et les os. Les Histeridae et les Silphidae regroupent de nombreuses espèces nécrophages intervenant généralement durant la période de décomposition active des tissus. Enfin les Staphylinidae sont très fréquents mais majoritairement nécrophiles. Ils chassent activement et peuvent donc influencer fortement sur le processus de colonisation et de décomposition de petits cadavres, où les populations de larves de diptères sont restreintes.

- **Les hyménoptères**

Les hyménoptères adultes sont pourvus de 4 ailes membraneuses et de pièces buccales du type broyeur-lécheur. La tête est séparée du thorax par un cou très mince caractéristique. En France, ils sont principalement représentés par des guêpes prédatrices Apocrites du genre Vespoidae. On trouve également des guêpes parasitoïdes de la famille des Pteromalidae, notamment *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836), qui pondent leurs œufs dans les pupes de diptères Calliphoridae. Certaines espèces de fourmis (Formicidae) sont également nécrophages et peuvent laisser des lésions caractéristiques sur les cadavres.

- **Les lépidoptères**

Les lépidoptères, sous leur forme adulte (papillons), sont caractérisés par deux paires d'ailes membraneuses recouvertes d'écaillés colorées, un corps couvert d'un épais revêtement de soies et des pièces buccales suceuses (trompe).

Peu d'espèces sont associées aux cadavres. Elles interviennent généralement tardivement, surtout durant la phase de rancissement des graisses et lorsque les tissus sont desséchés. Les espèces les plus fréquentes appartiennent à la famille des Tineidae.

A.2.b. Détection d'un corps et déclenchement des pontes

Les insectes nécrophages ont un système olfactif particulièrement développé qui leur permet de détecter la présence d'un corps à plusieurs kilomètres de distance (Braack 1987, Kelling 2003). Deux catégories de diptères nécrophages sont attirées par les cadavres : les individus en quête de nourriture et les femelles à la recherche d'un lieu de ponte. Ces dernières y sont largement majoritaires (Archer 2003).

Les diptères adultes se nourrissent d'une grande variété d'aliments riches en sucres : en effet, leur métabolisme très actif nécessite un approvisionnement constant en énergie (Hainsworth 1990, Stoffolano *et al.* 1995a, 1995b). Les mouches adultes mâles et femelles sont donc attirées par les liquides putrides émanant d'un cadavre et qui constituent une importante ressource énergétique (Fisher *et al.* 1998). Cependant, la plupart des individus attirés sur un corps pour s'y nourrir sont des femelles à la recherche d'un repas protéique nécessaire au déclenchement de la vitellogenèse (processus précurseur de la formation des œufs) (Stoffolano 1974, Barton Brown *et al.* 1976).

Les femelles gravides sont quant à elles à la recherche d'un substrat adapté afin d'y déposer leurs œufs (Campan 1977). Comme nous l'avons vu, les besoins écologiques sont variables : certaines espèces préfèrent les cadavres en début de décomposition tandis que d'autres sont uniquement attirées par les tissus momifiés (Hall 1993). La taille et le type du cadavre (poisson, mammifère, humain, etc.) ne semblent avoir qu'un faible impact sur les espèces présentes (Kuusela 1982, Davies 1990, Hewadikaram & Goff 1991). Le déclenchement de la ponte dépend également de plusieurs facteurs. Bien que le sujet fasse encore débat, il semblerait que les Calliphoridae ne pondent que durant la journée, ou en présence de lumière (Greenberg 1990, Tessmer *et al.* 1995, Singh & Bharti 2001, Wooldridge *et al.* 2007, Amendt *et al.* 2008). La température de l'environnement et du substrat semblent également être des paramètres déterminants pour le déclenchement de la ponte. Le seuil de température permettant l'oviposition apparaît ainsi comme étant nettement supérieur (jusqu'à 7°C d'écart) à celui permettant le déclenchement du vol (Hedouin *et al.* 1996). De plus, la présence d'autres œufs, de larves ou d'individus adultes accroît la probabilité de ponte en agissant comme un signal attractif pour les femelles gravides (Barton Browne *et al.* 1969, Ives 1991, Ashworth & Wall 1994, Fenton *et al.*

1999a). Les œufs sont pondus par grappes d'environ 200, principalement au niveau des orifices naturels et des plaies s'il en existe, bien que ces préférences puissent varier entre espèces (Greenberg 1991). Le choix du lieu de ponte s'explique par la fragilité des œufs et des jeunes larves, très sensibles à la dessiccation et incapables de pénétrer directement dans les tissus au niveau de la peau (Fabre 1923). La détermination d'un lieu de ponte adapté apporte donc un avantage certain à la descendance et résulte d'un choix minutieux par les femelles, choix dépendant à la fois des besoins écologiques de l'espèce, de l'état de décomposition du corps et de la présence d'autres individus (Archer & Elgar 2003).

De nombreux auteurs se sont intéressés à la mise en évidence expérimentale des variations spatio-temporelles des populations de diptères nécrophages. Ainsi, il a été démontré que les espèces et ordres de successions pouvaient varier selon la zone géographique (Avila & Goff 1998, Grassberger & Frank 2004), le type de milieu (MacLeod 1957, Smith 1997b, Tomberlin & Adler 1998, Hwang 2005) ou encore suivant les saisons et les années (Martinez-Sanchez *et al.* 2000, Archer 2003, Schroeder *et al.* 2003, Arnaldos *et al.* 2005, Gruner *et al.* 2007). Ces données soulignent l'importance d'études locales répétées et les risques d'erreurs liés à l'utilisation des données de successions « standard ».

A.2.c. Succession des espèces et notion d'escouades

Un corps en décomposition est un milieu particulièrement riche (Carter *et al.* 2007) : un grand nombre d'espèces d'insectes vont profiter de cette ressource et proliférer très rapidement sur le cadavre. Ce biotope évoluant au fur et à mesure de la décomposition, certains insectes vont être attirés très tôt sur le corps, et d'autres plus

tardivement (Hall 1993). Megnin postula que ces périodes d'attractivité du cadavre correspondaient à l'émission d'odeurs différentes suivant les phases de décomposition (Megnin 1894). Les insectes seraient ainsi attirés par certains composés volatils caractéristiques d'une phase de décomposition adaptée au développement de leurs larves sur le cadavre (Ashworth & Wall 1994). Bien que cette idée paraisse séduisante, elle n'a jamais pu être clairement démontrée et reste à l'heure actuelle l'objet de plusieurs études. Les résultats obtenus par la technique des électro-antennogrammes couplés à la caractérisation des composés volatils par chromatographie en phase gazeuse (GC-EAG) devraient cependant apporter des éléments de réponse (Vass 2004, Dekeirsschieter *et al.* 2008). Malgré le manque de données, la variabilité des stades de décomposition (Rodriguez 1983), et l'effet croisé des paramètres climatiques sur la décomposition et les populations d'insectes, Smith proposa dans sa monographie de 1986 une succession de huit escouades qui resta pendant longtemps la principale référence en entomologie médico-légale (Smith 1986) (Tableau 3).

Cependant, cette vision a été depuis fortement remise en cause (Wyss & Cherix 2006). En effet, la dégradation d'un cadavre s'avère être un processus continu complexe bien plus qu'une suite d'étapes bien définies (Schoenly & Reid 1987). La décomposition étant fortement liée aux caractéristiques du milieu et du corps, la succession des insectes est donc très variable (Wells & Lamotte 2001).

	Fauna	State of corpse	Approx. age of corpse
1st Wave	<i>Calliphora vicina</i> (Dipt., Calliphoridae) <i>C. vomitoria</i> (Dipt., Calliphoridae) <i>Lucilia</i> spp. (Dipt., Calliphoridae) <i>Musca domestica</i> (Dipt., Muscidae) <i>M. autumnalis</i> (Dipt., Muscidae) <i>Muscina stabulans</i> (Dipt., Muscidae)	'Fresh' (variable with season)	First 3 months
2nd Wave	<i>Sarcophaga</i> spp. (Dipt., Sarcophagidae) [may occur in 1st Wave] <i>Cynomya</i> spp. (Dipt., Calliphoridae)	Odour developed	
3rd Wave	<i>Dermestes</i> (Col., Dermestidae) <i>Aglossa</i> (Lep., Pyralidae)	Fats rancid	
4th Wave	<i>Piophilidae</i> (Dipt., Piophilidae) <i>Madiza glabra</i> (Dipt., Piophilidae) <i>Fannia</i> (Dipt., Fanniidae) Drosophilidae (Dipt.) Sepsidae (Dipt.) Sphaeroceridae (Dipt.) <i>Eristalis</i> (Dipt., Syrphidae) <i>Teichomyza fusca</i> (Dipt., Ephydriidae) <i>Corynetes</i> , <i>Necrobia</i> (Col., Cleridae)	After butyric fermentation protein of 'caseic' fermentation	3-6 months
5th Wave	<i>Ophyra</i> (Dipt., Muscidae) Phoridae (Dipt.) Thyreophoridae (Dipt.) <i>Nicrophorus</i> (Col., Silphidae) <i>Silpha</i> (Col., Silphidae) <i>Hister</i> (Col., Histeridae) <i>Saprinus</i> (Col., Histeridae)	Ammoniacal fermentation Evaporation of sanious fluids	4-8 months
6th Wave	Acari	Remaining body fluids now absorbed	6-12 months
7th Wave	<i>Attagenus pelli</i> (Col., Dermestidae) <i>Anthrenus museorum</i> (Col., Dermestidae) <i>Dermestes maculatus</i> (Col., Dermestidae) <i>Tineola biselliella</i> (Lep., Tineidae) <i>T. pellionella</i> (Lep., Tineidae) <i>Monopis rusticella</i> (Lep., Tineidae)	Completely dry	1-3 years
8th Wave	<i>Ptinus brunneus</i> (Col., Ptinidae) <i>Tenebrio obscurus</i> (Col., Tenebrionidae)		3 years plus

* Based on Mégnin (1894) as tabulated by Johnston & Villeneuve (1897) and updated by Smith (1973) with further modifications.

Tableau 3

Division du processus de décomposition en huit phases auxquelles correspondent huit escouades d'insectes nécrophages. In Smith, 1986.

Les expériences de Payne (1965) indiquent clairement que beaucoup d'espèces interviennent durant plusieurs stades de décomposition et non un seul. Ainsi, sur 17 espèces attirées sur un corps frais, 94% sont également trouvées durant les deux phases suivantes de décomposition. De même, l'intégralité des 48 espèces caractéristiques du début de décomposition est présente durant la phase de décomposition active. L'existence de ce continuum, également notée par Smith (1986)

ou encore *Rodriguez et al.* (1983) (figure 2) a conduit certains entomologistes à rejeter l'utilisation des escouades comme méthode de datation du décès (Wyss & Cherix 2006). Hors des querelles de spécialistes, il est important de noter que la datation d'un cadavre sur la base des escouades d'insectes nécrophages, bien que parfois très utile et bien documentée, est globalement extrêmement délicate et imprécise, et manque à l'heure actuelle de bases scientifiques solides (Erzinçlioglu 1986, 1989). La présente étude se limitera donc aux cas plus fréquents et mieux connus où seuls les insectes les plus précoces (diptères Calliphoridae) sont trouvés sur le corps.

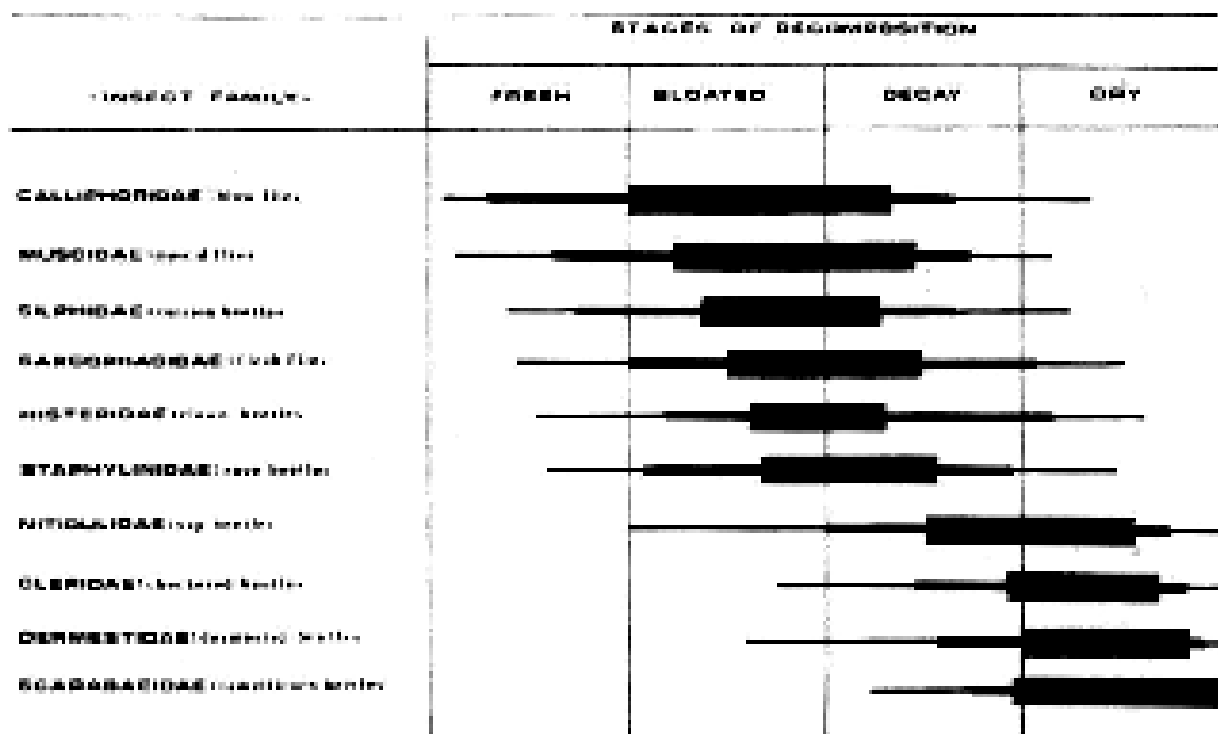


Figure 2

Périodes de colonisation préférentielles des principaux insectes nécrophages. L'épaisseur des traits reflète la quantité d'individus présents (fresh : frais ; bloated : début de décomposition ; decay : décomposition avancée ; dry : squelettisé) (in Rodriguez 1983).

A.3. Développement des larves de diptères nécrophages sur un corps

La biologie des insectes nécrophages est encore mal connue : très peu d'auteurs se sont attardés à observer et décrire le comportement des insectes sur un corps. Les rares données expérimentales disponibles sont également fragmentaires et généralement difficilement transposables au milieu naturel. Quelques notions fondamentales sont cependant bien établies.

*«En guise de palais, je vous donnerai le trou d'un tombeau, obscur et puant,
En guise de mets délicieux, des vers qui rongent de l'intérieur les chairs pourries.»*

La Danza general de la Muerte, Espagne, XV^{ème} siècle

A.3.a. Cycle de développement

Les diptères ont un cycle de développement holométabole, c'est à dire à métamorphose complète (figure 3). La femelle pond une grappe d'œufs qui, à l'éclosion, vont donner des larves de premier stade. Après deux mues correspondant aux stades larvaires deux et trois, les asticots vont s'éloigner du corps pour s'empurger et se transformer en nymphes. La pupa est formée par le tégument de la larve de troisième stade qui se rigidifie et brunit progressivement tandis que la nymphe se métamorphose. L'imago devra rompre cette enveloppe pour émerger. Il est intéressant de noter que la durée

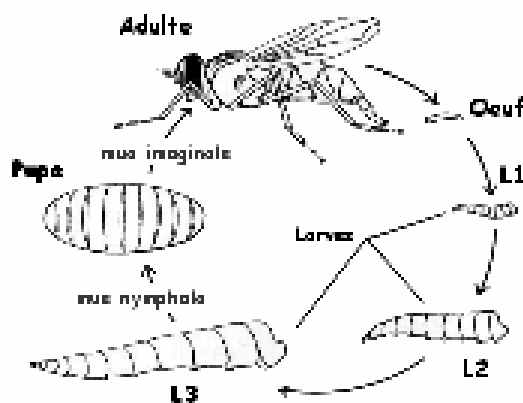


Figure 3
Cycle de développement holométabole des diptères Calliphoridae.

de développement de la larve est plus longue que celle de la nymphe. Il est intéressant de noter que la durée

des stades diffère, le temps passé aux stades prépupes et pupes pouvant représenter jusqu'à 75% de la durée de développement totale (Greenberg 1991). Cette stratégie minimisant le temps passé sur le cadavre, observée chez tous les diptères nécrophages, semble donc être une réponse évolutive à l'instabilité de ce biotope éphémère. On observe de plus que le cycle stéréotypique décrit précédemment n'est pas toujours respecté. Chez certaines espèces de Sarcophagidae et de Calliphoridae, les œufs sont retenus dans les voies génitales de la femelle après leur fécondation jusqu'à l'éclosion des larves de premier stade, qui seront directement déposées sur leur source de nourriture : on parle alors de larviposition (Fabre 1923, Shewell 1987, Erzinçlioglu 1990, Hall 1993, Erzinçlioglu 1996).

Une fois les œufs ou les larves déposés sur le corps, la durée de développement des insectes, comme chez la majorité des poïkilothermes, est une fonction du temps et de la température. Cette relation s'explique par la sensibilité de nombreuses réactions enzymatiques élémentaires aux variations thermiques. Ce principe s'applique également au développement des larves d'insectes nécrophages, dont la durée de développement est dépendante de l'espèce mais également de la température. Plus il fait chaud, plus le développement est rapide, plus il fait froid, plus il est lent (*cf.* I.B.2.b.). La température n'est cependant pas le seul facteur à agir sur la vitesse de développement des insectes : la disponibilité en nourriture ou la photopériode peuvent également jouer un rôle important (Higley 1986, Joplin & Moore 1999, Nability 2007)..

Un autre phénomène est susceptible d'altérer le déroulement normal du développement : la diapause. Lorsque le climat devient hostile, notamment dans le cas de températures particulièrement froides, certaines espèces ont la capacité de stopper temporairement leur développement larvaire en attendant le retour de conditions plus

favorables. Des études au niveau moléculaire ont permis de mettre en évidence une transmission maternelle facultative de ce caractère (Matsuo *et al.* 1997). Ainsi, une femelle adulte soumise à des températures froides ou à un rythme nyctéméral altéré pourra transmettre à sa descendance la faculté d'entrer en diapause (Saunders 1986, Mcwatters & Saunders 1997, Tachibana & Numata 2004a, 2004b). Cet héritage maternel implique donc une apparition des larves diapausantes après les premières périodes de froid, principalement au début de l'automne.

A.3.b. Grégarisme et augmentation locale de température

Un des aspects prépondérants du comportement des larves de diptères Calliphoridae est le grégarisme. Ce comportement social primitif peut être défini comme la tendance des individus à se regrouper, voire à privilégier ce comportement par rapport à d'autres stimuli environnementaux (Ame *et al.* 2006). Chez les larves de diptères nécrophages, ce comportement se traduit par la formation de masses de larves allant de quelques dizaines à quelques millions d'individus. Ce phénomène est observable dès le stade L1 (larve de premier stade) et jusqu'au stade prépupe, c'est-à-dire durant toute la phase où les insectes se nourrissent activement sur le corps. Des expériences ont été réalisées sur des individus de premier stade afin de mettre en évidence le signal à l'origine du comportement grégaire. Les tests de choix entre différents attractants n'ont cependant pas permis de déterminer clairement la nature du message, bien qu'un signal chimique lié à la présence d'autres larves ou de leurs déjections semble probable (Liu & Oflaherty 2006, Maddox *et al.* 2006) (tableau 4). La formation de masses de larves de plus petite taille et avec une cinétique d'apparition plus lente en l'absence de nourriture semble également indiquer un rôle fort du thigmotactisme interindividuel dans le mécanisme d'agrégation. Enfin, ce

comportement semble indépendant de l'espèce et du stade de développement, bien que très peu d'études se soient intéressées à ce point (Woodcock 2002). Le rôle de ce comportement est encore discuté : la théorie admise est qu'il facilite l'alimentation en favorisant la liquéfaction locale des tissus par l'action conjointe des enzymes salivaires et des mouvements de leurs crochets buccaux, et permet également de minimiser l'exposition aux prédateurs (Fabre 1923, Hobson 1932a, Putman 1977, Dos Reis *et al.* 1999).

La conséquence la plus flagrante de ce grégarisme larvaire est l'élévation locale de la température qu'il peut entraîner. Ce phénomène, souvent observé mais encore mal compris, semble dû au processus exothermique de digestion des larves (Charabidze *et al.* 2007, Slone & Gruner 2007, Charabidze *et al.* 2008a). La présence simultanée d'un très grand nombre d'individus émettant une très faible chaleur du fait de leur métabolisme peut conduire à des augmentations locales de températures extrêmement importantes : Greenberg (1991) relate une observation de 18°C supérieure à la température extérieure, tandis que Turner mentionne une température de 40°C au sein d'une masse de larves (Turner & Howard 1992). Une étude réalisée à Hawaii enregistra pendant plusieurs jours des températures de plus de 50°C à l'intérieur d'un cadavre de porc placé en zone boisée, alors que la température extérieure était inférieure à 30°C (Richards & Goff 1997). D'autres observations de ce type sont présentes dans la littérature, notamment lors d'expériences en extérieur (Deonier 1940, Hewadikaram & Goff 1991, Campobasso 2001, Joy *et al.* 2002, 2006, Gruner *et al.* 2007). L'inertie thermique engendrée par la formation d'une masse compacte et le dégagement de chaleur par les individus leur permet de se développer durant des périodes particulièrement froides, par exemple lors du stockage d'un cadavre en chambre froide ($T < 4^{\circ}\text{C}$) avant son autopsie (Huntington *et al.* 2007).

Cependant, lorsque la température locale dépasse 40°C, la survie des individus est compromise : on observe alors que les larves présentes quittent la zone, produisant ainsi un phénomène d'auto-régulation thermique (Deonier 1940, Turner & Howard 1992, Anderson & Vanlaerhoven 1996), phénomène amplifié par le refroidissement dû à l'évaporation de l'humidité des individus sortant de la masse (Gruner *et al.* 2007). L'apparition de cet effet de masse a été principalement décrite chez les larves de second et de troisième stades, bien que nos observations indiquent l'existence du phénomène également durant le premier stade larvaire.

Paramètre testé	Description du comportement	Hiérarchie	Observations des auteurs
Maddox 2005. Espèce <i>Lucilia sericata</i>			
Déjections et résidus	Attire plus d'individus que la nourriture seule	1	Expériences de choix : la recherche d'agrégation prime sur la recherche de nourriture chez les L1. Différence significative à $\alpha=0,05$
Larves + nourriture			
Nourriture seule	Attire moins d'individus que la présence d'autres larves	2	
Liu 2006. Espèce <i>Lucilia sericata</i>			
Déjections et résidus	Temps nécessaire à l'agrégation : 111s	1	Expériences sur la vitesse de réponse : les L1 réagissent plus vite à la présence d'autres larves qu'à celle de nourriture. Différence significative à $\alpha=0,05$
Larves + nourriture	Temps nécessaire à l'agrégation : 171s	2	
Nourriture seule	Temps nécessaire à l'agrégation : 364s	3	
Témoin (eau)	Temps nécessaire à l'agrégation : 1364s	4	

Tableau 4

Résultats des tests de choix réalisés sur des larves de premier stade de *Lucilia sericata*.

Le comportement grégaire est analysé en comparant l'effet attractif de plusieurs stimuli.

D'après les résultats expérimentaux de Liu & O'Flaherty, 2006 et Maddox *et al.*, 2006.

A.3.c. Alimentation et compétition inter-individuelle

Le comportement grégaire des larves facilite donc l'assimilation des aliments en ramollissant les tissus. Les expériences synthétisées dans le tableau 4 indiquent une préférence des larves de premier stade pour l'agrégation au détriment de la recherche de nourriture (Liu & Oflaherty 2006, Maddox *et al.* 2006). En effet, les très jeunes individus ne disposent pas de crochets buccaux bien développés et sont donc incapables de s'alimenter sur des substrats durs. Ces derniers résultats sont cependant à nuancer : dans une étude de 1997 sur *Neobellieria bullata*, Christopherson démontre que les larves sont capables de détecter à distance la présence de nourriture, mais observe également que les jeunes larves ne semblent pas avoir de comportement de recherche de nourriture en présence de lumière (Christopherson & Gigo 1997). Il est donc possible que ce dernier paramètre ait altéré le comportement des larves de premier stade utilisées lors des expériences sur le comportement d'agrégation.

De plus, les études de développement réalisées sur différents types de viandes montrent que tous les tissus n'ont pas la même valeur nutritive pour les larves. En effet, les données expérimentales indiquent une durée de développement des larves de *Calliphora vicina* élevées sur du cerveau, du cœur, du poumon ou des reins de porc inférieure de deux jours à celles placées sur du foie (Kaneshrajah & Turner 2004). Le même type de résultat a été obtenu avec des larves de *Calliphora augur* et *Lucilia cuprina* (Day & Wallman 2006b). De plus, la comparaison de substrats de différentes origines animales indique un développement plus rapide sur la viande de porc que sur celle de bœuf (Clark *et al.* 2006). Cette dernière étude démontre également que la structure des tissus (broyés ou non) n'a pas d'influence sur la

vitesse de développement des larves. Fabre expliquait ces différences nutritives, notamment mises en évidence par l'absence quasi-totale de développement sur les tissus gras, par la difficulté des larves à liquéfier certains tissus et donc à pouvoir les ingérer (Fabre 1923). Fabre ne parviendra cependant pas à caractériser la substance digestive en cause ni à évaluer son mode d'émission et les quantités en jeu, bien qu'il émette l'hypothèse de la pepsine, enzyme digestive des mammifères dont les effets dissolvants sur les tissus animaux lui semblent similaires. Ses comptes-rendus indiquent également l'incapacité des vers à attaquer l'épiderme, quel que soit le cadavre animal concerné. Son hypothèse sera partiellement validée huit ans plus tard par Hobson dans une étude particulièrement détaillée sur la nutrition des larves de diptères Calliphoridae (Hobson 1931, 1932a, 1932c, 1932b). L'auteur confirme la présence d'amylase au niveau des glandes salivaires de *L. sericata*, mais c'est la tryptase qui apparaît comme étant principalement responsable du processus d'exodigestion (tableau 5). La présence de bactéries symbiotes ne semble pas nécessaire au métabolisme digestif. En revanche, la quantité d'ammoniaque présente dans le milieu en absence de bactérie symbiote est nettement inférieure à celle observée lorsque les bactéries sont présentes, et la taille des larves est réduite. L'auteur émet donc l'hypothèse d'un rôle d'alcalinisation du milieu par les bactéries permettant une meilleure efficacité de la tryptase exodigestive. Enfin, en dehors de la sécrétion d'ammoniaque, les bactéries du milieu permettraient d'apporter un élément nutritif nécessaire à la bonne croissance des larves, bien que l'auteur n'ait pu déterminer sa nature exacte.

Enzyme	Glandes salivaires	Intestin moyen	Intestin postérieur	Excrétions
Amylase	±	–	–	?
Invertase	–	–	–	–
Maltase	–	–	–	–
Lactase	–	–	–	–
Tryptase	–	++	±	+
Peptase	–	–	–	–
Peptidase	–	++	?	±
Lipase	?	++	?	?

Tableau 5

Contenu enzymatique des différentes parties du système digestif de *Lucilia sp.*

+ : présent

– : absent

± : présent en faible quantité

? : non déterminé

(d'après Hobson, 1931).

Plus récemment, les études réalisées sur l'alimentation des larves tendent à infirmer l'existence de variations de la durée totale de développement selon le type de substrat alimentaire, mais démontrent un effet de leur alimentation sur la longueur et la masse finale des larves (Warren & Anderson 2008). On observe également que les différences de valeur nutritive entre substrats sont amplifiées en cas de surpopulation et donc de compétition pour l'accès à la nourriture. Ce phénomène est par exemple visible chez *Chrysomya albiceps*, espèce relativement commune dans le sud de la France et dont les larves de dernier stade sont prédatrices de larves de diptères Calliphoridae, prédation particulièrement développée lorsque la nourriture vient à manquer (Faria *et al.* 1999 , 2004 a, b, Faria & Godoy 2001).

De nombreuses études écologiques se sont attachées à décrire l'apparition du phénomène de compétition intra et interspécifique en se basant sur l'étude de l'entomofaune des cadavres. Il s'agit en effet d'une ressource alimentaire par nature éphémère et imprévisible, nécessitant des stratégies de colonisation et de développement particulières (Woodcock 2002). On désigne généralement ce type de milieu sous le terme de « ressource en patches ». La compétition y apparaît comme

étant le principal facteur limitant les populations de larves se développant sur le corps, principalement dans le cas de cadavres de petite taille (Putman 1977, Smith 1997a). Dans le cadre d'une étude sur les communautés de diptères nécrophages et leur structuration, Kuusela et Hanski notent que la quantité de femelles attirées par un cadavre de petite ou de grande taille est sensiblement identique (Kuusela 1982). En revanche, il existe une corrélation entre la masse du cadavre et le nombre moyen d'individus qui en émergent. Cette même étude démontre un effet négatif de la compétition sur la vitesse de développement des larves de *Lucilia illustris*. L'effet contraire, *i.e.* une augmentation de la vitesse de développement lorsque la quantité de larves par gramme de substrat augmente, est décrit chez *Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria* et *Chrysomya sp.* (Goodbrod & Goff 1990, Saunders 1995, Kaneshrajah & Turner 2004, Ireland 2006). L'utilisation de grandes quantités d'individus peut cependant avoir faussé ces résultats en facilitant le dégagement de chaleur par les masses de larves. Une étude plus détaillée portant sur quatre espèces du genre *Lucilia* conclut également à un effet négatif densité-dépendant de la concentration de larves sur le taux de survie des individus, leur taille et la fécondité des femelles (Prinkkila & Hanski 1995).

Le phénomène de compétition est principalement dû au comportement alimentaire des larves, qui cherchent à absorber le maximum de nourriture possible en un minimum de temps (Levot *et al.* 1979). Il en résulte une « bousculade permanente » (« *scramble competition* ») conduisant ainsi certains individus à manquer de nourriture et à mourir (De Jong 1976, Godoy *et al.* 1996, Dos Reis *et al.* 1999). Des expériences ont également été réalisées en conditions contrôlées afin de déterminer l'effet de différentes concentrations de larves sur le taux de survie des individus. Les protocoles expérimentaux varient énormément entre les études, il est

délicat de comparer ces résultats. Il en ressort cependant globalement que la probabilité de survie d'un individu décroît rapidement lorsque la quantité de larves par gramme de substrat devient trop importante, mais qu'un phénomène de facilitation (augmentation de la probabilité de survie avec la quantité de larves) peut apparaître pour des concentrations intermédiaires (Baxter & Morisson 1983, Moe *et al.* 2002, Ireland 2006) (figure 4).

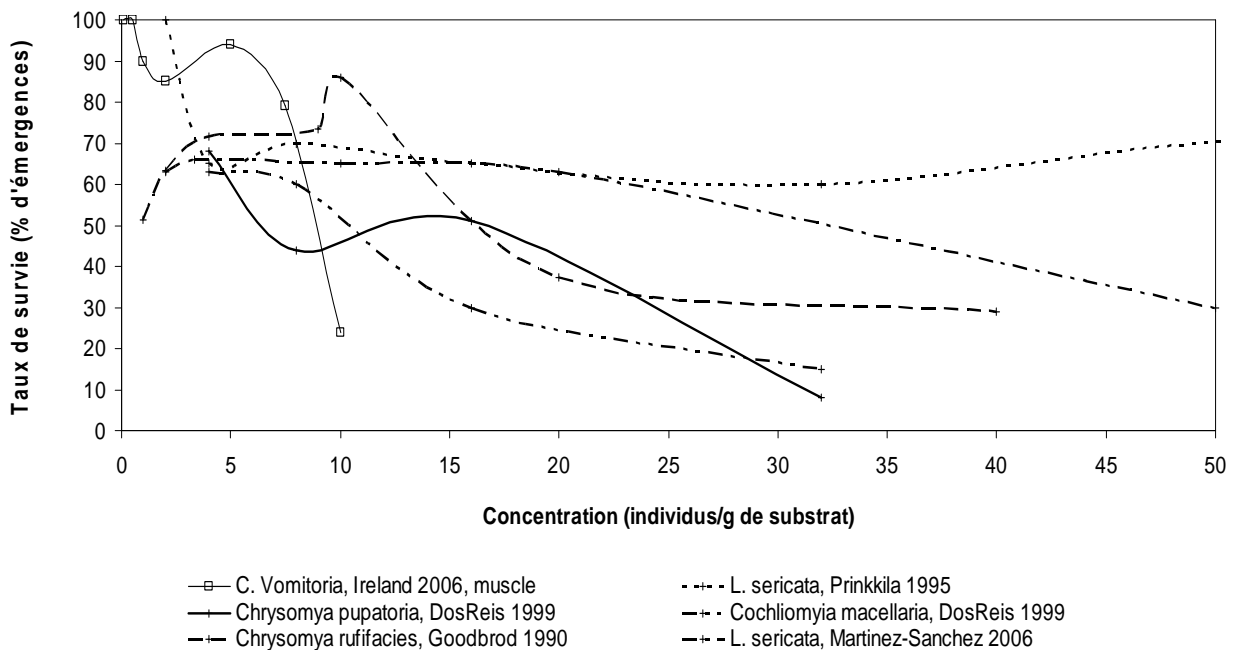


Figure 4

Synthèses de différentes données expérimentales indiquant le taux moyen de survie (jusqu'à émergence) des larves de diptères Calliphoridae en fonction du nombre d'individus par gramme de substrat (concentration).

Ce dernier résultat pourrait contribuer à expliquer la recherche d'agrégation systématiquement observée chez les larves. Il est enfin important de noter que la quantité de nourriture disponible ne semble pas être le facteur limitant le développement des larves en cas de surpopulation, la diminution du taux de survie étant observée même lorsque les larves disposent de suffisamment de nourriture pour pouvoir toutes réaliser leur développement complet (Godoy *et al.* 1996). La difficulté

d'accès à la nourriture semble donc être la cause la plus probable de compétition en cas de surpopulation. Cette hypothèse semble confirmée par les résultats obtenus en conditions de surpopulation mais avec un renouvellement régulier de la nourriture : on observe quand même dans ce cas une mortalité plus forte lorsque la population de larves augmente, bien que la quantité de nourriture ne soit pas limitée (Moe *et al.* 2002). Globalement, ces conclusions semblent indiquer un rôle majeur de la compétition en tant que paramètre contrôlant les populations de diptères nécrophages (Wall 1993a, Godoy *et al.* 1996).

Le comportement de ponte des femelles et donc le nombre de larves en compétition pour la même ressource alimentaire affecte ainsi la probabilité de survie des individus. Cette notion *a priori* intuitive nécessite cependant d'être nuancée du fait du grand nombre d'individus impliqués et des bénéfices liés au comportement d'agrégation. Cette balance a été analysée d'un point de vue théorique par Ives, qui classe la compétition chez *Phaenicia coeruleiviridis* (Diptera Calliphoridae) comme appartenant au type 3, c'est-à-dire ayant un faible impact final sur le *fitness* (notion écologique reflétant « l'état de santé ») des individus (Ives 1989, 1991). Autrement dit, la compétition chez les larves de Calliphoridae est suffisamment faible pour maintenir à un niveau stable la ponte de paquets d'œufs et le comportement d'agrégation des pontes chez les femelles.

Il existe de plus des aptitudes d'exploitation des ressources différentes entre espèces, se traduisant lorsque les ressources sont limitées par une compétition interspécifique orientée en faveur des espèces produisant beaucoup d'individus à développement très court (Kouki & Hanski 1995). Ainsi, les Calliphoridae semblent limiter le développement des populations de Sarcophagidae sur les cadavres (Denno 1976). Des capacités compétitives différentes ont également été mises en évidence au

sein de différentes sous-populations géographiques de l'espèce *Lucilia sericata* (Martinez-Sanchez 2006). Hanski évoque enfin un effet de l'ordre de ponte des espèces ayant par ailleurs les mêmes préférences écologiques, que l'on pourrait résumer sous la forme « première espèce arrivée, première servie » (Hanski 1977).

A.4. Synthèse : le cadavre en tant qu'écosystème

L'approche écosystémique du cadavre et de son peuplement entomologique, bien qu'abordée dans quelques études populationnelles ou pour expliquer la variabilité de certaines observations, reste extrêmement minoritaire et peu développée.

La figure 5 présente une synthèse des principaux éléments et interactions constituant l'écosystème « cadavre » que nous avons défini.

À l'origine de ce biotope se trouve un cadavre, qui constitue non seulement une ressource alimentaire responsable de la formation locale de cet écosystème, mais également un milieu de vie et de développement des populations de larves et de certains insectes adultes. Il s'agit de plus d'une zone attractive pour les populations de femelles gravides, qui y sont attirées sur de grandes distances afin d'y déposer leurs œufs. Le déclenchement des pontes est dépendant de l'état du corps, qui sera plus ou moins attractif pour les insectes nécrophages selon son niveau de décomposition, mais également des populations et pontes préexistantes sur le cadavre. Le climat joue un rôle fondamental sur la dynamique de ce système, notamment via la température. Celle-ci contrôle la vitesse et le processus de décomposition du cadavre, mais également l'activité des populations d'insectes. Elle intervient aussi à un niveau local, la température ressentie par les larves présentes sur le corps étant le principal facteur de variation de leur vitesse de développement.

Enfin, le dernier élément de cet écosystème est représenté par les populations d'insectes nécrophages présents sur le corps. Nous nous sommes ici principalement intéressés aux larves de diptères, mais de très nombreuses autres espèces interviennent, dont certaines sont prédatrices. Au sein même des masses de larves, la compétition semble jouer un rôle déterminant dans la régulation inter et intra-spécifique des populations. Le comportement propre des individus, notamment via l'agrégation, influe quant à lui à la fois sur des paramètres locaux tels que la température ou la compétition, et sur la dynamique globale du système en accélérant la décomposition du corps.

L'ensemble de ces éléments constitue un écosystème éphémère et instable, voué à disparaître. Les changements y sont donc extrêmement rapides, la compétition accrue et la variabilité d'un cas à l'autre particulièrement forte.

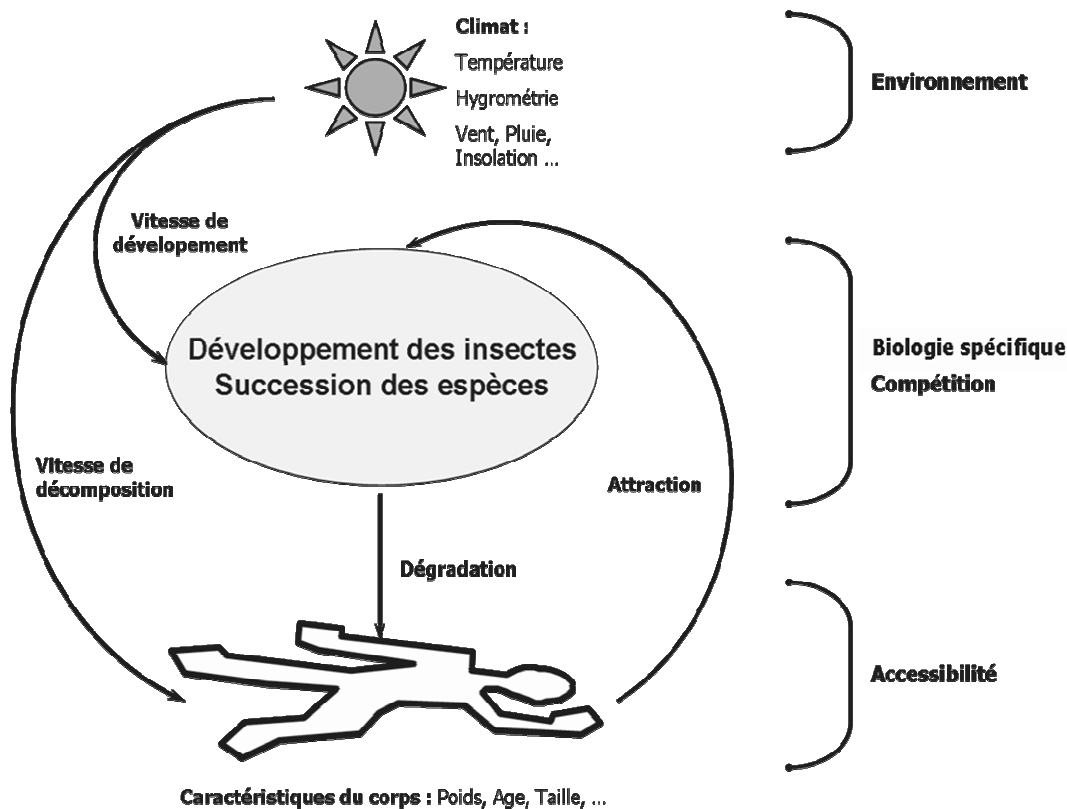


Figure 5

Schéma des différents constituants de l'écosystème « cadavre ». De haut en bas : le climat, l'entomofaune et le cadavre. Les éléments indiqués à droite représentent quelques-uns des principaux facteurs susceptibles de modifier à chaque niveau la dynamique globale du système.

Il s'agit bien entendu d'une schématisation des mécanismes en jeu et de la multitude des interactions qui peuvent coexister dans un tel écosystème. Cette approche permet cependant de mieux comprendre les difficultés rencontrées pour caractériser ces différents éléments en conditions expérimentales, hors de leur contexte naturel. Elle illustre également les dangers et erreurs qui peuvent résulter de ce type d'approche, notamment lors de l'interprétation d'une fraction de cet écosystème dans le cadre d'une enquête judiciaire.

B. Utilisation des insectes nécrophages pour dater le décès

B.1. Médecine légale, entomologie et datation des corps

«O vers ! noirs compagnons sans oreilles et sans yeux,

Voyez venir à vous un mort libre et joyeux.»

Baudelaire, les Fleurs du Mal

Lors de la découverte d'un cadavre, deux questions principales se posent : à quand remonte le décès et quelle en est la cause. Traditionnellement, la médecine légale apporte une réponse à ces deux interrogations soit par un examen externe du corps, soit lors de son autopsie. Ces données, en complément des informations de l'enquête, permettent généralement de conclure quant aux causes de la mort. Elles serviront par la suite de base au déclenchement d'une procédure d'investigation plus poussée, permettant ainsi de cibler les éventuels suspects et de vérifier leurs alibis.

Cependant, les techniques médicales de datation de la mort ne sont pas toujours applicables : lorsque le délai entre le décès et la découverte du corps ou *intervalle post mortem* (IPM) devient trop important, la précision de ces méthodes décroît. Une autre discipline prend alors le relais : l'entomologie médico-légale. Basée sur l'utilisation des insectes nécrophages, elle permet de calculer l'âge des insectes prélevés sur un corps, et d'en déduire une estimation de l'IPM minimum.

B.1.a. Datation des corps en médecine légale

De très nombreuses méthodes permettant de déduire le moment du décès grâce à l'étude sémiologique des critères thanatologiques (morphologiques, physiques ou thermiques) ont été développées. Le choix de la technique appropriée et sa mise en œuvre incombent au médecin légiste, et nécessitent une formation et une expérience de terrain qui sortent du contexte du présent travail. Il est cependant intéressant de connaître les bases de ces méthodes afin de mieux comprendre leurs avantages et leurs limites.

Immédiatement après le décès, l'activité métabolique de l'organisme cesse et les processus de contrôle de l'homéostasie disparaissent. Un effet direct de ce dérèglement est la disparition du phénomène de régulation thermique, qui maintient normalement l'organisme à une température constante d'environ 37,2°C. La température corporelle va alors s'harmoniser progressivement avec celle de son environnement. Cet alignement n'étant pas immédiat, il est donc possible d'estimer le délai écoulé entre le décès et la découverte du corps en comparant la température du cadavre à celle de son environnement. Parmi les principaux avantages de cette méthode, il faut noter sa rapidité et sa simplicité d'utilisation, qui permettent aux médecins légistes de réaliser une première estimation de l'heure du décès directement sur le site de découverte du cadavre. Bien que de nombreux modèles plus ou moins sophistiqués existent, la méthodologie développée par Henssge reste la plus couramment utilisée (Henssge 1988, 1992). Il s'agit d'une modélisation bi exponentielle de l'évolution de la température rectale du corps, dépendante à la fois du temps écoulé depuis le décès, de la température extérieure et de la masse de l'individu (*cf.* II.H.).

Elle permet de distinguer trois phases :

1. un plateau thermique durant les quelques heures consécutives au décès, pendant lesquelles la température du corps se maintient aux environs de 37°C
2. une phase de décroissance linéaire
3. un second plateau où la température interne finit par s'harmoniser lentement avec la température extérieure.

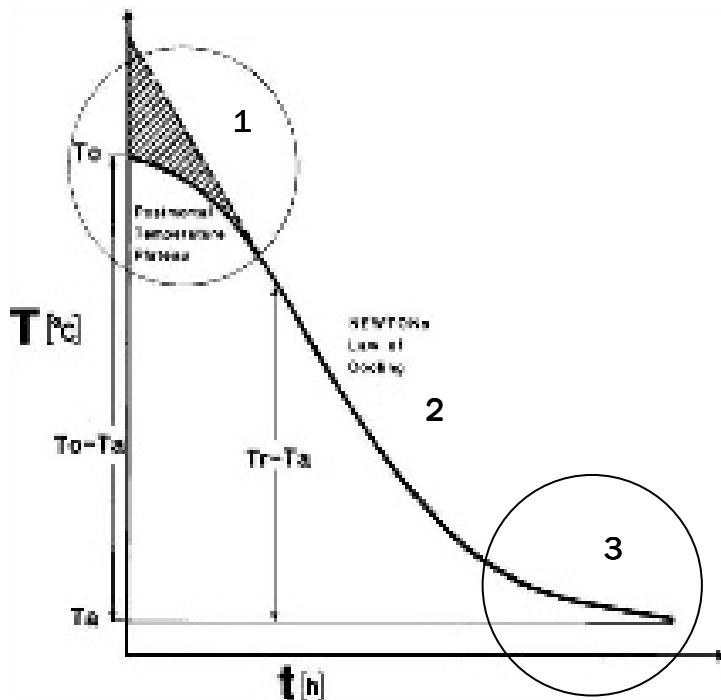


Figure 6

Evolution de la température rectale d'un corps placé à température constante (<37°C). La zone 1 représente la période de plateau thermique consécutive au décès, celle numérotée 3 l'harmonisation avec la température extérieure. La période de décroissance linéaire est numérotée 2 (in Henssge & Madea 2004).

Ce comportement thermique peut néanmoins être modifié par la présence de vêtements plus ou moins épais et par la circulation d'air autour du cadavre (vent, corps sur le sol ou pendu, etc.). Différents facteurs correctifs peuvent donc être appliqués au modèle initial afin de le pondérer selon les caractéristiques propres au cas concerné. Un abaque à trois entrées (ou nomogramme) permet de plus d'effectuer le calcul graphiquement, ce qui facilite l'utilisation de cette méthode sur le terrain.

Cependant, l'utilisation de la méthode thermométrique développée par Henssge exige une condition majeure : la température extérieure doit être constante durant toute la durée de refroidissement du corps. De plus, elle n'est applicable que pendant les trois premiers jours consécutifs au décès : passé ce délai, la température interne et celle de l'environnement deviennent identiques et la thermométrie est alors inutilisable.

La rigidité cadavérique ou *rigor mortis* est également un élément important de la datation. Ce phénomène, lié à la dégradation tissulaire, se traduit par une contraction de l'ensemble des muscles squelettiques et donc une rigidité du corps et des membres. Elle apparaît quelques heures après le décès (selon la température de l'environnement) et se maintient durant approximativement soixante-douze heures, avec un maximum d'intensité au bout d'environ huit heures. La disparition de la rigidité marque le début de la phase de putréfaction. L'intensité du phénomène étant dépendante de la température, de l'individu, des circonstances de la mort, etc., cette méthode reste avant tout qualitative et n'est employée que conjointement à d'autres techniques de datation. Elle permet cependant de mettre en évidence des modifications *post mortem* de la position du cadavre et de reconstituer la chronologie des événements avec une bonne fiabilité.

Les lividités cadavériques (*livor mortis*) sont quant à elles dues à l'arrêt de la circulation sanguine et à la migration des fluides corporels par gravité. Elles apparaissent quelques heures après le décès et s'amplifient avec le temps. De plus, ces marques sont absentes des zones de plus forte pression, où le sang s'accumule. Ces zones colorées sont dans un premier temps « effaçables » puis deviennent fixes douze heures après le décès, lorsque le sang imbibe les tissus. Elles permettent donc de déterminer la position initiale du cadavre et l'existence d'éventuels déplacements *post mortem*. Là encore, il s'agit plus d'un indicateur que d'une réelle méthode de datation de l'heure du décès.

Enfin, le dosage du potassium dans l'humeur vitrée prélevée dans le globe oculaire permet une datation assez précise de la mort durant la première semaine suivant le décès. La technique repose sur un étalonnage expérimental mettant en évidence une augmentation linéaire des ions potassium dans le liquide contenu à l'intérieur de l'œil. Ce phénomène est dû à la dégradation des cellules bordantes, qui libèrent ainsi leurs ions. Le vitré étant initialement dépourvue de potassium, les ions K^+ vont alors migrer vers ce liquide sous l'effet de la pression osmotique. Ce phénomène étant dépendant de la température, l'interprétation des données devient délicate et imprécise si le corps se trouvait à température variable.

Toutes ces méthodes présentent une bonne fiabilité tant qu'elles sont appliquées dans le cas d'un IPM court et d'un corps soumis à des températures relativement constantes. Utilisées conjointement et en conditions optimales, elles permettent une datation du décès à quelques heures près. En revanche, passés quelques jours après la mort, elles deviennent inefficaces ou très imprécises. Le légiste se base alors sur l'aspect général du cadavre pour estimer l'IPM : les très nombreux paramètres pouvant influencer sur la vitesse de décomposition du corps et son aspect rendent cependant le processus de datation extrêmement imprécis et hasardeux.

B.1.b. Apports de l'entomologie médico-légale

Les méthodes mises en œuvre par la médecine légale sont donc limitées à une courte période consécutive au décès. Ainsi, suite à une étude à grande échelle sur les processus de décomposition des corps et les méthodes de datation entomologique, Marchenko conclut (Marchenko 1988) :

« Il est inadmissible de tirer des conclusions quant à l'heure du décès sur la base du degré de décomposition des tissus ou de l'état de squelettisation du corps. L'étude entomologique est la base permettant de résoudre les problèmes suivants :

- 1. déterminer à quelle saison un corps est arrivé sur le site où il a été découvert ;*
- 2. identifier le moment de la mort (...);*
- 3. établir le fait qu'un cadavre a été déplacé ;*
- 4. identifier la localisation initiale d'un cadavre. »¹.*

Marchenko souligne par ailleurs que *« le moment où les insectes commencent à se développer sur le corps ne coïncide pas nécessairement avec le moment de la mort »*. Ces quelques lignes, extraites d'un article qui reste une référence dans le domaine plus de vingt ans après sa première publication, permettent de définir les principaux apports et limites de l'entomologie médico-légale.

En premier lieu, notons que l'utilisation des insectes pour dater le décès ne devient pertinente que lorsque les techniques de datation décrites précédemment se révèlent inefficaces, c'est-à-dire environ trois jours après le décès. En effet, durant les premières heures, le développement des insectes sur le cadavre est insuffisant pour apporter une datation précise, ou du moins plus précise que celle réalisée par les médecins légistes. L'utilisation d'œufs de diptères Calliphoridae pour estimer un IPM très court peut cependant se révéler utile et fiable lorsque les prélèvements sont réalisés immédiatement et conservés à température strictement contrôlée (Bourel *et al.* 2003).

Passé ce délai initial de soixante-douze heures, lorsque la température interne du corps s'est alignée sur la température extérieure et que les constantes physico-chimiques de l'organisme sont trop altérées pour servir de repères, l'étude des

¹ Traduit de l'anglais par l'auteur.

insectes présents sur le cadavre devient la seule solution fiable permettant d'estimer l'heure du décès ainsi que d'éventuelles modifications *post mortem* (Kashyap & Pillay 1989). Ainsi, la présence de certaines espèces ayant une aire de répartition stricte peut indiquer un déplacement du corps survenu après la ponte de ces espèces. Il est par exemple intéressant de constater que les deux espèces françaises du genre *Calliphora* les plus fréquemment trouvées sur les cadavres humains ont des biotopes bien distincts : *Calliphora vicina* est principalement synanthropique tandis que *Calliphora vomitoria* est plutôt observée en zone rurale. Bien que la présence de cette dernière sur un cadavre découvert en centre ville n'implique pas nécessairement un déplacement du corps, il s'agit cependant d'un élément pouvant orienter l'enquête.

Lors de l'estimation d'un IPM sur la base de prélèvements entomologiques, il est important de garder à l'esprit que l'arrivée des insectes ne coïncide pas nécessairement avec le moment du décès, et qu'un certain délai peut exister entre le moment de la mort et la colonisation du cadavre par l'entomofaune nécrophage (Campobasso 2001). En d'autres termes, l'expertise entomologique détermine l'âge des insectes présents sur le corps et non « l'âge » du cadavre lui-même. Ce délai entre la mort et l'arrivée des premiers insectes dépend principalement de l'environnement immédiat du corps (accessibilité) et des données climatiques (température). La datation entomologique réalisée est donc toujours un IPM minimum, c'est-à-dire une date à laquelle la victime était déjà morte, et non la date de la mort.

Généralement, les larves de diptères nécrophages utilisées pour la datation ne se développent que sur des tissus morts, et donc après le décès. Dans certains cas cependant, notamment en présence de plaies cutanées importantes et chez des personnes ayant de très mauvaises conditions d'hygiène, il est possible pour certaines espèces de se développer sur un organisme vivant : on parle alors de myiases. Ces

cas restent cependant relativement rares chez l'humain, et comportent un certain nombre d'indices caractéristiques permettant de détecter la présence *ante-mortem* d'insectes sur le corps. La présence de myiases est de plus un indicateur de mauvaise hygiène pouvant être utilisé dans le cadre d'enquêtes. Elle permet notamment d'établir la négligence envers des personnes dépendantes (enfants ou personnes âgées) et éventuellement de dater l'apparition des plaies ou des sévices (Benecke & Lessig 2001, Benecke 2004).

Outre la datation du décès, l'étude de l'entomofaune nécrophage prélevée sur un corps permet dans certains cas de mettre en évidence un déplacement *post mortem* du corps. En effet, l'absence sur le cadavre d'un ensemble d'espèces très communes et généralement pionnières indique une inaccessibilité temporaire du corps durant la période de colonisation de ces insectes. Il peut simplement s'agir de mauvaises conditions climatiques, mais également d'une séquestration du cadavre ou de la présence d'un « emballage » ayant bloqué l'accès. L'existence d'un délai de colonisation et l'absence de certaines espèces peut cependant également être imputables à la présence de substances répulsives sur le corps (Marchenko 1988, Charabidze *et al.* 2005). Dans un article datant de 1991, Leclercq relate un cas intéressant d'empoisonnement ayant eu un effet important sur les insectes (Leclercq *et al.* 1991). Suite à la découverte en pleine nature d'un corps quasiment momifié mais présentant très peu de larves, l'auteur supposa dans un premier temps une séquestration. Mais l'enquête toxicologique révéla la présence de grandes quantités d'arséniate de plomb dans les tissus. Cette substance avait d'abord empêché la découverte du cadavre par les chiens policiers, puis le développement et la colonisation de la dépouille par les insectes nécrophages les plus précoces.

Un lien plus étroit a depuis été développé entre entomologie et toxicologie, donnant naissance à une nouvelle discipline appelée entomotoxicologie. Il est en effet possible de détecter dans les tissus ou les mues d'insectes nécrophages la présence de drogue ou de poison ingérés avant la mort par la victime. Le principal intérêt de cette technique est la réalisation de dosages toxicologiques dans le cas de corps très décomposés, analyses impossibles à effectuer directement sur des tissus putréfiés (Goff & Lord 1994). Elle permet une détection qualitative, voir quantitative, de nombreux composés, y compris plusieurs années après le décès dans des pupes vides (Bourel *et al.* 1999b). Les résultats préliminaires d'une étude actuellement en cours indiquent également que les larves nécrophages peuvent permettre de mettre en évidence la présence de résidus de liquides volatils inflammables sur un corps partiellement calciné (Mingari *et al.* 2007).

Enfin, le contenu digestif de larves de diptères Calliphoridae a également été utilisé avec succès comme source d'ADN afin de déterminer la provenance des larves prélevées (Campobasso *et al.* 2005). Bien que cette technique n'en soit qu'à ses balbutiements, elle offre de nombreuses perspectives. Le même principe a également été employé avec succès afin d'extraire et d'amplifier le matériel génétique contenu dans l'abdomen d'un moustique écrasé sur la scène d'un crime. La reconstitution du profil génétique à partir de cet indice a permis, conjointement aux autres éléments de l'enquête, de faire condamner le coupable pour homicide (Diluisse *et al.* 2007).

L'utilisation des insectes nécrophages ne se limite pas aux cadavres humains : la datation de la mort par la méthode entomologique a par exemple été employée avec succès au Canada pour dater le décès de deux ours sauvages et inculper les responsables (Anderson 1999) ou en Belgique dans le cas d'une fraude à l'assurance pour démontrer que des bovins n'avaient pas pu être électrocutés par la foudre

(Gosselin, communication personnelle). D'un point de vue beaucoup plus général, il est possible de définir l'entomologie médico-légale comme « l'utilisation des insectes dans la mise en évidence d'éléments pouvant servir à la médecine légale, à la justice et à la police » (Wyss & Cherix 2006). Dans ce contexte, la variété des cas et des espèces impliqués se trouve considérablement augmentée. Citons par exemple la mise en évidence du blocage de l'alimentation d'essence par un nid d'abeilles lors d'un crash d'avion (Rozen & Eickwort 1997) ou l'expertise de denrées alimentaires contaminées.

B.1.c. Aperçu historique de la méthode entomologique

Si les techniques liées à l'utilisation des insectes dans le cadre d'enquêtes judiciaires ne cessent de se développer et de s'affiner, l'idée n'est quant à elle pas nouvelle. Il sortirait du contexte de ce travail de présenter une chronologie détaillée des techniques d'expertise entomologique et de leur expansion actuelle ; les articles de Benecke et de Wyss peuvent être consultés pour plus de précisions sur le sujet (Benecke 2001, Wyss & Cherix 2006). Il est cependant intéressant d'avoir à l'esprit un aperçu de cette chronologie afin de mieux comprendre les récents développements de cette science, ses contradictions et le besoin important de recherche fondamentale qui en découle.

Le premier cas rapporté d'utilisation des insectes lors d'une enquête remonte au 10^{ème} siècle en Chine. La présence de mouches en abondance sur le crâne d'une victime permit à un officier de détecter la présence d'une plaie, et ainsi d'exclure la mort naturelle initialement présumée. Le même type de cas est relaté plus de 200 ans plus tard en Chine également : suite au meurtre d'un homme aux champs, la présence

d'un grand nombre de mouches sur la faux d'un autre paysan amena l'enquêteur à le désigner comme coupable et à le condamner. Ces deux exemples, bien qu'intéressants d'un point de vue historique, ne concernent cependant qu'une partie limitée du processus actuel d'expertise entomologique : l'attraction des mouches par les plaies et la présence de sang frais.

Le problème de la colonisation de la viande morte par les mouches et leurs larves sera étudié en détail en Europe à partir du 17^{ème} siècle dans le cadre de la controverse scientifique sur la génération spontanée. Bien que les premières expériences de Redi Francisco, datées de 1671, aient indéniablement démontré que les larves observées sur la viande provenaient de pontes de mouches, et que l'accès des adultes conditionnait donc le développement ultérieur de larves, de très nombreuses personnes croient encore que les asticots qui apparaissent après le décès sont préalablement présents dans le corps humain !

Au milieu du 19^{ème} siècle, plusieurs enquêteurs belges et français vont avoir recours au temps de développement des insectes sur un corps pour dater le décès. Bien que leurs conclusions soient majoritairement erronées, la démarche suivie est sensiblement identique à celle encore employée aujourd'hui : identification des insectes prélevés, détermination de la succession probable des espèces, déduction de la saison de ponte, et éventuellement mise en évidence d'un déplacement du cadavre. Cette méthodologie sera formalisée par Mégnin à la fin de ce même siècle avec la mise en relation de l'état de décomposition du corps et des préférences nutritives des différentes espèces d'insectes nécrophages (Megnin 1894). La notion d'escouades s'impose alors comme une méthode simple et efficace de datation de l'IPM. Cependant, assez rapidement apparaissent quelques critiques, de nombreux spécialistes ayant pu constater la variabilité des processus en cause et la possibilité

de superposition des escouades. L'idée fondamentale de l'utilisation de la température pour estimer la date de ponte des insectes sur un corps serait apparue au Canada en 1897 (Wyss & Cherix 2006). Il faudra cependant attendre la seconde moitié du 20^{ème} siècle pour que cette méthodologie soit formalisée et commence à prendre le pas sur les immuables escouades. C'est cependant Mégnin qui est toujours considéré comme le père de l'entomologie médico-légale moderne.

Actuellement, l'entomologie médico-légale est pratiquée dans la majorité des pays développés ou en voie de développement (Wyss & Cherix 2006). Particulièrement bien implantée aux Etats Unis, où son utilisation dans le cadre d'affaires criminelles est quasi-systématique, elle reste nettement plus marginale en France. Deux laboratoires ont une activité d'expertise : le laboratoire d'entomologie de l'Institut de Recherche Criminelle de la Gendarmerie Nationale (IRCGN) à Rosny-sous-Bois, et le laboratoire d'entomologie de l'Institut de Médecine Légale de Lille. Seul ce dernier développe une activité de recherche fondamentale en entomologie médico-légale.

B.2. Principes et méthodes en entomologie médico-légale

«Voilà vraiment l'égalité, la seule de ce monde, l'égalité devant l'asticot.»

(Fabre 1923)

L'étude des insectes prélevés sur un corps en vue d'estimer le moment du décès est un processus complexe et délicat. Bien que la méthodologie employée dans la majorité des cas puisse être formalisée et expliquée, le processus d'expertise fait bien souvent appel à l'expérience de l'entomologiste et à la comparaison avec des cas

similaires. Une parfaite connaissance de la biologie des insectes nécrophages et des méthodes d'estimation de leur temps de développement est de plus nécessaire. Ces différents éléments détermineront la qualité des conclusions et la précision de la datation réalisée. Nous allons ici nous attacher à décrire le cheminement d'idées et de méthodes qui permet de réaliser une estimation de l'IPM dans des cas « standard », que nous définirons comme suit :

- le cadavre se trouve étendu sur le sol,
- il est accessible aux insectes nécrophages,
- il n'a pas subi de manipulations *post mortem* (déplacement, incinération, etc.),
- les prélèvements ont été effectués dans le respect du protocole adapté (Amendt 2006),
- les données thermiques de conservation des prélèvements sont connues.

D'un point de vue pratique, ces conditions ne sont de fait que rarement réunies. Des méthodologies particulières, qui seront abordées dans la seconde partie de ce travail, peuvent alors être mises en œuvre afin d'intégrer ces différences et de corriger l'analyse. Il est cependant important de noter que chaque approximation réalisée augmente la marge d'erreur des conclusions et réduit donc la précision d'estimation de l'IPM.

B.2.a. Réalisation des prélèvements et scellés

La réalisation de prélèvements constitue la première étape du processus d'expertise. Elle est en théorie réalisée par une personne formée à cette technique, mais incombe cependant bien souvent à des techniciens de scène de crime ou à des médecins légistes ne disposant pas de la formation nécessaire. Bien que chaque

laboratoire ait son propre protocole, des directives générales ont été publiées par l'European Association for Forensic Entomology (EAFE) (Amendt 2006) (Annexe 1).

