## **UNIVERSITÉ DE BLIDA 1**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

# THÈSE DE DOCTORAT DE TROISIÈME CYCLE

Spécialité : Biologie

Option : Biologie et Santé

# ÉTUDE DE LA BIOLOGIE DES DIPTÈRES NÉCROPHAGES ET LEUR APPLICATION EN ENTOMOLOGIE MÉDICO-LÉGALE ET EN ASTICOTHÉRAPIE

Par

## **Meriem TALEB**

Devant le jury composé de :

F. Saidi	Professeur, Université de Blida 1	Présidente
G. Tail	Professeur, Université de Blida 1	Promotrice
F.Z. Kara	Professeur, Université de Blida 1	Co-promotrice
F. Hamaidi-Chergui	Maître de Conférence (A), Université de Blida	1 Examinatrice
F. Bounaceur	Professeur, Université de Tiaret	Examinateur

## RÉSUMÉ

Les insectes nécrophages sont omniprésents dans les écosystèmes anthropogéniques. Parmi eux, les mouches ont une grande importance médicale, vétérinaire et forensique.

L'occurrence spatio-temporelle en Algérie de *Lucilia sericata* Meigen, *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy et *Chrysomya albiceps* Wiedmann (Diptères, Calliphoridae) a été étudiée entre 2010 et 2016. Ces espèces étaient largement distribuées en Algérie. *Lucilia sericata* préférait un climat chaud. *Calliphora vicina* préférait les températures froides alors que *Chrysomya albiceps* avait une préférence pour un climat chaud à tempéré.

Les élevages de *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* ont été réalisés afin d'étudier leur cycle de développement au laboratoire. Le pourcentage d'émergence de *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* dépendait de la température. Le taux de développement ainsi que les températures accumulées par *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* collectées en Algérie différaient légèrement des données de la littérature.

Afin de valider les méthodes de stérilisation des œufs et des larves de *Lucilia sericata*, des solutions antiseptiques ont été testés. Après la stérilisation, l'effet antimicrobien vis à vis des souches de références a été vérifié *in vitro*. Les larves stériles n'ont montré aucune contamination. L'hypochlorite de sodium était efficace pour la stérilisation des larves qui ont montré un pouvoir antimicrobien.

La vitesse de décomposition des cadavres des lapins (*Oryctolagus cuniculus* Linnæus) emballés n'était pas statistiquement significative par rapport à celle des cadavres exposés. La présence d'un sac plastique qui n'est pas bien fermé ne semble pas influencer l'accessibilité des insectes au corps, mais peut affecter la composition de la faune. Les concentrations de l'éthanol des larves prélevées sur des cadavres des lapins traités en ante-mortem avec l'éthanol et analysées par la chromatographie en phase gazeuse (HS-GC-FID) étaient similaires chez toutes les larves (témoins et traitées).

L'identification moléculaire des espèces des mouches collectées précédemment en analysant le gène codant la cytochrome c oxydase I (COI) a été réalisée. Un total de 65 spécimens de 13 espèces appartenant aux familles des

Calliphoridae, Sarcophagidae et Piophilidae ont été utilisés. *Chrysomya megacephala* Fabricius, *Pollenia vagabunda* Meigen, *Pollenia rudis* Fabricius (Diptères, Calliphoridae) et *Piophila nigriceps* Meigen (Diptères, Piophilidae) sont rapportées en Algérie dans cette étude pour la première fois. Les populations des mouches algériennes étudiées sont clairement séparées des autres populations du monde à part de la majorité des espèces originaire de l'Espagne.

La recherche présentée ici est le premier travail en Algérie examinant l'écologie et la biologie des Diptères à intérêt médico-légale, leur utilité en biochirurgie et les facteurs abiotiques influençant l'intervalle post-mortem (IPM) et réalisant l'identification moléculaire de ces espèces. Les données de cette étude serviront comme référence de base à des études similaires en Algérie.

**Mots-clés** : Diptères nécrophages, intervalle post-mortem, facteurs abiotiques, larvothérapie, ADN, Algérie.

### ABSTRACT

Necrophagous insects are ubiquitous in anthropogenic ecosystems. Among them, flies have great medical, veterinary and forensic importance.

The spatio-temporal occurrence in Algeria of *Lucilia sericata* Meigen, *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy and *Chrysomya albiceps* Wiedmann (Diptera, Calliphoridae) was studied between 2010 and 2016. These species were widely distributed in Algeria. *Lucilia sericata* preferred a warm climate. *C. vicina* preferred cold temperatures while *Chrysomya albiceps* had a preference for a warm to moderate climate.

*Lucilia sericata* and *Calliphora vicina* were reared to study their development cycle in the laboratory. The emergence rate of *Lucilia sericata* and *Calliphora vicina* depended on temperature. The development rates as well as the thermal budgets accumulated by *Lucilia sericata* and *Calliphora vicina* collected in Algeria differed slightly from the data in the literature.

In order to validate the sterilization methods of eggs and larvae of *Lucilia sericata*, antiseptic solutions were tested. After sterilization, the antimicrobial effect against reference microbial strains was verified *in vitro*. Sterile larvae showed no contamination. Sodium hypochlorite was effective for sterilization of larvae that showed antimicrobial potency.

The decomposition rates of rabbits' carcasses (*Oryctolagus cuniculus* Linnæus) wrapped in plastic bags and others exposed were not statistically significant. The presence of a plastic bag that is not tightly closed does not seem to influence the accessibility of insects to the body, but may affect the composition of the fauna. The concentrations of ethanol in the larvae collected on rabbit carcasses, which had undergone known ante-mortem doses of ethanol, analyzed by gas chromatography (HS-GC-FID) were similar in all larvae (controls and treated).

Molecular identification of fly species previously collected using the mitochondrial gene cytochrome c oxidase I (COI) was performed. Species belonging to the families Calliphoridae, Sarcophagidae and Piophilidae were used. *Chrysomya megacephala* Fabricius, *Pollenia vagabunda* Meigen, *Pollenia rudis* Fabricius (Diptera, Calliphoridae), and *Piophila nigriceps* Meigen (Diptera,

Piophilidae) are reported in this study from Algeria for the first time. The populations of the Algerian flies studied are clearly separated from the other populations of the world apart from the majority of the species originating from Spain.

The research presented here is the first one in Algeria examining the ecology and the biology of Diptera of medico-legal relevance, their utility in biosurgery and the abiotic factors influencing the post-mortem interval (PMI) and carrying out a molecular identification of these species. The data from this study will serve as a basic reference for similar studies in Algeria.

**Keywords:** Necrophagous Diptera, post-mortem interval, abiotic factors, maggot debridement therapy, DNA, Algeria.

ملخص

الحشرات آكلة الجيف موجودة في كل مكان في النظم البيئية البشرية، من بينها الذباب التي لها أهمية في الطب والطب البيطري والطب الشرعي.

تمت دراسة وجود Lucilia sericata Meigen و Lucilia sericata Meigen و Calliphora vicina و Lucilia sericata Meigen ( ثنائيات الأجنحة : Chrysomya albiceps Wiedmann ( ثنائيات الأجنحة : كاليفوريدي) في الجزائر زمانا ومكانا بين عامي 2010 و 2016. تتوزع هذه الأنواع على نطاق واسع في الجزائر. Lucilia sericata تفضل مناخ دافئ . أما Calliphora vicina تفضل درجات الحرارة الباردة بينما Chrysomya albiceps تفضل مناخ دافئ .

تمت تربية Lucilia sericata و Calliphora vicina لدراسة دورة حياتها في المختبر .نسبة خروج الذباب البالغ Lucilia sericata و Calliphora vicina تعتمد على درجة الحرارة. اختلفت بشكل طفيف معدل النمو وكذلك الميزانيات الحرارية المجمعة من قبل Lucilia sericata و Calliphora vicina مقارنة بالمعطيات المرجعية.

من اجل التحقق من صحة طرق تعقيم بيض ويرقات Lucilia sericata تم اختبار محاليل مطهرة تأثيرها ضد سلالات جرثومية مرجعية. بعد التعقيم تم التحقق من التاثير المضاد في المخبر لسللالات ميكروبية مرجعية. لم تظهر اليرقات المعقمه أي تلوث جرثومي . أثبت المحلول المطهر هيبوكلوريت الصوديوم فعاليته في تعقيم اليرقات التي أظهرت قوتها المضادة للميكروبات.

لم نجد معدلات تحلل جثث حيوانات (أرانب)(Oryctolagus cuniculus Linnæus) ملفوفة في اكياس ذات دلالة احصائية. لا يبدو أن وجود كيس بلاستيكي غير مغلق بإحكام يؤثر على إمكانية وصول الحشرات للجسم، ولكنه قد يؤثر على تكوين أنواع الحشرات. كانت تركيزات الإيثانول في يرقات جثث أرانب خضعت لجرعات من الإيثانول قبل وفاتها والتي تم تحليلها بواسطة تحليل كروماتوجرافي الغاز (HS-GC-FID) متشابهة في جميع اليرقات (الضوابط والمعالجة).

تم إجراء تحديد جزيئي لأنواع الذباب التي تم جمعها مسبقا باستخدام جين الميتوكوندريا مؤكسد سيتوكروم سي (COI).

تم استخدام 65 عينة من 13 نوعا تنتمي إلى فصيلة كاليفوريدي وساركوفاجيدي وبيوفيليدي. من خلال هذه الدراسة تم تسجيل لأول مرة في الجزائر أنواع ثنائيات الأجنحة Chrysomya و Pollenia vagabunda Meigen و Pollenia Fabricius و Piophila nigriceps Meigen التي تنتمي إلى فصيلة كاليفوريدي و Piophila nigriceps Meigen التي تنتمي إلى فصيلة بيوفيليدي. الذباب المعتمد عليه في هذه الدراسة يختلف جنيا عن باقي انواع الذباب الموجود في العالم باستثناء معظم الانواع الموجودة في اسبانيا.

البحث الذي تم عرضه هنا هو أول بحث في الجزائر يدرس علم بيئة وعلم أحياء الحشرات ثنائية الاجنحة ذات أهمية في الطب الشرعي وفائدتها في المعالجة باليرقات، والعوامل غير الحية التي تؤثر على الفاصل الزمني بعد الوفاة ، كما يقوم بتحديد أنواع هذه الحشرات باستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية. البيانات الواردة في هذه الدراسة ستصبح كمرجع أساسي لدراسات مماثلة في الجزائر.

**الكلمات المفتاحية:** ذباب أكل الجيف، الفاصل الزمني ما بعد الوفاة، العوامل غير الحية، اليرقات، الحمض النووي، الجزائر.

# REMERCIEMENTS

Je remercie d'abord Dieu, Allah le tout Puissant qui m'a donné la force, la bonne santé et le courage de finir ce travail.

Je tiens à remercier profondément mon encadreur, **Madame Ghania TAIL**, professeur au Département de Biologie des Populations et Organismes à l'Université de Blida 1, de ses contributions majeures dans la réalisation de cette thèse, de son suivi méticuleux, de son aide et de sa patience.

J'exprime mes vifs remerciements à mon co-encadreur **Madame Fatma Zohra KARA**, Professeur au Département de Biologie des Populations et Organismes à l'Université de Blida 1, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et ses encouragements.

Je tiens également à remercier les membres du jury qui nous ont honoré en acceptant d'évaluer ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à **Madame Fairouz SAIDI**, Professeur au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Directrice du laboratoire de recherche Biotechnologies, Environnement et Santé à l'Université de Blida 1, pour son suivi, ses judicieux conseils, ses orientations et de l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir accepté de présidé le jury.

Je remercie également **Madame Fella CHERGUI-HAMAIDI**, Maître de Conférence (A) au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire à l'Université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime également mes remerciements à **Monsieur Farid BOUNACEUR**, professeur à l'Université de Tiaret, pour l'honneur qu'il m'a fait d'être examinateur de cette thèse

Je tiens à remercier chaleureusement **Madame H. Níhal AÇIKGÖZ**, conférencière et spécialiste de biologie forensique à l'Institut des Sciences Forensiques de l'Université d'Ankara (Turquie), de la confiance qu'elle m'a accordé et d'avoir accepté de co-diriger mon travail de recherche. Je lui exprime toute ma gratitude pour m'avoir ouvert ses portes, contribué au développement de mes connaissance scientifiques et académiques et pour m'avoir toujours aidé et guidé tout au long de mon séjour en Turquie.

Je voudrais également remercier **Monsieur H. Sínan SÜZEN**, Professeur et Directeur à l'Institut des Sciences Forensiques de l'Université d'Ankara (Turquie), de m'avoir accueilli et accepté de co-diriger mon travail de recherche, de sa disponibilité, son soutien

et ses orientations lors de la réalisation de notre projet de recherche ainsi que son aide dans toutes les démarches administratives.

J'exprime ma gratitude à **Monsieur Brahim Djedouani**, expert en entomologie légale au Laboratoire d'Entomologie de l'INCC/GN. Un immense merci de m'avoir initié à la discipline de l'entomologie médico-légale et de m'avoir fait profité de ses connaissances de la thématique.

Je remercie également **Monsieur Moussa TOUMI**, expert en entomologie légale au Laboratoire d'Entomologie de l'INCC/GN de l'accueil qu'il ma réservé, pour son aide et ses conseils précieux.

Des remerciements chaleureux au Directeur de l'INCC/GN, je vous remercie infiniment pour votre accueil et votre aide.

J'exprime ma gratitude à **Monsieur Adrian Pont**, professeur à l'Université d'Oxford (Angleterre), pour la confirmation de l'identification de nos spécimens.

Je tiens à remercier toute ma famille ; mon père, ma mère, ma sœur et mon frère, de leur soutient tant matériel que moral.

Mes síncères remercíements vont également à :

- Mes amí(e)s de par le monde quí n'ont cessé de m'encourager ;

- mes collègues de Doctorat Bíologíe et Santé ;

- tout le personnel académique et administratif de la faculté S.N.V de l'Université de Blida 1 ;

- tout le personnel du vice rectorat des relations extérieures de l'Université de Blida 1 ;

- tout le personnel du Département de Médecine Légale, Département de Toxícologie et le bureau de formation de l'INCC/GN ;

- tout le personnel de l'Institut des Sciences Forensiques de l'Université d'Ankara (Turquie) et du laboratoire de l'ADN du Département de Médecine Légale de la Faculté de Médecine, Université d'Ankara (Turquie).

Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et reconnaissance.

## GLOSSAIRE

**Adipocire -** ou gras de cadavre est le nom que l'on donne au gras d'un cadavre qui s'est transformé en une substance savonneuse grise blanchâtre résultant de la saponification du cadavre qui se produit dans certaines conditions d'humidité et de froid. Ces cas sont rares.

**Afrotropical -** écozone correspond à l'Afrique située au sud du désert du Sahara et inclut Madagascar.

**Alignement d'ADN** - des séquences d'ADN de plusieurs individus provenant de régions correspondantes du génome qui sont alignées de sorte que toutes les séquences aient les mêmes points de départ et d'arrivée.

**Bactériostatique -** Se dit de tout phénomène ou de toute substance capable d'inhiber la multiplication des bactéries sans les tuer.

**Basicosta** - la deuxième épaulette ou structure en forme de plaque sur la veine costale de l'aile membraneuse.

Bucca - les mâchoires sur une tête de Diptère.

**Collagénases -** des enzymes capables de rompre les liaisons peptidiques du collagène.

**Fibrine -** protéine filamenteuse qui dérive du fibrinogène (protéine qui intervient, entre autres, dans le mécanisme de la coagulation).

**Fibronectine -** glycoprotéine présente dans la matrice extracellulaire, et qui joue un rôle clé dans l'adhésion des cellules à la matrice extracellulaire.

**Fibroblaste -** cellules présentes dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme chargées de synthétiser les autres cellules formant les tissus conjonctifs.

**Sérines protéase -** protéines de la coagulation, des protéines digestives (trypsine, chymotrypsine, élastase), et du complément. Leur site actif contient une sérine.

**Forensique -** (de l'anglais *forensic*) ; terme désignant les sciences qui ont pour objet d'apporter des preuves objectives pour la justice.

**Gravide -** désigne les insectes femelles chez lesquelles des ovocytes matures ont été produits et prêts pour la ponte.

**Haltère** - ailes postérieures réduites utilisées pour l'équilibrage. Ils sont parfois décrits comme ressemblant à des baguettes de tambour car ils ont un bouton dans la région distale.

**Hémimétabole** - insectes où les stades immatures passent par des mues et deviennent progressivement de plus en plus semblables aux adultes. Leurs ailes se développent à l'extérieur.

**Holarctique -** la région zoogéographique qui comprend les régions du nord de la terre. Il comporte deux sections, l'une appelée la région néarctique (Amérique du Nord) et l'autre la région du paléarctique (Eurasie). Les termes sont utilisés pour décrire les distributions d'insectes.

**Holométabole -** qualifie les insectes chez qui le passage de l'état de larve à l'état adulte se fait par la transition d'un état de nymphe. Les larves et les adultes de ces insectes ont, en général, une morphologie et écologie très différentes.

Imago - le stade adulte d'un insecte sexuellement non mature.

Larviposition : le fait de déposer des larves mobiles.

Macrochète : soie dure chez certains insectes.

**Nearctique -** dans le contexte de la distribution des insectes, il s'agit d'une région comprenant l'Amérique du Nord, des zones situées au nord du tropique du Cancer et du Groenland.

**Néotropique** - une région qui comprend l'Amérique centrale et l'Amérique du Sud, y compris le sud du Mexique, ainsi que les Antilles - au sud du tropique du Cancer.

**Generatio Spontane** - ou génération spontanée, théorie introduite par Aristote, indique que des être vivant pouvaient naître de matières non vivantes par exemple les puces pourraient provenir de la poussière, ou les asticots de la viande.

**Leucine aminopeptidase -** est une enzyme appartenant au groupe des hydrolases (enzymes catalysant l'hydrolyse de produits métaboliques).

Orient - pays situés à l'est de la Méditerranée.

**Opportuniste -** organisme qui profite d'une occasion favorisant sa prolifération.

Ovipares - animale qui pond des œufs.

Oviposition - le fait de déposer les œufs à un certain endroit.

**Ovovivipares -** où les œufs fécondés se développent chez la femelle et éclosent instantanément quand ils sont pondus, bien que cela puisse avoir lieu dans l'appareil génital féminin.

**Paléarctique -** dans le contexte de la distribution des insectes, cela indique une distribution dans la majeure partie de l'Europe, l'Afrique au nord du Sahara et la majorité de l'Asie au nord de l'Himalaya.

**Polyphaga -** un sous-ordre des Coleoptères caractérisé par un coxa postérieur mobile par rapport au métasternum et une division incomplète du premier sternite abdominal.

Putréfaction - décomposition de matières organiques par des bactéries et des champignons.

**Synanthrope -** En étroite association avec les êtres humains, tels que les espèces d'insectes qui fréquentent les domiciles ou autres structures artificielles ou qui dépendent d'un refuge pour se nourrir.

**Stigmates -** Organes respiratoires sous forme d'orifice, c'est une ouverture débouchant sur le système respiratoire trachéen.

Vivipare - animal dont les progénitures viennent au monde entièrement développés.

# TABLE DES MATIÈRES

## RÉSUME

REMERCIEMENTS	
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABRÉVIATIONS	
GLOSSAIRE	
TABLE DES MATIÈRES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	23
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	28
1.1. Generalités sur les insectes et l'entomologie forensique	28
<ul> <li>1.1.1. Définition</li> <li>1.1.2. Historique</li> <li>1.1.3. Les altérations d'un corps après la mort</li> <li>1.1.4. Les étapes de décomposition d'un cadavre humain à l'air libre</li> <li>1.1.5. Les insectes associés aux cadavres</li> <li>1.1.6. Les catégories écologiques de l'entomofaune des cadavres</li> <li>1.1.7. Notion des escouades</li> <li>1.1.7.1. Faune des cadavres à l'aire libre</li> <li>1.1.7.2. Faune des cadavres dans des conditions spécifiques</li> </ul>	28 28 29 32 34 47 48 48 50
1.2. Rôle des insectes nécrophages	56
<ul> <li>1.2.1. Utilisation des insectes nécrophages en justice</li> <li>1.2.1.1. Datation de la mort par les méthodes entomologiques</li> <li>1.2.1.2. Enfants et personnes âgées maltraités</li> <li>1.2.1.3. Déplacement d'un corps</li> <li>1.2.1.4. L'entomotoxicologie</li> <li>1.2.1.5. L'ADN et l'entomologie forensique</li> <li>1.2.2. Utilité des insectes nécrophages en biochirurgie</li> <li>1.2.2.1. Définition de l'asticothérapie</li> <li>1.2.2.3. Historique de l'asticothérapie</li> <li>1.2.2.4. Intérêt de l'utilisation des larves de <i>L. sericata</i> en asticothérapie</li> <li>1.2.2.5. Morphologie de <i>Lucilia sericata</i></li> <li>1.2.2.7. Biologie et cycle de développement</li> <li>1.2.2.8. Mécanisme d'action de la larvothérapie</li> </ul>	56 56 65 65 70 74 74 74 75 76 76 76 77 8 78
1.2.2.9. Techniques d'application de la larvothérapie en clinique	81

### CHAPITRE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE

84

2.1. Ech dans diffé	nantillonnage de <i>Lucilia sericata</i> , <i>Calliphora vicina</i> et <i>Chrysomya albic</i> é érentes régions en l'algérie	eps 84
2.1.1. 2.1.2. 2.1.3. 2.1.4.	Présentation de la région d'étude Objectifs de l'étude Matériel et méthodes Analyse des données	84 85 86 87
2.2. Etu	ide du développement des principales mouches d'intérêt médico-légale	<del>8</del> 88
2.2.1. 2.2.2. 2.2.3.	Lieu et objectifs de l'étude Matériel et méthodes Analyse des données	88 88 94
2.3. Etu	de in vitro du pouvoir antimicrobien des larves de Lucilia sericata	94
2.3.1. 2.3.2. 2.3.3.	Lieu et objectif de l'étude Matériel et méthodes Analyse des données	94 95 99
2.4. Etu condition	ide de décomposition des cadavres animaux dans un milieu ouvert se s particulières	ous 100
2.4.1. 2.4.2. 2.4.3. 2.4.4. 2.4.5. 2.4.6.	Lieu et objectifs de l'étude Description du site de l'étude Période de l'étude Matériel et méthodes Analyse des données Analyse toxicologique	100 100 101 101 106 106
2.5. Ent	tomogénétique	107
2.5.1. 2.5.2. 2.5.3.	Lieu et objectifs de l'étude Matériel et méthodes Analyse bioinformatique des séquences	107 107 113
CHAPITE	RE 3 : RESULTATS	114
3.1. Dis algérie	tribution de Lucilia sericata, Calliphora vicina et Chrysomya albiceps	en 114
3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. différents	Occurrence spatio-temporelle Occurrence selon le type de l'habitat Distribution saisonnière de <i>L. sericata</i> et <i>C. vicina</i> dans deux habit	114 116 tats 116
3.2. Etu	ide du cycle de développement des principales mouches d'inté	érêt

médico-légale 119 3.2.1. Suivie du cycle de développement de *Lucilia sericata* en conditions

contrôlées 119 3.2.2. Suivie du cycle de développement de *Calliphora vicina* en conditions contrôlées 121

3.3. Etude *in vitro* du pouvoir antimicrobien des larves de *Lucilia sericata* 124

<ul><li>3.3.1. Résultats de la stérilisation</li><li>3.3.2. Tests antibactériens</li><li>3.3.3. Tests antifongiques</li></ul>	124 129 131
3.4. Etude de la décomposition des cadavres des lapins dans un milie sous conditions particulières	u ouvert 132
<ul> <li>3.4.1. Les données climatiques</li> <li>3.4.2. Les stades et la vitesse de décomposition</li> <li>3.4.3. Communautés d'arthropodes</li> <li>3.4.4. L'occurrence des d'arthropodes</li> <li>3.4.5. Abondance des arthropodes selon les stades de décomposicadavres</li> <li>3.4.6. Les analyses toxicologiques</li> <li>3.4.7. Identification morphologique des espèces des familles des d'importance forensique</li> </ul>	132 132 134 140 ition des 149 149 Diptères 150
3.5. Entomogénétique	156
<ul> <li>3.5.1. Résultats de l'analyse spectrophotométrique</li> <li>3.5.2. Résultats de l'amplification de l'ADN</li> <li>3.5.3. L'analyse phylogénétique</li> <li>3.5.4. La variation intra- et interspécifique</li> </ul>	156 156 157 162
CHAPITRE 4 : DISCUSSION	165
4.1. Distribution de Lucilia sericata, calliphora vicina et Chrysomya alb algérie	<i>iceps</i> en 165
<ul> <li>4.1.1. Occurrence spatio-temporelle</li> <li>4.1.2. Occurrence selon le type de l'habitat</li> <li>4.1.3. Distribution saisonnière de <i>L. sericata</i> et <i>C. vicina</i> dans deux différents</li> </ul>	165 166 habitats 166
4.2. Etude du cycle de développement des principales mouches médico-légale	d'intérêt 168
<ul> <li>4.2.1. Estimation de la fécondité des populations des mouches</li> <li>4.2.2. Evaluation de la durée du cycle de développement de <i>L. serica vicina</i></li> <li>4.2.3. Estimation des températures moyennes journalières (ADD)</li> </ul>	168 ata et C. 168 170
4.3. Etude in vitro du pouvoir antimicrobien des larves de Lucilia sericata	171
4.3.1. La stérilisation 4.3.2. Tests antimicrobiens	171 173
4.4. Etude de décomposition des cadavres des lapins dans un milieu ou conditions particulières	vert sous 175
<ul> <li>4.4.1. Données climatologiques</li> <li>4.4.2. Les stades et le taux de décomposition</li> <li>4.4.3. Composition et abondance de la communauté d'arthropodes</li> <li>4.4.4. L'occurrence des arthropodes</li> <li>4.4.5. Abondance selon les stades de décomposition du cadavre</li> </ul>	175 176 177 179 183

4.4.6. Les analyses toxicologiques	183
4.5. Entomogénétique	185
<ul><li>4.5.1. Extraction, amplification et analyse des séquences d'ADN</li><li>4.5.2. Analyse phylogénétique</li><li>4.5.3. Variations intra- et interspécifique</li></ul>	185 186 187
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	190
APPENDICES	192
<ul> <li>A. Liste des symboles et des abréviations</li> <li>B. Matériel utilisé dans la partie expérimentale</li> <li>C. Données de l'occurrences des espèces étudiées</li> <li>D. Calcul des ADD de <i>L. sericata</i> et <i>C. vicina</i></li> <li>E. Chromatogrammes de l'analyse toxicologique des larves</li> <li>F. Résultats des analyses moléculaires</li> </ul>	190 193 195 200 201 203
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	215

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

- Figure 1.1 Schéma de la morphologie d'une mouche Diptère Calliphoridae (*Chrysomya albiceps*) (reproduite de SZPILA [53], ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission). 35
- Figure 1.2 Troisième stade larvaire de quelques espèces de Diptères nécrophages (reproduite de SZPILA [81], ©Springer 2010, avec permission). 36
- Figure 1.3 Les stigmates postérieurs des principales familles des larves des mouches nécrophages (reproduite de THYSSEN [82], ©Springer 2010, avec permission). 36
- Figure 1.4Le cycle biologique holométabole d'une mouche calliphoridée (Calliphora<br/>vicina) (Unité de l'echelle en millimètre) (adaptée de HALL et al. [86],<br/>©Wiley-Blackwell 2010, avec permission).39
- Figure 1.5Mouche de la famille des Calliphoridae : Calliphora vicina entourée des<br/>larves de différentes tailles et stades (reproduite de HALL et al. [86],<br/>©Springer 2010, avec permission).40
- Figure 1.6 Diptère de la famille de Sarcophagidae (reproduite de RICHET et al. [88], ©Pensoft 2011, avec permission). 41
- Figure 1.7Morphologie générale d'un Coléoptère, vue dorsale (reproduite de<br/>GENNARD [20] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission).43
- Figure 1.8Exemples des stades immatures des Coléoptères (reproduite de<br/>GENNARD [20] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission).43
- Figure 1.9 Colonisation et développement des mouches dans des environnements particuliers (adaptée de RIVERS et DAHLEM [11] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission). 50
- Figure 1.10 Représentation schématique du lien entre la température ambiante et le développement réalisé en une unité de temps passée à cette température (TDu) chez les larves de Diptères nécrophages. Seule la partie B est linéaire (reproduite de CHARABIDZE [19] ©Taylor & Francis 2012, avec permission). 58
- Figure 1.11 Exemple de détermination du jour de ponte des individus de l'espèce *Calliphora vicina* s'étant développés à température variable et ayant émergé le jour 32 (reproduite de CHARABIDZE [19] ©Taylor & Francis 2012, avec permission). 60
- Figure 1.12Photographies d'un patient diabétique de 48 ans avec brûlure au pied.<br/>Son calcanéus était atteint d'ostéomyélite [232].78
- Figure 1.13 Des larves sur une plaie après 5 jours [249]. 82

82

Figure 1.14 Biobag contenant des larves [222].

Figure 2.1	Zones biogéographiques et bioclimatiques de l'Algérie (reproduite de MOHAMED SAHNOUNE et al. [255], Zootaxa 2432 © 2010 Magnolia Press, avec permission). 85
Figure 2.2	Illustration des pièges à appât confectionnés pour la collecte desmouches (adapté de AÇIKGÖZ et al. [256]).87
Figure 2.3	Cage utilisée pour maintenir les colonies des mouches au laboratoire (photo originale). 90
Figure 2.4	Boite utilisée pour stimuler la ponte des mouches (photo originale). 90
Figure 2.5	<i>Lucilia sericata</i> au moment de la ponte sur un substrat de foie de volaille. 91
Figure 2.6	Séparation des amas d'œufs de <i>Lucilia sericata</i> (photo originale). 92
Figure 2.7	Les principales étapes utilisées dans la réalisation des élevages de Lucilia sericata et Calliphora vicina au laboratoire (photos originales). 93
Figure 2.8	Application des larves de <i>L. sericata</i> sur des souches microbiennes (photo originale). 97
Figure 2.9	Extraction du tube digestif de la larve (photo originale). 98
Figure 2.10	Canal alimentaire du 3ème stade larvaire de <i>Chrysomya megacephala</i> [263]. 98
Figure 2.11	Localisation géographique du site de l'étude (Google Earth). 101
Figure 2.12	Gavage de l'alcool aux lapins (photo originale). 103
Figure 2.13	Prélèvement du sang (photo originale). 103
Figure 2.14	Emplacement du cadavre dans le piège protégé par une cage métallique (photo originale). 103
Figure 2.15	Piège de Shannon modifié (photo originale). 104
Figure 2.16	Piège Barber (photo originale). 104
Figure 2.17	Les différentes étapes utilisées pour l'identification moléculaire des mouches (photos originales). 108
Figure 3.1	Occurrence de <i>Lucilia sericata</i> , <i>Calliphora vicina</i> et <i>Chrysomya albiceps</i> en Algérie entre 2010 et 2016 selon des données de présence seulement. 115
Figure 3.2	Analyse de la correspondance de L. sericata et C. vicina et lessaisonsdu site urbain et forestier.117
Figure 3.3	Evolution mensuel des effectifs (histogramme) de <i>L. sericata</i> et <i>C. vicina</i> piégés à Blida (site urbain) en fonction des températures moyennes mensuelles (courbe) entre mai 2015 et juin 2016. 118

- Figure 3.4Evolution mensuel des effectifs (histogramme) de *L. sericata* et *C. vicina*<br/>piégés à Bouchaoui (site forestier) en fonction des températures<br/>moyennes mensuelles (courbe) entre mai 2015 et juin 2016.
- Figure 3.5 Lyse complète des bactéries dans la zone d'application des larves après 24 heures (photo originale). 129
- Figure 3.6 Données de la température durant la période expérimentale. 132
- Figure 3.7 Stades de décomposition des cadavres expérimentés. 133
- Figure 3.8 Stades de décomposition des cadavres emballés en sacs plastiques. 133
- Figure 3.9 Abondance relative des familles des Diptères sur les trois groupes des cadavres. 138
- Figure 3.10 Abondance relative des familles des Coléoptères sur les trois groupes des cadavres. 139
- Figure 3.11 *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales). 150
- Figure 3.12 Morphologie de *Chrysomya albiceps* (Widemann, 1819) et *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales). 151
- Figure 3.13 *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales). 152
- Figure 3.14 *Calliphora vomitoria* (Linnæus, 1758) (Diptera: Calliphoridae) (photos originales). 152
- Figure 3.16 Morphologie de quelques espèces de la famille des Sarcophagidae (photos originales). 153
- Figure 3.17 Morphologie de quelques espèces de la famille des Muscidae (photos originales). 154
- Figure 3.18 Morphologie de quelques espèces de la famille des Fanniidae (photos originales). 155
- Figure 3.19 Morphologie de quelques espèces de la famille des Piophilidae (photos originales). 155
- Figure 3.20 Visualisation des bandes des amplifiâts de la PCR sur le gel d'agarose après électrophorèse des adultes de treize espèces de mouches nécrophages utilisées dans notre étude (photo originale). 156
- Figure 3.21 Arbre phylogénétique des Calliphoridae réalisé par la méthode Neighbor-Joining utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila melanogaster* a été définie comme un groupe externe. 158

- Figure 3.22 Arbre phylogénétique des Sarcophagidae réalisé par la méthode Neighbor-Joining en utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila yakuba* et *Musca Domestica* ont été utilisées comme un groupe externe. 160
- Figure 3.23 Arbre phylogénétique des Piophilidae réalisé par la méthode Neighbor-Joining en utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila yakuba* a été utilisée comme un groupe externe. 161
- Figure 4.1Schéma des relations trophiques des espèces d'arthropodes les plus<br/>representatives associées aux cadavres.178
  - Figure 1Chromatogrammes obtenus de l'analyse de l'éthanol par HS-GC-FID à<br/>partir des larves prélevées sur les cadavres témoins.201
  - Figure 2Chromatogrammes obtenus de l'analyse de l'éthanol par HS-GC-FID à<br/>partir des larves prélevées sur les cadavres traités.202
- Tableau 1.1Principaux taxa des Diptères (adapté de MCGAVIN [83] in WYSS et<br/>CHERIX [1]).37
- Tableau 1.2Quatre sous-ordres coléoptères (adapté de MCGAVIN [83] in WYSS et<br/>CHERIX [1]).44
- Tableau 1.3Principales espèces de la faune cadavérique se succédant sur un corps<br/>exposé. (D'après MEGNIN [56] et SMITH [6] in GAUDRY et al. [57]). 49
- Tableau 1.4Principales espèces de la faune cadavérique se succédant sur un corps<br/>enterré. (D'après MEGNIN [56] et SMITH Smith (1986) in GAUDRY et<br/>al. [57]).51
- Tableau 1.5Sommes de températures accumulées par quelques Diptères<br/>Calliphoridae et leur indice de développement minimal (selon<br/>MARCHENKO [25] in WYSS et CHERIX [1]).58
- Tableau 1.6Paramètres affectant le processus de décomposition selon MANN et al.[31].63
- Tableau 2.1Souches microbiennes de références utilisées dans les tests<br/>antibactériens.95
- Tableau 2.2Les poids des lapins et les doses d'alcool ingérées.102
- Tableau 2.3Amorces choisies pour l'amplification de la région du gène de la COI.110
  - Tableau 2.4Composition du mélange réactionnel de la PCR.110
  - Tableau 2.5CompositiondumélangeréactionneldelaPCRdestinéeauséquençage.112

Tableau 3.1	Abondance de <i>Lucilia sericata</i> et <i>Calliphora vicina</i> à Blida (site urb sur des pièges à appâts entre juin 2015 et mai 2016.	ain) 116
Tableau 3.2	Abondance de <i>Lucilia sericata</i> et <i>Calliphora vicina</i> à Bouchaoui ( forestier) sur des pièges à appâts entre juin 2015 et mai 2016.	(site 117
Tableau 3.3	Évaluation des poids et dénombrement des œufs pondus.	119
Tableau 3.4	Résultats d'élevage de <i>Lucilia sericata</i> à 24°C, 70% humidité relativ 12h : 12h de photopériodicité.	e et 120
Tableau 3.5	Résultats d'élevage de <i>Lucilia sericata</i> à 27°C, 70% humidité relativ 12h : 12h de photopériodicité.	e et 120
Tableau 3.6	Résultats de l'élevage de <i>L. sericata</i> élevée à des températu constantes.	ures 121
Tableau 3.7	Évaluation des poids et dénombrement des œufs de <i>Calliphora vie</i> pondus à 22°C (Température ambiante).	cina 122
Tableau 3.8	Résultats d'élevage de <i>Calliphora vicina</i> à 24°C, 70% humidité rela et 12h : 12h de photopériodicité.	itive 122
Tableau 3.9	Résultats d'élevage de <i>Calliphora vicina</i> à 27 °C, 70 % humidité rela et 12h :12h de photopériodicité.	itive 122
Tableau 3.10	Températures accumulées par <i>C. vicina</i> élevée à des températu constantes.	ures 124
Tableau 3.11	Nombre des œufs éclos sur chaque milieu après 24 heures de stérilisation.	leur 124
Tableau 3.12	Taux de mortalité 24 heures après la stérilisation.	125
Tableau 3.13	Nombre des larves vivantes et mortes 48 heures après la stérilisat	ion. 125
Tableau 3.14	Taux de mortalité 48 heures après la stérilisation.	125
Tableau 3.15	Nombre des larves vivantes et mortes 72 heures après la stérilisat	ion. 126
Tableau 3.16	Taux de mortalité 72 heures après la stérilisation.	126
Tableau 3.17	Taux mortalités totaux après la stérilisation des œufs.	127
Tableau 3.18	Nombre des larves vivantes et mortes sur chaque boite après heures de la stérilisation.	24 127
Tableau 3.19	Taux de mortalité après 24 heures de la stérilisation des larves.	128
Tableau 3.20	Nombre des larves vivantes et mortes sur chaque boite après heures de la stérilisation.	24 128
Tableau 3.21	Taux de mortalité après 48 heures de la stérilisation des larves.	128
Tableau 3.22	Taux mortalités totaux après la stérilisation des larves.	129

- Tableau 3.23Résultatsdu test antimicrobien suivant l'application directes des larves<br/>vivantes.130
- Tableau 3.24Résultatsdel'ensemencementdelasuspensiondel'intestinpostérieure des larves en contact avec les souches bactériennes.131
- Tableau 3.25Résultats obtenus après 5 jours d'incubation des larves de L. sericata<br/>avec les souches fongiques.131
- Tableau 3.26 Résumé des caractéristiques des stades de décomposition des<br/>cadavres des lapins.133
- Tableau 3.27Durées des stades de décomposition chez les cadavres témoins,<br/>embalés et traités.134
- Tableau 3.28Abondance absolue des arthropodes collectés sur les cadavres<br/>témoins, emballés et traités.136
- Tableau 3.29Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres<br/>témoins.142
- Tableau 3.30 Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres<br/>emballés.144
- Tableau 3.31Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres<br/>traités.146
- Tableau 3.32Abondance absolue des ordres d'arthropodes survenus sur les<br/>cadavres selon les stades de décomposition.149
- Tableau 3.33Concentrations de l'éthanol obtenues à partir du sang et des tissus<br/>larvaires.150
- Tableau 4.1Comparaison de la durée de développement (en jours) de L. sericata et<br/>C. vicina de cette étude et de la littérature.169
- Tableau 4.2Comparaison des températures journalières accumulées (ADD) de L.<br/>sericata et C. vicina de cette étude et de la littérature.170
- Tableau 1Données de l'occurrence de Lucilia sericata en Algérie entre 2010 et<br/>2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la<br/>température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne<br/>maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.).
- Tableau 2Données de l'occurrence de Calliphora vicina en Algérie entre 2010 et<br/>2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la<br/>température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne<br/>maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B).
- Tableau 3Données de l'occurrence de Calliphora vicina en Algérie entre 2010 et<br/>2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la<br/>température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne<br/>maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.).

- Tableau 4Feuille de calcul des ADD de L. sericata et C. vicina.200
- Tableau 5Résultats de l'analyse des échantillons d'ADN extraits en utilisant un<br/>spectrophotomètre NanoDrop®.203
- Tableau 6Identification moléculaire des échantillons utilisés dans cette étude<br/>avec leurs taux de similarité sur la base de données GenBank.204
- Tableau 7Matrice de la divergence intra- et inter-spécifique par paire (p-distance)<br/>calculée par la méthode de Kimura à deux paramètres entre les<br/>séquences des espèces de Calliphoridae.206
- Tableau 8Matrice de la divergence intra- et inter-spécifique par paire (p-distance)<br/>calculée par la méthode de Kimura à deux paramètres entre les<br/>séquences des espèces des Sarcophagidae.212
- Tableau 9Matrice de la divergence intra- et interspécifique par paire (p-distance)<br/>calculée par la méthode de Kimura à deux paramètres entre les<br/>séquences des espèces des Piophilidae.214

### INTRODUCTION

Les Calliphoridae sont généralement trouvés sur des matières animales et végétales en décomposition. Leurs larves sont nécrophages, coprophages, saprophages et vivent dans des matières organiques en décomposition [1]. Les *Chrysomyiinae*, *Luciliinae* et *Calliphorinae* sont les sous-familles les plus importantes des Calliphoridae. *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) et *Chrysomya albiceps* (Wiedmann, 1819) sont des espèces Calliphoridae largement répandues dans le monde. Elles sont souvent les premiers insectes à coloniser et à pondre sur les dépouilles où se développent leurs asticots [2]. Par conséquent, ces espèces sont d'importance médico-légale car elles aident à estimer l'intervalle post-mortem (PMI) avec précision. Ce sont aussi des ectoparasites facultatifs qui peuvent causer une myiase primaire ou secondaire chez les humains et les animaux [3]–[6]. *Lucilia sericata* joue un rôle majeur en médecine humaine, car ses larves sont utilisées pour guérir les plaies chroniques [7][8]. Ainsi, ces dernières possèdent une importance médicale, vétérinaire et médico-légale [9]–[12].

L'abondance et la composition de ces insectes sont influencées par les saisons, leur nombre diminuent à des températures plus froides alors qu'elles augmentent à des températures plus chaudes [13]–[15]. En outre, la localisation géographique peut également affecter ces communautés [16]. La région biogéoclimatique a un grand impact sur les insectes et leur disponibilité saisonnière [3]. Certaines espèces sont omniprésentes tandis que d'autres sont restreintes à une zone particulière [11]. L'application principale de l'entomologie forensique est d'estimer l'heure du décès [17]. De plus, il peut être prouvé qu'un cadavre a été déplacé de son lieu initial du décès [18]. Ceci peut être conclu en utilisant des insectes qui vivent dans une zone écologique restreinte mais qui se trouvent sur un corps dans une région différente [3][19][20]. Cependant, cette application dépend de la compréhension de la faune locale [20]. Cela peut être utilisé dans le cas d'espèces qui ne vivent que dans les zones urbaines ou rurales.

La méthode la plus fréquemment utilisée pour le calcul d'un IPM court est appelée degrés jours accumulés (ADD) ou degrés heures accumulés (ADH). Elle se base sur le cycle de développement des Diptères nécrophages [1][19][21]–[24]. On obtient alors ce qu'on appelle un IPM minimum qui ne pourra être déterminé que pour la première génération de mouches arrivées sur le cadavre [1]. Cette méthode a été mise au point par MARCHENKO [25]. Elle nécessite une identification précise de l'espèce qui est souvent difficile à partir de stade larvaire.

Le rôle des insectes dans l'accélération du taux de décomposition est crucial [26]. Les espèces dans l'ordre des Diptères et des Coléoptères sont de grande importance dans les enquêtes médico-légales [11]. Les Hyménoptères, les Lépidoptères et d'autres arthropodes sont des hôtes, ou plus souvent des prédateurs, d'insectes nécrophages. Le nombre et la distribution des espèces nécrophages peuvent être contrôlés par ces prédateurs [26]. Ainsi, les arthropodes associés aux stades de décomposition sont généralement classés en quatre catégories écologiques : les nécrophages, les parasites et les prédateurs des nécrophages, les omnivores et les espèces opportunistes [1][6][27]. Une cinquième catégorie est parfois citée, ce sont les espèces dites accidentelles dont la présence sur le corps est le résultat due au hasard [28].

La connaissance des facteurs qui peuvent affecter la colonisation des insectes est nécessaire pour estimer l'intervalle post-mortem [26][29]. La température, les conditions météorologiques, la saison, la localisation géographique, le dépôt du corps (à l'intérieur, exposés ou enterrés) et la présence de vêtements peuvent avoir une incidence sur l'activité des insectes [26]. Par conséquent, une évaluation précise doit tenir compte des variables qui peuvent entraver la colonisation des mouches et la ponte des femelles [30].

Selon MANN et al. [31], l'accessibilité des insectes au corps est le deuxième facteur le plus important après la température [26]. Les criminels tentent habituellement de dissimuler des preuves de crime en utilisant des vêtements, des couvertures, des tapis, des bâches, des sacs de couchage, des sacs plastiques et des valises [30][32]–[34]. Cependant, l'emballage en plastique semble être le plus fréquemment utilisé [35]. Plusieurs cas signalant la présence des cadavres humains, des parties du corps, des fœtus humains ou des cadavres d'enfants dans des sacs plastique sont souvent enregistrés [36]. Ainsi, il est important de prendre en considération la présence d'un obstacle qui entrave ou empêche l'accès des insectes puisque les sacs représentent une barrière physique potentielle pour la ponte. Néanmoins, jusqu'à présent seules quelques études sur l'accessibilité des insectes ont été réalisées [30][37][38].

Les insectes et leur stades immatures qui se nourrissent des tissus cadavériques peuvent accumuler et stocker dans leurs tissus les xénobiotiques (médicaments, drogues, poisons, produits chimiques, etc.) présentes au niveau du cadavre [22]. De ce fait, ils peuvent servir de spécimens alternatifs fiables pour l'analyse toxicologique lorsque le corps est trop décomposé (absence de tissus, de sang ou d'urine) pour procéder à des analyses toxicologiques sur des échantillons de tissus classiques [39]–[41].

L'entomotoxicologie est l'étude de la bioaccumulation des xénobiotiques chez les insectes ou d'autres arthropodes en vue de déterminer la présence de ces mêmes xénobiotiques au niveau du cadavre [20][42][43]. L'entomotoxicologie implique alors l'analyse de la présence et les effets de substances toxicologiques chez les insectes nécrophages et leur impact sur l'estimation de l'IPMmin [44][45]. Les résultats obtenus par des études entomotoxicologiques peuvent aider à étudier la cause et l'heure de la mort des humains et des animaux [45].

L'éthanol peut être détecté dans les cadavres, peu importe la cause du décès, mais avec une incidence plus élevée dans les décès dues à des circonstances violentes [46][47]. L'éthanol est également l'une des principales causes de décès par empoisonnement [48]. La détection de l'alcool dans les tissus peut fournir des informations importantes concernant les circonstances de la mort d'un individu [49].

Les insectes souvent recueillis des cadavres au cours d'une enquête criminelle nécessitent une identification rapide et précise des espèces [50]. En raison du nombre limité de taxonomistes experts, l'identification des espèces est l'un des principaux obstacles de l'entomologie médico-légale. Par conséquent, l'identification moléculaire des espèces, en utilisant le gène mitochondrial codant la cytochrome c oxydase sous-unité I (COI), a été suggérée [51].

Des données concernant la distribution, la biologie et l'écologie des insectes nécrophage ne sont pas disponibles en Algérie. La maîtrise des méthodes d'élevage et de stérilisation des larves destinées à la larvothérapie est indispensable afin d'introduire cette biochirurgie en Algérie. Au meilleur de nos connaissances, il n'existe aucun travail sur le terrain concernant l'effet de l'emballage ou de l'éthanol sur la décomposition et l'entomofaune cadavérique. Ainsi, nous pouvons revendiquer un manque d'information concernant l'activité des insectes en présence de ces facteurs. Il est également important de connaître

le profil génétique des populations Algériennes d'insectes nécrophages en vue de promouvoir l'entomologie forensique en Algérie. Pour ce faire, nous avons réalisé un travail de recherche qui se divise en cinq parties dont les objectifs étaient :

- La première partie : avait pour but de rapporter l'occurrence spatio-temporelle de *L. sericata, C. vicina* et *Ch. albiceps* ; effectuer une étude de terrain sur une période d'un an dans deux zones différentes au centre-nord de l'Algérie pour étudier la dynamique saisonnière de ces espèces.

- La deuxième partie : son objectif était de faire des élevages de *L. sericata* et *C. vicina* pour étudier leur cycle de développement au laboratoire à des températures constantes ; comparer la durée de développement et le budget thermique des espèces Algériennes avec les données de la littérature.

- La troisième partie : a visé à valider des méthodes de stérilisation des œufs et des larves de *L. sericata* et tester leur effet *in vitro* vis à vis des souches microbiennes de références.

- La quatrième partie : les objectifs de cette étude étaient premièrement, d'examiner la vitesse de décomposition et la faune cadavérique d'un groupe des cadavres des lapins emballés dans des sacs plastiques transparentes, un autre groupe traités en ante-mortem avec des doses connues de l'éthanol et un groupe des témoins (non manipulés) ; deuxièmement, d'enregistrer les insectes impliqués dans la colonisation primaire et les arthropodes présents à des stades différents de la décomposition ; troisièmement, comparer l'abondance et l'occurrence des arthropodes entre les groupes de cadavres ; quatrièmement, d'analyser l'éthanol présent dans les larves prélevés sur les cadavres traités et les comparer avec les larves témoins.

 La cinquième partie : avait pour objectif principal de réaliser une identification moléculaire des mouches à intérêt médico-légal collectées et identifiées morphologiquement afin de confirmer leur identification. De plus, les séquences d'ADN obtenues ont été comparées avec celles des différentes régions du monde.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études relatives à l'écologie des cadavres et à l'activité des insectes ont été menées en Algérie en utilisant des lapins, des chiens et des cadavres de sangliers. Cependant, les méthodes utilisées n'étaient pas conformes aux protocoles standardisés en entomologie légale. La recherche présentée ici est le premier travail en Algérie planifié selon les protocoles expérimentaux recommandés examinant l'écologie et la biologie des Diptères à intérêt forensique et les facteurs abiotiques influençant l'IPM. L'identification moléculaire des mouches nécrophages réalisée durant cette recherche est également le premier travail de son type en Algérie.

# CHAPITRE 1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 1.1. Généralités sur les insectes et l'entomologie forensique

#### 1.1.1. Définition

L'entomologie forensique est une discipline rattachée aux sciences forensiques qui utilise les insectes et d'autres arthropodes pour aider la justice [2][20][52]. Elle se divise en trois branches qui sont l'entomologie urbaine, l'entomologie des denrées stockées et l'entomologie médico-légale [2][53][54]. L'entomologie urbaine se base sur les insectes pestes (termites, cafards, etc.) attaquant l'environnement humain. L'entomologie des denrées stockées se concentre sur les arthropodes et leurs débris retrouvés dans les aliments et autres produits [2]. La troisième branche est celle la plus connue appelée le plus souvent entomologie médico-légale. Elle s'intéresse aux insectes et d'autres arthropodes pour les utiliser dans les enquêtes judicaires. Elle est parfois appelée entomologie légale, judiciaire, criminelle ou forensique [2][20][52].

#### 1.1

### 1.1.2. Historique

La première affaire criminelle documentée résolue à l'aide des insectes date du 13ème siècle en Chine a été reportée par Sung Tz'u, un avocat et enquêteur chinois. Un fermier avoua l'assassinat d'un autre fermier lorsque des Diptères de la famille des Calliphoridae ont été attirés par des traces invisibles de sang sur sa faucille [1][2][20][21][55].

Dès le 17ème siècle, l'infestation de la viande par les mouches et leurs asticots fût étudiée en Europe dans le cadre de la théorie de la génération spontanée (Generatio Spontane) [19]. En 1661, le scientifique italien Redi, démontra que les larves présentes sur la viande étaient le résultat de pontes de mouches [19][20][56]. En 1767, le biologiste Carl von Linné mentionna que trois mouches pouvaient consommer un cheval à la vitesse d'un lion avec leurs pontes sur la dépouille. Aux 17ème et 19ème siècles, des médecins légistes observèrent lors des exhumations de masse en France et en Allemagne que les corps étaient

habités par des Arthropodes. En 1831, le docteur Orfila rapporta que les asticots jouaient un rôle important dans la décomposition des cadavres [57].

En 1850, le docteur Bergeret étudia les insectes présents sur un cadavre d'un nouveau-né découvert derrière une cheminée lors des travaux de rénovation. La présence d'insectes et le stade de décomposition avancé permirent d'innocenter les nouveaux propriétaires [20][55][56][58][59]. Ce cas a permis de reconnaitre l'entomologie médico-légale comme un outil pour aider la justice.

L'histoire de l'entomologie légale fût connu une contribution significative grâces aux travaux réalisé par MEGNIN [56], un vétérinaire et un entomologiste, publiés dans sont fameux livre « La faune des cadavres : Application de l'entomologie à la médecine légale ».

Au 20ème siècle, les insectes étaient déjà utiles pour résoudre les affaires judiciaires impliquant la colonisation des cadavres immergés par les insectes. Le 29 septembre 1935, plusieurs parties de corps, plus tard identifiées comme provenant de deux femmes, ont été récupérées d'une rivière en Ecosse. La présence de larves du troisième stade de *Calliphora vicina* indiquait que les œufs avaient été posés avant que les dépouilles soient été jetées dans la rivière [20].

Entre les années 1960 et 1980, des contributions majeures à l'entomologie médico-légale ont été apportées par le belge Leclercq, le finlandais Nuorteva, le russe Marchenko et l'Anglais Smith [1][22][25][60][61].

A partir des années 2000 jusqu'à nos jours, la discipline a connu un véritable engouement et il en résulte la parution de plusieurs livres dédiés à l'entomologie forensique [1][20][21][40][54][62]. Les entomologistes forensiques dans un certain nombre de pays ont mis en place des associations telle que l'Association Nord-Américaine d'Entomologie Forensique et l'Association Européenne d'Entomologie Forensique (EAFE) [20].

En Algérie, cette discipline a été officiellement introduite en 2010 par le laboratoire d'Entomologie de l'institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale. Depuis 2011, des expertises sont réalisées dans ce laboratoire en utilisant les insectes [63].

#### 1.1.3. Les altérations d'un corps après la mort

Après la mort, les signes négatifs de la vie résultants de l'arrêt des activités vitales du cœur, des poumons et du cerveau surviennent entrainant un

refroidissement du corps, rigidité, déshydratation et acidification. Les signes positive de la mort à savoir : l'autolyse cellulaire, l'autodigestion et la putréfaction se déclenchent [57].

#### 1.1.3.1. Refroidissement du corps (algor mortis)

Le corps se refroidit progressivement après l'arrêt de la respiration pour atteindre une température d'équilibre égale à la température ambiante [57][64]. La température du corps chute (généralement de 1°C par heure) jusqu'à ce que la température corporelle se situe à la température ambiante [57][65]. La température du cadavre doit être systématiquement mesurée au cours de la levée du corps par voie rectale ou transpariéto-hépatique (dans le foie) [57][64][65].

#### 1.1.3.2. Rigidité cadavérique (rigor mortis)

Après la mort le cadavre devient rigide. Cette rigidité cadavérique est un phénomène de raidissement musculaire progressif. Elle s'installe progressivement et devient perceptible à partir de la troisième ou la quatrième heure après la mort. Elles résultent de la transformation du glycogène des muscles en composés acides comme l'acide lactique. Celui-ci est responsable de la contraction des liaisons actine-myosine des fibres musculaires [64]. Elle est maximale entre douze et vingt-quatre heures et peut persister jusqu'à 84 heures après le décès. Les muscles se relâchent en général dans le même ordre que celui de leur contraction et la rigidité disparaît complètement avec l'arrivée du processus de putréfaction [64][66].

#### 1.1.3.3. Lividités cadavériques (livis mortis)

Les lividités cadavériques correspondent à une coloration rosée ou violacée de la peau. Ces lividités apparaissent quelques minutes après la mort et s'intensifient progressivement. Celles-ci apparaissent sur les parties déclives du corps et sont absentes des zones de pression (zones d'appuis). L'accumulation du sang par gravité débute dès l'arrêt de la fonction hémodynamique. Néanmoins, elles ne sont généralement perceptibles que deux à quatre heures après la mort [57][64][65].

#### 1.1.3.4. Putréfaction

La dégradation de matière organique est le fait de l'action de bactéries anaérobies et celle de champignon couplée à l'autolyse des cellules ou des tissus par des enzymes libérées [57]. Le premier signe visible de la putréfaction est l'apparition d'une tâche verte abdominale au niveau de la fosse iliague droite qui survient en conditions standard de température (20°C) aux alentours de la quarante-huitième heure. Cette tache verte correspond à la dégradation par les enzymes bactériennes des pigments biliaires contenus dans le caecum puis à leur infiltration dans les tissus sous-cutanés. La putréfaction s'étend ensuite de façon centrifuge au reste du corps [64][67][68]. Le métabolisme bactérien et l'autolyse conduisent à la production de nombreux gaz qui vont s'accumuler dans le corps et provoquer son gonflement [22][67]. Le sang se dégrade (hémolyse) et les vaisseaux sanguins forment un dessin visible à la surface du corps. Des boursouflures peuvent également se former sous la peau et des décollements des couches supérieures de l'épiderme peuvent apparaitre. Sous la pression des gaz, les fluides sanguins peuvent s'écouler des orifices naturels, plus particulièrement du nez et de la bouche. Au fur et à mesure de l'avancement de la putréfaction, le corps va noircir. Le stade ultime de la putréfaction est la liquéfaction des tissus et des organes du corps [67]. L'ensemble des phénomènes putréfactifs, directement lié aux métabolismes bactériens, est largement influencé par la température ambiante et ne permet pas une évaluation précise de l'intervalle post mortem [64].

#### 1.1.3.5. Conservation naturelle des cadavres

Sous certaines conditions environnementales, la putréfaction n'a pas lieu et fait place à d'autres mécanismes. La putréfaction peut être sèche (corps en zone aride) ou humide, modifiant les composés de nature lipidique. On parle alors respectivement de momification ou d'adipocire. De nombreux facteurs affectant ce phénomène dont la nature de corps lui-même (facteurs intrinsèques : âge, constitution, causes de décès) ou son environnement (facteurs extrinsèques : conditions climatiques, présence de vêtements, macro et microfaune nécrophage) [57].

#### 1.1.3.6. Limite des critères thanatologiques

L'interprétation des critères thanatologiques permet donc d'estimer les IPM courts datant de moins de quarante-huit heures. Après ce délai, ces éléments ne peuvent plus être exploités et le médecin légiste n'est pas capable de quantifier l'IPM [64].

#### 1.1.4. Les étapes de décomposition d'un cadavre humain à l'air libre

Le processus de décomposition d'un corps peut être divisé en plusieurs stades ou phases. On distingue généralement cinq stades de décomposition [69].

#### 1.1.4.1. Stade frais

Le stade frais commence au moment de la mort et continue jusqu'à ce que le ballonnement du corps soit évident [20][70]. Une décoloration verdâtre de l'abdomen, une peau fissurée et une tache noire de la sclérotique peuvent être observées. L'invasion d'insectes commence généralement par les orifices naturels du corps : la tête (yeux, nez, bouche et oreilles), l'anus et les organes génitaux et les blessures présentes sur le corps. Les premiers insectes sont les Calliphoridae et les Sarcophagidae dans la plupart des cas. Les femelles arrivent et commencent à explorer les sites potentiels de la ponte ou la larviposition. Ces mouches souvent rampent profondément dans les ouvertures et pondent des ceufs ou déposent des larves du premier stade. Alors que les orifices de la tête sont assez attrayant pour les mouches, l'attractivité de l'anus et des zones génitales peut dépendre de l'état du corps (nu ou habillé) [70]–[72].

#### 1.1.4.2. Stade de ballonnement

L'élément principal de la décomposition est le phénomène de la putréfaction qui commence au cours du ballonnement. Les bactéries anaérobies commencent à digérer les tissus. Leur métabolisme conduit à la production de gaz qui provoquent d'abord un léger gonflement de l'abdomen. Les ballonnements se produisent généralement d'abord dans l'abdomen, bien que le cadavre puisse plus tard présenter un aspect complètement gonflé [20][70]. Le processus combiné de la putréfaction et des activités métaboliques des asticots commencent à provoquer une augmentation de la température interne du corps. Cette température peut être

nettement supérieure à la température ambiante (+50°C). Les adultes Calliphoridae sont fortement attirées par le corps au cours de cette étape de décomposition et d'importantes masses d'asticots sont observées associées à la tête et d'autres sites d'invasion primaire. Bien que ces populations soient visibles de l'extérieur, il y a de plus grandes populations présentes à l'intérieur. La pression interne causée par la production de gaz entraînent l'infiltration des fluides des ouvertures naturelles du corps au cours de cette étape ainsi qu'une forte odeur d'ammoniaque est notée. Ces fluides suintent dans le substrat sous le corps qui devient alcalin. La faune du sol normal quitte cette zone suite au changement du pH et l'invasion d'un ensemble d'organismes plus étroitement associés à la décomposition commence [70].

#### 1.1.4.3. Stade de décomposition active et avancée

À ce stade, le corps se dégonfle et la décomposition active commence. Au cours de cette étape, de fortes odeurs de décomposition sont présentes. La principale caractérisation de cette étape est la présence de grandes masses de larves des Diptères. Celles-ci sont présentes à l'intérieur ainsi qu'à l'extérieur du corps et souvent se déversent sur le sol. Alors que certains Coléoptères arrivent au cours des étapes ultérieures de la décomposition, ils augmentent en nombre au cours de ce stade et sont souvent notables. Certains prédateurs, tels que les Staphylinidae, sont observés au cours du stade de décomposition active et avancée et deviennent plus remarquables à cette étape, ainsi que d'autres, tels que les Histeridae. À la fin de ce stade, la plupart des Calliphoridae et Sarcophagidae auront terminé leur développement et s'enpupent autour du cadavre. Les larves des Diptères auront consommé une grande partie de la chair du corps, ne laissant que la peau et le cartilage [70][71].

### 1.1.4.4. Stade de desséchement

Cette étape est atteinte lorsque seuls les os et les cheveux restent. En règle générale, il n'y a pas d'espèces nécrophages fréquentant le corps. Au début de ce stade, il y a un certain nombre d'espèces dans le sol, y compris les acariens et les collemboles, qui peuvent être utilisé pour estimer la période de temps écoulé depuis la mort. Comme le temps passe, le pH du sol commence à revenir à

son niveau initial. Il y a aussi un retour progressif de la faune initiale du sol au cours de cette étape. Il n'y a pas un point marquant la fin de ce stade [20][70].

#### 1.1.5. Les insectes associés aux cadavres

Deux ordres d'insectes sont principalement concernés : les Diptères et les Coléoptères. Cependant, il existe également quelques Lépidoptères et de nombreux Hyménoptères qui sont fréquemment présents sur les corps en tant que prédateurs (fourmis) ou parasites (Chalcididae, Pteromalidae) [73].

#### 1.1.5.1. Les Diptères nécrophages

L'ordre des Diptères compte à ce jour environ 150.000 espèces réparties à travers le monde. C'est le quatrième ordre après celui des Coléoptères, des Hyménoptères et des Lépidoptères.

#### 1.1.5.1.1. Morphologie

Le mot Diptère provient du grec « di » qui signifie deux et « pteron » qui signifie aile du fait que les vraies mouches n'ont qu'une seule paire d'ailes fonctionnelle antérieure. L'autre paire d'ailes postérieures transformées en balanciers ou haltères, jouant le rôle de gyroscope et permettant la stabilité du vol. On retrouve dans cet ordre les moustiques, les taons ou encore les mouches. Seules ces dernières sont nécrophages [74][75]. Le mésothorax est très développé, en relation fonctionnelle avec les muscles du vol. Il porte la deuxième paire de pattes ; les ailes et les cuillerons ainsi que les muscles de vol tandis que le prothorax et le métathorax sont régressés [1][75]–[79]. Les pièces buccales sont du type piqueur ou lécheur-suceur [80]. Les tarses de cinq articles se terminent par deux griffes courbées [79].