De nombreux ouvrages proposent également des protocoles standardisés et des consignes détaillées pour la réalisation de prélèvements entomologiques et d'expertises (Haskell & Catts 1990, Byrd & Castner 2001). Idéalement, deux séries distinctes de prélèvement doivent être effectuées : la première sur le lieu de découverte du cadavre et la seconde durant l'autopsie. Sur le lieu de découverte, il est important de décrire l'environnement du corps. Dans le cas d'un cadavre retrouvé en intérieur, la recherche d'ouvertures ou de petits orifices permettant l'entrée des insectes doit être effectuée méticuleusement : la présence d'une cheminée ou de fenêtres avec moulures PVC à ventilation intégrée doit par exemple être notée. En extérieur, la description du milieu doit être précise et complète : type de végétation, nature du sol, faune particulière, etc.

La description du microclimat local est également fondamentale : il est en effet nécessaire de pouvoir reconstituer précisément la température aux environs immédiats du corps, et donc de connaître tous les éléments susceptibles de faire différer celle-ci de la température sous abri (température relevée par un organisme compétent en conditions standardisées). En extérieur, on notera notamment la présence d'ombrage, d'une forte circulation d'air ou l'existence d'une humidité importante. En intérieur, l'existence d'un système de climatisation, de chauffage et l'exposition du corps par rapport aux fenêtres sont autant d'éléments pouvant influencer notablement sur la température de la pièce et du corps. Cette description doit être accompagnée d'un relevé de la température ambiante et, si possible, du dépôt sur place d'un enregistreur de température à mémoire intégrée. Il est en effet possible de corrélérer les données « standard » issues de la station météorologique la plus proche avec les températures enregistrées sur place afin d'en déduire *a posteriori* la

température locale durant la période de décomposition du cadavre (Gosselin *et al.* 2006). Cette méthode est particulièrement utile dans le cas de microclimats très prononcés et est, par exemple, systématiquement employée en Belgique lors de la réalisation d'expertises entomologiques (Gosselin, communication personnelle).

La procédure sur le site de découverte du corps se décompose en deux parties : les prélèvements d'insectes sur le cadavre et la recherche autour de celui-ci. Cette seconde partie est primordiale, la première pouvant, si besoin, être complétée durant l'autopsie. Chez de très nombreuses espèces de diptères, lors du stade prépupe, les larves s'éloignent de leur substrat alimentaire (le cadavre en l'occurrence) à la recherche d'un endroit abrité pour s'empurger. Ce comportement se traduit par une dispersion radiale des individus autour du corps, sur une distance allant de quelques centimètres à quelques mètres (Arnott & Turner, De Andrade 2002, Gomes & Von Zuben 2005, Gomes *et al.* 2006, Roux *et al.* 2006). De plus, les individus essayent alors de se protéger en s'enfouissant ou en s'infiltrant dans des zones difficiles d'accès. On les trouvera donc en extérieur enterrées dans le sol à quelques centimètres de profondeur, ou en intérieur dissimulées sous les meubles, les tapis ou bien encore entre les lattes d'un parquet. Il est donc important de prélever des échantillons de sol et de rechercher plus particulièrement les pupes, qui échappent facilement à l'attention. Celles-ci, même vides, doivent être prélevées, car elles attestent du développement complet d'une espèce sur le corps. Ces indices sont cependant très souvent négligés, les pupes étant immobiles, peu visibles et n'étant généralement pas identifiées comme étant des traces d'insectes.

Les prélèvements réalisés sur le corps, durant l'autopsie ou sur le site de découverte du cadavre, nécessitent très peu de matériel et de connaissances. Il suffit

de récolter les insectes visibles, les espèces utiles pour la datation étant toutes de taille suffisante pour pouvoir être repérées à l'œil nu. Les insectes sont regroupés par zone de prélèvement : tête, thorax, membres. Les espèces peuvent être mélangées, à l'exception des coléoptères qui sont souvent prédateurs. Chaque flacon est étiqueté avec la date, le numéro, le nom de l'affaire et le lieu de prélèvement, ainsi qu'une brève description du contenu. Il n'est pas nécessaire de récolter de très grandes quantités d'insectes : les prélèvements ne doivent pas être exhaustifs mais représentatifs de l'entomofaune. Il est donc important de prélever des représentants de tous les stades de développement et de toutes les espèces présentes.

Les prélèvements sont ensuite répartis en deux lots égaux : la première moitié sera conservée vivante dans des flacons percés d'orifices, tandis que la seconde partie sera fixée. Pour cela, on plonge les flacons dans l'eau bouillante afin de tuer immédiatement tous les individus, puis on les remplit avec de l'alcool à soixante-dix pour cent. Cette méthode permet de garder une trace de l'état de développement des insectes au moment de leur prélèvement sur le corps et de conserver vivante l'autre moitié pour la mise en élevage au laboratoire. Une fois les prélèvements effectués, ils doivent être placés sous scellés. En effet, il s'agit de preuves à part entière et la validité des conclusions qui résulteront de leur analyse nécessite le respect de la procédure d'enregistrement des scellés. Les flacons contenant les prélèvements sont donc scellés et le détail du contenu reporté sur une étiquette jointe et sur le cahier d'enregistrement. Une fois ce scellé enregistré, il doit être transmis le plus rapidement possible au laboratoire. Lorsque le délai entre la réalisation des prélèvements et leur envoi doit être long, il est fondamental de conserver les insectes au réfrigérateur, à température stable et contrôlée. Sans cela, il sera impossible de reconstituer l'historique des températures auxquelles les insectes ont été soumis et donc d'estimer

leur temps de développement. A la réception des prélèvements au laboratoire, leur numéro de scellé est enregistré et le contenu noté.

Le scellé ne peut cependant pas être brisé sans mission d'expertise ou réquisition du juge. Les prélèvements sont donc conservés au réfrigérateur en attendant la réception de ce document. Lorsque le scellé est ouvert, les insectes vivants vont être placés en élevage à 24°C sur de la viande jusqu'à leur empupement. Les pupes apparues chaque jour sont isolées et la date relevée. On surveille ensuite deux fois par jour l'émergence de nouveaux individus, qui est également reportée. Les adultes sont ensuite tués et piqués, puis identifiés et étiquetés. On procède également à l'identification des larves fixées et conservées en alcool, pour lesquelles on détermine si possible l'espèce et le stade.

On dispose ainsi au final d'un tableau contenant l'historique des températures depuis le prélèvement des insectes et les espèces et stades présents au moment des prélèvements (insectes fixés) ainsi que le moment d'empupement et d'émergence des insectes placés en élevage. Afin de pouvoir estimer précisément l'âge des insectes ainsi obtenus, des techniques de modélisation de la vitesse de développement ont été élaborées. Elles permettent, à partir de la détermination de l'espèce et du stade étudiés, d'estimer le moment de ponte d'un individu. Ces données constituent la base de l'expertise en entomologie médico-légale, et méritent donc une attention particulière.

B.2.b. Relation entre la vitesse de développement et la température

De très nombreuses études ont été réalisées afin de connaître, en conditions contrôlées et pour chaque espèce, la durée du développement en fonction de la température extérieure. Ces données peuvent être représentées graphiquement comme une courbe où la durée du développement est une fonction décroissante de la température (figure 7). On observe ainsi que plus il fait chaud, plus le développement est rapide, et inversement. Ce phénomène n'est cependant vérifié que dans une certaine plage de valeurs : en dessous d'une température minimum, les insectes ne se développent plus et n'ont aucune activité. De même, lorsque les températures deviennent trop élevées, c'est-à-dire que l'optimum thermique est dépassé, la vitesse de développement baisse et s'accompagne d'une augmentation importante de la mortalité, pouvant être totale pour des températures supérieures à 45°C (Higley 1986, Dent 1997).

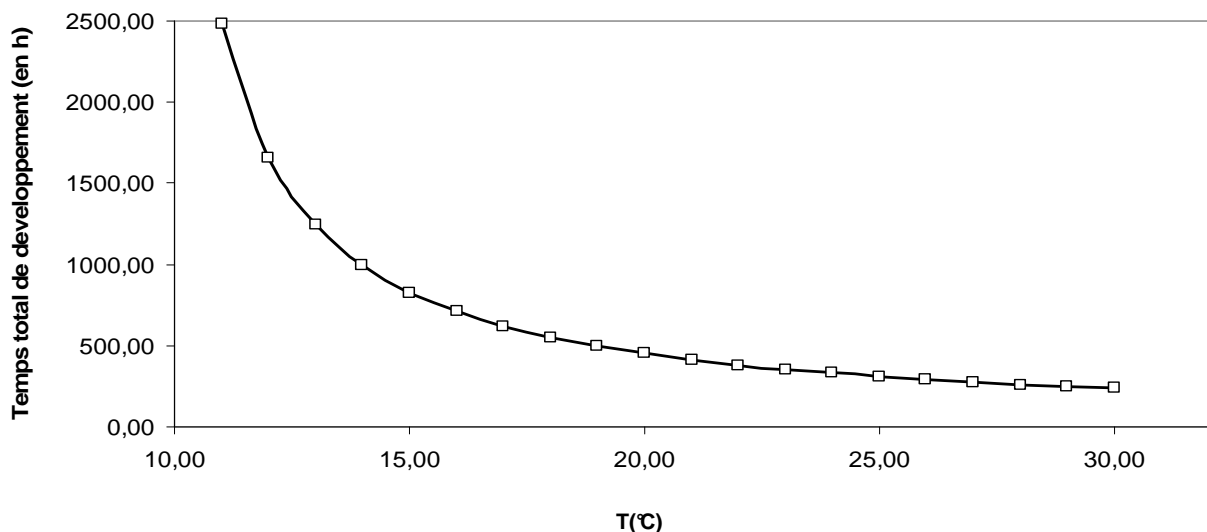


Figure 7

Temps total de développement de *Lucilia sericata* (de l'œuf à l'imago) en fonction de la température (d'après Marchenko, 1986).

Ce type de données permet donc de prévoir la durée de développement d'une espèce selon la température. Cependant, cette relation ne fonctionne que pour des individus placés à température constante. Lorsque la température varie, il est nécessaire de connaître à chaque instant l'état de développement d'un individu (Wagner 1984). La grandeur utilisée pour cela est le taux de développement cumulé (TD_c) : cette valeur théorique varie de 0 (pas de développement = début du stade étudié) à 1 (développement achevé = fin du stade étudié). On cherche alors à calculer de combien chaque pas de temps passé à une température donnée va augmenter ce compteur. Par exemple, sachant qu'il faut 450h à *L. sericata* pour achever son développement à 20°C, on détermine que chaque heure passée à 20°C augmente de 1/450 le taux de développement cumulé d'un individu. Cette dernière valeur représente donc un taux de développement réalisé par unité de temps, que nous noterons TD_u . La contribution de chaque unité de temps passée à une température donnée est déterminée par la formule

$$TD_u = 1 / \text{temps de développement total à cette température (équation notée §)}$$

Ainsi, sachant que la durée totale de développement de *L. sericata* est de 450h à 20°C et 310h à 25°C, on peut calculer qu'un individu ayant passé 30h à 20°C et 40h à 25°C aura réalisé $(1/450)*30 + (1/310)*40 = 0,195^{\text{ème}}$ de son développement total, soit un peu moins de 20%. Il est donc possible, à partir de données expérimentales, de déterminer pour chaque température le taux de développement unitaire et d'en déduire une relation générale liant ces deux paramètres (figure 8) :

$$TD_u = f(T(t))$$

où T représente la température, t le temps et f la fonction liant le taux de développement et la température. De nombreux modèles mathématiques ont ainsi été développés afin de rendre compte de cette relation.

On observe de plus que pour une plage de température moyenne (entre 20°C et 35°C environ pour la majorité des diptères nécrophages), la vitesse de développement augmente linéairement avec la température (Wagner 1984, Ikemoto 2000). On peut alors, dans cet intervalle de température, modéliser la relation entre ces deux paramètres par l'équation :

$$TD_u = aT + b \ (\S\S)$$

où TD_u représente le taux de développement unitaire et T la température.

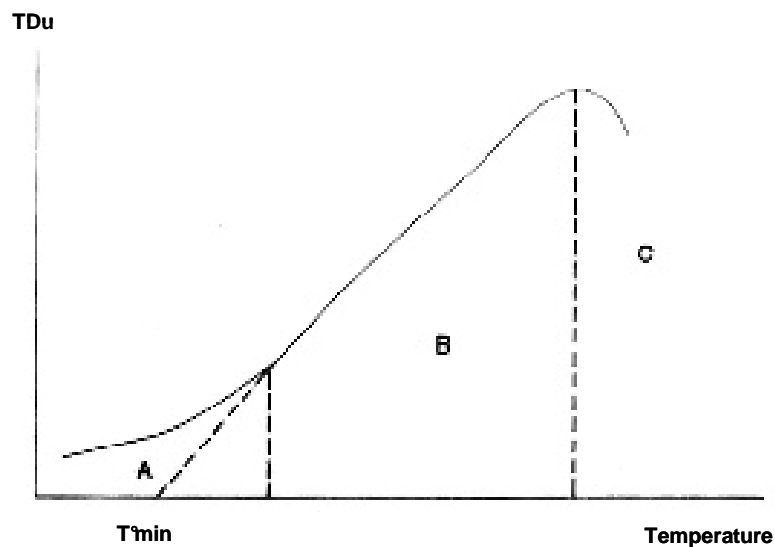


Figure 8

Représentation générale du taux de développement unitaire TD_u (Rate of development) d'un individu en fonction de la température. Les zones A et C (températures « extrêmes ») ne sont pas linéaires, contrairement à la zone B située dans la plage des températures « moyennes » (d'après Dent, 1997).

La méthode de modélisation la plus communément utilisée, qui consiste à transposer le temps de développement sous forme d'une quantité de degrés à accumuler, est celle de Marchenko (Marchenko 1988). Pour chaque espèce et chaque stade, une constante appelée Accumulated Degree Days (ADD_c) dans le cas de moyennes journalières (ou Accumulated Degree Hours (ADH_c) dans le cas de données horaires) reflète ainsi le lien entre temps de développement et température. Un stade de développement donné est achevé lorsque la somme des degrés accumulés devient égale à la constante de l'espèce pour ce stade. Mathématiquement, la valeur d' ADD_c correspond à l'inverse du coefficient directeur de la droite (équation §§), c'est-à-dire $1/a$. La température minimum de développement (T_{min}) est quant à elle donnée par l'intersection de la droite avec l'axe des abscisses, caractérisée par le rapport $-b/a$ (figure 8) (Arnold 1959). Contrairement à l'idée généralement répandue, cette valeur n'a pas de signification biologique propre, mais résulte simplement de la technique de modélisation linéaire (Ames 2003, Nability 2006). Il faut retrancher cette valeur de la température extérieure pour obtenir les degrés perçus durant un pas de temps (noté ADD_u). En effet, on peut poser le rapport :

$$ADD_u/ADD_c = TD_u/TD_c \Leftrightarrow ADD_u = TD_u * ADD_c \text{ (car } TD_c = 1 \text{ par définition)}$$

$$\Leftrightarrow ADD_u = (a * T_u + b) * ADD_c \text{ (d'après l'équation §§)}$$

$$\Leftrightarrow ADD_u = (a * T_u + b) * (1/a)$$

$$\Leftrightarrow ADD_u = T_u - T_{min} \text{ (par définition de } T_{min} \text{ et } ADD_c) \text{ (§§§)}$$

Par exemple, la constante pour le développement total de *Lucilia sericata* est d'environ 210 ADD et sa température minimum de développement de 9°C, ce qui veut dire qu'il lui faut pour achever son développement : 19 jours à 20°C ((20-9)*19 =209) ou 10 jours à 30°C ((30-9)*10 =210).

Le recours à cette méthode de calcul n'est cependant pas possible lorsque la température extérieure atteint les températures basses ou élevées pour lesquelles la vitesse de développement ne se comporte plus de manière linéaire (Ikemoto 2000, Ames 2003). Dans ce cas, la solution est d'utiliser une méthode de modélisation non-linéaire du taux de développement, afin d'obtenir une équation liant température et taux unitaire de développement pour l'ensemble des températures étudiées (Stinner *et al.* 1974). Un grand nombre de modèles mathématiques ont été développés dans ce but : dans un article de synthèse daté de 1984, Wagner propose une comparaison des différents modèles existants et de leurs intérêts respectifs (Wagner 1984). Il distingue deux grands types de modélisations : les constructions théoriques, dont les paramètres d'ajustement sont déconnectés de la réalité biologique, et les modèles reposant sur des lois physiologiques connues.

La première catégorie présente l'avantage de la simplicité et nécessite peu de paramètres. Ainsi, le modèle de Stinner, datant de 1974, est encore fréquemment utilisé et propose une modélisation simple et efficace du taux de développement (Stinner *et al.* 1974, Dent 1997). Son équation ne comporte que trois paramètres d'ajustement :

$$TD_u(T) = \frac{C}{(1 + e^{k_1 + k_2 T'})}$$

où $TD_u(T)$ est le taux de développement unitaire en fonction de la température T ; C , k_1 et k_2 des constantes d'ajustement et T' une variable représentant la température. Lorsque celle-ci est inférieure à la température où le taux de développement est maximal (T_{opt}), on a $T' = T$, passé cet optimum, $T' = 2 * T_{opt} - T$.

Les modèles basés sur des paramètres biologiques sont généralement nettement plus complexes. Wagner préconise l'emploi de la formule :

$$TD_u(T) = \frac{RHO25 \cdot \frac{T}{298.15} \cdot e^{\frac{HA}{R} \cdot (\frac{1}{298.15} - \frac{1}{T})}}{1 + e^{\frac{HL}{R} \cdot (\frac{1}{TL} - \frac{1}{T})} - e^{\frac{HH}{R} \cdot (\frac{1}{TH} - \frac{1}{T})}}$$

où $TD_u(T)$ est le taux de développement unitaire en fonction de la température T , R la constante universelle des gaz, $RHO25$ le taux de développement unitaire à 25°C, HA l'enthalpie d'activation de la réaction catalysée par l'enzyme contrôlant la vitesse de développement, TL et TH les températures en Kelvin où l'enzyme présente 50% de son activité à basse (TL) et haute (TH) température, HL le changement d'enthalpie correspondant à l'inactivation de l'enzyme à basse température et HH le changement d'enthalpie correspondant à l'inactivation de l'enzyme à haute température. Le choix d'un modèle de ce type, s'il semble plus réaliste et plus précis, implique une excellente connaissance des processus physiologiques impliqués et des constantes spécifiques. De plus, les équations utilisées sont généralement complexes et donc difficilement utilisables par des utilisateurs non-spécialistes (Higley 1986).

Quelle que soit l'équation de modélisation du taux de développement choisie, la méthode de calcul du temps de développement est ensuite la même.

B.2.c. Méthode de datation dans le cas d'un intervalle *post mortem* court

Une fois les insectes prélevés sur le corps, élevés et identifiés, le spécialiste va déterminer la méthodologie d'expertise la plus appropriée. Ce choix dépend principalement des espèces présentes et de leurs stades de développement. On parle d'IPM court lorsque les individus issus des pontes des premiers insectes colonisateurs

(diptères Calliphoridae) sont encore en train de se développer sur le corps lors de sa découverte. Ce cas de figure correspond généralement à une période de quelques jours à quelques semaines après le décès. Il est alors possible de calculer directement l'âge des insectes au moment où ils ont été prélevés sur le corps. L'estimation de leur date de ponte correspondra donc à l'IPM minimum, c'est-à-dire la mise en évidence d'une date où la victime était déjà morte.

D'un point de vue général, la méthode consiste, en partant de l'émergence des insectes, à discrétiser le temps en périodes constantes (généralement 1h ou 24h) et de température fixe. On calcule alors le taux de développement unitaire TD_u réalisé durant ce laps de temps, puis on somme l'ensemble de ces valeurs jusqu'à obtention d'un taux de développement cumulé TD_c de valeur 1. Le moment où cette égalité est observée correspond alors à la date de ponte des insectes. Plus formellement, cette méthodologie consiste à déterminer le moment de la ponte (t_1) dans l'équation suivante :

$$TD_c \approx \sum_{t_1}^{t_2} f(T(t))\Delta t$$

où Δt est le pas de temps utilisé et t_2 le moment où les insectes ont été prélevés.

Le calcul est encore plus simple dans le cas du modèle ADD/ADH. La valeur de ADD_u étant donnée par la formule $ADD_u = T - T_{min}$ (§§§), il suffit de retrancher la température minimum de développement à la température du pas de temps pour obtenir ADD_u . La sommation de ces valeurs reflète le développement accumulé : lorsque celui-ci devient égal à la constante ADD_c de l'espèce pour un stade, le

développement à ce stade est achevé. Dans l'exemple ci-dessous (figure 9), on détermine en remontant dans le temps la date de ponte de mouches *Lucilia sericata* ayant émergé au laboratoire à J33 (jour n°33), J1 étant la date de disparition de la victime. Ces individus, prélevés sur un corps à J17, ont ensuite été placés au réfrigérateur à 4°C (de J17 à J25) puis élevés en incubateur à 24°C (de J26 à J33). Pour chaque jour à partir du jour d'émergence, on soustrait la température minimum de développement (9°C dans le cas de *Lucilia sericata*) à la température extérieure (histogramme) et on additionne cette valeur aux ADD déjà accumulés les jours précédents (droite) (Marchenko 1988). Le moment où les individus ont été pondus se trouve à la date où cette somme devient égale à la constante d'ADD pour l'émergence de cette espèce. Dans cet exemple, la valeur de 210 ADD_c, permettant le développement total de *Lucilia sericata*, est atteinte entre les jours 9 et 10, ce qui indique que la victime était déjà morte à cette date. De plus, la température durant les jours 1 à 9 étant suffisamment élevée pour permettre l'activité des mouches adultes, il est probable que celles-ci aient pondu rapidement après le décès. Cette indication confirme ainsi l'hypothèse d'un décès peu antérieur au jour 9.

Pour mieux illustrer cet exemple, il est commode de suivre le raisonnement inverse (rétrodiction) : supposons que les premiers œufs de *Lucilia sericata* aient été pondus sur le corps le jour 9 : il faudra attendre le jour 33 pour que ces individus aient achevé leur développement et émergent de leurs pupes. Si les pontes étaient survenues ultérieurement, les insectes n'auraient pas pu achever leur développement à J33. En revanche, en considérant une ponte antérieure à J9, les insectes auraient dû terminer leur développement bien avant J33. Le raisonnement permettant de calculer le temps de développement d'un individu peut donc être employé pour prédire le

moment d'émergence d'un individu ou pour calculer *a posteriori* à quel moment il a été pondu.

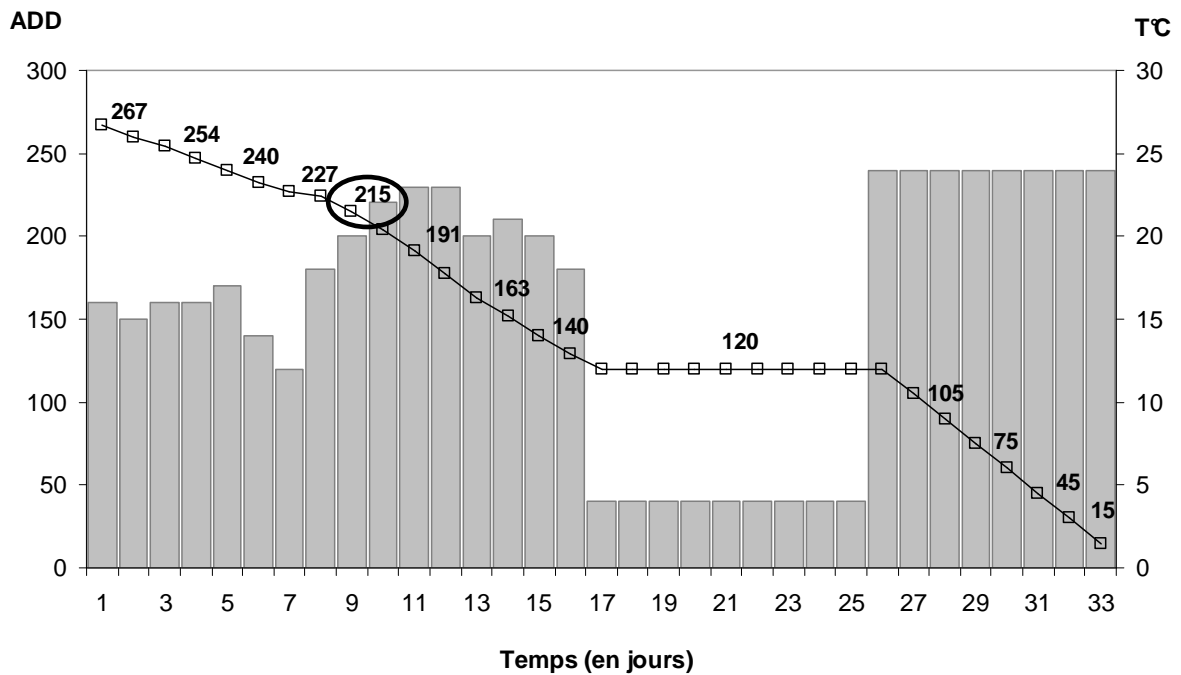


Figure 9

Estimation du moment de ponte de *Lucilia sericata* à partir de la date d'émergence d'individus placés en élevage. La température moyenne journalière est représentée par l'histogramme et les degrés-jours accumulés (ADD) par la courbe. Les degrés-jours accumulés atteignent la constante d'émergence entre les jours 9 et 10, ce qui indique que les premiers œufs de *L. sericata* ont été pondus à cette date, donc que la victime était déjà morte à ce moment.

B.2.d. Autres méthodes de datation

Il est également possible d'estimer l'âge des individus à partir de leur taille. Cette méthode fonctionne bien pour des insectes placés à température constante et donne une lecture continue de l'âge des individus, contrairement à la méthode précédente basée sur les stades. La méthodologie et l'estimation des paramètres pour

les différentes espèces a fait l'objet de nombreuses études (Wells 1994, Wells & Lamotte 1995, Byrd 1998, Byrd 2001b, Grassberger & Reiter 2001, 2002, Wells & Lamotte 2001, Grassberger 2002). Cependant, elle nécessite que les larves soient ébouillantées lors de leur prélèvement : en effet, celles-ci ont tendance à se contracter en présence d'un danger, ce qui peut fausser l'estimation de la longueur même après leur mort. Les individus ébouillantés sont au contraire étirés au maximum et peuvent donc être mesurés de manière standardisée. Malheureusement, cette méthode n'est que très occasionnellement employée en France car il est rare que cette procédure soit suivie lors des prélèvements. Une récente étude a également mis en évidence un lien entre la largeur des larves et leur âge, cette relation ne pouvant malheureusement être appliquée que sur des larves vivantes et fraîchement prélevées (Myskowiak & Doums 2002, Day & Wallman 2006a). Il en va de même pour l'estimation de l'âge des individus sur la base de leur poids (Wells & Lamotte 1995).

Lorsque les premiers colonisateurs ont achevé de se développer, il ne reste de leur passage que quelques pupes vides. Il n'est alors plus possible de baser l'estimation de l'IPM sur l'âge de ces individus. D'autres insectes, pondus peu après, sont cependant en train d'achever leur développement tandis que des espèces plus tardives commencent juste à être attirées par le corps. Il est alors possible de se baser sur la température maximum atteinte durant la décomposition du corps pour calculer l'âge minimum de tous les insectes prélevés. En considérant cette température maximum comme constante durant le développement des insectes, on estime quelle aurait pu être leur vitesse maximale de croissance et donc la durée minimum nécessaire à leur développement. L'IPM minimum correspondra alors à la durée de développement la plus longue pour l'ensemble des espèces. Le délai *post mortem* est évidemment ici largement sous-estimé. Cette méthode est de plus inadaptée dans le

cas de corps placés en extérieur durant une longue période, cas pour lesquelles la température varie généralement très fortement.

Une autre solution consiste à estimer le moment de ponte des plus jeunes insectes présents sur le corps, en utilisant la méthode décrite précédemment (figure 8). Ce calcul permet de déterminer un IPM minimum de manière précise, mais évidemment sous-estimé. Cette datation est fiable mais généralement peu informative : l'estimation de l'âge des insectes les plus tardifs et donc de leur date de ponte indique bien un moment où la victime était déjà décédée, mais la présence d'autres espèces ayant achevé leur stade de développement indique clairement que la mort est bien antérieure à cette estimation.

On peut enfin se référer à la notion d'escouades, ou plus exactement à la succession de l'entomofaune sur le corps. On cherche alors à reconstituer le processus de colonisation du corps en corrélant données climatologiques, âge des prélèvements et besoins écologiques de chaque espèce. On détermine ainsi si des espèces présentes dans les prélèvements peuvent s'être développées durant la même période ou si elles se sont succédées, et si leurs besoins nutritionnels étaient compatibles avec l'état supposé du corps à cette période. Cette dernière méthode est cependant très imprécise et délicate, et ne peut en aucun cas apporter une estimation fiable du moment du décès. Elle permet tout au plus de proposer un scénario *post mortem* susceptible d'appuyer d'autres éléments de l'enquête.

B.3. Conclusions quant à l'entomologie médico-légale

Initialement fondée sur la connaissance empirique des habitudes de quelques espèces de diptères, l'entomologie médico-légale a depuis su se doter de méthodes d'étude performantes qui ont permis d'asseoir son statut de science à part entière et en ont fait un outil de premier ordre pour les enquêteurs et les magistrats.

Il convient cependant de garder à l'esprit certaines limites de cette méthode. En premier lieu, celle-ci est tributaire des prélèvements effectués lors de la découverte du corps et durant l'autopsie : si ceux-ci ne sont pas représentatifs de l'entomofaune du cadavre, la datation réalisée sera nécessairement biaisée. De plus, la méthode permet de calculer un IPM minimum, et non le moment de la mort (simplification de langage). En effet, le calcul effectué dans le cas d'un IPM court permet de remonter au moment des premières pontes : dans le meilleur des cas, celles-ci surviennent rapidement après le décès, mais il n'en est pas toujours ainsi.

Enfin, la méthode est entièrement tributaire de la parfaite connaissance d'un paramètre : la température ressentie par les larves durant leur développement. Hors celle-ci peut différer notablement de la température de l'environnement. Certains facteurs tels que l'inertie thermique du corps, l'existence d'un microclimat local ou encore le dégagement de chaleur par les masses de larves peuvent en effet engendrer l'apparition de températures locales distinctes de celles de l'environnement. Ce type de phénomène est donc susceptible d'influer sur le temps de développement des insectes, et donc sur l'estimation de l'intervalle *post mortem*.

Ces réserves, connues des spécialistes, sont normalement intégrées aux marges d'erreur qui accompagnent l'estimation de l'IPM : elles constituent néanmoins la principale limite de la méthode entomologique de datation de la mort.

C. Synthèse

Cette première partie introductive nous a permis de synthétiser les connaissances actuelles quant au développement et au comportement des insectes nécrophages, et de comprendre comment ceux-ci pouvaient être utilisés pour estimer un IPM minimum dans le cadre d'enquêtes médico-légales. Nous avons également pu mettre en évidence la complexité de ce processus d'expertise et la nécessité pour le spécialiste de disposer de données expérimentales fiables et documentées. Malgré les nombreuses études et ouvrages disponibles, la biologie des larves de diptères nécrophages demeure relativement mal connue. Les publications spécialisées apportent régulièrement de nouvelles données, mais celles-ci sont souvent délicates à exploiter et certains points particuliers font encore l'objet de vifs débats au sein de la communauté scientifique.

Le but de la présente étude est d'apporter un certain nombre d'éléments d'analyse concernant la biologie des principales espèces de diptères nécrophages d'intérêt médico-légal, mais également de fournir les méthodes nécessaires à l'intégration de ces paramètres au processus d'expertise. La seconde partie de cette thèse concerne la présentation des résultats expérimentaux et leur interprétation, tandis que la dernière partie s'attache à décrire le fonctionnement d'un programme d'aide à l'expertise développé sur la base de ces résultats.

La figure 10 présente sous une forme synthétique les différents aspects du système étudié. La connaissance détaillée des éléments de ce système ainsi que des interactions qui les lient conditionne la qualité et la validité de l'interprétation des insectes prélevés sur un corps.

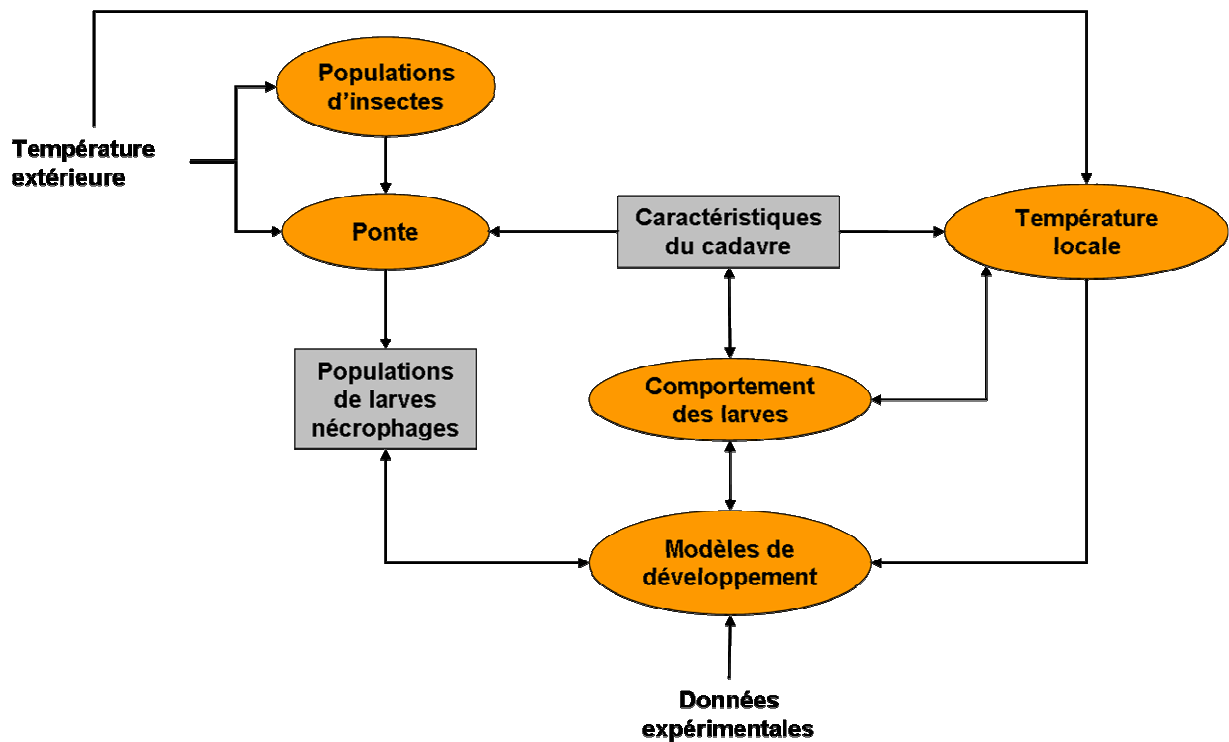


Figure 10

Schéma des différents paramètres impliqués dans le développement des diptères nécrophages sur un corps et influant sur l'estimation de l'intervalle post mortem (IPM) par la méthode entomologique. La température atmosphérique joue sur les populations d'insectes, et contrôle l'oviposition. Les populations d'insectes présentes sur le corps vont ensuite se développer à une vitesse dépendant de règles mathématiques connues. Le comportement des individus régule ce développement en influant notamment sur la température locale (effet des masses de larves) et la vitesse de dégradation du corps. Enfin, l'état de décomposition du corps détermine son attractivité pour les différentes espèces d'insectes.

Ce schéma sera repris dans la seconde partie de ce travail sous la forme d'un bandeau, présent au début de chaque chapitre, et permettant de situer à quelle partie du système se réfère l'étude réalisée. Le modèle développé dans le cadre de cette thèse se réfère également à cette structure, que l'on retrouvera donc sous une version un peu plus complexe en tant qu'architecture du système de simulation du développement des insectes nécrophages.

II. SECONDE PARTIE : PROBLÉMATIQUES & EXPÉRIMENTATIONS

BIOLOGIE ET COMPORTEMENT DES DIPTERES NECROPHAGES : RESULTATS EXPÉRIMENTAUX

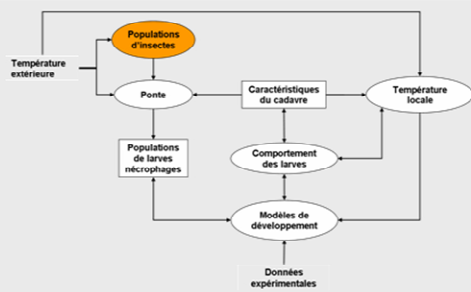
II. SECONDE PARTIE : PROBLÉMATIQUES & EXPÉRIMENTATIONS

D. Populations d'insectes nécrophages	82
D.1. État des connaissances	82
D.1.a. Variabilité temporelle des insectes attirés par un corps en décomposition	83
D.1.b. Modèles populationnels	86
D.2. Protocole expérimental	88
D.2.a. Matériel et méthodes de piégeage	88
D.2.b. Traitement des données	90
D.3. Résultats et analyse	91
D.3.a. Espèces récoltées et sex-ratio	91
D.3.b. Effets du climat et périodes préférentielles d'activité	94
D.4. Modélisation	97
D.5. Discussion et conclusion	102
E. Vitesse de développement des larves de diptères nécrophages	108
E.1. Connaissances actuelles	108
E.1.a. Observation et caractérisation de la vitesse de développement	108
E.1.b. Variabilité inter-individuelle du temps de développement	109
E.2. Synthèse des données publiées et perspectives	111
E.2.a. Création d'une base documentaire et analyse des données publiées	111
E.2.b. Perspectives liées à l'utilisation d'une base de données	116
E.3. Étude et modélisation de la variabilité des vitesses de développement	117
E.3.a. Étude des vitesses individuelles de développement	117
E.3.b. Modélisation de la variabilité	120
E.3.c. Conclusion	126
F. Vitesse de déplacement des larves de diptères nécrophages	129
G. Caractérisation de la structure et du comportement thermique des masses de larves	135
G.1. Etat des connaissances	135
G.1.a. Observations et interprétations	135
G.1.b. Premières expériences et structure des masses de larves	137
G.2. Nouveaux résultats et analyse	139
G.2.a. Structure des masses et origine du dégagement thermique	139
G.2.b. Enregistrements de température en conditions contrôlées	147
G.3. Discussion	153

H. Inertie thermique d'un cadavre	157
H.1. Introduction	157
H.1.a. Importance de la température du corps en médecine légale	157
H.1.b. Modèles thermiques	160
H.2. Modélisation de l'inertie thermique d'un cadavre	163
H.2.a. Principe des automates cellulaires	163
H.2. b. Modélisation du corps humain	164
H.2.c. Règles de transfert thermique	165
H.3. Validation expérimentale	167
H.3.a. Comparaison avec le modèle de référence	167
H.3.b. Simulation de la température interne d'un cadavre de porc	167
H.4. Comparaisons in silico	169
H.5. Discussion et conclusion	172
H.5.a. Validité et utilisation du modèle en médecine légale	172
H.5.b. Conséquences sur la vitesse de développement des insectes nécrophages	174
<hr/>	
I. Problématiques & expérimentation : synthèse	179

En tant que discipline scientifique « jeune », l'entomologie médico-légale ne dispose que d'une quantité restreinte de données expérimentales. Le développement important des sciences criminelles durant la dernière décennie a permis de combler partiellement ce retard, mais la majorité des acteurs du domaine exercent principalement une activité d'expertise. Les principales données disponibles sont donc souvent anciennes et concernent majoritairement l'étude de la durée de développement des insectes en fonction de la température. De plus, l'absence d'une réelle homogénéité des protocoles expérimentaux et des techniques d'expertise complique l'interprétation des résultats existants. La recherche de données et modèles obtenus en dehors du contexte de l'entomologie médico-légale, notamment dans les domaines de l'écologie et de la physiologie, révèle cependant un certain nombre de méthodes peu connues des experts et pourtant directement liées à leurs activités. Ces études apportent ainsi de précieux compléments d'information et méritent à ce titre d'être détaillées dans ce chapitre, leurs conclusions étant susceptibles d'avoir une portée directe en entomologie médico-légale.

La seconde partie de ce travail concerne donc l'étude de différents aspects de la biologie, du développement et du comportement des diptères nécrophages. Les expériences présentées visent à la fois à une meilleure compréhension des phénomènes impliqués dans le comportement et le développement des insectes nécrophages et à l'obtention de données ou d'observations exploitables dans le contexte d'expertises en entomologie médico-légale. Cette approche s'inscrit ainsi dans une optique d'étude écosystémique du cadavre et de son entomofaune. Enfin, les protocoles expérimentaux et les résultats présentés ont été développés et analysés dans le cadre d'une modélisation informatique de cet écosystème, travail détaillé dans la dernière partie de cette thèse.



Populations d'insectes

D. Populations d'insectes nécrophages

*« La mouche qui veut échapper au piège ne peut être plus en sûreté
que sur le piège même »*

G. C. Lichtenberg, Le miroir de l'âme

D.1. État des connaissances

Il est aisé d'observer que les populations de diptères, et plus globalement d'insectes, varient au cours des saisons. Les mouches, très abondantes en été, deviennent nettement plus rares durant l'hiver. Dans le contexte de l'entomologie médico-légale, ces variations se traduisent par une très faible colonisation des corps durant la période froide, qui rend l'expertise de tels cas délicate. Les expériences de suivi de population présentées ici répondent à un double objectif : suivre et caractériser pendant plusieurs mois l'évolution des populations d'insectes nécrophages et tester la validité d'un modèle prédictif développé initialement pour le Royaume Uni.

D.1.a. Variabilité temporelle des insectes attirés par un corps en décomposition

On observe généralement un appauvrissement quantitatif de l'entomofaune nécrophage durant les mois les plus froids. Une étude comparative réalisée en milieu rural sur des cadavres de rats en été et en hiver démontre ainsi l'existence de variations saisonnières des populations d'insectes nécrophages récoltées (Tomberlin & Adler 1998). Le nombre d'œufs de *Calliphoridae* (la famille la plus représentée lors de ces expériences) prélevés lors de ces expériences était dix fois plus important en été qu'en hiver (2550 ± 4228 contre 254 ± 340), traduisant une présence et une activité reproductive de ces espèces nettement plus importante durant l'été. Une autre série de relevés, menés sur des cadavres de porcelets durant deux années consécutives, confirme l'existence de variations à la fois saisonnières et annuelles du processus de colonisation d'un cadavre (Archer 2003). L'auteur conclut sur un rôle conjoint des populations d'insectes et du climat pour expliquer ces variations, sans pour autant pouvoir préciser la part respective de chacun de ces paramètres sur la dynamique globale. Les mêmes conclusions ont été émises suite à une étude réalisée en Espagne par Martinez-Sanchez *et al.* (Martinez Sanchez *et al.* 2006).

En France, lors de piégeages réalisés en 1997 sur des cadavres de lapins dans le nord de la France, en milieu littoral, Bourel note que l'arrivée des premiers diptères (*Calliphora vicina* et *Calliphora vomitoria*) n'a eu lieu que plusieurs jours après le dépôt du cadavre, bien que les températures aient été suffisantes pour permettre l'activité des insectes (Bourel *et al.* 1999a). L'absence de populations importantes d'insectes nécrophages durant certaines périodes semble être à l'origine de ce délai de colonisation, et s'explique par l'action conjuguée de plusieurs facteurs.

La durée de vie des diptères *Calliphoridae* adultes n'excédant pas quelques mois et la prédation diminuant considérablement cette espérance de vie, les populations constituées durant l'été se trouvent rapidement épuisées pendant l'hiver (Wall 1993a, Hayes *et al.* 1999). De plus, les larves pondues à la fin de l'été se trouvent confrontées à des températures froides bien inférieures à leur température optimum de développement, ce qui freine considérablement l'apparition de nouveaux imagos et entraîne une mortalité importante (Pitts & Wall 2005). L'entrée en diapause peut également stopper temporairement leur développement (Saunders 1986, Mcwatters & Saunders 1997, Tachibana & Numata 2004b).

Une étude réalisée en conditions contrôlées sur plusieurs espèces de diptères nécrophages courantes indique des besoins variables suivant les espèces et les fonctions : activité, vol et ponte (Hedouin *et al.* 1996) (tableau 6). Cette température relative est cependant difficile à évaluer, les insectes pouvant accumuler de l'énergie thermique en s'exposant au soleil ou en se plaçant sur un support chaud. De plus, celles-ci sont également sensibles aux précipitations et ne volent pas en cas de vent fort, ce qui limite d'autant plus les périodes potentielles d'activité (Digby 1958, Henning 2005). Conjointement, ces effets climatiques entraînent durant les périodes froides une forte baisse des populations de diptères et de l'activité des insectes, se traduisant par une colonisation retardée des cadavres.

	<i>P. terraenovae</i>	<i>C. vomitoria</i>	<i>L. sericata</i>	Tableau 6
Inactivité	< 10°C	10°C	10°C	Températures min
Début d'activité	10°C	11,7°C	12,5°C	nécessaires à l'activité de 3
Vol	11,2°C	12,1°C	12,9°C	espèces de diptères (d'après
Début de ponte	18°C	15°C	18°C	Hedouin et al., 1996).

Enfin, l'analyse de séries de prélèvements effectués dans des fermes ovines en Angleterre a permis de mettre en évidence une périodicité des variations d'effectifs des populations de *L. sericata*. Les données récoltées ont été analysées en discrétisant le nombre d'individus capturés en périodes thermiques constantes correspondant à une valeur de 20 ADD (soit 1 journée à 20°C ou 2 jours à 10°C). Cette méthode permet de s'affranchir des effets climatiques à court terme et ainsi de standardiser l'échantillonnage en minimisant l'effet de la température journalière sur le nombre d'individus piégés. L'analyse des fréquences de fluctuation des captures révèle une première périodicité correspondant au cycle saisonnier : augmentation du nombre de mouches capturées au début du printemps puis diminution à l'automne. Un second cycle d'une période de 260 ADD correspondant à la durée du cycle de vie de *L. sericata* (durée nécessaire au développement suivi du déclenchement de nouvelles pontes) se superpose: les populations sont donc synchrones et fluctuent régulièrement du fait de leur temps de développement. Cette étude démontre ainsi nettement le rôle majeur joué par les variations d'effectifs au sein des populations de diptères nécrophages, indépendamment de l'impact à court terme de la température sur l'activité des insectes.

La vitesse de colonisation d'un corps et l'abondance des insectes récoltés varient donc suivant la température ressentie par ceux-ci mais également selon les effectifs des populations. Il apparaît ainsi clairement que les données climatiques, notamment la température, sont insuffisantes pour estimer correctement le délai de colonisation d'un corps, pratique pourtant courante dans le cadre de l'entomologie médico-légale (Wetzel *et al.* 2008).

D.1.b. Modèles populationnels

Afin de mieux appréhender les variations de populations d'insectes indépendamment des problématiques liées à leur activité, des modèles ont été développés. Ils visent à estimer les effectifs en postulant que ceux-ci répondent aux variations de paramètres environnementaux ou intrinsèques selon des lois connues (Holt & Cheke 2002). On peut distinguer ici les modèles biologiques, basés sur la connaissance des cycles de développement, des valeurs reproductives, de la mortalité, etc. propres à une espèce ou à un groupe donné, et les modèles de régression issus directement de l'analyse mathématique de séries expérimentales.

Les modèles biologiques présentent l'avantage de posséder une valeur explicative évidente et de reposer sur une logique biologique explicite. Ils sont généralisables et peuvent être affinés par l'ajout de nouveaux paramètres physiologiques ou comportementaux. Il est également possible de faire interagir plusieurs modèles de ce type pour tester l'effet d'interventions humaines (traitements pesticides par exemple), la compétition interspécifique ou l'introduction d'un prédateur dans le système. Leur mise en place nécessite en revanche une parfaite connaissance des phénomènes biologiques en jeu et des caractéristiques propres à chaque espèce. Bien que de telles modélisations n'existent pas dans le cadre spécifique de l'entomologie médico-légale, un modèle de ce type a été développé dans le contexte de la lutte contre les myiases ovines provoquées en Angleterre par *Lucilia sericata*, une espèce également fréquemment rencontrée en entomologie médico-légale. L'objectif de cette modélisation est l'anticipation des pics de populations à l'origine d'attaques massives dans les élevages et la mise en place de réponses adaptées pour le contrôle de ces invasions (Wall 1993b, Hayes *et al.* 1998, Broughan & Wall 2007).

La première version, développée en 1992, permet de prédire les effectifs de *L. sericata* à partir d'un cycle biologique simplifié, des populations préexistantes et de la température environnementale (Wall *et al.* 1992). Comparé avec les données issues de piégeages réalisés durant une saison, il permet d'estimer jusqu'à 75% de la variabilité totale observée (validation réalisée sur 6 mois de suivi local). Ce modèle a été affiné par la suite afin d'y intégrer de nombreux paramètres supplémentaires et d'ajuster avec plus de précision les constantes biologiques spécifiques (Smith & Wall 1998, Smith 1998, Fenton *et al.* 1999b, Hayes *et al.* 1999). On trouve ainsi plusieurs versions publiées, de plus en plus élaborées mais délicates à interpréter (figure 11) (Fenton *et al.* 1998, Wall *et al.* 2000, Wall *et al.* 2002).

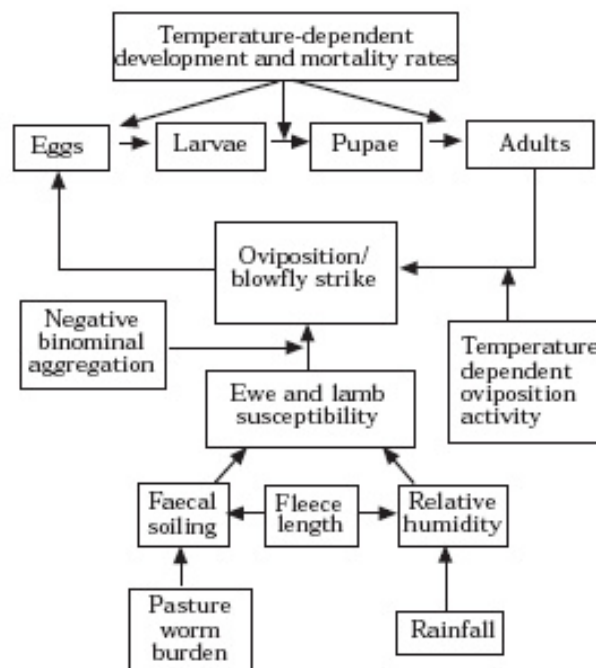


Figure 11

Représentation schématique de la structure du modèle développé par Wall *et al.* d'estimation des populations de *Lucilia sericata* et d'attaques sur les élevages ovins (in Wall *et al.*, 2000).

Un second type de modélisation biologique des variations de populations de diptères nécrophages a été développé dans un tout autre contexte. Initialement appliquée par Roy *et al.* à l'étude des populations de lépidoptères, cette méthode a été transposée aux diptères par Goulson *et al.* (Roy *et al.* 2001, Goulson *et al.* 2005). Elle repose sur l'analyse statistique de séries de données populationnelles afin d'en extrapoler une relation entre les variations observées des populations de diptères et les données environnementales, et notamment climatiques.

Les résultats présentés dans la suite de ce chapitre ont été obtenus dans le cadre d'une campagne de piégeage réalisée à Lille (59), dans le nord de la France. Celle-ci se poursuit actuellement, et devrait être suivie durant plusieurs années.

D.2. Protocole expérimental

D.2.a. Matériel et méthodes de piégeage

Cette étude a pour principal objectif de tester la validité du modèle de Goulson *et al.* sur les populations de diptères nécrophages du nord de la France, en vue de son utilisation dans le cadre de l'entomologie médico-légale. Des campagnes de piégeages ont donc été réalisées afin d'obtenir un jeu de données expérimentales auquel confronter les prédictions du modèle. Ces valeurs ont également été analysées afin de déterminer le sex-ratio des espèces, leurs périodes préférentielles de colonisation et l'effet de l'ensoleillement sur l'activité des insectes.

Les captures ont été réalisées durant une période de neuf mois allant du 4 avril 2007 au 15 janvier 2008 sur la terrasse de l'Institut de Médecine Légale (IML) de Lille (50°36'36 N, 3°01'44 E, altitude = 30m). Le bâtiment, situé en limite d'agglomération urbaine, dispose d'un ensoleillement maximal et d'un environnement ouvert facilitant l'accès des insectes volants. Les trois pièges ont été placés sur une terrasse protégée

du vent, avec alternance de lumière (matin) et d'ombre (après-midi), et espacés de 4 mètres chacun. La station Météo France de Lille-Lesquin, la plus proche du site, automatisée, permet d'obtenir des enregistrements horaires des différents paramètres climatiques nécessaires à l'analyse[#].

Trois pièges attractifs ont été utilisés afin de maximiser le nombre d'individus capturés. Leur structure est basée sur celle du piège Upton modifié par Faucherre et Chérix pour la capture des diptères (figure 12) (Faucherre & Cherix 1998, Hwang 2005). Ils sont constitués d'un conteneur plastique de 20 litres dont les côtés ont été remplacés par un grillage fin (mailles < 2mm) pour diffuser efficacement l'odeur de l'appât. Quatre cônes ouverts vers l'extérieur permettent l'entrée des diptères, mais pas leur sortie. Un faux-plafond grillagé guide les insectes qui pénètrent dans le piège vers un flacon de capture situé au sommet du conteneur. Un toit protège le piège de la pluie et permet le maintien en place de la structure par l'ajout d'un poids. Un cadavre animal (rat ou lapin) de 800g±200g, renouvelé chaque semaine, est placé sur un papier absorbant à l'intérieur de chaque piège. Les caractéristiques des individus utilisés (masses et espèces) ont été répertoriées pour l'analyse. Les pièges ont été relevés chaque jour ouvrable à 9h et 17h. Tous les insectes piégés ont été récoltés, tués par congélation, piqués puis identifiés.

[#] L'auteur remercie Météo France d'avoir accepté de communiquer ces données à titre gracieux dans le cadre de ce projet de recherche.

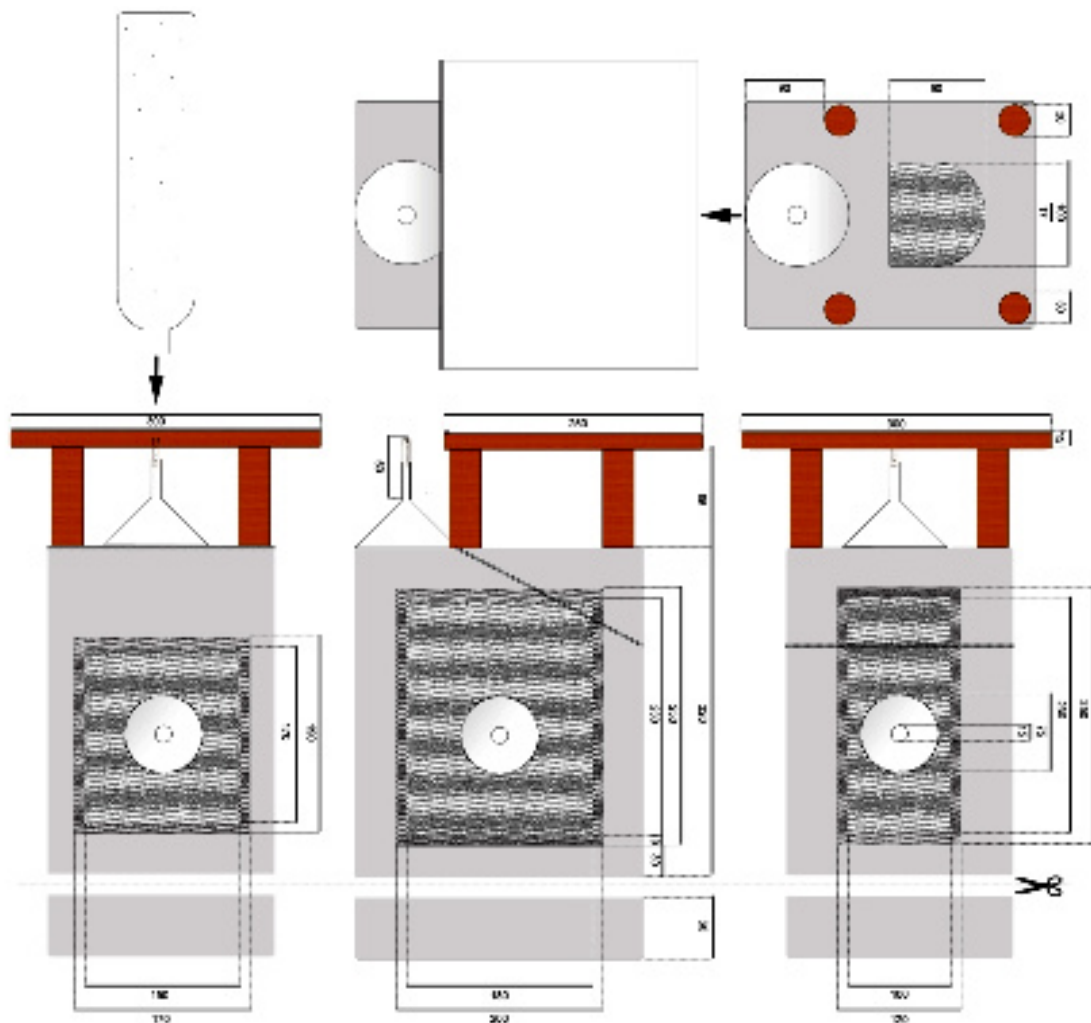


Figure 12

Schéma du piège attractif utilisé pour la capture des diptères nécrophages (tailles en cm, conception et dessin de G. Lacour).

D.2.b. Traitement des données

Les données climatiques horaires d'ensoleillement, pluviométrie, température moyenne sous abri et hygrométrie ont été transformées en moyennes correspondant aux périodes d'analyse (journalières, hebdomadaires, mensuelles, etc.), à l'exception de l'insolation, pour laquelle un cumul a été utilisé (insolation totale). Les insectes piégés ont été identifiés jusqu'au niveau spécifique pour les principales espèces d'intérêt, puis regroupés pour obtenir des taxons d'effectifs suffisants permettant le

traitement et l'analyse des données. Le cumul des captures journalières et hebdomadaires a également été effectué pour chacun de ces groupes afin de répondre aux besoins spécifiques des modèles ou paramètres étudiés.

Concernant l'étude des périodes de colonisation, chaque journée a été subdivisée en deux périodes correspondant à la levée des pièges : effectifs capturés entre 10h et 17h et effectifs capturés entre 17h et 10h le lendemain. Les données correspondant aux jours de changement d'appât ont été exclues de cette phase de l'analyse en raison du biais induit par le comptage des insectes morts récupérés au fond des pièges. De même, les effectifs récoltés le lundi matin, qui correspondent aux insectes capturés du vendredi 17h au lundi 10h (week-end) n'ont pas été utilisés ici. La comparaison des populations estivales et hivernales a été réalisée en scindant les données en deux jeux, le premier couvrant la période du 5 avril 2007 au 29 août 2007 (appelée par la suite période chaude) et le second celle du 30 août 2007 au 15 janvier 2008 (période froide). La détermination du sexe n'ayant pas été effectuée durant une partie de l'été, l'analyse du sex-ratio couvre uniquement les insectes capturés du 4 avril 2007 au 25 avril 2007 et du 5 septembre 2007 au 15 janvier 2008. Le sex-ratio n'a de plus été caractérisé que pour *C. vicina*, *C. vomitoria* et *L. sericata*, seules espèces dont un nombre significatif d'individus sexés était répertorié.

D.3. Résultats et analyse

D.3.a. Espèces récoltées et sex-ratio

7940 individus répartis en quinze taxons ont été capturés, piqués et identifiés durant les 9 mois de piégeage (tableau 7 et figure 13). Les familles les plus fréquentes sont les diptères Calliphoriens et Muscidés, qui représentent respectivement 36% et

8,5% des effectifs totaux. Le taxon le plus représenté est la famille des Piophilidae (16,9%) suivi de *Lucilia sericata* (13,5%). *Calliphora vicina*, une des espèces les plus fréquemment rencontrées en entomologie médico-légale, ne représente que 9,4% des prises. *C. vomitoria* et *Sarcophaga sp.*, également fréquentes sur les cadavres humains, occupent quant à elles 3,2% et 2,6% des prises totales. Le sex-ratio est nettement en faveur des femelles, qui représentent pour les trois espèces étudiées plus de 80% du total des captures (figure 14). Cette proportion reste sensiblement constante durant toute la période de piégeage et ne semble donc pas influencée par la saison.

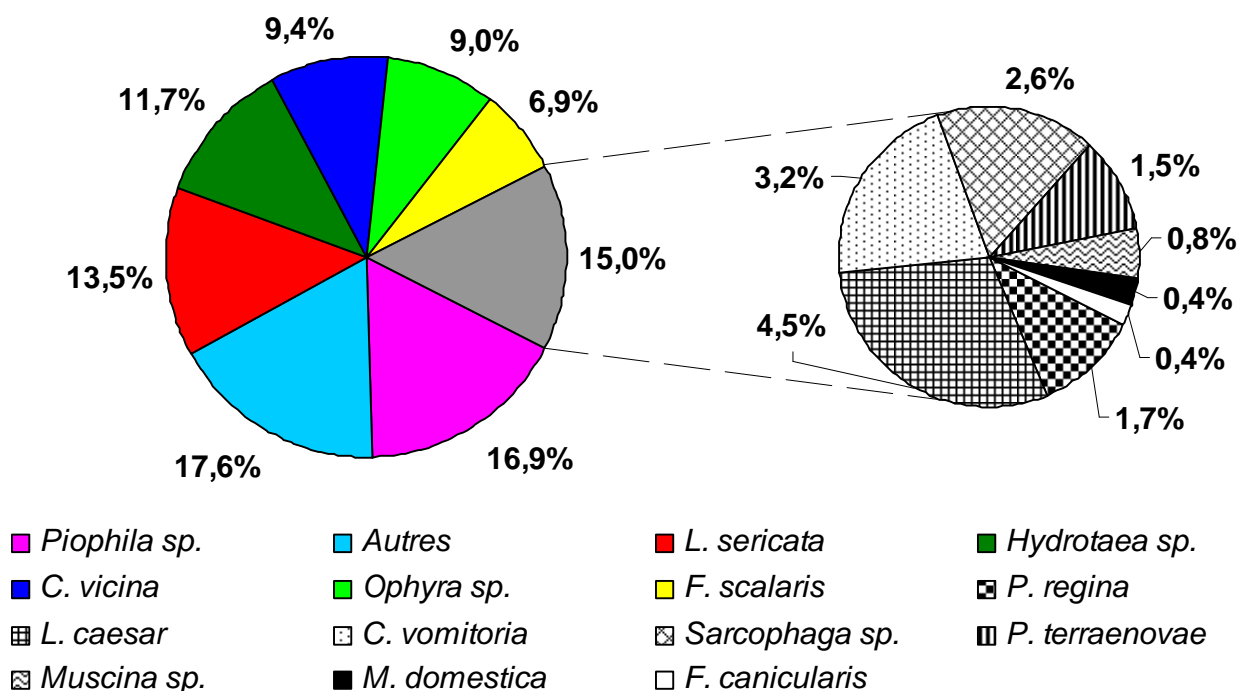


Figure 13

Répartition des espèces et taxons capturés durant les 9 mois de piégeage réalisés sur le site de l'IML de Lille (exprimée en pourcentage du nombre total d'insectes capturés).

**Pourcentage
des effectifs**

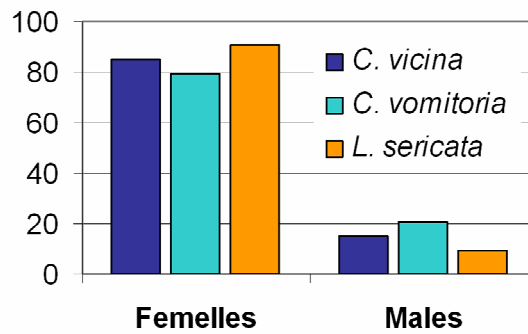


Figure 14

Sex-ratio (en %) calculé sur la base des individus capturés du 4 avril 2007 au 25 avril 2007 et du 5 septembre 2007 au 15 janvier 2008.

**Nombre total d'individus
capturés**

<i>Calliphora vicina</i>	746
<i>Calliphora vomitoria</i>	252
<i>Lucilia sericata</i>	1072
<i>Lucilia caesar</i>	356
<i>Sarcophaga sp.</i>	205
<i>Phormia regina</i>	132
<i>Protophormia terraenovae</i>	121
<i>Fannia scalaris</i>	550
<i>Fannia canicularis</i>	28
<i>Musca domestica</i>	35
<i>Muscina sp.</i>	63
<i>Hydrotaea sp.</i>	929
<i>Ophyra sp.</i>	716
<i>Piophilina sp.</i>	1338
Total	7940

Tableau 7

Effectifs totaux des espèces et taxons capturés durant les 9 mois de piégeage réalisés sur le site de l'IML de Lille.

On notera enfin que les proportions des différentes espèces piégées ne sont pas constantes, des variations saisonnières significatives étant observées dans le cas de *L. sericata*, *Hydrotaea sp.*, *C. vicina*, *Ophyra sp.* et *C. vomitoria* (test du Chi², alpha=0,05) (figure 15). De même, le nombre total d'individus piégés durant la période hivernale (du 30 août 2007 au 15 janvier 2008) est significativement moins important qu'en période estivale (du 5 avril 2007 au 29 août 2007), les effectifs enregistrés passant de 7353 à 587 individus.

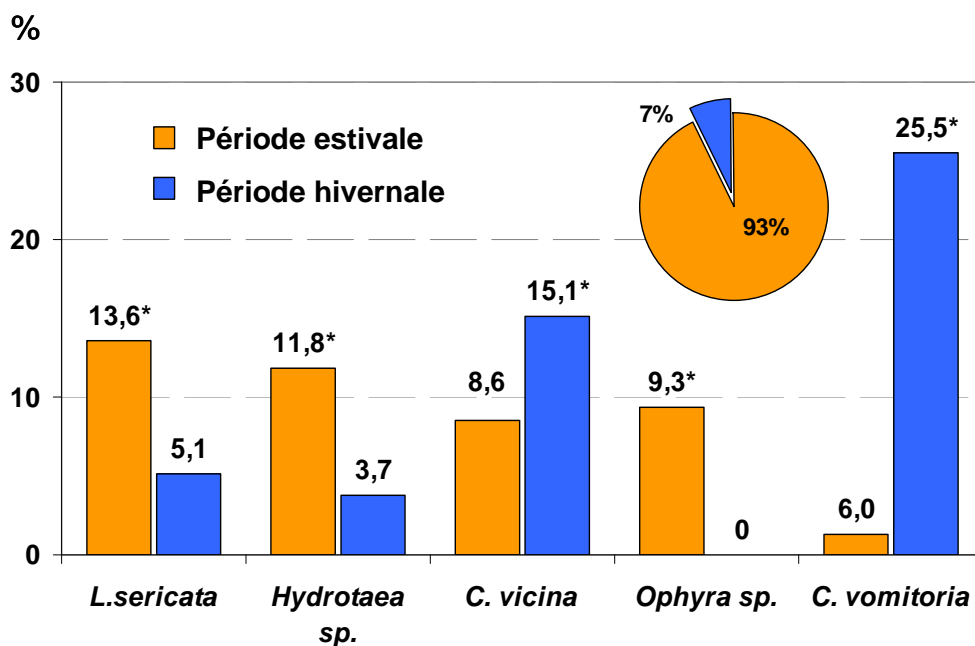


Figure 15

Variations saisonnières des espèces capturées (histogramme, en % du nombre total d'individus capturés durant cette période) et comparaisons des effectifs totaux capturés (diagramme en rond). * différence significative au seuil alpha=0,05.

D.3.b. Effets du climat et périodes préférentielles d'activité

La mise en correspondance des données climatiques hebdomadaires avec les effectifs piégés indique une forte dépendance du nombre d'individus piégés à la

température moyenne, mais également à l'insolation (figures 15 et 16). On observe en effet qu'à chaque pic d'insolation correspond un pic du nombre d'insectes capturés, cet effet étant notamment vérifié dans le cas de *Calliphora sp.* (test de corrélation de Pearson, $\alpha=0,05$). Il est également important de noter qu'une forte insolation ne correspond pas nécessairement à une température élevée, comme on peut l'observer en comparant ces valeurs pour la semaine du 13 juin 2007 sur les figures 16 et 17.

La comparaison du nombre d'individus piégés entre 10h et 17h (période de fort ensoleillement) et entre 17h et 10h le lendemain (période de faible ensoleillement) révèle que plus de 60% des insectes sont piégés durant la période de fort ensoleillement. Cependant, l'étude espèce par espèce (réalisée uniquement pour les espèces où plus de 100 données étaient disponibles) indique des variations interspécifiques de la période préférentielle d'activité (tableau 8). De plus, les heures de lever et de coucher du soleil évoluant au cours de l'année, l'insolation reçue durant la période allant de 17h à 10h le lendemain est beaucoup plus importante durant l'été que l'hiver. Les données collectées ne permettent donc pas de mettre en évidence une période préférentielle d'activité des diptères nécrophages.

	10h à 17h	17h à 10h
<i>C. vicina</i>	56,3	43,7
<i>C. vomitoria</i> *	67,9	32,1
<i>L. sericata</i>	52,2	47,8
<i>L. caesar</i> *	61,0	39,0
<i>Sarcophaga sp.</i>	55,1	44,9
<i>P. regina</i> *	41,0	59,0
<i>P. terraenovae</i> *	66,9	33,1
<i>Hydrotaea sp.</i>	54,1	45,9
<i>F. scalaris</i> *	64,2	35,8
<i>Ophyra sp.</i>	45,0	55,0
<i>Piophilidae</i> *	68,4	31,6

Tableau 8

Proportion par espèce d'individus capturés entre 10h et 17h et entre 17h et 10h.

*** différence significative au seuil $\alpha=0,05$**

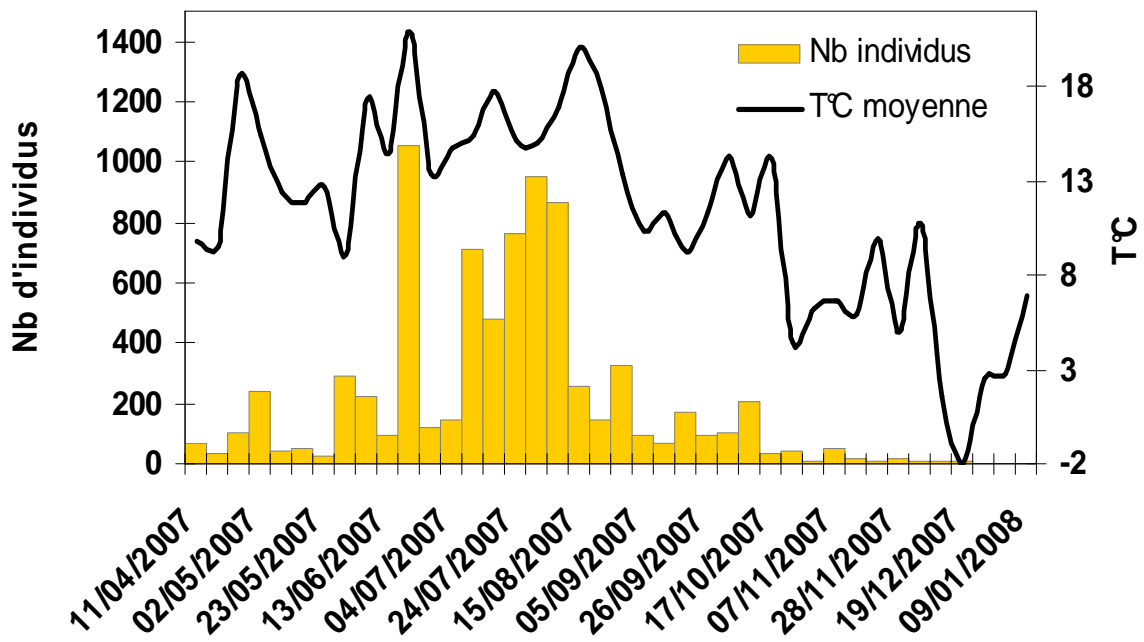


Figure 16

Effectifs totaux (nombre d'insectes capturés) et température moyenne hebdomadaire.

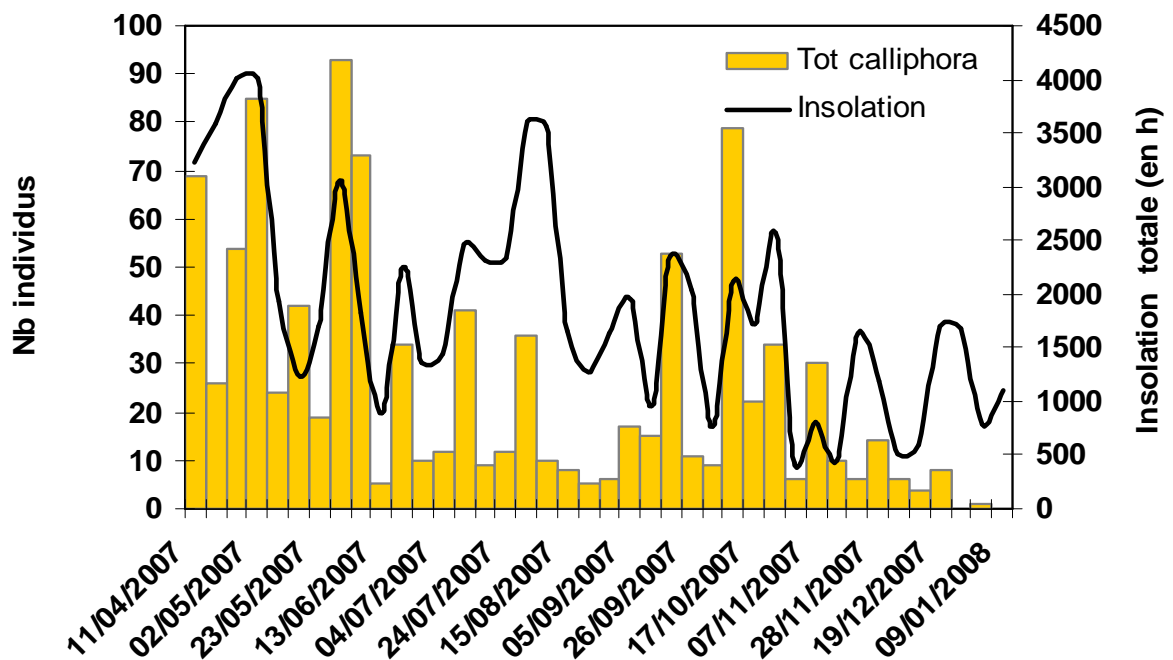


Figure 17

Effectifs hebdomadaires de *Calliphora* sp. et insolation totale hebdomadaire.

D.4. Modélisation

La comparaison des effectifs piégés avec les prédictions du modèle développé par Goulson *et al.* (Goulson *et al.* 2005) constitue la dernière phase de cette étude. Ce modèle résulte d'une régression mathématique effectuée sur les données de quatre années de piégeage de diptères sur six sites du sud de l'Angleterre (janvier 2000 à décembre 2004). Les pièges utilisés sont de simples rectangles jaunes adhésifs de 40x24,5 cm, relevés toutes les semaines. Les diptères capturés ont été identifiés et ces effectifs corrélés avec les données météorologiques d'une station située à distance équivalente des six sites de piégeage. Après étude statistique, aucune variation significative entre les six sites n'ayant été détectée, les effectifs locaux ont été réunis en un seul jeu de données utilisé pour l'analyse à l'échelle de la région. Le modèle proposé fournit donc pour chaque espèce ou taxon une estimation du nombre total d'individus susceptibles d'être capturés sur l'ensemble des six sites, et non une estimation des sous-populations locales. L'équation est de type récursif, les données d'une semaine (P_t) étant utilisées pour prédire les effectifs de la semaine suivante :

$$\log P(t + 1) = 10^{(a+bP_t+cW_1+dW_2)-1}$$

où $P(t+1)$ est l'estimation du nombre d'insectes susceptibles d'être capturés durant la semaine $t+1$, P_t l'estimation du nombre d'insectes capturés durant la semaine précédente (t), W_1 et W_2 sont les variables climatiques explicatives et a , b , c et d sont des coefficients d'ajustement. Les coefficients a , b , c et d diffèrent suivant les espèces ou taxons, ainsi que la nature des variables W_1 et W_2 . Les différentes valeurs d'ajustement fournies par les auteurs sont synthétisées dans le tableau 9.

	Calyptères	<i>Musca domestica</i>	<i>Calliphora sp.</i>
W1	T° moy. durant le mois précédent	(T° moy. durant la semaine) ²	T° moy. durant la semaine
W2	∅	(T° moy. durant les 2 sem. précédentes) ²	Pluviométrie moy. durant la semaine (en mm/jour)
a	- 0,045	- 0,056	- 0,11
b	0,702	0,535	0,572
c	0,01	0,003	0,042
d	∅	- 0,002	- 0,013

Tableau 9

Valeurs d'ajustement du modèle récursif proposé par Goulson et al. pour l'ensemble des diptères Calyptères, *Musca domestica* et pour *Calliphora sp.* (régression basée sur les 4 années de piégeage et l'ensemble des sites) (d'après Goulson et al., 2005).

Dans un premier temps, ce modèle a été alimenté avec les données météorologiques de notre période d'étude afin d'obtenir pour l'ensemble des diptères Calyptères et pour *Calliphora sp.* une simulation des effectifs piégés. Ces données ont ensuite été comparées avec les effectifs observés afin de tester la validité du modèle. Un ajustement du paramètre b de l'équation s'est avéré nécessaire. En effet, le modèle proposé par Goulson *et al.* a été développé dans le cadre de grandes populations, échantillonnées à l'échelle régionale via six sites de piégeage. En revanche, les effectifs modélisés dans cette étude ne concernent qu'un seul site, et sont donc beaucoup moins élevés. Pour prendre en compte cette différence, nous avons ajouté un facteur de correction F destiné à ajuster le coefficient b à des petites populations (correction = F*b). Ce facteur F a été déterminé empiriquement (optimisation du coefficient de corrélation de la régression) pour les deux modèles testés. On obtient la valeur F=1,345 pour le modèle des populations de diptères Calyptères et F=1,285 pour la modélisation des effectifs de *Calliphora sp.* Cette

modification ne concerne que la prise en compte de la population et ne modifie pas la contribution des facteurs climatiques à l'évolution de cette population.

Les effectifs prédits par cette équation pondérée sont significativement corrélés aux données expérimentales et permettent une estimation cohérente des effectifs piégés. Dans le cas de *Calliphora sp.*, le modèle permet d'expliquer 46% de la variabilité observée, tandis que le modèle développé pour l'ensemble des Calyptères explique 61,6% des variations observées pour ce taxon (test de corrélation de Pearson). L'analyse des figures 18 et 19 révèle que les populations prédites par le modèle reflètent l'évolution saisonnière globale des effectifs, mais pas les variations hebdomadaires de ceux-ci. Des écarts importants existent ainsi localement entre effectifs prédits et observés (*cf.* début juillet 2007, fig. 18 & 19). Cette faiblesse peut s'expliquer par l'action de deux biais jouant entre l'étude initiale et les piégeages réalisés : échelles géographiques différentes et types de pièges différents. De plus, le rôle de l'insolation sur les effectifs capturés, clairement établi dans notre étude et absent du modèle de Goulson, est probablement responsable d'une partie importante de ces écarts (*cf.* fig. 17).

Cependant, malgré la transposition au nord de la France d'un modèle initialement destiné au sud de l'Angleterre, l'équation développée par Goulson *et al.* peut être appliquée aux populations globales de diptères Calyptères et de *Calliphora sp.* des environs de Lille avec une fiabilité satisfaisante (prédictions du modèle validée par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney bilatéral au seuil $\alpha = 0,05$). La forte similitude des climats et des biotopes entre ces deux régions permet d'expliquer ce résultat. On dispose de ce fait d'un modèle récursif adapté au nord de la France et permettant de prédire (avec une marge d'erreur non négligeable) le nombre d'insectes attirés par un corps en décomposition sur la simple base de données climatiques.

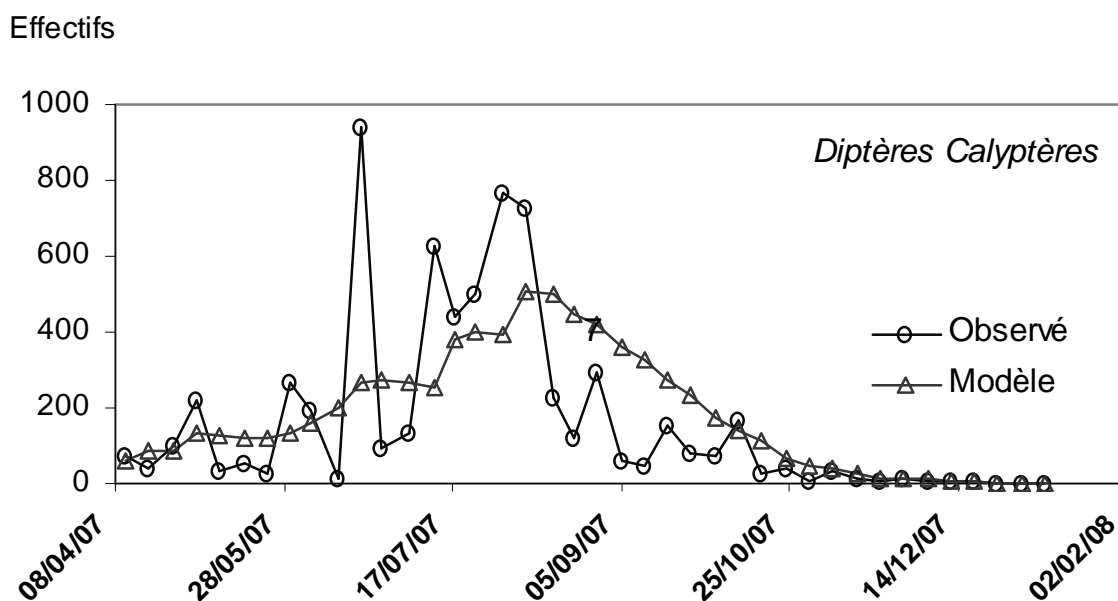


Figure 18

Effectifs de diptères Calyptères estimés par le modèle et observés (test de Wilcoxon-Mann-Whitney bilatéral, $p=0,138$, $\alpha=0,05$).

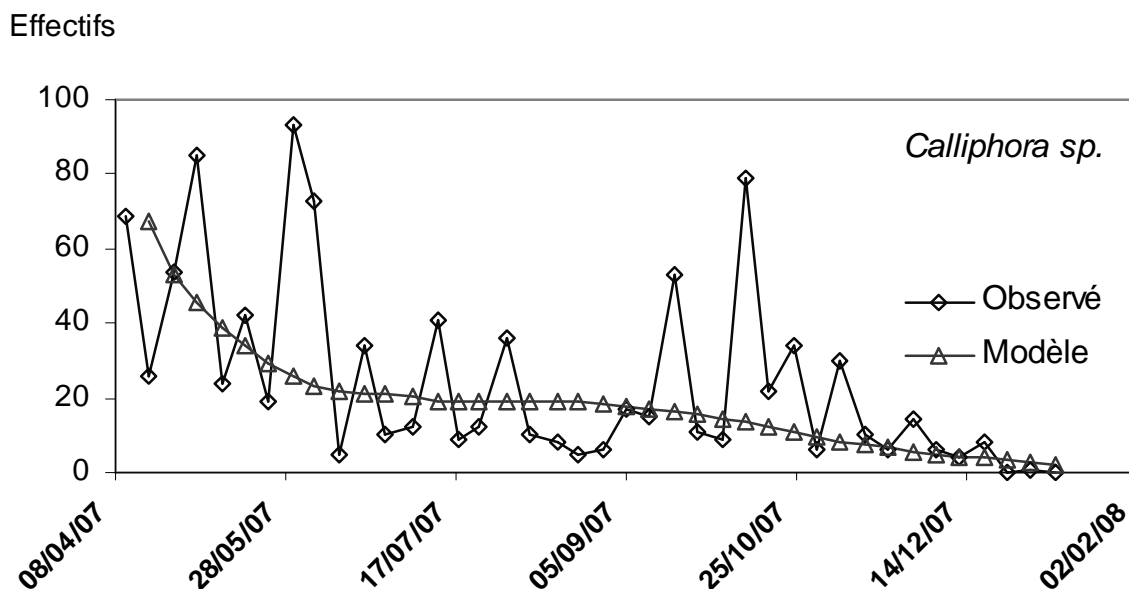


Figure 19

Effectifs de *Calliphora sp.* estimés par le modèle et observés (test de Wilcoxon-Mann-Whitney bilatéral, $p=0,86$, $\alpha=0,05$).

Les piégeages sont encore en cours actuellement. Ils devraient être poursuivis durant au moins un an et étendus à d'autres stations réparties plus largement afin de disposer d'un jeu de données complet auquel confronter le modèle de Goulson et les statistiques descriptives déjà réalisées. Sur la base de ces piégeages étendus, une régression réalisée selon le protocole proposé par Roy *et al.* pourra être envisagée afin de disposer pour l'ensemble de la France d'un modèle prédictif adapté à l'ensemble des espèces de diptères nécrophages d'intérêt médico-légal (Roy *et al.* 2001). L'ajout d'un paramètre supplémentaire, l'insolation, devrait de plus permettre d'affiner ce modèle. La réalisation de captures à l'échelle européenne, même réalisée durant une courte fenêtre temporelle, pourrait également permettre de vérifier la pertinence de cette généralisation et de déterminer l'influence des variations climatiques sur les espèces présentes et le nombre d'individus récoltés (Moore & Nash 2008).

Dans le cadre de l'entomologie médico-légale, ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour la détermination de l'intervalle *post mortem*. Il est habituellement impossible d'estimer si les insectes ont pondu sur le corps immédiatement après le décès ou après un certain délai. On considère généralement que lorsque les conditions climatiques sont favorables, la colonisation a lieu dans les quelques heures suivant la mort. Cependant, si l'étude des données climatiques indique la potentielle activité des insectes nécrophages, elle ne permet pas de déterminer l'état des populations. Autrement dit, l'absence d'une espèce sur un corps au printemps peut être due à de mauvaises conditions climatiques (inactivité des insectes), mais également à l'absence totale d'insectes dans le milieu (effectifs réduits de la population). Réciproquement, une température favorable aux insectes n'implique pas nécessairement la présence de ceux-ci.

La modélisation des populations de diptères nécrophages permet en revanche d'estimer à tout moment quantitativement le nombre d'insectes actifs et donc susceptibles de pondre sur un corps. La méthodologie proposée consiste dans un premier temps à estimer pour les espèces d'intérêt les effectifs hebdomadaires présents dans le milieu, puis à déterminer à partir des données climatiques horaires locales les périodes d'activité des insectes. Après détermination de l'IPM, l'expert peut alors confronter la date estimée des premières pontes aux périodes où des insectes étaient à la fois présents et actifs. Cette méthode apporte donc un gain de précision non négligeable pour la détermination des fenêtres de ponte. Son intégration au modèle informatique de réalisation d'expertise, présenté dans la dernière partie de cette thèse, permet ainsi une estimation en continu des populations d'insectes et l'intégration de ce nouveau paramètre dans le processus d'estimation du moment du décès.

D.5. Discussion et conclusion

Différentes techniques de piégeage, plus ou moins adaptées aux diptères nécrophages, ont été développées et testées dans le cadre d'études de populations. Dans un article de synthèse daté de 1995, Hall précise qu'il n'existe pas de solution idéale permettant une capture optimale de l'ensemble des espèces (Hall 1995). Le mode de piégeage retenu ici repose sur l'attraction olfactive des insectes par un appât placé au centre d'un dispositif de capture. Cette méthode, déjà utilisée lors d'études similaires, présente l'avantage d'être spécifique aux espèces nécrophages, de ne pas abîmer les individus capturés et d'attirer les individus d'une zone géographique étendue (Faucherre & Cherix 1998, Hwang 2005). Une autre technique de piégeage fréquemment employée utilise des cibles adhésives rendues attractives par l'ajout d'un

appât (morceau de viande, sulfure de sodium, etc.) ou par leur couleur jaune (Fisher *et al.* 1998, Hall *et al.* 2003, Goulson *et al.* 2005). Cette dernière technique est cependant peu spécifique et détériore les spécimens capturés, rendant parfois leur identification délicate. Dans les deux cas, il s'agit de méthodes destructrices, les individus capturés étant tués. Nous supposons cependant que les captures effectuées n'influent pas sur les effectifs globaux, les populations étudiées étant importantes et les individus très mobiles.

La variété des espèces récoltées, principalement nécrophages, et le grand nombre d'individus piégés confirment l'efficacité et la spécificité du piège attractif développé pour ces expériences. La capture de quelques espèces de coléoptères de grande taille, notamment *Creophilus maxillosus*, au vol moins précis que celui des diptères, indique également une bonne accessibilité de l'appât et plus globalement du dispositif de piégeage. Les principales espèces d'intérêt médico-légal sont largement représentées parmi les populations échantillonnées, et leurs effectifs semblent cohérents avec les observations déjà effectuées sur des cadavres d'animaux déposés en milieu naturel (Bourel *et al.* 1999a) ou lors d'expertises (Schroeder *et al.* 2003, Arnaldos *et al.* 2005). Des expériences similaires réalisées en Angleterre sur des cadavres de souris indiquent, comme observé ici, une forte variabilité saisonnière du processus de colonisation (Davies 1999). On notera par exemple que *Calliphora vicina*, majoritaire à la saison froide, s'efface progressivement durant l'été au profit de *Calliphora vomitoria*. La capture en un même lieu de ces deux espèces confirme de plus la juxtaposition de leurs biotopes en zone limitrophe urbaine/rurale.

Cette diversité est également imputable à la nature du stimulus attractif employé. On observe en effet parmi les effectifs capturés de très nombreuses espèces de diptères et coléoptères, dont les besoins alimentaires et écologiques sont sensiblement différentes. Cette diversité est en partie due à la présence de femelles venues s'alimenter, et dont les préférences semblent moins marquées que pour la ponte (Ashworth & Wall 1994). De plus, les appâts employés sont laissés durant une semaine dans les pièges, ce qui est suffisant pour amorcer le processus de décomposition et ainsi faire varier leur attractivité (Fisher *et al.* 1998). Le phénomène est particulièrement important durant l'été, où la dégradation des appâts est accélérée par les fortes températures. Il ne nous a cependant pas été possible de mettre en évidence une variation des espèces piégées en fonction de l'âge relatif (âge dépendant à la fois du temps et de la température, donc quantifié en ADD) des appâts, les valeurs exploitables étant insuffisantes en raison de l'exclusion des données des week-ends et jours de changement d'appâts. Il n'a également pas été possible de caractériser un éventuel effet du type d'animal utilisé, ce paramètre étant lui-même dépendant de la saison et donc statistiquement inexploitable. Il est cependant peu probable qu'un effet de ce type existe ici, des études précédentes ayant infirmé cette hypothèse (Kuusela 1982, Marchenko 1988, Davies 1990, Hewadikaram & Goff 1991). L'analyse du sex-ratio révèle une proportion des femelles nettement plus importante (environ 80%) parmi les individus piégés et l'existence d'une certaine homogénéité de cette proportion parmi les espèces étudiées (figure 14). Ce résultat est concordant avec les valeurs citées dans la littérature et confirme le double rôle des cadavres d'animaux à la fois en tant que ressource alimentaire nécessaire à la vitellogénèse et comme substrat de ponte et de développement des larves (Archer 2003).

L'existence de fortes variations temporelles des effectifs capturés s'explique dans un premier temps par les variations climatiques. On observe en effet une forte dépendance du nombre d'insectes piégés à la température locale moyenne, mais également à l'insolation (figures 16 et 17) (Wyss & Cherix 2006). La chute progressive entre septembre et janvier du nombre d'insectes capturés (moins de 10% des captures totales durant la période froide *i.e* du 30 août 2007 au 15 janvier 2008) peut ainsi s'expliquer par la baisse des températures moyennes durant cette saison (Gruner *et al.* 2007). En revanche, à plus court terme, les variations climatiques hebdomadaires semblent en lien étroit avec l'activité des insectes, et s'illustrent par une augmentation des effectifs capturés lors des pics d'insolation (figure 17). Cette dernière relation est confirmée par l'analyse statistique des résultats (test de corrélation de Pearson).

Enfin, on observe une forte disparité du nombre d'individus capturés dans les différents pièges, ceux-ci étant pourtant rigoureusement identiques. Les trois pièges étant situés à seulement quelques mètres de distance les uns des autres, il semble très probable que les variations de leur exposition au soleil ou au vent soient responsables de ces différences d'efficacité. Ce dernier paramètre n'a cependant pas pu être quantifié.

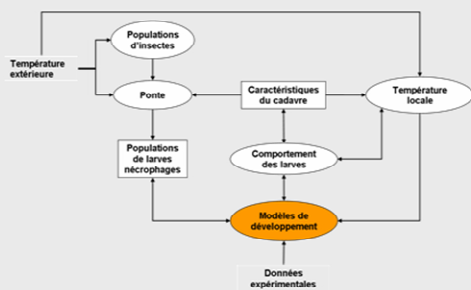
De manière surprenante, les proportions d'insectes capturés en pleine journée (de 10h à 17h) et en période de plus faible luminosité (de 17h à 10h) sont sensiblement identiques (tableau 8). Bien que la plage horaire allant de 17h à 10h soit presque deux fois plus longue que la pleine journée, elle présente des conditions a priori peu propices à l'activité des insectes (froid et obscurité). On observe cependant pour six des onze espèces étudiées des effectifs significativement plus importants en journée, mais ceux-ci n'excèdent jamais 67% des captures totales journalières, et cette règle n'est pas vérifiée pour les cinq autres espèces. Il semble donc qu'une part non

négligeable des captures ait lieu le matin ou en soirée, voire de nuit, bien que cette période ne soit pas propice aux pontes (Greenberg 1990, Tessmer *et al.* 1995, Singh & Bharti 2001, Wooldridge *et al.* 2007, Amendt *et al.* 2008). Il convient cependant de nuancer ce dernier résultat. Les heures de captures étant basées sur le calendrier civil français, les périodes définies ne correspondent pas à un ensoleillement constant. En effet, la durée du jour est plus courte en hiver qu'en été, et le changement d'heure induit un décalage dans les données. Il serait ainsi préférable de se référer aux heures solaires afin de disposer de données plus homogènes.

Tout en maintenant ces réserves, il est intéressant de se référer à une récente étude réalisée sur des cadavres de porc dans le sud de l'Espagne (Arnaldos *et al.* 2008). Les auteurs enregistrent une activité similaire des insectes durant l'ensemble de la journée (décomposée en trois périodes : de 9h à 15h, de 15h à 21h et de 21h à 9h), bien que des différences spécifiques (non significatives) soient observées. Le rapprochement de ces résultats avec ceux obtenus dans le cadre de notre étude semble donc indiquer que les diptères sont actifs même durant les périodes de très faible luminosité, bien qu'un biais potentiel puisse être imputé aux variations annuelles de la durée du jour.

Les résultats mis en évidence dans cette étude peuvent être synthétisés comme suit :

- le modèle de piège attractif développé est fonctionnel et spécifique des insectes nécrophages,
- parmi les 8000 insectes piégés, *Piophilila sp.* est le taxon le plus représenté (16,9%), suivi de *Lucilia sericata* (13,5%) et *Ophyra sp.* (11,7%),
- *Calliphora vicina* ne représente que 9,4% des prises totales et *C. vomitoria* 3,2%,
- 93% des effectifs totaux ont été capturés durant la période chaude (du 5 avril 2007 au 29 août 2007),
- l'ensoleillement influe fortement sur le nombre d'insectes piégés,
- le modèle développé par Goulson *et al.* permet de prédire avec une marge d'erreur importante mais une fiabilité globale satisfaisante les effectifs de *Calliphora sp.* et de diptères Calyptère de la station expérimentale étudiée (Lille),
- le calcul des effectifs de diptères nécrophages apporte un net gain de précision dans l'estimation des fenêtres de pontes et donc dans la datation du décès en entomologie médico-légale.



Modèles de développement

E. Vitesse de développement des larves de diptères nécrophages

“The time has gone, when some insects from the autopsy room were brought to specialists (...) in the hope that these specialists are some kind of shamans, who are able to tell the time of death of a deceased after a short look at the insects.”[◇]

(Nuorteva 1988)

E.1. Connaissances actuelles

E.1.a. Observation et caractérisation de la vitesse de développement des insectes

L'existence de relations mathématiques permettant de prédire le temps de développement d'un insecte selon la température constitue une base fondamentale de travail en entomologie médico-légale, mais également dans de nombreux autres domaines. C'est la connaissance de ces mécanismes de croissance qui est par exemple à l'origine du contrôle des épidémies véhiculées par les insectes, de la lutte planifiée contre les ravageurs des cultures ou de l'étude de certaines colonies d'insectes sociaux (Dent 1997).

[◇] *“L'époque où quelques insectes, prélevés en salle d'autopsie, étaient apportés aux spécialistes (...) dans l'espoir que ceux-ci soient des sortes de shamans, capables de donner l'heure du décès d'après un seul coup d'œil, est révolue.”*

Dans le cadre de l'entomologie médico-légale, ce type de données occupe cependant une place privilégiée et conditionne non seulement la précision mais également la validité des conclusions d'une expertise. Le calcul de l'âge des insectes prélevés sur un corps, et donc l'estimation de l'IPM, repose en effet sur l'utilisation de valeurs expérimentales liant pour chaque espèce le temps de développement et la température. Ces données, publiées dans la littérature spécialisée, sont issues d'expériences réalisées en conditions contrôlées et synthétisent des résultats obtenus sur un échantillon d'individus. Malheureusement, les méthodes et protocoles ayant permis la réalisation des expériences et l'obtention de ces résultats sont hétérogènes et disparates. Faute de protocole standardisé, chaque série expérimentale est réalisée dans des conditions différentes, bien souvent très éloignées de celles employées lors des études précédentes (Nabity 2006, Tarone & Foran 2006). De plus, afin de répondre à certaines contraintes de publication ou par simple oubli, l'ensemble des valeurs expérimentales et les détails du protocole sont généralement absents de ce type d'article. Le spécialiste voulant comparer les données se trouve alors confronté à un jeu de publications sans aucune homogénéité de matériel, méthodes ni standards de mesure, et sans possibilité d'accéder aux données originales.

E.1.b. Variabilité inter-individuelle du temps de développement

Une forte variabilité de la durée de développement des individus peut être observée chez les larves de diptères nécrophages. Cette hétérogénéité se traduit par des périodes de transition durant lesquelles plusieurs stades différents cohabitent alors que les individus étaient initialement synchrones. De nombreux facteurs extrinsèques peuvent engendrer cette variabilité. La compétition ralentit ainsi le développement des individus, de même que la nature du substrat alimentaire (*cf.*

I.A.3.c) ou la luminosité (Tarone & Foran 2006, Nability 2007). La capacité de diapause et l'origine géographique des populations peuvent également engendrer de fortes variations du temps de développement (Greenberg 1991, Ames 2003, Grassberger *et al.* 2007, Richards *et al.* 2007, Gosselin & Braet 2008). Enfin, une récente étude réalisée en conditions contrôlées et standardisées met en évidence sur une même population des écarts du temps de développement total allant jusqu'à 176h et l'effet significatif du niveau de décomposition du substrat, de son hygrométrie ou de la manipulation des individus sur la durée de développement des insectes (Tarone & Foran 2006).

Cependant, même au sein d'un groupe de larves issues d'une seule ponte et placées en conditions non limitantes et homogènes, on observe que certains individus achèvent leur développement plus rapidement que d'autres. Des facteurs environnementaux non pris en compte peuvent expliquer une partie de cette variabilité résiduelle, mais il semble également clair qu'au sein d'une population, tous les individus ne se développent pas à la même vitesse (Severini *et al.* 2003). De manière surprenante, aucune étude ne s'est encore intéressée à chiffrer cette variabilité intrinsèque chez les diptères nécrophages ni à l'intégrer en tant que source d'erreur potentielle dans le cadre d'expertises. Des méthodologies développées pour l'étude d'autres populations d'insectes peuvent cependant être transposées aux diptères nécrophages.

L'objectif de ce chapitre est la synthèse de l'ensemble des données concernant le développement des espèces d'insectes nécrophages d'intérêt médico-légal disponibles dans la littérature, et leur mise à disposition sous forme standardisée. Une méthode de modélisation de la vitesse de développement permettant une meilleure prise en compte de la variabilité inter-individuelle est également décrite et étudiée.

E.2. Synthèse des données publiées et perspectives

E.2.a. Création d'une base documentaire et analyse des données publiées

De nombreux auteurs se sont intéressés à l'étude du temps de développement des insectes nécrophages en fonction de la température ; les résultats de ces études sont généralement publiés dans des revues spécialisées. Afin de faciliter leur utilisation dans le cadre de la recherche et d'expertises, ces données ont été rassemblées et saisies dans un tableur, puis exportées vers une base de données (Charabidze *et al.* 2006). Le principe d'architecture retenu pour cette base est l'utilisation d'un type abstrait appelé ici « données » (figure 20). Ainsi, une publication (source) concerne une ou plusieurs espèces pour lesquelles elle fournit différents types de données (par exemple l'évolution à différentes températures de la taille des individus). Une donnée contient donc pour une température (ou un cycle de températures) et une durée, un stade de développement et/ou une taille qui lui sont associés. Suivant la nature des valeurs publiées, celles-ci sont définies comme étant une moyenne, un minimum, un écart type, etc.

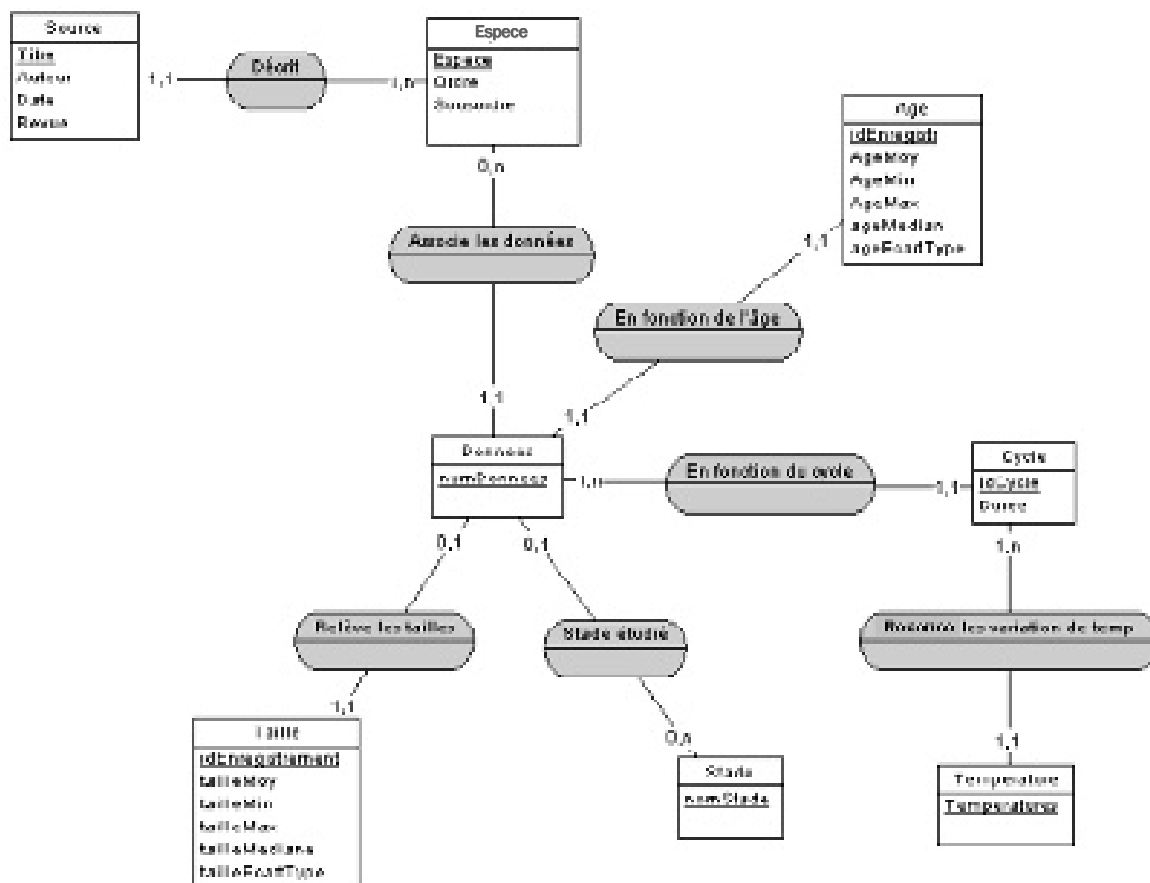


Figure 20

Modèle conceptuel de données de la base regroupant les informations publiées sur le développement des insectes nécrophages. Le type « données » associe un doublet contenant la température et la durée et un ou plusieurs paramètres observés tels que le stade ou la taille.

Par exemple, le choix d'un auteur permet de visualiser l'ensemble de ses publications et les espèces qui y sont traitées. Pour chaque espèce, on trouvera ensuite les températures expérimentales étudiées et le temps nécessaire à l'apparition d'un stade ou d'une taille à cette température. Cette architecture à la fois évolutive et robuste permet une parfaite traçabilité des données tout en autorisant l'ajout de nouveaux paramètres tels que l'évolution du poids des larves en fonction de leur taille ou la description de certains comportements propres à un stade. Cette base recense

actuellement les données relatives à 35 espèces d'intérêt médico-légal, l'espèce la mieux documentée étant à ce jour *Lucilia sericata*. Les valeurs saisies dans cette base sont issues d'une quarantaine d'articles ou monographies et sont régulièrement enrichies par l'ajout de nouvelles sources.

La synthèse présentée dans le tableau 10 permet cependant d'observer l'hétérogénéité de ces données et les problèmes liés à leur synthèse et à leur interprétation (Higley & Haskell 2001). Ainsi, outre les informations manquantes quant à la provenance de la souche étudiée, la nature du substrat alimentaire, la précision des incubateurs d'élevage ou la concentration d'individus, le type de données enregistrées et la méthode de synthèse des données varient d'une publication à l'autre. On notera par exemple que certains auteurs s'intéressent à la durée de chaque stade, tandis que d'autres lui préfèrent le temps écoulé entre la ponte et l'apparition de chaque stade. De plus ces données, calculées sur la base d'un nombre plus ou moins important de réplicats, sont en fait des valeurs moyennes. Le calcul de ces moyennes se traduit par une perte d'information quant à la distribution réelle des temps de développement. L'utilisation de minimums et maximums est également fréquente, mais correspond parfois à des valeurs individuelles (spécimen le plus précoce et le plus tardif) et dans d'autres cas à des moyennes (par exemple temps de développement moyen des 10% d'individus les plus lents). Des différences significatives peuvent résulter de l'utilisation de ces différents types de valeurs synthétiques pour le calcul du temps de développement des insectes, et ainsi biaiser les conclusions d'une expertise (Villet & Richards 2008). Enfin, notons que des erreurs de calculs subsistent dans bon nombre de publications.

Les données présentées ici proviennent uniquement d'expériences réalisées à température constante. De nombreuses observations ont cependant été réalisées à températures cycliques ou à températures non-contrôlées (Greenberg 1991, Wyss & Cherix 2006). Pour des températures moyennes, la vitesse de développement évolue de manière constante ; en revanche, pour des températures extrêmes, cette évolution devient non-linéaire et dissymétrique. De ce fait, une fluctuation symétrique autour d'une température moyenne se traduit par une variation dissymétrique des vitesses de développement correspondantes. La vitesse de développement qui en résulte est donc différente de celle estimée à partir de la température moyenne. Ce biais, appelé « rate summation effect » ou « effet Kauffman », a été largement étudié et décrit dans la littérature, mais sa prise en compte demeure délicate et controversée (Dallwitz 1984, Wagner 1984, Hagstrum 1991, Worner 1992, Higley & Haskell 2001, Clarkson 2004, Nability 2006).

Source	Stades étudiés	Méthode de mesure	Type de valeurs	Nature du substrat
Anderson, 2000	Tous	Temps écoulé depuis la ponte	Min. et max. \pm SD	Foie de bœuf haché
Bourel, 2003	Œufs	Temps écoulé depuis la ponte	Min, max et médiane	? - "viande hachée"
Grassberger & Reiter, 2001	Tous	Durée de chaque stade	Moy. 10% individus les plus développés	Foie de bœuf haché
Greenberg, 1991	Emergence	Durée de chaque stade	Moy.	?
Kamal, 1958	Tous	Durée de chaque stade	Moy. \pm SD	Foie de bœuf
Leclercq, 1978	Œufs	Durée de chaque stade	?	?
Marchenko, 2001	Emergence	Temps écoulé depuis la ponte	?	? - "viande"
Tarone & Foran, 2006	Tous	Durée de chaque stade	Moy. \pm SD	Foie de bœuf haché
Wall, 1992	Eclosion, prépupe	Durée de chaque stade	?	Foie d'agneau

Tableau 10

Synthèse exhaustive des sources et méthodes expérimentales recensées dans la base (temps de développement de *Lucilia sericata* en fonction de la température).

La figure 21 illustre la variabilité des temps de développement observés à température constante. Ainsi, selon les études, la durée totale du développement de *Lucilia sericata* à 25°C peut varier de 297h (Grassberger & Reiter 2001) à 449h (Tarone & Foran 2006). La variabilité observée est due à de nombreux facteurs environnementaux, mais également à l'existence au sein d'une même population de variations inter-individuelles de la vitesse de croissance (Ames 2003).

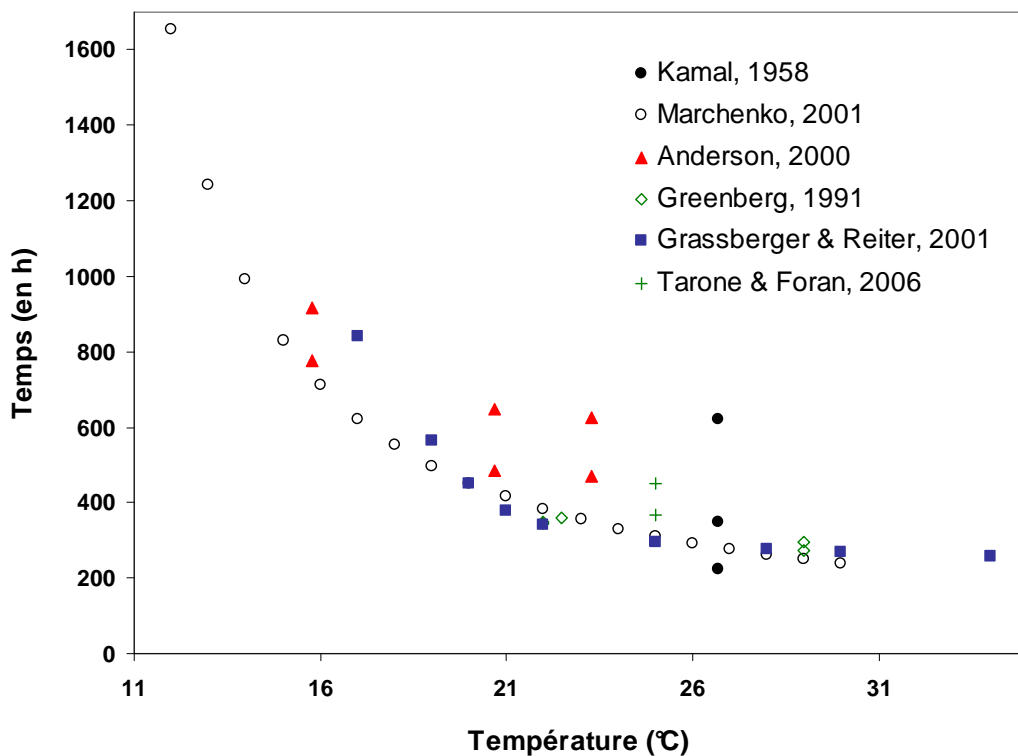


Figure 21

Comparaison du temps de développement de *Lucilia sericata* de l'œuf à l'adulte en fonction de la température dans 6 publications (temps moyen indiqué par l'auteur excepté pour Anderson (2000) (min. et max.)).

E.2.b. Perspectives liées à l'utilisation d'une base de données

L'utilisation d'une base de données apparaît comme une réponse efficace aux problèmes relatifs à l'utilisation des données expérimentales liant température et vitesse de développement. Ce système permet en effet un accès rapide et sélectif à l'ensemble des données existantes, ainsi qu'au détail des protocoles expérimentaux. Une telle base, accompagnée d'une plateforme web adaptée, permettrait à chaque utilisateur de consulter les données existantes ainsi que d'en ajouter de nouvelles. Sur la base de ce modèle de fond documentaire commun et évolutif, l'émergence de nouveaux travaux basés sur la synthèse et l'analyse de ces données paraît prometteuse.

Actuellement, les données accessibles ne représentent qu'une fraction des informations disponibles : de nombreux résultats ne sont jamais publiés, et les temps de développement communiqués (maximum, minimum, moyenne ou écart type) résultent de la synthèse des informations expérimentales. L'accès à la distribution complète des valeurs n'est généralement pas possible, ou nécessite de consulter directement les auteurs. Les constantes (ADD , ADH , T_{\min} , durée moyenne d'un stade, etc.) habituellement calculées par les auteurs pourraient être directement déduites des données brutes stockées dans la base, permettant ainsi un accès à la demande à des valeurs adaptées aux besoins de chaque chercheur ou expert.

La portée générale de cet outil permet cependant d'imaginer d'autres emplois. Le premier exemple d'application concerne l'analyse des caractéristiques de développement de populations selon leurs origines géographiques. Plusieurs études ont en effet démontré que les temps de développement et températures minimales d'une espèce dépendaient de la provenance de la population étudiée (Greenberg

1991, Ames 2003, Grassberger *et al.* 2007, Richards *et al.* 2007). Une telle relation a ainsi été mise en évidence chez *Calliphora vicina* et *Chrysomya albiceps*. Ce type d'étude pourrait aisément être généralisé en répertoriant systématiquement dans une base de données l'origine géographique des souches utilisées, afin de disposer de ce critère pour la comparaison des temps de développement (Gosselin & Braet 2008).

La seconde perspective concerne le calcul de la variabilité inter-individuelle des vitesses de croissance. Comme nous l'avons vu, il s'agit d'une source importante d'erreur dans l'estimation des temps de développement. La méthode développée par Régnière et présentée ci-après permet d'estimer cette variabilité avec une grande précision, et pourrait être d'une aide précieuse dans le cadre de l'entomologie médico-légale (Régnière 1984). Cependant, la mise en œuvre de cette méthode nécessite de connaître la dynamique d'apparition de chaque stade de développement à différentes températures, et ce pour l'ensemble des espèces étudiées. De nombreuses publications sont basées sur de telles données, bien que seules les statistiques moyennes soient habituellement publiées. La synthèse en ligne de ces informations permettrait de disposer des données nécessaires à l'étude de la variabilité intrinsèque de la vitesse de développement sans avoir à réaliser de nouveau les expériences.

E.3. Étude et modélisation de la variabilité des vitesses de développement

E.3.a. Étude des vitesses individuelles de développement

Plusieurs techniques permettent de décrire et de modéliser les variations inter-individuelles de la vitesse de développement. Une récente étude propose un protocole d'estimation de ce paramètre pour les modèles populationnels développés selon le principe des *Time Distributed Delays* (TDDs) (Severini *et al.* 2003). Cette approche, basée sur des systèmes d'équations différentielles, assimile le développement des

individus à des flux entrant ou sortant d'un état (stade). Il est donc possible d'ajouter à ce modèle un paramètre de dispersion simulant l'hétérogénéité des vitesses de développement au sein d'une population, mais cette approche globale nécessite de bonnes connaissances mathématiques. Elle est de plus limitée à la gamme de température pour laquelle la vitesse de développement des insectes évolue linéairement (Severini *et al.* 2003).

Une autre méthode, proposée par Régnière (1984), peut être transposée aux données et méthodes préexistantes en entomologie médico-légale. Le principe est dans un premier temps de caractériser la variabilité existant à l'échelle de la population, puis d'en déduire la loi de répartition d'un facteur de correction. Ce facteur est ensuite directement appliqué à la vitesse de développement de chaque individu afin de la pondérer. Le résultat de cette pondération est une variation des temps de développement : les individus affectés d'un coefficient faible (inférieur à 1) se développent plus lentement que la médiane, ceux affectés d'un coefficient supérieur à 1 se développent plus rapidement. On obtient ainsi une hétérogénéité des vitesses individuelles de développement, de sorte que la dynamique globale à l'échelle de la population suit la variabilité observée expérimentalement.

Les expériences présentées dans la suite de ce travail ont donc été réalisées afin de déterminer les coefficients à appliquer et de vérifier la validité des prédictions du modèle de variabilité proposé par Régnière. Pour ce faire, des élevages de *Lucilia sericata* ont été réalisés en conditions contrôlées afin de déterminer la cinétique d'émergence des adultes* (figure 22). Le protocole détaillé employé pour ces expériences est présenté en Annexe 2. Le lecteur souhaitant plus de précisions sur le

* Expériences effectuées par M. Gosselin, Laboratoire Microtraces, INCC, Bruxelles. Résultats reproduits avec son aimable autorisation.

cadre initial de cette étude et les autres résultats obtenus pourra également se référer à la communication originale de Gosselin (2008).

L'analyse des temps de développement révèle un net effet de la température sur la cinétique des émergences, et l'existence d'une forte variabilité inter-individuelle des durées de développement. Ces données ont été traitées selon la méthode proposée par Régnière afin d'en déduire, pour l'ensemble des températures, la fonction de répartition du coefficient permettant de pondérer la vitesse de développement des individus (Régnière 1984).

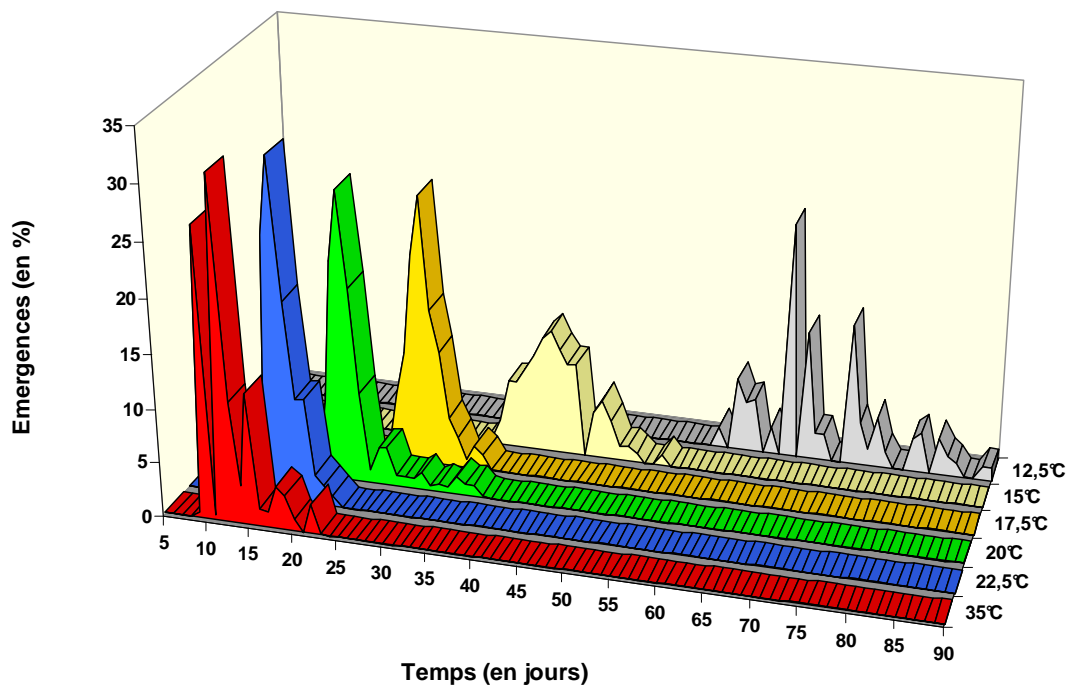


Figure 22

Profils d'émergence de *Lucilia sericata* élevées à température constante. Le nombre d'émergence par jour est donné en pourcentage de la population expérimentale totale.

E.3.b. Modélisation de la variabilité

La fonction de densité de probabilité initialement utilisée pour ce modèle (Régnière 1984) permet la pondération des taux de développement médians, tandis que les valeurs habituellement utilisées dans le cadre de l'entomologie médico-légale se réfèrent à des valeurs moyennes. Une fonction permettant la conversion moyenne-médiane lui a donc été préférée. Il s'agit d'une distribution à trois paramètres (Weibull 1951), dont la fonction de répartition F utilisée pour la régression s'écrit :

$$F(x) = 1 - e^{-\left(\frac{x-w}{q}\right)^k}$$

où x est la variation du temps de développement par rapport au temps de développement médian, et w , k et q les paramètres d'ajustement du modèle.

Dans un premier temps, ces paramètres d'ajustement ont été déterminés pour chaque série expérimentale : la valeur de w , k et q varient donc selon la température à laquelle ont été réalisées les expériences. Une relation entre les valeurs ainsi obtenues et la température a ensuite été établie. On dispose ainsi pour chacun de ces paramètres d'une équation permettant d'estimer w , k et q en fonction de la température. Cependant, dans notre cas, w est de fait constant et donc indépendant de la température ($w=0,7$).

Concernant k et q , on obtient les relations suivantes :

$$k(T) = 5,86056 \cdot 10^{-5} T^4 - 0,00549883 T^3 + 0,170882 T^2 - 2,04378 T + 11,4531$$
$$q(T) = 0,000401071 T^2 - 0,0182711 T + 0,530082$$

où T représente la température en degrés Celsius et k et q les paramètres d'ajustement de la loi de distribution de Weibull.

Ce processus permet d'aboutir à l'équation générale de la fonction quantile, qui donne pour chaque fraction de la population et à toute température le coefficient de pondération P à appliquer à la vitesse moyenne de développement. Cette relation s'exprime comme suit :

$$P(\text{Per}, T) = q(T) [-\log(1 - \text{Per})]^{\frac{1}{k(T)}} + w$$

où Per est le centile[♦] de population considéré, T la température et $k(T)$ et $q(T)$ les équations donnant respectivement les valeurs de k et q en fonction de la température.

Les valeurs du coefficient de pondération sont donc uniquement dépendantes de la température et du centile de population concerné. L'utilisation de la méthode de Régnière (1984) permet ainsi d'obtenir une fonction générale donnant la valeur de P à partir de ces deux paramètres. Le modèle mathématique ainsi développé est significativement corrélé aux valeurs de P estimées directement à partir des données expérimentales (figure 23).

♦ Le terme centile se réfère ici à une portion de population caractérisée par une valeur allant de 0 à 1. Par exemple, le découpage d'une population de 100 individus en quatre centiles s'écrirait : 0,25 (individus de 1 à 25), 0,5 (individus de 26 à 50), 0,75 (individus de 51 à 75), 1 (individus de 75 à 100).

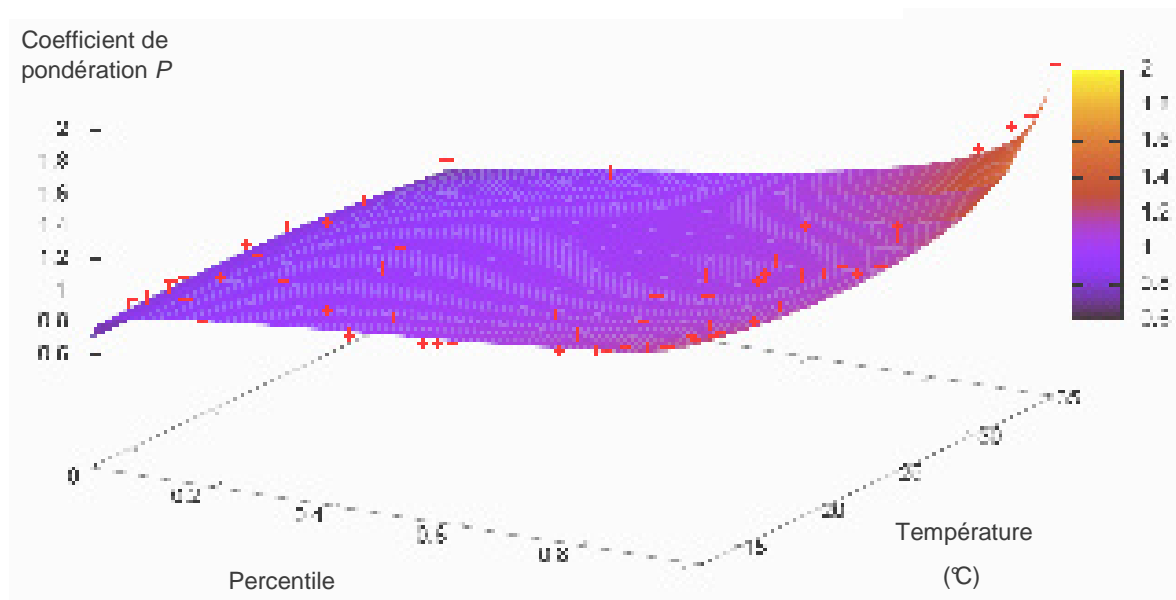


Figure 23

Fonction quantile donnant le coefficient de pondération (P , en ordonnée) à appliquer en fonction du sous-groupe de population considéré (centile, de 0 à 1) et de la température (de 10°C à 35°C) (croix: valeurs expérimentales, co urbe: modèle).

Les résultats issus de cette modélisation ont ensuite été confrontés aux données expérimentales initiales afin de vérifier la corrélation des deux distributions (test de corrélation de Mann-Whitney-Wilcoxon, $\alpha=0,05$) (figure 24). Les profils d'émergence observés et ceux prédits par le modèle de variabilité sont statistiquement identiques, bien que des variations résiduelles soient observées à 20°C et 35°C (cf. fig. 24). Le modèle de variabilité permet donc bien de reproduire la cinétique de développement d'une population de larves. On dispose ainsi d'une loi mathématique généraliste, ajustée à partir de données expérimentales et permettant d'intégrer au calcul du temps de développement des insectes la variabilité naturellement observée au sein des populations. La méthode proposée permet ainsi, quel que soit le modèle de développement utilisé, de reconstituer la cinétique d'émergence des individus en utilisant un simple facteur de pondération.

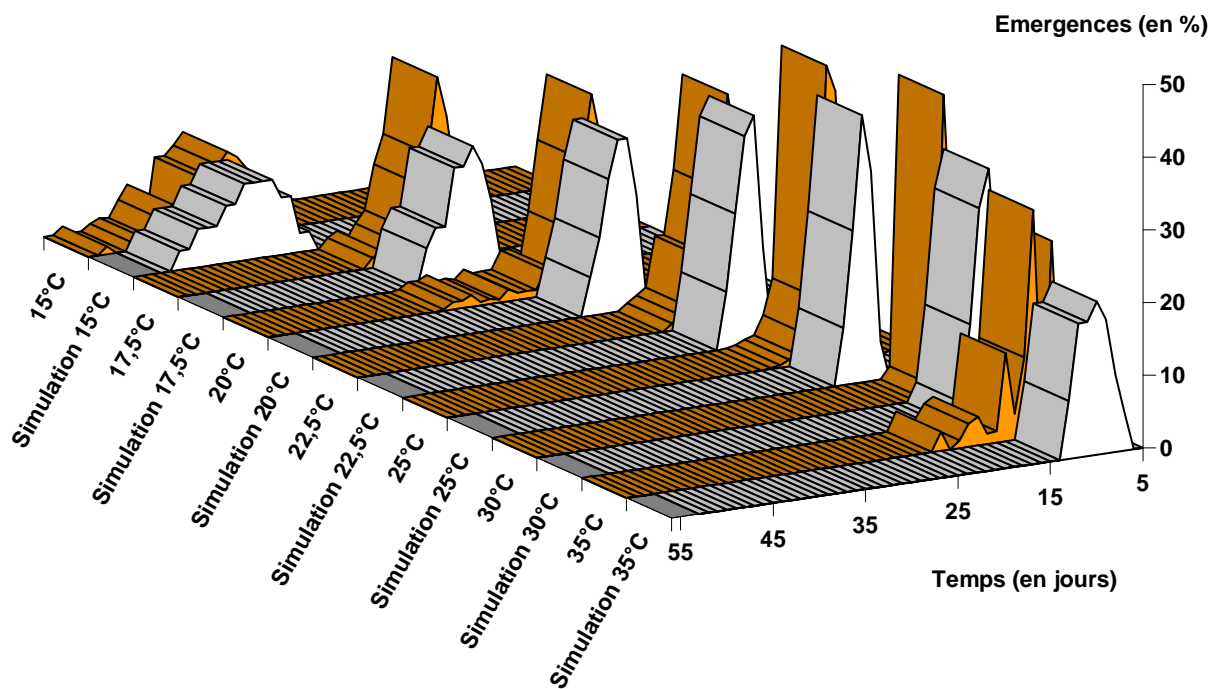


Figure 24

Comparaison à différentes températures des profils d'émergence de *L. sericata* observés expérimentalement (orange) et simulés (blanc). Pour l'ensemble des températures étudiées, les prédictions du modèle sont statistiquement identiques aux données de référence au seuil $\alpha=0,05$ (test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Il est plus aisé d'illustrer l'utilisation de ce facteur de pondération en se référant à un exemple. Considérons quatre œufs de *L. sericata* : cette population peut être subdivisée en quatre, chacun des individus représentant alors 25% des effectifs totaux. Les individus sont placés en élevage à 20°C jusqu'à émergence. Le tableau 11 représente l'estimation du temps de développement des larves avec et sans prise en compte de la variabilité interindividuelle du temps de développement. On calcule dans un premier temps à partir de la température les différents paramètres d'ajustement du modèle (k et q , w étant ici constant). Puis on utilise la formule de Régnière pour déterminer la valeur de P pour chacun des percentiles. On pondère ensuite le taux de développement accumulé à chaque pas (ADDu, cf. I.B.2.b.) en le multipliant par le coefficient P . Pour chaque pas de temps, certains individus vont donc cumuler une

valeur de développement plus faible que d'autres, et le temps de développement total va donc varier selon les individus. Si les insectes sont placés à température variable, il suffit de procéder de même mais en estimant à chaque pas de temps les nouvelles valeurs de k , q puis P selon la température.