Les larves sont dépourvues de pattes thoraciques articulées ; elles sont encéphales ou acéphales (asticots). Elles peuvent se distinguer des autres larves apodes d'insectes par leur corps allongé, et leurs déplacements actifs et dirigés.

Les Diptères nécrophages appartiennent au sous-ordre des Brachycères. Les Brachycères ont des imagos qui ressemblent plus ou moins à des mouches. Ils ont des antennes courtes de moins de huit articles en général, souvent avec le troisième et dernier article portant un prolongement appelé arista. Les palpes maxillaires sont courtes réduites à un ou deux articles ; un corps généralement trapu (figure 1.1). Les larves ont une capsule céphalique réduite (figure 1.2) [79]. On peut distinguer entre familles des larves des mouches nécrophages en examinant les plaques stigmatiques (figure 1.3).



Figure 1.1 : Schéma de la morphologie d'une mouche Diptère Calliphoridae (*Chrysomya albiceps*) (reproduite de SZPILA [53], ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission).


#### 10mm

Figure 1.2 : Troisième stade larvaire de quelques espèces de Diptères nécrophages (reproduite de SZPILA [81],©Springer 2010, avec permission).
a- Calliphoridae, *Calliphora vomitoria* (Linnæus, 1758) ; b- Calliphoridae, *Chrysomya albiceps* (Wiedmann, 1819) ; c – Sepsidae, *Nemopoda nitidula* (Fallén, 1820) ; d- Fanniidae, *Fannia coracina* (Loew, 1873), vue dorsale ; e- Heleomyzidae, espèce non déterminée ;
f- Muscidae, *Hydrotaea dentipes* (Fabricius, 1805) ; g- Piophilidae, *Stearibia foveolata* (Meigen, 1826) ; h- Sarcophagidae, *Sarcophaga caerulescens* (Zetterstedt, 1838).
Abréviations : ad – division anale, al-VII –segments abdominaux, pc – pseudocéphalon, sb – bande d'épines, sf –champs des stigmates, tl-III –segments thoraciques.



Calliphoridae Sarcophagidae Muscidae Figure 1.3 : Les stigmates postérieurs des principales familles des larves des mouches nécrophages (reproduite de THYSSEN [82], ©Springer 2010, avec permission).

# 1.1.5.1.2. <u>Taxonomie</u>

Chez les Diptères, II existe environ 190 familles et deux sous-ordres, les nématocères à antennes souvent plus longues que la tête et formée de six à quatre article, et les brachycères qui possèdent des antennes courtes de moins de huit articles en général [1]. Ce sous ordre se divise encore en deux groupes : les Orthorrhaphes (23 familles et 35.000 espèces) représentés par le taon (Tabanidae) et les Cyclorrhaphes (90 familles et plus de 65.000 espèces) représentés par les Syrphidae, les Muscidae ou encore les Calliphoridae (tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Principaux taxa des Diptères (adapté de MCGAVIN [83] in WYSS et CHERIX [1]).

Sous –ordre	Principales familles	Larves et pupes	Adultes
Nématocères	Tipulidae Cullicidae Chironomidae Ceratopogonidae Simuliidae Bibionidae Cecidomydae Mycetophiliidae	Capsule céphalique bien définie. Mandibules se déplaçant dans le plan horizontal. Nombreuses espèces détritivores ou filtreuses, fungivores, prédateurs. Forment des galles. La pupe n'est pas enfermée dans la cuticule larvaire.	Antennes fines et longues avec au moins 6 segments (souvent plus). Palpes maxillaires longues (3 à 5 articles).
Brachycères (orthorrhaphe)	Tabaniddae Stratiomydae Asilidae Bombyliidae Empidide Dolichopodidae	Capsule céphalique réduite. Mandibules se déplaçant dans le plan vertical. Espèces prédatrices ou parasites. La pupe n'est pas enfermée dans la cuticule larvaire.	Antennescoutes,moins de 6 articles.Dernierallongé(arista).Palpesmaxillairescourts (1-2 articles).
Brachycéres (cyclorrhaphe)	Phoridae Syrphidae Conopidae Tephritidae Ephydridae Drosophilidae Chloropidae Anthomyiidae Muscidae Calliphoridae Sarcophagidae Tachinidae Gasterophilidae Œstridae Glossinidae Hippoboscidae	Capsule céphalique vestigiale, mandibules absentes, remplacées par des crochets. Alimentation larvaire très variée. Plusieurs espèces saprophages (y compris les nécrophages), herbivores, prédatrices, parasites ou parasitoïdes. La pupe est enfermée dans la dernière cuticule larvaire (puparium).	Antennes courtes, moins de 6 articles. Dernier article allongé (arista). Palpes maxillaires courts (1-2 articles).

### 1.1.5.1.3. <u>Biologie</u>

Les Diptères nécrophages sont des insectes à métamorphose complète (holométabole), la larve est très différente de l'insecte adulte [1]. Les femelles sont anautogènes c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'une nourriture protéinée nécessaire à la maturation de leurs œufs. La femelle pond en général 150 à 200 œufs par ponte et autour de 2000 tout au long de sa vie. Ces œufs sont blancs ou jaunes de 0,6 à 1,5 mm de long ayant un peu l'aspect d'un grain de riz qui, à l'éclosion, vont donner des larves de premier stade [84]. La plupart des espèces sont ovipares mais certaines sont larvipares [62].

Leur cycle est divisé en quatre phases distinctes : l'œuf, la larve, la nymphe, l'imago puis l'adulte (figure 1.4). Les mouches vont directement pondre des œufs dans les orifices naturels ou les blessures du cadavre. L'éclosion de ces œufs va donner des larves. La durée de développement de chaque stade est dépendante de la température (fonction linéaire) et est différente pour chaque espèce [1]. La larve passe par trois stades larvaires dont le premier est le plus court. Les jeunes larves cherchent immédiatement à pénétrer dans les tissus sous-cutanés. Les larves sont extrêmement petites avec une alimentation vorace. La larve augmente habituellement en taille d'environ 2 à 4 mm. Le second stade larvaire est un peu plus long. Durant ce stade, la larve se développe à environ 8 mm de longueur [21]. Le troisième stade peut être divisé en deux stades comportementaux distincts : la phase alimentaire et la phase post-alimentaire. Pendant la phase alimentaire, les larves se nourrissent voracement jusqu'à ce qu'elles atteignent une taille maximale. Les larves appelées prépupes quittent le corps et recherchent un site favorable à la pupaison en s'enterrant [21][85]. Cette étape dure plusieurs jours pendant lesquels les larves commencent leur nymphose et diminuent de taille. Chez beaucoup d'espèces, la pupaison a lieu à 2 ou 3 cm de profondeur. A ce moment, la cuticule de la larve se contracte puis se sclérifie en brunissant pour former la pupe. Pendant la phase de la nymphose, la structure de l'adulte est formée à l'intérieur. Lorsque la transformation est complète, les adultes émergent des pupes [21].

Nombreuses espèces de diptères nécrophages peuvent être attirées par un cadavre. On peut trouver des représentants dans les différentes familles citées cidessous [1][6]. Calliphoridae, Sarcophagidae, Rhinophoridae, Tachinidae, Fanniidae, Muscidae, Anthomyiidae, Scathophagidae, Sphaercoceridae, Sepsidae, Piophilidae, Heleomyzidae, Platystomatidae, Dryomyzidae, Milichiidae, Carnidae, Agromyzidae, Clusiidae, Ephydridae, Sciomyzidae, Coelopidae, Empididae, Stratiomyidae, Phoridae, Chloropidae, Syrphidae, Drosophilidae.

Selon WYSS et CHERIX [1], les espèces qui sont attirées par des cadavres humains et dont le cycle de développement se déroule sur ce type de substrat appartiennent aux familles suivantes : Calliphoridae, Sarcophagidae, Fanniidae, Muscidae, Piophilidae et Phoridae.



Figure 1.4 : Le cycle biologique holométabole d'une mouche calliphoridée (*Calliphora vicina*) (Unité de l'echelle en millimètre) (adaptée de HALL et al. [86], ©Wiley-Blackwell 2010, avec permission).

# 1.1.5.1.4. Les familles présentes sur les cadavres

# <u>Calliphoridae</u>

Les mouches Calliphoridae ont un vol assez rapide et sont présentes souvent sur les matières animales et végétales en décomposition. Les larves sont nécrophages, coprophages, saprophages et vivent sur les matières organiques en décomposition. Les espèces de cette famille ont l'aspect de mouches au corps robuste d'une taille de 4 à 16 mm. Les adultes sont de couleur noir, bleu ou vert métallique, parfois doté d'une longue pilosité dorée sur le thorax (figure 1.5) [1]. Cette famille se distingue par un thorax qui présente au niveau de mesonotum quelques rangées de fortes épines hypopleurales, connues sous le nom de macrochètes qui peuvent caractériser la famille. Un dimorphisme sexuel est marqué au niveau des yeux qui sont plus écartés chez la femelle que chez le mâle. Les Calliphoridae ont également de courtes palpes maxillaires et un calyptère bien développé [81]. Cette famille est divisée en neuf sous familles, dont les *Chrysomiinae*, les *Luciliinae* et les *Calliphorinae* sont les plus importantes.

Les Calliphoridae sont habituellement les tout premiers insectes parvenant au contact d'un cadavre où va se dérouler le développement de leurs stades larvaires [2]. Par conséquent, ces mouches présentent un intérêt majeur en entomologie forensique permettant une estimation parfois très précise de l'intervalle post-mortem.

La majorité des espèces de cette famille sont ovipares, mais quelques-unes sont vivipares. La couleur des larves de Calliphoridae est blanche ou crème, tronquées obliquement à l'extrémité et cylindro-coniques. A la bouche, elles portent deux crochets. Elles ont une taille allant de 8 à 23 mm. Ces larves sont apodes et ont en général une morphologie et un mode de vie très différents à ceux des adultes qui sont floricoles où ils se nourrissent de liquides variés, provenant de matière organique en décomposition ou encore des fleurs (nectar). De l'eau sucrée les attirent facilement, tandis que les larves ont un régime pouvant varier selon les genres : saprophage (se nourrit de débris végétaux ou animaux), créophage (ou carnivore), sarcophages (se nourrissent de la chair d'un hôte mort), ou parasite et peuvent provoquer des myiases [1].



Figure 1.5 : Mouche de la famille des Calliphoridae : *Calliphora vicina* entourée des larves de différentes tailles et stades (reproduite de HALL et al. [86], ©Springer 2010, avec permission).

## • Sarcophagidae

Les Sarcophagidae sont des Diptères généralement trapus de 2 à 22 mm de taille. Les adultes sont gris terne avec trois bandes noires longitudinales sur le mesonotum, tandis que l'abdomen possède souvent un aspect à damier (figure 1.6) [1]. Les Sarcophagidae sont vivipares ou rarement ovipare. Leurs larves ont la même structure que celles des Calliphoridae. On retrouve des espèces de Sarcophagidae aussi bien au début du processus de décomposition du corps qu'aux stades plus avancés. Les adultes se retrouvent généralement sur les fleurs tandis que les larves se nourrissent de matières animales en décomposition ou d'excréments [1][62][87].



Figure 1.6 : Diptère de la famille de Sarcophagidae (reproduite de RICHET et al. [88], ©Pensoft 2011, avec permission).

# • Muscidae

La taille des mouches de cette famille varie entre 2 et 18 mm [1]. Elles sont généralement de couleur grise avec quatre rayures longitudinales sombres sur le thorax [89] mais aussi de couleur assez variable du jaune orange au brun ou noire, très rarement avec une coloration métallique ou avec un corps hérissé de macrochètes.

Les larves sont des asticots cylindriques plus fins vers l'avant et arrondis en arrière. Selon les espèces, les larves de Muscidae se rencontrent dans des milieux les plus variés : substances animales et végétales en décomposition, champignons, litière, etc. Elles sont saprophages, coprophages ou prédatrices [1]. Nombreuses espèces des Muscidae sont parmi les espèces nécrophages dominantes et pondent les premières sur les cadavres [90].

#### • Fanniidae

Elles sont des mouches de petite taille (4 à 9 mm) caractérisées par une nervation alaire bien particulière. Elles sont habituellement grises foncées à noires, parfois avec des taches jaunes sur l'abdomen. On les trouve souvent dans les milieux boisés et sont plus rares en milieux ouverts [1]. Les larves se développent apparemment dans les déjections des animaux [91].

# • Piophilidae

Les Piophilidae sont des petites mouches (2,5 à 6 mm de longueur) de couleur sombre, mate ou brillant [1]. Elles se retrouvent dans de nombreux micro habitats tels que les charognes, les déchets humains, les os, les peaux et les fourrures [62]. Leur arrivé sur les cadavres est généralement tardive [6].

#### Phoridae

Les phoridae sont des mouches mesurent de 0,5 à 6 mm de longueur, d'une couleur noire, brune ou jaune. Elles possèdent un dos vouté. Les larves se nourrissent de substances végétales et animales en décomposition [1]. Contrairement à beaucoup d'autres espèces de Diptères, les Phoridae sont capables de coloniser les corps inhumés [92].

### 1.1.5.2. Les Coléoptères

Le nom Coléoptère tire son origine des mots grecs « koleos » qui signifie étui ou gaine et « pteron » qui signifie aile : référence est faite aux ailes antérieures modifiées (élytres) qui servent de couverture protectrice pour les ailes postérieures membraneuses [77]. Les Coléoptères renferment 350.000 espèces connues réparties dans environ 130 familles [93]. Ils constituent également l'ordre le plus vaste du règne animal en incluant plus de 40% de tous les insectes et près de 30% de toutes les espèces animales [77].

### 1.1.5.2.1. Morphologie

Les larves et les adultes possèdent des pièces broyeuses qui comprennent de puissantes mandibules (figures 1.7 et 1.8) [76][77][94]. Le prothorax est souvent libre par rapport aux méso et métathorax qui se joignent assez étroitement à l'abdomen [76]. Au stade adulte, la plupart des Coléoptères présentent un exosquelette dur qui recouvre et protège la plus grande partie de leur surface corporelle. Les élytres sont aussi durs que le reste de l'exosquelette (figure 1.7) [20]. Les larves des Coléoptères présentent une morphologie variable (figure 1.8) [95]. Elles possèdent généralement trois paires de pattes et une capsule céphalique bien différenciée [20][82].



Figure 1.7 : Morphologie générale d'un Coléoptère, vue dorsale (reproduite de GENNARD [20] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission).



Figure 1.8 : Exemples des stades immatures de quelques Coléoptères d'importance forensique (reproduite de GENNARD [20] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission). (a)campodéiforme, (b) scarabaeiforme, (c) scaraaeiforme apode, (d) cruciforme.

1.1.5.2.2. <u>Taxonomie</u>

Les Coléoptères se subdivisent en quatre sous-ordres : Polyphaga, Adephaga, Myxophaga et Archostemata (tableau 1.2). Les liens de parentés entre ces quatre sous-ordres sont encoure sujet à controverse [1].

Tableau 1.2 : Quatre sous-ordres coléoptères (adapté de MCGAVIN [83] in WYSS et CHERIX [1]).

Sous –ordre	Famille principales	Habitats
Archostemata	3 familles primitives : Micromalthidae, Omatidae	Bois en décomposition, fungivores.
Myxophaga ou associés	4 familles : Cyathoceridae, Hydroscaphidae Microsporidae, Torridincolidae.	Aquatiques, avec des milieux humides, se nourrissent d'algues.
Adephaga	10 familles : Carabidae, Dytiscidae, Gyrinidae, etc.	Terrestres et aquatiques, le plus souvent prédateurs.
Polyphaga	149 familles : Dermestidae, Staphylinidae, Anobiidae, Coccinellidae, Scarabæidae.	Variables, souvent herbivores, quelques espèces saprophages, quelques espèces xylophages, prédateurs, etc.

1.1.1.1

### 1.1.5.2.3. Biologie des Coléoptères

Les Coléoptères sont des insectes holométaboles [96]. Les Coléoptères ont un cycle de développement similaire à celui des Diptères mais ils ont plus de stades larvaires. En outre, certaines espèces prennent soins de leur progéniture [95].

Parmi les différentes espèces de Coléoptères qui fréquentent les cadavres, certaines sont de véritables nécrophages, tandis que d'autres exploitent la présence de nombreuses proies sur le cadavre (sarco-saprophages). Les espèces qui sont souvent trouvées associées aux cadavres appartient aux Dermestidae, aux Staphylinidae, aux Silphidae, aux Histeridae et aux Geotrupidae [1].

# 1.1.5.2.4. Principales familles des Coléoptères présentes sur les cadavres

# • Dermestidae

Leur corps est arrondi ou large avec une forme ovale. Leur taille varie de 2 à 12 mm [1]. La plupart sont de couleur foncée, cependant certains ont des couleurs distinctives avec des taches blanches, jaunes, brunes ou orange. Le corps de *Dermestes* est caractérisé par la présence d'écailles. L'abdomen est

complètement protégé par les élytres. Les larves de Coléoptères Dermestidae sont velues avec notamment de longs poils dépassant généralement l'extrémité arrière. De nombreuses espèces communes ont le corps allongé avec l'extrémité postérieure rétrécie tandis que d'autres ont un corps ovale. Leurs couleurs varient du brun-rougeâtre foncé au jaune-brun pâle. La plupart se nourrissent de matières d'origine animale y compris la viande séchée, de la peau et les cheveux. Leurs larves se nourrissent de cadavres, de corne, de poils et de laine [96].

#### • Silphidae

La famille des Silphidae regroupe des individus de taille grande et moyenne (10 à 35 mm) avec des antennes en massue et un sens d'olfaction très développé. Bien que les adultes et les larves varient considérablement en taille et en forme [97]. Leurs élytres ne couvrent pas complètement l'abdomen. Le corps est aplati et ovale [93]. Les espèces sont généralement ternes et noires ou brunes, sauf certains *Nicrophorus* dont les élytres sont ornés de taches orangées [1]. Cette famille comprend de nombreuses espèces nécrophages attirées par les odeurs émises par le cadavre qu'elles détectent de très loin [1]. Certaines espèces sont prédatrices et se nourrissent de larves de mouches qui se trouvent sur le cadavre.

### • <u>Staphylinidae</u>

Les staphylins sont reconnaissables à leur morphologie. Leurs élytres ne recouvrent pas la totalité de leur abdomen. La taille des adultes varie fortement d'une espèce à l'autre et s'échelonne de 1 à 25 mm [62]. Les staphylins sont souvent abondants dans les habitats où de grands nombres de larves sont présents. On les rencontre habituellement dans les matières en décomposition où ils chassent d'autres petits insectes [1].

### • <u>Histeridae</u>

Ce sont de petits Coléoptères (moins de 10 mm) de couleur noire brillante [1]. La tête est souvent cachée sous le pronotum [96]. On les retrouve dans de nombreux milieux dont les cadavres où ils chassent les larves de Diptères. Ils peuvent exercer une prédation très importante sur les asticots et ainsi réduire de façon significative le nombre de larves de Diptères sur le cadavre [1].

### • <u>Cleridae</u>

Ce sont des espèces velues à une couleur souvent vive métallique. Les larves et les adultes sont prédateurs des œufs et des larves des Diptères nécrophages. On peut les rencontrer sur les cadavres à différents stades de décomposition mais plus particulièrement durant les stades avancés [1]. Chez le genre *Necrobia* ; au contraire les larves et les adultes sont nécrophages et n'ont plus qu'occasionnellement un comportement prédateur [96].

### <u>Nitidulidae</u>

Les Nitidulidae, insectes de petite taille (4 à 12 mm), ont généralement une forme ovale ou allongée [62]. On les trouve sous les écorces d'arbres, les champignons ainsi que dans les matières végétales et animales en décomposition. Certaines espèces du genre *Omosita* se rencontre avec les *Dermestes* sur les cadavres mais contrairement à ces derniers, elles tolèrent une plus grande humidité du substrat [1].

### 1.1.5.3. Les Hyménoptères

Le mot Hyménoptère provient des mots grecs « hymen » qui signifie membrane et « pteron » qui signifie aile. L'ordre des hyménoptères comprend plus 100.000 d'espèces dont le comportement est bien diversifié [79]. Les espèces ailées possèdent deux paires d'ailles membraneuses ; les postérieures sont plus étroites que les antérieures. Les pièces buccales des adultes sont du type broyeur-lécheur [77]. Le thorax est séparé de l'abdomen par un étranglement.

Les hyménoptères les plus rencontrés en entomologie forensique sont les guêpes prédatrices Apocrites de la superfamille des Vespoidea. Les guêpes parasitoïdes de la famille des Pteromalidae, représentée par l'espèce *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) sont également souvent trouvées. Elles pondent des œufs dans les pupes des Diptères Calliphoridae. Certaines espèces des Hyménoptères Formicidae sont également nécrophages et peuvent laisser des lésions caractéristiques sur les cadavres [78].

### 1.1.5.4. Les Lépidoptères

Le mot Lépidoptère provient des mots grecs « lepidos » qui signifie écaille et « pteron » qui signifie aile. L'ordre des Lépidoptères comprend plus de 150.000 espèces. Les espèces appartenant à cet ordre sont caractérisées par deux paires d'ailes membraneuses recouvertes d'écailles, un corps revêtus d'un épais ornement de soies et de pièces buccales suceuses [79][93].

Ce sont des insectes holométaboles. La chenille est le qualificatif scientifique spécifique de leur stade larvaire. Celle-ci est éruciforme se compose d'une tête et de 13 segments. Les trois premiers forment le thorax et les autres l'abdomen [93]. Les espèces associées au cadavre sont peu et interviennent tardivement particulièrement pendant la phase de rancissement des graisses et lorsque les tissus sont desséchés [78].

# 1.1.6. Les catégories écologiques de l'entomofaune des cadavres

Les insectes utilisent le micro-habitat créé par le cadavre comme un substrat alimentaire, un site de pontes, un refuge ou encore comme un territoire de chasse. En fonction de leurs régimes alimentaires, on rencontre quatre groupes écologiques autour d'un cadavre [1][27][61]. Les deux premiers catégories regroupant un grand nombre de Diptères et de Coléoptères, sont considérées comme les seules espèces utiles en entomologie forensique [40]. Une cinquième catégorie est parfois citée, il s'agit des espèces dites accidentelles dont la présence sur le corps est le fait du hasard [28].

### • Les espèces nécrophages

Ce groupe est constitué d'espèces dont le régime alimentaire est directement lié à la présence d'un cadavre [1]. Ils se nourrissent des tissus cadavériques et plus spécifiquement des liquides [98]. On peut citer parmi cette catégorie, les Diptères appartenant aux familles des Calliphoridae et des Sarcophagidae, mais également des Coléoptères des familles des Silphidae et des Dermestidae [1][2].

## Les espèces nécrophiles

Elles sont prédatrices ou parasites des espèces nécrophages, principalement des larves et des pupes de Diptères. Ce groupe est constitué

principalement de Coléoptères (Silphidae, Histeridae, Staphylinidae), de Diptères (Calliphoridae et Stratiomyidae) et des Hyménoptères parasitoïdes des laves et des pupes des Diptères nécrophages [1][99].

Les larves de certains Diptères ne sont pas prédatrices au début de leur vie larvaire, mais peuvent le devenir à partir d'une certaine taille [1]. C'est le cas, par exemple, des larves du troisième stade de l'espèce *Chrysomya albiceps* [100].

# • Les espèces omnivores

Ces espèces peuvent se nourrir à la fois tant du cadavre que des espèces dites nécrophages et nécrophiles présentent sur la dépouille. Les principales espèces omnivores sont généralement des Hyménoptères (fourmis et guêpes) ainsi que des Coléoptères [1][72].

# • Les espèces opportunistes

Cette catégorie regroupe les espèces qui utilisent le cadavre comme une extension de leur habitat [1][40]. Elles proviennent de la végétation environnante ou de la pédofaune et peuvent exceptionnellement être prédateur des espèces nécrophages [26]. On y dénombre des collemboles, des araignées, des mille-pattes, des Lépidoptères mais aussi des acariens qui se nourrissent des moisissures et champignons qui peuvent se développer sur les cadavres [1][26].

# • Les espèces accidentelles

La présence de certaines espèces sur le cadavre est parfois due au hasard [28]. Ces espèces n'ont pas une relation réelle avec le cadavre. Cette catégories et souvent ignorée par les entomologistes [40].

# 1.1.7. Notion des escouades

# 1.1.7.1. Faune des cadavres à l'aire libre

Selon MEGNIN [56], on dénombre huit vagues d'insectes colonisant successivement un cadavre à l'aire libre (tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Principales espèces de la faune cadavérique se succédant sur un corps exposé. (D'après MEGNIN [56] et SMITH [6] in GAUDRY et al. [57]).

Numéro	Faune	Etat du corps	Datation
1	Dintères Callinhoridae :	Frais	3 promiers mois
•	Calliphora vicina (Robineau-Desvoidy, 1830)	(Variable selon la	5 premiers mois
	Calliphora vomitoria (Linnæus, 1758)	saison)	
	Lucilia sp.	,	
	Diptères, Muscidae		
	Musca domestica (Linnæus, 1758)		
	<i>Musca autumnalis</i> (De Geer, 1776)		
	Muscina stabulans (Fallén, 1817)		
2	<b>Diptères, Sarcophagidae :</b> Sarcophaga sp.	Odeur cadavérique	3-6 mois
2	Californitàrea Dermantidas : Dermantas an		
3	L'épidentères, Dermestidae : Dermestes sp.	Rancissement des	
	Lepidopteres, Fyrandae . Agiossa sp.	(fermentation	
		butvrique)	
4	Diptères, Piophilidae : Piophila casei	Fermentation des	
	(Linnæus, 1758)	protéines (caséique)	
	Diptères, Muscidae : Madiza glabra (Fallén,		
	1820)		
	Diptères, Fanniidae : Fannia sp.		
	Diptères, Drosophilidae		
	Dipteres, Sepsidae		
	Dipteres, Sphaerocendae Diptères, Syrphidae : Fristalis sp		
	Diptères, Ephydridae : Teichomyza fusca		
	Macquart. 1835		
	Coléoptères, Cleridae : Corynetes sp.,		
	Necrobia sp.		
5	Diptères, Muscidae : Ophyra sp.	Fermentation	4-8 mois
	Diptères, Phoridae	ammoniacale et	
	Diptéres, Thyreophoridae	evaporation des	
	Siloha sp	nuides	
	Coléontères Histeridae : Hister sp. Saprinus		
	sp.		
6	Acariens	Absorption des	6-12 mois
		fluides résiduels	
7	Coléoptères, Dermestidae :	Dessèchement	1-3 ans
	<i>Attagenus pellio</i> (Linnæus, 1758)	complet	
	Anthrenus museorum (Linnæus, 1761)		
	Dermestes maculatus (De Geer, 1774)		
	Lepidopteres, lineidae :		
	Tineo nollionalla (Linnaus, 1759)		
	Mononis laevigella (Denis & Schiffermüller		
	1775)		
8	Coléoptères, Ptinidae :		3 ans et plus
	Ptinus brunneus (Fabricius, 1775)		
	Coléoptères, Tenebrionidae :		
	Tenebrio obscurus Fabricius, 1792		

# 1.1.7.2. Faune des cadavres dans des conditions spécifiques

La composition de la faune cadavérique peut différer selon certaines conditions. Le schéma de la figure 1.9 résume les situations exceptionnelles de la colonisation et le développement des mouches nécrophages selon une gamme de conditions spécifiques. Les exemples ne sont pas absolus et sont soumis à des variations considérables en fonction d'un certain nombre de facteurs.

Nous discutons l'entomofaune associée aux dépouilles présentes dans des situations particulières à savoir : cadavres inhumés, cadavres immergés, cadavres présents dans des véhicules, cadavres à l'intérieur, cadavres brulés et cadavres pendus.





Figure 1.9 : Colonisation et développement des mouches dans des environnements particuliers (adaptée de RIVERS et DAHLEM [11] ©Wiley-Blackwell 2012, avec permission).

### 1.1.7.2.1. Cadavres inhumés

L'inhumation influence le temps requis pour que les insectes puissent atteindre les cadavres, les espèces impliquées et leur ordre d'apparition et la vitesse de décomposition [3]. La faune des cadavres inhumés est beaucoup moins abondante. Les larves qui se développent sur un cadavre inhumé proviennent alors des œufs pondus sur ou prés du corps avant l'enterrement, ou des œufs pondus sur la surface du sol ou celle du cercueil en bois dans lequel la dépouille se trouve. De ce fait, l'apparition des larves peut dépendre de l'intervalle de temps entre la mort et l'enterrement, la duré d'exposition du cadavre dans la chambre froide, la présence d'un cercueil, la nature du cercueil (plomb ou bois) et la profondeur de l'enfouissement. MEGNIN [56] et SMITH [6] ont décrit quatre escouades fréquentant un corps inhumé (tableau 1.4).

Tableau 1.4 : Principales espèces de la faune cadavérique se succédant sur un corps enterré. (D'après MEGNIN [56] et SMITH Smith (1986) in GAUDRY et al. [57]).

Numéro d'escouade	Faune	Datation approximative
1	Diptères, Calliphoridae : Calliphora sp.	
	Diptères, Muscidae : Muscina stabulans (Fallén, 1817)	
2	Diptères, Muscidae : Ophyra sp.	
3	Diptères, Phoridae : Conicera sp.	1 an
4	<b>Coléoptères, Rhizophagidae :</b> <i>Rhizophagus parallelocollis</i> Gyllenhal, 1827 <b>Coléoptères, Staphylinidae :</b> <i>Philonthus</i> sp.	2 ans

Néanmoins, au temps de Mégnin une personne décédée est généralement mise dans un cercueil et exposée à son domicile environ trois jours avant d'être enterrée. De nos jours, les corps sont rapidement placés en chambre froide avant d'être enterrées ou incinérées. Donc la colonisation par les mouches est quasi nulle. Cependant, des insectes ou leurs exuvies sont découverts lors des autopsies de plusieurs cas d'exhumation [1].

Dans une étude réalisée par BOUREL et al. [92] sur l'entomofaune des cadavres inhumés au Nord de France, trois espèce ont été régulièrement trouvé à savoir : *Conicera tibialis* Schmitz (Diptère, Phoridae), *Leptocera caenosa* Rondani (Diptère, Sphaeroceridae), et *Ophyra capensis* Wiedemann (Diptère, Muscidae) avec une dominance de cette dernière [92]. *Megaselia scalaris* Loew

(Diptère, Phoridae) a été également trouvé souvent sur les cadavres enfermés [101].

La profondeur de l'inhumation est importante car certains groupes (par exemple les Calliphoridae et les Muscidae) peuvent être exclus [6]. La faune présente sur un cadavre inhumé est constituée principalement de Diptères et de Coléoptères.

GAUDRY et al. [102] ont observé que la profondeur de l'enterrement affectait la colonisation par les insectes des cadavres de moutons (*Ovis aries* Linnæus) enterrés. Les principaux insectes colonisateurs étaient des Muscidae, Fanniidae et Phoridae. Les Muscidae ont été retrouvés sur des cadavres enterrés à 10, 30 ou 90 cm sous la surface du sol. Cependant, l'attrait du cadavre pour cette famille a diminué avec la profondeur. La colonisation a duré entre 60 et 120 jours après l'inhumation à 30 cm. En revanche, la colonisation a continué pendant six mois où les corps étaient couverts par seulement 10 cm de sol. Contrairement aux cadavres exposés, aucune espèce de Calliphoridae n'a été trouvée sur les moutons enterrés.

GUNN et BIRD [74] ont trouvé une relation similaire entre la profondeur et la colonisation par les insectes mais ont noté que les œufs de *Lucilia sericata* et *Calliphora vomitoria* pouvaient éclore sous la surface du sol. Ainsi, la réussite de la colonisation des dépouilles a été attribuée à l'état lâche du sol qui couvrait les cadavres jusqu'à une profondeur de 5 cm. *Calliphora vomitoria* était incapable de coloniser les dépouilles à une profondeur supérieure. Les Muscidae telle que *Muscina Stabulans* ont beaucoup plus de réussite et peuvent coloniser un corps à une profondeur d'au moins de 40 cm. Les conditions de sol jouent donc un rôle dans la colonisation des corps enterrés [74].