T°	ADDu (=T-Tmin)	K	Q	W	Percentile	P	ADDu pondéré (=ADDu x P)	Temps de développement (jours)
20	9,94	4,317	0,325	0,7	0,25	0,94	9,38	22
					0,5	1,00	9,93	21
					0,75	1,05	10,44	20
					0,999	1,21	12,01	17
20	9,94							21

Tableau 11

Calcul du temps de développement de *L. sericata* avec (blanc) et sans (grisé) prise en compte de la variabilité interindividuelle. Les paramètres k , q et w sont estimés à partir de la température, puis P est calculée pour chaque percentile d'après ces paramètres. Le taux de développement cumulé à chaque pas de temps est ensuite pondéré par ce facteur. Le temps de développement est obtenu en divisant la constante de l'espèce (207 ADD ici, in Gosselin & Braert, 2008) par la valeur d'ADD unitaire (ADDu) pondérée.

Cette méthode a ensuite été appliquée à des insectes élevés à température variable, afin de vérifier le pouvoir prédictif du modèle. Les résultats, présentés sur la figure 25 indiquent une excellente corrélation des simulations avec les résultats expérimentaux (test de Mann-Whitney-Wilcoxon, $\alpha=0,05$). La méthode employée permet de prédire de manière efficace et significative à quel moment les adultes vont émerger. Le modèle n'est cependant pas validé pour les insectes élevés à une température moyenne de 15°C. En effet, le régime utilisé comporte une période à 12,5°C, valeur à laquelle le développement des insectes n'est plus linéairement corrélé à la température (Gosselin & Braert 2008). Indépendamment du calcul de la variabilité,

il est donc logique que l'utilisation du modèle ADD conduise à une estimation erronée du temps de développement des insectes.

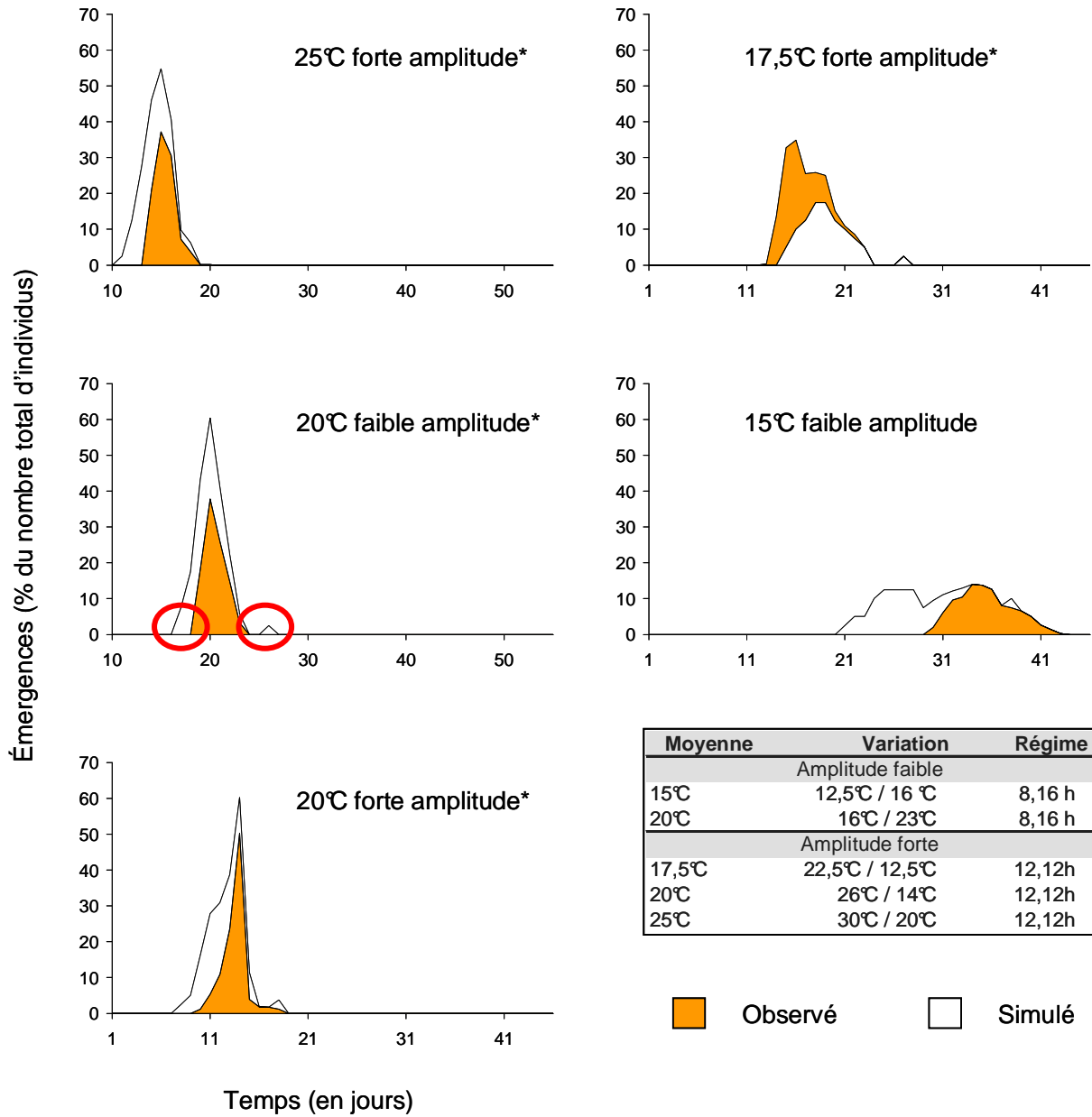


Figure 25

Comparaison des profils d'émergence de *L. sericata* à température variable. Les données expérimentales sont en orange et les résultats simulés en blanc. Les régimes de température sont indiqués dans le tableau en bas à droite. Statistique : test de Mann-Whitney-Wilcoxon, les * indiquent une corrélation significative au seuil $\alpha=0,05$.

E.3.c. Conclusion

On observe dans l'exemple du tableau 11 que la prise en compte de la variabilité interindividuelle du temps de développement place les premières émergences au bout de seulement 17 jours, tandis que l'utilisation de la valeur moyenne indique l'apparition des imagos au bout de 21 jours.

Ce type de conclusion est primordial dans le cadre de l'entomologie médico-légale, où l'estimation de l'IPM est effectuée sur la base des insectes les plus âgés. On considère en effet généralement que les individus dont le développement est le plus avancé sont les premiers à avoir été pondus sur un corps. Leur âge est alors estimé à partir des vitesses moyennes de développement, et permet ainsi de déterminer le moment des premières pontes. **Cependant, nous avons pu observer qu'au sein d'une même population, certains individus se développent plus rapidement que d'autres en raison de variations interindividuelles intrinsèques (cf. tab. 11). L'utilisation des « larves les plus âgées » pour dater le décès se révèle ainsi être une source d'erreur importante mais quantifiable, notamment grâce à l'emploi du modèle mathématique de variabilité développé ici. Il apparaît en effet préférable de considérer l'individu le plus âgé d'un échantillon comme étant celui qui s'est développé le plus rapidement, et de se référer au modèle de Régnière pour estimer le moment de la ponte à partir des individus « moyens ».**

La prise en compte de la variabilité intrinsèque du temps de développement des larves de diptères nécrophages apparaît au regard de cette étude comme une nécessité dans le cadre d'expertises en entomologie médico-légale. Nous avons ici pu démontrer que la méthode de Régnière (1984) pouvait être appliquée au calcul du temps de développement des insectes nécrophages, et que ce modèle permettait de

prédire avec précision les profils de développement d'insectes placés à température constante ou variable. Son intégration au modèle informatique présenté en dernière partie thèse devrait ainsi permettre un net gain de précision lors de l'estimation de l'âge des insectes prélevés sur un corps.

Cette étude apporte également un élément de réflexion particulièrement intéressant, qui découle de la conception même du modèle étudié. La simulation de variabilité du temps de développement des insectes décrite et utilisée dans ce chapitre repose en effet sur l'utilisation d'un facteur de pondération. Celui-ci est affecté à chaque fraction de la population, de sorte que les individus pourvus d'un facteur de pondération élevé (>1) se développent plus rapidement que les autres, quelle que soit la température. Ainsi, dans le modèle, ce sont toujours les mêmes individus qui se développent plus vite que la moyenne. Réciproquement, les individus ayant le développement le plus lent sont toujours les mêmes. L'observation sur la figure 25 d'un léger décalage aux extrémités entre les profils d'émergence observés et simulés (cercles rouges) indique la non-validité du modèle de Régnière dans ces zones. Autrement dit, **l'utilisation du modèle de Régnière à température variable postule qu'un individu se développant plus rapidement que la moyenne à 17°C le fera aussi à 30°C, ce qui ne semble pas être le cas dans la réalité. Les premières émergences observées étant plus tardives que celles prédites, et les dernières émergences observées plus précoces que celles prédites, on peut en conclure que la « performance » des individus varie selon la température. Bien qu'étant une conclusion indirecte de cette étude, ce dernier point suggère que la variabilité intrinsèque de la vitesse de développement des larves est liée à une ou des caractéristique(s) physiologique(s) dépendante(s) de la température, et non à des caractéristiques morphologiques.**

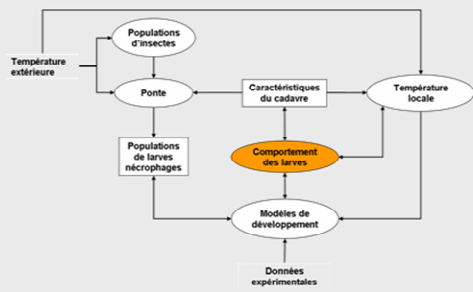
Les conclusions de cette étude sur la vitesse de développement des larves de diptères nécrophages peuvent être divisées en deux grands axes. Dans un premier temps, la constitution et l'analyse d'une base de données regroupant les informations disponibles quant au temps de développement des insectes nécrophages en fonction de la température ont permis de démontrer que :

- les constantes décrites pour une même espèce varient selon les études,
- le recours systématique à une base de données collaborative permettrait un meilleur accès à l'information et faciliterait la réalisation d'études de grande envergure.

En vue d'améliorer le processus de calcul du temps de développement des insectes nécrophages, une méthode de simulation des variations interindividuelles intrinsèques de la vitesse de croissance a été développée. Les résultats obtenus indiquent :

- que le modèle proposé par Régnière (1984) permet de prédire fidèlement la cinétique d'émergence des larves de *L. sericata* à température constante et variable,
- que l'utilisation de cette méthode permet d'accroître la fiabilité des conclusions d'une expertise entomologique,
- que l'estimation du temps de développement des insectes à partir de valeurs moyennes ou des individus les plus âgés induit un biais important,
- que ce biais peut être compensé par l'emploi d'un modèle de variabilité.

Cette étude suggère également que la variabilité intrinsèque de la vitesse de développement des larves de diptères nécrophages est due à des caractéristiques physiologiques individuelles dépendantes de la température.



Comportement des larves

F. Vitesse de déplacement des larves de diptères nécrophages (Charabidze *et al.* 2008b)

« Médiocre et rampant, on arrive à tout. »

Pierre Caron de Beaumarchais, Le Mariage de Figaro

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article was published in an Elsevier journal. The attached copy is furnished to the author for non-commercial research and education use, including the instruction or the author's institution, sharing with colleagues, and providing to institution administration.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Effect of body length and temperature on the crawling speed of *Protophormia terraenovae* larvae (Robineau-Desvoidy) (Diptera Calliphoridae)

Damien Charabidze^{a,*}, Benoit Bourel^{a,b}, Hélène Leblanc^c, Valery Hedouin^a, Didier Gosset^a

^a*Unité de Médecine Légale et Toxicologie, Faculté de Médecine, Place de Verdun, 59643 LILLE Cedex, France*

^b*Laboratoire Environnement & Santé, Faculté Laboratoire Sciences et Technologies, 43 rue de Poix, 59646 LILLE Cedex, France*

^c*School of Laboratory, Health, and Safety, Northern Road, University of Derby, Derby DE22 1GU, UK*

Received 16 April 2007; received in revised form 27 November 2007; accepted 28 November 2007

Abstract

This work investigates variation in the crawling speed of *Protophormia terraenovae* larvae (Robineau-Desvoidy) (Diptera Calliphoridae) as a function of body length and ambient temperature. A video-tracking system was used to follow the movement of larvae in experimental arena, and to estimate their average crawling speed. Recordings were carried out at various temperatures using larvae of different developmental stages. As temperature increased, the larvae crawled at a faster speed. Furthermore, speed increased as a function of body length. We present a general allometric relationship to express the average crawling speed of larvae as a combined function of temperature and body length, expressed in the following equation:

$$\text{speed (cm/min)} = 5.45 \times \log[\text{length (mm)}] + 0.68 \times \text{temperature (}^\circ\text{C)} - 12.5$$

These results are particularly useful in forensic entomology for estimating the time that elapsed following the larva's departure from the corpse. This information can provide more accuracy for post-mortem interval estimations and a better comprehension of larval behaviour and displacement.

  2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Forensic entomology; Locomotion; Modelling; Video-tracking; Allometry

1. Introduction

Although Diptera larvae (maggots) possess diverse ecological features, there is one feature that they all share: they do not possess legs. They can either creep on the surface of the substrate or burrow into galleries in the substrate, but their displacement behaviour and physiology are still poorly known (Archer and Elgar, 2003; Berrigan and Lighton, 1993; Berrigan and Pepin, 1995; Maitland, 1992). Recent developments in forensic entomology and modelling of insect development, an edition in particular, have made displacement behaviour one of the most important aspects of investigation in forensic entomology.

The first detailed study on locomotory movements of larvae was performed by Miller (1929) using *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera Calliphoridae). Miller showed that the larval rate of contraction increased directly with temperature, but that the height of contraction was the same for temperatures between 10 and 30  C. Beyond these limits, the height of contraction decreased. He also demonstrated a logarithmic relation linking temperature and speed for larvae of the same size, and noted the existence of great speed differences among individuals of the same age and size. Unfortunately, he did not mention the lengths of the larvae used for his experiments.

Later, Hafez (1948) carried out a complete study on housefly larvae (*Musca domestica*, Diptera Muscidae) (Linn eus) behaviour and physiology. Focusing on environmental preferences (temperature, hygrometry and lighting)

*Corresponding author. Tel.: +33 320 623 514; fax: +33 320 623 512.
E-mail address: damien@forensick.org (D. Charabidze).

and orientation mechanisms, he briefly dealt with larval speed and their link with ambient temperature. Hafez found an exponential relation linking speed and temperature, but no correlation had been observed between size and speed, and experiments were done with third instar larvae only. He also described variations in the behaviour of larvae when exposed to high temperatures and proposed adaptation to thermal stress as an explanation. Finally, analyses of the trajectory of larvae in chosen experiments revealed various mechanism of orientation: klinotaxis (undirected response with random turn rate depending on the environment), klinotaxis (directed orientation based on stimulation intensity), orthokinesis (speed increase with signal intensity) and adaptation (effect of a stimuli depending on exposure time). Combinations of some or all of these mechanisms are involved in orientation and reaction to variations of environment parameters, such as temperature, humidity, light, food, etc.

Research by Berrigan and Papin (1995) focused on allometry and kinematics of crawling in four species of Diptera. This study also clearly showed the close links between morphological features and speed. The authors demonstrated that larval speed increases proportionally to their mass, but this relationship differs for each species studied without any general allometric relation to larval speed. However, recordings were made at uncontrolled temperatures, from 23 to 25 °C, and only post-feeding stage larvae were used.

In the framework of forensic entomology, displacement speed is an important parameter for estimating the age of a larva, which in turn allows for the approximation of time since death, also called post-mortem interval (PMI). Indeed, during the post-feeding larvae stage, larvae of most necrophagous flies move away from corpse in search of a sheltered place to pupariate: they may be found as far as 10m away (Grassberg, 1990; Zafarek et al., 1991). When a corpse is discovered, if larvae are leaving the body to pupariate, it is possible to measure the distance they have covered and, with knowledge of the crawling speed, to calculate when they left the corpse (De Andrade et al., 2002; Archer and Elgar, 2003; Gomes and Von Zuben, 2005; Gomes et al., 2006).

Finally, we have developed a computer model of larval development on carrion. In this context, the use of larval locomotory movements, more specifically their speed, is fundamental because this is the basis of the aggregation behaviour and larval mass displacement. Thus, our present study focuses on relationships between body length, temperature and speed for *Protophormia terraeocae* larvae (Robinson-Desvaux) (*Diptera: Calliphoridae*).

2. Materials and methods

The experiments were implemented on *P. terraeocae* larvae obtained from rearing colonies bred at the University of Lille (France). Adults were fed *ad libitum* with cattle sugar and powdered milk, and minced beef was

added for two days to provide the proteins needed to start vitellogenesis. Ten days later, minced beef was given again to initiate egg laying (day 0). The breeding substrate for the larvae was minced beef (<15% fat) and the temperature was 20 °C (+1 °C). The larvae used for each measurement series were derived from one hatch of eggs, and the number of individuals was kept sufficiently low to prevent any competition phenomenon inside this population (Holland and Turner, 2006). The individuals used for experiments were chosen randomly, and were not used again for any following experiments.

The video-tracking system and experimental arena were placed in a thermostatic enclosure with ± 1 °C precision (Aqualic[®], Bioblock Scientific), illuminated only by a fluorescent white neon tube. This system enabled us to record larval movement under controlled conditions (Warrten et al., 1993). The experimental arena consisted of a 18.5 cm Petri dish filled with a 2.5 cm thick layer of 20% agar-agar, which was humid enough to create the ideal condition for the larvae and was totally homogenous and odour-free (Berrigan and Papin, 1995). However, atmospheric humidity and substrate texture are not a significant factor influencing locomotion speed (Miller, 1979). Petri dishes were filmed using a 640 × 480 pixel high resolution web cam (Video Cam Messenger[®], Genius) controlled by AutoWebcam software (IHEUITS[®]), which took a picture every 5 s, during each 10 min experiment. Scale was defined using a 10 cm mark placed at the bottom of the Petri dish, and pictures were then analysed using Avimeca 2.7 freeware, checking the position of the larva on each picture to follow their travel during the experiment. Total distance was calculated by adding distance between each point, and dividing the average crawling speed of the individual during the whole recording. Approximating trip (only one passage point recorded every 5 s) lessens the amount of data to be processed and results in a speed which is statistically equivalent to the one obtained with one point per second (χ^2 test, $\alpha = 0.005$).

Each larva used in the experiment was then boiled and its length measured with a micrometre (length ± 0.2 mm). This same process was followed for each of the seven investigated temperatures (10, 15, 20, 23, 28 and 30 °C).

For each investigated temperature, this process was replicated daily between 2h00 and 5h00 pm with five different individuals (Japlin and Moore, 1999). Experiments were started on day one (new hatched larvae) and followed until individuals reached the post-feeding larvae stage. At a rearing temperature of 20 °C, this stage was reached at day 8, with larvae measuring about 15 mm (Grassberger and Reiter, 2000). Beyond this stage, experiments were stopped as the behaviour of the larvae change: they often plunged into the substrate, which disrupted the measurements of crawling speed.

First, Q_{10} was used to test an allometric relation between temperature and crawling speed. Q_{10} is the factor by which a reaction increased for a 10 °C rise in temperature. This value was calculated as $Q_{10} = (R2/R1)^{100/(T2-T1)}$ where T is

the temperature and R the observed value (here the speed). Because speed varied with length, calculation of the Q_{10} value could only be done while considering larvae of the same length, for example, third instar larvae whose size was between 10 and 16 mm. Then, a statistical analysis of the results was conducted using Statistica 6.1 software (StatSoft[®]). First, a multi-criterion analysis ANOVA using temperature and speed as two independent factors allowed checking the role of these parameters. A two independent parameters non-linear regression (least squares method, $\alpha = 0.05$, R^2 adjustment value = 0.87) was then used to estimate the relationship between crawling speed, length and temperature. This allometric relationship is:

$$\text{speed (cm/min)} = 5.45 \times \log[\text{length (mm)}] + 0.66 \times \text{temperature (}^\circ\text{C)} - 12.8.$$

3. Results

Larval movements in the Petri dishes were stereotyped, with few turns or direction changes. Except for very small larvae, which essentially moved to the centre of the Petri dish, larger larvae had a tendency to make their way in a direct line. Journeys in Fig. 1 show that the young first instar larvae in experiment A randomly and continuously moved to the centre of the arena unlike 8 mm second instar larvae in experiment B, which went around in a circle as soon they reached the edge of the dish. Furthermore, for the major part of tested individuals, the average speed was constant throughout the length of the experiment. However, from the displacement recorded experiments, it was possible to note that some individuals tended to remain motionless during a part of the experiment, while others ceaselessly moved.

The speed exhibited by the larvae increased as their length increased, and this happened regardless of the

temperature (between 10 and 30 °C) (Fig. 2). In the first instar larvae, which are less than 5 mm in length, speeds did not exceed 10 cm/min. For second instar larvae, length between 5 and 10 mm, speed increased rapidly, and finally stabilized for the third instar larvae, reaching a maximum at 25 °C of 27.8 cm/min for a larva of 14 mm length.

As temperature increased, the larval crawling speed also increased: the environment temperature had a strong influence on larval speed. This was true at all investigated temperatures. Between 10 and 20 °C, the Q_{10} for third instar larval speed was 2, i.e. speed was multiplied by two when the temperature increased from 10 to 20 °C. Between 18 and 25 °C, the Q_{10} was 1.68, and 1.52 between 20 and 30 °C. Thus, the relationship between speed and temperature was clearly non-linear.

The average crawling speed of *P. terrestris* larvae depended upon two variables: the length of individuals and the temperature. ANCOVA indicated that these two independent parameters affect speed and together explain 87% of the observed speed variability ($\alpha = 0.01$). The non-linear multiple regression analysis of the results allowed us to extrapolate a general relationship where speed was linked both to body length and temperature (Fig. 3). Furthermore, when only considering the effect of temperature for statistical analysis, speed value differed significantly as soon as the gap between the temperatures of experiments was 3 °C or more (Tukey multiple comparison test, $\alpha = 0.05$).

4. Discussion

In most cases, larval length directly depended on their rate of development, and varied as a sigmoid curve (Day and Wallman, 2006a, b; Donovan et al., 2006; Grassberger and Reiter, 2002; Reiter, 1984). During the first instar, body sizes increased very little. During the second instar and in the beginning of the third instar, larval size rapidly

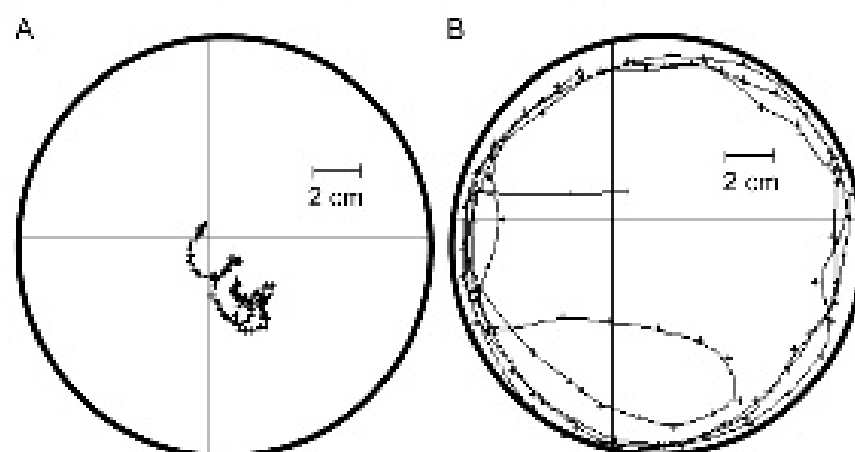


Fig. 1. Journeys observed at 20 °C for a 1 mm long larva (A) and for an 8 mm larva (B) during a 10 min recording. Experimental arena was a 18.5 cm Petri dish. Positions are captured every 5 s using a webcam, and larva position is checked (cross on the picture). After a 10 min run, the total travelled distance was estimated, to calculate average displacement speed.

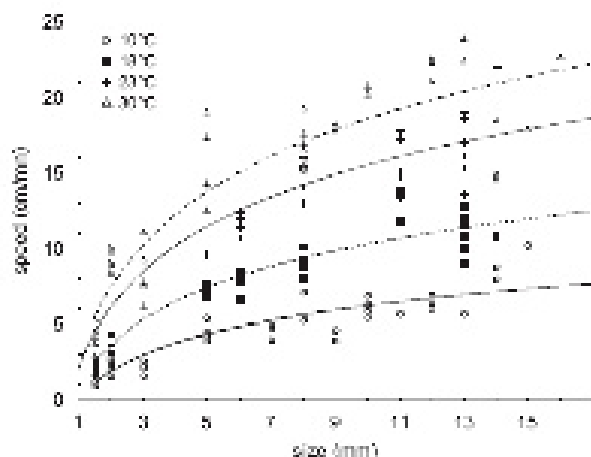


Fig. 2. Relation between speed and size of individuals at four experimental temperatures (10, 18, 21 and 30 °C). Each point represents average speed of an individual during 10 min recording.

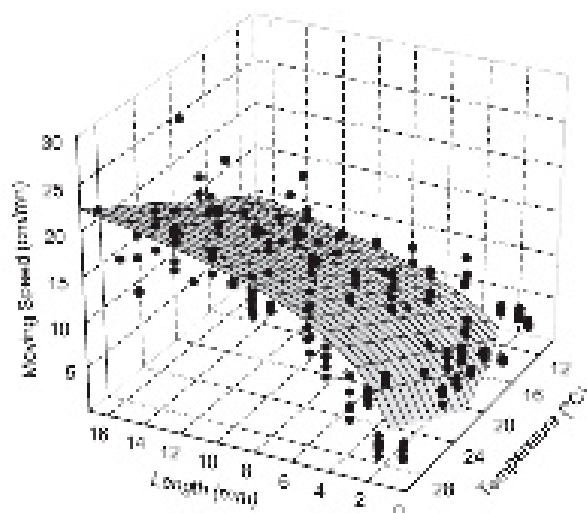


Fig. 3. Graphic 3D representation of experimental results (dots) and model (surface) of speed depending on body length and temperature. Relation used: $\text{speed (mm/min)} = 5.45 \times \log(\text{length(mm)}) + 0.64 \times \text{temperature(}^\circ\text{C)} - 12.8$ (three square non-linear two parameters regression, $r = 0.95$, R^2 adjustment value = 0.87).

increased, but ceased to progress and then decreased during the prepupal stages. However, this relationship only applied if there was no competition between individuals, and if there was enough food for larvae to maximize their development: in other cases, food depletion produced small individuals (Doarkeis et al., 1999; Goedbroed and Goff, 1990; Ireland and Turner, 2006; Moe et al., 2002; Prinkkila and Hanski, 1995). Thus, length appeared to be a better parameter than development rate to estimate crawling speed.

These results are consistent with the well-known and strong dependence of larvae activity and metabolism

on temperature. Thus, even if development rates of *P. germanica* differ between authors, it is generally recognised that larval development starts at 10 °C, increases linearly between 15 and 30 °C and then decreases (Byrd and Castner, 2001; Grassberger and Reiter, 2002; Smith, 1986). In our experiments, maximum speed was reached at 30 °C, but the range of temperatures employed did not include the extreme values to which insects may sometimes be subjected.

Measurements carried out at 15 and 18 °C were not statistically different from one another; the same was true for measurements at 28 and 30 °C. However, it is quite possible that a real difference of speed for small differences of temperature really exists: such an effect could be simply concealed by the background noise. Nevertheless, behavioural variability observed during experiments directly affected average speed and may explain scattering of the points around the estimated curve.

The exact role of speed upon the behaviour of larvae is not easy to establish. Hafez (1948) noted that orthokinesis (varying speed depending of signal intensity) is involved in larva displacement, but only in cases of extreme signal values. It is important to note that Hafez's experiments were conducted on larvae which were in stressed conditions, and therefore the speed measured was mainly the maximum speed. Analysis of travel patterns of larvae also clearly revealed the importance of thigmotaxis, which pushes larvae into following the edge of the dish once they are in touch with it. Thus, it seems difficult to interpret the paths in a more detailed way because larvae are extremely sensitive to numerous parameters of the surroundings, and they tend to continually re-orientate their moves so as to adapt to their environment (Miller, 1929; Hafez, 1948). Travel experiments in small Petri dishes limit displacement and cannot be used to test or analyse behavioural rules. Finally, these kinds of measurements should be extended to other species in order to determine whether the allometric relationships inferred from these results are also true of related species.

In the framework of insect computer modelling of development, such data allow us to obtain a realistic algorithm of larvae displacement on a carton. Furthermore, in the context of forensic entomology, these results highlight the importance of knowing the body length and exact ground temperature to estimate the distance travelled by larvae.

Acknowledgements

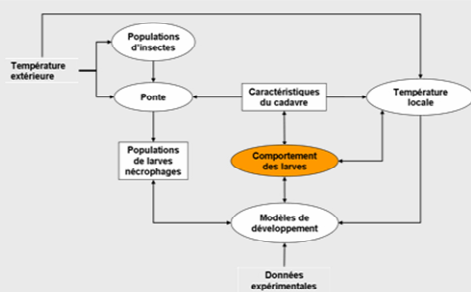
This work has been financed, thanks to Nordset Segard Foundation, and has been developed in the framework of the Equipe d'Accueil EA 3609 "Ecologie des micro-organismes pathogènes eucaryotes", supported in part by the French Ministry of Research. The authors also insist on thanking reviewers for their helpful comments, and Mr. Robin Hautbout, Ms. Aline Barbeau, Mr. Patrick Charabidze and Mr. Daniel Dupont for their help and advice.

References

- Archer, M.S., Egan, M.A., 2000. Effects of decomposition on carrion attendance in a guild of carrion-breeding flies. *Medical and Veterinary Entomology* 17, 265–271.
- Berigan, D., Lighton, J., 1995. Energetic and kinematic consequences of larbivores in larval diptera. *Journal of Experimental Biology* 179, 245–254.
- Berrigan, D., Bepko, D.L., 1995. How larvae move: elementary and kinematics of crawling in larval diptera. *Journal of Insect Physiology* 41, 339–347.
- Bird, J.H., Castner, J.L., 2001. *Forensic Entomology: The Utility of Anthropods in Legal Investigations*. CRC Press, Florida.
- Day, D.M., Wallman, J.F., 2006a. Width as an alternative measurement to length for post-mortem interval estimations using *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Forensic Science International* 154, 136–137.
- Day, D.M., Wallman, J.F., 2006b. Influence of substrate moisture type on larval growth in *Calliphora vicina* and *Zenia vicina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Forensic Sciences* 51, 657–663.
- De Andrade, J.B., Rocha, F.A., Rodrigues, P., Rosa, G.S., Faria, L.B., Von Zuben, C.J., Rossi, M.N., Godoy, W.A., 2007. Larval dispersal and predation in experimental populations of *Corynosia albipes* and *Chobbiopsia scutellata* (Diptera: Calliphoridae). *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 92, 1137–1141.
- Dougan, S.E., Hall, M.J., Turner, B.D., Muscicelli, C.E., 2006. Larval growth rates of the blowfly, *Calliphora vicina*, over a range of temperatures. *Medical and Veterinary Entomology* 20, 106–114.
- Doering, M.L., Von Zuben, C.J., Godoy, W.A., 1999. Larval aggregation and competition for food in experimental populations of *Corynosia albipes* (wied.) and *Chobbiopsia scutellata* (n.) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Applied Entomology* 131, 405–408.
- Gomez, L., Von Zuben, C.J., 2005. Postfeeding larval dispersal in larvae of *Corynosia albipes* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Science International* 155, 61–64.
- Gomez, L., Godoy, W., Von Zuben, C.J., 2006. A review of postfeeding larval dispersal in blowflies: implications for forensic entomology. *Naturwissenschaften*, 1–4.
- Goodhead, J.R., Gott, M.L., 1946. Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Corynosia* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. *Journal of Medical Entomology* 27, 338–343.
- Grasberger, M., Reiter, C., 2002. Effect of temperature on development of the forensically important blowfly *Phormica tenax* (Robinson-diptera) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* 136, 177–183.
- Greenberg, H., 1990. Neonatal egestion behavior of blow flies (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology* 27, 807–810.
- Hafsa, M., 1948. On the behaviour and sensory physiology of the house-fly larva, *Musca domestica* (L.) I. Feeding stage. *Physiology* 41, 215–230.
- Ireland, S.U., Turner, B., 2006. The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vicina*. *Forensic Science International* 159, 175–181.
- Joshi, K.H., Mann, D., 1990. Effects of environmental factors on cannibalism in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiological Entomology* 35, 66–71.
- Marshall, D.P., 1993. Locomotion by jumping in the Mediterranean fruit fly larva *Carolea cuprescens*. *Nature* 365, 154–161.
- Miller, D.H., 1939. Determining the effects of change in temperature upon the locomotor movements of fly larvae. *Journal of Experimental Zoology* 52, 293–315.
- Mo, S., Sivasith, J., Chu, N., Smith, R.H., 2002. Density dependence in blowfly populations: experimental evaluation of non-parametric time-series modelling. *Oikos* 94, 527–531.
- Pringle, M.L., Hanks, J., 1945. Complex competitive interactions in four species of *Lucilia* blowflies. *Ecological Entomology* 21, 261–272.
- Reiter, C., 1984. Growth behavior of the blue blowfly *Calliphora vicina* larvae. *Zentralblatt Bakteriologie* 91, 295–303.
- Smith, R.G., 1966. *A Manual of Forensic Entomology: The Trustees of the British Museum (Natural History)*, London.
- Wright, S.D., Mead-Briggs, M., Gembs, G., Erickson, G., Haggott, D.G., 1993. An evaluation of the parental effects of warmth on the decomposition of cattle dung pats. *Veterinary* 135, 211–212.
- Zdarek, J., Myska, P., Zemek, R., Nalunaj, R.J., 1991. Mode of action of an insect neurotoxic leucogenin-like (lgl) on pupation in flesh fly (*Sarcophaga bullata*) larvae (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Insect Physiology* 48, 951–954.

Les résultats détaillés dans cet article ont permis de démontrer que :

- la vitesse de déplacement des larves de *P. terraenovae* évolue avec la longueur des individus,
- cette vitesse est également dépendante de la température du milieu,
- pour tout individu, une relation mathématique permet de calculer sa vitesse de déplacement en fonction de sa longueur et de la température de l'environnement.



Comportement des larves

G. Caractérisation de la structure et du comportement thermique des masses de larves

« Pour les asticots, faut pas qu'ils aient trop chaud,
et faut pas que ce soit trop froid. Sinon ... »

Un éleveur d'asticots, in Charabidze & al. 2008

G.1. Etat des connaissances

G.1.a. Observations et interprétations

L'observation d'un accroissement de la température au sein d'une masse de larves est relativement ancienne. En 1940, Deonier mentionne le phénomène, qu'il impute alors au mécanisme d'exodigestion (Deonier 1940). Par la suite, de très nombreuses observations similaires seront rapportées, attestant par là même de l'importance et de la systématité du phénomène. Grassberger mentionne ainsi un écart de 25°C entre la température extérieure et celle enregistrée au sein de la masse, tandis que des températures supérieures à 40°C et pouvant aller jusqu'à 50°C sont fréquemment observées (Deonier 1940, Greenberg 1991, Hewadikaram & Goff 1991, Campobasso 2001, Joy *et al.* 2002, Grassberger & Frank 2004, 2006, Gruner *et al.* 2007).

En revanche, l'interprétation des mécanismes impliqués et la compréhension de la nature exacte du phénomène demeurent problématiques. En 1988, Marchenko

postule une relation entre le nombre d'individus constituant une masse et la température dégagée, sans pour autant pouvoir le démontrer (Marchenko 1988). Cette idée est ensuite reprise par Turner & Howard dans une publication datant de 1992, où les auteurs émettent l'hypothèse d'un lien entre la taille et la température interne de la masse (Turner & Howard 1992). Cette hypothèse sera confirmée expérimentalement en 2006 grâce aux techniques d'imagerie thermique (Hall & Brandt 2006).

Les processus physiologiques en jeu n'ont en revanche pas été mis en évidence expérimentalement. Si le rôle de l'exodigestion a été avancé, il semble cependant plus probable que le métabolisme digestif interne soit impliqué (Deonier 1940, Slone & Gruner 2007). Le dégagement de chaleur métabolique engendré par l'activité musculaire est également possible. Enfin, l'existence d'une forte activité mécanique due aux frottements des individus entre eux et aux mouvements des crochets buccaux pourrait également expliquer le phénomène (Hobson 1932a, Charabidze *et al.* 2007).

Les implications de ces observations restent également très discutées. Il apparaît clairement que l'augmentation locale de température générée par les larves peut leur permettre de poursuivre leur développement alors même que la température extérieure devrait stopper leur activité (Wyss *et al.* 2003, Hall & Brandt 2006, Huntington *et al.* 2007). En revanche, la prise en compte des hautes températures à l'intérieur des masses comme facteur accélérant le développement des larves fait débat. En effet, bien qu'une forte chaleur soit enregistrée, il n'est pas prouvé que celle-ci corresponde à la température réellement ressentie par les insectes et contrôlant leur développement. On observe en effet un déplacement permanent des individus au sein de la masse, qui correspondrait donc à une variation continue de la température ressentie par chaque individu (Deonier 1940, Turner & Howard 1992, Anderson &

Vanlaerhoven 1996). Il est de plus possible que l'évaporation de l'humidité des individus remontant en surface vers les zones plus froides accentue le phénomène de refroidissement (Gruner *et al.* 2007). Malgré cela, certains spécialistes n'hésitent pas à intégrer l'effet des masses de larves dans le cadre d'expertises judiciaires, sans pour autant préciser les méthodes d'estimation de ce paramètre (Haskell 2007).

G.1.b. Premières expériences et structure des masses de larves

Afin de disposer de données applicables dans le cadre d'expertises, une étude quantitative de la chaleur engendrée par les masses de larves a été développée aux Etats-Unis (Slone & Gruner 2007). Cette étude repose sur la description et l'analyse des résultats d'une grande campagne d'expériences de terrain. Quarante-cinq cadavres de porcs ont été équipés de capteurs thermiques puis placés en extérieur. Le volume des masses larvaires se développant sur le corps a ensuite été estimé en mesurant la taille de celles-ci, et les données climatiques ont également été enregistrées (figure 26). Les auteurs proposent, sur la base de ces résultats, une relation liant la température maximale de la masse à son volume. Ils démontrent également, dans le cas de petites masses, une forte dépendance de ce dégagement de chaleur à la température environnante, et l'existence d'un comportement de thermorégulation dans le cas d'agrégats de plus grande taille.

Cependant, plusieurs remarques viennent nuancer ces conclusions. Les masses étudiées sont constituées de plusieurs espèces et de stades de développement différents, ce qui complique l'interprétation et la généralisation des résultats. L'ensemble des expériences ayant été réalisé sur des cadavres de porcs de taille et de masse identiques, l'effet probable de l'inertie thermique du cadavre sur la température de la masse n'a pas été pris en compte. De plus, la relation proposée

n'est pas valable pour des masses de petite taille (volume inférieur à 20cm³, soit environ 2 pontes), bien qu'il s'agisse d'une configuration fréquemment observée dans le cadre de l'entomologie médico-légale. Plus concrètement, l'estimation du volume d'une masse de larves nécessite que les insectes ne subissent aucun stress susceptible de rompre cette organisation, et semble de fait un paramètre particulièrement délicat à estimer dans le cadre d'une expertise. Enfin, aucune interprétation des mécanismes à l'origine du dégagement de chaleur et des liens avec les paramètres climatiques n'a été avancée par les auteurs.

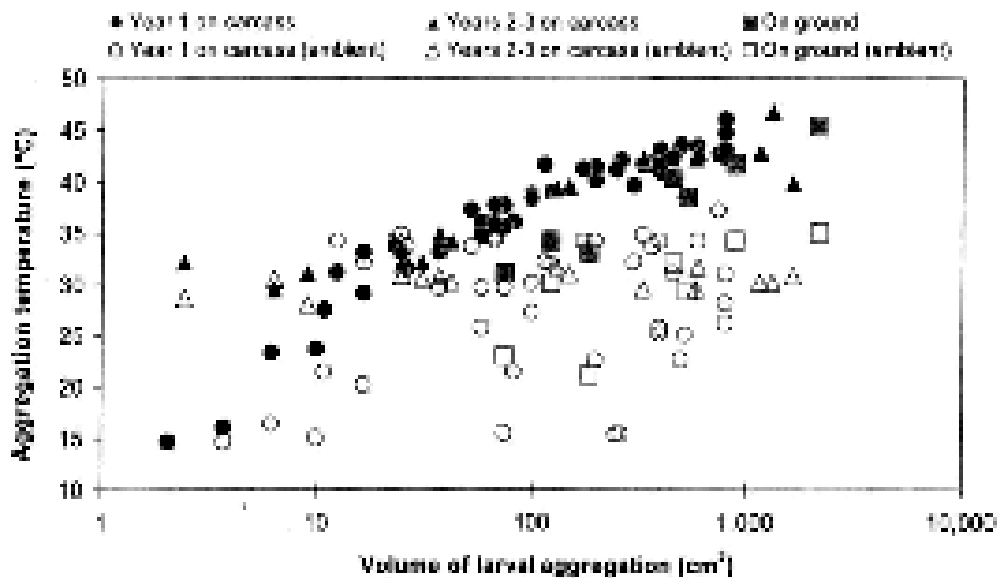


Figure 26

Température des masses de larves représentée en fonction de leur volume (in Slone & Gruner, 2007). La température ambiante est représentée par les figurés blancs, celles des masses par les noirs. On carcass : masses de larves sur le cadavre ; on ground : masses de larves au sol.

Dans le cadre de cette thèse, des mesures ont été réalisées sur des larves de troisième stade de *L. sericata* (Charabidze *et al.* 2007). Le protocole employé s'appuie sur celui mis en place pour l'étude de la régulation thermique chez une espèce de

chenilles grégaires (Ruf & Fiedler 2000). Il consiste à placer durant douze heures une quantité déterminée d'insectes dans une enceinte adiabatique (*i.e.* isolée thermiquement) équipée d'une sonde, afin d'enregistrer l'évolution de la température au sein de la masse. Le système est placé à une température externe constante de 20°C.

Les premiers résultats révèlent des écarts importants, la température interne pouvant être jusqu'à 10°C supérieure à la température extérieure. On observe une relation étroite entre la masse de larves et sa température interne. Dans un premier temps celle-ci augmente linéairement avec la quantité de larves, puis le phénomène s'amortit pour finalement stagner à une température d'environ 35°C à partir de 250g de larves. Malgré l'intérêt de ces premières mesures, les observations comportementales réalisées par la suite nous ont amené à mettre en doute la pertinence du protocole employé. Il sera ainsi démontré dans ce chapitre que les conditions expérimentales influent fortement sur le dégagement de chaleur observé, et qu'un protocole particulier doit donc être suivi.

G.2. Nouveaux résultats et analyse

G.2.a. Structure des masses et origine du dégagement thermique

Les résultats présentés dans ce paragraphe sont issus d'observations réalisées à la verminière Le Thepault Fils durant l'automne 2007 (Charabidze *et al.* 2008c). Le matériel présent sur place étant très limité, les résultats présentés relèvent de l'observation plus que de l'expérimentation en conditions contrôlées. Cependant, les données récoltées sont particulièrement intéressantes et méritent d'être détaillées ici.

Historiquement, le terme verminière désigne une fosse de ferme où étaient déposés restes et charognes afin d'élever des vers destinés à l'alimentation des volailles. Le terme a depuis été repris pour désigner les structures d'élevages d'asticots destinés à la pêche. Actuellement, la société Le Thepault Fils dispose d'un site de conditionnement et de commercialisation à Paris ainsi que du site de Saint Pourcain Sur Sioule (03), exclusivement dédié à l'élevage d'asticots. Environ 200 000 litres d'appâts vivants y sont produits chaque année.

Les premières mesures ont été réalisées afin de compléter avec de plus gros volumes les résultats déjà obtenus chez *L. sericata*. La figure 27 représente la température maximale atteinte en fonction de la masse de larves. Les résultats indiquent globalement que plus la masse de larves est importante, plus la température dégagée est élevée, avec une température maximale observée d'environ 48°C. De fortes augmentations de température ont également été enregistrées dans le cas de larves de premier et deuxième stade élevées à température ambiante. Une température de plus de 34°C au sein d'une masse de larves de premier stade de moins de 100 grammes a ainsi été observée. De même, les enregistrements effectués à température extérieure sur des masses de larves de deuxième stade de moins de 300 grammes ont conduit à des températures allant jusqu'à 42°C.

Une étude du comportement des larves a également été réalisée (Charabidze *et al.* 2008a). Pour cela, les cuves en ciment de 4 m sur 3 m servant à l'élevage des larves de troisième stade de *P. terraenovae* ont été filmées et photographiées. Plusieurs millions d'individus sont élevés dans chacune de ces enceintes. Des lampes néons de faible intensité permettent d'éclairer le hangar, et aucun système de chauffage n'est présent. De la nourriture fraîche (viande de bœuf broyée) est déposée tous les jours dans les cuves.

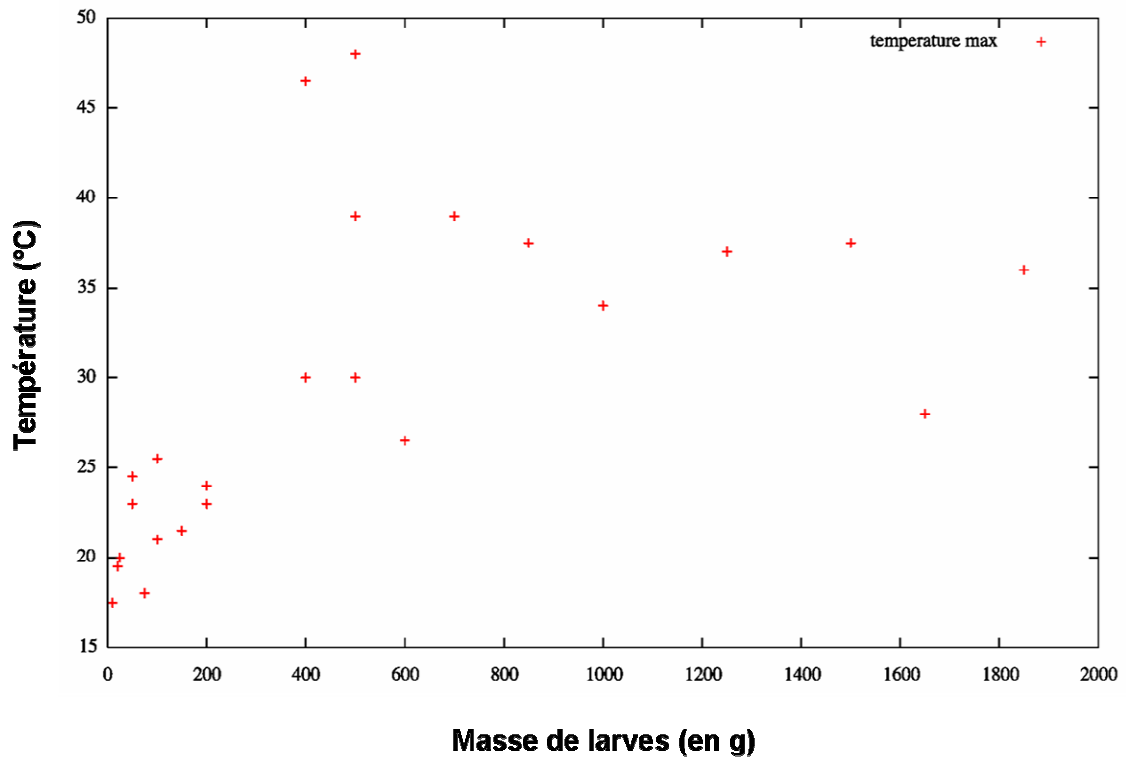


Figure 27

*Température maximale enregistrée (en °C, ordonnée) en fonction de la quantité de larves de troisième stade de *P. terraenovae* (en grammes).*

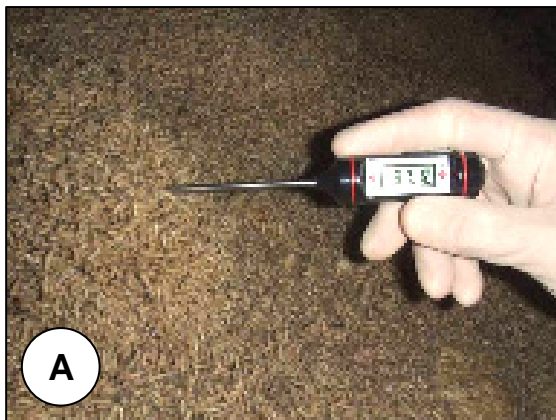


Figure 28

*Prise de température en 2 points d'une même masse de larves (*P. terraenovae*, L3) et à la même profondeur (2cm), à quelques secondes d'intervalle. La température enregistrée est de 37,1°C pour la photo A et 32,3°C pour la B.*

La première conclusion de ces observations de terrain est que la température diffère significativement entre 2 points d'une même masse de larves. Ce phénomène, brièvement mentionné par Hall (Hall & Brandt 2006), est visible sur la figure 28. Il traduit une hétérogénéité au sein de la masse, qui ne peut donc pas être considérée comme un tout uniforme.

On observe également que, contrairement à ce qui est mentionné dans la littérature (Hobson 1932a) et communément admis, les larves ne se nourrissent pas en permanence. En effet, des zones distinctes de coloration claire ou foncée apparaissent au sein des masses de larves. A l'échelle de l'individu, les zones sombres correspondent à une majorité de larves en phase de digestion, tandis que les parties claires de la masse sont constituées d'individus à la recherche de nourriture (Christopherson & Gigo 1997). Cette coloration correspond au niveau de remplissage du jabot, une structure digestive située en face dorsale près de la capsule céphalique et visible par transparence lorsque celui-ci est rempli (figure 29). Les larves ayant le jabot plein apparaissent donc plus sombres que les autres.

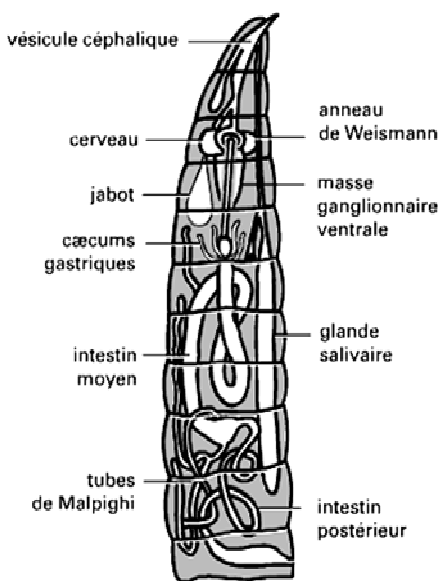


Figure 29

Anatomie d'une larve de diptère Calliphoridae. La capsule céphalique contient les crochets buccaux qui permettent à la larve de s'alimenter. Le jabot est un diverticule du système digestif en retrait de la capsule céphalique qui permet à l'insecte de stocker la nourriture. Les orifices respiratoires (stigmates) se trouvent à l'extrémité postérieure de l'insecte. (Source : Encyclopédia Universalis version Web).

La structuration des masses de larves, nettement visible sur les enregistrements vidéo réalisés sur place, est illustrée par la figure 30. La répartition spatiale des individus implique l'expression de comportements distincts selon l'état métabolique des individus. On peut ainsi subdiviser la population de larves en trois catégories :

- * les larves qui s'alimentent, immobiles et en contact direct avec le substrat. Elles sont agrégées verticalement, stigmates postérieurs orientés vers le haut,
- * les individus qui essaient d'accéder à la nourriture (blanches, jabot vide),
- * les larves en phase de digestion, qui se déplacent à proximité du reste de la masse (jabot plein créant une tâche foncée en face dorsale).

Le comportement grégaire des larves permet notamment d'augmenter la température locale, mais complique en revanche l'accès au substrat alimentaire. Cet accès étant limité, la surpopulation peut engendrer le développement de la compétition interindividuelle (*cf.* I.A.3.c.). Cependant, le comportement des larves schématisé par la figure 31 optimise à la fois l'accès à la nourriture et le bénéfice thermique lié à la proximité de la masse. La structure adoptée par les agrégats de larves permet en effet aux individus à la recherche de nourriture d'accéder rapidement au substrat en s'infiltrant dans les couches les plus basses de la masse. Les larves en phase de digestion, présentes dans les couches les plus hautes, peuvent quant à elles bénéficier de la chaleur dégagée par l'agrégat. Lorsque les conditions locales deviennent défavorables (manque de nourriture), les individus ayant le jabot vide se déplacent en périphérie vers de nouvelles zones plus riches (Christopherson & Gigo 1997). Cette décentralisation entraîne alors progressivement le déplacement de l'ensemble de la masse. Ainsi, bien qu'aucune règle collective explicite de déplacement ou d'optimisation de l'espace n'existe, on observe qu'un comportement

global cohérent émerge. Ce phénomène est appelé auto-organisation (Deneubourg *et al.* 2002, Lioni & Deneubourg 2004, Ame *et al.* 2006, Halloy *et al.* 2007). Très étudiée chez certaines espèces d'insectes sociaux (fourmis) ou grégaires (blattes), l'auto-organisation n'a jamais été décrite chez les larves de diptères nécrophages. Bien que les observations rapportées ici tendent à démontrer son existence, une étude plus approfondie serait nécessaire pour quantifier le phénomène. Il est cependant possible d'étudier la dynamique de groupe sans nécessairement disposer de connaissances détaillées sur les mécanismes locaux en jeux (Theraulaz *et al.* 2003, Dussutour *et al.* 2005, Morvan *et al.* 2008e).



5 cm

Figure 30

Masse de larves de troisième stade de *P. terraenovae*. On observe deux zones distinctes : dans le quart supérieur gauche de l'image (zone A), les larves d'aspect sombre ont le jabot plein. La zone B présente en revanche une majorité de larves de coloration claire ayant le jabot vide.

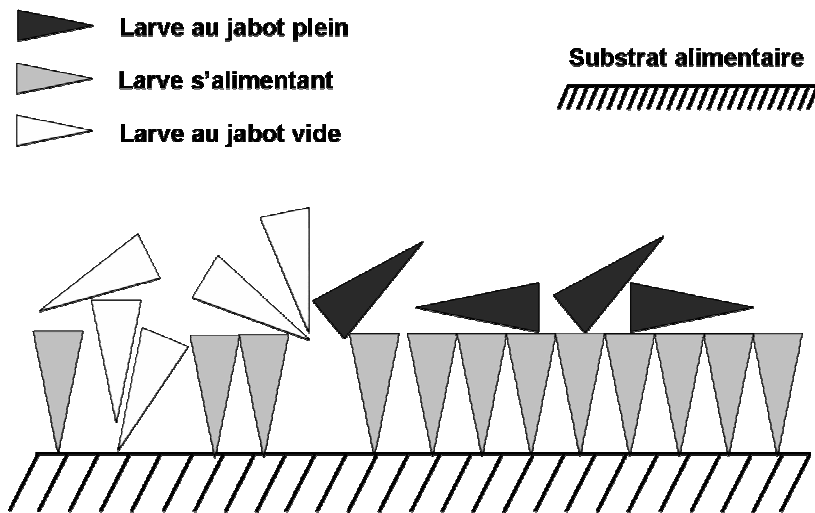


Figure 31

Structure d'une masse de larves. Le substrat alimentaire (viande) est attaqué par les crochets buccaux et les enzymes digestives des larves en train de se nourrir. Celles-ci sont agrégées tête en bas, les orifices respiratoires postérieurs en surface. Superposés à cette première couche, les individus ayant le jabot vide essayent de s'insérer dans la masse au contact de la nourriture. Les larves arrivées à satiété se déplacent en surface et apparaissent plus foncées à cause du remplissage de leur jabot.

La disposition « en hérisson » des larves au sein des l'agrégats, visible sur la figure 32, n'est pas observée chez les individus élevés à faible densité. Elle pourrait résulter de la poussée exercée par les larves situées en périphérie et cherchant à atteindre le centre de la masse (figure 33). La disposition verticale des individus optimise la surface de contact et permet à un maximum d'individus de s'alimenter simultanément. Les larves peuvent en effet accéder au substrat et continuer à respirer grâce à leurs stigmates postérieurs orientés vers le haut. Le problème de la respiration est en effet de première importance car les larves sont fréquemment confrontés à des milieux très décomposés, et donc partiellement liquéfiés. Il s'agit donc d'une structure optimisée et émergente et qui met en évidence l'existence d'un phénomène d'auto-organisation des masses de larves.



Figure 32

Structure « en hérisson » adoptée par les individus en train de se nourrir au sein de masses de très forte densité. On observe au milieu à droite une zone en cuvette où tous les individus sont agrégés la tête en bas. Seule leur partie postérieure est visible. En bas à gauche la même structure est reproduite à moins forte densité. Quelques individus au jabot plein se déplacent en surface.

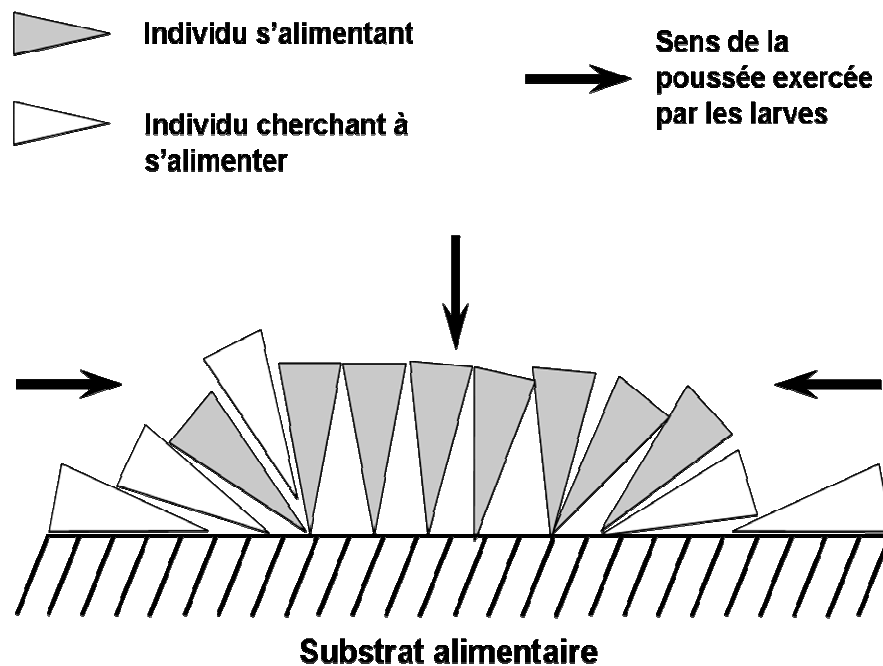


Figure 33

Interprétation de la structure « en hérisson » d'une masse de larves. Les premiers individus sont poussés par les nouveaux arrivants, qui cherchent à atteindre le centre de la masse. Cette poussée soulève la partie postérieure des larves tandis que les crochets buccaux les maintiennent ancrées dans le substrat.

G.2.b. Enregistrements de température en conditions contrôlées

Afin de vérifier le lien entre les variations de température observées au sein d'une masse de larves et la structure de celle-ci, des expériences plus spécifiques ont été réalisées. Après une heure de jeûne, deux mêmes masses (500g) de larves de *P. terraenovae* au troisième stade ont été respectivement placées dans 2 enceintes identiques contenant chacune un enregistreur de température (I-button®, Maxim-Dallas, $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Les individus du bac numéro un étaient privés de nourriture, tandis que 500g de viande étaient placés dans le bac numéro deux. On observe chez les larves ne disposant pas de nourriture un faible dégagement de chaleur en début d'expérience, imputable à un temps de jeûne insuffisant, et qui disparaît rapidement tandis que la température finit par tendre vers celle de l'extérieur (figure 34). En revanche, les individus disposant de nourriture provoquent une forte augmentation de chaleur, la température maximale atteinte (32°C) étant de 12°C supérieure à la température extérieure et de 7°C supérieure à celle des larves à jeun.

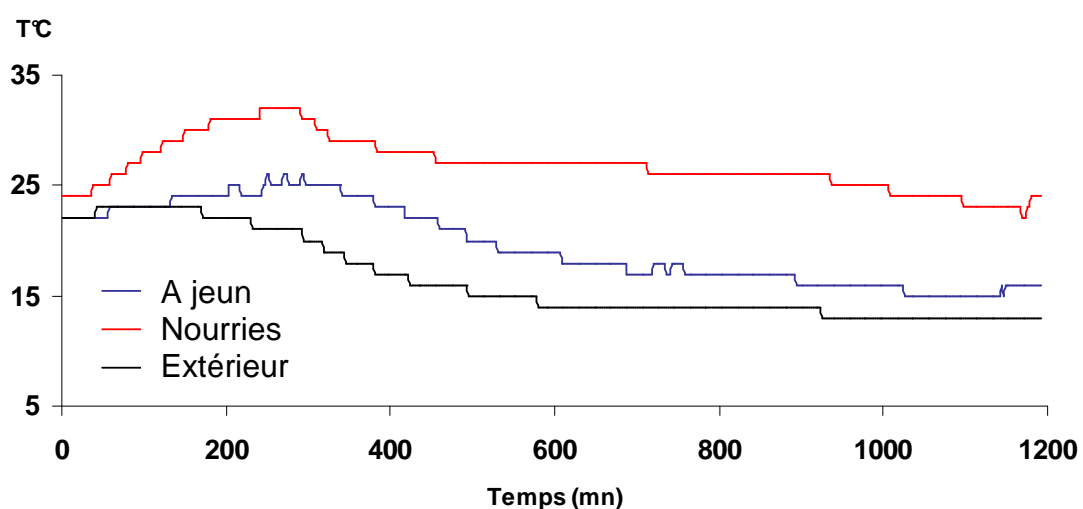


Figure 34

Evolution de la température d'une masse de 500g de larves au troisième stade (*P. terraenovae*) en présence de nourriture (rouge) et à jeun (bleu).

Ces observations impliquent que l'émission de chaleur est dépendante de la présence de nourriture. Il est très probable qu'elle soit due au métabolisme digestif des larves. Cependant, il est également possible que la chaleur soit émise par l'activité musculaire des larves cherchant à se nourrir. Dans les deux cas, il semble que les individus s'alimentant contribuent en majeure partie au réchauffement de la masse, car ils sont immobiles et condensent donc localement le dégagement de chaleur.

De plus, nos observations indiquent une relation entre la température de la masse et la température extérieure. Déjà mentionné par Slone & Gruner (2007) chez les petites masses de larves, ce résultat n'est *a priori* pas surprenant et indique une dépendance du métabolisme des larves à la température de l'environnement (Hanski 1976, 1977). En dessous de 5 à 10°C, l'activité des larves est réduite, allant même jusqu'à la diapause dans certaines circonstances (*cf.* I.A.3.a.). Lorsque la température augmente, les individus sont plus actifs et dégagent ainsi plus de chaleur. En revanche, passé un certain optimum thermique, l'activité décroît de nouveau et des mécanismes comportementaux permettent de revenir à de meilleures conditions. On observe par exemple, lorsqu'on augmente localement la température du milieu, que les individus se déplacent de la zone la plus chaude vers sa périphérie (observations personnelles). Ce comportement d'auto-régulation permet un contrôle efficace de la température globale, et illustre là encore les mécanismes d'auto-organisation à l'origine de la structure des masses de larves.

Les observations réalisées permettent de préciser les conditions expérimentales à respecter pour caractériser le phénomène. L'objectif des mesures réalisées étant d'obtenir une relation liant l'augmentation de température (DT) à la masse de larves et à la température de l'environnement, toutes les autres interactions possibles doivent

être évitées. Au regard des résultats précédents, il apparaît clairement que l'utilisation d'un calorimètre biaise les résultats en limitant le déplacement des individus. Il provoque de plus un effet d'auto-amplification résultant de l'augmentation artificielle de la température à l'extérieur de la masse. Les résultats initiaux obtenus selon cette méthode (Charabidze *et al.* 2007) sont donc biaisés et inexploitable.

Afin de répondre à ces contraintes, un nouveau protocole de mesure a été développé. Les larves de *P. terraenovae*, obtenues comme précédemment, sont laissées à jeûner à la température expérimentale choisie durant cinq heures avant le début de chaque expérience, afin de synchroniser l'état digestif des individus. Les larves sont pesées puis déposées dans un bac de 40x60x10 cm non couvert et rempli de copeaux de bois (pin) humidifiés sur 3cm de hauteur. Un morceau de cœur de bœuf de même masse que les larves, équipé de deux enregistreurs de température (I-button[®], Maxim-Dallas, $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) solidement fixés à celui-ci, est déposé à l'intérieur du bac. L'ensemble est placé dans une enceinte thermostatée programmée à température constante (Aqualitic[®], Bioblock Scientific) et équipée d'un enregistreur témoin. Les enregistreurs relèvent la température toutes les minutes durant toute la durée de l'expérience. Un échantillon de 3 grammes de larves est également prélevé, tué par ébullition puis compté afin d'établir une relation entre la masse de larves et le nombre d'individus. Les enregistrements débutent à 17h et sont arrêtés le lendemain matin à 10h. La température maximale enregistrée au sein de la masse est ensuite comparée à la température témoin afin de déterminer l'écart de température maximal (noté par la suite DT). Le même protocole est employé avec les stades larvaires deux et trois. On mesure donc uniquement la chaleur maximale dégagée par une masse de larves en train de s'alimenter dans un milieu à température constante. Cent cinq enregistrements ont été effectués. Les masses de larves testées vont de 1g à 300g

sur une plage de température ambiante allant de 12°C à 36°C. Les lourdes contraintes techniques liées à l'élevage et à la manipulation de telles quantités de larves ont limité le nombre de mesures réalisables.

En premier lieu, les résultats expérimentaux confirment la dépendance de la température maximale atteinte au sein de la masse à la quantité de larves présentes (Charabidze *et al.* 2008a). Pour les stades de développement étudiés et les différentes températures ambiantes testées, on observe que plus la quantité de larves est importante, plus la chaleur dégagée par celle-ci est élevée. Cette relation est illustrée sur la figure 35. L'écart de température maximal est de 15,5°C et a été enregistré pour une masse de 160g de larves de troisième stade. Dans de nombreux cas, la température enregistrée par la sonde au sein des larves reste constante et identique à celle du milieu. C'est notamment le cas pour de très petites masses ou pour les insectes placés à température extrême. Lorsqu'un dégagement de chaleur est enregistré, la cinétique d'apparition est sensiblement identique pour tous les enregistrements. Après une première période d'habituatation, une masse de larves se forme au niveau de la viande et la température commence à augmenter. Le maximum est généralement atteint entre cinq et dix heures après le début de l'expérience. La température se stabilise alors durant quelques heures, puis décroît de nouveau lorsque la nourriture vient à manquer. Les résultats confirment également que la température extérieure joue un rôle prépondérant sur le dégagement de chaleur par les larves. En effet, indépendamment de la masse, on observe que l'augmentation de température locale est globalement plus importante entre 25°C et 30°C que lorsque l'environnement est froid (inférieur à 20°C) ou trop chaud (supérieur à 32°C) (figure 36).

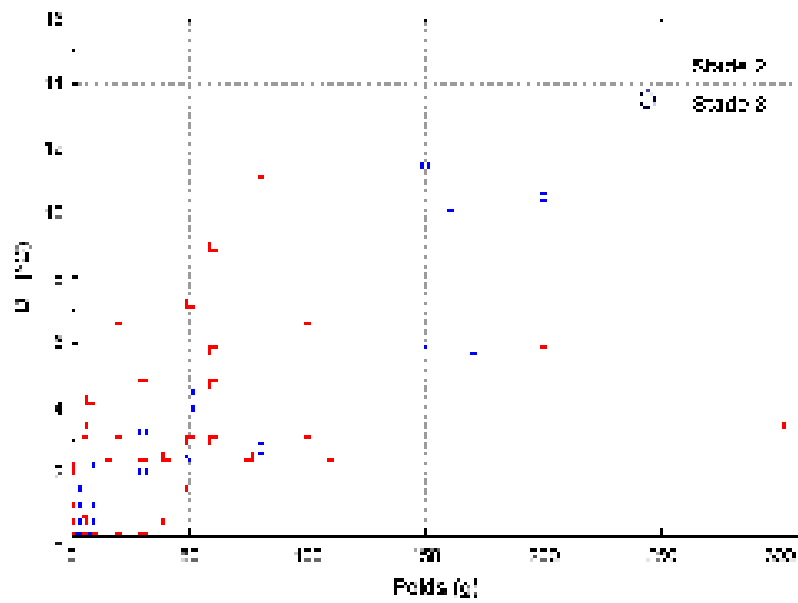


Figure 35

Augmentations de température maximales enregistrées au sein d'agrégats larvaires à différentes températures (non représenté).

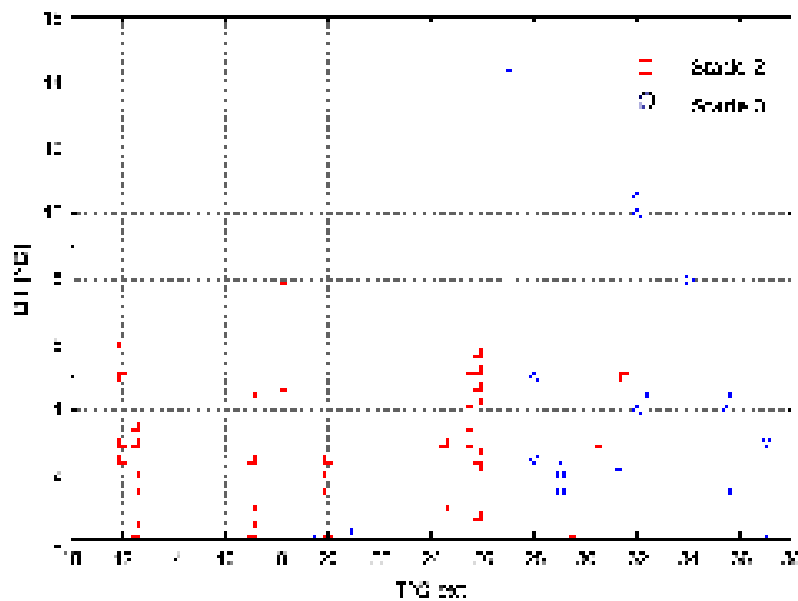


Figure 36

Augmentations de température maximales enregistrées au sein de masses de larves de différentes masses (non représenté).

En présence de nourriture, la combinaison de ces deux facteurs (masse de larves et température ambiante) semble donc déterminer la quantité de chaleur générée par la masse de larves. Malheureusement, une très forte variabilité entache ces données, et des expériences complémentaires seraient nécessaires pour établir avec précision la relation mathématique liant la température au sein de l'agrégat à la quantité de larves et à la température de l'environnement. On peut cependant, grâce à l'utilisation d'une surface de réponse[#], observer l'allure de cette relation (figure 37).

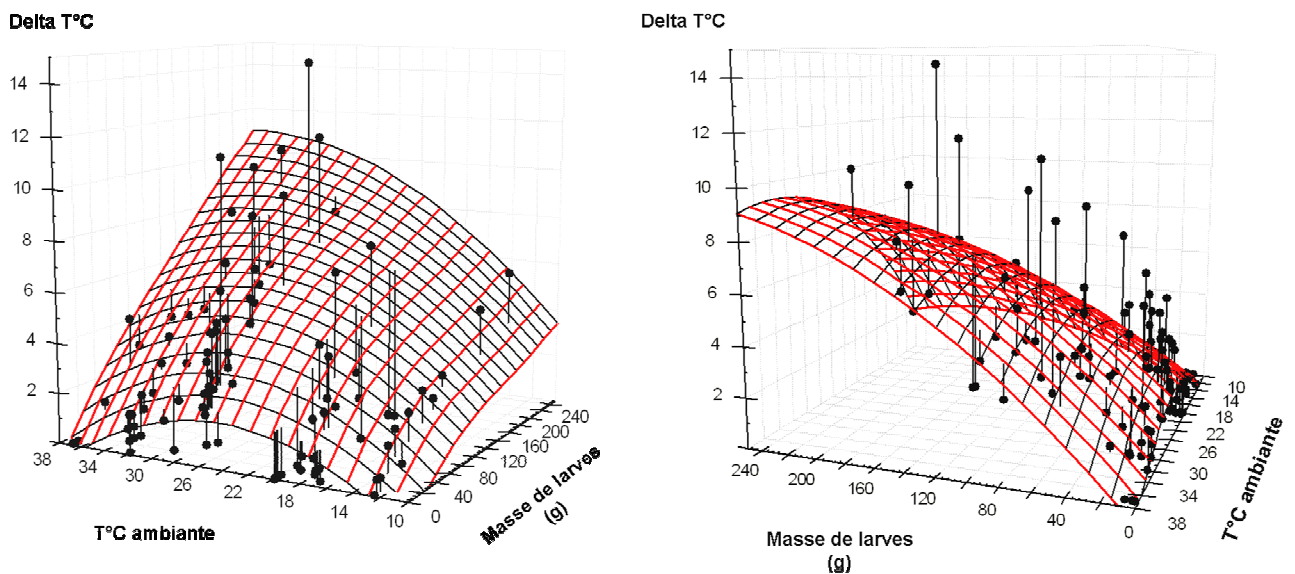


Figure 37

Représentation en trois dimensions de la température maximale enregistrée au sein d'un agrégat de larves en fonction de sa masse et de la température ambiante (points). Une surface de réponse a été ajoutée pour faciliter la visualisation.

Cette représentation permet d'observer l'existence d'un optimum thermique maximisant le dégagement de chaleur par les larves. Il peut ici être estimé à environ 26°C. Passé cet optimum, le stress thermique imposé aux individus freine le processus de dégagement de chaleur. Il existe également une température maximale au-delà de

[#] Extrapolation par déformation d'un plan afin de l'ajuster à une série de données.

laquelle les larves fuient le milieu. Ce comportement de thermo-régulation conduit, dans certains cas, au développement d'une cinétique d'auto-régulation. On remarque en effet sur plusieurs enregistrements expérimentaux que, lorsque la température au sein de la masse atteint environ 35°C, un mécanisme de régulation thermique se met en place (figure 38). La fuite locale des individus se traduit alors par une variation cyclique de la température de la masse autour d'une valeur moyenne. Bien qu'aucune observation comportementale n'ait pu être réalisée, il est fort probable que ces fluctuations soient dues à un éloignement temporaire des individus, qui rejoignent de nouveau l'agrégat lorsque sa température a suffisamment baissé. L'amplitude des oscillations observées ici est de 3°C et leur période d'environ 70 minutes.

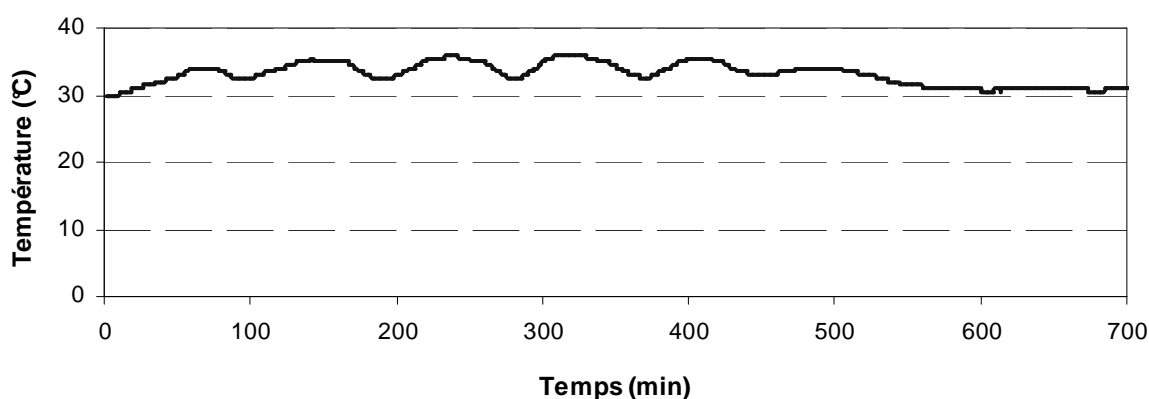


Figure 38

Cinétique thermique enregistrée au sein d'une masse de 200g de larves de second stade de *P. terraenovae* placée à 30°C en présence de nourriture.

G.3. Discussion

Bien que largement décrit et employé dans le cadre de l'entomologie médico-légale, le phénomène d'augmentation de température au sein des masses de larves demeure particulièrement mal connu. Si les observations attestent de la fréquence du phénomène et de l'importance des températures engendrées, peu d'études en

conditions contrôlées ont été réalisées. De même, la structuration des masses de larves n'a jamais été étudiée de manière approfondie. Les résultats présentés ici permettent de mieux comprendre l'influence du comportement des larves sur la structure des masses et de mettre en évidence la cinétique du dégagement de chaleur enregistré au sein de celles-ci.

La formation des masses de larves est généralement considérée comme facilitant le développement des individus en augmentant localement la température de l'environnement et en favorisant l'alimentation (Baxter & Morisson 1983). Cependant, l'accroissement de la densité locale engendrée par le grégarisme peut conduire à l'apparition d'une forte compétition pour l'accès à la nourriture (*cf.* I.A.3.c.). En conditions expérimentales, cette surpopulation limite le développement des insectes et engendre une mortalité importante (De Jong 1976, Godoy et al. 1996, Dos Reis et al. 1999). Certaines expériences tendent même à démontrer une préférence des larves de premier stade pour l'agrégation, au détriment de la recherche de nourriture (Liu & Oflaherty 2006, Maddox *et al.* 2006). En revanche, en conditions naturelles, une régulation comportementale semble limiter l'apparition des problèmes liés au grégarisme.

La conséquence la plus directe de la formation de masses de larves est l'augmentation locale de la température. Ce facteur est de toute première importance dans le cadre de l'entomologie médico-légale, car il peut entraîner une vitesse de développement accrue, et donc biaiser l'estimation de l'intervalle *post mortem*. Les premières expériences réalisées afin de caractériser le dégagement de chaleur engendré par les masses de larves indiquent une relation liant la température de l'agrégat à sa masse.

Cependant, les observations comportementales viennent nuancer ces résultats préliminaires. S'il paraît indéniable que la quantité de larves au sein de la masse influe sur sa température interne, d'autres paramètres interviennent. En premier lieu, nos expériences mettent en évidence une probable origine métabolique de la chaleur dégagée par les larves. En effet, en l'absence de nourriture, l'augmentation locale de température est moindre. Cette observation suggère une implication du métabolisme digestif dans le processus de dégagement de chaleur. Il n'est cependant pas possible à l'heure actuelle d'exclure une contribution du dégagement thermique lié à l'activité musculaire. La température du milieu est également impliquée dans l'émergence du phénomène. Lorsqu'il fait trop froid ou trop chaud, le métabolisme des larves est peu actif et celles-ci dégagent donc peu de chaleur. En revanche, dans la plage de température allant d'environ vingt à trente degrés, les processus métaboliques sont en conditions optimales et la chaleur dégagée est importante. Cette réponse non-linéaire du métabolisme est connue pour de nombreux processus physiologiques mais décrite pour la première fois dans ce contexte.

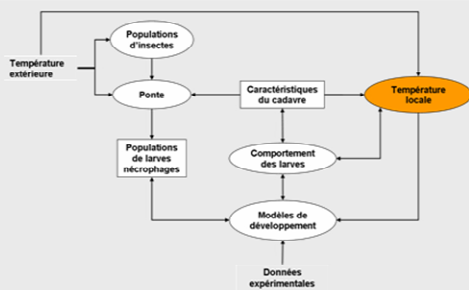
De plus, l'existence de zones thermiques distinctes au sein des masses de larves indique une structuration sous-jacente. L'observation en milieu naturel révèle la présence de zones foncées, correspondant à des larves en phase de digestion, et de zones claires. Ces dernières sont constituées d'insectes ayant épuisé leurs réserves et cherchant à s'alimenter. Enfin, une partie des individus restent immobiles et agrégés de manière particulièrement dense tandis qu'ils s'alimentent. Un turn-over permanent entre ces différentes fractions engendre une régulation de la température et permet la gestion des ressources par la masse. Cette optimisation spatio-temporelle de la nourriture et de la température interne de la masse est une conséquence directe du comportement grégaire des insectes, et traduit un phénomène d'auto-organisation.

Des expériences complémentaires seront nécessaires pour confirmer cette analyse. Bien que le comportement grégaire soit clairement observé, la nature du signal à l'origine du regroupement des individus reste à définir. Il est très probable que le thigmotactisme interindividuel ainsi qu'un marquage olfactif soient impliqués, mais ces signaux n'ont pour le moment pas été mis en évidence. De même, la corrélation entre le niveau de remplissage du jabot et le comportement des larves n'a pas encore été clairement démontrée. Néanmoins, les observations réalisées ainsi que les données obtenues en conditions contrôlées permettent d'ores et déjà de mieux comprendre la structure des masses de larves et l'augmentation locale de température observée au sein de celles-ci.

L'étude des masses de larves a permis de démontrer :

- **que les agrégats sont constitués d'individus se nourrissant, d'individus en phase de digestion et de larves cherchant à accéder à la nourriture,**
- **que ces différentes fractions de populations occupent une répartition précise au sein de la masse,**
- **que cette structuration engendre des zones de températures différentes,**
- **que l'augmentation de température est réduite en l'absence de nourriture,**
- **que le dégagement de chaleur est dépendant de la quantité de larves,**
- **que la température extérieure influe sur la chaleur émise par les larves.**

Conjointement, ces résultats démontrent l'existence d'une auto-organisation au sein des masses de larves permettant une régulation de la température et une gestion locale des ressources alimentaires.



Température locale

H. Inertie thermique d'un cadavre

« Si le chat n'est plus sur mémé, c'est qu'elle doit être froide. »

P. Desproges, Manuel de savoir-vivre à l'usage des rustres et des malpolis.

H.1. Introduction

H.1.a. Importance de la température du corps en médecine légale

La détermination de l'intervalle *post mortem* (IPM) est une étape clef de l'expertise médico-légale. Quotidiennement, les praticiens sont amenés à estimer l'horaire ou la date de la mort lors des levées de corps : leurs conclusions sont fondamentales sur le plan judiciaire. Elles peuvent entraîner la mise en examen d'un individu ou au contraire conforter un témoignage. Pour répondre au mieux à cette question majeure, les praticiens ont à leur disposition différentes techniques et méthodes d'expertise. Certaines sont qualitatives, comme la méthode de Vibert (Vibert 1890), et d'autres quantitatives, comme le nomogramme de Henssge (Henssge 1988, 1992, Henssge & Madea 2004). Cependant, aucune d'entre elles n'est totalement satisfaisante et la plupart des médecins légistes savent que les délais établis sont approximatifs.

Cette imprécision tient à la fois à la nature empirique des travaux qui ont permis leur mise au point et à la complexité intrinsèque du sujet. La datation du décès repose en effet sur l'évolution des processus *post mortem* (précoces ou tardifs), eux-mêmes dépendants de l'environnement et des caractéristiques propres au cadavre (cf. I.B.1.a.). La température rectale reste le critère le plus utilisé pour estimer l'heure de la mort. La cinétique de refroidissement d'un corps est en effet bien connue et a fait l'objet de nombreuses études détaillées (Marshall & Hoare 1962, Henssge 1988, 1992, Henssge & Madea 2004, Mall & Eisenmenger 2005). La modélisation mathématique du phénomène s'appuie sur un système d'équations issu de la loi de refroidissement de Newton, qui stipule que le taux de perte de chaleur d'un corps est proportionnel à la différence entre sa température et celle du milieu. L'utilisation de cette relation permet d'appliquer un raisonnement rétrodictif pour dater le décès. Il est ainsi possible, à partir de la température courante du corps et de la température de son environnement, de déterminer depuis combien de temps il refroidit. Cette technique permet d'estimer le moment du décès avec une précision de quelques heures, et ce durant les trois premiers jours consécutifs au décès. Cependant, cette modélisation n'est valide que dans le cas d'un environnement à température constante. Lorsque la température extérieure varie, elle devient inopérante. Il est alors commun de se référer à la température moyenne, ou d'utiliser les valeurs maximales et minimales pour estimer un intervalle, mais ces approximations engendrent un risque d'erreur important.

Dans le cadre de l'entomologie médico-légale, la température corporelle est très rarement mentionnée. Elle est généralement considérée comme négligeable au regard des autres facteurs déterminant la vitesse de développement des insectes (température extérieure, dégagement de chaleur par les masses de larves, microclimat). Cependant, dans le cas d'un intervalle *post mortem* très court,

notamment lorsque l'estimation de l'IPM se fait sur la base d'œufs (Bourel *et al.* 2003), l'évolution de la température corporelle après le décès ne peut être écartée, d'autant que le comportement des larves les pousse à coloniser en premier lieu les cavités naturelles. Indépendamment de sa température initiale, le corps humain, comme tout objet physique, possède une certaine inertie thermique (figure 39). Même plusieurs semaines après le décès, la température interne d'un cadavre n'est pas nécessairement identique à celle de son environnement : lorsque la température extérieure varie, il faut un certain délai pour que cette variation se transmette à l'ensemble du cadavre. Les variations du milieu sont alors amorties par l'inertie thermique du corps. Il apparaît en conséquence que la température ressentie par les larves se développant à l'intérieur des cavités naturelles et des tissus est celle de leur environnement immédiat et non la température extérieure.

De plus, la formation de masses de plusieurs milliers d'individus s'accompagne fréquemment d'une augmentation locale de température (*cf.* II.G.). Sa quantification s'avère délicate, le phénomène étant à la fois dépendant des larves présentes mais également des caractéristiques thermiques de leur environnement immédiat. En effet, la température émise par les insectes va se diffuser dans les tissus proches et ainsi créer une zone chaude. Plus l'inertie thermique de la zone sera importante, plus la masse bénéficiera de son propre dégagement de chaleur. En revanche, pour une masse située en surface, la majeure partie de la chaleur émise sera dissipée dans l'air. Il semble donc fondamental de disposer de données précises sur l'environnement d'une masse de larves pour pouvoir estimer l'évolution de sa température.

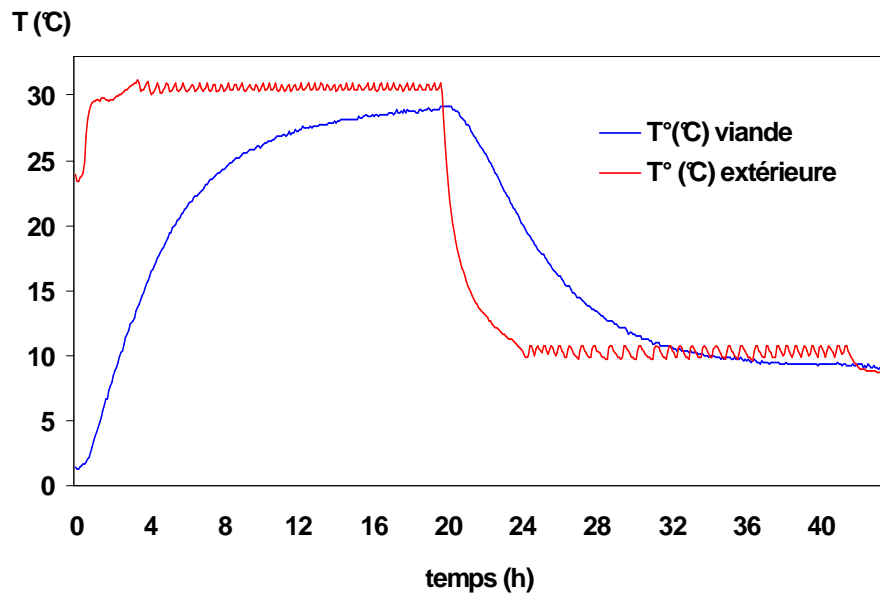


Figure 39

Evolution de la température interne d'une cuisse de porc de 5kg en réponse à une variation de la température extérieure.

H.1.b. Modèles thermiques

Le modèle mathématique le plus fréquemment utilisé a été établi par Henssge d'après une série de mesures réalisées sur 39 cadavres humains (Henssge 1988). Une fonction bi-exponentielle est utilisée pour décrire l'évolution de la température rectale entre le moment du décès et sa stabilisation sur la température de l'environnement. Elle dépend seulement de deux paramètres d'entrée, la masse du corps et la température extérieure, selon la formule :

$$\frac{(Tr - Ta)}{(37.2 - Ta)} = 1.25 * \exp(k*t) - 0.25 * \exp(5*k*t)$$

Où T_r est la température rectale mesurée au moment de la découverte du corps (en °C), T_a : la température ambiante moyenne (en °C) et t : le temps écoulé depuis la mort. Le coefficient de refroidissement du corps k est calculé selon la formule :

$$k = -1.2815 * [(F * M)^{-0.625}] + 0.0284$$

M étant la masse du corps (en Kg) et F le facteur correcteur de la masse du corps. Ce facteur F permet la prise en compte de certains cas particuliers et reflète la dissipation thermique provoquée par l'environnement immédiat du cadavre. Plus F est petit, plus le corps se refroidira vite. A l'inverse, plus F est grand, plus le corps aura une forte inertie thermique (Henssge 1992). Il est ainsi égal à 1 lorsque le corps est retrouvé nu, à l'air libre et en absence de vent (conditions « standard »). Il sera égal à 0,35 dans le cas d'un corps nu flottant dans l'eau (forte convection thermique). Au contraire, un cadavre habillé et allongé sous d'épaisses couvertures sera affecté d'un facteur de correction de 2,4 (fort pouvoir isolant).

Très utilisé en raison de sa simplicité d'application et de la prise en compte des cas particuliers, le modèle thermique développé par Henssge présente un certain nombre de limites. Outre sa gamme de validité assez restreinte (de 50kg à 80kg, température constante) et l'absence de certains paramètres (taille et position du corps), son application est limitée au calcul de la température rectale pendant la phase de décroissance thermique. Il ne permet donc pas d'estimer la température d'un autre point du corps, et ne peut plus être employé passé quelques jours après le décès.

En réponse à ces manques, un modèle basé sur les lois physiques de transferts thermiques a été développé par Mall (Mall & Eisenmenger 2005). Développée sur le principe des éléments finis, cette technique fournit une approximation de la température d'un corps en subdivisant le volume de celui-ci en infimes éléments géométriques. Chacun évolue selon une série de lois thermiques. Les transferts de

chaleur sont divisés en trois types distincts, chacun régi par des équations qui lui sont propres. La conduction concerne le transfert de proche en proche dans les solides, la convection est utilisée pour les fluides et le rayonnement thermique pour les transmissions sans contact. Cette approche basée sur une modélisation des flux de chaleur repose donc uniquement sur des lois physiques avérées et permet de connaître par interpolation la température en tout point du corps. Elle devrait de plus permettre l'intégration de températures extérieures variables. Cependant, il s'agit d'un travail réalisé dans une optique commerciale, et pour lequel toutes les données d'ajustement ne sont pas disponibles. De plus, le niveau de précision du modèle requiert une parfaite connaissance de l'environnement du corps, notamment concernant les transferts par radiation, très difficile à obtenir en pratique. Enfin, les temps de calculs informatiques liés à cette méthode sont particulièrement importants.

Les deux approches présentées reflètent les avantages et limites des modèles existants. Si les modèles empiriques ont l'avantage de décrire simplement des situations observées, leur portée est limitée au cadre expérimental ayant permis leur conception. Les modèles théoriques basés sur les lois thermiques présentent en revanche une grande robustesse et sont aisément généralisables, mais perdent en simplicité d'utilisation et nécessitent d'être validés expérimentalement.

Afin de répondre aux besoins spécifiques du modèle entomologique développé dans le cadre de cette thèse, une nouvelle approche de modélisation du comportement thermique des cadavres a été développée (Veremme *et al.* 2008a). Cette modélisation se base sur le concept des automates cellulaires, c'est-à-dire l'assimilation du cadavre à un *continuum* de zones homogènes ayant chacune un comportement thermique propre.

H.2. Modélisation de l'inertie thermique d'un cadavre

H.2.a. Principe des automates cellulaires

Un réseau d'automates cellulaires peut être vu comme une grille où chacune des cellules peut adopter, à un instant donné, un état dépendant de ses caractéristiques propres et de celles de son voisinage. Le temps et l'espace étant discrétisés, l'état d'une cellule au temps t dépendra en fait de celui de son voisinage au temps $t-1$. À chaque nouvelle unité de temps, les mêmes règles sont appliquées pour toutes les cellules de la grille, produisant une nouvelle génération de cellules entièrement dépendante de la génération précédente. Le premier automate cellulaire est apparu sous la forme du « Jeu de la Vie », de John Horton Conway (Gardner 1970). Ce modèle comprend des cellules pouvant adopter deux états distincts : allumé ou éteint. Les règles de propagation sont simples. Une cellule inactive entourée de 3 cellules actives devient active et le reste tant qu'elle est entourée d'au moins 2 cellules actives. Dans tous les autres cas, la cellule « meurt » ou reste inactive.

Au final, une infinité d'évolutions sont possibles, certains motifs récurrents ou périodiques apparaissant spontanément. Le jeu de la vie n'est cependant qu'un type d'automate cellulaire parmi une infinité : en jouant sur les règles de transition et les caractéristiques des cellules, on peut ainsi modéliser des systèmes réels. A partir de structures simples telles que les automates cellulaires, il est possible de modéliser le comportement thermique d'un corps humain. Il suffit pour cela de définir la température comme propriété dynamique des cellules de l'automate et de déterminer les règles de propagation de la chaleur, ici basées sur les lois thermiques.

H.2. b. Modélisation du corps humain

Pour pouvoir modéliser l'évolution de la température d'un corps, il est en premier lieu nécessaire de définir ses caractéristiques. Afin de rester dans un modèle en deux dimensions, une coupe longitudinale permettant de représenter la température de l'ensemble du corps a été retenue. Les proportions ont été définies en accord avec la littérature : plusieurs travaux portent sur les proportions d'un humain, le plus connu étant l'Homme de Vitruve de Léonard de Vinci. D'autres études plus récentes considèrent la taille de la tête comme référentiel : ce sont ces proportions qui ont été appliquées pour déterminer la structure de la grille d'automates (Villemin 2006). Le corps a été modélisé en respectant ces proportions, le nombre de cellules (chacune mesurant 4cmx4cm) variant selon la taille du corps. Les proportions des différents tissus ont été affectées d'après la littérature comme suit :

- masse musculaire : 35 % de la masse corporelle,
- masse grasse : 15%,
- masse viscérale : 25%,
- masse osseuse : 15%,
- peau : 7 %,
- cerveau : 3%.

Les cellules du corps peuvent donc être de différents types : muscle, cerveau, organe, peau, etc. Elles sont définies par des caractéristiques physiques statiques (*i.e* fixées) comme la masse, la taille et la chaleur massique. Ce dernier paramètre est spécifique au type de tissus et rend compte de l'inertie thermique de la cellule. Les constantes ont été déterminées d'après les valeurs publiées par Werner & Buse

(1988). Pour un corps nu, la température est initialisée au moment du décès à 27°C au niveau de la surface de la peau et des extrémités, à 37.2°C au centre du tronc, 35°C pour les muscles et 36.5°C pour le cerveau (Henssge 1988).

Les cellules de l'environnement ont été définies selon deux types : fluide ou solide. Ces deux sous-familles permettent de modéliser des cellules de l'air et du sol. La température d'une cellule de l'environnement, quelle qu'elle soit, peut être fixe (simulation à température ambiante stable) ou dynamique (température ambiante variable).

H.2.c. Règles de transfert thermique

Pour une cellule c en contact avec un fluide, nous pouvons grâce à la loi de Newton connaître l'évolution de sa température suite à un échange par convection :

$$T_c(t) = T_e + (T_c(0) - T_e) * \exp(-h*S*t)$$

Où T_c est la température de la cellule au temps t (les températures sont en °C), $T_c(0)$ sa température initiale, T_e la température de l'environnement de la cellule, h , le coefficient d'échange thermique ($W.m^{-2}.°C^{-1}$), S , la surface du corps en contact avec l'environnement (m^2) et t , le temps (s) [⊕].

[⊕] Le lecteur intéressé par le calcul des paramètres pourra se référer à Veremme *et al.*, 2008.

De la même manière, il est possible de déterminer l'évolution de la température d'une cellule c en contact avec un solide e grâce à l'équation de convection :

$$T_c(t) = T_e - (T_e - T_c(0)) * \exp(-t/k)$$

T_c étant la température de la cellule c , $T_c(0)$, sa température initiale, T_e la température de son environnement e , k le coefficient de conductivité ($\text{W.m}^{-1}.\text{C}^{-1}$) et t , le temps (s).

A partir de ces lois physiques, des règles de transition permettent de déterminer l'évolution de l'automate d'un instant t à $t+1$. Le transfert de chaleur par rayonnement n'a pas été intégré car il est le plus souvent négligeable (sauf fort ensoleillement) et nécessite des données très détaillées (intensité du rayonnement, angle d'incidence, etc.). La taille d'une cellule étant négligeable devant celle du corps, la température de chacune des cellules du corps et de l'environnement peut être calculée comme résultant de la moyenne des échanges thermiques réalisés avec son environnement immédiat (8 voisins). Ainsi, pour évoluer, à chaque unité de temps (ici une heure), chaque cellule du corps de l'automate devra :

- 1.** Parcourir l'ensemble des températures de ses voisins.
- 2.** Pour chacun des voisins, appliquer la loi thermique en fonction du type de ce dernier (fluide ou solide : convection ou conduction). Pour chaque échange, une cellule négligera les échanges de chaleur déjà réalisés avec ses autres voisins.
- 3.** Faire la moyenne des huit températures issues de l'échange avec ses 8 voisins, pour obtenir sa nouvelle température à l'instant $t+1$.

H.3. Validation expérimentale

H.3.a. Comparaison avec le modèle de référence

Afin de valider le comportement de l'automate cellulaire développé, une première comparaison avec le modèle de Henssge a été effectuée dans la plage de validité de celui-ci. La température rectale simulée par notre modèle est ainsi confrontée à celle prédite par l'équation de Henssge (Henssge 1988) dans le cas d'une température extérieure constante de 20°C. La différence maximale enregistrée entre les valeurs varie de -4% à +6% pour des corps allant de 50Kg à 80Kg, ce qui correspond à un écart maximum de moins de 2°C. Cette première comparaison ne suffit pas à valider les prédictions de l'automate cellulaire, mais permet d'affirmer que celui-ci est au moins aussi précis que le modèle le plus fréquemment utilisé (équation de Henssge).

H.3.b. Simulation de la température interne d'un cadavre de porc

Une seconde validation a été apportée par des mesures effectuées en conditions semi-contrôlées et à température variable sur un cadavre de porc (*Sus scrofa domesticus*). Le cadavre d'un jeune mâle de 30,5kg (euthanasié dans le cadre d'un projet de recherche médicale) a été équipé d'une sonde thermique (Testo[®] 645, $\pm 0,1^\circ\text{C}$) insérée au niveau rectal. Une sonde témoin (Testo[®] 645, $\pm 0,1^\circ\text{C}$), placée à 10 cm du cadavre, a été utilisée pour enregistrer la température ambiante toutes les minutes. Le cadavre a été déposé dans une vaste pièce non meublée et non chauffée. Les fenêtres étaient ouvertes et équipées de moustiquaires pour empêcher toute colonisation par les insectes nécrophages. Les enregistrements ont débuté le

04/04/2007 et ont été stoppés le 10/04/2007. Les données enregistrées par la sonde témoin (température ambiante) ont ensuite été utilisées pour réaliser une simulation de l'évolution de la température rectale d'un cadavre placé à température variable. En raison de la morphologie du cadavre étudié, la structure de l'automate cellulaire a été modifiée sous la forme d'un rectangle de dimensions équivalentes à celles du cadavre de porc.

La confrontation des mesures expérimentales et des températures simulées indique une excellente concordance des deux jeux de données (test de corrélation de Pearson, $\alpha = 0,01$) (figure 40), l'écart maximum enregistré entre les températures prédites et observées étant de 1,5°C. On observe suite à la phase de décroissance initiale de la température interne que celle-ci reste sensiblement constante et comprise entre 15°C et 20°C, tandis que la température ambiante varie très fortement. On peut également noter que conjointement à cet effet d'amortissement, l'inertie thermique du cadavre engendre une réponse décalée dans le temps. Il faut ainsi plusieurs heures pour qu'une modification de la température environnementale se répercute avec une intensité amoindrie au sein des tissus.

Ces résultats confirment la validité prédictive du modèle développé, bien que des expériences complémentaires, notamment sur des cadavres humains, soient nécessaires pour attester de sa validité. Les enregistrements réalisés soulignent également l'erreur pouvant résulter de l'utilisation de températures ambiantes pour estimer l'âge d'insectes s'étant développés à l'intérieur d'un corps.

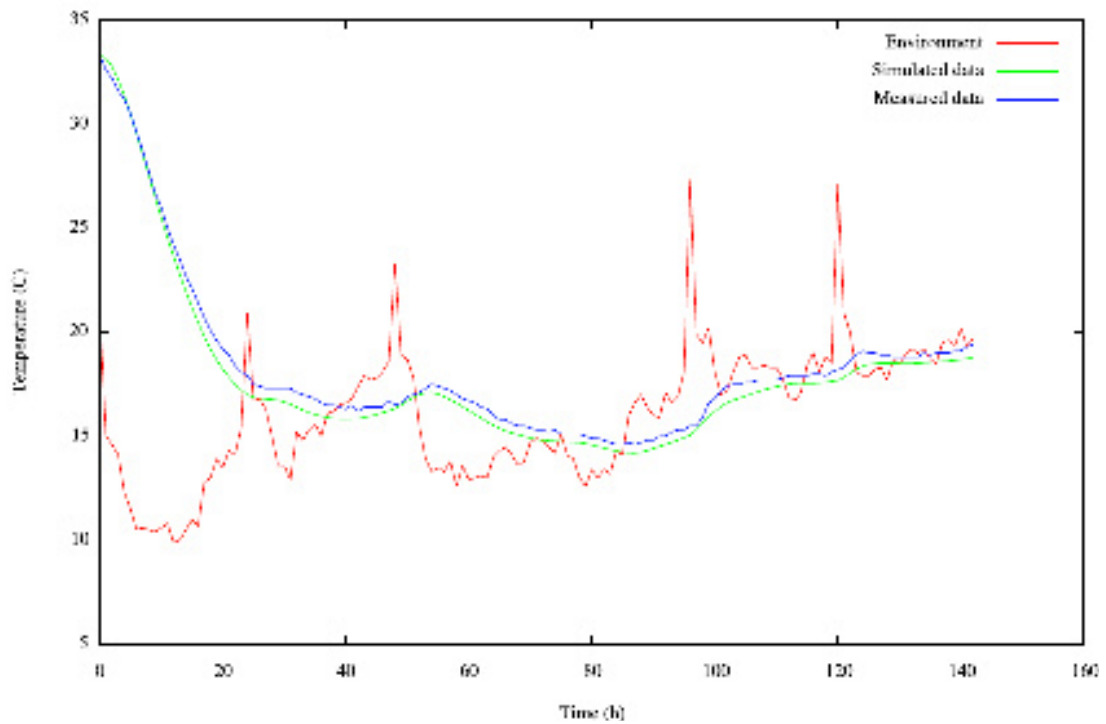


Figure 40

Evolution de la température rectale enregistrée et simulée d'un cadavre de porc de 30,5kg placé à température ambiante variable.

H.4. Comparaisons *in silico*

Sur la base de ces premières validations théoriques et expérimentales, des simulations ont été réalisées afin de tester la validité du modèle de Henssge en conditions de température variable. En effet, bien que ce modèle soit initialement destiné à des températures constantes, il n'est pas rare qu'il soit employé sur des corps placés à température ambiante variable. Dans une étude datée de 1999, Athaus & Henssge proposent une méthodologie permettant d'intégrer l'existence de fortes baisses de la température ambiante dans le calcul de l'IPM (Althaus & Henssge 1999). Les auteurs indiquent également qu'en cas de variation progressive, la température

moyenne peut être utilisée « dans la majorité des cas ». En revanche, l'étude conclut à l'impossibilité d'intégrer à l'analyse l'effet d'une augmentation brutale de température.

Afin de vérifier ces assertions, des simulations de l'évolution de la température rectale d'un cadavre humain (1,70m pour 70kg) placé à température variable ont été réalisées. Deux régimes ont été testés : un régime cyclique court oscillant sur une période de deux heures et un régime cyclique long oscillant sur une période de vingt-quatre heures. Le premier correspond se rapproche du cas d'un corps retrouvé en intérieur en présence d'un système de climatisation thermostaté, le second à celui d'un cadavre situé en extérieur et subissant les variations thermiques nyctémérales. Dans les deux cas, la température moyenne a été fixée à 20°C. Cette valeur est utilisée pour simuler l'évolution du système sur la base du modèle de Henssge.

De fortes divergences entre les prédictions obtenues sur la base de la moyenne (modèle de Henssge) et celles simulées à partir des régimes de températures cycliques (automate cellulaire) sont observées. La figure 41 représente les résultats obtenus pour un cycle nyctéméral de 10°C d'amplitude. La simulation basée sur la température moyenne est efficace pendant les cinq premières heures suivant le décès, puis diffère significativement de l'évolution prédite par l'automate cellulaire. La différence maximale entre les deux modèles est de 3,5°C et est enregistrée 50h après le décès. Le même type de résultat est obtenu lorsqu'on considère une amplitude d'oscillation de seulement 4°C. Sur la base de la température moyenne, un écart maximum de 1,5°C est observé 50h environ après le décès. L'amplitude des oscillations semble donc influencer assez faiblement sur l'évolution de la température rectale.

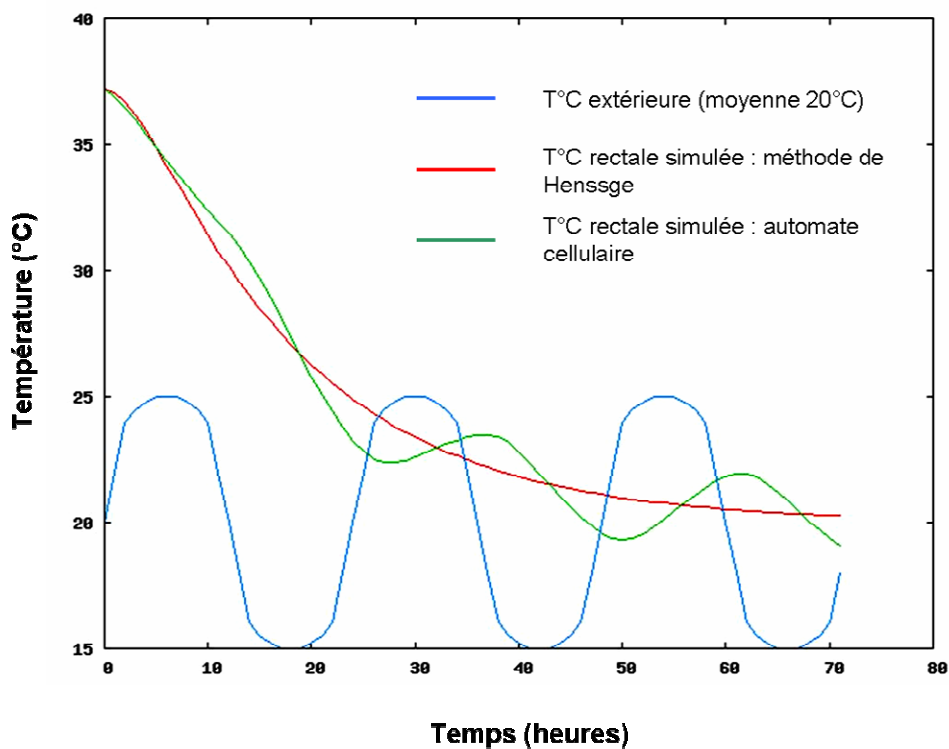


Figure 41

Simulation de la température rectale d'un cadavre humain (1,70m, 70kg) sous un régime de température cyclique (période 24h, amplitude 10°C, courbe bleue). La température estimée d'après le modèle de Henssge à partir de la température moyenne (20°C) est représentée en rouge, celle calculée par l'automate cellulaire à partir de la température cyclique est représentée en vert.

En revanche, dans le cas d'une température cyclique de fréquence élevée (période de 2h, amplitude de 4°C), aucune différence significative n'est observée entre les prédictions effectuées sur la base de la température moyenne (modèle de Henssge) et celles réalisées à partir des valeurs exactes de température (automate cellulaire). Ce résultat reste inchangé lorsque l'amplitude des oscillations monte à 10°C (figure 42).

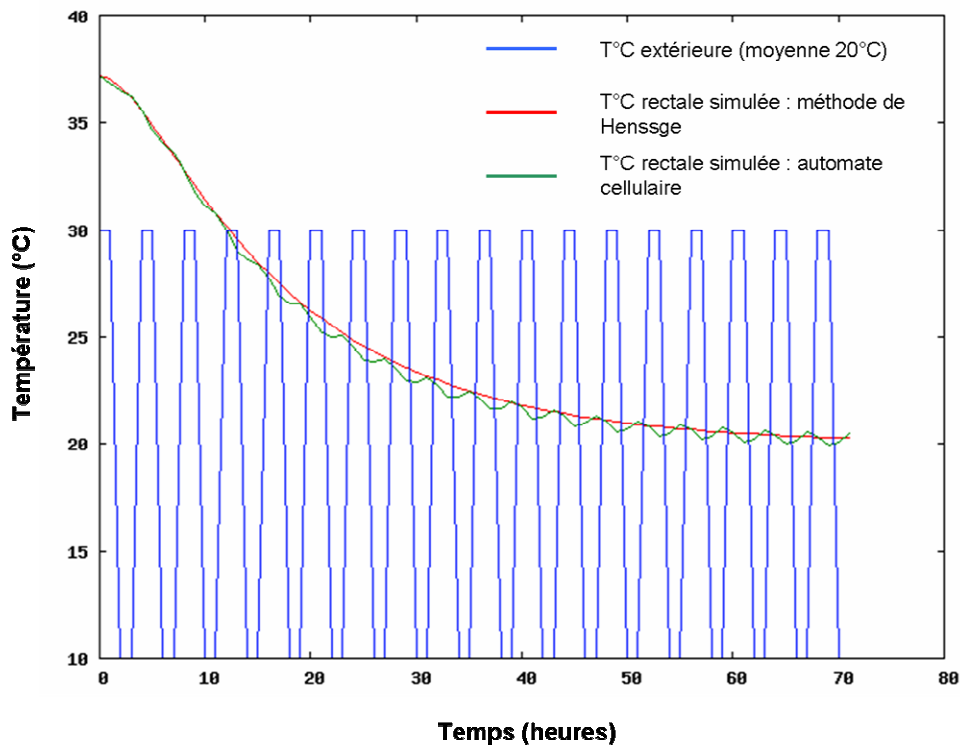


Figure 42

Identique à la figure 41 avec une période de 2h et une amplitude de 10°C

H.5. Discussion et conclusion

H.5.a. Validité et utilisation du modèle en médecine légale

Bien que le modèle n'ait pas été validé expérimentalement sur un cadavre humain, les premiers résultats obtenus confirment la qualité des simulations réalisées. La comparaison avec le modèle de Henssge indique des résultats statistiquement identiques dans le cas de corps placés à température constante. Ce premier test permet donc, bien qu'indirectement, de valider les prévisions fournies par l'automate cellulaire. La validation expérimentale réalisée avec un modèle animal (cadavre de porc) indique également une remarquable concordance des températures simulées et

enregistrées. Le modèle thermique développé est donc également valide lorsque la température extérieure varie.

Cet outil permet ainsi de prédire l'évolution de la température d'un corps en réponse aux variations de la température extérieure. Sur cette base, les prévisions du modèle ont été utilisées comme référence pour tester la validité de la formule de Henssge en conditions de température variable.

Deux régimes de température ont été testés : le premier correspond à un environnement extérieur présentant des variations thermiques sur une période d'oscillation de vingt-quatre heures. Le second simule la régulation (thermostat) d'un intérieur, caractérisée par des variations rapides de la température (période de deux heures). Ce dernier cas a été poussé à l'extrême, aucun thermostat d'appartement ne créant réellement des oscillations de 10°C d'amplitude !

Les résultats obtenus sous les deux régimes diffèrent fortement. Dans le cas de variations de la température sur une période de 24h, comme on peut l'observer en extérieur, l'utilisation d'une température moyenne et de la méthode de Henssge conduit à de très importantes erreurs d'estimation de l'IPM. Dans le premier cas étudié (température cyclant sur 24h, amplitude de 10°C), l'utilisation du nomogramme de Henssge sur la base de la température moyenne conduit à une surestimation de l'IPM d'environ vingt-cinq heures. Le même calcul réalisé cette fois en se référant à la température maximum (25°C) engendre une erreur d'environ trois jours dans l'estimation de l'IPM. En considérant la température minimum, l'erreur est de trente-deux heures. Pour les simulations effectuées avec une amplitude d'oscillation de seulement 4°C, une erreur d'une journée découle de l'emploi de la méthode de Henssge sur la base de la température moyenne.

Les résultats obtenus dans le cas du modèle « intérieur » sont très différents. La période de fluctuation de 2h, censée reproduire le comportement d'un système de climatisation thermostaté, n'entraîne pas d'erreur d'estimation de l'IPM. Même dans le cas d'une amplitude de 10°C, les prévisions du modèle de Henssge sont similaires à celles de l'automate cellulaire. L'inertie thermique du corps semble dans ce cas suffisante pour amortir les rapides variations de la température environnementale, et l'utilisation du nomogramme permet d'estimer l'IPM avec une précision satisfaisante ($\pm 1h$).

Conjointement, ces conclusions indiquent que la méthode de Henssge, basée sur la température moyenne de l'environnement, peut être utilisée dans les cas où la température ambiante varie sur un cycle rapide, mais qu'elle devient source d'erreur lorsque la température varie sur une période de 24h. Un écart de température de seulement 4°C entre le jour et la nuit suffit alors à fausser le calcul de l'IPM. Autrement dit, l'utilisation du nomogramme de Henssge sur la base de la température moyenne dans le cas d'un corps retrouvé en extérieur peut être une source d'erreur importante dans l'estimation de l'IPM.

H.5.b. Conséquences sur la vitesse de développement des insectes nécrophages

Le second point mis en lumière par ces expériences est l'existence d'une forte différence entre la température de l'environnement et celle enregistrée en différents points du cadavre. Bien que cette observation ne soit pas véritablement nouvelle, ce phénomène n'avait auparavant jamais été étudié dans le contexte de l'entomologie médico-légale.

Trois facteurs liés aux caractéristiques thermiques du cadavre peuvent influencer sur le temps de développement des insectes nécrophages : le dégagement de chaleur par le corps durant les premières heures consécutives au décès, l'amortissement des variations de la température de l'environnement et l'accumulation de la chaleur localement émise par les masses de larves.

Afin d'illustrer le premier point, il est intéressant de se référer à un cas concret. L'affaire présentée ici a été expertisée par le laboratoire d'entomologie médico-légale de Lille dans le cadre d'une enquête judiciaire ; pour des raisons évidentes de confidentialité, certaines informations du rapport d'analyse (Annexe 3) ont été masquées. L'expertise concerne des larves de diptères nécrophages prélevées sur le cadavre d'un jeune homme retrouvé nu dans un terrain vague. Bien que la température extérieure ait été particulièrement froide et le corps peu décomposé, les insectes prélevés étaient déjà bien développés. Après analyse, les individus les plus âgés ont été identifiés comme étant des larves de stade deux et trois de *Calliphora vicina*. La présence de cette espèce n'est en soit pas surprenante, l'activité des adultes ayant déjà été observée pour des températures ambiantes d'environ 5°C (Wyss *et al.* 2003). En revanche, le stade avancé de développement des larves semble *a priori* difficilement compatible avec la température extérieure et la date de disparition de la victime. Afin de pouvoir estimer précisément l'âge des larves récoltées, une reconstitution de l'évolution thermique du cadavre et de son environnement a été réalisée. Outre l'existence d'un microclimat dû à la position du corps (*cf.* Annexe 3), le principal facteur ayant pu accélérer le développement des larves est la chaleur dégagée par le corps lui-même durant les heures suivant le décès.

Les larves ayant été prélevées au niveau de l'anus et des oreilles, l'évolution de la température rectale a été reconstituée afin de l'utiliser comme base de calcul du temps de développement des insectes (figure 43). Les simulations permettent d'estimer un délai d'environ 70h entre le décès et l'alignement de la température rectale sur la température extérieure. Cette inertie implique un développement plus rapide des insectes que celui prédit par la température ambiante. Ainsi, les calculs réalisés pour *C. vicina* sur la base de la température rectale indiquent l'apparition des larves de premier stade seulement 17h après la ponte, soit deux fois plus rapidement qu'à la température extérieure. En 45h, soit le temps nécessaire pour que la température rectale devienne identique à la température extérieure, les insectes ont pu effectuer les trois quarts du second stade de développement, contre moins d'un tiers à température ambiante.

Le dégagement de chaleur lié au temps de refroidissement du corps ainsi qu'à sa position particulière ont donc, dans ce cas, permis d'expliquer l'état de développement particulièrement avancé des insectes. Sans la prise en compte de ces paramètres, l'âge des insectes aurait été surestimé, conduisant à une mauvaise datation du moment du décès.

Exception faite du stade œuf, immobile, la prise en compte de l'inertie thermique du cadavre lors du calcul du temps de développement des insectes est délicate. Elle nécessite de connaître les déplacements des insectes sur le corps afin de reconstituer les températures auxquelles ils ont été soumis. Ainsi, bien que des différences significatives entre la température du corps et celle de son environnement existent, ce paramètre ne peut être intégré à l'analyse sans une connaissance détaillée du parcours des insectes au sein des tissus du cadavre. Une solution permettant de répondre à ce problème a été développée dans le cadre de la modélisation détaillée dans la dernière partie de ce travail.

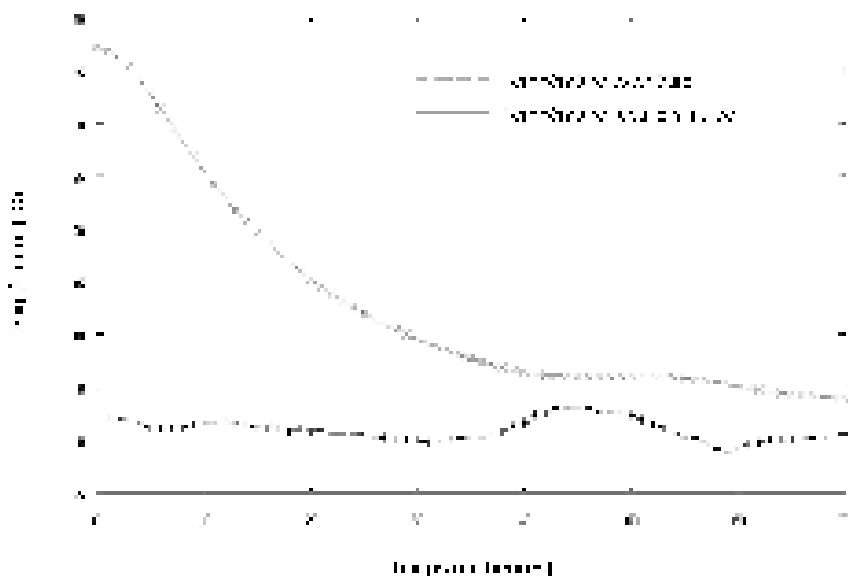


Figure 43

Simulation de l'évolution post mortem de la température rectale d'un corps (1,73m, 65kg) en fonction de la température de son environnement.

Enfin, les caractéristiques thermiques du corps humain influent sur la cinétique de dissipation de la chaleur émise par les masses de larves. Comme nous l'avons vu, les larves nécrophages ont la faculté de se regrouper en masses et de générer ainsi une augmentation locale de température. Le réchauffement engendré par ces agrégats sera d'autant plus important que le milieu est isolant, créant ainsi un phénomène d'auto-amplification : plus la masse est isolée (thermiquement), plus la chaleur dégagée va réchauffer l'environnement et plus les insectes seront actifs. La localisation d'une masse de larves influe donc directement sur l'augmentation locale de température engendrée (Slone & Gruner 2007). Cette dernière conclusion indique qu'il n'est pas seulement nécessaire de connaître la chaleur dégagée par une masse, mais également comment celle-ci va être dissipée par l'environnement. Bien qu'il soit théoriquement possible de créer des règles permettant de prédire la température d'une masse de larves selon sa position (Slone & Gruner 2007), cette solution reste imprécise et difficilement généralisable. La modélisation par automates cellulaires du comportement thermique d'un corps apporte en revanche une réponse efficace et précise et permet de lier directement la position d'une masse à l'évolution de la chaleur dégagée par celle-ci (Veremme *et al.* 2008a).

En ce qui concerne l'étude des caractéristiques thermiques du cadavre et leur impact en entomologie médico-légale, les points suivants ont été démontrés :

- la température interne d'un cadavre peut différer significativement de celle de son environnement,**
- un réseau d'automates cellulaires permet de modéliser cette inertie,**
- à température constante, le modèle développé est aussi performant que le modèle de Henssge (le plus fréquemment employé en médecine légale),**
- à température variable, l'automate cellulaire permet une excellente modélisation de l'évolution de la température d'un corps.**

Le modèle ainsi développé et validé a ensuite été utilisé à titre prédictif afin d'établir les conclusions suivantes :

- les prédictions du nomogramme de Henssge ne sont pas valables lorsque la température de l'environnement du cadavre varie sur un cycle nyctéméral,**
- la température moyenne de l'environnement peut en revanche être employée dans le cas de variations cycliques se produisant sur une période de une à deux heures,**
- les caractéristiques thermiques du cadavre influent sur la température des masses de larves,**
- l'inertie thermique du corps doit être prise en compte lors du calcul du temps de développement des insectes.**

Il a ainsi été démontré que la chaleur dégagée par un corps durant les deux premiers jours consécutifs au décès était suffisante pour diviser par deux le temps nécessaire au développement du premier stade larvaire de *C. vicina*.

I. Problématiques & expérimentation : synthèse

Les expériences et résultats présentés dans cette partie répondent à une thématique commune : améliorer la connaissance de la biologie et du comportement des diptères nécrophages. Afin de répondre au mieux à cette problématique, différentes études ont été menées : suivi de populations, caractérisation de la vitesse de déplacement des insectes, mise en évidence de la structure des masses de larves, etc. La variété des approches développées résulte de la complexité du sujet. Ainsi, l'entomologie médico-légale, bien que focalisée sur un objectif clairement identifié, nécessite une parfaite connaissance de l'ensemble des composantes physiologiques, éthologiques, écologiques et même physiques de « l'écosystème cadavre ».

Malgré la complexité du système étudié, les expériences réalisées permettent de mieux comprendre les facteurs impliqués et de les traduire sous formes de règles comportementales ou de relations mathématiques. Cette conceptualisation, nécessaire à la généralisation de ces résultats et à leur intégration au processus d'expertise, s'inscrit de plus dans le cadre d'un projet de modélisation informatique.

Nous avons en effet démontré que la majorité des paramètres impliqués dans l'estimation de l'âge des premières pontes sur un corps étaient interdépendants. Il est donc artificiel et inexact, mais également extrêmement risqué, de restreindre l'étude des insectes nécrophages aux quelques points de leur biologie les mieux connus. Pour répondre à ce problème, les résultats issus des expériences précédentes ont servi de base au développement d'un programme global de simulation du développement des insectes nécrophages et d'aide à l'expertise, baptisé ForenSeek. Ce travail sera détaillé dans la dernière partie de cette thèse.

III. TROISIÈME PARTIE : MODELISATION

***FORENSEEK, UN PROGRAMME DE SIMULATION ET D'AIDE A LA DÉCISION
DÉDIÉ À L'ENTOMOLOGIE MÉDICO-LÉGALE***

III. TROISIÈME PARTIE : FORENSEEK, UN PROGRAMME DE SIMULATION ET D'AIDE A LA DÉCISION DÉDIÉ À L'ENTOMOLOGIE MÉDICO-LÉGALE

J. Objectifs et méthodes 181

J.1. Place de la simulation dans l'expertise entomologique	183
J.1.a. Méthodes d'analyse	183
J.1.b. Rôle d'un outil d'aide à la décision	187

J.2. Structure du projet ForenSeek	190
J.2.a. Simulation du développement des insectes nécrophages	190
J.2.b. Architecture globale du système	194

K. Modélisation de l'entomofaune nécrophage et de son environnement 197

K.1. Introduction à la simulation et aux systèmes multi-agents	197
---	------------

K.2. Cadavre et colonisation	201
K.2.a. Le corps et son environnement	201
K.2.b. Populations de diptères et règles de ponte	203

K.3. Développement et comportement des larves	205
K.3.a. Vitesse et état de développement	205
K.3.b. Cycle comportemental	208
K.3.c. Effet des masses de larves	213

L. Résultats et perspectives 217

L.1. Analyse des résultats de simulation et datation du décès	217
L.1.a. Gestion des simulations, abduction et heuristique	218
L.1.b. Sous-modèles de simulation et fusion de données	222

L.2. Discussion et perspectives	226
L.2.a. Limites de l'approche	226
L.2.b. Validation	233

M. Modélisation : synthèse 238

J. Objectifs et méthodes

Cette dernière partie s'intéresse à la conception d'un système informatique d'aide à l'expertise, baptisé ForenSeek. Ce terme, dérivé de la contraction des termes anglais *forensic* (sciences criminelles) et *to seek* (chercher), regroupe un ensemble de travaux réalisés conjointement dans les domaines de la simulation, du raisonnement, de la fusion de données et de la biologie. L'objectif est de développer un outil basé sur des données expérimentales solides et intégrant l'ensemble des problématiques liées à la datation du décès par la méthode entomologique. Les expériences et observations détaillées dans la seconde partie de ce rapport de thèse ont ainsi servi de base au développement d'un modèle informatique simulant la colonisation et le développement des larves de diptères nécrophages sur un corps. Ce modèle permet donc d'intégrer au calcul du temps de développement des insectes de nouveaux paramètres tels que l'inertie thermique du cadavre ou le dégagement de chaleur par les masses de larves. L'ensemble des résultats de simulations est ensuite traité afin d'en déduire une estimation du moment de la mort, mais également de chiffrer la fiabilité et la marge d'erreur de cette datation.