SZPILA et al. [103], par exemple, ont montré que Sarcophagidae étaient des colonisateurs plus communs des cadavres enterrés dans des habitats secs où le sol est desserré et desséché. Dans de telles circonstances, ces espèces peuvent coloniser des corps enterrés à une profondeur d'environ un demi-mètre [103].

# 1.1.7.2.2. Cadavres immergés

L'intervalle post-mortem peut être estimé à l'aide des espèces aquatiques et de certaines espèces terrestres retrouvées habituellement sur les cadavres à l'air libre [104]. Néanmoins, lorsqu'un cadavre est trouvé dans l'eau, la succession faunique sera très différente de celle observée sur les milieux terrestres [3].

D'après une étude expérimentale faite aux États-Unis portant sur la succession des insectes et la décomposition des cadavres de porcs immergés, l'eau limite le nombre d'espèces présentes sur le cadavre. On trouve globalement le tiers des espèces présentes sur un cadavre à l'air libre [105].

Le rôle des arthropodes benthiques dans l'écosystème cadavérique n'est pas bien connu et demeure un champ de recherche ouvert [106]. WYSS et CHERIX [1] ont reporté un cas d'un cadavre trouvé flottant sur l'eau à 200 m du rivage. Des crustacées de la famille des Gammaridae (du genre *Dikerogammarus*) ont été prélevé du corps [1]. Dans un cas de noyade reporté par MEDINA et al. [104], des larves de stade IV de *Chironomus riparius* Meigen, 1804 (Diptera, Chironomidae) ont été identifiées par des critères morphologiques et confirmées par les méthodes moléculaires. La connaissance de la biologie de *Chironomus riparius* à des basses températures était nécessaire pour évaluer un IPM de 16-17 jours.

La présence de Coléoptères serait plus informative pour l'interprétation du déplacement d'un cadavre. Les larves de la plupart des espèces de Silphidae vivent sous les cadavres et creusent des chambres dans le sol pour la nymphose. Ainsi, les larves de ces espèces ne devraient pas être observées sur des cadavres flottants. De plus, les adultes sont moins agiles en vol que les mouches et évitent ainsi d'atterrir sur de petites surfaces entourées d'eau [101].

### 1.1.7.2.3. Cadavres dans des véhicules

Les cadavres sont souvent récupérés de l'intérieur des véhicules ou d'autres espaces confinés. Ces conditions peuvent influencer la vitesse de développement des insectes [20]. Cela peut conduire à un modèle de succession restreint ou modifié. Les véhicules sont souvent utilisés dans le suicide ou pour l'élimination d'un corps. Ils fournissent un environnement particulier pour la décomposition, car le véhicule lui-même peut être un obstacle à certaines espèces, mais agira comme protecteur de la pluie et des prédateurs, et aura également un effet sur la température et l'humidité [3].

La décomposition des cadavres récupérés à l'intérieur des véhicules est influencée donc par les conditions qui se trouvent dans le véhicule, l'endroit ou se trouve ce dernier et l'accessibilité à celui-ci [20]. VOSS et al. [107] ont constaté que les insectes n'ont pas détecté la présence d'un cadavre de porc dans une voiture après une période comprise entre 16-18 heures. L'arrivé des Coléoptères au véhicule a été retardée jusqu'à un stade de décomposition ultérieur (décomposition active). Le manque de la circulation de l'air entrave également la perte de la chaleur par convection. Dans un court laps de temps pendant une journée ensoleillée, la température absolue dans un véhicule dépassera le maximum thermique critique toléré par les mouches. La mort arrivera peu après, à moins que ces derniers entrent dans un état de stupeur de la chaleur et les températures se baissent [11].

### 1.1.7.2.4. Cadavres à l'intérieur

Des variations dans la composition des espèces et leur ordre d'arrivée sur le corps ont été signalés dans des conditions extérieures et intérieures. Les Diptères Phoridae ont été décrits comme colonisateurs ultérieurs des cadavres exposés [6]. Pourtant, dans les cas des cadavres trouvés à l'intérieur, ces mouches sont parmi les premiers colonisateurs ou parfois les premiers qui arrivent [108].

BUGELLI et al. [109] reportent des cas de huit cadavres des personnes âgées trouvés à l'intérieur en Italie centrale où les insectes ont joué un rôle dans l'estimation de la date de la mort. L'IPM variait de quelques jours à plusieurs semaines. *Lucilia sericata* et *Chrysomya albiceps* ont été recueillies dans 50% des cas. Les Phoridae ont été trouvés dans 37,5% des cas, ce qui confirme la capacité de ces espèces de coloniser les cadavres à l'intérieur [109].

# 1.1.7.2.5. Cadavres brulés

Les cadavres sont brûlés pour plusieurs raisons. Ils peuvent être brûlés par accident dans les cas d'incendie ou dans le contexte d'une mort suspecte comme un moyen d'élimination [20]. Les tueurs ignorent la nécessité des températures extrêmement élevées et le temps requis pour incinérer complètement un corps humain. Même dans la chaleur extrême d'un crématorium professionnel, des pièces reconnaissables de restes humains sont encore présentes [110][111].

La colonisation des dépouilles brûlées par les insectes sera sans aucun doute fortement influencé par la quantité de la chair restante [3]. Dans une étude sur la colonisation des cadavres brûlés dans deux endroits différents à Hawaï, l'oviposition des mouches de la famille des Calliphoridae sur les cadavres brulés s'est produite avant les cadavres témoins (non brulés). Les cadavres brûlés étaient colonisés d'une manière différente que ceux non brûlés. Dans cette étude, les dépouilles ont été brûlées au second degré (selon l'échelle de Crow-Glassman). L'échelle CG est divisée en cing niveaux. Les dépouilles ont été carbonisées et présentaient une peau craquelée. La faune d'arthropodes qui a colonisé les cadavres brûlées et non brûlées étaient essentiellement la même, mais apparaissait légèrement plus tôt sur les cadavres brûlées [112]. Les dépouilles brûlées ont attiré beaucoup plus de mouche gravide que celles non brûlées. Cela montre que les cadavres brûlés sont encore extrêmement attrayants pour les mouches Calliphoridae. Les auteurs ont expliqué ce résultat par la présence des ouvertures causées par la peau fissurée [112]. En contraste, d'autres travaux avaient précédemment suggéré que les corps gravement brûlés sont moins préférés pour l'oviposition ou la larviposition des mouches que les non brûlés [113], mais cela dépend sans doute du niveau de la combustion et le degré d'incinération [3].

Le développement larvaire peut être retardé ou arrêté en fonction des tissus du cadavre et la disponibilité des nutriments. Les tissus brûlés, comme les viandes cuites, sert de substrat pauvre pour le développement des larves. Cela est probablement du à la teneur en humidité réduite et à la dénaturation et la dégradation des protéines [26].

Dans une expérience réalisée par VANIN et al. [114] en Italie, des cadavres de porc ont été brûlés jusqu'aux niveaux 2-3 de l'échelle CG. Dans la saison hivernale de l'expérience, la première activité d'insectes sur le cadavre brûlé a débuté la troisième semaine. Dans la saison estivale, les mouches adultes et les larves du premier stade sont apparues quelques minutes/heures après l'exposition de la dépouille [114].

### 1.1.7.2.6. Cadavres pendus

La vitesse de décomposition d'un corps pendu est influencée par l'absence du contact au sol. Le corps n'est plus facilement accessible par les insectes qui habitent le sol. Le cadavre ne bénéficie pas de l'augmentation de l'humidité disponible du sol au moment de sa décomposition modifiant ainsi le schéma de séchage du corps et, par conséquence, limite les activités des espèces de mouches. Cela réduit le nombre d'insectes collectés et influence la composition des espèces qui colonisent les dépouilles ainsi que leurs temps de colonisation [3][20].

# 1.2. Rôle des insectes nécrophages

Les insectes nécrophages sont omniprésents dans les écosystèmes anthropogéniques. Parmi eux, les mouches ont une grande importance médicale et forensique en raison de leur participation à la décomposition des charognes, le parasitisme facultatif des tissus des vertébrés et la transmission mécanique de divers micro-organismes pathogènes. Leurs larves sont aussi utilisées dans le traitement des plaies chroniques.

# 1.2.1. Utilisation des insectes nécrophages en justice

Dans cette partie, les différentes applications des insectes nécrophages en médecine légale et dans les enquêtes judiciaires sont décrites.

### 1.2.1.1. Datation de la mort par les méthodes entomologiques

L'application la plus courante des insectes nécrophages en criminalistiques est l'estimation de la date de la mort ou l'intervalle post-mortem (IPM). Les techniques les plus couramment utilisées dans la détermination de l'IPM sont développées ci-dessous.

# 1.2.1.1.1. Définition de l'IPM

L'intervalle post-mortem (IPM) se définit comme étant le laps de temps écoulé entre la date du décès et la date de découverte du corps [1][23][115].

Pour estimer la date d'un décès, les médecins légistes et experts ont recours à différentes techniques. Lorsque l'intervalle post-mortem (IPM) est inférieur à 72 heures ou des signes de putréfaction avancée sont visibles, il est possible d'utiliser des méthodes issues de la médecine légale. Après 72 heures, l'utilisation des insectes est la méthode la plus précise et parfois la seule utilisable pour déterminer temps écoulé depuis le décès ou l'IPM [1][23].

### 1.2.1.1.2. Estimation de l'IPM par les méthodes entomologiques

La détermination de l'IPM a été largement étudiée en médecine légale, mais également dans d'autres disciplines telles que l'entomologie médico-légale, l'anthropologie, la bactériologie, l'écologie, etc. [19]. Concernant l'estimation entomologique, on parle souvent de deux méthodes pour déterminer un IPM [1][20][65].

### 1.2.1.1.2.1. <u>Méthode d'accumulation des degrés jours/heure</u>

La méthode la plus fréquemment utilisée pour le calcul d'un IPM court, appelée degrés jours accumulés (ADD : Accumulated Degree Days) ou degrés heures accumulés (ADH : Acumulated Degree Hours). Elle se base sur le cycle de développement des Diptères nécrophages [1][19][21]–[24]. On obtient alors un IPM minimum qui ne pourra être déterminé que pour la première génération de mouches arrivées sur le cadavre [1].

On utilise donc, comme postulat de départ, le fait que les premières mouches peuvent arriver sur un cadavre dans les minutes ou les heures qui suivent la mort, sous des conditions favorables [1][19][116]. En revanche, si les conditions météorologiques sont défavorables ou l'accès au cadavre est entravé, l'arrivée des insectes peut être retardée de plusieurs jours. Dans ce cas, une estimation de ce délai est réalisée vu qu'il est difficile d'être calculé [1].

### Principe de la méthode

Les insectes sont des animaux poïkilothermes ou à sang froid, de sorte que leur croissance est influencée par la température. En dessous d'un seuil de température, le développement s'arrête ; au-dessus d'un seuil de température spécifique, le taux de croissance ralentit. Ainsi, le taux de croissance de l'insecte juvénile est considéré comme ayant une relation linéaire avec la température (figure 1.10) [20][24][62][72].

Le principe de la méthode ADH est le même mais dans ce cas, on utilise les températures de chaque heure. Cette méthode est plus précise. Cependant, la plupart des experts ne l'applique pas car les stations météorologiques ne peuvent pas les fournir des informations à l'heure, mais bien au jour (24 heures) [1][19][20][23].



Figure 1.10 : Représentation schématique du lien entre la température ambiante et le développement réalisé en une unité de temps passée à cette température (TDu) chez les larves de Diptères nécrophages. Seule la partie B est linéaire (reproduite de CHARABIDZE [19] ©Taylor & Francis 2012, avec permission). A- Arrêt de développement et mort. B- Température ambiante. C- Mort.

# Méthode de calcul

MARCHENKO [25] a établi une méthode de calcul qui tient compte des températures moyennes. Le principe est le suivant : en dessous d'une certaine température (seuil inférieur de croissance), les larves ne se développent pas. Pour celles-ci, seules comptent les températures effectives, définies comme la différence entre la température moyenne (24 heures) et le seuil inférieur de développement. Pour effectuer la totalité de leur cycle, chaque espèce nécessite une constante de chaleur (somme des températures effectives nécessaires pour un développement complet) (tableau 1.5). L'auteur affirme que la marge d'erreur est de l'ordre de ± 24 heures, voire inférieure [1].

Tableau 1.5 : Sommes de températures accumulées par quelques Diptères Calliphoridae et leur indice de développement minimal (selon MARCHENKO [25] in WYSS et CHERIX [1]).

Espèces	Seuil minimal (°C)	Sommes des températures entre œufs et imagos (°C)	Somme des températures entre œufs et pupes (°C)
<i>Lucilia sericata</i> Meigen	9,0	207,0	-
<i>Calliphora vicina</i> Robineau- Desvoidy	2,0	388,0	191,0
Chrysomya albiceps Wiedmann	10,2	186,0	123,0
Calliphora vomitoria Linnæus	3,0	472,0	213,0
Protophormia terranovae Robineau-Desvoidy	7,8	251,0	191,0
Phormia regina Meigen	11,4	148,0	101,0

Les degrés jours accumulés (ADD) ou les degrés heures accumulés (ADH) sont calculés à partir des formules suivantes données par GENNARD [20] :

Temps <sub>jours</sub> x (température –  $T_{min}$ ) = ADD

Temps <sub>heures</sub> x (température –  $T_{min}$ ) = ADH

Tmin : Température minimum nécessaire au développement à l'espèce de Diptère nécrophage.

Après avoir identifié l'espèce, la prochaine étape consiste à lier cette information à la température sur la scène de crime afin de déterminer le temps nécessaire pour que les larves aient pu atteindre ce stade [20]. Cette méthode requis une identification précise de l'espèce qui est souvent difficile à faire à partir du stade larvaire. Pour cela, certains experts préfèrent réaliser un élevage des larves prélevées sous une température contrôlée jusqu'à l'émergence des imagos. Ensuite, à partir du jour de l'émergence, on additionne pour chaque jour le pourcentage du développement jusqu'à ce qu'on arrive à 100%, le jour où la ponte a eu lieu.

Si on prend l'exemple de *Calliphora vicina,* dont la T<sub>min</sub> est de 2, une journée passée à 20°C correspond à 18°C. La constante (seuil) propre à cette espèce étant de 388 ADD, il faut donc 388/18=21,5 jours passés à 20°C à *C. vicina* pour réaliser son développement complet. Lorsque la température varie, on procède en partant du jour ou les mouches adultes ont émergé (jour 32 dans l'exemple de la figure 1.11). On additionne ensuite jour par jour les températures du développement accumulées, jusqu'à atteindre la constante d'ADD propre à l'espèce : La date ou cette valeur est atteinte correspond au jour de la ponte (jour 5 dans cet exemple) [19].



Figure 1.11 : Exemple de détermination du jour de ponte des individus de l'espèce *Calliphora vicina* s'étant développés à température variable et ayant émergé le jour 32 (reproduite de CHARABIDZE [19] ©Taylor & Francis 2012, avec permission).

### Méthode du calcul des températures moyennes sur le site

Il est conseillé de travailler avec les données de la station météorologique la plus proche du lieu de découverte du corps afin d'obtenir la température moyenne du site. Certains spécialistes travaillent aussi avec les données de l'enregistreur de températures placé dans le site après la découverte du cadavre. D'abord, les températures moyennes des stations à disposition sont traitées. Ensuite, il faut calculer les températures moyennes du site en se basant sur le relevé des températures de l'enregistreur. En comparant la température moyenne des stations et la température moyenne sur le site, on peut calculer la différence moyenne/jour entre les stations et le site. Ainsi, on peut construire le profil thermique du site avant la découverte du corps [1][20].

### Limites de la méthode

L'arrivée des insectes ne coïncide pas nécessairement avec le moment du décès. L'estimation correspond donc toujours à un délai post-mortem minimum, et non à la date du décès. De plus, cette technique présente des lacunes, en particulier pendant la période hivernale où des températures basses sont

impliquées ou lorsqu'il y a des sorts brusques de froid pendant la période de développement [24].

### 1.2.1.1.2.2. Méthode de la succession

Cette méthode se base sur la succession des espèces d'arthropodes généralement observées au cours du temps sur un cadavre. Elle peuvent être utilisée pour estimer l'IPM minimum et maximum [24]. Les insectes sont attirés par des stades spécifiques de la décomposition, certaines espèces colonisent un cadavre pendant une période limitée. Cela produit une succession faunique sur les cadavres. Les espèces se produisent généralement successivement et répondent aux changements progressifs des stades de décomposition du corps [1][24][117]. De ce fait, les estimations se basent sur une reconstitution des successions entomologiques qui ont pu avoir lieu sur le cadavre [1].Néanmoins, la succession chronologique des espèces sur un cadavre n'est pas toujours respectée. Les conditions climatiques influencent le taux de décomposition du corps et le cycle de développement de l'insecte [1][2][24]. Il a ainsi été démontré que les espèces et leurs ordres de successions pouvaient varier selon la zone géographique, selon le type de milieu ou encore suivant les saisons et les années [1][118].

### 1.2.1.1.2.3. Autres méthodes

# Méthode de la longueur des larves

Il est notamment possible d'estimer l'âge des larves à partir de leur longueur [19][24][119]. Cette méthode fonctionne bien pour des insectes placés à température constante et donne une lecture continue de l'âge des individus. Cependant, les larves doivent être tuées avec de l'eau chaude lors de leur prélèvement vue qu'elles se contractent lorsqu'elles sont tuées par d'autres méthodes ce qui peut fausser l'estimation de la longueur. Par contre, les larves ébouillantés sont étirés au maximum et peuvent donc être mesurés de manière standardisée [19]. D'autre part, WYSS et CHERIX [1] ont rapporté que les élevages à partir de pontes de *Calliphora vicina* provenant de populations localisées à plus de 1000 m d'altitude avaient des larves de taille inférieure à celle d'individus provenant de basse altitude (400 m).

### Méthode de la largeur des larves

Pendant le stade post-alimentaire, les larves de mouche diminuent leur taille ainsi que leur tête devient inclinée. Cela entraîne une difficulté dans l'estimation de l'intervalle post-mortem en utilisant la méthode de la longueur des larves. La largeur des larves peut être utilisée comme alternative à la longueur pour l'estimation de l'âge. L'épaisseur du corps des larves, à la jonction du cinquième et le sixième segments abdominaux, est comparable à la longueur du corps pour la prédiction de l'âge des larves. Plus d'études sont nécessaires pour déterminer l'exactitude de cette méthode [24].

# Méthode du poids des larves

Dans cette méthode, le poids des larves est étudié dans des conditions de laboratoire contrôlées. Les stades œuf et larve post-alimentaire sont pris en considération. Un modèle statistique relatif à la répartition des poids selon l'âge est formulé. Cette méthode est appelée étalonnage ou prédiction inverse. Le poids de la larve d'âge inconnu peut être comparé au modèle par prédiction inverse. Un intervalle de confiance sur l'âge de la larve peut être construit. Néanmoins, le poids des larves varie en fonction des conditions d'élevage, de la densité des individus. De plus, des techniques satisfaisantes ne sont pas disponibles pour évaluer la précision d'une telle estimation d'intervalle post-mortem [24].

## Diagrammes isomorphes

Lorsque le cadavre est découvert à l'intérieur ou dans un environnement à températures non fluctuantes, la relation entre la température et la croissance peut être utilisé d'une autre manière. Les graphiques sont produits dans des conditions contrôlées dans le laboratoire. Dans le diagramme isomorphe, le temps d'éclosion des œufs (axe x) est tracé par rapport à la température (axe y). Les lignes du graphique représentent la longueur des larves à partir desquelles l'estimation de l'âge peut être effectuée [20][120][121]. Il est important de noter que le temps de développement pourrait différer dans les différentes régions géographiques du monde [24].

### 1.2.1.1.2. Facteurs affectant la colonisation d'un cadavre

La connaissance des facteurs susceptibles d'affecter la colonisation d'un cadavre par les insectes est nécessaire pour faire une estimation efficace de l'IPM en utilisant des données entomologiques [29][99]. L'activité des insectes sur les cadavres est influencées par de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques au cadavre [99]. Ces facteurs ont été classés par MANN et al. [31] en attribuant à chaque paramètre un nombre de points sur 5 en fonction de son influence sur le processus de décomposition (tableau 1.6).

Tableau 1.6 : Paramètres affectant le processus de décomposition selon MANN et al. [31].

Facteur	Effets sur la vitesse de la décomposition
1. Température	5
2. Accessibilité aux insectes	5
3. Enfouissement et profondeur	5
4. Carnivores et rongeurs	4
5. Traumatismes	4
6. Humidité et Aridité	4
7. Pluviosité	3
8. Taille et poids du corps	3
9. Embaumement	3
10. Habillement	2
11. Surface du sol de cadavre	1
12. PH du sol	Inconnu

# 1.2.1.1.2.1. Facteurs internes

Parmi les facteurs internes on peut citer la présence de vêtements, l'âge, la masse corporelle, la cause du décès (xénobiotiques, infection), la présence de plaies ou de blessures et l'hygiène corporelle [26].

Les victimes humaines sont souvent habillées. Les vêtements peuvent être complets ou partiels. Alternativement, la victime peut être nue mais emballées dans une variété de matériaux qui agissent de manière similaire à l'habillement [3]. Les criminels tentent souvent à cacher les preuves de meurtres en utilisant des matériaux d'emballage, tels que des couvertures, des vêtements, des tapis, des bâches, des sacs de couchage, des sacs en plastique et des valises [30][34][122]–[124]. Ces emballages peuvent dissuader les mouches d'accéder au corps et à pondre des œufs car ils restreignent l'émission d'odeurs de décomposition. Cela peut limiter l'interprétation du temps minimum écoulé depuis

le décès vu que la période de temps entre la mort et l'oviposition ne peut être établie avec précision [20].

### 1.2.1.1.2.2. Facteurs externes

Les facteurs extrinsèques qui sont : la température, l'accessibilité du corps aux organismes vivants qu'ils soient mammifères (animaux domestiques ou sauvages) ou arthropodes, les conditions météorologiques locales, la saison, la localisation géographique, lieu où se situe le corps (intérieur, exposé ou inhumé ou submergé), l'emplacement du corps (ombragé ou ensoleillé), l'habitat, la végétation et le type du sol peuvent avoir un impact sur l'activité des insectes [3][26][31].

La température ambiante et l'accessibilité du corps aux insectes sont les deux facteurs les plus important dans la décomposition d'un corps [26][31]. La saison a un impact majeur sur la météo et la flore et la faune d'une région. Ainsi, la colonisation faunique d'un corps est également affectée [3]. Plusieurs chercheurs ont examiné l'effet de la saison sur l'activité des mouches nécrophages [125][126], la décomposition [31][127] et la succession d'insectes [71][128]–[130], en concluant que la saison a un effet majeur sur les populations d'invertébrés découverts sur les cadavres et le moment de la colonisation des insectes. Ainsi, il est crucial d'examiner l'activité saisonnière des insectes sur les cadavres dans les régions géographiques spécifiques et les divers habitats [131].

La zone biogéoclimatique définit l'habitat, la végétation, le type du sol et les conditions météorologiques de la région. Cela a évidemment un impact majeur sur les types et les espèces d'insectes présents, ainsi que leur présence saisonnière. Elle affecte également la décomposition de la dépouille. Beaucoup de familles des insectes nécrophages sont relativement omniprésents, néanmoins les différentes espèces impliquées dans la décomposition varient d'une région à l'autre [3]. Ainsi, l'estimation de l'IPM basée sur des modèles de succession nécessitent une connaissance de la faune des insectes dans la région géographique dans laquelle le cadavre a été découvert du fait que les espèces varient considérablement selon ces régions géographiques [132]. Certains insectes sont cosmopolites, ou trouvés dans des endroits à travers le monde. D'autres sont réservés à une écozone terrestre particulière [11].

L'emplacement du cadavre a un effet sur sa décomposition et sa colonisation. L'effet le plus important est celui de la lumière du soleil et de la chaleur. Un corps trouvé en direct avec la lumière du soleil se réchauffe et se décomposant plus rapidement. La perte de la biomasse sera plus rapide que chez un corps retrouvé à l'ombre [3]. Par exemple, SHEAN et al. [133] ont examiné l'effet de la lumière du soleil par rapport aux habitats ombragés sur la succession d'insectes. Les auteurs ont conclu que les cadavres exposés au soleil ont présenté un taux de décomposition plus rapide et donc une période plus courte de colonisation d'insectes.

# 1.2.1.2. Enfants et personnes âgées maltraités

L'entomologie médico-légale peut aussi aider dans les enquêtes portant sur des personnes vivantes mais nécessitant des soins [22].

Cela en prouvant la négligence et la maltraitance des personnes dépendantes (enfants ou personnes âgées) [20][115][134]. Les plaies des personnes vivantes sont une cible potentielle des mouches colonisatrices des cadavres. L'urine et les selles attirent les mouches adultes, ce qui peut entraîner une infestation larvaire des organes génitaux. La présence de ces larves au niveau d'une blessure ou d'un orifice naturel d'une personne vivante provoque des lésions appelées myiases et peut indiquer que cette personne est délaissée. La présence de myiases permet d'établir la négligence et de dater l'infestation à partir de l'estimation de l'âge de ces asticots [2][19][115][134].

# 1.2.1.3. Déplacement d'un corps

Les insectes qui vivent dans des zones restreintes mais se retrouvent sur un cadavre dans une zone différente peut indiquer que le corps a été déplacé après la mort [3][19][20]. Cette application dépend encore de la connaissance de la faune locale [20]. La distribution, le microhabitat, la phénologie, l'écologie comportementale et l'analyse moléculaire font partie des domaines de recherche associés à ce sujet [101]. Cela peut être appliqué pour les espèces observées uniquement dans les zones urbaines ou rurales. Seules certaines espèces sont trouvées exclusivement dans une région urbaine ou rurale, alors que de nombreuses espèces peuvent être collectées dans les deux habitats [3]. La présence d'une espèce rurale sur un cadavre découvert en centre-ville peut indiquer le déplacement du corps. Cependant, ce cas de figure est extrêmement rare (seulement quelque cas sont recensés dans le monde). Par exemple, *Necrodes littoralis* (Linnæus, 1758) (Coleoptera, Silphidae) est une espèce très fréquente dans la nature, n'a jamais été observée dans les zones urbaines [135]. En Belgique, DEKEIRSSCHEITER et al. [98] n'ont identifié aucune espèce de Silphidae chez les cadavres trouvés dans les sites urbains. LECLERCQ a rapporté que les Silphidae étaient les seules espèces récupérées des cadavres à partir des sites forestiers en Belgique [136]. Cependant, CHAUVET et al. [137] ont enregistré la présence de *Nicrophorus* spp. sur des cadavres découverts à l'intérieur de maisons en France.

L'un des cas de ré-emplacement d'un cadavre le plus facilement identifiable est celui de l'eau à l'air libre. Dans un tel cas, la présence de tout invertébré aquatique sur le cadavre pourrait faire preuve du déplacement du corps. En revanche, la découverte des espèces nécrophages typiques sur un cadavre immergé peut être plus difficile à interpréter [101]. Le transfert d'un cadavre d'un milieu aquatique douce à un milieu marin (et inversement) se produit parfois, en particulier lorsque les cadavres flottants sont transportés par les marées [101].

### 1.2.1.4. L'entomotoxicologie

Les insectes et leur stades immatures qui se nourrissent des tissus cadavériques peuvent accumuler et stocker dans leurs tissus les xénobiotiques (médicaments, drogues, poisons, produits chimiques, etc.) présentes au niveau de leur source alimentaire qui est le cadavre [22]. De ce fait, ils peuvent servir de spécimens alternatifs fiables pour l'analyse toxicologique lorsque le corps est trop décomposé (absence de tissus, de sang ou d'urine) pour procéder à des analyses toxicologiques sur des échantillons de tissus classiques [39]–[41].

L'entomotoxicologie est l'étude de la bioaccumulation des xénobiotiques chez les insectes ou d'autres arthropodes en vue de déterminer la présence de ces mêmes xénobiotiques au niveau du cadavre [20][42][43] et leur impact sur l'estimation de l'IPM minimum [44][45]. Les résultats obtenus par des études entomotoxicologiques peuvent aider à étudier la cause et l'heure de la mort des humains et des animaux [45].

Le matériel biologique d'intérêt à l'entomotoxicologie se compose essentiellement de larves, de pupes, d'insectes adultes (aussi bien les Diptères que les Coléoptères), de pupes vides, d'exuvies et même parfois de matière fécale de Coléoptères [42]. En effet, les larves de Diptères, qui se nourrissent sur un corps intoxiqué, ne métabolisent qu'en partie les drogues ou toxines consommées par le défunt avant le décès [138]. Le transfert de ces substances se fera également aux Coléoptères qui se nourrissent de ces larves ou directement du cadavre. C'est ce qu'on appelle un phénomène de seconde bioaccumulation [43]. Il est ainsi possible d'avoir une idée des causes du décès. L'entomotoxicologie permet également une meilleure estimation des IPMs [139].

# 1.2.1.4.1. Historique de l'entomotoxicologie

Les premières détections des xénobiotiques chez les insectes ont débuté dans les années 1970 par des analyses des métaux lourds chez les Diptères [43]. En 1980, Beyer fut l'un des premiers à utiliser des asticots pour évaluer qualitativement la présence de médicament dans un cas de suicide suspecté. Un corps d'une femme de 22 ans a été trouvé en état de squelette, à l'exception de la peau. Les larves de *Cochliomyia macellaria* Fabricius (Diptère, Calliphoridae) ont été recueillies et une analyse en chromatographie en phase gazeuse a été réalisée. Une concentration en phénobarbital de 100 µg/g dans le tissu larvaire a été détecté [41][140].

Depuis, plusieurs xénobiotiques été analysés des échantillons d'insectes parmi lesquels nous citons :

- Les barbituriques : le phénobarbital [140][141], le sécobarbital [142],
   l'amylobarbital et le barbital [143] ;
- les benzodiazépines : le témazépam [144], le triazolam, l'oxazépam [141] et le diazépam [127] ;
- les antidépresseurs : l'amitriptyline [143]–[147], la nortriptyline [146][147], la trimipramine [144], l'alimémazine et la clomipramine [141], propoxyphène [146] et trazodone [144];
- les opiacés/opioïdes : la morphine et la codéine [33][148]–[154] et le propoxyphène [146] ;
- les dérivés amphétaminique : l'amphétamine [143], la MDMA et la MDA [155] ;
- les drogues : la cocaïne et/ou la benzoylecgonine [156]-[158] ;
- les analgésiques : le paracétamol [143][146], les salicylates [143] ;

- les pesticides organophosphorés : le malathion [159]–[161] et le parathion [162] ;
- les métaux : le plomb, le baryum et l'antimoine [163][164] ;
- l'éthanol [49][165].

En ce moment, il existe un accord général dans la communauté de toxicologie forensique que les concentrations de médicaments chez les insectes ne peuvent être interprétées [166].

### 1.2.1.4.2. Protocole expérimental d'entomotoxicologie

Des protocoles de collection et de préservation des insectes spécifique à l'entomotoxicologie ont été proposés par GOSSELIN et al. [166] et LOPES DE CARVALHO [138]. Les larves des Diptères Calliphoridae sont les plus utilisée car ces espèces sont les premières qui arrivent au cadavre et s'en alimente pendant des jours. La période du transfert à l'analyse toxicologique doit être la plus courte que possible [167]. De nombreux auteurs ont démontré l'importance de prélèvement à partir des endroits différents du corps du fait de la grande variabilité de la concentration des médicament entre les sites de prélèvement [139][144][152]. Cette observation est expliquée par la distribution différentielle des substances médicamenteuses dans le corps en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. Cela conduit ainsi à des concentrations variables entre organes et tissus [167]. L'analyse toxicologique devrait être faite dès que possible pour garantir l'intégrité des échantillons [138]. Les méthodes d'analyse sont menées de manière similaire à celles des autres échantillons [165]. Les échantillons prélevés sont analysés en chromatographie (Chromatographie liquide ou gazeuse couplée à un détecteur) ou par des techniques radioimmunologiques [165][167]. Le choix de la technique dépend des propriétés physico-chimiques des substances recherchées afin de disposer d'une sensibilité et d'une sélectivité maximale. Dans tous les cas, les méthodes analytiques doivent être préalablement validées selon les standards internationaux [167].