Ce programme de modélisation est le fruit d'un travail en équipe* et résulte d'une collaboration entreprise il y a deux ans dans le cadre d'un doctorant en informatique, suivie en 2007 d'un second doctorat. Les détails techniques du développement ne sont pas nécessaires à la compréhension des méthodes de modélisation et des

* Ecole des Hautes Etudes pour l'Ingénieur (HEI), représentée par D. DUPONT
Laboratoire d'Automatique, Génie Informatique & Signal (LAGIS), LILLE, représenté par P. KUBIAK.
Laboratoire de Génie Informatique et d'Automatique de l'Artois (LGI2A), Université d'Artois.

Gildas MORVAN, *Approche Multi-Agents d'un Système d'Aide à la Décision Multi-Critères en Environnement Dynamique et Incertain - Application à la Conception d'un Outil d'Aide à la Décision en Entomologie Médico-Légale*, Thèse de Doctorat en Génie Informatique et Automatique réalisée sous la direction du Pr. D. JOLLY.

Alexandre VEREMME, *Fusion de données dans le cadre de la théorie des fonctions de croyance - Application à l'Entomologie Médico-Légale*, Thèse de Doctorat en Génie Informatique et Automatique réalisée sous la direction du Pr. D. JOLLY.

résultats obtenus, et ne seront donc pas abordés dans ce travail. En revanche, nous nous intéresserons à la structure du programme et au fonctionnement des différents sous-modèles issus de la conceptualisation des observations biologiques. Les résultats déjà obtenus et les perspectives de ce travail seront également abordés à la fin de cette dernière partie.

« **Modélisation** : opération par laquelle on établit le modèle d'un système complexe afin d'étudier et de mesurer plus commodément les effets sur ce système des variations de tel ou tel de ses éléments composants »

Dictionnaire Larousse Giraud-Pamart, 1974

J.1. Place de la simulation dans l'expertise entomologique

J.1.a. Méthodes d'analyse

Comme nous l'avons vu au cours de ce travail, la réalisation d'une expertise entomologique implique la prise en compte de l'ensemble de « l'écosystème cadavre » et des nombreuses interactions qui y sont observées. Cependant, il est rarement possible de se rendre sur le site de découverte du corps, et l'expert ne dispose alors que d'une connaissance fragmentaire de ce système. Les informations concernant l'environnement et la nature du cadavre sont contenues dans l'album photographique, le procès verbal de découverte du corps et la fiche de prélèvement. Le compte-rendu d'autopsie apporte des données complémentaires sur l'état de décomposition des tissus, la localisation des insectes et les causes de la mort. Enfin, le relevé climatique de la station météorologique la plus proche et les enregistrements effectués sur place constituent une base de travail fondamentale pour le calcul de l'âge des insectes.

Ces informations viennent ainsi compléter l'identification des prélèvements et constituent le noyau du travail d'expertise. La méthodologie employée pour dater le décès va ensuite découler de l'analyse de ces différentes informations. La complexité de l'expertise tient à la multiplicité des cas de figure rencontrés et des paramètres impliqués. La figure 44 schématise le processus de réalisation d'une expertise (cf. I.B.2.c.) et les différents types de données traités. On peut distinguer trois grands axes : la détermination du processus de décomposition du corps et l'effet de l'environnement sur la colonisation des insectes (en vert sur le schéma), l'estimation de la température ressentie par les insectes (en bleu sur le schéma) et le calcul de leur temps de développement (en noir). Ces différents aspects sont cependant intrinsèquement liés : il n'est par exemple pas possible de se référer à la température locale sans prendre en compte l'effet que les masses de larves peuvent avoir sur celle-ci.

La prise en compte de cet aspect écosystémique, longtemps ignoré dans le cadre de la datation des corps, apparaît cependant déterminante pour assurer la qualité et la validité des conclusions d'une expertise. Malheureusement, le spécialiste se trouve très vite confronté à une impossibilité technique due à l'interdépendance des paramètres : comment tester une hypothèse alors que chaque étape du raisonnement amène à reconsidérer les précédentes ?

Pour s'en rendre compte, il suffit d'essayer de suivre le « jeu de piste » de la figure 44, l'objectif étant, en partant de la découverte du corps, d'aboutir à la formulation d'un IPM minimum. La solution la plus directe consiste à simplifier le problème, c'est-à-dire à suivre un tracé direct en ne considérant qu'une partie restreinte de l'écosystème. On perd alors la prise en compte de phénomènes biologiques importants, ce qui limite d'autant la précision et la fiabilité de la datation

effectuée. La solution consistant à tester l'ensemble des hypothèses et interactions n'est pas plus réaliste : hormis le temps considérable qu'elle représente, elle nécessite de disposer de méthodes adaptées pour chiffrer les effets croisés des différents paramètres (e.g. lien entre la chaleur émise par les masses de larves et l'inertie thermique des tissus avoisinants). Ces méthodes nécessitent pour la plupart un recours à la simulation numérique.

Actuellement, l'expert ne dispose lorsqu'il analyse un dossier que d'un ensemble de données plus ou moins éparses ainsi que de sa propre expérience. Comme nous l'avons vu, de très nombreuses études mettent en évidence l'effet de tel ou tel facteur sur le processus de colonisation d'un corps et la vitesse de développement des insectes. Mais, faute de méthodes adaptées, il est impossible d'intégrer manuellement ces paramètres à l'analyse. De même, de nombreux modèles mathématiques permettent de calculer le temps de développement des insectes, parfois avec des résultats différents, sans qu'il soit possible de tous les comparer et de déterminer lequel est le plus pertinent à appliquer. Enfin, ces modèles peuvent être ajustés à partir de plusieurs jeux de données expérimentales, conduisant là encore à des estimations différentes. Ainsi, loin d'augmenter la qualité de l'analyse, la multitude des études, données expérimentales et méthodes de calcul disponibles peut conduire l'expert à réaliser des choix arbitraires pouvant discréditer ses conclusions.

La modélisation informatique du développement des insectes sur un corps apparaît dès lors comme une solution nécessaire aux problèmes complexes soulevés par l'entomologie médico-légale contemporaine. Cette analyse a pour le moment été restreinte au cas d'un intervalle *post mortem* (IPM) court (*i.e.* lorsque les premiers insectes à coloniser le corps sont encore en train de s'y développer), les possibilités de datation dans le cas d'un IPM long étant encore très discutées (Wyss, 2006).

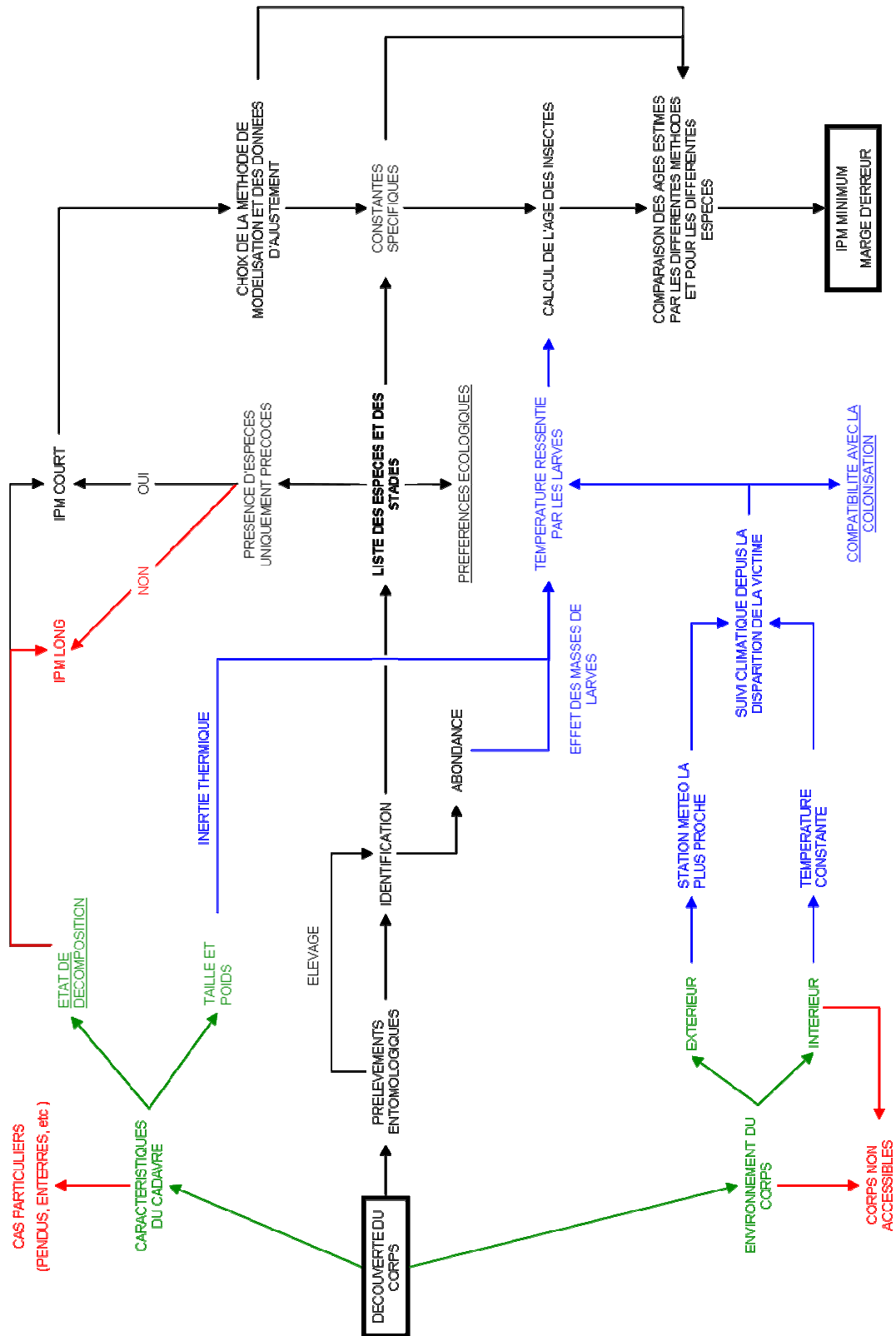


Figure 44

Schéma du processus d'expertise en conditions standard. Les informations soulignées permettent de confirmer ou nuancer les conclusions des calculs.

J.1.b. Rôle d'un outil d'aide à la décision

L'utilisation de méthodes informatiques pour améliorer la précision et la rapidité des calculs et ainsi faciliter le travail des experts n'est pas entièrement nouvelle. Dès 1974, Stinner propose un algorithme développé en FORTRAN et permettant de calculer le temps de développement des insectes à partir des relevés de température (Stinner *et al.* 1974). Bien qu'il ne fasse pas directement référence à l'entomologie médico-légale, cet article propose une méthodologie directement applicable dans ce domaine. Une étude semblable est développée par Allen en 1976 afin de calculer les degrés-jours accumulés (ADD) dans le cas d'insectes se développant à des températures cycliques (Allen 1976). Ici encore, le programme développé est applicable au calcul du temps de développement des insectes nécrophages.

Le premier modèle explicitement dédié à l'entomologie médico-légale date de 1984 (Williams 1984). Après avoir réalisé une série d'élevages en conditions contrôlées, l'auteur réalise un premier traitement en ajustant grâce à un algorithme informatique les paramètres de régression d'un modèle mathématique. Les équations liant temps de développement et température ainsi obtenues sont ensuite utilisées pour estimer rétrospectivement la date de ponte des insectes à partir des valeurs de température. L'auteur souligne cependant qu'une excellente connaissance de la température ressentie par les insectes durant leur développement est nécessaire, la qualité des résultats étant totalement dépendante de cet unique paramètre d'entrée.

Une autre approche a été proposée par Schoenly : elle repose sur la reconnaissance d'un patron connu à partir des différentes espèces d'insectes prélevées sur un corps (Schoenly *et al.* 1992). La liste des taxons et stades présents

sur le cadavre est saisie par l'utilisateur, puis automatiquement comparée au processus théorique de colonisation. Le programme estime alors la date du décès, le taux de compatibilité entre les prélèvements et sa base de données puis exporte les résultats dans un format directement intégrable au rapport d'expertise. En cas d'incohérence (si la succession observée ne peut être assimilée à un patron de la base de données), le programme invite l'utilisateur à vérifier l'identification des espèces problématiques. Le principal défaut de cet outil tient au concept sous-jacent de datation : on retrouve ici la notion d'escouades et l'idée d'une succession standardisée des espèces, indépendante des caractéristiques du cadavre, de son environnement, du climat, du comportement des insectes, etc. (cf. I.A.2.c.). En revanche, un certain nombre de points essentiels sont abordés pour la première fois : l'utilisateur peut alimenter la base de données de référence en y ajoutant les données propres à sa région ou son pays, et les résultats sont exprimés sous une forme claire et destinée aux activités d'expertise. Plus important encore, la qualité de la datation est chiffrée avec un intervalle de confiance (marge haute et basse), et la possibilité d'erreurs lors de l'identification des insectes est intégrée au processus d'analyse.

Plus récemment, Byrd et Allen se sont également intéressés à la modélisation du temps de développement des insectes dans le cadre de l'entomologie médico-légale (Byrd 2001a). Ce travail a, par la suite, été repris dans le cadre d'un programme de recherche financé par le Département de la Justice Américain (Slone *et al.* 2005). Peu de données sont disponibles sur ce travail, encore en cours de développement. Plus exhaustif que les études précédentes, ce projet est basé sur la technique des délais distribués (*time distributed delays* ou TDDs), une méthode qui modélise le développement des insectes par une chaîne d'équations différentielles. La vitesse de développement moyenne est déterminée expérimentalement puis pondérée par une loi

de distribution normale (reflétant la variabilité inter-individuelle) (*cf.* II.F.) (Severini *et al.* 2003). Une relation indiquant la température locale en fonction du volume de larves permet de reconstituer la température ressentie par les individus durant leur développement (Slone & Gruner 2007). Le programme permet, à partir de ce principe de simulation, d'estimer à quel moment un échantillon de larves prélevé sur un corps a été pondu. Les auteurs se basent sur la proportion des différents stades de développement pour estimer l'âge de la population.

Bien qu'il soit, par manque de données, difficile à l'heure actuelle de se prononcer sur la qualité de ces travaux, quelques points posent question. En premier lieu, la distribution des temps de développement des insectes est considérée comme étant normale et linéairement dépendante de la température, ce qui est en opposition avec les résultats de Regnière (1984). De plus, la forme classique des TDDs ne peut normalement être appliquée que dans l'intervalle de température où la vitesse de développement évolue de manière linéaire (Severini *et al.* 2003), condition rarement respectée en entomologie médico-légale. De même, le modèle de ponte utilisé semble peu étayé et s'appuie sur un certain nombre de postulats non argumentés. Enfin, la méthode de datation de l'IPM développée repose sur la comparaison des insectes prélevés aux populations modélisées. Lorsque les proportions des différents stades sont identiques entre les prélèvements et la population simulée, le moment des pontes est considéré comme étant identique. Un très bon échantillonnage de la population présente sur le corps est donc nécessaire, ce qui implique un important travail de détermination des larves. De plus, cette méthode fonctionne bien dans le cas d'une température cyclique ou lorsque la date du décès est connue, mais pas lorsque la température varie de manière non-prédictible. Autrement dit, ce modèle ne permet pas de déterminer un IPM lorsque la date du décès influe sur la température ressentie par

les insectes. Ces réserves doivent cependant être considérées avec prudence, aucune présentation complète du modèle n'étant actuellement disponible.

Dans l'ensemble de ces travaux, le principe d'un outil informatique de simulation et d'aide à la décision dédié à la réalisation d'expertises en entomologie médico-légale a été étudié et développé de façon plus ou moins aboutie. Outre le gain de temps évident que peut apporter un tel programme, les objectifs en sont multiples. Le principal intérêt est de fournir une estimation précise et fiable du moment des premières pontes ainsi que l'intervalle de confiance de cette datation. En effet, au vu des conséquences possibles des conclusions d'une expertise, il apparaît clairement que celles-ci doivent être parfaitement étayées et argumentées.

J.2. Structure du projet ForenSeek

L'objectif principal du projet ForenSeek est de proposer un outil d'aide à la décision permettant, grâce à la simulation numérique du développement des insectes sur un corps, de fournir une estimation précise et fiable de la date de la mort.

J.2.a. Simulation du développement des insectes nécrophages

La modélisation du développement des larves de diptères nécrophages sur un corps constitue le cœur du projet ForenSeek. Cette partie du programme concerne non seulement la simulation des insectes, mais également de leur environnement. Le but est donc de simuler l'écosystème cadavre dans sa globalité, afin de reproduire les interactions des individus entre eux et avec leur milieu de vie. La complexité du système étudié rend cependant nécessaire la décomposition du simulateur en sous-

modèles. On retrouve ici la structure présentée dans la première partie de ce travail (cf. I.C page 76) et ayant servi de guide lors de la réalisation des expériences développées durant la seconde partie de cette thèse. Celle-ci a été reprise et légèrement modifiée afin de créer une architecture informatique cohérente. La figure 45 représente les différents sous-modèles utilisés, chacun se référant à une problématique particulière. Les échanges de paramètres (représentés ici par des flèches à simple ou double sens), permettent l'interaction des modèles. Les résultats fournis par le simulateur sont donc à la fois dépendants des paramètres initiaux et de l'évolution de chacun des sous-modèles en réponse à ces interactions. Après une brève description de l'ensemble du système, le fonctionnement propre à chacune de ses parties sera détaillé dans le chapitre suivant. Nous verrons également les limites de cette approche, les problèmes liés à sa validation expérimentale ainsi que les perspectives.

Le premier modèle intervenant lors d'une simulation concerne l'évaluation des pontes susceptibles d'être déposées sur le corps. On détermine tout d'abord le nombre de mouches femelles présentes dans l'environnement, puis on estime la probabilité pour chacune d'entre elle de déposer ses œufs sur le corps. Celle-ci est évaluée en fonction des données climatiques, mais également de l'état de décomposition du cadavre et de la présence d'autres pontes. Le corps constitue un élément attractif pour les femelles adultes ainsi que le milieu de vie et la ressource alimentaire des larves. Outre ses caractéristiques thermiques, il est donc nécessaire de définir la quantité de nourriture présente localement, qui va déterminer la possibilité pour les larves de s'alimenter.

Le déplacement des larves est contrôlé par un modèle comportemental. Selon son stade de développement, la température de son environnement immédiat et son état physiologique, un individu répondra à des besoins différents. C'est ce cycle comportemental qui permet de faire émerger la structure des masses de larves et notamment l'effet d'augmentation locale de température.

En lien direct avec le comportement des individus, le taux de développement est une donnée fondamentale permettant de caractériser l'âge d'un individu. Ce taux de développement est calculé sur la base de plusieurs modèles mathématiques, eux-mêmes alimentés par une base de données regroupant les données expérimentales nécessaires au calcul des constantes de développement. Afin de rendre compte de la variabilité inter-individuelle de la vitesse de développement, un sous-modèle détermine pour chaque individu le facteur de pondération à appliquer. Cette opération conduit, à l'échelle de la population, à une cinétique de développement identique à celle observée expérimentalement.

L'ensemble de ces sous-modèles et de leurs interactions permettent de déterminer à tout instant l'état du corps et celui des populations d'insectes nécrophages. On dispose ainsi de données pouvant être directement comparées aux prélèvements et observations effectués sur un corps. Cette comparaison, effectuée par le programme d'expertise, détermine sur cette base la compatibilité de la simulation avec le cas étudié. Plus les résultats de simulation sont proches de la réalité, plus l'hypothèse testée par la simulation (moment du décès) est considérée comme valide. En revanche, s'il y a incompatibilité entre simulation et prélèvements, le système en déduit que l'hypothèse utilisée pour la simulation est fautive. Il détermine alors une nouvelle hypothèse à tester, puis relance une simulation.

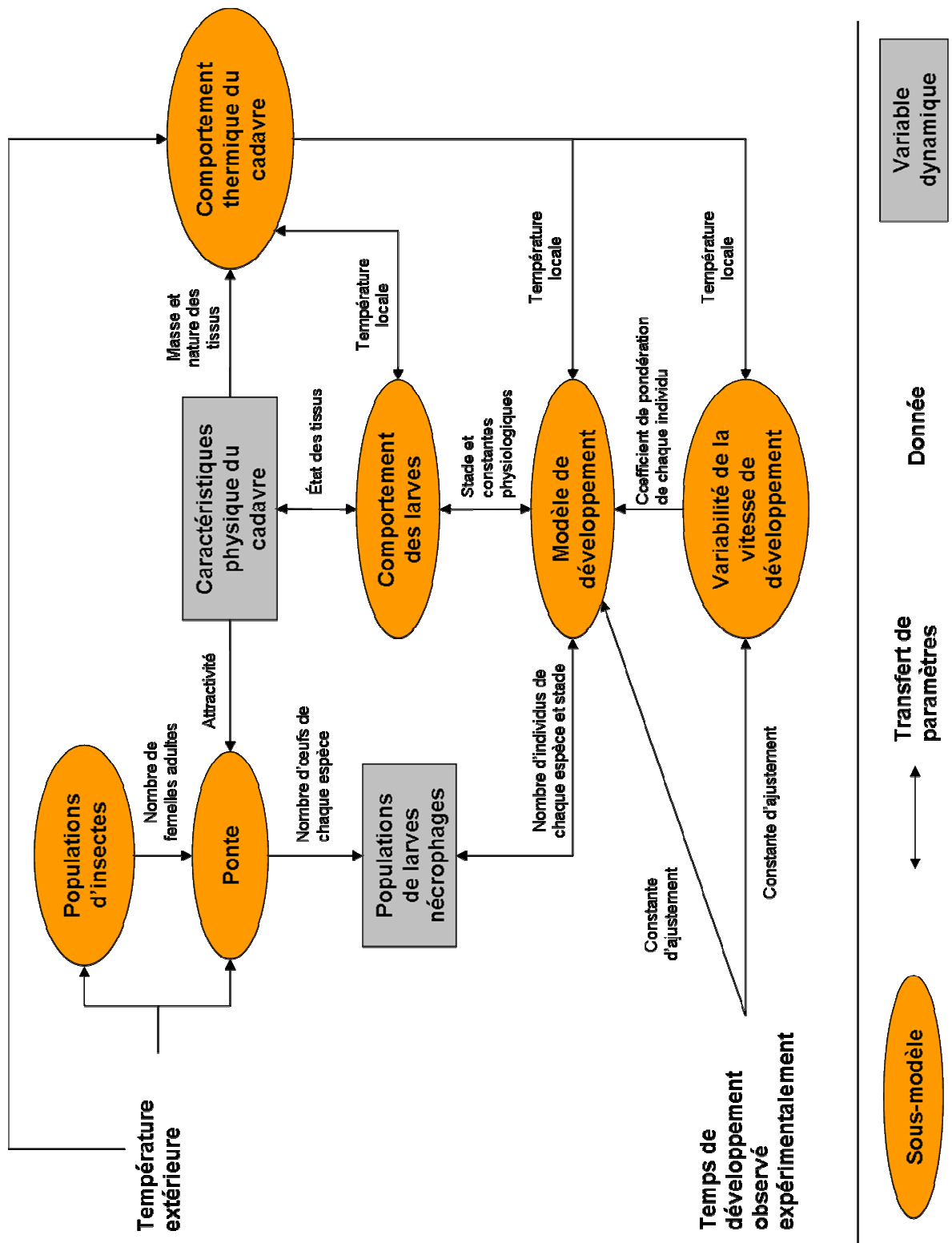


Figure 45

Structure du modèle de développement des insectes sur un corps. Les différents sous-modèles apparaissent en cerclé gris, les interactions sont représentées par des flèches. Les données résultant de la simulation (dynamiques) sont encadrées.

J.2.b. Architecture globale du système

Il est possible d'illustrer la démarche d'expertise du programme ForenSeek par un exemple simplifié. Imaginons le cas d'un corps disparu depuis 10 jours (date de disparition = jour 1). Lors de la découverte du cadavre (jour 10), de nombreuses larves de troisième stade de *L. sericata* sont prélevées. L'objectif de l'expertise entomologique est de déterminer à quel moment ces insectes ont été pondus sur le corps. Pour ce faire, le programme d'expertise dispose des données climatiques et du modèle de développement décrit précédemment (simulateur).

Le simulateur va alors tester une à une l'ensemble des hypothèses possibles. Par exemple, la simulation lancée avec pour hypothèse de départ un décès le jour 1 indique que la température est suffisante pour permettre des pontes, et que les œufs de *L. sericata* déposés le jour 1 atteignent le stade pupes au jour 8. Il y a peu de similitudes entre les résultats de simulation et les prélèvements effectués sur le corps (larves de troisième stade). L'hypothèse d'un décès le jour 1 est donc peu concluante. En revanche, l'hypothèse plaçant le décès le jour 4 permet d'obtenir le jour 10 des résultats de simulation analogues aux prélèvements effectués sur le corps. Le jour 4 sera donc considéré comme une date de décès dotée d'une très forte probabilité. À l'inverse, une simulation lancée sous hypothèse d'un décès le jour 6 indique que les œufs ne sont pondus que 24h plus tard, et atteignent le début du stade 2 le jour 10. Un décès survenu le jour 6 est donc peu compatible avec les prélèvements effectués sur le cadavre, car les individus n'auraient pas eu le temps de se développer suffisamment. Le système teste ainsi l'ensemble des hypothèses, et détermine la ou lesquelles sont cohérentes avec les insectes prélevés sur le corps (figure 46).

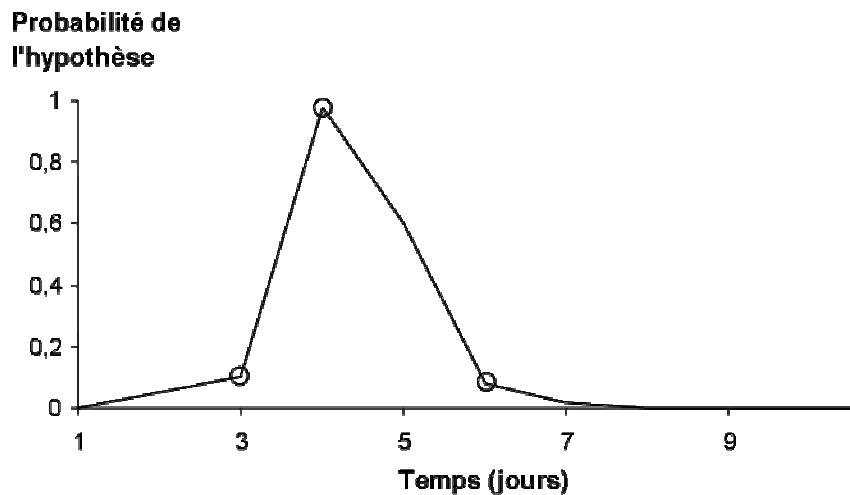


Figure 46

Exemple de la démarche d'analyse du programme ForenSeek. Le jour 0 correspond à la disparition de la victime et le jour 10 à la découverte du corps. Des simulations du développement des insectes ont été réalisées sous hypothèse d'un décès le jour 2, 3 ou 5. Le niveau de similitude entre les résultats de simulation et les prélèvements effectués sur le corps détermine la probabilité de validité de l'hypothèse testée. Ce processus est réalisé pour l'ensemble des hypothèses à tester.

Cependant, plusieurs hypothèses distinctes peuvent conduire à des résultats similaires, et plusieurs méthodes et données différentes peuvent être utilisées pour estimer la vitesse de développement des insectes. Il est également possible d'intégrer ou non certains paramètres - dégagement de chaleur par les larves, inertie thermique du corps, etc.- à l'analyse. Afin d'interpréter ces différents résultats, il est nécessaire de pouvoir comparer les estimations obtenues. Pour ce faire, un système de fusion de données permet de pondérer et d'agrèger les différentes estimations sous la forme d'un résultat unique donnant la fenêtre de décès la plus probable ainsi que l'intervalle de confiance de cette datation. L'expert dispose alors d'une information claire et synthétique lui permettant d'orienter son analyse et ses conclusions.

La structure du programme a donc été définie afin de permettre ce processus d'analyse tout en conservant une architecture souple et évolutive. Trois niveaux superposés peuvent ainsi être distingués (figure 47) :

- un programme de modélisation du développement et du comportement des insectes nécrophages et de leur environnement (simulateur),
- une couche d'analyse et de gestion des simulations (programme d'expertise),
- un système de fusion de données permettant d'agrèger les conclusions des simulations en un résultat unique.

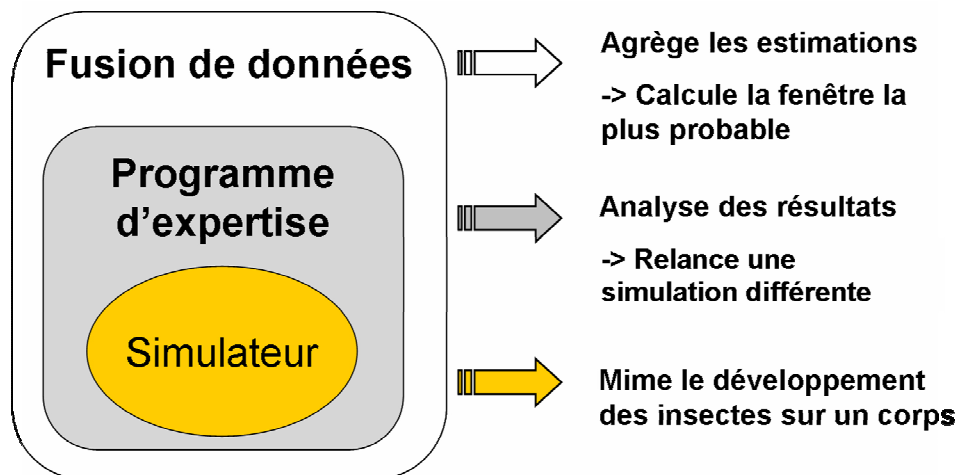


Figure 47

Structure de l'application ForenSeek : les résultats obtenus au premier niveau (simulateur) sont gérés par la couche de niveau supérieur (programme d'expertise). Ces données sont ensuite fusionnées en un résultat unique par la dernière couche logicielle.

Nous allons analyser en détail dans le second chapitre le principe de fonctionnement des systèmes multi-agents ainsi que les méthodes de simulation employées. Les deux autres parties du programme, le système expert et la fusion de données, font encore actuellement l'objet de recherches dans le cadre de deux thèses

en informatique, et ne seront que brièvement décrites. Le lecteur souhaitant plus de précisions pourra se reporter aux communications préliminaires déjà réalisées sur le sujet (Morvan *et al.* 2007, Morvan *et al.* 2008e, Morvan *et al.* 2008c, Veremme *et al.* 2008b).

K. Modélisation de l'entomofaune nécrophage et de son environnement

K.1. Introduction à la simulation et aux systèmes multi-agents

Un **modèle** peut être défini comme une abstraction plus ou moins réaliste et abstraite d'un ensemble plus vaste. Cette définition implique pour chaque modèle de définir son système de référence (ce que l'on observe au départ), les éléments inclus dans le modèle (ses frontières), le niveau de détail pris en compte (l'échelle d'observation) et ses limites de validité (cas particuliers).

Nous nous intéresserons ici à la modélisation du développement des larves de diptères calliphoridae sur un cadavre humain, en intégrant à cette analyse certains paramètres climatiques (température et pluviométrie). Le modèle est réalisé à l'échelle de l'individu (l'insecte est donc le plus petit élément significatif) et sur une base de temps horaire. Le système se limite à des conditions standardisées (déjà définies précédemment : corps disposé sur le sol, en milieu rural, forestier, littoral ou urbain, accessible aux insectes) et à la première phase de décomposition.

Ce système peut dès lors être défini comme étant un **système complexe**. En effet, il n'est pas possible d'isoler les paramètres qui le caractérisent : les différents éléments de l'écosystème sont en interaction permanente, chacun influant plus ou moins directement sur les autres éléments. Dans ce cas, l'utilisation de modèles déterministes basés sur des systèmes d'équations est inadaptée*.

La modélisation par simulation permet en revanche de modéliser des systèmes à acteurs multiples en interaction tels que les systèmes complexes. Plus spécifiquement, **l'intelligence artificielle distribuée (IAD)** regroupe des méthodes de simulation dans lesquelles chaque partie du système modélisé possède des compétences propres. Ces éléments interagissent afin de reproduire le comportement global de niveau supérieur étudié (Weber 2007).

La modélisation par **système multi-agent (SMA)** est issue des recherches en IAD : elle repose sur la notion d'agent, qui représente l'unité élémentaire du système. Un agent est une entité autonome et agissante, régie par des règles logique et mathématiques fixées. Nous nous limiterons ici à la présentation des **agents de type réactif**. Contrairement aux agents cognitifs, ils n'ont qu'une connaissance locale et limitée de leur environnement et n'ont pas de mémoire. Leur système de communication est restreint à l'envoi de messages locaux et non-directionnels utilisant généralement l'environnement comme support (stigmergie). Ces agents fonctionnent donc uniquement sur le principe stimulus/réponse. Ils sont en revanche capables, au cours d'une simulation, de modifier leur comportement, celui des autres agents ainsi que leur environnement (figure 48).

* Le lecteur souhaitant plus d'informations sur les principes et méthodes de modélisation pourra se référer à Weber (2007).

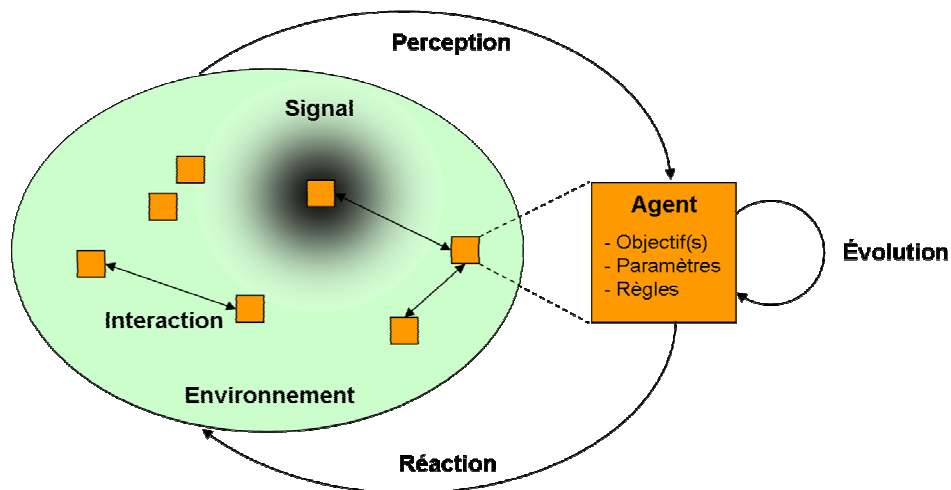


Figure 48

Fonctionnement schématique d'un modèle multi-agents. Chaque agent (orange) est caractérisé par des paramètres, règles et objectifs qui définissent son comportement. Il perçoit son environnement et les autres agents et réagit à ces stimuli. Un agent peut également posséder une évolution propre. D'après Weber (2007).

Chaque agent possède des objectifs autonomes (tâches à accomplir), mais n'a pas de méthode prédéfinie. Par exemple, dans un modèle de fourmilière, un agent représentant une fourmi aura, entre autres, pour tâche de se rendre d'un point A à un point B. Il peut pour ce faire suivre n'importe quel chemin. Il peut également agir sur son environnement en déplaçant un obstacle, ou faire appel à d'autres agents (si l'obstacle est trop lourd). Le programmeur définit donc pour chaque type d'agent des objectifs (e.g. se déplacer de A à B), des caractéristiques (e.g. vitesse, force, etc.) et des règles (e.g. solliciter d'autres agents si l'obstacle est trop lourd). Un agent peut également posséder une évolution propre, c'est-à-dire un changement temporel de ses caractéristiques. Dans le cas de l'agent fourmi, on définira par exemple que l'âge de l'individu évolue en fonction du temps, et que ses besoins et aptitudes dépendent de son âge. Plusieurs catégories d'agents peuvent cohabiter et interagir au sein d'un même modèle : la fourmilière virtuelle compte ainsi des agents soldats, ouvrières,

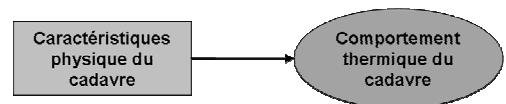
individus sexués, etc. Chacune de ces catégories regroupe une population d'agents ayant des caractéristiques communes (Gutknecht & Ferber 1998).

De plus, dans une structure telle qu'une fourmilière, chacune des fourmis agit de manière plus ou moins ordonnée, mais un comportement collectif est observé. L'organisation du groupe résulte donc de l'ensemble des comportements individuels, sans l'intervention d'aucune décision collective. L'**émergence** peut ainsi être définie comme l'apparition de structures complexes à partir des interactions des individus entre eux (et avec leur environnement), sans que cette structuration soit une finalité connue des individus qui y participent. L'existence d'un système de communication est donc une condition fondamentale de développement des phénomènes émergents.

K.2. Cadavre et colonisation

Comme nous l'avons vu, la modélisation du comportement et du développement des insectes sur un corps requiert l'intervention de nombreux sous-modèles spécifiques. Chacun remplit un rôle précis et permet, à partir de règles de calcul, d'algorithmes comportementaux et des données des autres modèles, de déterminer l'évolution d'une série de paramètres. Un schéma extrait de la figure 45 sera placé en début de chaque chapitre afin de situer la partie du modèle qui y est détaillée. Nous allons dans un premier temps étudier la modélisation du corps et de sa colonisation par les diptères nécrophages.

K.2.a. Le corps et son environnement



Les larves évoluent dans un environnement en deux dimensions représentant un cadavre humain allongé au sol vu du dessus ainsi que son environnement immédiat (un mètre autour du corps). Cette surface est divisée en cellules carrées de deux centimètres de côté, chacune de ces cellules étant caractérisée par un ensemble de propriétés physiques.

Les cellules situées autour du corps sont définies comme étant le gaz atmosphérique. La température est supposée identique en tout point de cet environnement. Elle peut être constante ou fixée à partir des spécifications de l'utilisateur (température variant sur une base horaire).

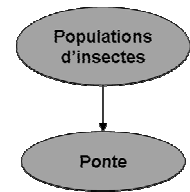
Le nombre total de cellules du cadavre est déterminé à partir de la taille spécifiée par l'utilisateur, en respectant les proportions standard du corps humain (Villemin 2006, Veremme *et al.* 2008a). Chaque cellule est définie comme appartenant à un type de tissu : cerveau, viscère, peau, muscle ou os. La densité des tissus est simulée par un coefficient variant de zéro à un : la valeur minimum correspond à l'air, le cerveau et les viscères sont affectés d'un coefficient initial de 0,3, les muscles d'un coefficient de 0,5, la peau est initialisée à 0,7 et les os à 1. Les agents larves au stade 1 ne peuvent traverser les zones de densité supérieure ou égale à 0,7, l'accès des larves aux stades suivants étant limité aux tissus de densité inférieure à 1.

La température locale T_a d'une cellule du cadavre est déterminée à partir de sa température au pas de simulation précédent, de la température des cellules voisines et de la chaleur dégagée par les larves qui s'y trouvent. Ainsi, sur la base de l'algorithme et du modèle thermique présentés précédemment (III.J.), chaque cellule réalise des échanges de chaleur avec ses voisins immédiats selon cet ordre :

1. Additionner la chaleur dégagée par l'ensemble des larves présentes à la température initiale à t ,
2. Parcourir l'ensemble des températures de ses voisins,
3. Pour chacun des voisins, appliquer la loi de transfert thermique appropriée,
4. Faire la moyenne des températures issues des échanges avec les 8 voisins, pour obtenir la nouvelle température à l'instant $t+1$.

Outre le type de tissu et la densité associée, chaque cellule possède une masse. La masse du cadavre initialement saisie par l'utilisateur est divisée par le nombre de cellules, chacune étant donc affectée de la même masse. Lorsqu'un agent se nourrit sur une cellule, il décrémente la masse de celle-ci.

K.2.b. Populations de diptères et règles de ponte



Les sous-modèles décrits dans ce chapitre permettent d'estimer le nombre d'insectes présents dans l'environnement au moment du décès, et de déterminer le nombre d'œufs déposés sur le corps.

A partir des données climatiques, on calcule dans un premier temps le nombre total de diptères calyptères attendus durant la semaine grâce à l'équation de Goulson (2005) (détaillée au cours de la partie III.D.2 de ce mémoire). Les effectifs des différentes espèces sont estimés à partir des proportions observées expérimentalement à la même période[§]. Ces valeurs sont ensuite pondérées afin d'obtenir le nombre de femelles, puis réduites afin de ne considérer que les femelles gravides. Le processus d'estimation des populations de mouches nécrophages susceptibles de pondre peut donc être résumé par l'algorithme suivant :

- 1| récupérer les données climatiques de la période étudiée,
- 2| calculer à partir de l'équation de Goulson les effectifs de diptères calyptères attendus pour la semaine,
- 3| charger les données expérimentales de piégeage correspondant au mois étudié et calculer les proportions des différentes espèces à cette saison,
- 4| calculer à partir de ces proportions le nombre d'individus de chaque espèce attendu durant la semaine,
- 5| retrancher les 20% d'individus correspondant aux mâles[§],
- 6| retrancher les 2/3 d'individus correspondant à la proportion de femelles non-gravides^x.

[§] Se réfère à l'étude des données de piégeage déjà présentées dans le chapitre III.D.4 pour calculer les proportions des différentes espèces et le nombre de mâles.

On dispose ainsi du nombre de femelles gravides de chaque espèce susceptibles de pondre durant la semaine considérée. Le modèle de ponte permet alors de déterminer pour chaque heure le nombre d'œufs déposés. On postule tout d'abord que les diptères calliphoridae ne pondent pas durant la nuit (entre 22h et 6h d'avril à septembre et de 19h à 8h d'octobre à mars) (Greenberg 1990, Tessmer *et al.* 1995, Singh & Bharti 2001, Wooldridge *et al.* 2007, Amendt *et al.* 2008). La température de l'environnement conditionne ensuite la probabilité de déclenchement des pontes.

Le seuil de température permettant l'oviposition a été fixé pour chaque espèce d'après les données expérimentales existantes (Hedouin *et al.* 1996). En dessous de la valeur seuil, la probabilité de ponte est de 0 ; au dessus, elle est de 1. On détermine ainsi pour chaque heure si le déclenchement de ponte est possible ou non. Lorsque la température est suffisante, une fonction représentant l'attractivité du corps permet de calculer pour chaque individu la probabilité de ponte. Cette fonction a été établie d'après les données expérimentales disponibles dans la littérature, et est représentée sur la figure 49 (Hall 1993, Fisher *et al.* 1998, Byrd 2001a, Grassberger & Frank 2004). Elle est identique pour toutes les espèces de diptères calliphoridae considérées dans ce modèle.

Deux zones d'oviposition ont été définies : la face et le bas du bassin, les deux étant équi-probables. L'utilisateur peut également stipuler l'existence d'une autre zone d'oviposition (présence de plaies sur le corps). Chaque individu ne pond qu'une seule fois, et dépose en moyenne 223 ± 12 œufs (Wall 1993a).

* *In* Fisher, Wall & Ashworth. 1998.

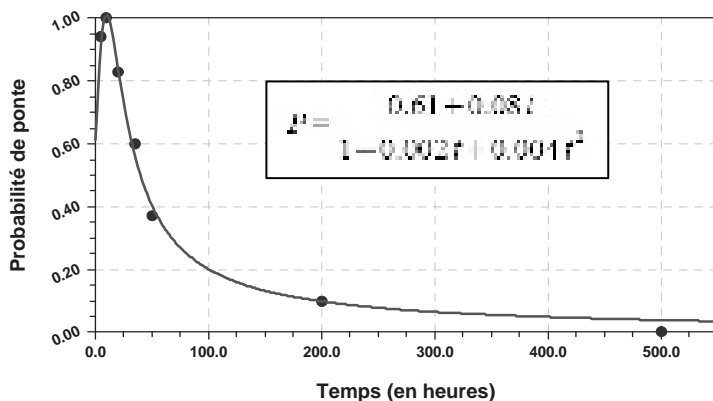
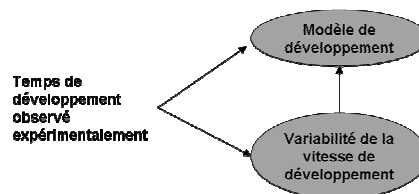


Figure 49
Probabilité de ponte (P) en fonction de l'âge du cadavre (t).

K.3. Développement et comportement des larves

K.3.a. Vitesse et état de développement



Le calcul du développement des insectes est subdivisé en deux sous-modèles. Le premier s'intéresse à la variabilité interindividuelle de la vitesse de développement, tandis que le second regroupe différentes méthodes mathématiques de calcul du taux de développement. Ces deux modèles sont étalonnés à partir de la base de données regroupant les données expérimentales publiées, déjà décrite au chapitre III.E.2.

Le modèle de variabilité utilisé a été présenté en détail au chapitre III.E.3. Pour chaque ponte, le nombre total d'œufs déposés est subdivisé en vingt percentiles, chacun représentant donc 5% de la ponte. Chacun des individus au sein d'un percentile est affecté du même coefficient de pondération de la vitesse de développement. Ce coefficient est déterminé pour chaque pas de simulation à partir de la température locale ressentie par les larves. Il est ensuite transféré au modèle de développement afin d'être intégré au calcul du taux de développement de chaque individu. A l'heure actuelle, seule les données expérimentales concernant *L. sericata*

sont assez détaillées pour appliquer la méthode de Regnière (1984). L'extension de ce type d'expériences à d'autres espèces est actuellement en cours et devrait, à terme, permettre de procéder de même avec les autres espèces de diptères calliphoridae.

Le sous-modèle permettant le calcul du taux de développement des larves fonctionne en relation directe avec la base de données (figure 50). Dans un premier temps, l'utilisateur définit pour chaque espèce les données expérimentales qu'il souhaite utiliser pour ajuster le modèle. Il peut se référer à une seule source documentaire (publication), ou combiner les données de différents auteurs. Il peut également utiliser ses propres valeurs, sous réserve que celles-ci aient été préalablement saisies dans la base. Une interface graphique permet de visualiser les données retenues et de tester la modélisation linéaire de celles-ci. Les valeurs choisies sont ensuite utilisées pour calculer les coefficients d'ajustement du modèle. L'utilisateur détermine le type de modèle (linéaire ou sigmoïde (Stinner *et al.* 1974)), puis la régression est calculée par la méthode des moindres carrés (Villet & Richards 2008). Si trop peu de points sont disponibles, seuls les modèles linéaires sont activés. Le modèle ainsi ajusté est alors utilisé pour calculer, à partir de la température locale et du facteur de pondération, le taux de développement accumulé par chaque individu à chaque pas de simulation (TD_u) et en déduire son taux de développement cumulé (TD_c).

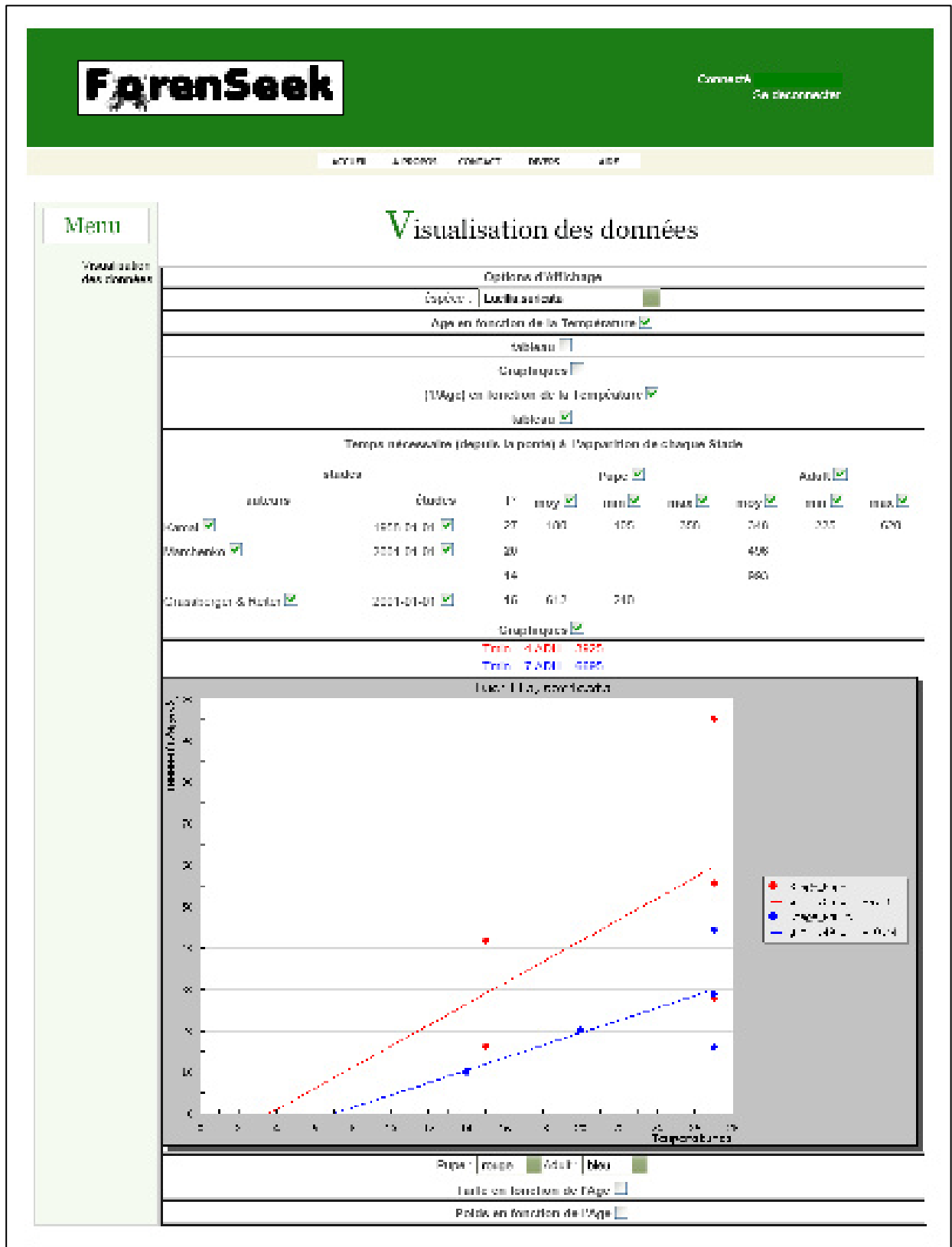


Figure 50

Interface de consultation et de choix des données expérimentales utilisées pour le calcul du temps de développement.

K.3.b. Cycle comportemental

Une fois déposés sur le corps, les œufs commencent à se développer. Différents cycles comportementaux ont été employés afin de reproduire le comportement des individus au cours de leur développement. Comme nous l'avons vu, chaque agent se développe à une vitesse propre qui dépend du facteur de pondération qui lui a été attribué ainsi que de la température de son environnement immédiat. Le taux de développement cumulé par un individu (TD_c) détermine son stade, et donc son comportement.

Les œufs ont un comportement totalement passif : ils sont immobiles, ne s'alimentent pas et ne communiquent pas. Les agents au stade œuf ne font donc que se développer.

Dès leur éclosion, les agents larves entament un cycle comportemental qu'ils suivront jusqu'au stade prépupe. Deux comportements sont permanents : l'émission d'un signal d'agrégation et le dégagement de chaleur. Le signal d'agrégation a été fixé empiriquement : il correspond au modèle standard de communication par signal chimique avec un facteur de diffusion de 1 et un coefficient d'évaporation de 0,6 (Beurier *et al.* 2003). Concernant le comportement thermique des larves, chaque individu dégage en permanence une certaine quantité de chaleur, qui est diffusée dans son environnement. Ce point particulier sera détaillé au chapitre suivant.

Trois besoins ont été définis : l'alimentation, la recherche d'agrégation et la recherche de zones « confortables » pour se déplacer (figure 51) (Charabidze *et al.* 2008e). Selon son état physiologique, un agent cherchera à répondre à l'un ou l'autre

de ces besoins. L'alternance de ces besoins est sous le contrôle du jabot, un compteur propre à chaque individu qui permet de connaître à tout moment son état alimentaire. Le niveau de remplissage du jabot évolue entre 0 et 1 ; 0 correspondant à une absence totale de nourriture et 1 au remplissage maximal. Le seuil α correspondant au déclenchement du comportement de recherche de nourriture a été empiriquement fixé à 0,5.

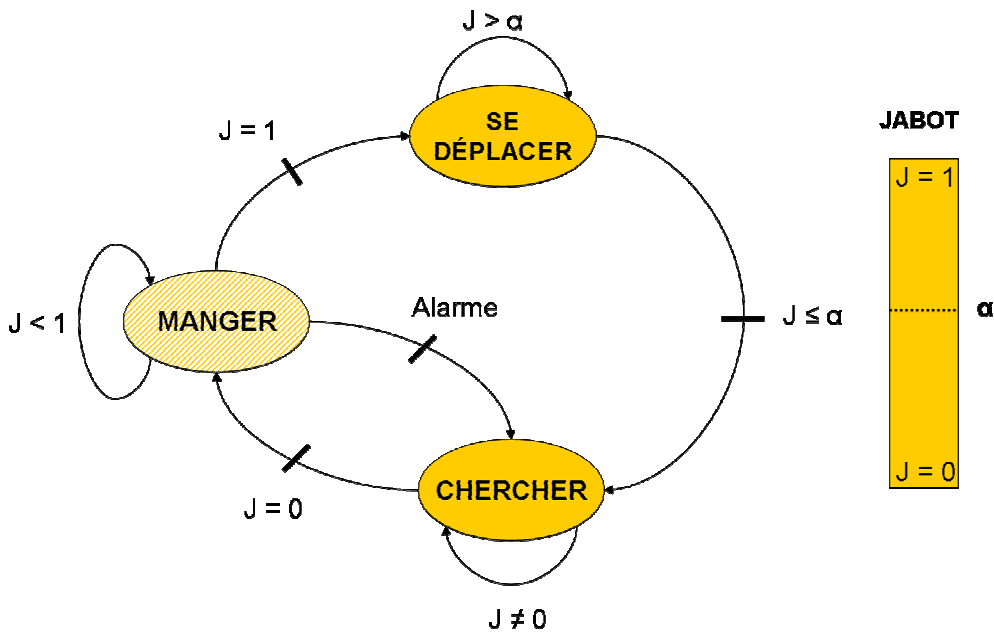


Figure 51

Cycle comportemental des agents larves. J représente la valeur de remplissage du jabot, α est une constante de déclenchement.

A leur éclosion, le compteur des larves est au niveau 0 : elles vont donc chercher à s'alimenter. Un individu qui s'alimente est immobile et ne réalise que deux actions. La première consiste à faire décroître la valeur nutritive de la cellule où il se trouve. L'estimation de la quantité de nourriture consommée par un individu se base sur une étude de Godoy *et al.* réalisée chez *Chrysomya putoria* (Godoy *et al.* 1996). Les auteurs se basent sur des travaux antérieurs afin d'estimer le facteur de conversion en biomasse de la nourriture ingérée (*Efficiency of Conversion of Ingested*

food ou ECI) par les larves. Une valeur moyenne de 39% est retenue, ce qui permet de généraliser la relation suivante :

$$\text{Masse totale de nourriture consommée (g)} = \frac{\text{masse de l'individu (g)}}{0,39}$$

Par simplification et en l'absence de données plus détaillées, on postule ici que les besoins alimentaires d'un individu sont constants durant son développement. Il est alors possible de calculer, pour chaque pas de temps, quel pourcentage du développement a été effectué et donc quelle est la fraction de la quantité de nourriture totale qui a été consommée durant cet intervalle.

$$\text{Masse de nourriture consommée durant un pas de temps (g)} = \frac{\text{masse de l'individu (g)}}{0,39} \times TDu$$

La seconde action des individus qui s'alimentent est d'accroître le niveau de remplissage de leur jabot. La vitesse de remplissage de celui-ci dépend de la température locale : plus il fait chaud, plus la larve se nourrit vite, à l'inverse plus il fait froid et plus le processus est lent (figure 52) (Morvan *et al.* 2008a). La fonction mathématique employée s'appuie sur des données expérimentales préliminaires obtenues au laboratoire. Des mesures plus détaillées sont actuellement en cours et devraient permettre d'affiner cette relation. La vitesse de digestion suit la même loi mais avec des valeurs négatives.

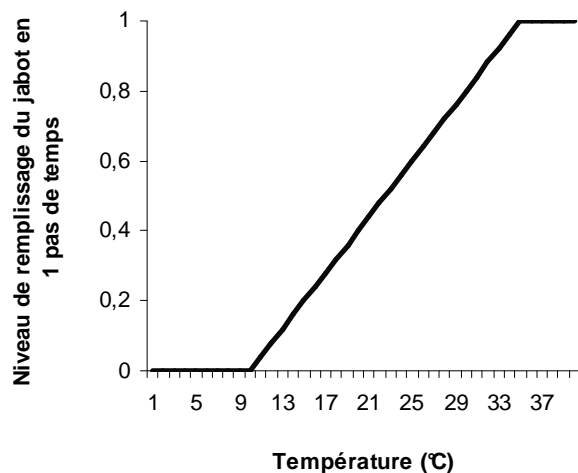


Figure 52
Fonction déterminant, selon la température locale, la quantité de nourriture intégrée au jabot en un pas de temps (une heure).

Les agents s'alimentent tant que le niveau de remplissage de leur jabot est inférieur à 1 et que les conditions sont favorables. Lorsque la température de la cellule où ils se trouvent devient trop défavorable (inférieure à 10°C ou supérieure à 40°C, cf. chapitre suivant) ou que la nourriture vient à y manquer, le signal *alarme* est enclenché. L'agent se déplace alors aléatoirement de case en case, jusqu'à ce que l'alerte soit levée. Il recommence ensuite à s'alimenter tant que son jabot n'est pas rempli (J=1).

Les individus ayant achevé de s'alimenter passent en phase « promenade » : ils se déplacent continuellement tandis qu'ils digèrent le contenu de leur jabot. Leur vitesse de déplacement est dépendante de leur taille et de la température locale, selon la formule ci-dessous (Charabidze *et al.* 2008b) :

$$Vitesse(cm / mn) = 5,54 \log(longueur(mm)) + 0,66 \text{température}(^{\circ}C) - 12,8$$

Le trajet emprunté par les agents n'est pas aléatoire : ils se déplacent de case en case en choisissant toujours la cellule la plus chaude (dans la plage de température inférieure à 40°C) (Hafez 1948). Une très faible imprécision sensorielle est introduite afin de simuler une certaine variabilité du comportement. Ce seuil de précision a été fixé arbitrairement afin d'obtenir un comportement similaire aux observations réalisées en conditions naturelles. Les agents perçoivent ainsi la température des cellules à plus ou moins 0,0007°C près : lorsqu'ils sont dans l'incapacité de différencier la température de plusieurs cellules, l'une d'entre elles est alors choisie aléatoirement. Les larves se déplacent donc de manière plus ou moins aléatoire dans les zones les plus chaudes de leur environnement.

Lorsque le niveau de remplissage du jabot atteint le seuil alpha (ici fixé arbitrairement à 0,5), le comportement de recherche de nourriture s'enclenche.

Les agents se déplacent alors à la recherche d'un endroit où s'alimenter. Le comportement grégaire des larves les pousse non seulement à rechercher de la nourriture, mais également la présence d'autres individus. L'attractivité d'une zone est donc déterminée par l'intensité locale du signal d'agrégation. Les masses de larves sont ainsi fortement attractives, car elles concentrent un grand nombre d'individus immobiles et diffusent donc un signal attractif important. Ce signal, dont l'intensité locale varie entre 0 et 1, est perçu par les agents avec une précision aléatoire de plus ou moins 0,3. Comme dans le cas du seuil de détection de la température, cette valeur fixée arbitrairement permet d'ajuster le comportement des agents afin de simuler des déplacements réalistes. Un agent en phase de recherche se déplace toujours sur la case voisine ayant la valeur de signal attractive la plus élevée ; si plusieurs cellules ont la même valeur, l'une d'entre elles est choisie aléatoirement. Lorsque l'agent atteint une cellule dont toutes les voisines ont une valeur de signal inférieur, il s'arrête sur celle-ci et passe en phase « manger ». Si la température y est défavorable ou la quantité de nourriture insuffisante, le comportement d'alarme s'enclenche jusqu'à ce qu'une cellule adaptée soit trouvée (figure 53) (Charabidze *et al.* 2008d).

Ce cycle est ensuite répété jusqu'à ce que l'agent atteigne le stade prépupe. Il cesse alors de s'alimenter et migre en ligne droite vers l'extérieur du corps. Dès qu'un individu atteint la bordure de l'environnement de simulation, il peut se transformer en puppe. Les agents au stade puppe sont immobiles et ne s'alimentent pas. Ils n'émettent aucun signal et ne dégagent pas de chaleur. Ils incrémentent leur développement en fonction de la température extérieure. Lorsqu'un individu a achevé le stade puppe, il est comptabilisé puis « retiré » de la simulation.

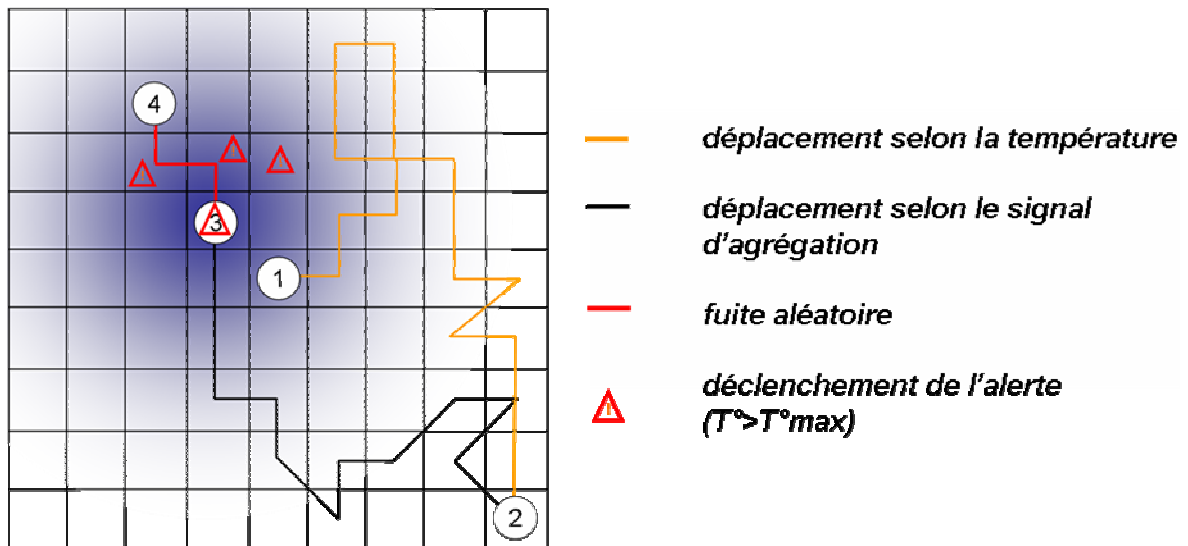


Figure 53

Trajet effectué par un agent en relation avec ses différentes phases de comportement :

- 1 $J=1$, fin de l'alimentation,**
- 2 $J < \alpha$, recherche d'une zone où s'alimenter,**
- 3 arrêt sur la cellule où le signal est maximal. Déclenchement de la fuite aléatoire,**
- 4 reprise de l'alimentation.**

K.3.c. Effet des masses de larves

Un des atouts majeurs des systèmes multi-agents est la possibilité de travailler à différentes échelles d'observation. Il est ainsi possible de décrire certains comportements à l'échelle du groupe, et d'autres au niveau individuel (Morvan *et al.* 2008e). Cette flexibilité se révèle particulièrement utile pour la modélisation des systèmes biologiques complexes, pour lesquels il est rare de disposer d'informations détaillées et quantifiées à tous les niveaux d'observation. Une méthode multi-niveaux a donc été utilisée pour la simulation du comportement thermique des masses de larves.

La problématique rencontrée se pose comme suit : le dégagement de chaleur à l'origine de l'augmentation de la température locale au sein des agrégats de larves est le fait des individus, mais seul son effet à l'échelle du groupe peut être observé.