Durant les expériences entomotoxicologiques, l'injection ante-mortem des drogues permet de se situer dans des conditions plus proches à la réalité avec une métabolisation interne des composées mais nécessite de bien connaitre la cinétique de l'élimination du produit par l'animal [127][155]. Dans certaines études,

le produit est mélangé à un organe en post-mortem ou à un substrat artificiel. Ces substrats sont largement utilisés, car ils sont faciles à préparer et à faible coût. Malheureusement, des problèmes de préparation et de stockage peuvent se produire [166]–[168].

# 1.2.1.4.3. L'éthanol

L'éthanol (alcool éthylique, EtOH) est un dépresseur qui est utilisé et abusé dans le monde entier. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'éthanol est responsable des millions de morts, y compris le décès de plusieurs centaines de milliers de jeunes. Selon des statistiques récentes de l'OMS le nombre de personnes qui meurent chaque année à cause de l'éthanol est 2,5 millions [169].

### <u>Toxicocinétique de l'éthanol</u>

L'éthanol est absorbé par voie orale et respiratoire rapidement et peu par contact cutané [170]. L'inhalation des vapeurs de l'éthanol ou son passage transcutané ne semblent pas entraîner des effets graves pour la santé [171]. La vitesse d'absorption de l'alcool dépend de certains facteurs tels que la présence d'aliments dans l'estomac (qui retarde son absorption), la vitesse de consommation et la concentration en alcool. L'éthanol se dissout aisément dans l'eau et peu dans le tissu adipeux du corps et se répartit facilement dans tous les organes. Il est absorbé dans l'estomac (environs 20% de la quantité absorbé) par diffusion passive, et dans le duodénum (80% de la dose ingérée). La vitesse de résorption va dépendre de plusieurs paramètres, mais essentiellement de la concentration en éthanol de la boisson et de la vitesse de vidange gastrique. La distribution de l'éthanol est très rapide pour tous les organes très vascularisés (cerveau, poumon, foie) avec une demi-vie de distribution de 7 à 8 minutes. L'éthanol se distribue bien dans tous les organes du fait de son hydrosolubilité ; son volume de distribution sera fonction de l'hydratation du sujet. Il ne se lie pas aux protéines plasmatiques [171][172].

# • Élimination de l'éthanol

Dès que l'on commence à absorber de l'alcool, l'organisme commence à l'éliminer. Lors de la phase de consommation, l'apport d'alcool est plus grand que ce que peut éliminer le corps. Par conséquent, l'alcoolémie augmente. L'éthanol

est éliminé pour près de 90 à 95% par voie métabolique. Le reste est excrété sous forme inchangée par les poumons. Les reins excrètent l'éthanol à raison de 0,06 L/h, et la sueur à raison de 0,02 L/h pour un sujet d'un poids de 70 kg [173]. L'éthanol est également éliminé dans le lait maternel [174].

### • Toxicité de l'éthanol

Les effets toxiques de l'alcool sont aujourd'hui bien connus. Le foie, le cerveau et le système nerveux, le cœur et les muscles peuvent être atteints. L'appareil digestif n'est pas épargné. Les muqueuses, l'estomac et l'intestin sont irrités avec des sensations de brûlures fréquentes. L'exposition à des concentrations élevées de vapeur peut néanmoins entraîner une irritation des muqueuses des voies respiratoires et des yeux, des céphalées, des vertiges, un état d'ébriété et de somnolence [171].

# <u>Analyses post-mortem de l'éthanol</u>

L'éthanol peut être détecté dans les cadavres, peu importe la cause du décès, mais avec une incidence plus élevée dans les décès dues à des circonstances violentes [46][47]. L'éthanol est également l'une des principales causes de décès par empoisonnement [48]. La détection de l'alcool dans les tissus peut fournir des informations importantes concernant les circonstances de la mort d'un individu [49].

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la méthode d'analyse la plus utilisée dans la détermination de l'éthanol dans les laboratoires du monde entier [169]. Historiquement, l'éthanol était séparé des spécimens biologiques par précipitation des protéines par extraction au solvant et par distillation. Cependant, les méthodologies les plus communément employées impliquent l'injection directe ou l'auto-échantillonnage d'espace de tête sur des systèmes de chromatographie en phase gazeuse couplés à des détecteurs d'ionisation de flamme [175][176].

### 1.2.1.5. L'ADN et l'entomologie forensique

# 1.2.1.5.1. Applications de la biologie moléculaire en entomologie forensique

# Identification moléculaire des insectes

Les insectes souvent recueillis des cadavres au cours d'une enquête criminelle nécessitent une identification rapide et précise des espèces [50]. Le développement des insectes dépend de la température [177]. Chaque espèce a un taux de croissance différent [1]. Il est donc essentiel d'identifier correctement les espèces provenant d'un cadavre pour calculer correctement l'IPM minimum. En raison du nombre limité des taxonomistes experts, l'identification morphologique des espèces est l'un des principaux obstacles en entomologie médico-légale [51]. Dans ce cas, la biologie moléculaire joue un rôle dans l'identification des insectes [20][51][117][178][179]. Les Calliphoridae sont l'un des premiers visiteurs à coloniser un cadavre avec leurs larves [1]. La détermination de l'espèce est la seule application de génotypage actuellement utilisée habituellement par les entomologistes médico-légaux [180].

### <u>Génétique des populations</u>

De grandes variations en génotype peuvent exister entre les individus des Diptères appartenant à la même espèce. Ceci a été démontré pour les espèces ayant des origines géographiques distinctes [2][180]. Nos connaissances sur la génétique des populations des insectes nécrophages sont encore limitées. Néanmoins, les chercheurs ont commencé à adapter les outils de la biologie moléculaire pour étudier ces taxons [180].

### Détection des variations géographiques

La variation géographique du phénotype d'une espèce répandue, vraisemblablement associée à une variation génétique, intéresserait les entomologistes forensique pour au moins deux raisons. Tout d'abord, il peut être nécessaire de refaire certaines expériences dans de nouveaux endroits car les données de référence développées dans un endroit ne sont pas applicables à une enquête de décès à un endroit différent. Deuxièmement, la structure génétique de la population géographique pourrait permettre de déduire le déplacement postmortem d'un cadavre si les insectes présents montrent un génotype non local [180].

# <u>Génotypage du contenu intestinal des larves</u>

WELL et al. [181] ont démontré que l'ADN mitochondrial peut être séquencé à partir de la dissection de l'intestin d'une larve qui s'était nourrie de tissu humain. Ces données peuvent être utilisées pour identifier à la fois le
cadavre humain sur lequel l'asticot avait nourri et pour l'identification de l'espèce de mouche [181]. Par conséquent, lorsqu'une dépouille a été déplacées après la mort, les larves laissées derrière peuvent révéler l'identité du défunt [2][181].

L'arrêt du processus de la digestion de l'insecte dès que possible en tuant et préservant les spécimens est très important afin de pouvoir récupérer l'ADN des vertébrés à partir de l'insecte. Une fois que l'alimentation a cessé, l'ADN peut être récupéré de l'intestin de l'insecte en moins de 24 heures [180].

#### <u>Analyse de parenté</u>

La mouche femelle dépose habituellement ses œufs en quelques minutes si elle n'est pas perturbée. Par conséquent, la découverte des larves de la même progéniture à deux endroits différents suggèrent fortement que le corps de la victime avaient été déplacés [180].

#### 1.2.1.5.2. Méthode du barcoding de l'ADN

HEBERT et al. [182] ont proposé pour la première fois le concept de « DNA barcoding » ou « code-barres ADN ». L'approche consiste à utiliser un fragment standard du génome comme marqueur génétique pour la différenciation des espèces. Le fragment choisi (du moins pour le règne animal) est un morceau du gène dit COI. Un barcode moléculaire est un fragment d'ADN présente chez tous les organismes vivants. La séquence de ce fragment d'ADN est quasiment identique chez les individus qui appartiennent à la même espèce, et permet donc de déterminer l'espèce à laquelle appartient un individu en ne connaissant que la séquence de ce fragment d'ADN [183][184].

L'ensemble des codes-barres est compilé dans une base de donnée bioinformatique à accès libre pour tout le monde, le « Barcode of Life Data Systems » (BOLD, http://www.barcodinglife.org) [185]. Les utilisateurs comparent leurs séquences avec celles présente sur cette base de données. Les taxonomistes jouent un rôle important dans la construction et la gestion de cette librairie. Le fragment choisi est un gène du génome mitochondrial codant pour la première sous-unité du cytochrome oxydase (COI), une protéine qui intervient dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie [183][184]. La grande diversité et l'importance des insectes les ont fait une cible majeure des codes-barres ADN [183].

#### 1.2.1.5.3. L'ADN mitochondrial

L'ADN mitochondrial des insectes est un petit génome circulaire contenant environ 16.000 paires de bases d'ADN à double brin, qui proviennent principalement de sources maternelles [186]. La molécule comprend approximativement 37 gènes (22 pour l'ARN de transfert, 2 pour l'ARN ribosomique et 13 pour les peptides). Ces gènes comprennent des gènes codant les deux sous-unités de cytochrome c oxydase, les sous-unités I et II (COI et COII) [187]. La séquence de la COI peut servir de code-barres standard pour presque tous les animaux [188].

Les principaux avantages de la COI selon DECAÊNS et al. [184] sont dues à ses caractéristiques suivantes :

 Son taux d'évolution est généralement assez rapide pour permettre l'accumulation substantielle de mutations (souvent neutres) et donc la différenciation génétique des espèces et des sous-espèces ;

- une différence marquée entre la variabilité observée entre les individus de la même espèce et celle observée entre les individus appartenant à des espèces différentes ;

- l'existence d'une multitude de copies dans les cellules et de régions relativement conservées du gène. Cela permet le développement et l'utilisation des amorces universelles, utilisable pour une grande variété d'organismes. Par conséquent l'amplification du COI par PCR et son séquençage sont relativement faciles.

Au cours de la dernière décennie, les entomologistes médico-légaux ont effectué une analyse génétique de l'ADN mitochondrial d'insectes (ADNmt), outre l'utilisation de clés dichotomiques, pour identifier et distinguer les espèces étroitement liées [189].

De nos jours, la plupart des études utilise la technique du COI pour obtenir un barcode moléculaire [180][182]. L'analyse de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et du gène particulier de la cytochrome oxydase I (COI) semblait être un outil utile dans l'identification des espèces de plusieurs familles des Diptères d'importance médico-légale [50][90][196][178][181][190]–[195]. Tous les individus d'une espèce présentent des séquences identiques ou très proches, ce qui va permettre l'identification d'un spécimen en comparant sa séquence avec celles des espèces connues [184].

La présence du gène COI en nombreuses copies, la haploïdie et la disponibilité d'amorces de l'ADNmt conservées depuis plus d'une décennie [180][184] ont facilité l'obtention de données de séquence de l'ADNmt de nombreuses espèces d'insectes précédemment non étudiées. L'ADNmt offre plusieurs avantages par rapport à l'ADN nucléaire : ce dernier subit des taux de mutation relativement lents par rapport à l'ADNmt, de sorte que l'identification nécessiterait une séquence nucléotidique beaucoup plus longue que nécessaire avec l'ADNmt. Cela permet à l'ADNmt de fournir des différences dans les séquences des espèces étroitement liées [197] et donc être utile à des fins d'identification moléculaire [184].

#### 1.2.2. Utilité des insectes nécrophages en biochirurgie

#### 1.2.2.1. <u>Définition de l'asticothérapie</u>

L'asticothérapie, également appelée larvothérapie, luciliathérapie (ou maggot debridement therapy (MDT) en Anglais) est l'emploi délibéré des larves vivantes et désinfectées de la mouche *Lucilia sericata* à des fins thérapeutiques où les larves de cette catégorie de mouches se nourrissent exclusivement de tissus morts [198].

#### 1.2.2.2. But de l'asticothérapie

Le but de la larvothérapie est de favoriser la détersion, la désinfection et la cicatrisation des plaies chroniques. C'est une pratique ancienne qui a été interrompue après la seconde guerre mondiale après laquelle elle a été réintroduite depuis les années 1990. Plusieurs raisons expliquent cette réintroduction : une meilleure connaissance des mécanismes d'action des larves de *Lucilia sericata*, la formulation de larves médicales stériles dans des sacs faciles à utiliser, la mise au point de protocoles thérapeutiques plus efficaces et le développement des résistances bactériennes aux antibiotiques. Bien que l'utilisation des larves ne soit pas une thérapie systématique partout dans le monde, la larvothérapie s'évolue de plus en plus en médecine humaine et vétérinaire [199].

#### 1.2.2.3. <u>Historique de l'asticothérapie</u>

La première personne à observer les effets bénéfiques des larves de mouches sur les plaies de blessures était le chirurgien Ambroise Paré (1509-1590) [200]. Son avis était que les « verres » qu'il voyait étaient le résultat de la génération spontanée [201].

Baron Dominique Larrey (1766-1842), un célèbre chirurgien de l'armée de Napoléon Bonaparte, a écrit sur les soldats qui ont eu des plaies infestées de larve, mais a été frustré qu'il était difficile de persuader ses patients pour laisser les asticots en place. Il croyait que les larves ont favorisé la guérison sans laisser de dégâts [200]. La même observation provenait d'un groupe de médecins confédérés détenus au cours de la guerre civile américaine [202]..

Zacharie, l'un des chirurgiens confédérés, fut le premier à appliquer intentionnellement des larves aux blessures des soldats [203][204].

Le premier chirurgien à utiliser l'asticothérapie dans un hôpital était William S. Baer. Dans les années 1920, il était face à un groupe de patients non traités avec une ostéomyélite sévère (inflammation de l'os), qui serait actuellement traitée avec des antibiotiques. Il réussit à traiter ces patients avec des larves [203]. En raison de son succès, la larvothérapie est devenu une thérapie régulière aux États-Unis. En 1934, plus de 1000 chirurgiens utilisaient cette biothérapie. Malgré son succès, Dr. Baer expérimenta certains problèmes de stérilisation, avec le développement ultérieur du tétanos dans certains patients. Ce qui a plus tard conduit à la production de larves stériles par le Lederle Corporation [205].

Au même temps, Alexander Fleming (1881-1951) a introduit des antibiotiques en 1940, ce qui a interrompu le recours à la larvothérapie. Cependant, seulement 4 ans après l'introduction de la pénicilline, plus de 50% des souches de *Staphylococcus aureus* ont produit de la bêta-lactamase, qui a rendu ces bactéries résistantes aux antibiotiques [206]. La résistance a entraîné une cicatrisation défectueuse et, par conséquent, les larves ont été réintroduites dans les années 1980 [207]. L'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques depuis 20 ans et la curiosité des cliniciens ont ravivé l'intérêt pour cette technique [204][208]. La larvothérapie semblait même nettoyer les plaies infectées avec les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques (MRSA) [201][209]. En 1934, on dénombre environ 1000 chirurgiens qui l'utilisent [210]. Dans la littérature, deux noms reviennent très souvent, ce sont

Sherman aux USA et Thomas en Grande-Bretagne, tous les deux ayant beaucoup publié sur le sujet [207][210]–[217]. En 2004, l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA) a autorisé la production et la distribution des asticots [218][219].

## 1.2.2.4. Intérêt de l'utilisation des larves de Lucilia sericata en asticothérapie

Bien que la majorité des espèces de Calliphoridae se rencontre fréquemment sur les cadavres au cours des premières phases de décompositions, *Lucilia sericata* est la plus utilisée aujourd'hui. Elle est appelée également « lucilie soyeuse », « mouche verte de la viande » ou « green bottle blowfly » chez les anglo-saxons. Cela est due aux caractéristiques suivantes :

- *L. sericata* ne s'attaque qu'aux tissus morts et ne se niche pas dans les berges de la plaie [220][221]. Par contre, les autres espèces consomment également les tissus sains [222];
- elle contribue à diminuer les mauvaises odeurs en tuant et digérant les bactéries [223]–[226];
- elle donne une détersion rapide, efficace, indolore et peu moins coûteuse
   [220];
- elle n'est pas dépendante d'un apport suffisant en sang [227].

## 1.2.2.5. Morphologie de Lucilia sericata

Les adultes sont généralement de taille variant entre 8 et 10 mm et de couleur vert métallique et peuvent aussi avoir une coloration vert cuivre. Leur thorax est muni d'épines appelées macrochètes acrosticaux [228]. Les œufs sont généralement blancs ou jaunes. Ils sont souvent déposés en masses. Les œufs sont allongés avec une extrémité légèrement effilée, et sont d'environ 1,5 mm de longueur [229].

Les larves sont d'une couleur blanche ou jaunâtre à travers les trois stades de développement et peuvent atteindre un maximum de 12-18 mm avant la pupaison [229]. Elles sont lisses de forme conique [228]. Les pupes sont enfermées dans une coque durcie qui est habituellement de couleur brun rougeâtre. Cette coque est composée de la cuticule du dernier stade larvaire (L3). Elles sont de 9 à 10

mm de longueur avec une largeur allant de 3 à 4 mm. Initialement, la pupe est blanche, mais s'obscurcit rapidement en quelques heures [229].

## 1.2.2.6. Taxonomie de Lucilia sericata

Selon l'INPN (Inventaire National du Patrimoine Naturel) [230], organisme français dépendant du Muséum National d'Histoire Naturelle, la classification de *L. sericata* est comme suit :

• Domaine : Biota

• Règne : Animalia (Linnæus, 1758)

- Sous-Règne : Eumetazoa (Bütschli, 1910)
  - Infra-Règne : Bilateria (Haeckel, 1874)
    - Infra-Règne : Protostomia (Grobben, 1908)
      - Cladus : Ecdysozoa (Aguinaldo, Turbeville, Linford, Rivera, Garey, Raff et Lake, 1997)
        - Phylum : Arthropoda (Latreille, 1829)
          - Sous-Phylum : Pancrustacea (Zrzavý & Štys, 1997)
            - Infra-Phylum : Altocrustacea (Regier, Schultz, Zwick, Hussey, Ball, Wetzer, Martin et Cunningham, 2010)
              - Classe : Hexapoda (Blainville, 1816)
                - Sous-Classe : Insecta (Linnæus, 1758)
                  - Infra-classe : Pterygota (Brauer, 1885)
                    - Cladus : Neoptera (Martynov, 1923)
                      - Ordre : Diptera (Linnæus, 1758)
                        - Sous-Ordre : Brachycera (Schiner, 1862)
                          - Infra-Ordre : Muscomorpha (Sharp, 1894)
                            - Section : Schizophora
                              - Sous-section : Calyptrata
                                - Super-Famille : Oestroidea
                                  - Famille : Calliphoridae (Brauer et Bergenstamm, 1889)
                                    - Genre : Lucilia (Robineau-Desvoidy, 1830)

• Espèce : *Lucilia sericata* (Meigen, 1826)

#### 1.2.2.7. Biologie et cycle de développement

Après l'accouplement, les femelles adultes pondent des grappes entre 100 à 300 œufs à la fois, préférentiellement sur les plaies, les blessures des moutons, sur les cadavres ou toute matière organique en décomposition. Il peut y avoir plusieurs générations par an. À environ 21°C, les œufs de *Lucilia sericata* prennent environ 21 heures pour éclore, et à 27°C, mettent environ 18 heures pour éclore, après leur dépôt. Le développement larvaire nécessite environ quatre jours à 20°C et trois jours à 27°C. Il y a trois stades à travers lesquels les larves se développent [85]. Cependant, de nombreux autres facteurs jouent un rôle dans le développement, y compris la source d'alimentation, la température et l'humidité [25][231]. Le développement de *L. sericata* s'arrête à des températures inférieures a 9°C [25]. Une fois pleinement développée, la larve du 3ème stade (L3) quitte l'hôte ou le cadavre et creuse dans le sol ou le substrat qui l'entoure. Le développement nymphal dure environ 10 jours à 21°C et 7 jours à 27°C [85]. A la fin, la mouche adulte émerge et le cycle recommence.

#### 1.2.2.8. Mécanisme d'action de la larvothérapie

Les larves effectuent trois mécanismes d'action : elles nettoient les plaies en dissolvant les tissus morts et infectés (détersion), elles désinfectent la plaie en tuant les bactéries et en stimulant la guérison des plaies (figure 1.12) [212][218][219].



# Figure 1.12 : Photographies d'un patient diabétique de 48 ans avec brûlure au pied. Son calcanéus était atteint d'ostéomyélite [232].

 (A) Avant de commencer la larvothérapie ; (B) Après deux applications des larves : la plaie est débridée et bien granulée ; (C) Après un mois : progression de la cicatrisation des plaies ; (D)
 Après quatre mois, la fermeture de la plaie.

#### Détersion

Les asticots se déplacent sur la surface de la plaie sécrétant un mélange d'enzymes digestives telles que les carboxypeptidases A et B, la leucine aminopeptidase, la collagénase et les protéases à sérine [198][214].

Ces enzymes protéolytiques liquéfient la fibrine qui est ainsi absorbée par les larves. La protéase à sérine de type chymotrypsine joue un rôle important dans la digestion de la matrice de la plaie et le débridement efficace par la dégradation des composants de la matrice extracellulaire de la laminine, de la fibronectine et des fibres de collagène de types I et III [233].

Une action mécanique n'est pas exclue : d'une part par le grouillement des larves sur la plaie et d'autre part, par une dilacération de la fibrine par leurs mandibules [234].

L'action mécanique des larves et la sécrétion des enzymes protéolytiques favorisent un débridement efficace des tissus. Il n'y a aucun risque pour les tissus sains, car ces enzymes sont neutralisées lorsqu'elles entrent en contact avec des tissus intacts. De cette façon, ils éliminent les débris cellulaires, les tissus contaminés morts, les microbes et les corps étrangers [235].

#### Désinfection

Dans la littérature, plusieurs travaux évoquent le rôle désinfectant des larves [208]. Cette action repose elle aussi sur plusieurs mécanismes. Les sécrétions des larves augmentent le pH de la plaie par la sécrétion de bicarbonate de sodium, inhibant ainsi la croissance des bactéries [236]. Les larves ingèrent et digèrent également des bactéries dans le tissu dévitalisé de la plaie, qui sont tuées dans leur intestin [200]. Il a été démontré que les excrétions/sécrétions contiennent des composants bactéricides avec des propriétés curatives telles que l'allantoïne, l'urée, l'acide phénylacétique, le phénylacétaldéhyde et le carbonate de calcium, en particulier contre le SARM [198]. Cette notion avait déjà été mise en évidence dès 1935 par Simmons [237], puis par Thomas [215]. Ces protéines semblaient plus bactériostatiques que bactéricides, mais la variabilité du degré d'inhibition serait peut être liée aux différentes méthodes de recueil des sécrétions larvaires. Seule une protéine de moins de 500 Da a montré dans des études récentes une activité antibactérienne contre un SARM [214].

Les défensines sont les peptides antimicrobiens les plus répandus caractérisés chez les insectes. Ces peptides cycliques, d'une taille de 4 à 6 kDa, sont repliés en structures mixtes d'hélices alpha hélicoïdales et les feuilles bêta et ont un motif commun conservé de trois ponts disulfure intramoléculaires avec une connectivité Cys1-Cys4, Cys2-Cys5 et Cys3-Cys6. Ils ont la capacité de tuer en particulier les bactéries à Gram positif et certains champignons, cependant, les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes contre eux [238].

Des études *in vitro* ont montré que les sécrétions peuvent perturber les biofilms créés par *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* [233]. Les sécrétions des larves possèdent des facteurs chimiotactiques et des acides gras qui ont un effet sur la migration des fibroblastes et induisent une formation de tissu de granulation ultérieurement avec l'oxygénation tissulaire [232][235][236]. D'autres substances ont été découvertes dans les sécrétions larvaires qui auraient une action antibactérienne : l'allantoïne, l'acide phénylacétique et le phénylacétaldehyde [217].

#### • Stimulation du tissu de granulation

Des recherches *in vitro* ont montré que les sécrétions larvaires stimulent la croissance des fibroblastes humains [239]. Un effet remodelant de la matrice extra cellulaire a également été évoqué : les sécrétions larvaires diminueraient l'adhésion des fibroblastes au collagène et à la fibronectine par un effet protéolytique, améliorant par là même la prolifération des néo tissus [240][241]. Enfin des quantités variables de cytokines pro-cicatrisantes et de facteurs de croissances (IL1, EGF, PDGF, TGF- $\beta$ , FGF et IGF) on été mis en évidence dans les excrétas larvaires [232][242].

Parmi les défensines, les composés importants sur le plan médical, la lucifensine et la lucifensine II, qui ont été récemment identifiés à partir des asticots de *Lucilia sericata* et *Lucilia cuprina* respectivement. Ces défensines contribuent à la cicatrisation des plaies [232][238].

#### 1.2.2.9. <u>Techniques d'application de la larvothérapie en clinique</u>

## Prescription

Les larves stériles de *L. sericata* sont fournies sur commande. Elles sont de 2 à 3 mm de long, mais peuvent atteindre 8 à 10 mm de taille [243].

#### Indications

La larvothérapie peut être utilisée pour traiter de nombreux types de plaie en médecine humaine y compris les ulcères de jambe, les ulcères de pression, les ulcères du pied diabétique, les blessures chirurgicales, les tissus lisse infectés et nécrotiques, les brûlures et la gangrène [198][215][244]. La larvothérapie est également utilisée pour traiter les blessures incurables des animaux. Cette thérapie est plus efficace pour les plaies profondes qui ont une nécrose des tissus mous difficiles à atteindre [210][245]. C'est une technique utile pour débrider et désinfecter certaines plaies sévères comme une alternative à l'amputation chez les chiens et les chats [211].

#### Effet secondaire

Le seul effet secondaire de cette biochirurgie est que le patient peut subir une irritation ou des démangeaisons causés par le mouvement des larves dans la plaie [235].

#### Contre-indications

Les larves ne doivent pas être appliquées aux blessures qui ont tendance à saigner facilement ou être introduites dans les blessures qui communiquent avec une cavité corporelle ou un organe interne. Ils ne devraient pas non plus être appliquées aux grands vaisseaux sanguins [243].

#### <u>Méthodes d'application des larves</u>

D'une façon générale, avant l'application la plaie est nettoyée (sans antiseptiques), avec une solution saline normale ou de l'eau stérilisée pour enlever la graisse et la saleté [203]. La survenue de douleurs devrait être prise en considération et un médicament analgésique est prescrit avant le changement du pansement, ainsi que sur une base régulière si nécessaire [243].

Les larves sont appliquées sur la plaie de deux façons, soit directement pour être déposées individuellement sur la plaie (figure 1.13) ; soit regroupées dans un petit sac appelé « Biobag » (figure 1.14) [243][246]. La détersion et l'effet bactéricide sont obtenus par les liquides sécrétés par les larves et qui passent au travers du sac. Cela empêche également la sensation de picotement due au mouvement des larves sur la peau normale [203]. Pour que les larves puissent respirer, le pansement doit permettre à l'air d'entrer dans la zone, et laisser le tissu nécrotique liquéfié s'écouler librement de la plaie [198][212].

La méthode du biobag est moins compliquée, car elle nécessite moins d'expérience, permet d'économiser du temps de travail et de ressources lors des changements de pansement et est moins douloureuse [236]. L'inconvénient de la méthode du biobag est que le débridement est moins efficace car les asticots ne peuvent pas utiliser leurs crochets buccal à travers le biobag [247]. Selon STEENVOORDE et al. [248], les biobags ont un impact négatif important sur le résultat. Dans une autre étude, BLAKE et al. [236] ont comparé les deux techniques et ont constaté que l'efficacité du débridement semble être similaire. L'analyse statistique n'a révélé aucune différence entre les deux méthodes sur la quantité totale de tissu débridé après 3 ou 4 jours de traitement [219].



Figure 1.13 : Des larves sur une plaie après 5 jours [249].



Figure 1.14 : Biobag contenant des larves [222].

Les larves sont appliquées à la plaie à une densité de 5-10 larves/cm<sup>2</sup> de surface de la plaie en médecine humaine [210][218]. En médecine vétérinaire, on a signalé l'utilisation de 5-10 larves/cm<sup>2</sup> et 8-12 larves/cm<sup>2</sup> de surface de la plaie [219][250][251]. Selon BLAKE et al. [236], une quantité standard de 100 larves peut débrider 50 g de tissu nécrotique pendant un cycle de traitement tout en

tenant compte de la mortalité larvaire dans la blessure. Dans une étude sur les chevaux, la surface a été multipliée par la profondeur de la plaie dans le cas de blessure plus profonde (>2 cm) [251]. Un guide du nombre des larves à utiliser a été proposé par BioMonde®<sup>1</sup> [252]. Ainsi, le nombre des larves appliquées à la plaie dépend de la quantité de tissu nécrotique, de la profondeur de la plaie et de la largeur de la surface de la plaie [251]. Les larves sont maintenus en place pendant deux à trois jours jusqu'à ce que le débridement soit terminé et qu'elles soient saturées [218]. À ce stade, les larves doivent être enlevées, la plaie doit être complètement lavée avec une solution saline physiologique et un nouveau groupe de larves doit être appliqué sur la plaie jusqu'à ce que la plaie soit complètement débridée [203][218][253].

On prend soin de ne pas permettre aux larves de rester en place suffisamment longtemps pour ne pas causer de la douleur au patient [218]. Au cours des deux premiers jours, il y a une légère odeur due à l'activité phagocytaire des larves, plus tard cette odeur disparaît, la plaie devient alcaline et le tissu de granulation commence à se développer à travers la plaie. Habituellement, les plaies ont une réaction acide qui se transforme en réaction alcaline, 24 heures après l'application des larves. La réaction alcaline est utile dans la stérilisation de la plaie et la destruction des bactéries. À la fin de la deuxième application, la plaie est complètement remplie de tissu de granulation [203].

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> BioMonde est une société multinationale spécialisée dans la fabrication et la distribution des larves. Les unités de production sont situées au Royaume-Uni, en Allemagne et aux États-Unis.

## CHAPITRE 2 PARTIE EXPÉRIMENTALE

2.1. Echantillonnage de Lucilia sericata, Calliphora vicina et Chrysomya albiceps dans différentes régions en l'Algérie

#### 2.1.1. Présentation de la région d'étude

L'Algérie est un pays situé dans la zone subtropicale de l'Afrique du Nord. Son climat est très différent entre les régions (Nord-Sud, Est-Ouest). Selon l'Office National de la Météorologie (ONM), c'est du type méditerranéen au nord qui englobe le littoral. Entre l'Atlas Tellien et l'Atlas Saharien où culminent les hauts plateaux, le climat est de type continental avec des étés chauds et secs et des hivers humides et frais. Le climat est désertique vers le Sud au delà de la chaine montagneuse de l'Atlas Saharien.

Les zones biogéographiques décrites par QUEZEL et SANTA [254] et simplifiées par MOHAMED SAHNOUNE et al. [255] ont été utilisées pour décrire la distribution des zones bioclimatiques.

MOHAMED SAHNOUNE et al. [255] ont signalé la présence de six zones bioclimatiques en Algérie selon les précipitations (figure 2.1) :

- La zone perhumide (1200-1800 mm): se trouve dans les zones limitées de l'Atlas Tellien à une altitude d'environ 2000 m.
- La zone humide (900-1200 mm) : est présente dans les régions telliennes du nord-est.
- La zone subhumide (600-900 mm): correspond à l'Atlas Tellien du nord de l'ouest à l'est.
- La zone semi-aride (300-600 mm) : est présente dans les pentes occidentales de l'Atlas Saharien (400-600 mm). Elle se trouve également dans la partie nord des hautes plaines d'Alger-Oran et des pentes sud des monts des Aurès, Ouled Naïls et Némemchas (300-400 mm).
- La zone aride (100-300 mm) : est représentée par les régions steppiques du sud et présahariennes.
- La zone saharienne (<100 mm) : couvre les zones sahariennes.



Figure 2.1 : Zones biogéographiques et bioclimatiques de l'Algérie (reproduite de MOHAMED SAHNOUNE et al. [255], Zootaxa 2432 © 2010 Magnolia Press, avec permission).

Zones biogéographiques: 1, littoral; 2, Atlas Tellien; 3, Hauts Plateaux; 4, Atlas Saharien; 5, Sahara du Nord; 6, Sahara Central. Zones bioclimatiques (zone perhumide non représentée): Bleu, humide; Vert, subhumide; Rose, aride; Jaune, semi-aride; Orange, saharien.