Il n'est pas possible de quantifier directement la chaleur émise par un individu : les ordres de grandeur en jeu nécessitent l'utilisation d'un calorimètre permettant des mesures au millième de degré, ce dont nous ne disposons pas. En revanche, les expériences réalisées en conditions contrôlées nous ont permis de quantifier la température émise par une masse de larves. Cette réponse est non linéaire et dépend de la masse de l'agrégat et donc du nombre d'individus qui la compose, mais également de la température de l'environnement (cf. chapitre II.G.2.b.). De plus, des mécanismes comportementaux de régulation thermique sont impliqués et influent directement sur l'intensité et la cinétique du phénomène. De ce fait, même en disposant de données expérimentales liant le nombre d'individus à la température de la masse, il n'est pas possible d'en déduire la quantité de chaleur dégagée par un individu (figure 54).

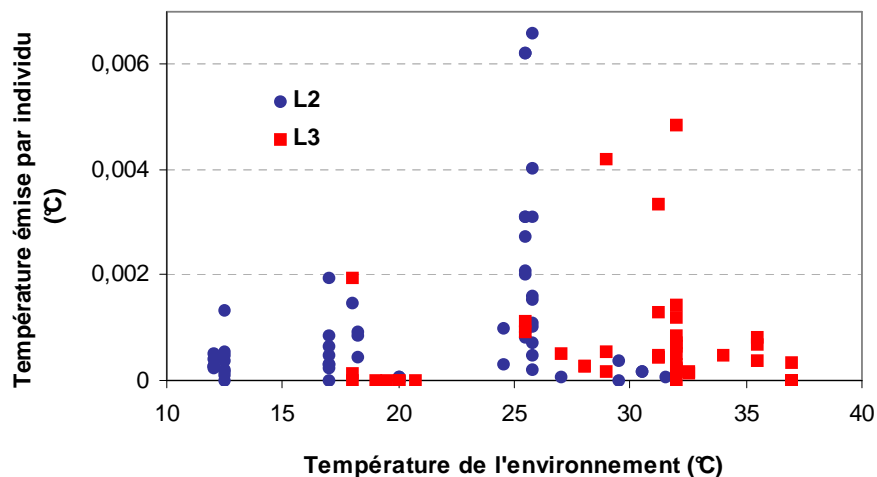


Figure 54

Température émise par un individu ($\Delta T/Nb$ individus) en fonction de la température de l'environnement et du stade larvaire.

Afin de répondre à cette problématique, le sous-modèle qui gère le comportement thermique des larves est basé sur les postulats suivants :

- la chaleur émise par une larve est indépendante de la température de son environnement ;
- elle évolue linéairement en fonction du taux de développement de l'individu (à partir de son éclosion, la valeur maximale étant atteinte à la fin du stade L3) ;
- la chaleur est émise en continu par les larves tant que leur jabot n'est pas vide ($J \neq 0$).

D'après ce modèle, seul le comportement des individus influe sur la régulation thermique du groupe. Chaque larve « chauffe » en permanence, mais elle a la possibilité de s'éloigner lorsque la zone qu'elle occupe devient trop chaude. Ce postulat très simple réduit le problème de simulation du comportement thermique des masses de larves à la détermination de deux constantes :

- la quantité de chaleur maximale émise par un individu (*i.e* la chaleur émise par une larve au stade L3), notée λ ;
- la température maximale T_{\max} correspondant au signal d'alerte et provoquant la fuite locale des individus.

Les valeurs de température au sein des masses de larves obtenues expérimentalement ont permis l'étalonnage de ce modèle. Un algorithme récursif a été développé afin de tester les différentes valeurs de λ et T_{\max} , puis de comparer les températures issues des simulations à un premier jeu de données expérimentales (Morvan *et al.* 2008e). Les résultats donnent les valeurs suivantes : $\lambda = 9 \cdot 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}$ et $T_{\max} = 35^\circ\text{C}$. Les résultats de simulations obtenus en utilisant ces constantes ont ensuite été confrontés à un nouvel ensemble de données expérimentales. Les résultats indiquent une bonne corrélation (test de Pearson), bien que le modèle tende

à légèrement surestimer la température au sein des masses de larves (figure 55). Actuellement, seules les données correspondant au stade L3 ont été étudiées en détails : le comportement thermique des individus de stade deux semble cependant également conforme aux données expérimentales. Des expériences complémentaires sont de plus en cours afin de disposer d'un jeu de données plus vaste pour l'étalonnage du modèle.

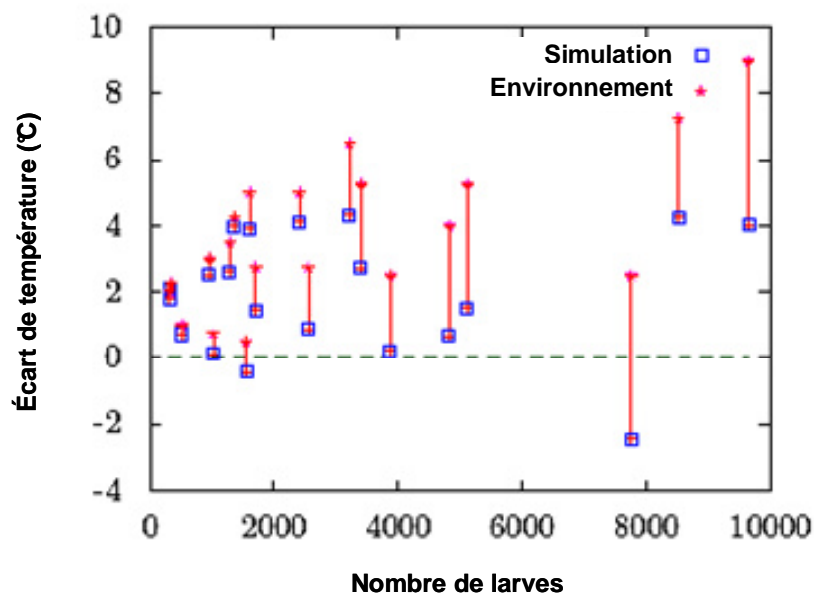


Figure 55

Différence entre la température maximale enregistrée expérimentalement au sein des masses de larves (stade 3) et les prédictions du modèle (agents de stade 3). Sur le même graphique, différence entre la température maximale enregistrée au sein des masses de larves et la température de l'environnement (in Morvan et al. 2008e).

La méthode de modélisation employée peut donc être synthétisée comme suit :

- 1| observation de la structure des masses de larves ;
- 2| formulation de règles comportementales appliquées à l'échelle de l'individu ;
- 3| enregistrements en conditions contrôlées de la température au sein des agrégats ;
- 4| détermination des constantes d'ajustement du modèle par comparaison itérative avec les données expérimentales ;
- 5| confrontation des prédictions du modèle à un autre jeu de données expérimentales.

Bien qu'encore en cours de développement, cette procédure a d'ores et déjà permis de reproduire avec une bonne fiabilité un comportement résultant de deux niveaux d'observations différents (individu et agrégat), chacun n'étant que partiellement connu.

L. Résultats et discussion

L.1. Analyse des résultats de simulation et datation du décès

Outre la valeur explicative du modèle et des sous-modèles développés, l'objectif de ce travail concerne la datation des corps dans le cadre de l'entomologie médico-légale. Les résultats de simulations constituent à ce titre la base d'une analyse plus complexe visant à estimer le moment des premières pontes sur le corps. Pour ce faire, un programme-expert permet de traiter les données issues des simulations, et d'en déduire une estimation de l'intervalle *post mortem* (IPM). Afin d'améliorer la précision et la fiabilité de ces conclusions, différentes méthodes de simulation peuvent être comparées et confrontées, puis synthétisées en un résultat unique. Cette possibilité représente un des apports majeurs des outils d'aide à la décision, et constitue un des principaux enjeux du projet ForenSeek. Actuellement en cours de développement dans le cadre de deux thèses en génie informatique, ces outils ne seront ici que brièvement présentés.

Enfin, la dernière partie de ce rapport sera consacrée à la validation expérimentale du modèle développé ainsi qu'aux limites et perspectives de ce travail.

L.1.a Gestion des simulations, abduction et heuristique

Comme nous l'avons vu, pour un cas donné (caractéristiques du corps fixées), le déroulement d'une simulation repose sur un unique paramètre d'entrée : la température de l'environnement (figure 45). L'évolution de cette température au cours du temps est connue grâce aux enregistrements météorologiques, qui permettent de reconstituer quelles étaient les conditions climatiques locales depuis la disparition de la victime et jusqu'à la découverte du corps. Le moment de la mort conditionne ainsi non seulement le temps écoulé jusqu'à la découverte du cadavre, mais également la température durant cette période. Le principe de datation de la mort grâce aux insectes nécrophage consiste à déterminer à quel moment les insectes prélevés sur un corps ont été pondus, sachant que la durée de leur développement est une fonction de la température et du temps. Ce raisonnement peut donc être formulé comme suit : *à quelle date la victime doit-elle être décédée pour que les insectes aient atteint le stade de développement que l'on observe ?* Le raisonnement consiste donc à partir d'un effet observé (le stade de développement des insectes prélevés sur le corps) pour remonter à sa cause (le moment de la mort). Ce type de démarche est également suivi dans le cas d'un diagnostic médical : le praticien va ausculter un patient, observer un symptôme (la toux) et en déduire une cause (le rhume). Il existe cependant un grand nombre de maladies pouvant causer une toux : le rôle du médecin est de trouver la cause la plus probable avec un minimum d'analyses. Une batterie complète de tests pourrait sûrement permettre au médecin d'être sûr de son diagnostic, mais elle serait longue, coûteuse voir dangereuse pour le patient. **On parle d'abduction dans le cas d'une démarche consistant à remonter d'un effet à sa cause la plus probable.** Elle est définie historiquement en ces termes (Peirce 1993) :

The surprising fact, C, is observed; but if A were true, C would be a matter of course. Hence, there is reason to suspect that A is true[♦].

Le raisonnement habituellement suivi lors d'une expertise entomologique est rétrodictif et consiste à partir du moment de la découverte du corps, puis à remonter la chronologie des évènements jusqu'au moment des premières pontes (II.B.2.b). Cependant, ce raisonnement postule qu'une seule cause peut être à l'origine de l'effet observé, *i.e* qu'une seule date de ponte est compatible avec l'état de développement des insectes prélevés sur le corps lors de sa découverte. Or cette assertion n'est plus vérifiée lorsqu'on intègre à l'analyse de nouveaux paramètres tels que l'inertie thermique du cadavre ou l'effet des masses de larves. En effet, ceux-ci sont dépendants de la température et influent directement sur celle-ci, ce qui conduit à l'apparition d'une boucle de rétroaction. Il n'est alors plus possible d'établir un lien direct entre la date de ponte et le temps de développement des insectes : on ne peut plus remonter d'une observation à sa cause. La démarche retenue consiste alors à tester les différentes hypothèses, c'est-à-dire les différents moments de la mort possibles, puis à vérifier si les résultats obtenus pour chacune sont compatibles avec les observations réalisées (figure 56). On procède donc par essais successifs.

Le principe de fonctionnement du programme ForenSeek est d'estimer le moment de la mort à partir de simulations. Pour ce faire, différentes simulations sont réalisées, et leurs résultats comparés aux observations effectuées sur le corps : plus les données de simulation sont similaires aux prélèvements effectués sur le corps, plus les hypothèses ayant servi à initialiser la simulation sont considérées comme plausibles. Bien que la méthode puisse être étendue à la prise en compte d'autres

[♦] Un fait C étonnant est observé ; mais si la cause A s'était produite, alors C serait une conséquence évidente. Il est donc probable que A soit vérifiée.

facteurs, le seul paramètre variant d'une simulation à une autre est le moment supposé du décès. L'hypothèse testée par une simulation correspond donc à un moment de la mort possible.

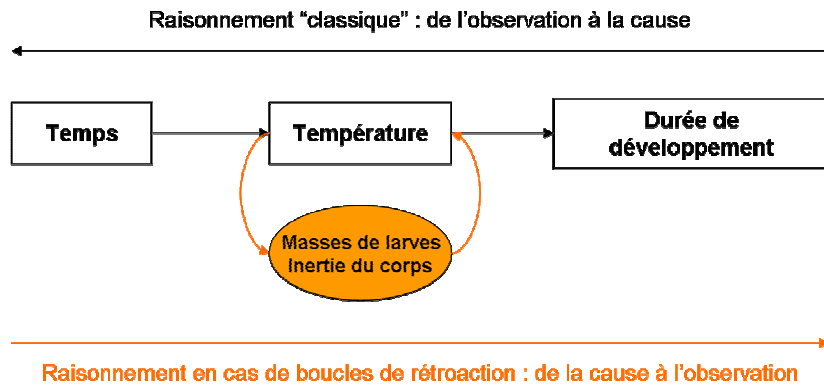


Figure 56

Liens simplifiés entre les principaux paramètres influant sur la datation des corps par la méthode entomologique. La prise en compte de l'effet des masses de larves ou de l'inertie thermique du cadavre entraîne l'apparition d'une boucle de rétroaction et empêche de remonter directement des observations à la cause. On procède alors par essais successifs en analysant l'évolution des différents scénarios.

Il est cependant techniquement impossible de tester l'ensemble des hypothèses : dans le cas d'un corps retrouvé quinze jours après la disparition de la victime, cela reviendrait à réaliser 360 (15jours*24h) simulations différentes, ce qui représente un temps de calcul informatique considérable. Afin de répondre à cette contrainte technique, une méthode de parcours de l'espace des hypothèses, appelée heuristique[▼], a été développée. Elle permet de minimiser le nombre de simulations à réaliser en déterminant à chaque fois quelle est l'hypothèse la plus intéressante à tester. Ce choix est réalisé sur la base de différents critères :

[▼] Une heuristique est une méthode permettant de guider la recherche vers une solution réalisable, pas nécessairement optimale, pour un problème d'optimisation donné.

- utilité de connaître la validité de l'hypothèse (échantillonnage de l'espace),
- coût associé à l'évaluation de l'hypothèse (temps de simulation).

Cette méthode permet donc de réduire les temps de calcul tout en conservant une précision et une fiabilité satisfaisantes dans l'estimation de l'IPM (Morvan *et al.* 2008b).

Lorsqu'une simulation est lancée (hypothèse d'une mort au temps t), elle se déroule jusqu'à atteindre le moment de la mort : ainsi, si la victime a disparu le jour 1 et si son corps a été retrouvé le jour 15, une simulation lancée sous hypothèse de décès le jour 5 sera poursuivie jusqu'à atteindre le jour 15, soit 10 jours de temps simulé. A la fin de la simulation, les résultats sont stockés dans une base et des paramètres d'analyse tels que l'abondance de larves, les espèces présentes, les stades de développement ou la date des premières émergences de chaque espèce sont extraits.

Pour qu'une simulation soit retenue comme valide, elle doit respecter la règle suivante : ***pour chaque espèce, l'agent (simulation) présentant le développement le plus avancé doit être au même stade/taux de développement que l'individu le plus développé prélevé sur le corps (cas réel étudié).*** Cette correspondance stricte peut cependant comprendre une certaine marge d'erreur spécifiée par l'utilisateur. Par exemple, si des larves de *L. sericata* en fin de second stade larvaire sont prélevées sur un corps lors de sa découverte (jour 15), seules les simulations dont l'individu le plus développé au jour 15 est une L2 de *L. sericata* seront considérées comme valides. L'expert peut cependant étendre la marge de validité à des agents en début de stade L3, les larves prélevées sur le corps ayant quasiment achevé le stade L2.

Chaque simulation est ensuite répétée dix fois afin de prendre en compte la stochasticité du modèle : le résultat est donc pour chaque hypothèse testée une note sur dix indiquant le nombre total de simulations valides.

D'autres paramètres pourraient être employés afin de déterminer la validité des simulations : abondance de larves, espèces présentes, date des premières émergences, etc. Cependant, l'utilisation d'indicateurs multiples nécessite de recourir à un système d'analyse multi-critères, c'est-à-dire une méthodologie permettant de pondérer et de fusionner ces différents paramètres. Une telle solution est à l'étude mais n'est pas implémentée à l'heure actuelle.

L.1.b. Sous-modèles de simulation et fusion de données

Comme nous l'avons vu, le programme de simulation est constitué d'un ensemble de sous-modèles interdépendants : populations d'insectes, pontes, comportement thermique du cadavre, comportement des larves, développement et variabilité de la vitesse de développement (*cf.* page 193). Certains d'entre eux sont nécessaires à la réalisation des simulations et ne peuvent être désactivés ou modifiés par l'utilisateur (e.g. comportement des larves). En revanche, d'autres peuvent être ajustés à partir des constantes choisies par l'utilisateur (modèle de développement) ou totalement désactivés (e.g. effet des masses de larves). Cette souplesse permet ainsi à l'utilisateur de tester l'effet des différents paramètres, mais également de se rapprocher le plus possible du cas réel étudié. Voici les différentes modalités laissées au choix de l'utilisateur :

- **Sous-modèle de populations :**

Lorsqu'il est désactivé, l'utilisateur spécifie le nombre d'insectes présents dans l'environnement immédiat du corps.

- **Sous-modèle de ponte :**

Lorsqu'il est désactivé, on postule pour chaque espèce que l'oviposition a lieu dès que la température devient supérieure au seuil spécifié par l'utilisateur.

- **Micro-climat local :**

L'utilisateur a la possibilité de tester l'effet d'un éventuel micro-climat en pondérant les données climatiques par une relation de son choix.

- **Comportement thermique du cadavre :**

Lorsque ce sous-modèle est désactivé, la température en tout point du corps est égale à celle de l'environnement.

- **Effets des masses de larves :**

L'inactivation de ce comportement entraîne un dégagement de chaleur nul par les agents lors des simulations.

- **Sous-modèle de développement :**

Le sous-modèle de développement détermine, sur la base des données expérimentales regroupées dans la base de données du programme, la vitesse de développement des individus. Il est calculé à partir des données et méthodes de modélisation choisies par l'utilisateur (*cf.* IV.K.3.a).

- **Variabilité de la vitesse de développement des larves :**

Lorsque ce modèle est désactivé, tous les individus d'une même espèce se développent à la même vitesse.

L'utilisation de sous-modèles permet donc à l'utilisateur de comparer les estimations de l'IPM obtenues dans différents contextes, et donc de tester l'influence de tel ou tel paramètre et méthode sur l'estimation de l'IPM. Il revient ainsi à l'expert de déterminer quels sont les paramètres pertinents à tester : la méthode des ADD ne doit ainsi pas être utilisée pour le calcul du temps de développement si les données climatiques de simulation sortent de la plage de validité de cette méthode (*c.f.* II.B.2.c). Cette souplesse laisse part à l'expérience personnelle de chaque expert. Elle est de fait déjà présente dans les datations effectuées sans l'aide de l'informatique : certains spécialistes se réfèrent ainsi systématiquement à l'effet des masses de larves, tandis que d'autres n'en tiennent jamais compte. L'avantage majeur apporté par l'outil informatique, et plus particulièrement la fusion de données, est de pouvoir tester l'impact d'un tel choix, mais également d'obtenir un avis global donnant à la fois l'IPM le plus probable mais également la marge d'erreur de cette estimation.

La comparaison de différentes méthodes de calcul et l'ajout de nouveaux paramètres à l'écosystème complique cependant l'interprétation du résultat final. Par exemple, le recours à deux méthodes différentes de calcul du temps de développement des larves peut aboutir à deux estimations différentes de l'IPM : ces deux résultats sont pertinents et il n'est pas forcément possible de choisir *a priori* lequel est correct (le plus proche de la réalité). Il devient donc nécessaire de pouvoir fournir un résultat unique tenant compte de la variabilité observée dans ces estimations (Veremme *et al.* 2008b) (figure 57).

La théorie qui sous-tend ce travail est celle des fonctions de croyance (Shafer 1976), et plus particulièrement une de ses interprétations, le modèle des croyances transférables (MCT) (Smets & Kennes 1995). L'objectif est d'appréhender au mieux les imperfections des connaissances (imprécision, incertitude, incomplétude, etc.) afin

d'aboutir à une décision finale cohérente reposant sur ces différentes sources. Le MCT est d'autant plus intéressant qu'il permet d'agréger différentes sources d'information de manière objective, tout en proposant une palette d'outils permettant de les pondérer. Il est ainsi possible d'affaiblir le poids de certaines méthodes (par exemple si elles sont réputées peu précises) ou de conditionner leur prise en compte à certaines règles (e.g. cette méthode n'est valable que dans le cas où...). Le résultat final rend compte de l'ensemble des sources d'information et fait émerger les solutions qui font consensus, tout en permettant le calcul de l'incertitude entourant ces solutions. L'IPM ainsi calculé constitue la solution la plus probable et la plus pertinente au cas étudié, mais ne constitue qu'un outil d'aide à la décision. L'expert peut donc à tout moment se référer aux données de simulation afin d'en tirer ses propres conclusions.

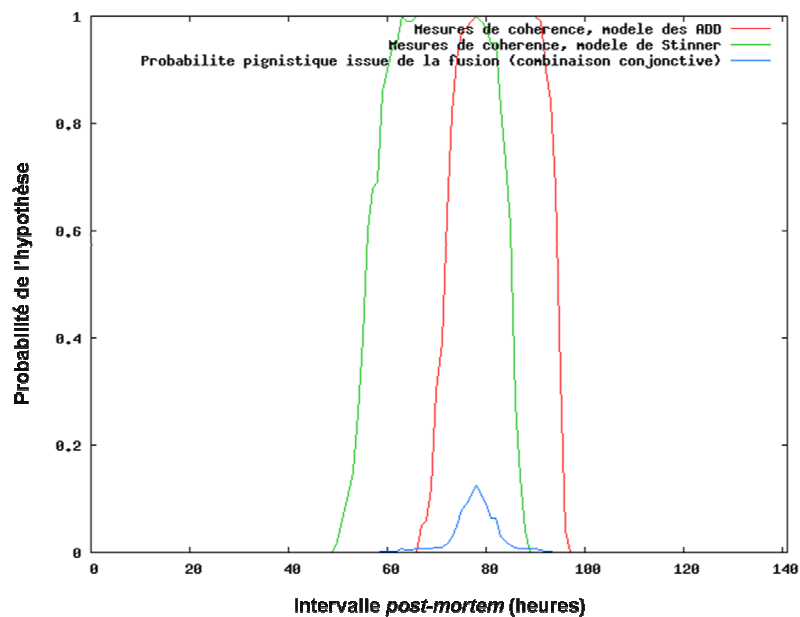


Figure 57

Estimation de l'IPM d'un cas fictif par le programme ForenSeek en utilisant deux modèles différents pour le calcul du temps de développement de *L. sericata* (ADD d'après Marchenko (1988) et équation de Stinner d'après les données de Grassberger (2001)). Le résultat de la fusion des données issues des deux méthodes fait ressortir un consensus pour un IPM de 80 heures.

L.2. Discussion et perspectives

La présentation détaillée des différentes parties et sous-modèles du projet ForenSeek nous a permis de mettre en évidence le fonctionnement de cet outil ainsi que ses apports. Nous allons maintenant nous intéresser aux limites inhérentes à ce type de modélisation, aux contraintes rencontrées dans ce cas particulier ainsi qu'à la validation du modèle développé. Enfin, nous verrons comment les méthodes d'analyse et de raisonnement issues de ce travail peuvent être étendues à d'autres domaines d'application.

L.2.a. Limites de l'approche

La mise en place d'un outil d'aide à l'expertise soulève un certain nombre de questions. Les problématiques rencontrées peuvent être réparties en trois grandes catégories :

- Validité des données biologiques nécessaires à la réalisation de simulations.
- Gestion des simulations et fusion de données : approximation ou synthèse ?
- Utilisation des résultats et rôle de l'expert.

Validité des données biologiques utilisées pour la réalisation des simulations.

La détermination des constantes permettant la simulation du développement des larves de diptères nécrophages représente une étape fondamentale de ce travail. Si de nombreuses publications s'intéressent à certains aspects particuliers de la biologie de ces insectes, notamment leur vitesse de développement, de nombreux

autres points sont très peu documentés. Les expériences et observations réalisées dans le cadre de cette thèse ont permis d'apporter des données directement utilisables dans le modèle (sous forme de constantes ou de règles comportementales). Ce modèle vise cependant à simuler différentes espèces de diptères calliphoridae, et des mesures détaillées n'ont pu être réalisées pour chacune d'entre elles. Ces espèces étant très proches d'un point de vue phylogénétique et écologique, une première approximation a donc consisté à généraliser les données obtenues pour une espèce aux espèces voisines. Ce mode opératoire a été appliqué pour des paramètres comportementaux ou physiologiques différant *a priori* peu entre espèces, les données plus spécifiques telles que les temps de développement étant en revanche bien différenciées. Des mesures complémentaires restent cependant nécessaires pour garantir la validité des généralisations.

Les observations réalisées en conditions plus ou moins contrôlées, notamment concernant le déplacement et le comportement d'agrégation des larves, constituent la base expérimentale du cycle comportemental utilisé dans le modèle. Ces observations, bien qu'effectuées avec soin et rigueur, restent néanmoins essentiellement qualitatives. Bien que de nombreux projets concernant l'étude de ce comportement grégaire aient été développés au cours de cette thèse (*c.f.* chapitre suivant), il n'est à l'heure actuelle pas possible de justifier quantitativement certains paramètres de simulation du comportement des larves (*e.g.* diffusion du signal, temps passé à chaque phase comportementale). Ces choix ont malgré tout une portée très limitée sur la dynamique globale du système : la structuration et l'évolution des agrégats apparaît relativement peu sensible à ces paramètres d'entrée. La quantification des paramètres d'agrégation et la détermination du signal en jeu constituent cependant un objectif majeur dans le cadre des recherches à venir.

De même, le sous-modèle de ponte repose sur un nombre très limité de données. Dans ce cas particulier, une démarche purement intuitive a été appliquée : le modèle proposé repose sur les rares valeurs mentionnées dans la littérature, mais surtout sur des observations personnelles et des *a priori*. S'agissant d'une approche totalement nouvelle (l'expertise classique considère que les pontes ont lieu dès que la température est suffisante), ce sous-modèle ne correspond sans doute pas complètement à la réalité, mais apporte néanmoins une vision plus réaliste du comportement de ponte des diptères calliphoridae. Là encore, l'obtention de données expérimentales détaillées constitue une nécessité et ouvre de multiples perspectives de recherche.

Enfin, une des difficultés rencontrées lors du développement de ce modèle tient à la transposition en deux dimensions d'un univers tridimensionnel (le cadavre). En raison de contraintes techniques (temps de calcul), il n'était en effet pas possible de réaliser des simulations dans un espace à trois dimensions. La modélisation des caractéristiques physiques du cadavre a donc été effectuée en considérant un corps vu de dessus. Cet environnement rend impossible l'intégration au modèle du phénomène de compétition, qui nécessite de connaître la répartition spatiale des individus. Cette limite est cependant peu contraignante dans le cadre des conditions standard imposées par le modèle, pour lesquelles la quantité de ressources (un corps humain de plus de 40 kg) est suffisante pour permettre le développement d'une vaste population de larves.

Gestion des simulation et fusion de données : approximation ou synthèse ?

La seconde problématique soulevée par ce travail tient au traitement de l'information issue des simulations. Ce niveau d'intégration doit en effet gérer de grandes quantités de données tout en limitant le temps de calcul informatique ainsi que les informations transmises à l'utilisateur.

Pour ce faire, le premier niveau d'interprétation est réalisé lors de la comparaison des résultats de chaque simulation avec les prélèvements effectués sur le corps. La méthode employée repose sur un système de règles : une simulation est considérée comme valide tant qu'elle ne viole aucune de ces règles. La redondance du processus (dix répétitions de chaque hypothèse) permet d'intégrer au processus de décision la variabilité de l'écosystème étudié. Le critère de validité choisi (taux de développement de l'insecte simulé le plus âgé égal au taux de développement de l'insecte le plus âgé prélevé sur le corps) est facilement vérifiable, simple et robuste. Il est également similaire aux critères employés lors d'une expertise « classique », et peut être pondéré par l'utilisateur. Cette approche n'exploite en revanche qu'une très faible partie des données produites par chaque simulation : d'autres critères de validité (espèces présentes, proportions des différents stades, abondance d'insectes) pourraient être employés. Si elle renforce *a priori* la qualité de l'analyse, la prise en compte de critères multiples nécessite une interprétation et une pondération de ceux-ci, qui revient de fait souvent à des choix arbitraires. Il nous a donc semblé préférable de se limiter ici à une règle de décision simple et unique, l'expert pouvant à tout moment se référer aux autres données de simulation afin d'interpréter lui-même les autres critères qu'il juge informatifs.

La méthode de parcours de l'espace des hypothèses (heuristique) est un autre élément déterminant pour la qualité du résultat final. Comme nous l'avons vu, chaque

hypothèse testée par le système de simulation correspond à une heure de la mort possible. Idéalement, le système devrait donc tester toutes les heures entre le moment de la disparition (victime vue pour la dernière fois) et celui de la découverte du corps. Le temps de calcul nécessaire au parcours complet de cet espace d'hypothèses est cependant trop important pour permettre de tester chaque heure de la mort possible. L'heuristique développée permet d'optimiser la recherche en testant un sous-ensemble d'hypothèses représentatif. Cette méthode a ainsi été développée afin d'optimiser le temps de calcul informatique (*i.e.* réduire le nombre d'hypothèses à tester) tout en garantissant la fiabilité des résultats. Les simulations réalisées correspondent donc à un sous-ensemble d'hypothèses réajusté en permanence d'après les résultats précédents, et non à un échantillon. On s'assure ainsi qu'aucune hypothèse « importante » n'a été exclue de l'analyse (figure 58). De ce fait, la méthodologie développée permet de calculer une approximation fiable et raisonnée des résultats du modèle.

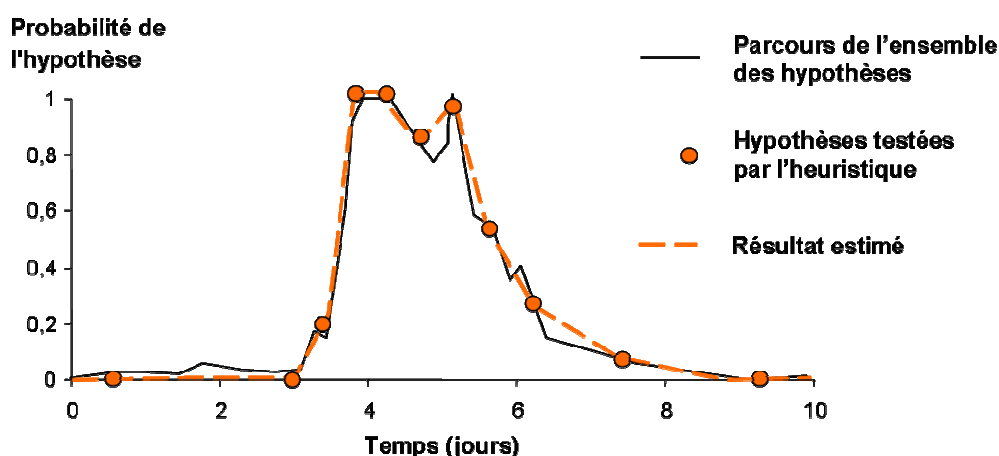


Figure 58

Représentation schématique du résultat (probabilité de l'hypothèse d'une mort au temps t en fonction du temps) obtenu en testant l'ensemble des hypothèses ou en parcourant l'espace à l'aide d'une heuristique.

Enfin, les simulations peuvent être réalisées en intégrant à l'analyse différents sous-modèles, afin de pouvoir tester leur effet sur la datation finale. Il devient alors nécessaire de pouvoir regrouper les estimations fournies par ces différentes sources d'informations en un résultat synthétique. La méthode de fusion de données employée est basée sur la complémentarité et la redondance des informations disponibles. Elle permet également de traiter des sources imparfaites (imprécises, incertaines et incomplètes), et d'intégrer à l'analyse l'incertitude et les éventuels conflits entre sources. Il ne s'agit donc en aucun cas de calculer un résultat moyen, mais bien d'analyser de manière logique les différentes sources. L'exemple de la figure 57 (page 233) fait ainsi ressortir l'existence d'un consensus partagé par les deux méthodes de calcul du temps de développement. En revanche, dans le cas de figure où les deux datations seraient en opposition (disjointes) et les deux méthodes de fiabilité équivalente, la fusion ne pourrait les départager. Le résultat de la fusion privilégie alors le résultat le plus engagé (*i.e.* celui qui tend à se prononcer sur une hypothèse unique), sans pour autant exclure l'avis formulé par l'autre méthode (figure 59) (Veremme *et al.* 2008b). Le résultat final correspond donc à un intervalle beaucoup plus large que dans le cas précédent (figure 57). L'étape de fusion de données constitue donc bien une synthèse logique des différentes sources d'informations.

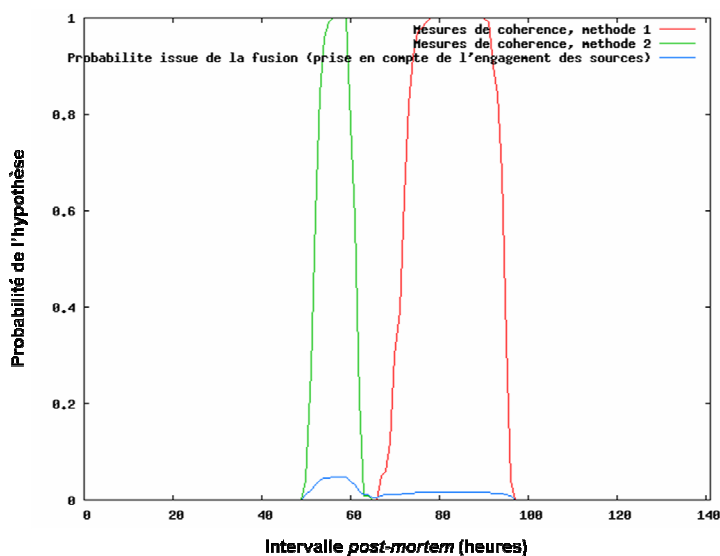


Figure 59

Fusion des IPM estimés par deux méthodes différentes de calcul du temps de développement des insectes.

Utilisation des résultats et rôle de l'expert.

La finalité du programme ForenSeek étant l'aide à la décision dans le cadre d'expertises en entomologie médico-légale, il semble légitime de s'interroger sur la place occupée par l'expert en présence d'un tel outil.

Bien qu'étant en grande partie autonome, le système de simulations et de raisonnements implique une participation active de l'utilisateur. La précision de la datation réalisée est en premier lieu déterminée par la qualité des prélèvements fournis. L'expert doit donc disposer d'échantillons représentatifs et identifier précisément les différents stades et espèces récoltés (*cf.* I.B.2.a.). La liste de ces prélèvements est ensuite saisie, de même que les caractéristiques physiques du corps et les données climatiques. L'utilisateur peut ensuite intervenir en choisissant les sous-modèles qui doivent être pris en compte (*cf.* III.L.1.b.) ainsi que la marge d'erreur acceptée pour la validité d'une simulation. Il peut enfin préciser lors de l'étape de fusion de données la confiance qu'il accorde aux différents résultats (pondération). Enfin, il conserve l'accès à l'ensemble des résultats et reste libre de l'interprétation finale. Il s'agit donc bien d'un outil d'aide à la décision, permettant de faciliter l'analyse des données disponibles et permettant la prise en compte de nouveaux paramètres.

L'utilisateur reste donc seul responsable de la datation fournie, celle-ci dépendant pour partie de ses choix. Le programme fournit en revanche la possibilité d'une analyse exhaustive des hypothèses, et permet ainsi à l'expert d'argumenter ses choix et de corroborer la datation effectuée.

L.2.b. Validation

La simulation d'un système biologique, et *a fortiori* son utilisation dans le cadre d'un système d'aide à la décision, implique la validation du modèle développé. Dans ce contexte, trois types de validations peuvent être distingués : ressemblance, construction et pouvoir prédictif (Kvale 1995). La **validité de ressemblance** repose sur les similitudes entre la dynamique et les résultats du modèle et ceux du système étudié. Les critères de validité employés doivent être le plus objectifs possibles, mais il n'est pas toujours possible de quantifier la ressemblance entre le système d'origine et sa modélisation. La **validité de construction** s'applique dans les cas où la modélisation a été conçue comme une copie exacte de l'existant : les mêmes mécanismes sous-tendent le modèle et son original. Ce type de validation ne préjuge pas nécessairement du bon fonctionnement du modèle. Enfin, la **validité prédictive** est vérifiée lorsqu'un modèle permet d'anticiper l'évolution du système original étudié. Cette validation prédictive ne nécessite cependant pas que le modèle développé soit conforme à l'original. Dans tous les cas, le modèle étant une simplification de la réalité, sa validité reste limitée au niveau de précision et à l'échelle d'observation choisis initialement.

Dans le cas du projet ForenSeek, plusieurs niveaux de validation doivent être considérés (figure 60). La construction du système de simulation du développement des insectes lui confère un premier niveau de validité. Celui-ci a en effet été développé sur la base des données biologiques obtenues expérimentalement (présentées en détails au cours des parties un et deux de cette thèse), et est donc directement construit à partir du système à modéliser. Cette validation est applicable à l'échelle de l'individu, mais ne garantit pas la validité du modèle à l'échelle du groupe (agrégat) ou de la population, qui constituent dans ce travail des structures émergentes (*i.e.*

modélisées de manière indirecte). De plus, certaines constantes du modèle ayant du être ajustées ou généralisées (cf. chapitre précédent), une validation de ressemblance et prédictive de l'ensemble du simulateur est nécessaire.

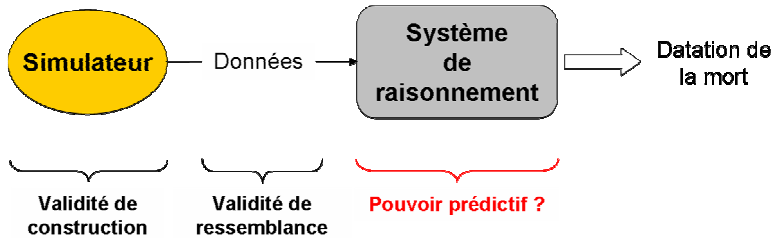


Figure 60

Différents niveaux de validation du programme ForenSeek.

Le second niveau de validation consiste à comparer le simulateur au système naturel de référence afin de tester la ressemblance du modèle. Cette validation peut être quantitative ou qualitative. L'aspect qualitatif concerne le comportement des larves, difficilement quantifiable mais pouvant être validé visuellement par les experts. En effet, bien que le simulateur soit principalement destiné à exporter des données numériques vers le programme d'expertise, une interface graphique permet de visualiser en temps réel les agents et leur environnement. On peut par exemple observer la densité locale d'agents, leurs différentes phases comportementales ou encore la température de l'environnement.

Les comportements simulés par le modèle semblent concordants avec les observations présentes dans la littérature ou réalisées sur le terrain. On observe en effet que les agents larves s'agrègent rapidement pour former une masse, et que celle-ci se déplace lorsque la nourriture diminue (figure 61). On note également que les masses peuvent se scinder lorsqu'elles atteignent une taille critique, et fusionner, les plus gros agrégats « captant » les groupes plus petits qui se trouvent à proximité.

Le phénomène de thigmotactisme* est également reproduit, bien qu'il s'agisse d'un phénomène émergent et non d'un comportement explicitement programmé (Charabidze *et al.* 2008d). Des vidéos de simulations illustrant ces types de comportements collectifs ont été présentées en 2007 dans le cadre du congrès annuel de l'*European Association for Forensic Entomology* (Charabidze *et al.* 2008d).

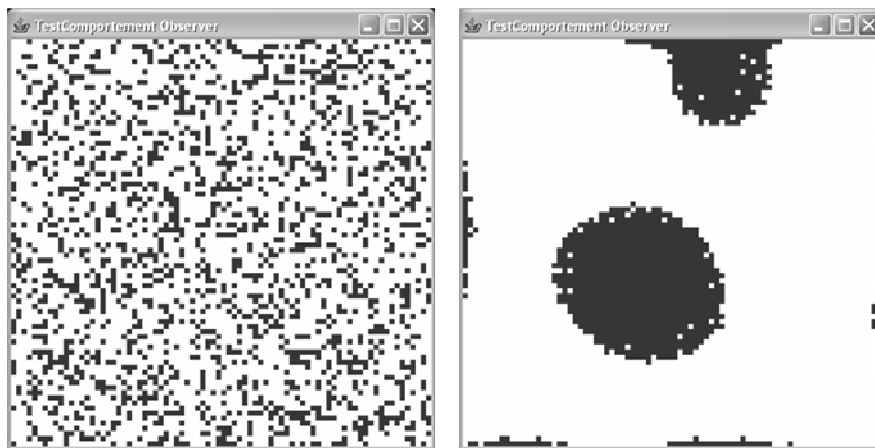


Figure 61

Comportement d'agrégation de 1000 agents larves de stade 2 (chacun représenté par un pixel rouge) au lancement (répartition aléatoire) et après 5h de temps simulé.

Un autre outil de visualisation permet de suivre les proportions et la répartition des différentes phases comportementales des agents larves (figure 62). On observe ainsi que les individus qui s'alimentent se regroupent au centre de l'agrégat avec une très forte densité. En revanche, les larves en phase de digestion s'éloignent de la masse et forment une auréole d'agents peu concentrée. Enfin, les larves cherchant à s'alimenter sont à proximité du centre de la masse et sont peu nombreuses (l'accès à la nourriture étant non limitant dans cet exemple).

* Comportement poussant l'individu à rechercher le maximum de contact, notamment avec les éléments de son environnement.

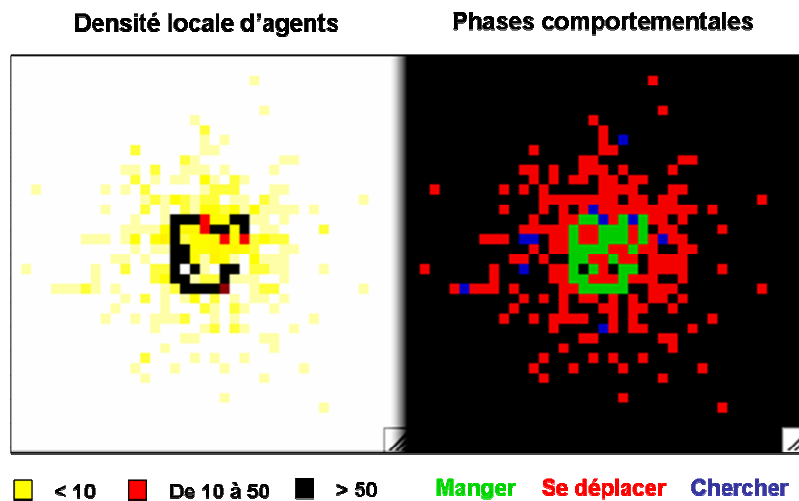


Figure 62

Visualisation de la densité locale de larves et des phases comportementales des individus lors d'une simulation (500 agents de stade L2).

Le modèle développé permet donc de reproduire qualitativement le comportement des larves de diptères calliphoridae sur un corps, et ce à l'échelle des individus comme à celle des agrégats (masses de larves). D'un point de vue quantitatif, l'application permet de calculer avec précision le temps de développement des insectes (III.K.3.a). De même, les résultats numériques des autres sous-modèles (effet des masses de larves, populations de diptères nécrophages, variabilité de la vitesse de développement, inertie thermique du cadavre) ont été individuellement confrontés aux données expérimentales correspondantes et validés (cf. II). En revanche, les résultats fournis par le simulateur lorsque l'ensemble des sous-modèles sont en interactions n'ont pas été validés.

Pour ce faire, la réalisation d'expériences de terrain à grande échelle se révèle nécessaire. L'objectif étant de tester la validité du modèle dans sa globalité, les données expérimentales ne peuvent être obtenues que sur l'écosystème complet. Autrement dit, afin de pouvoir valider les prédictions du simulateur, il est nécessaire de travailler sur les données d'un cadavre placé en extérieur et en présence de populations naturelles de diptères. On pourra ainsi observer les phénomènes de grande échelle pris en compte par le modèle (fluctuation des populations de diptères, variations de la température interne du corps, etc.) ainsi que les effets de leurs interactions.

La réalisation de telles expériences représente de plus l'occasion de valider les résultats du système d'expertise et de fusion de données. Les prélèvements d'insectes effectués sur le corps en fin d'expérience correspondent en effet à un cas « réel » pour lequel le moment de la mort est connu. Il est dans ce cas possible de vérifier si la date de la mort estimée par le programme correspond bien au début de l'expérience. Cette validation prédictive, basée sur des expériences en conditions naturelles, n'a pour le moment pas été réalisée. Cependant, les relations développées au cours de cette thèse avec la société Le Thépault Fils garantissent de disposer d'une enceinte expérimentale adaptée et du matériel nécessaire. Un protocole expérimental préliminaire a été rédigé pour la réalisation de ces expériences.

L'ultime étape de validation consistera à comparer la datation fournie par le programme ForenSeek à la date de la mort dans le cas d'une affaire réelle. Malheureusement, il est rare que la date exacte du décès soit connue à l'issue de l'enquête, et cette validation ne peut donc être effectuée que pour des dossiers déjà jugés et avec aveux. Il représente néanmoins la dernière phase de test du modèle et une excellente méthode de validation.

M. Modélisation : synthèse

La collaboration entre biologistes et informaticiens constitue la clef de voûte de ce projet transversal. Malgré les difficultés engendrées par le travail en équipe pluridisciplinaire, les avancées réalisées démontrent l'intérêt de la thématique choisie ainsi que des échanges entre les deux disciplines.

Les objectifs du projet ont été clairement établis lors des premières étapes de travail : développer un outil d'aide à la décision permettant une datation précise et fiable du moment du décès sur la base des insectes prélevés sur un corps. Cette datation devait donc intégrer de nouveaux paramètres, permettant ainsi une meilleure estimation du temps de développement des insectes. De plus, de nombreuses méthodes de calcul étant disponibles, et la prise en compte de certains paramètres étant facultative, le système devait permettre l'utilisation et la comparaison de ces différentes méthodologies.

La technique de datation habituellement employée par les entomologistes est relativement simple : il s'agit d'un raisonnement rétrodictif partant de la découverte du corps et remontant, grâce au calcul de l'âge des insectes, au moment des premières pontes. Cependant, ce type de raisonnement nécessite une certaine linéarité. Lorsque des boucles de rétroaction contrôlant la température apparaissent, il n'est plus possible de lier directement la durée de développement des insectes au temps. Une connaissance détaillée des conditions dans lesquelles se sont développés les individus est alors nécessaire.

Sur ce constat, un nouveau système de raisonnement a été développé. L'idée est de procéder par essais successifs, c'est-à-dire de vérifier pour différents instants t s'ils peuvent correspondre à l'heure de la mort. Pour ce faire, la première étape consiste à

modéliser le développement des insectes sur un corps. On peut alors simuler l'évolution de ce système, c'est-à-dire surveiller le développement des insectes au cours du temps. Ainsi, une simulation lancée à un instant t permet de prédire quels espèces et stades de développement seraient présents sur le corps au temps $t+x$. Le système détermine ensuite grâce à une heuristique (dérivée des principes de l'abduction) une hypothèse à tester, c'est-à-dire un moment possible de la mort possible. Le programme débute alors une simulation comme si la victime était morte à cette date. Cette hypothèse est comprise entre t_0 (date de disparition de la victime) et t_d (date de découverte du cadavre). Une fois la simulation arrivée à t_d , on compare le taux de développement des insectes simulés à celui des individus prélevés sur le corps lors de sa découverte. Si le niveau de développement est identique, l'hypothèse utilisée pour la simulation est validée ; sinon, elle est rejetée. On teste ainsi un grand nombre de possibilités, jusqu'à obtention d'une courbe allant de t_0 à t_d , et indiquant pour chaque heure si elle peut correspondre au moment du décès ou non. Les courbes obtenues avec plusieurs méthodes différentes peuvent ensuite être fusionnées afin de produire un IPM unique résultant de la comparaison des différentes méthodes de datation.

Ce travail comporte donc trois niveaux d'analyse complémentaires : simulation du développement des insectes sur un corps, gestion des simulations et analyse des résultats et enfin fusion des données. Cette structure permet ainsi une grande souplesse d'utilisation, notamment au niveau de la prise en compte des différents paramètres influant sur le temps de développement des insectes. Ceux-ci sont représentés chacun par un sous-modèle pouvant être activé ou désactivé dans le simulateur. L'utilisateur peut ainsi tester et comparer l'effet de ces paramètres.

La modélisation et le développement d'un outil d'aide à la décision s'inscrivent donc dans la continuité des expériences présentées au cours de la seconde partie de cette thèse. Ils reposent sur l'utilisation de ces données expérimentales afin de concevoir un modèle de l'écosystème « cadavre », et d'en extraire les informations nécessaires à la réalisation d'expertises entomologiques assistées par ordinateur.

La solution logicielle proposée n'en est actuellement qu'au stade de prototype : elle est dépourvue d'interface utilisateurs et des expériences complémentaires demeurent nécessaires afin de valider les datations réalisées. Elle offre cependant de nombreuses perspectives, d'un point de vue théorique comme applicatif.

IV. CONCLUSION

L'entomologie médico-légale s'intéresse à l'utilisation des insectes prélevés sur un corps pour estimer le moment du décès. Affiliée à la médecine légale, cette discipline entomologique se trouve en fait à la croisée entre physiologie, écologie et éthologie. Initiée il y a plus d'un siècle avec les travaux de Mégnin, souvent restreinte à sa partie applicative, l'entomologie médico-légale est relativement peu développée en France.

L'engouement récent pour les séries policières a replacé l'entomologie médico-légale au centre des attentions et apporte un éclairage intéressant sur l'état actuel et les enjeux de la discipline. Comparativement à d'autres techniques scientifiques d'enquête, l'utilisation des insectes nécrophages pour dater le décès est peu exploitée, dans les séries télévisées comme lors des réelles enquêtes. Plusieurs raisons expliquent ce manque. En premier lieu, il est délicat de présenter à l'écran un corps grouillant de larves, sous peine de dégoûter le spectateur. Cette répugnance n'est pas réservée au public des fictions : l'entomologiste se trouve régulièrement confronté aux réticences des enquêteurs, médecins légistes et magistrats. La révulsion engendrée par les insectes nécrophages et leur étude est donc un élément avec lequel il est nécessaire de composer. Le second point justifiant le faible développement de l'entomologie médico-légale est la complexité du sujet. Le recours à cette technique nécessite en effet que les médecins légistes, les techniciens de scène de crime, mais également les magistrats, soient formés spécifiquement à cette méthode, ce qui est encore rare. Enfin, l'activité de recherche soulève une problématique fondamentale : chaque nouvelle étude concernant la biologie des insectes nécrophages vient potentiellement remettre en cause les datations effectuées auparavant. Il semble ainsi

évident que les estimations réalisées il y a cinquante ans en se référant au principe des escouades sont d'une fiabilité limitée...

De plus, bien que les principaux aspects de la biologie des insectes nécrophages pouvant interférer avec la datation de la mort soient désormais connus, un manque cruel de données empêche l'intégration de ces paramètres à l'expertise. Une brève étude de la littérature spécialisée suffit à démontrer l'impact potentiel de phénomènes tels que l'effet des masses de larves, la compétition locale, l'oviposition nocturne ou encore la nature du substrat alimentaire sur l'estimation de l'intervalle *post mortem*. L'analyse des données existantes révèle de plus que l'aspect écosystémique, longtemps relégué au second plan, joue un rôle prépondérant sur le développement de l'entomofaune nécrophage. Cependant, aucune méthode fiable permettant d'intégrer ces problématiques à l'expertise entomologique n'existe actuellement. Les expériences détaillées au cours de cette thèse visent à apporter des réponses concrètes aux chercheurs et experts en entomologie médico-légale.

L'approche développée aborde les différents aspects de la biologie des insectes nécrophages comme les fractions d'un ensemble plus vaste, baptisé « écosystème cadavre ». Pour chaque problématique retenue, une étude bibliographique détaillée a été réalisée, et un protocole adapté a été rédigé sur cette base. Les résultats expérimentaux ont ensuite été analysés afin de répondre aux objectifs de cette étude :

- compréhension et caractérisation de certains aspects de la biologie des insectes nécrophages,
- développement de méthodes permettant la prise en compte de ces nouveaux paramètres lors de la réalisation d'expertises,
- modélisation numérique du développement des insectes sur un corps et mise au point d'un système d'aide à l'expertise.

Le premier aspect de ce travail est l'étude du processus de colonisation d'un corps, du développement des insectes nécrophages et leur comportement. Les données obtenues concernent différents aspects de « l'écosystème cadavre » :

- étude des populations de diptères nécrophages,
- durée du développement des larves,
- vitesse de déplacement des larves,
- analyse de la structure des masses de larves et du phénomène d'auto-organisation,
- mise en évidence de l'inertie thermique d'un cadavre.

Chacun des volets de cette étude peut être considéré isolément, et apporte de précieuses connaissances fondamentales concernant l'entomologie médico-légale, mais plus largement la physiologie et l'éthologie. Considérés conjointement, ces résultats mettent de plus en évidence la complexité de l'écosystème étudié et les interactions permanentes entre les différentes parties qui le composent.

Cette analyse se double d'une étude plus applicative visant à estimer, pour chaque paramètre, son impact potentiel lors de la datation d'un décès. Les résultats démontrent qu'un biais important dans l'estimation de l'intervalle *post mortem* (IPM) peut apparaître lorsque les différents aspects de la biologie des insectes nécrophages ne sont pas pris en compte. Des méthodes adaptées ont donc été proposées afin d'améliorer la précision et la fiabilité des datations. La multitude des paramètres à analyser et leurs interdépendances compliquent cependant fortement le calcul de l'IPM, et mettent en évidence les limites du processus traditionnel d'expertise.

La dernière partie de ce travail s'intéresse donc à l'utilisation de l'informatique afin de développer un outil de simulation et d'aide à l'expertise. Cet axe de recherche constitue à la fois une synthèse des résultats expérimentaux précédents et une

réponse aux problématiques nouvelles soulevées par l'approche écosystémique de l'entomologie médico-légale. Les données obtenues précédemment ont permis de développer un modèle réaliste, tant au niveau du comportement des larves que du calcul de leur temps de développement. La présence de multiples sous-modèles fait de plus directement écho aux différentes parties de l'écosystème analysées lors de la partie expérimentale. Cette architecture offre à l'utilisateur la possibilité de tester l'effet des différents paramètres contrôlant le développement des larves nécrophages.

Outre les facilités d'analyse qu'il apporte, ce modèle constitue la base d'un système plus vaste d'aide à l'expertise baptisé ForenSeek. Grâce à ce programme, les résultats de simulations peuvent être comparés aux prélèvements effectués sur un corps, afin de vérifier la similitude entre les insectes observés et ceux simulés *in silico*. Le système d'analyse et de raisonnement développé permet de gérer les résultats de ces comparaisons, afin de détacher un ensemble d'hypothèses permettant l'adéquation simulation/observations. Cette approche permet d'explorer l'espace des hypothèses, non seulement d'un point de vue temporel, mais plus largement en intégrant à l'analyse les différents facteurs pouvant influencer sur la datation. Le résultat final constitue donc une estimation fiable et exhaustive de l'heure de la mort et de sa marge d'erreur.

Ainsi, bien que faisant appel à la fois à l'expérimentation et à la modélisation, les deux parties de cette étude se réfèrent à une seule et même problématique : la caractérisation des facteurs influant sur le développement des diptères calliphoridae nécrophages et l'utilisation de ces données en vue d'améliorer les méthodes d'estimation de l'intervalle *post mortem*. Les résultats obtenus de part et d'autre attestent de la pertinence et de la nécessité de poursuivre dans cette voie.

V. PERSPECTIVES

Outre les expériences complémentaires nécessaires à la validation du modèle, de nombreuses perspectives sont liées à cette recherche.

D'un point de vue global, le travail réalisé concernant **le développement d'un outil d'aide à l'expertise** en entomologie médico-légale n'en est qu'à ses débuts. Le programme est pour l'instant au stade de prototype : certaines parties nécessitent d'être validées, tandis que d'autres sont encore en cours de développement. Malgré cela, le travail déjà effectué a permis de définir une architecture de simulation et d'analyse des données cohérente. Celle-ci pourrait être appliquée plus largement à l'étude de la colonisation des milieux biodégradables : charpentes (termites), restes alimentaires (blattes), excréments d'herbivores (coprophages), etc. La protection des cultures ou des denrées alimentaires stockées contre les insectes ravageurs représente également un débouché potentiel. Dans le domaine médical, la modélisation des cycles de développement des insectes et des interactions avec leur environnement pourrait être appliquée au contrôle des parasites et des vecteurs de pathogènes. Bien que prometteuses, ces perspectives sont néanmoins conditionnées à la disponibilité des données biologiques correspondantes, qui constituent la clef d'une modélisation efficace.

Le programme est actuellement dépourvu d'**interface utilisateur** : la réalisation de tests, et *a fortiori* le lancement d'un calcul d'IPM, nécessite de modifier directement le code de l'application. Afin de faciliter ces démarches, la mise en place d'une interface graphique de gestion des paramètres de simulation apparaît comme une étape nécessaire au développement du projet ForenSeek. Il serait par la suite possible de mettre en ligne (avec droits d'accès restreints) une version de test destinée à la

communauté des experts en entomologie médico-légale. Cette consultation permettrait de recueillir les avis d'autres spécialistes du domaine, mais également de tester le potentiel d'une telle application. Il semble en effet nécessaire d'impliquer les futurs utilisateurs dans la conception et l'évaluation de l'outil développé. Dans cette optique, **la base de données** développée pour stocker les valeurs destinées à alimenter le modèle de calcul du temps de développement pourrait évoluer rapidement vers une version en ligne, accessible à tous. Les informations stockées dans cette base intéressent en effet l'ensemble des scientifiques travaillant dans le domaine de l'entomologie médico-légale, des myiases et plus généralement un grand nombre d'entomologistes. Le site **www.forensseek.org**, vitrine en ligne du projet ForenSeek, pourrait permettre d'héberger cet outil. Il reste cependant nécessaire de développer une interface sécurisée permettant de restreindre l'accès aux formulaires de saisie de données.

Plus généralement, les différentes parties du projet ForenSeek apportent, chacune dans leur domaine, de nombreuses perspectives d'évolutions et d'applications. Les recherches développées sur **le raisonnement abductif** ont une portée bien plus large que le cadre applicatif présenté ici. Elles sont notamment transférables aux problèmes de diagnostic dans les domaines de l'industrie et de la santé humaine, et pourraient trouver des applications potentielles dans le cadre du contrôle par le produit (Morvan *et al.* 2008d). **La fusion de données** a déjà fait l'objet d'études théoriques et appliquées : elle a cependant été ici employée pour la première fois en liaison directe avec un système multi-agents de simulation et de raisonnement. Les méthodes développées devraient donc permettre d'appliquer la théorie des fonctions de croyance à de nouveaux domaines. **La modélisation par automates cellulaires** du comportement thermique des cadavres a démontré sa pertinence et

son efficacité. Actuellement cantonnée à un rôle de simulation, son intégration à un système de raisonnement abductif devrait permettre de développer un nouvel outil de datation de la mort basé sur la simulation de l'évolution de la température rectale. Un article sur ce sujet, destiné à la revue *Forensic Science International*, a été rédigé en collaboration avec un médecin légiste et devrait être prochainement soumis pour publication.

Concernant les aspects purement biologiques de cette étude, les travaux réalisés débouchent également sur de nouvelles voies de recherche, mais également sur des possibilités applicatives. Ainsi, **le suivi des populations de diptères nécrophages** ne concerne pas uniquement des applications en entomologie médico-légale. L'utilisation de ces insectes comme indicateurs du réchauffement climatique ou comme vecteurs de parasites nécessite en effet une bonne connaissance de la dynamique saisonnière des populations et des préférences écologiques spécifiques (Wall *et al.* 2002, Follet-Dumoulin 2004, Weber 2007). La réalisation de piégeages, actuellement limitée au site de l'Institut de Médecine Légale de Lille, pourrait également être étendue à des zones voisines afin de tester l'impact de l'urbanisme et des corridors écologiques sur la circulation des populations de diptères. **L'étude de l'agrégation des larves** de diptères calliphoridae offre aussi de très nombreuses perspectives de recherche. Bien que ce comportement soit couramment observé et mentionné dans la littérature, il n'a jamais été traité en détails. La nature du signal qui le porte (thigmotactisme interindividuel, hydrocarbures cuticulaires, phéromones, etc.) reste à déterminer. La cinétique d'agrégation est également inconnue : des études plus détaillées permettraient notamment de préciser quels sont les paramètres permettant à un individu de rejoindre un groupe et d'en sortir. Le développement d'un modèle physique (maquette) permettant de reproduire la formation de la structure « en

hérisson » (cf. II.G.2.a.) au sein des masses de larves laisse entrevoir de potentielles applications industrielles. En effet, la **structure auto-organisée** adoptée par les larves de diptères nécrophages au sein de grands agrégats leur permet d'optimiser l'accès aux ressources ainsi que les bénéfices du dégagement thermique. La compréhension, grâce à un modèle adapté, des mécanismes sous-tendant cette organisation pourrait alors être appliquée à d'autres problématiques liées à l'optimisation de l'espace et des ressources.

Initialement destinées à améliorer la connaissance de la biologie des insectes nécrophages et à développer un outil informatique d'aide à la décision améliorant la précision et la fiabilité des expertises entomologiques, les recherches réalisées dans le cadre de ce doctorat laissent entrevoir de nombreux développements. Ces perspectives couvrent les domaines de l'informatique et de la modélisation, de la biologie fondamentale et de l'entomologie médico-légale. Les différentes collaborations initiées au cours de ce doctorat devraient permettre de développer plusieurs de ces thématiques de recherche.

BIBLIOGRAPHIE

- Allen, J. C. **1976**. A modified sine wave method for calculating degree days. *Environ. Entomol.* 5: 388-96.
- Althaus, L., and C. Henssge. **1999**. Rectal temperature time of death nomogram: sudden change of ambient temperature. *Forensic Sci. Int.* 99: 171-78.
- Ame, J. M., J. Halloy, C. Rivault, C. Detrain, and J. L. Deneubourg. **2006**. Collegial decision making based on social amplification leads to optimal group formation. *PNAS* 103: 5835-40.
- Amendt, J., R. Zehner, and F. Reckel. **2008**. The nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Central Europe and its forensic implications. *Forensic Sci. Int.* 175: 61-64.
- Amendt, J., C. Campobasso, E. Gaudry, C. Reiter, H. LeBlanc, and M. J. R. Hall. **2006**. Best practice in forensic entomology : standards and guidelines. *Int. J. of Legal Medicine*: 1-15.
- Ames, C., and B. Turner. **2003**. Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Med. Vet. Entomol.* 17: 178-86.
- Anderson, G. S. **1999**. Wildlife forensic entomology: determining time of death in two illegally killed black bear cubs. *J. Forensic Sci.* 44: 856-9.
- Anderson, G. S., and S. L. VanLaerhoven. **1996**. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. *J. Forensic Sci.* 41: 617-25.
- Archer, M. S. **2003**. Annual variation in arrival and departure times of carrion insects at carcasses: implications for succession studies in forensic entomology. *Australian J. Zool.* 51: 569-576.
- Archer, M. S., and M. A. Elgar. **2003**. Female breeding-site preferences and larval feeding strategies of carrion-breeding Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera): a quantitative analysis. *Australian J. Zool.* 51.
- Arnaldos, M. I., E. Lopez-Gallego, J. J. Presa, and M. D. Garcia. **2008**. Daily activity pattern of sarcosaprophagous diptera on pig carcasses in southeastern iberian peninsula, 6th meeting of the European Association for Forensic Entomology, Kolybari/Crete.
- Arnaldos, M. I., M. D. Garcia, E. Romera, J. J. Presa, and A. Luna. **2005**. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Sci. Int.* 149: 57-65.
- Arnold, C. Y. **1959**. The determination and significance of the base temperature in a linear heat unit system. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 74: 430-35.
- Arnott, S., and B. Turner. Post-feeding larval behaviour in the blowfly, *Calliphora vicina*: Effects on post-mortem interval estimates. *Forensic Sci. Int.* In Press, Corrected Proof.
- Ashworth, J. R., and R. Wall. **1994**. Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. *Med. Vet. Entomol.* 8: 303-9.
- Aturaliya, S., and A. Lukasewycz. **1999**. Experimental forensic and bioanthropological aspects of soft tissue taphonomy: 1. Factors influencing postmortem tissue desiccation rate. *J. Forensic Sciences* 44: 893-96.
- Avila, F., and L. Goff. **1998**. Arthropods succession patterns onto burnt carrion in two contrasting habitats in the Hawaiian islands. *J. Forensic Sci.* 43: 581-86.
- Barton Brown, L., R. J. Bartell, and H. H. Shorey. **1969**. Pheromone-mediated behaviour leading to group oviposition in the blowfly *Lucilia cuprina*. *J. Insect. Physiol.* 15: 1003-1014.
- Barton Brown, L., R. J. Bartell, A. C. M. Van Gerwen, and L. A. Lawrence. **1976**. Relationship between protein ingestion and sexual receptivity in females of the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina*. *Physiological entomology* 1.
- Baxter, J. A., and P. E. Morisson. **1983**. Dynamics of growth modified by larval population density in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*. *Canadian J. Zoology* 61: 512-17.
- Benecke, M. **2001**. A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 120: 2-14.
- Benecke, M. **2004**. Arthropods and Corpses. *Forensic Pathology Reviews* 2: 207-240.