#### 2.1.2. Objectifs de l'étude

Cette partie a été réalisée en utilisant les données d'occurrence entre 2010 et 2016 de présence seulement. Son objectif vise à :

 collecter des données sur les espèces Calliphoridae d'importance médicolégale les plus rencontrées en Algérie (*Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* et *Chrysomya albiceps*) afin d'étudier leur occurrence spatio-temporelle ;  effectuer une étude de terrain sur une période d'une année dans deux habitats différents dans le centre du nord de l'Algérie pour étudier la dynamique saisonnière de ces espèces.

#### 2.1.3. Matériel et méthodes

#### 2.1.3.1. Matériel

1.1.2 - Matériel du terrain : Appâts de viande, bouteilles en plastique, sable, cages métalliques, etc.

1.1.3 - Matériel du laboratoire : Stéréomicroscopes Carl Zeiss® Stemi 2000-C et Leica® EZ4 HD couplé à des appareils photo numériques.

#### 2.1.3.2. Méthodes

Cette partie a été réalisée en deux étapes ; la première représente l'étude de l'occurrence spatio-temporelle des trois espèces Calliphoridae dans les différentes régions de l'Algérie, la deuxième consiste à étudier la dynamique saisonnière et spatiale de *L. sericata* et *C. vicina* pendant une année dans deux sites différents ; l'un urbain et l'autre forestier.

Les données d'occurrence des espèces étudiées entre 2010 et 2016 en Algérie ont été obtenues à partir :

- des compagnes de piégeage dans différentes régions ;
- des échantillons prélevés sur des cadavres humains lors des enquêtes judiciaires;
- des échantillons prélevés sur des cadavres animaux lors des études de décomposition ;
- des contacts personnels.

Afin d'étudier la dynamique de *L. sericata* et *C. vicina*, des pièges à appâts de viande ont été utilisés. Les pièges ont été installés dans un site urbain à Blida (36°28'47"N 2°48'2"E) dont l'altitude est de 189 m et dans une zone forestière à Bouchaoui (36°76'14" N, 2°89'38" E), situé à une altitude de 86 m. Chaque mois, pendant une période d'un an (entre juin 2015 et mai 2016), trois pièges à viande bovine (illustrés sur la figure 2.2) ont été déposés dans chaque site.



Figure 2.2 : Illustration des pièges à appât confectionnés pour la collecte des mouches (adapté de AÇIKGÖZ et al. [256]).

Des guides standardisés de la collecte et la conservation des insectes ont été utilisés [1][23]. Après 24 heures, les insectes ont été prélevés des pièges. Les adultes ont été tués par les vapeurs d'acétate d'éthyle (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>). Les larves ont été élevées au laboratoire pour confirmer l'identification (la méthode d'élevage est détaillée dans la deuxième partie).

Les spécimens utilisés dans cette étude ont été conservés dans de l'alcool éthylique à 70°. L'identification des espèces échantillonnées a été réalisée au laboratoire d'Entomologie Légale de l'INCC/GN en se basant sur les critères morphologiques et en utilisant des clés dichotomiques [6][53]. Cette identification a été ensuite confirmée au laboratoire de Biologie Forensique/Entomologie Forensique de l'Institut des Sciences Forensiques de l'Université d'Ankara (Turquie).

2.1.4. Analyse des données

Les données obtenues ont été examinées par région et par saison. Les saisons ont été définies comme suit :

- printemps : de mars à mai ;
- été : de juin à août ;
- automne : de septembre à novembre ;
- hiver : de décembre à février.

Les données de température maximale et minimale pendant les périodes d'échantillonnage ont été obtenues de la station météorologique la plus proche du site de la collecte. Les coordonnées des emplacements (longitude et latitude) et les altitudes ont été déterminées à partir du site http://www.mapcoordinates.net/fr.

Les coordonnées géographiques ont été repérées à l'aide du logiciel Global Mapper V15.0. Le logiciel ENVI 4.8 a été utilisé pour le traitement des images. Chaque point représente un site de collecte.

Le test U de Mann-Whitney a été utilisé afin de comparer l'abondance des espèces de l'expérience de collecte d'un an entre les deux sites (urbain et forestier). L'analyse de la correspondance (CA) a été appliquée pour révéler les préférences saisonnières des mouches. Ces tests ont été effectués à un niveau de risque de 5% à l'aide du logiciel XLStat 17.03.

## 2.2. Etude du développement des principales mouches d'intérêt médico-légale

## 2.2.1. Lieu et objectifs de l'étude

Cette partie a été réalisée au laboratoire d'Entomologie Légale de l'INCC/GN entre mars et juin 2016. Les objectifs de cette étude étaient :

- Valider la méthode d'élevage des mouches nécrophages en vue de son utilisation dans le cadre de l'entomologie médico-légale et en asticothérapie;
- étudier le cycle de développement des espèces nécrophages les plus répandues en Algérie au laboratoire à des températures constantes ;
- comparer les budgets thermiques des espèces étudiées avec les données de la littérature.

#### 2.2.2. Matériel et méthodes

#### 2.2.2.1. Matériel utilisé

- Matériel de laboratoire : Voir l'Appendice B.
- Matériel biologique :

Calliphora vicina et Lucilia sericata récoltées dans la région de Bouchaoui (36°76'14" N, 2°89'38" E).

#### 2.2.2.2. Méthodes de travail

#### 2.2.2.2.1. Sur terrain

Des compagnes d'échantillonnage ont été réalisées afin d'obtenir un nombre important d'individus. Les mouches ont été capturées en utilisant des pièges appâtés comme décrit précédemment.

#### 2.2.2.2.2. Au laboratoire

Les méthodes adoptées dans le cadre de cette étude sont celles données par ANDERSON [85], GRASSBERGER et REITER [120][121] et FLORES et al. [257].

#### • Traitement des mouches capturées

Les mouches capturées ont été triées à l'œil nu, puis légèrement éthérisées ou endormies au froid à -4°C pendant dix minutes. Les mouches ont été récupérées est identifiées rapidement à l'aide d'un stéréomicroscope.

#### • Entretient des colonies de mouches au laboratoire

Après la sélection de *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina*, les populations des deux espèces ont été placées séparément dans des cages d'élevage (figure 2.3) à 22°C± 1, 40%± 5 d'humidité relative et 10 heures de photopériodicité. Ces cages mesurent 40x17x20 cm et sont recouvertes avec un tulle pour éviter l'entrée d'autres espèces d'insectes. Dans chaque cage, des boules de coton imbibé d'eau et du sucre ont été placées pour assurer leur alimentation *ad libitum*. Des adultes sauvages de la même espèce ont été ajoutés périodiquement aux colonies afin qu'elles ne s'adaptent pas aux conditions de laboratoire.



Figure 2.3 : Cage utilisée pour maintenir les colonies des mouches au laboratoire (photo originale).

## • Stimulation de la ponte

Quelques femelles ont été transférées dans des boites et élevées à 22°C± 1,40%± 5 d'humidité relative et 10 heures de photopériodicité (figure 2.4).

Pour stimuler la ponte, environ 100 g du foie de volaille a été déposé dans des récipients noirs à l'intérieur des boites fournissant un environnement sombre et humide (figure 2.5), stimulant la femelle pour pondre.

La présence d'amas d'œufs de couleur blanche a été vérifiée toutes les 15 à 30 minutes et le moment de la ponte a été noté.



Figure 2.4 : Boite utilisée pour stimuler la ponte des mouches (photo originale).



Figure 2.5 : *Lucilia sericata* au moment de la ponte sur un substrat de foie de volaille (photo originale).

 Évaluation du cycle de développement des deux espèces choisies sous conditions contrôlées

Cette étude a été réalisée à deux température : 24°C et 27°C, 70% d'humidité relative avec un cycle de lumière : obscurité de 12h:12h. Ces températures ont été choisies vu qu'elles sont souvent utilisées dans l'élevage de ces espèces lors des expertises. Elles sont aussi proches des températures moyennes retrouvées dans les différentes régions en l'Algérie sur les sites de découverte des cadavres.

- Séparation, mensuration pondérale et dénombrement des amas d'œufs : Les œufs ont été recueillis dans les 30 minutes suivant la ponte. Les amas ont été séparés par trempage dans une solution de sulfite de sodium (1%) [120][121], ou bien dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% [258]. Après avoir secoué vigoureusement, les amas d'œufs étaient facilement séparés (figure 2.6).



Figure 2.6 : Séparation des amas d'œufs de Lucilia sericata (photo originale).

- Conduite d'élevage et suivi du cycle de vie des deux espèces étudiées : Pour chaque espèce étudiée, un dispositif d'élevage a été mis en place composé de trois boites contenant 100 œufs. Une couche de 2 cm de sable a été étalée au fond de chacune des boites d'élevage en plastique (25x11x15 cm). Dans chaque boite, une quantité de 150 g de viande bovine crue coupée en tranches d'environ 1 cm d'épaisseur a été placée [120][121]. Un nombre de 100 œufs, placé sur papier filtre humidifié afin d'éviter leur dessiccation, ont été déposés à des endroits différents entre les tranches de viandes afin de maintenir leur humidité. haque boite d'élevage recouverte d'un tulle a été placée dans l'enceinte climatique à deux températures constantes (24 et 27°C), avec un taux d'humidité relative fixé à 65-70% et un cycle de luminosité : obscurité de 12h:12h (figure 2.7).



Figure 2.7 : Les principales étapes utilisées dans la réalisation d'un élevage de *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* au laboratoire (photos originales).
(A) Préparation des boites contenant du sables ; (B) Placement de la tranche de viande et des larves et humidification du contenu de la boite ; (C) Protection de la boite d'élevage et leur placement dans une enceinte climatique ; (D) Enceinte climatique réglée à 24°C et 70 % d'humidité relative.

Une surveillance quotidienne a été assurée pour toutes les boites afin de noter les éclosions des œufs. Lorsque la quasi-totalité des individus ont atteint le stade pupe, nous les avons récupéré, les déposé dans des boîtes propres et les remis dans l'enceinte climatique aux mêmes conditions. Nous avons suivi le développement complet de chaque individu afin de dater leur émergence en mouche imago. C'est l'émergence de l'imago qui va nous être utile pour effectuer nos calculs.

#### 2.2.3. Analyse des données

Le sexe ratio a été calculé. Il s'agit du nombre total des adultes mâles issus de l'élevage par rapport au nombre total des adultes femelles issus du même élevage.

Le pourcentage d'émergence a été calculé par la formule suivante :

% émergence = 
$$\frac{nbre \ adultes}{nbre \ eufs} X 100$$

- % émergence : pourcentage d'émergence
- nbre adultes : nombre des adultes émergés.
- nbre œufs : nombre des œufs mis en élevage.

À la fin de chaque élevage, la somme des températures accumulées par les espèces a été calculée. Les calculs ont été effectués avec la technique des degrés jours accumulées (ADD) [25]. Pour qu'une mouche nécrophage puisse se développer, de l'œuf à l'adulte, il lui faut une somme de températures, spécifique à l'espèce. Lorsque cette somme est accumulée, elle achève son cycle de développement. Cette somme est calculée en additionnant les températures journalières effectives qui sont obtenues de la différence entre la température d'élevage et le seuil minimal de développement. Ainsi, les degrés jours accumulées (ADD) sont calculés en appliquant la formule suivante :

$$ADD = \sum (T^{\circ} - T_{min})$$

T°: moyennes des températures/jour (°C).

T<sub>min</sub>: température minimale nécessaire au développement de l'espèce (°C) (spécifique à l'espèce).

#### 2.3. Etude in vitro du pouvoir antimicrobien des larves de Lucilia sericata

#### 2.3.1. Lieu et objectif de l'étude

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Blida de février à juin 2016. Les objectifs de cette étude visent à :

- tester des différents produits de stérilisation sur les œufs et les larves de Lucilia sericata;
- tester *in vitro* le pouvoir antimicrobien des asticots de *L. sericata* contre des bactéries et des champignons.

## 2.3.2. Matériel et méthodes

- 2.3.2.1. Matériel
- Matériel non biologique : Voir l'Appendice B.
- Matériel biologique :

Espèce de mouche utilisée :

Notre travail s'est basé sur l'utilisation des larves de mouches vertes de l'espèce *Lucilia sericata*. Le choix de cette espèce a été motivé sur le fait qu'elle est largement utilisée en asticothérapie pendant des décennies et sur son abondance en Algérie [259][260].

Espèces de souches microbiennes utilisées :

Des souches bactériennes et fongiques de références ont été utilisées (tableau 2.1). Ces souches ont été choisies sur la base de leur importance et leur fréquence en microbiologie clinique.

Tableau 2.1 : Souches microbiennes de références utilisées dans les tests antibactériens.

| Souches              |                              | Références                              |
|----------------------|------------------------------|---|
| Souches bactériennes | Staphylococcus aureus (MSSA) | ATCC <sup>®</sup> 25923 <sup>™</sup>    |
|                      | Staphylococcus aureus (MRSA) | ATCC <sup>®</sup> BAA-1707 <sup>™</sup> |
|                      | Pseudomonas aeruginosa       | ATCC <sup>®</sup> 27853 <sup>™</sup>    |
|                      | Escherichia coli             | ATCC <sup>®</sup> 25922 <sup>™</sup>    |
|                      | Klebsiella pneumoniae        | ATCC <sup>®</sup> 700603 <sup>™</sup>   |
|                      | Bacillus subtilis            | ATCC <sup>®</sup> 55406 <sup>™</sup>    |
|                      | C. freundii                  | ATCC <sup>®</sup> 8090 <sup>™</sup>     |
| Souches fongiques    | Candida albicans             | ATCC <sup>®</sup> 10231 <sup>™</sup>    |
|                      | Saccharomyces cerevisiae     | ATCC <sup>®</sup> 9763 <sup>™</sup>     |
|                      | Aspergilus niger             | ATCC <sup>®</sup> 6275 <sup>™</sup>     |

## 2.3.2.2. Méthodes

2.3.2.2.1. Trie et identification des mouches

Les adultes de *L. sericata* maintenus dans des cages d'élevage au laboratoire ont été utilisés pour la production des œufs pour la réalisation de cette étude.

#### 2.3.2.2.2. Tests de stérilisation

Les manipulations de cette partie ont été réalisées sous des conditions rigoureuses d'asepsie. La stimulation de la ponte et la séparation des œufs ont été réalisées en utilisant les mêmes méthodes décrites dans la deuxième partie.

Trois solutions antiseptiques ont été utilisées pour la stérilisation dont les substances actives sont :

- L'hypochlorite de sodium (Dakin®) à 0,5%.
- La polyvidone iodée (Bétadine®) à 10%.
- L'hexamidine (Isomédine®) à 0,1%.

#### Stérilisations des œufs

Après leur séparation, les œufs ont été stérilisés en les trompant pendant 2 minutes dans l'une des solutions antiseptiques choisie suivi de l'éthanol 70° pendant 1 minute. Les œufs ont été ensuite rincés à l'eau physiologique stérile. Pour chaque produit, un nombre connu d'œufs a été incubé sur gélose nutritive et sur gélose au sang à 25°C et vérifiées après 24, 48 et 72h.

Parallèlement, trois boites de gélose nutritive et trois boites de gélose au sang ont été utilisées comme témoin.

#### Stérilisation des larves

Le mode de stérilisation des larves était similaire à celui utilisé pour les œufs. Une dizaine de larves (au 2ème ou au début du 3ème stade) ont été déposées sur des boites de gélose au sang et incubées à 25°C. Les boites ont été vérifiées après 24, 48, et 72 heures.

#### 2.3.2.2.3. Tests antibactériens

#### Application directe des larves vivantes sur des colonies bactériennes

Les méthodes utilisées sont celles adoptées par MARGOLIN et GIALANELLA [261]. Après la stérilisation, un nombre constitué de 10 larves a été déposé au milieu des boites contenant des monocultures bactériennes diluées à 10<sup>-3</sup>. La zone d'application des asticots a été couverte par une petite boite Pétri à l'intérieur de la grande boite. Trois réplicas pour chaque bactérie ont été utilisés (figure 2.8).



Figure 2.8 : Méthode d'application des larves de *L. sericata* sur les souches microbiennes (photo originale).

Les boites ont été incubées à 25°C avec trois témoins négatifs (milieux en absence de cultures bactériennes) et trois témoins positifs (milieux en présences de cultures bactériennes) et examinées chaque 24 heures pendant 5 jours pour vérifier le degré de la lyse des cultures bactériennes dans la zone d'application des asticots (au centre de la boite).

#### Viabilité des bactéries ingérées par les asticots

Cette étape a été adoptée à partir de l'étude réalisée par DAESCHLEIN et al. [262]. Après incubation des larves avec les bactéries, elles ont été retirées des boites et tuées par congélation. Elles ont été ensuite stérilisées.

Le tube digestif postérieur a été utilisé pour préparer des suspensions intestinales. La dissection des larves a été faite selon le protocole donné par BOONSRIWONG et al. [263]. Quelques gouttes de PBS ont été ajoutées autour de l'échantillon et la zone de dissection pour éviter la dessiccation. La larve a été disséquée ventralement avec une incision sagittale comme indiquée sur la figure 2.9 pour extraire l'ensemble du tube digestif. Le tube digestif postérieur a été ensuite séparé soigneusement du reste du tube digestif (figure 2.10).

La suspension intestinale a été préparée en ajoutant 50 ml de l'eau distillée stérile à un tube stérile contenant la partie du tube digestif séparée préalablement. Le mélange a été vortexé vigoureusement pendant 3 minutes et 100 µL de la suspension intestinale ont été ensemencés sur la gélose nutritive. Trois boites de

la gélose nutritive ne contenant aucune croissance bactérienne ont été utilisées comme des témoins. Après une incubation de 24 heures à 37°C, toute croissance bactérienne a été vérifiée.



Figure 2.9 : Extraction du tube digestif de la larve de *Lucilia sericata* (photo originale).



Figure 2.10 : Canal alimentaire du 3ème stade larvaire de *Chrysomya megacephala* [263].

C, Estomac ; Ca, Cœur ; E, Œsophage; GC, Cæca gastriques; HG, Intestin antérieur ; M, Bouche ; MG, Mésentéron ; MT, tubes de Malpighi; SG, Glande salivaire.

La ligne 1 délimite les frontières entre l'intestin antérieur (en haut à gauche) et le mésentéron (en bas à droite).

La ligne 2 délimite les frontières entre l'intestin moyen (en bas à gauche) et l'intestin postérieur (plus haut).

#### 2.3.2.2.4. Tests antifongiques

Ces tests ont été appliqués en utilisant des méthodes adoptées par ALNAIMAT et al. [206].

#### Application directe des larves vivantes sur les champignons

Un groupe de dix larves a été transféré sur des milieux Sabouraud inoculés avec l'une des trois souches fongiques utilisées : *Saccharomyces cerevisiae, Candida albicans et Aspergillus niger*. Trois réplicas ont été utilisés pour chaque souche. Trois boites ne contenant aucune croissance microbiennes constituent les témoins.

#### Viabilité du champignon ingéré

Après incubation pendant 24 heures à 25°C, les larves ont été stérilisées. Le tube digestif de chaque larve a été recueilli avec la méthode décrite précédemment pour vérifier la viabilité des champignons ingérés. La suspension intestinale a été ensemencée sur le milieu Sabouraud. Trois témoins négatifs ont été également incubés. Après une incubation de deux semaines à 25 °C, la présence des champignons a été vérifiée.

#### 2.3.3. Analyse des données

Le taux de mortalité observé a été calculé en utilisant la formule suivante :

Taux de mortalité =  $\frac{nombre \ des \ individus \ morts}{nombre \ total \ des \ individus} \ x \ 100$ 

Le taux de mortalité observé a été corrigé lorsque sa valeur était comprise entre 5 et 20%. La formule d'ABBOTT [264] a été proposée pour corriger les données de bio-essais selon la réponse des témoins. Pour cela, nous avons appliqué cette formule afin d'obtenir un pourcentage de mortalité corrigé selon celui des témoins. La formule d'ABBOTT [264] est la suivante :

% de mortalité corrigée =  $\frac{\% \text{ mortalité observée} - \% \text{ mortalité des témoins}}{100 - \% \text{ mortalité des témoins}} x 100$ 

- 2.4. Etude de décomposition des cadavres animaux dans un milieu ouvert sous conditions particulières
- 2.4.1. Lieu et objectifs de l'étude

Ce travail a été réalisé dans la station expérimentale de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) de l'Université de Blida 1 entre avril et mai 2016.

Les objectifs visés dans cette partie sont :

- examiner la vitesse de décomposition et la faune cadavérique d'un groupe des cadavres des lapins emballés dans des sacs plastiques transparentes, un autre groupe qui a subit un traitement ante-mortem des doses connues d'alcool et un groupe des témoins (non manipulés);
- enregistrer les insectes impliqués dans la colonisation primaire et les arthropodes présents à des différents stades de décomposition ;
- comparer l'abondance et l'occurrence des arthropodes entre les groupes des cadavres ;
- analyser l'alcool présent dans les larves prélevées des cadavres traités et les comparer avec les larves des témoins.

## 2.4.2. Description du site de l'étude

Le site de l'étude était un champ ouvert situé dans un habitat semi-urbain composé d'un sol sec et de graminées diverses. Les coordonnées du site sont 36°30'16.994" N, 2°52'21,629" E et l'altitude moyenne est de 188 m au dessus du niveau de la mer (figure 2.11).

Selon l'Office Nationale de la Météorologie, le climat de la région est subméditerranéen, la température moyenne annuelle est d'environ 17,6°C et les précipitations annuelles sont de 415 mm, avec une saison estivale sèche.



Figure 2.11 : Localisation géographique du site de l'étude (Google Earth).

## 2.4.3. Période de l'étude

L'étude a été menée au printemps (entre avril et mai 2016) afin d'éviter les facteurs météorologiques qui pourraient affecter la colonisation des cadavres. Cette période est généralement chaude et favorable à l'activité des insectes.

#### 2.4.4. Matériel et méthodes

#### 2.4.4.1. Matériel

Pour réaliser nos différentes expérimentations, nous avons utilisé un matériel de terrain et un autre de laboratoire (Appendice B).

Le Matériel biologique était constitué de 18 lapins mâles adultes d'*Oryctolagus cuniculus* (Linnæus, 1758).

## 2.4.4.2. Méthodes de travail

Une simulation de deux cas de décès a été faite le 21/04/2016 en utilisant des lapins (*Oryctolagus cuniculus* L.). Ces animaux ont été choisis car ils sont assez grands pour mener à bien notre travail et pour attirer un cortège considérable d'insectes. Douze cadavres de lapins domestiques vivants pesant 2,5±0,42 kg ont été utilisées au cours de cette étude. Les animaux ont été euthanasiés à l'aide d'une méthode de commotion cérébrale. Cela a impliqué de frapper l'arrière de la tête qui a causé directement une perte de conscience instantanée. Par choc physique au cerveau, la mort est survenue immédiatement. Si elle est effectuée correctement, cette méthode est considérée plus humaine que les méthodes chimiques [265][266].

Les cadavres ont été placés après quinze à trente minutes. Six individus ont été mis dans des sacs plastiques transparents afin d'observer la décomposition sans interférer avec l'expérience. Les sacs n'étaient pas bien fermés car, dans la plupart des cas, on ne les trouve pas fermés. Un autre groupe est composé également de six individus qui ont subis une ingestion ante-mortem des doses connues de l'éthanol. Un troisième groupe de six lapins a servi de témoin.

#### 2.4.4.2.1. Ingestion de l'alcool aux lapins

Cette expérimentation consiste à administrer à six lapins des doses de l'éthanol par vois orale (tableau 2.2). Un volume déterminé d'une boisson alcoolisée (vodka à 40°) a été administré par gavage à l'aide d'une sonde pour obtenir un taux d'alcoolémie qui dépasse les limites légales autorisées (0,2 g/L en Algérie, 0,5 g/L en Europe et 0,8 à 1 g/L aux Etats Unis) (figure 2.12). Après 30 minutes, une prise de sang a été réalisée par un docteur vétérinaire qualifié (figure 2.13). Le prélèvement de sang a été effectué a partir des veines marginales des oreilles de chaque lapin afin de mesurer le taux de l'alcool. Après la prise de sang, les individus ont été sacrifiés.

| Lapin | Le poids (kg) | Volume administré (mL) |
|-------|---------------|------------------------|
| 1     | 1,495         | 1,13                   |
| 2     | 1,592         | 1,15                   |
| 3     | 1,868         | 1,80                   |
| 4     | 1,811         | 1,79                   |
| 5     | 1,581         | 1,16                   |
| 6     | 1,673         | 0,18                   |

Tableau 2.2 : Les poids des lapins et les doses d'alcool ingérées.



Figure 2.12 : Gavage de l'alcool aux lapins (photo originale).



Figure 2.13 : Prélèvement du sang (photo originale).

## 2.4.4.2.2. Principe de l'expérience

Le principe de l'expérience consiste à déposer les cadavres sur le sol séparés d'une distance de minimum 50 m et protégé par des cages métalliques (150x70x60 cm) dont les mailles laissent passer les insectes. Cela a empêché la perturbation par des animaux vertébrés, mais a permis la colonisation des arthropodes. Un piège de Shannon modifié a été utilisé pour capturer les insectes volants. Ce piège a été déposé sur chaque cadavre à l'intérieur de chaque cage (Figure 2.14). Des pots Barber ont été placés autour de chaque cadavre pour collecter les insectes rampants.



Figure 2.14 : Emplacement du cadavre dans le piège protégé par une cage métallique (photo originale).

#### 2.4.4.2.3. Pièges utilisés

#### Piège de Shannon modifié

Le piège consistait en un cadre métallique de 60x30x20 cm recouvert d'un tulle et entouré de plusieurs trous coniques. Un maillage de 1,2x1,2 mm était suffisamment grand pour permettre la circulation de l'air et l'insolation. Au toit du piège, un trou circulaire a été effectué pour placer et tenir une chambre de collecte. Celle-ci est composée d'une bouteille en plastique translucide de 2 L de contenance coupée en deux moitiés dont la partie supérieure est inversée à l'intérieur de la partie inférieure (figure 2.15). Par conséquent, les insectes qui volaient vers le haut se dirigeaient vers la chambre où ils étaient pris au piège.

#### Piège Barber

Un nombre de quatre pots Barber d'un diamètre de 10 cm et d'une hauteur de 15 cm ont été placés autour de chaque cage. Ces pièges ont été remplis d'eau et d'un détergent (figure 2.16).



Figure 2.15 : Piège de Shannon modifié (photo originale).



Figure 2.16 : Piège Barber (photo originale).

## 2.4.4.2.4. Observations et prélèvement des échantillons entomologiques

L'inspection des cadavres a été faite quotidiennement à la même heure de la journée entre 8h et 17h par au moins deux observateurs jusqu'à la fin du processus de décomposition. L'examen de chaque cadavre a duré environ 10 minutes. L'état des cadavres a été photographié et noté. Des directives standardisées de collecte des insectes ont été suivies [1][23]. Les échantillons ont été collectés en retirant la chambre de collecte du piège. De plus, les stades immatures et les arthropodes rampants ont été collectés manuellement autour et au-dessous des cadavres et à partir des pièges Barber. Les spécimens recueillis ont été immédiatement tués à l'aide des vapeurs d'acétate d'éthyle  $(C_4H_8O_2)$  et placés dans de l'alcool à 70°.

Les larves ont été prélevées délicatement à l'aide d'une pince et réparties en deux groupes ; un groupe destiné à l'analyse toxicologique et l'autre à l'élevage. Les sujets destinés pour l'élevage doivent être maintenues vivantes à sec (flacon à couvercle percé). Les larves utilisées pour les analyses toxicologiques ont été tuées avec de l'eau chaude (80-85°C) et conservées dans des tubes fermés hermétiquement à -20°C jusqu'à l'analyse.

Le sol autour et au-dessous de chaque cadavre a été échantillonné pour récupérer le matériel entomologique. La température autour des cadavres a été enregistrée plusieurs fois par jour à l'aide d'un enregistreur de données (Testo® modèle 174T).

#### 2.4.4.2.5. Elevage des larves

La même méthode d'élevage des larves décrite précédemment (dans la deuxième partie) a été utilisée pour obtenir des adultes à partir des échantillons des larves maintenues vivantes.

#### 2.4.4.2.6. Identification des insectes

Chaque spécimen a été identifié morphologiquement par au moins trois spécialistes à l'aide des stéréomicroscopes Carl Zeiss® Stemi 2000-C et Leica® EZ4 HD couplés à des appareils photo numériques. L'identification morphologique a été faite en utilisant des clés dichotomiques [6][40][53][88][94][267]–[271] et des collections de référence.

La confirmation de l'identification morphologique des espèces de Diptères d'importance médico-légale a été réalisée soit par une identification moléculaire (familles des Calliphoridae, Sarcophagidae et Piophilidae) ou par un taxonomiste spécialiste des familles des Fanniidae et Muscidae (Professeur Adrian Pont, Université d'Oxford, Angleterre).

#### 2.4.5. <u>Analyse des données</u>

La Richesse spécifique S et l'abondance relative (AR%) ont été calculées. L'abondance et la richesse de chaque stade de décomposition ont été également calculées.

Le test de la somme des rangs de Wilcoxon (appelé également test Mann-Whitney) avec correction de la continuité a été utilisé pour tester les différences dans le taux de décomposition entre les groupes des cadavres et pour évaluer l'effet de l'emballage ou de l'éthanol sur l'abondance des espèces. Le test du khi carré de Pearson a été réalisé pour tester la différence dans la composition des espèces capturées entre les groupes des cadavres. Ces tests ont été réalisés au niveau de risque de 5% en utilisant le logiciel statistique SPSS 16.0.

#### 2.4.6. Analyse toxicologique

L'analyse de l'éthanol a été réalisée au Laboratoire d'Alcool du Département de Toxicologie de l'INCC/GN par HS-GC-FID : chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à l'extraction en espace de tête (Head Space) avec une détection à ionisation de flamme (FID). Le dosage des composés par analyse quantitative a été mis en œuvre avec la technique d'étalonnage interne. Pour ce faire, une quantité connue d'un étalon interne EI (solution d'acétonitrile 1000  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>) a été ajoutée à l'échantillon au début du protocole analytique. La procédure analytique développée consiste en extraction de l'éthanol de l'échantillon analysé et son enrichissement dans le flacon de l'espace de tête contenant l'échantillon. Ensuite, l'extrait est injecté automatiquement dans la colonne au moyen d'une ligne de transfert afin d'être analysé par HSGC-FID.

Le dosage de l'alcool dans le sang a été réalisé en ajoutant 100  $\mu$ L de l'étalon interne à 100  $\mu$ L du sang. Pour déterminer les concentrations d'éthanol dans les larves, deux grammes de larves de chaque cadavre y compris les témoins ont été pesés rapidement et placés dans des viols où elles étaient broyées avec 6 mL d'eau distillée pour former une solution aqueuse. Ensuite, 5 mL de l'étalon interne a été ajouté aux échantillons des larves.

## 2.5. Entomogénétique

## 2.5.1. Lieu et objectifs de l'étude

Cette partie a été réalisée au Laboratoire de Biologie Forensique/Entomologie Forensique de l'Institut des Sciences Forensique d'Université d'Ankara (Turquie) entre juin 2017 et mai 2018. L'objectif de cette étude était de :

 Séquencer l'ADN des espèces de Diptères d'importance médico-légale collectées en Algérie durant nos expériences afin de confirmer leur identification morphologique et identifier les espèces non déterminées.

## 2.5.2. Matériel et méthodes

## 2.5.2.1. Matériel

- Matériel non biologique : Voir l'Appendice B.
- Matériel biologique :

Des mouches prélevées et conservées dans de l'alcool à 70° lors de nos études de décomposition ont été utilisées. Un nombre de 65 spécimens appartenant aux familles suivantes : Calliphoridae, Sarcophagidae et Piophilidae ont été sélectionnées. Le choix de ces familles a été basé sur leur importance médico-légale vu leur colonisation et développement sur les cadavres humains [1].

## 2.5.2.2. Méthodes du travail

Les étapes utilisées pour réaliser notre étude sont résumées sur la figure 2.


Figure 2.17 : Les différentes étapes utilisées pour l'identification moléculaire des mouches (photos originales).

#### 2.5.2.2.1. Extraction de l'ADN

L'ADN a été extrait de deux pattes des Calliphoridae. Pour les grands spécimens des Sarcophagidae une seule patte a été utilisée. Pour les petits spécimens (Piophilidae), l'individu entier a été utilisé. Le reste du spécimen a été conservé pour un réexamen morphologique, si nécessaire.

Les échantillons conservés dans l'éthanol ont été rincés avec de l'eau déionisée, en laissant reposer 10 minutes. Après avoir terminé le rinçage, l'eau a été retirée. Chaque spécimen a été stérilisé par la suite avec de l'éthanol à 70°, puis laissé sécher à l'air sur un papier filtre pour éliminer l'éthanol.

Les échantillons ont été homogénéisés manuellement en utilisant des pilons en plastique jetables dans un tube Ependorff de 1,5 mL avec l'azote liquide pour éliminer l'excès de l'éthanol et libérer le tissu de l'exosquelette. Après le broyage, l'ADN a été extrait à l'aide du kit DNeasy® Blood and Tissue (Qiagen, Allemagne), en suivant le protocole du fabricant, avec une incubation d'une nuit.

Pour augmenter la concentration finale de l'ADN, une élution avec 50  $\mu$ L (au lieu de 200  $\mu$ L) a été réalisée. Pour un rendement maximum d'ADN, deux élutions indépendantes ont été réalisées. Les échantillons de l'ADN ont été conservés à +4°C jusqu'à la PCR.

#### 2.5.2.2.2. Quantification et analyse des échantillons de l'ADN extraits

Afin de pouvoir optimiser la PCR, la pureté de l'ADN extrait et sa concentration ont été mesurées par un spectrophotomètre NanoDrop® ND-1000A. Cet appareil permet la réalisation d'un spectre de fluorescence UV entre 220 et 350 nm en utilisant une quantité très faible d'échantillon (1 à 2  $\mu$ L). L'analyse du résultat permet d'apprécier la contamination de l'échantillon due à des problèmes d'extraction (contamination par des protéines, des sels, de l'ADN ou du phénol) ainsi que la concentration de l'ADN. Les ratios 260/280 et 260/230 permettent d'évaluer la qualité des échantillons [272].

# 2.5.2.2.3. Amplification par PCR

# • Les amorces oligonucléotidiques

La région codante pour la COI d'une longueur de 473 pb a été amplifiée en utilisant la paire d'amorces décrites par SIMON et al. [273] (tableau 2.3). Ces amorces ont été synthétisées par l'entreprise Sentegen Biotech (Ankara, Turquie). Le choix de ces amorces était basée sur le fait qu'elles soient universelles utilisées avec succès pour le séquençage des insectes.

Tableau 2.3 : Amorces choisies pour l'amplification de la région du gène de la COI.

| Code      | Туре      | Site | Séquence de l'amorce<br>oligonuclotidique 5'3' | Référence |
|-----------|-----------|------|--|-----------|
| C1-J-1718 | Sens      | COI  | GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC                     | [273]     |
| C1-N-2191 | Anti-sens | COI  | CCCGGTAAAATTAAAATATAAACTTC                     | [273]     |

# • Mise en place d'un mélange réactionnel

La composition du mélange réactionnel de la PCR de 20 µL avec la concentration et le volume de chaque composant est détaillée dans le tableau 2.4. Afin de déceler une éventuelle contamination, un témoin négatif a été ajouté dans chaque réaction PCR.

| Tableau 2.4 : Com | position du | mélange | réactionnel | de la | PCR. |
|-------------------|-------------|---------|-------------|-------|------|
|                   |             |         |             |       |      |

|   | Concentration | Volume (µL) |
|---|---------------|-------------|
| Tampon Taq de reaction 10X AmpOne® (GeneAll, Corée) | 1X            | 3           |
| dNTPs (GeneAll, Corée)                              | 2,5 µM        | 2           |
| amorce sens   | 10 µM         | 1           |
| amorce antisens                                     | 10 µM         | 1           |
| Taq polymérase AmpOne® (GeneAll, Corée)             | 2.5 U         | 0,5         |
| Matrice d'ADN                                       | -             | 5           |
| Eau de qualité PCR                                  | -             | 7,5         |
| Total   | 1X            | 20          |

# • Programme de la PCR

Les cycles des températures de la PCR ont été réalisés dans un thermocycleur ProFlex<sup>™</sup> 3x32-well PCR System (ThermoFisher, USA). Le programme consistait en une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivie de 35 cycles de 95°C pendant 35 secondes, 54°C pendant 35 secondes et 72°C pendant 40 secondes. Le dernier cycle a été suivi de 5

minutes à 72°C pour compléter tous les brins partiellement synthétisés. A la fin de la réaction, la température du bloc s'abaisse et se stabilise à 4°C pour refroidir les échantillons qui sont maintenus à cette température.

#### • Electrophorèse sur gel d'agarose

- Préparation du gel d'agarose : Le gel d'agarose permet de suivre la migration des fragments d'ADN en fonction de leur taille et en milieu non dénaturant. Pour préparer un gel d'agarose à 1%, le tampon TBE (Tris Borate EDTA) a été mélangé avec l'agarose à raison de 0,6 g d'agarose (NZYTech, Portugal) pour 60 mL de tampon TBE 1X (NZYTech, Portugal). L'ensemble a été fondu au four micro-ondes et refroidi partiellement jusqu'à environ 60°C. Une quantité de 1 μL GelRed® (Biotium, USA) a été ajouté au mélange afin de colorer le gel. Ce dernier a été versé dans le bac de coulée du gel où deux peignes à 16 dents ont été préalablement placés pour créer les puits de migration. Après solidification complète du gel, les peignes ont été enlevés et ce dernier est ainsi prêt pour l'électrophorèse.

- Dépôt des amplifiâts : Le gel ainsi solidifié a été placé à l'intérieur d'une cuve d'électrophorèse et recouvert de tampon TBE 1X. Dans chaque puits, 5 μL du produit de la PCR (amplifiâts), préalablement mélangés avec 2 μL de colorant de charge d'ADN 6X (ThermoFisher Scientific<sup>™</sup>, USA), a été déposé. Parallèlement, 3 μL d'un marqueur de poids moléculaire 1Kb, de 100 pb à 12000 bp (Invitrogen 1 Kb plus DNA ladder) (ThermoFisher Scientific<sup>™</sup>, USA) a été déposé sur le gel pour vérifier la taille attendue de l'ADN amplifié. Enfin, l'allumage de l'appareil d'électrophorèse (Life Technologies, USA) a permis de mettre en migration pendant 30 minutes et à 100 V, les amplifiâts déposés sur le gel.

- Migration de l'ADN et visualisation des bandes : Après le temps de migration fixé, le gel a été retiré de la cuve d'électrophorèse, puis déposé sur un appareil de lumière ultraviolette (Transilluminateur Alpha Innotech ou UVIblue) pour la visualisation. Après cette visualisation et la prise d'images, les amplifiâts dont la bande n'était pas claire ou absente ont été refaits en optimisant les conditions de la PCR. Une quantité de la matrice d'ADN de 7 μL au lieu de 5 μL a été utilisé.

# 2.5.2.2.4. Séquençage de l'ADN

- Purification de l'ADN : La purification de l'ADN amplifié a été réalisée à partir des bandes du gel coupés en utilisant le Kit de purification GeneAll Gel SV (GeneAll, Corée) ou à partir des produits de la PCR qui ont été purifiés avec le kit de purification AMPure XP (Beckman Coulter, USA), selon les instructions du fabricant. L'ADN purifié a été conservé à +4°C.
- Séquençage par la méthode de Sanger : Cette méthode fait intervenir une étape de dénaturation des deux brins, une hybridation avec une amorce marquée radioactivement et une élongation par une ADN polymérase en présence de didésoxyribonucléosides triphosphate (ddNTP) [274]. Des séquenceurs automatiques de l'ADN existent sur le marché. Ils sont capables d'effectuer l'électrophorèse et de déterminer directement la séquence nucléotidique par une lecture d'un ou de plusieurs fluorochromes.
- Réaction PCR : L'ADN de chaque échantillon a été séquencé en utilisant les mêmes amorces utilisées dans l'amplification. Les réactions de séquençage ont été réalisées sur des produits de PCR purifiés avec le kit de séquençage BigDye® Terminator v3.1 (ThermoFisher Science<sup>™</sup>, USA), en utilisant un thermocycleur Bio-RAD T100. Les composants réactionnels avec leurs concentrations et volumes sont présentés sur le tableau 2.5.

| Tableau 2.5 : Composition du mélange réactionnel de la PCR destir | née au |
|---|--------|
| séquençage.   |        |

| Composant                                  | Concentration | Volume (µL) |
|--|---------------|-------------|
| BigDye® Terminator v3.1 Ready Reaction Mix | 2,5X          | 0,5         |
| Tampon de séquençage BigDye                | 5X            | 2           |
| Eau déionisée exempte de nucléase          | -             | 10          |
| Amorce                                     | 3,2 pmol      | 0,5         |
| Matrice d'ADN                              | -             | 2           |
| Total                                      | 1X            | 15          |

- Programme du thermocycleur : Les conditions des réactions de séquençage consistent en une étape de dénaturation initiale à 96°C pendant 1 minute, suivie de 25 cycles de 10 secondes à 96°C, 25 secondes à 50°C et 4 minutes à 60°C.
- Purification des produits de la PCR : Le kit de purification de séquençage d'ADN Clean-up Kit<sup>TM</sup> (Zymo Research Corp.) a été utilisé selon les

instructions du fabricant pour purifier le produit de la PCR destiné au séquençage.

 Séquençage de l'ADN des produits purifiés : Les produits purifiés ont ensuite été analysés en utilisant un séquenceur automatique ABI 3130 (Applied Biosystem, USA).

# 2.5.3. Analyse bioinformatique des séquences

La forme FASTA des séquences obtenues et leurs chromatogrammes ont été visualisés à l'aide du logiciel SnapGene 4.1.

Afin de confirmer l'identification des espèces et identifier les espèces non déterminées, les séquences obtenues ont été comparées aux séquences de référence déposées dans la base de données en ligne GenBank à l'aide de l'outil nBLAST.

L'histoire évolutif a été déduit en utilisant la méthode Neighbor-Joining [275]. Les séquences des mouches Algériennes ont été comparées de manière interspécifique et intra-spécifique à des séquences conspécifiques provenant d'autres pays construisant un arbre phylogénétique.

Les analyses évolutives ont été menées à l'aide du logiciel MEGA7 [276]. Les alignements ont été préparés avec MUSCLE [277] en utilisant les paramètres par défaut. Les distances évolutives ont été calculées en utilisant la méthode de Kimura à 2 paramètres [278] et sont exprimées en unités du nombre de substitutions de bases par site.

# CHAPITRE 3 RESULTATS

# 3.1. <u>Distribution de Lucilia sericata, Calliphora vicina et Chrysomya albiceps en</u> Algérie

### 3.1.1. Occurrence spatio-temporelle

Les données de l'occurrence selon la date de collecte, l'emplacement, les coordonnées géographiques, l'altitude, les températures minimales et maximales, le type d'habitat, le type du cadavre et la zone bioclimatique sont présentées dans les tableaux 1, 2 et 3 de l'Appendice C.

*L. sericata* a été identifiée à partir de 25 localités (figure 3.1). Nos résultats montrent que *L. sericata* se rencontre à des températures intermédiaires à élevées. Cette espèce est largement répandue dans toute l'Algérie dans les zones bioclimatiques humides, subhumides, semi-arides et sahariennes.

*Calliphora vicina* a été enregistrée dans 25 endroits (figure 3.1). Nous remarquons que cette espèce préfère les températures intermédiaires à froides. D'après nos données, *C. vicina* est présent dans les zones bioclimatiques humides, subhumides, semi-arides et sahariennes.

Quant à *Chrysomya albiceps*, nos résultats montrent qu'elle est présente dans 21 sites (figure 3.1). Nous remarquons qu'elle préfère les températures intermédiaires à chaudes. Elle a été enregistrée dans les régions climatiques humides, subhumides et semi-arides.



Figure 3.1 : Occurrence de *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* et *Chrysomya albiceps* en Algérie entre 2010 et 2016 selon des données de présence seulement.

### 3.1.2. Occurrence selon le type de l'habitat

La plupart de nos emplacements signalés avaient des gradients faibles et moyens sauf la zone montagneuse de Tikjda dont l'altitude est de 1561 m où *L. sericata* a été identifiée. Nos résultats montrent que *L. sericata*, *C. vicina* et *Ch. albiceps* étaient présentes dans des types d'habitats variés (tableau 1, Appendice C).

# 3.1.3. <u>Distribution saisonnière de *L. sericata* et *C. vicina* dans deux habitats <u>différents</u></u>

Les résultats d'abondance saisonnière de *L. sericata* et *C. vicina* dans une zone urbaine et une autre forestière sont présentés dans les tableaux 3.1 et 3.2. Les résultats du test U de Mann-Whitney ne montrent pas de différence significative à un niveau de risque de 5% entre le nombre de *L. sericata* (U=299,348, p=0.435) et *C. vicina* (U=259,957, p=1.000) piégées dans ces deux habitas. Les résultats de l'analyse de la correspondance révèlent que *L. sericata* avait une préférence pour le printemps, suivie de l'automne et l'été, tandis que *C. vicina* préfère l'hiver (figure 3.2).

| Tableau 3.  | 1:  | Abondance    | de  | Lucilia  | sericata | et  | Calliphora  | vicina | à | Blida | (site |
|-------------|-----|--------------|-----|----------|----------|-----|-------------|--------|---|-------|-------|
| urbain) sur | des | s pièges à a | opâ | ts entre | juin 201 | 5 e | et mai 2016 |        |   |       |       |

| Date           | L.<br>sericata | C.<br>vicina | Températures mensuelles<br>maximales moyennes<br>(°C) | Températures<br>mensuelles minimales<br>moyennes (°C) |
|----------------|----------------|--------------|---|---|
| Juin 2015      | 75             | 0            | 36  | 25  |
| Juillet 2015   | 65             | 0            | 35  | 28  |
| Août 2015      | 59             | 0            | 31  | 26  |
| Septembre 2015 | 62             | 0            | 31  | 24  |
| Octobre 2015   | 54             | 14           | 26  | 19  |
| Novembre 2015  | 41             | 11           | 27  | 18  |
| Décembre 2015  | 23             | 16           | 23  | 15  |
| Janvier 2016   | 19             | 11           | 23  | 12  |
| Février 2016   | 46             | 0            | 26  | 13  |
| Mars 2016      | 29             | 0            | 20  | 10  |
| Avril 2016     | 31             | 0            | 22  | 12  |
| Mai 2016       | 22             | 12           | 22  | 14  |

| Date           | L.<br>sericata | C.<br>vicina | Températures mensuelles<br>maximales moyennes (°C) | Températures mensuelles minimales moyennes (°C) |
|----------------|----------------|--------------|--|---|
| Juin 2015      | 88             | 0            | 30   | 24  |
| Juillet 2015   | 71             | 0            | 35   | 28  |
| Août 2015      | 55             | 0            | 35   | 27  |
| Septembre 2015 | 52             | 0            | 34   | 23  |
| Octobre 2015   | 41             | 0            | 25   | 18  |
| Novembre 2015  | 19             | 11           | 24   | 13  |
| Décembre 2015  | 22             | 16           | 24   | 8   |
| Janvier 2016   | 20             | 11           | 22   | 10  |
| Février 2016   | 18             | 0            | 22   | 7   |
| Mars 2016      | 33             | 0            | 15   | 4   |
| Avril 2016     | 18             | 15           | 20   | 9   |
| Mai 2016       | 45             | 11           | 26   | 14  |

Tableau 3.2 : Abondance de *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* à Bouchaoui (site forestier) sur des pièges à appâts entre juin 2015 et mai 2016.







Figure 3.2 : Analyse de la correspondance de *L. sericata* et *C. vicina* et les saisons du site urbain et forestier.

Les figures 3.3 et 3.4 montrent les effectifs mensuels de *L. sericata* et de *C. vicina* piégés et les températures moyennes mensuelles enregistrées des sites urbains et forestiers. Nous remarquons que *L. sericata* était distribuée tout au long de l'année avec une abondance plus remarquable durant les mois d'été alors que *C. vicina* était présente d'une façon générale durant les mois tièdes et les mois froids (Figures 3.3 et 3.4).



Figure 3.3 : Evolution mensuel des effectifs (histogramme) de *L. sericata* et*C. vicina* piégés à Blida (site urbain) en fonction des températures moyennes mensuelles (courbe) entre mai 2015 et juin 2016.





- 3.2. Etude du cycle de développement des principales mouches d'intérêt médico-légale
- 3.2.1. <u>Suivie du cycle de développement de *Lucilia sericata* en conditions contrôlées</u>
- 3.2.1.1. Estimation de la fécondité des populations de *Lucilia sericata* capturées Une estimation de la fécondité des femelles de *L. sericata* a été réalisée

à 22°C (température ambiante) par le dénombrement et la pesé d'œufs de chaque amas pondu. Les résultats sont confinés dans le tableau 3.3.

| Ponte   | Mensuration pondérale (mg) | Nombre d'œufs |
|---------|----------------------------|---------------|
| 1       | 38                         | 243           |
| 2       | 33                         | 219           |
| 3       | 35                         | 233           |
| 4       | 39                         | 258           |
| 5       | 37                         | 241           |
| 6       | 35                         | 222           |
| Moyenne | 36,16±2                    | 236±14        |

Tableau 3.3 : Évaluation des poids et dénombrement des œufs pondus.

Après l'accouplement, les femelles de *L. sericata* nous ont donné des amas d'œufs dont le poids varie entre 33 et 39 mg avec un nombre d'œufs oscillant entre 219 et 258 œufs. D'après ces résultats, nous constatons que le nombre d'œufs pendus est proportionnel à la taille des amas d'œufs ; plus le poids est grand plus le nombre d'œufs est élevé.

# 3.2.1.2. Estimation de la durée du cycle de développement de Lucilia sericata

Un nombre de 100 œufs de *Lucilia sericata* a été placé dans trois boites différentes constituant les répétitions. Les résultats du suivi des élevages des œufs de *Lucilia sericata* à 24°C sont montrés dans les tableaux 3.4 et 3.5.

Tableau 3.4 : Résultats d'élevage de *Lucilia sericata* à 24°C, 70% humidité relative et 12h : 12h de photopériodicité.

| Boite | Œuf    |         | Adulte  |         |     |
|-------|--------|---------|---------|---------|-----|
|       | Jour 1 | Jour 16 | Jour 17 | Jour 18 |     |
| 1     | 100    | 3       | 74      | 5       | 82  |
| 2     | 100    | 2       | 76      | 6       | 84  |
| 3     | 100    | 2       | 80      | 6       | 88  |
| Total | 300    | 7       | 230     | 2       | 254 |

Tableau 3.5 : Résultats d'élevage de *Lucilia sericata* à 27°C, 70% humidité relative et 12h : 12h de photopériodicité.

| Boite | Œuf    | Adult   | Tatal   |       |
|-------|--------|---------|---------|-------|
|       | Jour 1 | Jour 12 | Jour 13 | Iotai |
| 1     | 100    | 80      | 5       | 85    |
| 2     | 100    | 82      | 2       | 84    |
| 3     | 100    | 78      | 3       | 81    |
| Total | 300    | 240     | 10      | 250   |

À 24°C, les émergences ont débuté le 16ème jour donnant 7 adultes. Le maximum d'émergence a été obtenu le 17ème jour avec 230 individus. Le 18ème jour, seulement deux adultes ont émergé, soit un total de 254 individus sur 300 œufs prélevés, ce qui représente un taux d'émergence de 84,67% sur l'ensemble. À 27°C, les émergences ont débuté précocement, le 12ème jour avec 240 adultes et le 13ème jour avec 10 individus. Au total, nous observons l'émergence de 250 individus sur 300 œufs incubés, ce qui représente un taux d'émergence de 250 individus sur 300 œufs incubés, ce qui représente un taux d'émergence de 83,33% de *Lucilia sericata*.

# 3.2.1.3. Estimation des températures moyennes journalières (ADD) de Lucilia sericata

Les feuilles de calcul des sommes des températures cumulées de l'œuf à l'émergence des adultes de *Lucilia sericata* par la méthode ADD sont représentées en détail dans le tableau 4 de l'Appendice D. Les résultats des températures accumulées par *L. sericata* à 24 et 27°C ainsi que le pourcentage d'émergence des individus et leur sexe ratio sont montrés dans le tableau 3.6. À 24°C, *L. sericata* a accumulé des sommes d'ADD moyennes de 210±15°C avec un seuil de développement de 9°C. À 27°C, 207±12,73°C ont été accumulée par *L. sericata* pour achever son cycle de développement en retenant un seuil minimal de développement de 9°C. À partir des élevages de *L. sericata* à 24 et 27°C, il ressort que dans la première expérience il y a eu 84,67% d'émergences avec un sexe ratio de 0,97 avec une tendance à être biaisé en faveur des femelles. Cependant dans la deuxième expérience, il y a eu 83,33% d'émergences des imagos dont le sexe ratio était 2,88 en faveur des mâles.

Tableau 3.6 : Résultats de l'élevage de *L. sericata* élevée à des températures constantes.

| Température (°C) | Œuf-adulte (°C) | Pourcentage<br>d'émergence (%) | Sexe<br>ratio |  |
|------------------|-----------------|--------------------------------|---------------|--|
| 24               | 210±15          | 84,67                          | 0,97          |  |
| 27               | 207±12,73       | 83,33                          | 2,88          |  |

- 3.2.2. <u>Suivie du cycle de développement de Calliphora vicina en conditions</u> <u>contrôlées</u>
- 3.2.2.1. Estimation de la fécondité des populations de Calliphora vicina capturées

Une estimation de la fécondité des femelles de *Calliphora vicina* a été réalisée par le dénombrement et la pesé des œufs de chaque amas d'œufs pondus. Les résultats sont montrés dans le tableau 3.7.

| Numéro de ponte | mesures pondérales (mg) | nombre d'œufs |
|-----------------|-------------------------|---------------|
| 1               | 35                      | 204           |
| 2               | 40                      | 291           |
| 3               | 36                      | 220           |
| 4               | 38                      | 260           |
| 5               | 42                      | 311           |
| 6               | 39                      | 276           |
| Moyenne         | 38,33±2,58              | 260±40,87     |

Tableau 3.7 : Évaluation des poids et dénombrement des œufs de *Calliphora vicina* pondus à 22°C (Température ambiante).

Les femelles de *C. vicina* ont pondu des amas d'œufs dont le poids varie entre 35 et 42 mg avec un nombre d'œufs oscillant entre 204 et 311 œufs. Ces résultats nous indiquent que le nombre des œufs pondus est proportionnel à la taille des amas d'œufs. Plus le poids est grand, plus le nombre d'œufs est élevé.

# 3.2.2.2. Évaluation de la durée du cycle de développement de Calliphora vicina

Les résultats du suivi des élevages des œufs de *Calliphora vicina* à 24 et 27°C sont confinés dans les tableaux 3.8 et 3.9.

Tableau 3.8 : Résultats d'élevage de *Calliphora vicina* à 24°C, 70% humidité relative et 12h : 12h de photopériodicité.

| Poito | Œuf    |         | Total   |         |       |
|-------|--------|---------|---------|---------|-------|
| Doile | Jour 1 | Jour 17 | Jour 18 | Jour 19 | Total |
| 1     | 100    | 4       | 58      | 3       | 65    |
| 2     | 100    | 4       | 69      | 2       | 75    |
| 3     | 100    | 5       | 58      | 1       | 64    |
| Total | 300    | 13      | 185     | 6       | 204   |

Tableau 3.9 : Résultats d'élevage de *Calliphora vicina* à 27 °C, 70 % humidité relative et 12h :12h de photopériodicité.

| Poito | Œuf    |         | Total   |         |       |
|-------|--------|---------|---------|---------|-------|
| Boile | Jour 1 | Jour 15 | Jour 16 | Jour 17 | Total |
| 1     | 100    | 0       | 69      | 1       | 70    |
| 2     | 100    | 1       | 63      | 0       | 65    |
| 3     | 100    | 0       | 64      | 1       | 65    |
| Total | 300    | 1       | 197     | 2       | 200   |

Un nombre de 100 œufs de *Calliphora vicina* ont été placés dans trois boites différentes constituant les répétitions. À 24°C, les émergences ont commencé le 17ème jour avec 13 adultes. Le maximum d'émergence a été obtenu le 18ème jour avec 185 individus. Le 19ème jour, seulement 6 adultes ont été obtenus, soit un total de 204 individus sur 300 œufs prélevés, ce qui représente un taux d'émergence de 68%. À 27°C, les émergences ont eu lieu le 15ème jour avec un adulte, le 16ème jour avec 197 adultes et le 17ème jour avec 2 émergences imaginales. Au total, nous avons enregistré une émergence de 200 individus des 300 œufs incubés. Cela représente un taux d'émergence de 66,66 % sur l'ensemble de l'élevage de *Calliphora vicina*.

# 3.2.2.3. Estimation des températures moyennes journalières (ADD) de <u>Calliphora vicina</u>

Les feuilles de calcul des sommes des températures cumulées de l'œuf à l'émergence des adultes de *Calliphora vicina* par la méthode ADD sont représentées en détail dans le tableau 4 de l'Appendice C. Les résultats des températures accumulées par *C. vicina* à 24 et 27°C ainsi que le pourcentage d'émergence des individus et leur sexe ratio sont montrés dans le tableau 3.10. À 24°C, *C. vicina* a accumulé des sommes d'ADD moyennes de 374±22 et 391±23°C en calculant ces sommes avec les seuils minimaux de 2 et 1°C respectivement. À 27°C, 375±25°C avec le seuil minimal de 2°C et 390±26°C avec le seuil minimal 1°C ont été accumulées par *C. vicina* pour achever son cycle de développement. À partir des élevages de *C. vicina* à 24 et 27°C, il ressort que dans la première il y a eu 68% d'émergences avec un sexe ratio de 0,9 biaisé en faveur des femelles. Cependant dans la deuxième expérience, il y a eu 66,66% d'émergences des imagos dont le sexe ratio était 0,94, biaisé en faveur des femelles.

| Température<br>(°C) | Seuil minimal<br>(°C) | Œuf-adulte<br>(°C) | Pourcentage<br>d'émergence | Sexe<br>ratio |
|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------------|---------------|
| 24                  | 2                     | 374±22             | 68.00                      | 0 00          |
| 24                  | 1                     | 391±23             | 00,00                      | 0,30          |
| 27                  | 2                     | 375±25             | 66 66                      | 0.04          |
| 21                  | 1                     | 390±26             | 00,00                      | 0,94          |

Tableau 3.10 : Températures accumulées par *C. vicina* élevée à des températures constantes.

3.3. Étude in vitro du pouvoir antimicrobien des larves de Lucilia sericata

3.3.1. <u>Résultats de la stérilisation</u>

3.3.1.1. Stérilisation des œufs

- Après 24 heures :

Un total de 730 œufs ont été traités soit avec l'hypochlorite du sodium (HS) ou l'hexamidine transcutanée (HEX) ou la polyvidone iodée (PI). Un nombre de 240 œufs a été destiné à chaque produit distribué sur 6 boites de gélose nutritive (GN) et 6 boites de gélose au sang (GS). Le tableau 3.11 montre le résultats du dénombrement de l'éclosion des œufs sur chaque boite.

Tableau 3.11 : Nombre des œufs éclos sur chaque milieu après 24 heures de leur stérilisation.

| Produit | PI |    | HEX |    | HS |    | Témoin |    |
|---------|----|----|-----|----|----|----|--------|----|
| Milieu  | GS | GN | GS  | GN | GS | GN | GS     | GN |
| Boite 1 | 12 | 0  | 10  | 4  | 18 | 13 | 17     | 12 |
| Boite 2 | 16 | 8  | 10  | 8  | 15 | 12 | 15     | 13 |
| Boite 3 | 10 | 10 | 6   | 2  | 17 | 15 | 16     | 11 |
| Boite 4 | 13 | 5  | 4   | 3  | 18 | 14 | 14     | 13 |
| Boite 5 | 9  | 11 | 7   | 8  | 13 | 12 | 15     | 13 |
| Boite 6 | 11 | 7  | 7   | 6  | 12 | 11 | 17     | 11 |
| Total   | 71 | 41 | 44  | 31 | 93 | 77 | 107    | 86 |

Apres 24 heures d'incubation, aucune croissance bactérienne n'a été observée sur toutes les boites. Nous remarquons que le nombre des œufs éclos sur la GS est plus élevé que celui obtenus sur la GN (tableau 3.12). D'une façon générale, le nombre total le plus élevé des œufs éclos a été noté sur les boites comportant les œufs traités avec l'HS et les témoins représentant respectivement 170 et 193 œufs. Le nombre des œufs éclos traités avec l'PI était 112 œufs tandis que ceux stérilisés avec l'HEX était 75 œufs. Ainsi, le taux de mortalité a été plus bas chez les témoins (19,58). Le taux de mortalité

corrigé était plus faible chez les traités avec l'HS (11,92%) suivi de ceux stérilisés avec l'PI (41,97%) et l'HEX (61,14%) (Tableau 3.12).

|        | Œufs<br>éclos | Œufs non<br>éclos | Total | Taux de<br>mortalité (%) | Taux de mortalité<br>corrigé (%) |
|--------|---------------|-------------------|-------|--------------------------|----------------------------------|
| PI     | 112           | 128               | 240   | 53,33                    | 41,97                            |
| HEX    | 75            | 165               | 240   | 68,75                    | 61,14                            |
| HS     | 170           | 70                | 240   | 29,17                    | 11,92                            |
| Témoin | 193           | 47                | 240   | 19,58                    | -                                |

Tableau 3.12 : Taux de mortalité 24 heures après la stérilisation.

- Résultats après 48 heures :

Boite 6

12

6

Le résultat du comptage des larves vivantes et mortes après 48 heures est montré dans le tableau 3.13. Apres 48 heures d'incubation, 75 sur 112 larves ont survivantes sur les boites traité avec la PI, 31 sur 75 larves sur les boites de l'HEX, 147 sur 180 larves sur les boites de l'HS et 140 sur 167 sur les boites des témoins.

| sterilisation. |          |        |          |        |          |        |          |        |  |  |
|----------------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|--|--|
| Produit        | it Pl    |        | HE       | HEX    |          | HS     |          | Témoin |  |  |
|                | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes |  |  |
| Boite 1        | 6        | 6      | 7        | 7      | 26       | 5      | 24       | 11     |  |  |
| Boite 2        | 15       | 9      | 10       | 8      | 22       | 5      | 19       | 8      |  |  |
| Boite 3        | 14       | 6      | 2        | 6      | 25       | 7      | 25       | 5      |  |  |
| Boite 4        | 14       | 4      | 2        | 5      | 25       | 7      | 25       | 11     |  |  |
| Boite 5        | 14       | 6      | 5        | 10     | 20       | 5      | 24       | 14     |  |  |

8

29

4

Tableau 3.13 : Nombre des larves vivantes et mortes 48 heures après la stérilisation.

Le taux de mortalité des témoins était 16,17%. Le taux de mortalité corrigé chez les individus stérilisés avec l'HEX était le plus élevé donnant 58,50% suivi de celui des larves traitées avec l'PI (32,76%). En outre, le taux de mortalité corrigé était le plus faible chez les individus stérilisés avec l'HS (17,98%) (tableau 3.14).

|         | Vivantes | Mortes | Total | Taux de mortalité (%) | Taux de mortalité corrigé (%) |  |  |  |  |
|---------|----------|--------|-------|-----------------------|-------------------------------|--|--|--|--|
| PI      | 75       | 37     | 112   | 33,04                 | 32,76                         |  |  |  |  |
| HEX     | 31       | 44     | 75    | 58,67                 | 58,50                         |  |  |  |  |
| HS      | 147      | 33     | 180   | 18,33                 | 17,98                         |  |  |  |  |
| Témoins | 140      | 27     | 167   | 16,17                 | -                             |  |  |  |  |

Tableau 3.14 : Taux de mortalité 48 heures après la stérilisation.