- Benecke, M., and R. Lessig. **2001**. Child neglect and forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 120: 155-159.
- Beurier, G., O. Simonin, and J. Ferber. **2003**. Un modèle de Système Multi-Agents pour l'Emergence Multi-Niveaux., actes des Journées Francophones sur les Systèmes Multi-Agents.
- Bourel, B., V. Hedouin, and D. Gosset. **2001**. Entomologie médico-légale appliquée à un cas de momification. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 36: 287-90.
- Bourel, B., B. Callet, V. Hedouin, and D. Gosset. **2003**. Flies eggs: a new method for the estimation of short-term post-mortem interval? *Forensic Sci. Int.* 135: 27-34.
- Bourel, B., L. Martin-Bouyer, V. Hedouin, J. C. Cailliez, D. Derout, and D. Gosset. **1999a**. Necrophilous insect succession on rabbit carrion in sand dune habitats in northern France. *J. Med. Entomol.* 36: 420-25.
- Bourel, B., V. Hedouin, L. Martin-Bouyer, A. Becart, G. Tournel, M. Deveaux, and D. Gosset. **1999b**. Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *J Forensic Sci.* 44: 354-8.
- Boxall, A. B., T. N. Sheratt, V. Pudner, and L. J. Pope. **2007**. A screening level index for assessing the impacts of veterinary medicines on dung flies. *Env. Science Technology* 41: 2630-5.
- Braack, L. E. **1987**. Community dynamics of carrion-attendant arthropods in tropical african woodland. *Oecologia* 72: 402-9.
- Broughan, J. M., and R. Wall. **2007**. Fly abundance and climate as determinants of sheep blowfly strike incident in southwest England. *Med. Vet. Entomology* 21: 231-38.
- Brustel, H. **2001**. Coléoptères saproxyliques et valeur biologique des forêt françaises, perspectives pour la conservation du patrimoine naturel. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse* : 327 pp.
- Byrd, J. H., and J. L. Castner [eds.]. **2001**. Forensic entomology : the utility of arthropods in legal investigations., CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, 418pp.
- Byrd, J. H., Allen, J.C. **2001a**. Computer modeling of insect growth and its application to forensic entomology. in *Forensic entomology : the utility of arthropods in legal investigations.*, Boca Raton, Florida, CRC Press LLC.
- Byrd, J. H. A., J.C. **2001b**. The development of the black blow fly, *Phormia regina* (Meigen). *Forensic Sci. Int.* 120(1-2): 79-88.
- Byrd, J. H. B., J.F. **1998**. Effects of temperature on *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Diptera: Sarcophagidae) development. *J. Med. Entomol.* 35: 694-8.
- Campan, M. **1977**. Orientation behavior of *Calliphora vomitoria* (Diptera) females to the scent of the laying site. Role of the ovary. *Gen. Comp. Endocrinol.* 31: 442-50.
- Campobasso, C. P., J. G. Linville, J. D. Wells, and F. Introna. **2005**. Forensic genetic analysis of insect gut contents. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 26: 161-5.
- Campobasso, C. P., G. Di Vella, and F. Introna. **2001**. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci. Int.* 120: 18-27.
- Carter, D. O., and M. Tibbett. **2006**. The decomposition of skeletal muscle tissue (*Ovis aries*) in a sandy loam soil incubated at different temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1139-45.
- Carter, D. O., D. Yellowlees, and M. Tibbett. **2007**. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften* 94: 12-24.
- Charabidze, D., B. Bourel, and D. Gosset. **2005**. Behavioural analysis of the repellent effect of various substances on necrophagous insects using olfactometry, *4th annual meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Lausanne (Switzerland).
- Charabidze, D., B. Bourel, and D. Gosset. **2007**. Temperature increase and maggot mass: what is really measured?, *6th annual meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bruxelles (Belgium).
- Charabidze, D., D. Gosset, and B. Bourel. **2008a**. New observations on temperature increase due to maggot mass effect, *23rd International Congress of Entomology*, Durban (South Africa).
- Charabidze, D., B. Bourel, H. Leblanc, V. Hedouin, and D. Gosset. **2008b**. Effect of body length and temperature on the crawling speed of *Protophormia terraenovae* larvae (Robineau-Desvoidy) (Diptera Calliphoridae). *J. Insect Physiology* 54: 529-33.

- Charabidze, D., G. Morvan, A. Veremme, B. Bourel, and D. Gosset. **2008c**. Le Thepault: forensic entomology experiments in a French maggot's farm, *7th annual meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Kolymbary (Greece).
- Charabidze, D., G. Morvan, D. Dupont, D. Gosset, and B. Bourel. **2008d**. ForenSeek : un programme de simulation du développement des insectes nécrophages dédié à l'entomologie médico-légale. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* In press.
- Charabidze, D., B. Bourel, G. Morvan, V. Hedouin, and D. Gosset. **2008e**. Forenseek, un programme de simulation et d'expertise dédié à l'entomologie médico-légale. *J. MédecineLeg., Droit Med., Victimologie & Dommage Corporel*, In press.
- Charabidze, D., B. Bourel, D. Dupont, P. Biela, V. Hedouin, and D. Gosset. **2006**. Conception of data base and decision support system (DSS) for forensic entomology, *5th annual meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bari (Italia).
- Christopherson, C., and D. L. Gigo. **1997**. Foraging by food deprived larvae of *Neobellieria bullata* (Diptera: Sarcophagidae). *J. Forensic Sci.* 42: 71-3.
- Clark, K., L. Evans, and R. Wall. **2006**. Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata*, on different body tissues. *Forensic Sci. Int.* 156: 145-9.
- Clarkson, C. A., N. R. Hobischak, and G. S. Anderson. **2004**. A comparison of the development rate of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) raised under constant and fluctuating temperature regimes. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* 37: 95-101.
- Dallwitz, R. **1984**. The influence of constant and fluctuating temperatures on development rate and survival of pupae of the Australian blowfly *Lucilia cuprina*. *Entomol. Exp. App.* 36: 89-95.
- Davies, L. **1990**. Species composition and larval habitats of blowfly (Calliphoridae) populations in upland areas in England and Wales. *Med. Vet. Entomology* 4: 61-68.
- Davies, L. **1999**. Seasonal and spatial changes in blowfly production from small and large carcasses at Durham in lowland northeast England. *Med. Vet. Entomol.* 13: 245-51.
- Day, D. M., and J. F. Wallman. **2006a**. Width as an alternative measurement to length for post-mortem interval estimations using *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Forensic Sci. Int.* 159: 158-167.
- Day, D. M., and J. F. Wallman. **2006b**. Influence of substrate tissue type on larval growth in *Calliphora augur* and *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). *J. Forensic Sci.* 51: 657-663.
- De Andrade, J. B., Rocha, F.A., Rodrigues, P., Rosa, G.S., Faria L. B., Von Zuben, C.J., Rossi, M.N., Godoy, W.A. **2002**. Larval dispersal and predation in experimental populations of *Chrysomya albiceps* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Mem Inst. Oswaldo Cruz.* 97: 1137-40.
- De Jong, G. **1976**. A model of competition for food. I. Frequency-dependent viabilities. *Am. Naturalist* 110: 1013-1027.
- Dekeirsschieter, J., F. Verheggen, M. Gohy, G. Lognay, and E. Haubruge. **2008**. What smell a decaying pig's carcasses, *7th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Kolymbari (Greece).
- Deneubourg, J. L., A. Lioni, and C. Detrain. **2002**. Dynamics of aggregation and emergence of cooperation. *Biol. Bull* 202: 262-67.
- Denno, R. F., and W. R. Cothran. **1976**. Competitive interactions and ecological strategies of Sarcophagid and Calliphorid flies inhabiting rabbit carrion. *Ann. Ent. Soc. America* 69: 109-113.
- Dent, B. B., S. L. Forbes, and B. H. Stuart. **2004**. Review of human decomposition processes in soil. *Env. Geology* 45: 576-585.
- Dent, D. R. **1997**. Quantifying insect populations, *In* D. R. Dent and M. P. Walton [eds.], *Methods in ecological and agricultural entomology*, 387pp.
- Deonier, C. C. **1940**. Carcass temperature and their relation to winter Blowfly populations and activity in the southwest. *J. Economic Entomology* 33: 166-170.
- Digby, P. S. B. **1958**. Flight activity of the blowfly, *Calliphora erythrocephalla*, in relation to wind speed, with special reference to adaptation. *J. Exp. Biology* 35: 776-95.
- DiLuise, E., S. Spitaleri, C. Romano, E. Ginestra, P. Magni, and L. Saravo. **2007**. Human DNA typing from a mosquito (Diptera: Culicidae) blood meal found on a crime scene, *6th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bruxelles (Belgium).

- Dos Reis, S. F., C. J. Von Zuben, and W. A. C. Godoy. **1999**. Larval aggregation and competition for food in experimental populations of *Chrysomya putoria* (Wied.) and *Cochliomyia macellaria* (F.) (Dipt., Calliphoridae). *J. Applied Entomology* 123: 485-489.
- Drake, H. L., and M. A. Horn. **2007**. As the worm turns: the earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes. *Annual Review Microbiology* 61: 169-89.
- Dussutour, A., J. L. Deneubourg, and V. Fourcassié. **2005**. Amplification of individual preferences in a social context: the case of wall-following in ants. *Proc. R. Soc. B.* 272: 705-14.
- Efremov, E. A. **1940**. Taphonomy: a new branch of paleontology. *Pan-Amer Geol* 74: 81-93.
- Erzinçlioglu, Z. **1990**. On the interpretation of maggot evidence in forensic cases. *Med. Sci. Law* 30: 65-6.
- Erzinçlioglu, Z. **1986**. Areas of research in forensic entomology. *Med. Sci. Law* 26: 273-8.
- Erzinçlioglu, Z. **1989**. Entomology, zoology and forensic science: the need for expansion. *Forensic Sci. Int.* 43: 209-13.
- Erzinçlioglu, Z. **1996**. Blowflies. *The Richmond Publishing Co. Ltd*, Slough, 71pp.
- Fabre, J. H. **1923**. Souvenirs entomologiques, Tome 10, Delgrave Ed., Paris, 428pp.
- Faria, L. D., W. A. Orsil, L. A. Trinca, and W. A. Godoy. **1999**. Larval predation by *Chrysomya albiceps* on *Cochliomyia macellaria*, *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria*, *Entomologia Experimentalis et Applicata* 90: 149-155.
- Faria, L. D., and W. A. Godoy. **2001**. Prey choice by facultative predator larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 96: 875-8.
- Faria, L. D., L. A. Trinca, and W. A. Godoy. **2004a**. Cannibalistic behavior and functional response in *Chrysomya albiceps* (Diptera : Calliphoridae). *J. Insect Behavior* 17: 251-61.
- Faria, L. D., W. A. Godoy, and L. A. Trinca. **2004b**. Dynamics of handling time and functional response by larvae of *Chrysomya albiceps* (Dipt., Calliphoridae) on different prey species. *J. Applied Entomology* 128: 432-436.
- Faucherre, J., and D. Cherix. **1998**. Contribution à la connaissance des diptères nécrophages du Jorat (Vaud, Suisse). *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.* 71: 211-17.
- Fenton, A., R. Wall, and N. French. **1998**. The incidence of sheep strike by *Lucilia sericata* on sheep farms in Britain: a simulation model. *Vet. Parasitol.* 76: 211-28.
- Fenton, A., R. Wall, and N. P. French. **1999a**. Oviposition aggregation by the blowfly *Lucilia cuprina*. *Med. Vet. Entomology* 13: 453-456.
- Fenton, A., R. Wall, and N. P. French. **1999b**. The effects of oviposition aggregation on the incidence of sheep blowfly strike. *Vet. Parasitol.* 83: 137-50.
- Fisher, P., R. Wall, and J. R. Ashworth. **1998**. Attraction of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera : Calliphoridae) to carrion bait in the field. *Bull. Entomol. Research* 86: 611-616.
- Follet-Dumoulin, A. **2004**. Mise en évidence du rôle des insectes dans le transport de *Cryptosporidium parvum* : de l'approche moléculaire à la création d'un outil de simulation de la circulation du parasite dans l'environnement, Thèse de l'université LILLE 2 Droit & Santé, LILLE, 228pp.
- Gardner, M. **1970**. The fantastic combinations of John Conway's new solitaire game « life », *Scientific American* 233, 120-23,.
- Godoy, W. A., C. J. Von Zuben, S. F. Dos Reis, and F. J. Von Zuben. **1996**. Theoretical estimates of consumable food and probability of acquiring food in larvae of *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 91: 257-64.
- Goff, M. L., and W. D. Lord. **1994**. Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 15: 51-7.
- Gomes, L., and C. J. Von Zuben. **2005**. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 155: 61-64.
- Gomes, L., W. Godoy, and C. Von Zuben. **2006**. A review of postfeeding larval dispersal in blowflies: implications for forensic entomology. *Naturwissenschaften* 93: 1-9.
- Goodbrod, J. R., and M. L. Goff. **1990**. Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture. *J. Med. Entomology* 27: 338-43.

- Gosselin, M., and Y. Braet. **2008**. Comparative analysis of larval developments of *Lucilia sericata* Meigen (Diptera Calliphoridae) from different geographic populations at constant temperatures, *23rd Int. Congress Entomology*, Durban (South Africa).
- Gosselin, M., J. Karapetian, Y. Braet, and T. Boonen. **2006**. Forensic entomology: beyond simple temperature measurements, *5th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bari (Italia).
- Goulson, D., L. C. Derwent, M. L. E. Hanley, D. W. Dunn, and S. R. Abolins. **2005**. Predicting calyprate fly populations from the weather and probable consequences of climate change. *J. Applied Ecology* 42: 795-804.
- Grassberger, M., and C. Reiter. **2001**. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen and isomorphen diagram. *Forensic Sci. Int.* 120: 32-36.
- Grassberger, M., and C. Frank. **2004**. Initial study of arthropods succession on pig carrion in a central european urban habit. *J. Med. Entomology* 41: 511-523.
- Grassberger, M., M. Salona, J. Manlove, V. Stoukas, and J. Amendt. **2007**. *Calliphora vicina* from Austria, Spain, Greece and Scotland - are there any differences in development?, *6th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bruxelles (Belgium).
- Grassberger, M., Reiter, C. **2002a**. Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci. Int.* 128: 177-182.
- Grassberger, M. D., and M. D. Reiter. **2002b**. Effect of temperature on development of *Liopygia (=Sarcophaga) argyrostoma* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Sarcophagidae) and its forensic implications. *J. Forensic Sci.* 47: 1-5.
- Greenberg, B. **1990**. Nocturnal oviposition behavior of blow flies (Diptera: Calliphoridae). *J Med. Entomol.* 27: 807-10.
- Greenberg, B. **1991**. Flies as forensic indicators. *J. Med. Entomology* 28: 565-77.
- Gruner, S. V., D. H. Slone, and J. L. Capinera. **2007**. Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with pig carrion in rural north-central florida. *J. Med. Entomology* 44: 509-515.
- Gutknecht, O., and J. Ferber. **1998**. Un méta-modèle organisationnel pour l'analyse, la conception et l'exécution de systèmes multi-agents, *Journées Francophones pour l'Intelligence Artificielle Distribuée et les Systèmes Multi-Agents*, Nancy (France).
- Hafez, M. **1948**. On the behaviour and sensory physiology of the house-fly larva, *Musca domestica* L. 1. Feeding stage. *Parasitology* 40: 215-236.
- Haglund, W. D., and M. H. Sorg. **1997**. Forensic Taphonomy: the postmortem fate of human remains. *CRC Press*, Boca Raton, 884pp.
- Hagstrum, D., and G. Milliken. **1991**. Modeling Differences in insect developmental times between Constant and Fluctuating Temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84: 369-379.
- Hainsworth, F. R., G. Fisher, and E. Precup. **1990**. Rates of energy processing by blowflies : the uses for a joule vary with food quality and quantity. *J. Exp. Biol* 150: 257-68.
- Hall, M. J. R. **1995**. Trapping the flies that cause myiasis: their response to host-stimuli. *Annals Trop. Med. Parasitology* 89: 333-57.
- Hall, M. J. R., and A. P. Brandt. **2006**. The use of thermal imaging to study the effect of larval masses on the development of blowfly larvae, *5th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bari (Italia).
- Hall, M. J. R., R. A. Hutchinson, R. Farkas, Z. J. O. Adams, and N. P. Wyatt. **2003**. A comparison of *Lucitraps* and sticky targets for sampling the blowfly *Lucilia sericata*. *Med. Vet. Entomology* 17: 280-287.
- Hall, R. D., K. E. **1993**. Length of time after death: effect on attraction and oviposition or larviposition of midsummer blowflies (Diptera: Calliphoridae) and Fleshflies (Diptera: Sarcophagidae) of medicolegal importance in Missouri. *Ecology Population Biology* 86: 589-93.
- Halley, B. A., W. J. VandenHeuvel, and P. G. Wislocki. **1993**. Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. *Vet. Parasitology* 48: 109-25.
- Halloy, J., G. Sempo, G. Caprari, C. Rivault, M. Asadpour, F. Tache, I. Said, V. Durier, S. Canonge, J. M. Ame, C. Detrain, N. Correll, A. Martinoli, F. Mondada, R. Siegwart, and

- J. L. Deneubourg. **2007**. Social integration of robots into groups of cockroaches to control self-organized choices. *Science* 318: 1155-1158.
- Hanski, I. **1976**. Assimilation by *Lucilia illustris* (Diptera) larvae in constant and changing temperatures. *Oikos* 27: 288-299.
- Hanski, I. **1977**. An interpolation model of assimilation by larvae of the blowfly *Lucilia illustris* (Calliphoridae) in changing temperatures. *Oikos* 28: 187-195.
- Haskell, N. **2007**. Confirmed time of death and corresponding PMI estimates from insect evidence recovered from murder victims, *6th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Bruxelles (Belgium).
- Haskell, N., and E. P. Catts. **1990**. Entomology and death, a procedural guide. Joyce's Print Shop, Clemson, 182pp.
- Hayes, E. J., R. Wall, and K. E. Smith. **1998**. Measurement of age and population age structure in the blowfly, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *J. Insect Physiology* 44: 895-901.
- Hayes, E. J., R. Wall, and K. E. Smith. **1999**. Mortality rate, reproductive output, and trap response bias in populations of the blowfly *Lucilia sericata*. *Ecological Entomology* 24: 300-307.
- Hedouin, V., L. Martin-Bouyer, B. Bourel, E. Révuelta, and D. Gosset. **1996**. Influence de la température sur la ponte des diptères. *J. Médecine Leg., Droit Med., Victimologie & Dommage Corporel* 39: 153-7.
- Henning, J. S., F. R. ; Pfeiffer, D. U. ; Davies P. **2005**. Influence of weather conditions on fly abundance and its implications for transmission of rabbit haemorrhagic disease virus in the north island of New Zealand. *Med. Vet. Entomology* 19: 251-262.
- Henssge, C. **1988**. Death time estimation in case work. 1. The rectal temperature time of death nomogram. *Forensic Sci. Int.* 38: 209-236.
- Henssge, C. **1992**. Rectal temperature time of death nomogram: dependence of corrective factors on the body weight under stronger thermic insulation conditions. *Forensic Sci. Int.* 54: 51-66.
- Henssge, C., and B. Madea. **2004**. Estimation of the time since death in the early post-mortem period. *Forensic Sci. Int.* 144: 167-75.
- Hewadikaram, K. A., and M. L. Goff. **1991**. Effect of carcass size on rate of decomposition and arthropod succession patterns. *American J. Forensic Med. Pathology* 12: 235-40.
- Higley, L. G., and N. Haskell. **2001**. Insect development and forensic entomology, pp. 287-302. In J. H. Byrd and J. L. Castner [eds.], *Forensic entomology. The utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press LLC, Boca Raton, 440pp.
- Higley, L., L. P. Pedigo, and K. R. Ostlie. **1986**. DEGDAY: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. *Env. Entomol.* 15: 999-1016.
- Hobson, R. P. **1931**. Studies on the nutrition of blow-fly larvae: I. Structure and function of the alimentary tract. *J. Exp. Biology* 8: 109-23.
- Hobson, R. P. **1932a**. Studies on the nutrition of blow-fly larvae: III. The liquefaction of muscle. *J. Exp. Biology* 9: 359-65.
- Hobson, R. P. **1932b**. Studies on the nutrition of blow-fly larvae: IV. The normal role of micro-organisms in larval growth. *J. Exp. Biology* 9: 366-77.
- Hobson, R. P. **1932c**. Studies on the nutrition of blow-fly larvae: II. The role of the intestinal flora in digestion. *J. Exp. Biology* 9: 128-38.
- Holt, J., and R. A. Cheke. **2002**. Modelling, pp. 351-78. In D. R. Dent and M. P. Walton [eds.], *Methods in ecological and agricultural entomology*. CABI, Wallingford, 387pp.
- Huntington, T. E., L. G. Higley, and F. P. Baxendale. **2007**. Maggot Development during morgue storage and its effect on estimating the post-mortem interval. *J. Forensic Sci.* 52: 453-458.
- Hwang, C., Turner, B.D. **2005**. Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas. *Med. Vet. Entomol.* 19: 379-91.
- Iglesias, L., C. Saumell, A. Fernández, L. Fusé, A. Lifschitz, E. Rodríguez, P. Steffan, and C. Fiel. **2006**. Environmental impact of ivermectin excreted by cattle treated in autumn on dung fauna and degradation of faeces on pasture. *Parasitology Research* 100: 93-102.

- Ikemoto, T., and K. Takai. **2000**. A new linearized formula for the law of total effective temperature and the evaluation of line-fitting methods with both variables subject to error. *Environ. Entomol.* 29: 671-682.
- Ireland, S., Turner, B. **2006**. The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Sci. Int.* 159: 175-181.
- Ives, A. R. **1989**. The optimal clutch size when many females oviposit per patch. *The Am. Naturalist* 133: 671-87.
- Ives, A. R. **1991**. Aggregation and coexistence in a carrion fly community. *Ecological Monographs* 61: 75-94.
- Joplin, K. H., and D. Moore. **1999**. Effects of environmental factors on circadian activity in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiological Entomology* 24: 64-71.
- Joy, J. E., M. L. Herrell, and P. C. Rogers. **2002**. 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.* 39: 392-7.
- Joy, J. E., N. L. Liette, and H. L. Harrah. **2006**. Carrion fly (Diptera: Calliphoridae) larval colonization of sunlit and shaded pig carcasses in West Virginia, USA. *Forensic Sci. Int.* 164: 183-92.
- Kammenga, J. E., R. Dallinger, M. H. Donker, H. R. Köhler, V. Simonsen, R. Triebkorn, and J. M. Weeks. **2007**. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Env. Pollution* 145: 402-24.
- Kaneshrajah, G., and B. Turner. **2004**. *Calliphora vicina* larvae grow at different rates on different body tissues. *Int. J. Leg. Med.* 118: 242-4.
- Kashyap, V. K., and V. V. Pillay. **1989**. Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: a comparative analysis. *Forensic Sci. Int.* 40: 245-50.
- Kelling, J., G. Biancaniello, and C. J. DenOtter. **2003**. Effect of age and sex on the sensitivity of antennal and palpal olfactory cells of houseflies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106: 45-51.
- King, K. L. **1993**. Methods for assessing the impact of avermectins on the decomposer community of sheep pastures. *Vet. Parasitology* 48: 87-97.
- Komar, D., and O. Beattie. **1998**. Effects of carcass size on decay rates of shade and sun exposed carrion. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* 31: 385-43.
- Kouki, J., and I. Hanski. **1995**. Population aggregation facilitates coexistence of many competing carrion fly species. *Oikos* 72: 223-227.
- Kuusela, S. H., I. **1982**. The structure of carrion fly communities: the size and the type of carrion. *Holarctic Ecology* 5: 337-348.
- Kvale, S. **1995**. The Social Construction of Validity. *Qualitative Inquiry* 1: 19-40.
- Leclercq, M., and C. Verstraeten. **1992**. Eboueurs entomologiques bénévoles dans les écosystèmes terrestres. Observation inédite. *Notes Fauniques de Gembloux* 25: 17-22.
- Leclercq, M., P. Dodinval, P. Piette, and C. Verstraeten. **1991**. Example of team work between forensic medicine, odontology and entomology. Identification of human bones, dating of death and establishing the crime location. *Rev. Med. Liege* 46: 583-91.
- Levot, G. W., K. R. Brown, and E. Shipp. **1979**. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. *Bull. Ent. Res.* 69: 469-475.
- Linnaeus, C. **1767**. *Systema naturae*. 12th edn., Stockholm, Sweden.
- Lioni, A., and J.-L. Deneubourg. **2004**. Collective decision through self-assembling. *Naturwissenschaften* 91: 237-241.
- Liu, S., and R. O'Flaherty. **2006**. Determinants of maggot aggregation behavior in carrion. <http://ysp.ucdavis.edu/Research06/lius/default.html>.
- MacLeod, J. D., J. **1957**. Some ecological relationships of natural populations of Calliphorine blowflies. *J. Animal Ecology* 26: 135-170.
- Maddox, N., B. Wong, R. Kimsey, R. Bullard, and T. Armijo-Prewitt. **2006**. Determinants of maggot behavior in carrion., <http://ysp.ucdavis.edu/research/maddoxn/maddoxn.html>.
- Mall, G., and W. Eisenmenger. **2005**. Estimation of the time since death by heat-flow finite-element model. *Legal Med.* 7: 1-14 ; 69-80.
- Mann, R. W., W. M. Bass, and L. Meadows. **1990**. Time since death and decomposition of the human body: variables and observations in case and experimental field studies. *J. Forensic Sci.* 35: 103-111.

- Marchenko, M. I. **1988**. Medico-legal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time since death. *Acta. Med. Leg. Soc.* 38: 257-302.
- Marshall, T., and F. Hoare. **1962**. Estimating the time of death - the rectal cooling after death and its mathematical expression. *J. Forensic Sci.*: 56-81.
- Martinez-Sanchez, A., S. Rojo, and M. A. Marcos-Garcia. **2000**. Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Med. Vet. Entomol.* 14: 56-63.
- Martinez Sanchez, A., K. E. Smith, S. Rojo, M. A. Marcos-Garcia, and R. Wall. **2007**. Geographic origin affects larval competitive ability in European populations of the blowfly, *Lucilia sericata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 122: 93-98
- Matsuo, J., S. Nakayama, and H. Numata. **1997**. Role of the corpus allatum in the control of adult diapause in the blowfly, *Protophormia terraenovae*. *J. Insect Physiol.* 43: 211-16.
- McWatters, H. G., and D. S. Saunders. **1997**. Inheritance of the photoperiodic response controlling larval diapause in the blow fly, *Calliphora vicina*. *J. Insect Physiol.* 43: 709-17.
- Megnin, J. P. **1894**. La faune des cadavres: application de l'entomologie à la médecine légale. *Gauthier-Villars et fils*, 210pp.
- Megyesi, M. S., S. P. Nawrocki, and N. H. Haskell. **2005**. Using accumulated degree-days to estimate the postmortem interval from decomposed human remains. *J. Forensic Sci.* 50: 618-26.
- Mingari, L., P. Maynard, and J. Wallman. **2007**. Forensic entomology and its role in the detection of ignitable liquids: a summer study in Sydney, Australia. *6th annual meeting of the European association for forensic entomology*, Bruxelles (Belgium).
- Moe, S., J. Stenseth, N. Chr, and R. H. Smith. **2002**. Density dependence in blowfly populations: experimental evaluation of non-parametric time-series modelling. *Oikos* 98: 523-533.
- Moore, P., and R. Nash. **2008**. Synchronised observations of visiting insect species to bait traps in seven european locations, *7th meeting of the European Association for Forensic Entomology*, Kolymbari (Crete).
- Morvan, G., D. Dupont, and D. Charabidze. **2008a**. Thermoregulation in *P. terraenovae* aggregation, an agent-based approach, *proceedings of the 22nd annual European Simulation and Modelling conference*, Le Havre (France).
- Morvan, G., D. Dupont, and P. Kubiak. **2008b**. A simulation-based model of abduction, *proceedings of the 22nd annual European Simulation and Modelling conference*, Le Havre (France).
- Morvan, G., D. Jolly, D. Dupont, and P. Kubiak. **2007**. A decision support system for forensic entomology, *proceedings of the 29th European Simulation Societies*, Ljubjana (Slovenia).
- Morvan, G., A. Veremme, E. Lefèvre, and D. Mercier. **2008c**. Application du modèle des croyances transférables dans le cadre d'expertises en entomologie médico-légale, actes du 5^{ème} Atelier "Fouille de données complexes dans un processus d'extraction des connaissances", Sofia Antipolis, France.
- Morvan, G., A. Veremme, D. Dupont, and D. Jolly. **2008d**. Une approche multi-niveaux de l'organisation des systèmes complexes, *Journal Européen des Systèmes Automatisés*, submitted.
- Morvan, G., D. Jolly, A. Veremme, D. Dupont, and D. Charabidze. **2008e**. Vers une méthode de modélisation multi niveaux, *actes du 7^{ème} congrès Modélisation & Simulation*, Paris (France).
- Myskowiak, J. B., and C. Doums. **2002**. Effects of refrigeration on the biometry and development of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) and its consequences in estimating post-mortem interval in forensic investigations. *Forensic Sci. Int.* 125: 254-61.
- Nabity, P. D., L. G. Higley, and T. M. Heng-Moss. **2006**. Effects of temperature on development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) and use of developmental data in determining time intervals in forensic entomology. *J. Med. Entomol.* 43: 1276-86.

- Nabity, P. D., L. G. Higley, and T. M. Heng-Moss. **2007**. Light-induced variability in development of forensically important blow fly *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomology* 44: 351-8.
- Payne, J. A. **1965**. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* (Linnaeus). *Ecology* 46: 592-602.
- Peirce, C. S. **1993**. A la recherche d'une méthode, Recueil de textes traduits. *Théétète Ed*, 375pp.
- Pitts, K. M., and R. Wall. **2005**. Winter survival of larvae and pupae of the blowfly, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bull. Entomol. Res.* 95: 179-86.
- Prinkkila, M. L., and I. Hanski. **1995**. Complex competitive interactions in four species of *Lucilia* blowflies. *Ecological Entomology* 20: 261-272.
- Putman, R. J. **1977**. Dynamics of the blowfly, *Calliphora erythrocephala*, within carrion. *J. Animal Ecology* 46: 853-866.
- Reed, H. B. **1958**. A study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *Am. Midland Naturalist* 59: 213-45.
- Régnière, J. **1984**. A method of describing and using variability in development rates for the simulation of insect phenology. *Canadian Entomology* 116: 1367-1376.
- Richards, C. S., M. H. Villet, and I. Patterson. **2007**. Latitude-related variation in the development rates of the green blowfly, *Chrysomya albiceps* (Diptera Calliphoridae), 6th meeting of the European Association for Forensic Entomology Congress, Bruxelles (Belgium).
- Richards, E. N., and L. M. Goff. **1997**. Arthropod succession on exposed carrion in three contrasting tropical habitats on Hawaii island, Hawaii. *J. Med. Entomol.* 34: 328-39.
- Ridsdill-Smith, T. J. **1993**. Effects of avermectin residues in cattle dung on dung beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) reproduction and survival. *Vet. Parasitology* 48: 127-37.
- Rodriguez, W. C., and W. M. Bass. **1983**. Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in east Tennessee. *J. Forensic Sci.* 28: 423-432.
- Römbke, J., S. Jänsch, and W. Didden. **2005**. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology Env. safety* 62: 249-65.
- Roux, O., C. Gers, N. Telmon, and L. Legal. **2006**. Circular dispersal of larvae in the necrophagous Diptera *Protophormia terraenovae* (Diptera Calliphoridae). *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 42: 52-6.
- Roy, D. B., P. Rothery, D. Moss, E. Pollard, and J. A. Thomas. **2001**. Butterfly numbers and weather: predicting historical trends in abundance and the future effects of climate change. *J. Animal Ecology* 70.
- Rozen, J. G., and G. C. Eickwort. **1997**. The Entomological evidence. *J. Forensic Sci.* 42: 394-97.
- Ruf, C., and K. Fiedler. **2000**. Thermal gains through collective metabolic heat production in social caterpillars of *Eriogaster lanestris*. *Naturwissenschaften* 87: 193-196.
- Saunders, D. S., J. N. Macpherson, and K. D. Cairncross. **1986**. Maternal and larval effects of photoperiod on the induction of larval diapause in two species of fly, *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata*. *Exp. Biol.* 46: 51-8.
- Saunders, D. S., and B. A. **1995**. Effect of larval crowding on size and fecundity of the blow fly, *Calliphora vicina* (Diptera : Calliphoridae). *Eur. J. Entomol.* 92: 615-22.
- Schoenly, K., and W. Reid. **1987**. Dynamics of heterotrophic succession in carrion arthropod assemblages: discrete series or a continuum of change. *Oecologia* 73: 192-202.
- Schoenly, K., M. L. Goff, and M. Early. **1992**. A BASIC algorithm for calculating the postmortem interval from arthropod successional data. *J. Forensic Sci.* 37: 808-23.
- Schroeder, H., H. Klotzbach, and K. Puschel. **2003**. Insects' colonization of human corpses in warm and cold season. *Legal Med. (Tokyo)* 5: 372-4.
- Severini, M., J. Baumgartner, and L. Limonta. **2003**. Parameter estimation for distributed delay based population models from laboratory data: egg hatching of *Oulema duftschmidi* Redthenbacher (Coleoptera, Chrysomelidae) as an example. *Ecological Modelling* 167: 233-246.
- Shafer, G. **1976**. A mathematical theory of evidence. *Princeton University Press*, Princeton, New Jersey, 297 pp.

- Shewell, G. E. **1987**. Sarcophagidae., pp. 1159–86. In J. F. M. (ed.), *Manual of nearctic Diptera*. Agriculture Canada research branch monograph.
- Singh, D., and M. Bharti. **2001**. Further observations on the nocturnal oviposition behaviour of blow flies (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci. Int.* 120: 124-6.
- Slone, D., and S. Gruner. **2007**. Thermoregulation in larval aggregations of carrion-feeding blow flies (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomology* 44: 516-523.
- Slone, D., S. Gruner, and J. Allen. **2005**. Assessing error in PMI prediction using a forensic entomological computer model. *U.S. Department of Justice final report*. <http://www.ncjrs.gov/pdffiles1/nij/grants/211760.pdf>
- Smets, P., and R. Kennes. **1995**. The transferable belief model. *Artificial Intelligence* 66: 191-234.
- Smith, K. G. V. **1986**. A manual of forensic entomology. *Trustees of the British Museum (Natural history)*, London, 205pp.
- Smith, K. E., and R. Wall. **1997**. The use of carrion as breeding sites by the blowfly *Lucilia sericata* and other Calliphoridae. *Med. Vet. Entomol.* 11: 38-44.
- Smith, K. E., and R. Wall. **1997**. Asymmetric competition between larvae of the blowflies *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* in carrion. *Ecological Entomology* 22: 468-474.
- Smith, K. E., R. Wall, and E. J. Hayes. **1998**. Measurement of age and population age structure in the blowfly, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *J. Insect Physiol.* 44: 895-901.
- Smith, K. E., and R. Wall. **1998**. Estimates of population density and dispersal in the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bull. Ent. Research* 88.
- Stinner, R. E., A. P. Gutierrez, and G. D. Butler. **1974**. An algorithm for temperature-dependent growth rate simulation. *Canadian Entomology* 106: 519-524.
- Stoffolano, J. G. **1974**. Influence of diapause and diet on the development of the gonads and accessory reproductive glands of the black blowfly *Phormia regina* (Meig.). *Canadian J. Zoology* 54: 981-88.
- Stoffolano, J. G., Jr., H. Duan, and C. M. Yin. **1995a**. Crop and midgut filling and emptying in a female *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) fed a liver diet. *J. Med. Entomol.* 32: 190-4.
- Stoffolano, J. G., M. F. Li, J. A. Sutton, and C. M. Yin. **1995**. Faeces feeding by adult *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae): impact on reproduction. *Med. Vet. Entomol.* 9: 388-92.
- Strong, L. **1993**. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Vet. Parasitology* 48: 3-17.
- Tachibana, S., and H. Numata. **2004a**. Effects of temperature and photoperiod on the termination of larval diapause in *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Zoolog. Sci.* 21: 197-202.
- Tachibana, S., and H. Numata. **2004b**. Parental and direct effects of photoperiod and temperature on the induction of larval diapause in the blow fly *Lucilia sericata*. *Physiological Entomology* 29: 39-44.
- Tarone, A. M., and D. R. Foran. **2006**. Components of developmental plasticity in a Michigan population of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomology* 43: 1023-33.
- Tessmer, J. W., C. L. Meek, and V. L. Wright. **1995**. Circadian patterns of oviposition by necrophilous flies (Diptera: Calliphoridae) in southern Louisiana. *Southwestern Entomologist* 20: 439-445.
- Theraulaz, G., J. Gautrais, S. Camazine, and J. L. Deneubourg. **2003**. The formation of spatial patterns in social insects: from simple behaviours to complex structures. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 361: 1263-1282.
- Tibbett, M., D. O. Carter, T. Haslam, R. Major, and R. Haslam. **2004**. A laboratory incubation method for determining the rate of microbiological degradation of skeletal muscle tissue in soil. *J. Forensic Sci.* 49: 560-5.
- Tomberlin, J. K., and P. H. Adler. **1998**. Seasonal colonization and decomposition of rat carrion in water and on land in an open field in South Carolina. *J. Med. Entomol.* 35: 704-9.
- Towne, E. G. **2000**. Prairie vegetation and soil nutrient responses to ungulate carcasses. *Oecologia* 122: 232-39.
- Turner, B., and T. Howard. **1992**. Metabolic heat generation in dipteran larval aggregations: a consideration for forensic entomology. *Med. Vet. Entomol.* 6: 179-81.

- Vass, A. A. **2001**. Beyond the grave-understanding human decomposition. *Microbiology Today* 28.
- Vass, A. A. S., R.R. ; Thompson, C.V. ; Burnet, t M.N. ; Wolf, D.A. ; Synstelien, J.A. ; Dulgerian, N. ; Eckenrode, B.A. **2004**. Decompositional odor analysis database. *J. Forensic Sci.* 49: 760-9.
- Veremme, A., D. Dupont, G. Morvan, D. Jolly, and D. Charabidze. **2008a**. Modélisation de la température d'un corps par automates cellulaires, *actes du 7^{ème} congrès Modélisation & Simulation*, Paris (France).
- Veremme, A., E. Lefevre, and D. Jolly. **2008b**. Estimation de fonction de masse de croyance : utilisation et confrontation dans le cadre d'expertise en entomologie médico-légale. *Rencontres francophones sur la Logique Floue et ses Applications*, Lens, France.
- Vibert. **1890**. Précis de médecine légale, Baillière, J.B. ed., 792pp.
- Villemin, G. **2006**. Les proportions du corps humain, http://villemin.gerard.free.fr/Biologie/Vitruve_fichiers/.
- Villet, M. H., and C. S. Richards. **2008**. Factors affecting accuracy and precision of thermal summation models of insect development used to estimate postmortem intervals. *Int. J. Leg. Med.* 122: 401-8
- Wagner, T. L., W. Hsin-I, P. J. H. Sharpe, R. M. Schoolfield, and R. N. Coulson. **1984**. Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 77: 208-220.
- Wall, R. **1993a**. The reproductive output of the blowfly, *Lucilia sericata*. *J. Insect Physiology* 9: 743-50.
- Wall, R., N. P. French, and K. L. Morgan. **1992**. Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Calliphoridae). *Bull. Ent. Res.* 82: 125-131.
- Wall, R., N. P. French, and A. Fenton. **2000**. Sheep blowfly strike: a model approach. *Research Vet. Science* 69: 1-9.
- Wall, R., I. Cruickshank, K. E. Smith, N. P. French, and A. S. Holme. **2002**. Development and validation of a simulation model for blowfly strike of sheep. *Med. Vet. Entomology* 16: 335-46.
- Wall, R., N. P. French, and K. H. Morgan. **1993**. Sheep blowfly population control: development of a simulation model and analysis of management strategies. *J. Applied Ecology* 30: 743-751.
- Wardhaugh, K. G., R. J. Mahon, A. Axelsen, M. W. Rowland, and W. Wanjura. **1993**. Effects of ivermectin residues in sheep dung on the development and survival of the bushfly, *Musca vetustissima* Walker and a scarabaeine dung beetle, *Euoniticellus fulvus* Goeze. *Vet. Parasitology* 48: 139-57.
- Warren, J. A., and G. S. Anderson. **2008**. A comparison of development times for *Protophormia terraenovae* (R-D) reared on different food substrates, 7th meeting of the *European Association for Forensic Entomology*, Kolymbari (Greece).
- Weber, A. **2007**. Modélisation et gestion de flux par systèmes multiagents., *Thèse de l'Ecole Doctorale SPI 072*. Ecole Centrale, Lille, 295 pp.
- Weibull, W. **1951**. A statistical distribution function of wide applicability. *J. Applied Mechanics Paper*, 18:293-7.
- Wells, J. D., and L. R. LaMotte. **1995**. Estimating maggot age from weight using inverse prediction. *J. Forensic Sci.* 40: 585-590.
- Wells, J. D., and L. R. Lamotte. **2001**. Estimating the postmortem interval., pp. 263-85. *In* J. H. Byrd and J. L. Castner [eds.], *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigation*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Wells, J. D., and H. Kurahashi. **1994**. *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development : rate, variation and the implications for forensic entomology. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 45: 303-309.
- Werner, J., and M. Buse. **1988**. Temperature profiles with respect to inhomogeneity and geometry of the human body. *Appl. Physiology* 65: 1110-8.
- Wetzel, W., S. Reibe, and B. Madea. **2008**. Blowfly activity in germany during wintertime: outdoors experiments with domestic pigs (*Sus scrofa*) and a matching case report., 7th meeting of the *European Association for Forensic Entomology*, Kolymbari (Greece).

- Williams, H. **1984**. A model for the aging of fly larvae in forensic entomology. *Forensic Sci. Int.* 25: 191-9.
- Woodcock, B. A., A. D. Watt, and S. R. Leather. **2002**. Aggregation, habitat quality and coexistence: a case study on carrion fly communities in slug cadavers. *J. Animal Ecology* 71: 131-140.
- Wooldridge, J., L. Scrase, and R. Wall. **2007**. Flight activity of the blowflies, *Calliphora vomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. *Forensic Sci. Int.* 172: 94-97.
- Worner, S. P. **1992**. Performance of phenological models under variable temperature regimes: consequences of the Kaufmann or rate summation effect. *Environ. Entomol.* 21: 689-699.
- Wyss, C., and D. Cherix. **2006**. *Traité d'entomologie forensique*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 317pp.
- Wyss, C., D. Cherix, K. Michaud, and N. Romain. **2003**. Pontes de *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy et de *Calliphora vomitoria* (Linné) (Diptères, Calliphoridae) sur un cadavre humain enseveli dans la neige. *Revue Int. Criminologie Police Technique et Scientifique*, 56: 12-16.

ANNEXES

Annexe I : Protocole de prélèvement

IMPORTANT

Les échantillons entomologiques constituent des preuves à part entière.
La procédure de prélèvement et les informations recueillies doivent donc être exempts de toute ambiguïté.

Règles générales

- La situation idéale est une première série de prélèvements sur le site de la découverte, complétée par des prélèvements durant l'autopsie.
- Prélever tous types d'insectes (vivants ou morts), même s'ils paraissent insignifiants (mite, blatte, etc.).
- Noter toute information susceptible de compléter les prélèvements : abondance des insectes, détails sur l'environnement ou l'état du corps...
- En cas de suspicion d'absorption *ante mortem* d'une drogue, les insectes (et en particulier les larves de mouches si elles sont présentes) sont prélevés et immédiatement congelés.
- La précision des indications portées sur la fiche de renseignements entomologique (ci-jointe) conditionne la validité de l'expertise...

Si le corps est à l'extérieur :

- Décrire l'environnement le plus précisément possible dans la fiche de prélèvement
- Procéder à des prélèvements de terre juste sous le corps, à 1 mètre et à 3 mètres du corps (les pupes se retrouvent dans la terre après migration des larves). Placer la terre dans des sacs plastiques fermés et étiquetés.
- Rechercher les insectes sous les pierres, souches ou feuilles mortes à proximité du corps.

Si le corps se trouve à l'intérieur d'une habitation ou dans un abri :

- Compléter les prélèvements sur le corps par une recherche aux alentours au niveau du sol, sous les meubles, les tapis et les plinthes.
 - Décrire l'aspect de la pièce, et particulièrement la présence d'orifices permettant l'entrée d'insectes.
-

Sur le site et durant l'autopsie :

1. Compléter pour chaque série de prélèvements l'ensemble des renseignements demandés sur la fiche de renseignements entomologique jointe.
2. Prélever les insectes visibles (œufs, larves, adultes, insectes morts et enveloppes vides) à l'aide de la pince fournie, ou de la cuillère si les larves sont très abondantes. Commencer par les environs du corps (environnement, vêtements), puis aller progressivement vers le corps lui-même.
3. Il est préférable (dans la mesure du possible) d'avoir un échantillon important de chaque type d'insectes, **et non un seul individu.**
4. Regrouper les insectes récoltés dans des flacons vides **par zone de prélèvement** (tête, thorax, vêtements, environs du corps...).
5. Une fois les prélèvements effectués, diviser chaque flacon contenant des larves en 2 et placer :
 - une moitié dans un pilulier à bouchon troué (insectes vivants) avec un morceau de papier absorbant au fond du flacon.
 - l'autre moitié des larves est ébouillantée au bain marie, puis placée dans un pilulier contenant de l'alcool à 70%.

Si ce traitement ne peut être effectué, l'indiquer impérativement sur les flacons concernés.

6. Indiquer sur chaque flacon le lieu de prélèvement, la date et l'heure ainsi que le contenu approximatif (n larves, x mouches, ...).

7. Numéroté les flacons et en reporter le nombre total au dos de la feuille de renseignements entomologiques. **Placer l'ensemble des prélèvements sous scellés et les mentionner dans le PV.**

8. Mettre les prélèvements et la fiche de renseignements dans la boîte carton du KIT, combler avec du papier froissé et fermer la boîte au scotch. Affranchir au tarif en vigueur et poster directement (adresse pré-inscrite sur le couvercle).

Si les prélèvements ne peuvent être envoyés immédiatement, les conserver au frais et porter ces informations sur la fiche de renseignements.

Annexe II : Protocole expérimental pour la caractérisation de la variabilité inter-individuelle du temps de développement (œuf à émergence) de *Lucilia sericata*.

(Source : Gosselin M. & D. Charabidze)

Des adultes de *Lucilia sericata* ont été collectés sur le site de l'Institut national de criminologie et de criminalistique (Bruxelles, Belgique) depuis 2005. Les spécimens ont été identifiés en utilisant les caractères morphologiques issus de la clé d'identification (Rognes, 1991) et cette identification a été confirmée en utilisant des caractères moléculaires des régions COI (publication à soumettre). Les adultes issus de différentes générations (mais avec un renouvellement par de nouveaux spécimens chaque année pendant la période d'activité de *Lucilia sericata*) sont conservés dans un insectarium à 20°C avec une humidité relative approximative de 60 %. Un maximum de 200 mouches sont gardées dans des cages en tulle (35x35x35 cm) et nourries *ad libidum* avec du sucre, de l'eau et du lait en poudre. Les larves sont élevées sur du cœur de bœuf haché.

Les mouches sont mises à pondre à 10 heures sur un morceau de cœur de bœuf de 15 g. A 14 heures, après 4 heures d'oviposition, 35 à 40 mg d'œufs sont pesés (Mettler Toledo, AB104-S), correspondant à 200 œufs ± 20 , et déposés à l'aide d'une spatule dans un ravier contenant 250g de cœur de bœuf haché. Les ravieres sont placés au fond d'une boîte en plexiglas transparent remplie de sable servant de substrat pour la pupaison. Les boîtes sont ensuite placées dans des incubateurs à 15h00 (Sanyo, Incubator MIR 553) et élevées à différentes températures constantes

(12,5 ; 15 ; 17,5 ; 20 ; 25 ; 30 ; 35 °C) avec une photopériode de 12 :12h. Un enregistreur de températures est placé au sein de l'incubateur afin de mesurer et enregistrer la température exacte dans l'enceinte.

Pour chacune des températures, le test a été répété trois fois dans le temps avec à chaque fois quatre boîtes, les résultats étant donc déterminés sur un total de 12 boîtes par espèce et par T°. Le comptage des émergences se fait après anesthésie au CO₂ chaque jour entre 10 et 11 heures. Le pourcentage d'émergence journalier est défini par le rapport entre le nombre de nouvelles pupes vides et la population expérimentale totale.

Annexe III : rapport d'expertise



RAPPORT D'EXPERTISE ENTOMOLOGIQUE

AFFAIRE : XXX

Tribunal de Grande Instance de XXX

TRIBUNAL DE GRANDE INSTANCE DE XXX

Expertise entomologique des
prélèvements effectués sur le corps
de XXX retrouvé le XXX à XXX.

Ordonnance de XXX
Juge d'instruction au tribunal de
XXX.

Nous soussignés,

Professeur Didier GOSSET, Professeur de Médecine Légale et de Médecine Sociale à la Faculté de Médecine de Lille, Chef de Médecine Légale et Pénitentiaire du C.H.R.U de Lille, Directeur de l'Institut de Médecine Légale de Lille, expert agréé par la Cour de Cassation ;

Benoît BOUREL, Docteur en Sciences, Maître de Conférences à la Faculté Libre des Sciences et Technologies de Lille, entomologiste à l'Institut de Médecine Légale de Lille, serment préalablement prêté ;

commis par XXX, Juge d'instruction au tribunal de XXX, en date du XXX, avec la mission suivante :

« 1- recevoir les scellés suivants

* scellé n°3 de la procédure XXX contenant des prélèvements secs de larves prélevées dans l'oreille droite de XXX

* scellé n°4 de la procédure XXX contenant des prélèvements de larves prélevées dans l'oreille droite de XXX et placées dans l'alcool

* scellé n°5 de la procédure XXX contenant des prélèvements secs de larves prélevées dans l'anus de XXX

* scellé n°6 de la procédure XXX contenant des prélèvements secs de larves prélevées dans l'anus de XXX et placées dans l'alcool

* scellé AUTOPSIE n°5 de la procédure XXX contenant 2 flacons de larves et d'œufs prélevés dans les yeux de XXX

2- effectuer une analyse entomologique de l'ensemble de ces prélèvements afin de déterminer la date du décès

3- identifier et déterminer la provenance des organismes retrouvés. Dire si ceux-ci ont pu se développer en milieu extérieur notamment à l'endroit où le corps a été retrouvé.

4- faire toutes observations utiles à la manifestation de la vérité»

avons personnellement accompli la mission qui nous a été confiée

à partir du XXX

à l'Institut de Médecine Légale et Médecine Sociale de Lille

COMMEMORATIFS

Le cadavre nu d'un jeune homme de 17 ans, identifié par la suite comme étant XXX, a été découvert le XXX dans un puisard sec situé sur un terrain vague à XXX. Le corps, couvert de divers branchages et détritiques, était recroquevillé et portait des traces de coups et blessures, du sang et des excréments. Des moisissures étaient présentes à la face au cuir chevelu.

Des larves et des œufs étaient présentes à l'oreille droite et à l'anus.

La victime avait été vue vivante pour la dernière fois le XXX lors de sa fugue d'un foyer de XXX.

DESCRIPTION des SCELLES

L'Institut de Médecine Légale et Sociale de Lille a enregistré le XXX, sous le numéro XXX, des scellés contenant les prélèvements entomologiques effectués sur la personne de XXX. Il s'agit des scellés n°3, 4, 5 et 6, P.V. n° XXX, constitués de 4 enveloppes adhésives en papier kraft contenant les insectes prélevés lors de la découverte du corps le XXX, et du scellé n°5, P.V. n° XXX, constitué d'un sachet en plastique transparent fermé par 2 agrafes. Les prélèvements étaient répartis comme suit :

- scellé n°3 de la procédure XXX contenant 1 pilulier en plastique transparent fermé par un bouchon à vis en plastique rouge percé de trous renfermant quelques petites larves de diptères non fixées prélevées dans l'oreille droite
- scellé n°4 de la procédure XXX contenant 1 pilulier en plastique transparent fermé par un bouchon à vis en plastique rouge rempli d'alcool et renfermant quelques petites larves fixées de diptères prélevées dans l'oreille droite
- scellé n°5 de la procédure XXX contenant 1 pilulier en plastique transparent fermé par un bouchon à vis en plastique rouge percé de trous renfermant quelques petites larves de diptères non fixées prélevées dans l'anus
- scellé n°6 de la procédure XXX contenant 1 pilulier en plastique transparent fermé par un bouchon à vis en plastique rouge rempli d'alcool et renfermant quelques petites larves fixées de diptères prélevées dans l'anus

- scellé AUTOPSIE n°5 de la procédure XXX contenant 2 piluliers en plastique transparent fermé par un bouchon à vis en plastique rouge dont un est percé de trous et l'autre rempli d'alcool et renfermant chacun des larves et des œufs prélevés sur les yeux de XXX

Ces scellés étaient intacts et ont été brisés par nos soins mais n'ont pu être reconstitués, l'ensemble du matériel ayant été utilisé pour l'accomplissement de notre mission.

Ces scellés sont identifiés par des étiquettes reproduites en annexe.

PIECES COMMUNIQUEES

Il nous a été communiqué les pièces suivantes :

- le procès verbal de constatations de découverte de cadavre, reçu le XXX,
- le tableau climatique de météo France, reçu le XXX,
- le rapport d'autopsie, du XXX,
- l'album photographique d'autopsie, reçu le XXX,
- l'album photographique du lieu de découverte du corps, reçu le XXX.

IDENTIFICATION DES INSECTES

- scellé n°3 de la procédure XXX, larves vivantes p rélevées dans l'oreille droite : œufs et larves L1 venant d'éclore de Diptères Calliphoridae.
- scellé n°4 de la procédure XXX, larves fixées pré levées dans l'oreille droite : œufs et larves L1 venant d'éclore de Diptères Calliphoridae.
- scellé n°5 de la procédure XXX, larves vivantes p rélevées dans l'anus : larves L1, L2 de Diptères Calliphoridae et une L3 de *Calliphora vicina*.
- scellé n°6 de la procédure XXX, larves fixées pré levées dans l'oreille droite : larves L2 de Diptères Calliphoridae.

- scellé AUTOPSIE n°5 de la procédure XXX contenant des larves et des œufs prélevés dans les yeux : larves L1 et L2 de Diptères Calliphoridae. Obtention après élevage de 6 L3 de l'espèce *Calliphora vicina*, dont 4 se sont empupées et 2 ont abouti à l'émergence de mouches adultes.

ANALYSE des DONNEES

Les prélèvements effectués lors de la levée de corps et à l'autopsie comportent des œufs ainsi que des larves de premier et second stade de Diptères Calliphoridae. La présence de plusieurs pontes au niveau de la face est également visible sur les photos prises lors de la découverte du corps. Il n'est malheureusement pas possible d'identifier l'espèce, les critères morphologiques caractéristiques n'apparaissant qu'à partir du troisième stade. En revanche, on peut identifier parmi les prélèvements effectués sur le corps une larve de troisième stade de *Calliphora vicina*, ainsi que six individus ayant été identifiés comme étant *Calliphora vicina* après élevage.

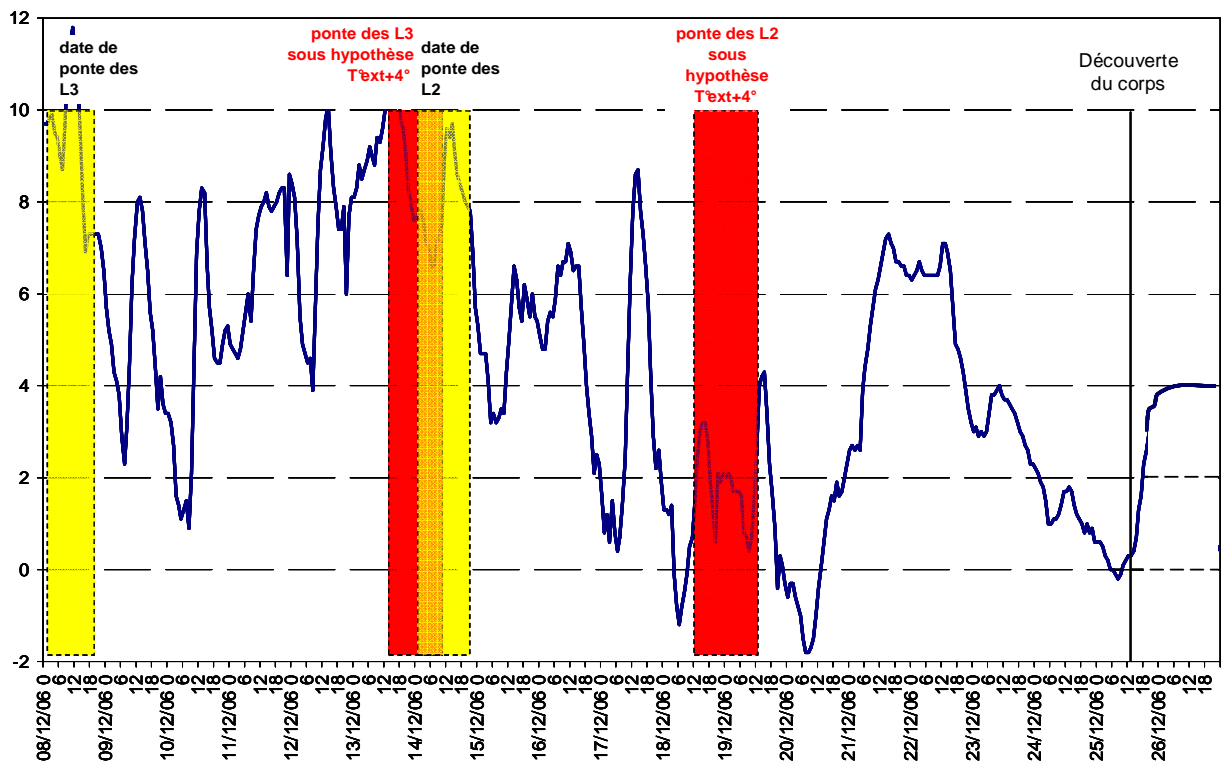
L'activité des Diptères nécrophages et la durée de développement des larves est principalement dépendante de la température : en France, peu d'espèces sont actives à basse température. *Calliphora vicina*, la mouche bleue de la viande, est une espèce cosmopolite fréquente, et une des rares à être active en dessous de 10°C. Bien qu'il soit difficile d'estimer avec précision quelle est la température minimum d'activité des adultes (l'ensoleillement jouant fortement), on considère que des températures aux environs de 5°C sont suffisantes pour le vol et la ponte. Wyss (2003) relate ainsi le cas d'un corps retrouvé dans un glacier et sur lequel de nombreuses *Calliphora* adultes et pontes viables ont été prélevées. Le développement des larves, bien que très lent, est également possible à de faibles températures.

La température extérieure ayant été particulièrement basse durant la période supposée de développement des insectes, il est important de prendre en compte l'existence d'un microclimat ayant pu accélérer la croissance des insectes. La configuration du corps, en position fœtale dans un puisard de 80 cm de profondeur et sous un tas de détritits, lui confère une inertie thermique importante. Nous avons donc établi l'estimation de l'intervalle *post mortem* sur la base des températures extérieures, mais également sur la base de l'existence d'un microclimat de 4°C supérieur au

maximum à la température extérieure (température relevée par le légiste lors de la découverte du corps = 3,5°C ; température sous abri communiquée par météo France à la même heure pour la station météo la plus proche = 0,7°C).

Le second facteur ayant pu accélérer le développement des larves est la chaleur dégagée par le corps lui-même durant les heures suivant le décès. Il faut en effet un à deux jours pour que la température du corps, initialement d'environ 37,5°C, s'aligne sur la température extérieure (Henssge, 1988).

T°C de l'air



En rouge : estimation des pontes dans l'hypothèse d'un microclimat dont la T° est de 4°C supérieure à la température extérieure. En jaune : estimation sur la base des températures extérieures.

L'ensemble de ces résultats est repris dans le graphique ci-dessus. L'individu le plus âgé, une L3 de *C. vicina* prélevée au niveau de l'anus lors de la découverte du corps, a été pondue entre le 8 et le 15 décembre 2006. Les pontes suivantes n'ont pas pu bénéficier de la chaleur du corps et se sont donc développées plus lentement. Les larves de 2nd stade récoltées ont ainsi été pondues entre le 13 décembre 2006 et le 19 décembre 2006.

Ces calculs ont été effectués avec la technique des degrés heures accumulés (ADH) (Marchenko, 1988) sur la base des données de : Anderson (2000), Davies & Ratcliffe (1994), Grassberger (2002), Greenberg (1991), Kamal (1958), Leclercq (1993) et des données propres au laboratoire d'entomologie.

Les larves n'ayant pas été ébouillantées avant d'être plongées dans l'alcool, aucune datation sur la base de leur taille n'a pu être réalisée.

DISCUSSION

La durée de développement des insectes nécrophages variant en fonction de la température, il est absolument nécessaire de disposer de données précises quant aux conditions climatiques subies par les insectes durant leur développement pour pouvoir estimer précisément l'intervalle *post mortem*. Dans ce cas, l'existence d'un microclimat éventuel complique l'expertise, et les résultats sont donc fournis en fonction des deux hypothèses possibles : température dans le puisard identique à la température extérieure ou existence d'un microclimat de 4°C supérieur à la température extérieure. L'intervalle *post mortem* fourni est donc déterminé par ces deux marges.

Les premières larves (L3) ont été pondues entre le 8 et le 15 décembre, date où la victime était donc déjà décédée. La présence d'une seule larve de stade L3 peut être expliquée par le faible nombre de mouches actives à cette période de l'année, et la forte mortalité engendrée chez les larves par les basses températures.

Enfin, il est important de noter que l'estimation fournie est un intervalle *post mortem* minimum. Il correspond aux premières pontes d'insectes nécrophages sur le corps, et non à la date du décès. *Calliphora vicina* étant à la fois une des espèces les plus communes et précoce à coloniser un corps, il est probable que les premières pontes aient suivi de peu le décès. De plus, la présence de contusions du visage et de plaies, notamment prétragiques, à proximité des oreilles où des prélèvements de larves ont été réalisés, rend vraisemblable une ponte contemporaine du décès, le sang étant fortement attractif pour les Diptères Calliphoridae. Les conditions particulièrement froides peuvent cependant avoir bloqué l'activité des insectes et induit un délai de quelques jours entre le décès et les premières pontes.

CONCLUSION

Nous pouvons conclure sur la base des informations dont nous disposons :

- que les stades de développement et la biologie des insectes prélevés sur le corps sont compatibles avec le lieu de découverte du cadavre.
- que les premières pontes ont eu lieu au plus tard le 15 décembre 2006, date à laquelle la victime était donc déjà décédée.

Sur la base des données entomologiques, il est possible de dire que XXX est décédé entre le 8 et le 15 décembre 2006.

Fait à Lille, le XXX

Professeur Didier GOSSET

Docteur Benoit BOUREL



Le roi des mouches – T1 : Hallorave
Pirus & Mezzo