5

23

6

- Résultats après 72 heures :

Le résultat du comptage des larves vivantes et mortes après 72 heures est montré dans le tableau 3.15. Après 72 heures, 13 sur 57 larves et 13 sur 28 larves ont était trouvées mortes sur les boites traitées avec la PI et l'HEX respectivement. Tandis que les boites de l'HS et les témoins n'ont marqué aucune mortalité. Le taux de mortalité après 72 heures est ainsi 22,81% chez les individus traitées avec la PI et 46,43% chez les larves stérilisées avec l'HEX (tableau 3.16).

Tableau 3.15 : Nombre des larves vivantes et mortes 72 heures après la stérilisation.

| Produit | PI       |        | HEX      |        | HS       |        | Témoin   |        |
|---------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|
|         | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes |
| Boite 1 | 4        | 2      | 2        | 5      | 26       | 0      | 24       | 0      |
| Boite 2 | 11       | 4      | 3        | 7      | 22       | 0      | 19       | 0      |
| Boite 3 | 7        | 7      | 1        | 1      | 25       | 0      | 25       | 0      |
| Boite 4 | 8        | 6      | 2        | 0      | 25       | 0      | 25       | 0      |
| Boite 5 | 7        | 7      | 3        | 2      | 20       | 0      | 24       | 0      |
| Boite 6 | 7        | 5      | 4        | 1      | 29       | 0      | 23       | 0      |

Tableau 3.16 : Taux de mortalité 72 heures après la stérilisation.

|        | Vivantes | Mortes | Total | Taux de mortalité (%) |
|--------|----------|--------|-------|-----------------------|
| PI     | 44       | 13     | 57    | 22,81                 |
| HEX    | 15       | 13     | 28    | 46,43                 |
| HS     | 147      | 0      | 147   | 0                     |
| Témoin | 140      | 0      | 140   | 0                     |

Le tableau 3.17 représente le nombre total des individus survivants et des individus morts du début jusqu'à la fin de l'expérience. Ainsi, le taux de mortalité total a été calculé en divisant le nombre des individus morts après 72 heures sur le nombre initial des œufs destiné à chaque traitement. Le taux de mortalité corrigé était élevé chez les individus traités avec la PI (77,08%) et l'HEX (92,19%). Les boites traitées avec l'HS ont donné un taux de mortalité de 23,43%. Le taux de mortalité des témoins était 20%.

|        | Individus<br>survivants | Individus<br>morts | Total | Taux de<br>mortalité (%) | Taux de mortalité<br>corrigés (%) |
|--------|-------------------------|--------------------|-------|--------------------------|-----------------------------------|
| PI     | 44                      | 196                | 240   | 81,67                    | 77,08                             |
| HEX    | 15                      | 225                | 240   | 93,75                    | 92,19                             |
| HS     | 147                     | 93                 | 240   | 38,75                    | 23,43                             |
| Témoin | 192                     | 48                 | 240   | 20                       | -                                 |
| Total  | 346                     | 614                | 960   |                          |                                   |

Tableau 3.17 : Taux mortalités totaux après la stérilisation des œufs.

1.1.4

3.3.1.2. Stérilisation des larves

- Après 24 heures : Le résultat de la stérilisation des larves après 24 heures d'incubation est résumé dans le tableau 3.18.

Tableau 3.18 : Nombre des larves vivantes et mortes sur chaque boite après 24 heures de la stérilisation.

| Produit | PI      |       | HEX     |       | HS      |       | Témoin  |       |
|---------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
|         | Vivante | Morte | Vivante | Morte | Vivante | Morte | Vivante | Morte |
| Boite 1 | 11      | 9     | 13      | 7     | 19      | 1     | 20      | 0     |
| Boite 2 | 15      | 5     | 15      | 5     | 17      | 3     | 19      | 1     |
| Boite 3 | 14      | 6     | 12      | 8     | 17      | 3     | 20      | 0     |
| Boite 4 | 15      | 5     | 11      | 9     | 16      | 4     | 19      | 1     |
| Boite 5 | 13      | 7     | 12      | 8     | 17      | 3     | 20      | 0     |
| Boite 6 | 12      | 8     | 18      | 2     | 18      | 2     | 20      | 0     |

Après 24 heures, aucune contamination n'a été observée. Le nombre des larves vivantes et mortes a été calculé sur chaque boite. Le nombre des larves vivantes le plus élevé a été enregistré sur les boites traitées avec l'HS (104 larves) et les boites témoins (118 larves). Le nombre des larves vivantes traitées avec la PI était 80 larves tandis que celles stérilisées avec l'HEX étaient 81 larves.

Ainsi, le taux de mortalité chez les témoins était 1,67%. Le taux de mortalité après 24 heures a été plus bas chez les larves stérilisées avec l'HS (13,33%). Le taux de mortalité corrigé après 24 heures chez les larves traitées avec la PI et l'HEX était respectivement 33,33% et 32,5% (tableau 3.19).

| Produit | Vivantes | Mortes | Total | Taux de mortalité (%) |
|---------|----------|--------|-------|-----------------------|
| PI      | 80       | 40     | 120   | 33,33                 |
| HEX     | 81       | 39     | 120   | 32,5                  |
| HS      | 104      | 16     | 120   | 13,33                 |
| Témoin  | 118      | 2      | 120   | 1,67                  |

Tableau 3.19 : Taux de mortalité après 24 heures de la stérilisation des larves.

- Après 48 heures : Le résultat de la stérilisation des larves après 48 heures d'incubation est résumé dans le tableau 3.20. Après 48 heures d'incubation, 63 sur 80 larves ont survécu des boites traitées avec la PI, 57 sur 81 larves des boites de l'HEX, 100 sur 104 larves des boites de l'HS et 110 sur 118 des boites témoins.

Le taux de mortalité chez les individus stérilisés avec l'HEX était le plus élevé donnant 29,62% suivi de celui des larves traitées avec la PI est de 21,25%. En outre, le taux de mortalité le plus faible a été observé chez les individus stérilisés avec l'HS (3,84%) (tableau 3.21).

Tableau 3.20 : Nombre des larves vivantes et mortes sur chaque boite après 24 heures de la stérilisation.

| Produit | HS              |    | HEX      |        | PI       |        | Témoin   |        |
|---------|-----------------|----|----------|--------|----------|--------|----------|--------|
|         | Vivantes Mortes |    | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes | Vivantes | Mortes |
| Boite 1 | 8               | 3  | 7        | 6      | 18       | 1      | 19       | 0      |
| Boite 2 | 10              | 5  | 9        | 6      | 15       | 2      | 19       | 0      |
| Boite 3 | 13              | 1  | 9        | 3      | 17       | 0      | 20       | 0      |
| Boite 4 | 13              | 2  | 7        | 4      | 16       | 0      | 17       | 0      |
| Boite 5 | 10              | 3  | 10       | 2      | 16       | 1      | 18       | 0      |
| Boite 6 | 9               | 3  | 15       | 3      | 18       | 0      | 17       | 0      |
| Total   | 63              | 17 | 57       | 24     | 100      | 4      | 110      | 0      |

Tableau 3.21 : Taux de mortalité après 48 heures de la stérilisation des larves.

| Produit Vivantes |     | Mortes | Total | Taux de Mortalité (%) |
|------------------|-----|--------|-------|-----------------------|
| <b>PI</b> 63     |     | 17     | 80    | 21,25                 |
| <b>HEX</b> 57    |     | 24     | 81    | 29,62                 |
| HS               | 100 | 4      | 104   | 3,84                  |
| Témoin           | 118 | 0      | 118   | 0                     |

- Après 72 heures : Après 72 heures, les boites n'ont présenté aucune contamination et les larves sont restées vivantes pendant leur incubation. Le tableau 3.22 représente le nombre total des larves survivantes et mortes du début jusqu'à la fin de l'expérience. Ainsi le taux de mortalité total a été calculé en divisant le nombre des larves mortes après 72 heures sur le nombre initial des larves.

Le taux de mortalité était élevé chez les asticots traités avec la PI (47,50%) et l'HEX (52,50%). Les boites traitées avec l'HS ont donné un taux de mortalité de 16,67%. Le taux de mortalité des témoins était 1,67%.

| Produit | Larves vivantes | Larves mortes | Total | Taux de Mortalité (%) |
|---------|-----------------|---------------|-------|-----------------------|
| PI      | 63              | 57            | 120   | 47,5                  |
| HEX     | 57              | 63            | 120   | 52,5                  |
| HS      | 100             | 20            | 120   | 16,67                 |

2

120

1,67

Tableau 3.22 : Taux mortalités totaux après la stérilisation des larves.

# 3.3.2. Tests antibactériens

Témoin

# 3.3.2.1. Application directe des asticots

118

Les observations ont été réalisées chaque 24 heures pendant 5 jours. Après 24 heures, nous avons observé une lyse complète de toutes les bactéries dans la zone d'application des asticots. Le résultat d'application *in vitro* des larves vivantes sur les bactéries a été mieux observé sur les boites de *P. aeruginosa* grâce au pigment de cette bactérie (figure 3.5).



Figure 3.5 : Lyse complète des bactéries dans la zone d'application des larves après 24 heures (photo originale).

D'après les résultats obtenus dans le tableau 3.23, le taux de mortalité corrigé des larves en contact avec *B. subtilis* était le plus élevé (32,99%) suivie de celles mis en contact avec *P. aeruginosa* (17,52%), *K. pneumoniae* (17,52%) et *E. coli* (18,57%). Le taux de mortalité enregistré chez les témoins était 19.17%. Le taux de mortalité corrigé chez les larves déposées sur les souches de *S. aureus* MSSA (1,03%), *C. freundii* (3,09%) et *S. aureus* MRSA (9,28%) étaient faibles.

Les bactéries ont été incubées à nouveau après le retrait de toutes les larves pour vérifier la présence d'une recroissance bactérienne. Après 24 heures d'incubation, aucune croissance à nouveau n'a été notée sur toutes les boites mises en expérience.

| Tableau 3.23 : Résultats | du test antimicrobien suivant l'application directes des |
|--------------------------|--|
| larves vivantes.         |  |

| Espèce           | Vivantes | Morte | Total | Taux de       | Taux de Mortalité |
|------------------|----------|-------|-------|---------------|-------------------|
| bactérienne      | Trancoo  |       | lotai | Mortalité (%) | corrigé (%)       |
| S. aureus (MSSA) | 96       | 24    | 120   | 20            | 1,03              |
| S. aureus (MRSA) | 88       | 32    | 120   | 26,67         | 9,28              |
| P. aeruginosa    | 80       | 40    | 120   | 33,33         | 17,52             |
| E. coli          | 89       | 41    | 120   | 34,17         | 18,57             |
| K. pneumoniae    | 80       | 40    | 120   | 33,33         | 17,52             |
| B. subtilis      | 65       | 55    | 120   | 45,83         | 32,99             |
| C. freundii      | 94       | 26    | 120   | 21,67         | 3,09              |
| Témoin           | 97       | 23    | 120   | 19,17         | -                 |

#### 3.3.2.2. <u>Viabilité des bactéries ingérées par les larves</u>

Après 24 heures d'incubation, les boites ont été vérifiées. Le résultat de l'ensemencement des suspensions intestinales des larves est présenté dans le tableau 3.24. Une croissance bactérienne a été enregistrée uniquement dans les boites d'ensemencement de la suspension intestinale des larves en contact avec *B. subtilis*.

| Boite            | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| S. aureus (MSSA) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| S. aureus (MRSA) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| P. aeruginosa    | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| E. coli          | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| K. pneumoniae    | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| B. subtilis      | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  |
| C. freundii      | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |
| Témoin           | - | - | - | - | - | - | - | - | - | -  | -  | -  |

Tableau 3.24 : Résultats de l'ensemencement de la suspension de l'intestin postérieure des larves en contact avec les souches bactériennes.

+ : présence d'une croissance bactérienne ; - : absence d'une croissance bactérienne.

#### 3.3.3. Tests antifongiques

#### 3.3.3.1. Application directe des larves

Le résultat d'application *in vitro* des larves vivantes sur des cultures fongiques est montré dans le tableau 3.25.

Les observations ont été réalisées chaque 24 heure pendant 5 jours. Après 24 heures, nous avons observé une lyse complète des champignons dans la zone d'application des asticots. Cette lyse a persisté jusqu'à la fin des observations (après 5 jours).

D'après les résultats obtenus dans le tableau 3.24, le taux de mortalité des témoins était 15,83%. Le taux de mortalité corrigé des larves en contact avec C. *albicans* était le plus élevé (26,73%) suivi de celui des asticots mis en contact avec S. *cerevisiae* (15,84%) et celui d'*A. niger* (11,88%).

Tableau 3.25 : Résultats obtenus après 5 jours d'incubation des larves de *L. sericata* avec les souches fongiques.

| Espèce        | Vivantes | Mortes | Total | TM (%) | TMC (%) |
|---------------|----------|--------|-------|--------|---------|
| C. albicans   | 74       | 46     | 120   | 38,33  | 26,73   |
| S. cerevisiae | 85       | 35     | 120   | 29,17  | 15,84   |
| A. Niger      | 89       | 31     | 120   | 25,83  | 11,88   |
| Témoin        | 121      | 19     | 120   | 15,83  | -       |

Les cultures fongiques ont été incubées à nouveau après avoir retiré toutes les larves pour vérifier la recroissance des champignons. Les boites ont été surveillées pendant 2 semaines sans aucune croissance à nouveau.

#### 3.3.3.2. Viabilité des champignons ingérés par les larves

La suspension intestinale des larves n'a montré aucune croissance fongique sur toutes les boites après une semaine d'incubation.

# 3.4. Etude de la décomposition des cadavres des lapins dans un milieu ouvert sous conditions particulières

## 3.4.1. Les données climatiques

La température n'a pas beaucoup varié pendant la période expérimentale. Comme le montre la figure 3.6, la température quotidienne variait entre 12,5 et 23,5°C pendant toute la période d'étude.





## 3.4.2. Les stades et la vitesse de décomposition

La classification de REED [279] révèle quatre stades de décomposition d'un cadavre à savoir : cadavre frais, gonflé, putréfié et sec. Cette classification a été utilisée dans le cadre de notre étude car elle est plus pratique pour l'étude de la décomposition des cadavres de petite taille. Les caractéristiques de chaque étape sont résumées sur le tableau 3.26.

| Tableau 3.26 : | Résumé des | caractéristiques | des stades | de décomposition | des |
|----------------|------------|------------------|------------|------------------|-----|
| cadavres des l | apins.     |                  |            |                  |     |

| Stade        | Caractéristique du stade de décomposition  |
|--------------|--|
| Frais        | Aucune odeur, cadavres intacts, la peau est souple, les membres sont mobiles et la fourrure est douce.   |
| Gonflement   | Commence avec un léger gonflement de l'abdomen et la présence d'une faible odeur.  |
| Putréfaction | Le cadavre commence à se dégonfler ; une perte de la fourrure ; la peau<br>est habituellement craquelée en un ou plusieurs endroits avec une<br>activité remarquable des les larves des Diptères ; une forte odeur de<br>putréfaction. |
| Dessèchement | Le cadavre se compose d'une peau sèche, de la fourrure, du cartilage et de l'os avec un peu ou pas d'odeur.  |

Le processus de décomposition des cadavres est illustré sur les figures 3.7 et 3.8. La durée en heures de chaque stade de décomposition est représentée dans le tableau 3.27.



Figure 3.7 : Stades de décomposition des cadavres expérimentés (photos originales).

(A) Frais ; (B) Gonflement ; (C) Putréfaction ; (D) Dessèchement.



Figure 3.8 : Stades de décomposition des cadavres emballés en sacs plastiques (photos originales).

Frais ; (B) Gonflement ; (C) Putréfaction ; (D) Dessèchement.

|          | stade | frais | aonflé | putréfié | *sec            |
|----------|-------|-------|--------|----------|-----------------|
| cadavres |       |       | 5      | •••••    |                 |
|          | 1     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 2     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
| Cadavres | 3     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
| témoins  | 4     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 5     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 6     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 1     | 0-27  | 27-61  | 61-164   | à partir de 164 |
|          | 2     | 0-27  | 27-115 | 115-188  | à partir de 188 |
| Cadavres | 3     | 0-27  | 27-91  | 91-140   | à partir de 140 |
| emballés | 4     | 0-27  | 27-120 | 120-190  | à partir de 190 |
|          | 5     | 0-27  | 27-91  | 91-192   | à partir de 192 |
|          | 6     | 0-27  | 27-115 | 115-164  | à partir de 164 |
|          | 1     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 2     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
| Cadavres | 3     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
| traités  | 4     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |
|          | 5     | 0-27  | 27-68  | 68-94    | à partir de 94  |
|          | 6     | 0-27  | 27-68  | 68- 94   | à partir de 94  |

Tableau 3.27 : Durées des stades de décomposition chez les cadavres témoins, embalés et traités.

\*Pas de point final marquant la fin de ce stade, seulement les heures du début de ce stade sont mentionnées.

#### 3.4.3. Communautés d'arthropodes

Au total, 19096 spécimens appartenant à 32 familles et 67 espèces ont été échantillonnés (tableau 3.28). L'ordre des Diptères, des Coléoptères et des Hyménoptères ont dominé le cortège des arthropodes qui ont visité les cadavres des lapins. Les Diptères étaient de loin le groupe prédominant suivi des Coléoptères. Selon le test de Khi-carré de Pearson (p <0,05), il y a une relation statistiquement significative dans la composition des espèces d'arthropodes entre les témoins et les cadavres enveloppés mais pas entre les témoins et les traités. Comme le montre le tableau 3.28, certaines espèces se sont dirigées uniquement vers les cadavres exposés et d'autres vers les cadavres emballés. Des valeurs plus élevées d'abondance et de richesse spécifique ont été trouvées chez le groupe témoin (tableau 3.28). Cependant, les résultats du test U de Mann-Whitney n'ont montré aucune différence significative au niveau de risque de 5% dans l'abondance des arthropodes entre les individus témoins et emballés (U=2545,500 ; p=0,482) et entre les témoins et le groupe des traités (U=2955,660 ; p=0.564).

En ce qui concerne l'abondance des familles des Diptères chez les trois groupes de cadavres, les Calliphoridae étaient nettement la famille la plus dominante, suivie des Muscidae et des Anthomyiidae (figure 3.9). La famille des Tachinidae ne se trouvait que chez les cadavres exposés, alors que les familles Therevidae, Tipulidae, Drosophilidae et Cullicidae ne fréquentaient que les dépouilles enveloppées. *Lucilia sericata, Calliphora vicina, Chrysomya albiceps, Delia* sp. et *Hydrotaea* spp. étaient les espèces les plus représentatives chez les trois groupes des cadavres (tableau 3.28).

Pour l'ordre des Coléoptères, les Dermestidae, les Staphylinidae, les Silphidae et les Histeridae étaient les familles les plus fréquentes chez tous les cadavres (figure 3.10). *Dermestes frischii* (Kugelann, 1792) (Coleoptera, Dermestidae) était l'espèce la plus dominante suivie de *philonthus* sp. (Stephens, 1829) (Coleoptera, Staphylinidae), *Creophilus maxillosus* (Linnæus, 1758) (Coleoptera, Staphylinidae), *Saprinus semistriatus* (Scriba, 1790) (Coleoptera, Histeridae), *Silpha tristis* (Illiger, 1798) (Coleoptera, Silphidae) et *Thanatophilus sinuatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera, Silphidae).

L'ordre des Hémiptères n'a été enregistré que chez le groupe témoin (tableau 3.28). Les Formicidae étaient la famille des Hyménoptère la plus abondante chez tous les cadavres.

Quand aux arthropodes d'autres classes, *Oniscus* sp. (Linnæus, 1758) (Isopoda, Oniscidae) représentant la classe des Malacostraca et des espèces appartenant à l'ordre des Araneae de la classe Arachnida ont été identifiées.

| Classe | Ordre | Famille              | Genre/espèce              | Témoins | Emballés | Traités | Catégorie  |  |
|--------|-------|----------------------|---------------------------|---------|----------|---------|------------|--|
|        |       |                      | Lucilia sericata          | 1549    | 1506     | 1374    |            |  |
|        |       |                      | L. sericata (larves)      | 524     | 570      | 534     |            |  |
|        |       | Ø                    | Calliphora vicina         | 275     | 185      | 262     |            |  |
|        |       | orida                | Calliphora vomitoria      | 1       | 7        | 4       |            |  |
|        |       |                      | Chrysomya albiceps        | 249     | 102      | 217     |            |  |
|        |       | hqi                  | Ch. albiceps (larves)     | 365     | 349      | 397     | es         |  |
|        |       | Call                 | Chrysomya                 | 0       | 0        | 3       | ohag       |  |
|        |       |                      | Pollenia vagabunda        | 127     | 81       | 117     | cro        |  |
|        |       |                      | Pollenia rudis            | 59      | 31       | 67      | Néc        |  |
|        |       | Φ                    | Sarcophaga africa         | 86      | 38       | 82      | ~          |  |
|        |       | da                   | Sarconhaga tiblialis      | 6       | 17       | 8       |            |  |
|        |       | agi                  | Sarconbaga nandellei      | 3       | 2        | 7       |            |  |
|        |       | rcoph                | Sarcophaga<br>argvrostoma | 3       | 3        | 8       |            |  |
|        |       | Sar                  | Scatophaga stercoraria    | 0       | 0        | 1       | Accidentel |  |
|        |       | Anthomyiidae         | Anthomvia sp.             | 2       | 14       | 15      |            |  |
|        |       |                      | Delia sp                  | 323     | 151      | 347     |            |  |
| D      | Ð     | , and for the second | Autres Anthomyiidae       | 38      | 13       | 45      |            |  |
| ect    | tèr   | Chloropidae          | Chloropidae sp.           | 36      | 45       | 37      |            |  |
| su     | di    |                      | Hvdrotaea ignava          | 201     | 143      | 176     | aprophages |  |
|        | _     | luscidae             | Hvdrotaea dentipes        | 431     | 217      | 405     |            |  |
|        |       |                      | Azelia sp.                | 21      | 1        | 5       |            |  |
|        |       |                      | Musca domestica           | 121     | 70       | 122     |            |  |
|        |       |                      | Muscina prolapsa          | 43      | 30       | 43      | ů.         |  |
|        |       |                      | Muscina stabulans         | 96      | 57       | 153     |            |  |
|        |       | 2                    | Graphomva maculata        | 12      | 0        | 0       |            |  |
|        |       |                      | Phaonia subventa          | 42      | 24       | 21      |            |  |
|        |       |                      | Stomoxys calcitrans       | 6       | 1        | 6       | Accidentel |  |
|        |       | <b>–</b>             | Fannia canicularis        | 49      | 34       | 37      |            |  |
|        |       | Fanniidae            | Fannia monilis            | 24      | 11       | 32      |            |  |
|        |       | 6                    | Piophila casei            | 53      | 19       | 36      | Φ          |  |
|        |       | Piophilidae          | Piophila nigriceps        | 6       | 3        | 0       | lag        |  |
|        |       | Tachinidae           | Tachinidae sp.            | 5       | 0        | 0       | bh         |  |
|        |       | Sepsidae             | Sepsis sp.                | 3       | 7        | 14      | brd        |  |
|        |       | Drosophilidae        | Drosophila sp.            | 0       | 1        | 0       | Sa         |  |
|        |       | Therevidae           | Thereva sp.               | 0       | 15       | 0       |            |  |
|        |       | Tipulidae            | Tipula sp.                | 0       | 5        | 0       |            |  |
|        |       | Cullicidae           | Culex sp.                 | 0       | 21       | 0       | Accidentel |  |

Tableau 3.28 : Abondance absolue des arthropodes collectés sur les cadavres témoins, emballés et traités.

| Classe       | Ordre     | Famille          | Genre/espèce                      | Témoins         | Emballés | Traités | Catégorie<br>égologique                    |  |  |  |  |  |
|--------------|-----------|------------------|-----------------------------------|-----------------|----------|---------|--|--|--|--|--|--|
|              |           | dae              | Dermestes frischii                | 455             | 427      | 462     |  |  |  |  |  |  |
|              |           | esti             | D. frischii (larves)              | 82              | 65       | 86      | Saprophages                                |  |  |  |  |  |
|              |           | Derm             | Dermestes<br>maculatus            | Dermestes 2 0 ( |          |         |  |  |  |  |  |  |
|              |           | Claridae         | Necrobia rufipes                  | 34              | 18       | 37      |  |  |  |  |  |  |
|              |           | Cieridae         | Necrobia violaceae                | 6               | 5        | 8       |  |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Creophilus<br>maxillosus          | 226             | 361      | 317     | eurs                                       |  |  |  |  |  |
|              |           | dae              | <i>Cr. maxillosus</i><br>(larves) | 9               | 32       | 11      | rédat                                      |  |  |  |  |  |
|              |           | /lini            | Philonthus sp.                    | 325             | 80       | 325     | ۵.   |  |  |  |  |  |
|              |           | itaphy           | <i>Philonthus</i> sp.<br>(larves) | 10              | 10       | 10      |  |  |  |  |  |  |
| acta         |           | Ø                | Aleochara sp.                     | 2               | 0        | 1       | Nécrophage,<br>Prédateur et<br>parasitoïde |  |  |  |  |  |
|              | D         |                  | Silpha tristis                    | 190             | 113      | 87      | (A)  |  |  |  |  |  |
|              | otera     | Φ                | S. tristis (larves)               | 43              | 18       | 43      | teurs                                      |  |  |  |  |  |
|              | Coleol    | phida            | Thanatophilus<br>sinuatus         | 165             | 116      | 165     | rédai                                      |  |  |  |  |  |
|              | 0         | Sil              | T. sinuatus (larves)              | 14              | 4        | 14      | Щ  |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Nicrophorus<br>humator            | 0               | 1        | 0       | Prédateur<br>nécrophage                    |  |  |  |  |  |
| Inse         |           | Histeridae       | Saprinus<br>semistriatus          | 210             | 139      | 190     | Prédateurs                                 |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Hister bipunctatus                | 1               | 0        | 0       |  |  |  |  |  |  |
|              |           | Torgidae         | <i>Trox</i> sp.                   | 4               | 5        | 12      | Nécrophage                                 |  |  |  |  |  |
|              |           | Leiodidae        | Choleva sp.                       | 4               | 4        | 0       | Accidentel                                 |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Pachychila sp.                    | 13              | 0        | 0       |  |  |  |  |  |  |
|              |           | Tenebrionidae    | Heliotaurus sp.                   | 1               | 0        | 0       | s<br>(se                                   |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Sepidium sp.                      | 1               | 2        | 5       | age  |  |  |  |  |  |
|              |           | Cerambycidae     | Rhagonycha sp.                    | 1               | 0        | 0       | der  |  |  |  |  |  |
|              |           | Ohmen and lide a | Timarcha sp.                      | 4               | 1        | 5       | cci  |  |  |  |  |  |
|              |           | Chrysomelidae    | Chrysolina bankii                 | 1               | 0        | 0       | <ul><li>I</li></ul>                        |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Tropinota squalida                | 1               | 0        | 0       |  |  |  |  |  |  |
|              |           | Scarabeidae      | Onthophagus sp.1                  | 1               | 0        | 0       | Accidentels                                |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Onthophagus sp.2                  | 1               | 0        | 0       | (Coprophages)                              |  |  |  |  |  |
|              |           | Ichneumonidae    | Venturia canescens                | 3               | 0        | 3       | Denseiteïdee                               |  |  |  |  |  |
|              | tera      | Pteromalidae     | Nasonia vitripennis               | 1               | 1        | 1       | Parasitoides                               |  |  |  |  |  |
|              | enop      | Vespulidae       | Vespula germanica                 | 3               | 1        | 0       | Nécrophile,<br>parasitoïde                 |  |  |  |  |  |
|              | ym        | Aphidiidae       | Aphidius sp.                      | 24              | 26       | 48      | Parasitoïde                                |  |  |  |  |  |
|              | Т         | Formicidae       | Cataglyphis viatica               | 179             | 234      | 179     | Nécrophile                                 |  |  |  |  |  |
|              |           |                  | Messor sp.                        | 65              | 34       | 55      | A  |  |  |  |  |  |
|              | Hemiptera | Miridae          | Miridae sp.                       | 7               | 0        | 0       | Accidentels<br>(Phytophage)                |  |  |  |  |  |
| Malacostraca | Isopoda   | Oniscidae        | Oniscus sp.                       | 14              | 46       | 47      | Opportunistes                              |  |  |  |  |  |
| Arachnida    | Araneae   | -                | Araneae spp.                      | 4               | 1/       | 12      |  |  |  |  |  |  |
| i otal       |           |                  |                                   | 6990            | 5533     | 0098    |  |  |  |  |  |  |

Tableau 3.28 : Abondance absolue des arthropodes collectés sur les cadavres témoins, emballés et traités (suite).



Figure 3.9 : Abondance relative des familles des Diptères sur les trois groupes des cadavres.



Figure 3.10 : Abondance relative des familles des Coléoptères sur les trois groupes des cadavres.

#### 3.4.4. L'occurrence des d'arthropodes

L'ordre de l'occurrence des arthropodes capturés selon les stades de décomposition est illustré dans les tableaux 3.29, 3.30 et 3.31.

La succession des arthropodes a été présentée à l'aide des matrices d'occurrence. Dans chaque cellule, nous avons noté le nombre total des adultes ou des larves échantillonnés manuellement et à l'aide des pièges.

La présence d'une famille donnée de pupes sans leur nombre a été indiquée par « P ». La succession des insectes nécrophages les plus importants était similaire dans les trois groupes (tableaux 3.29, 3.30 et 3.31).

#### • Les Diptères

*L. sericata* a été la première espèce arrivant à tous les cadavres et se reproduisant avec succès sur ces derniers. Elle était dominante pendant tous les stades de la décomposition avec une préférence pour les stades de gonflement et de putréfaction.

*Calliphora vicina* et *Muscina stabulans* (Fallén, 1817) (Diptera, Muscidae) étaient également présentes durant le stade frais chez tous les individus avec des nombres limités.

*Chrysomya albiceps* est apparue lors du stade de putréfaction sur tous les cadavres et a été notée tout au long du stade de dessèchement. *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera, Calliphoridae) a été enregistré au début du stade de dessèchement uniquement sur les cadavres traités avec un nombre très restreint (3 spécimens uniquement). Cette espèce est reportée dans cette étude pour la première fois en Algérie.

Les espèces Calliphoridae de la sous-famille des *Polleniinae* étaient présentes sur tous les cadavres. *Pollenia vagabunda* (Meigen, 1826) a été notée dès le stade de gonflement jusqu'au dessèchement. *Pollenia rudis* (Fabricius, 1794) était présente sur tous les cadavres à partir de la putréfaction jusqu'à la fin de la décomposition. Ces deux espèces n'avaient jamais été reportées auparavant en l'Algérie. *Piophila casei* (Linnæus, 1758) (Diptera, Piophilidae) a été enregistré à partir du stade du gonflement avec de petits nombres. *Piophila nigriceps* (Meigen, 1826) a été collectée durant la putréfaction des témoins et des cadavres emballés avec des effectifs très

restreints. *P. nigriceps* de cette étude constitue le premier record en Algérie ainsi que dans tout le continent africain.

Delia sp., Fannia canicularis (Linnæus, 1762) et Fannia monilis (Haliday, 1838) (Diptera, Fanniidae) se sont apparues dès le gonflement des cadavres exposées (témoins et traités) et était présent pendant le stade de putréfaction chez les individus emballés. Ces mouches ont poursuivi leur activité jusqu'au stade de dessèchement.

La période d'activité des larves des mouches Calliphoridae s'est poursuivie jusqu'au dernier stade. Les espèces Muscidae *Hydrotaea dentipes* (Fabricius, 1805) et *H. ignava* (Harris, 1780) ont été observées sur tous les cadavres à partir du stade de gonflement jusqu'au stade de dessèchement. *Musca domestica* (Linnæus, 1758) et *Muscina prolapsa* (Harris, 1780) (Diptera, Muscidae) étaient actives jusqu'à la fin de la décomposition.

Pendant la phase de la putréfaction, un petit nombre de *Thereva* sp. (Latreille, 1796) (Diptère, Therevidae) n'a été identifié que sur les cadavres emballés. *Drosophila* sp. (Fallén, 1823) (Diptera, Drosophilidae), *Tipula* sp. (Linnæus, 1758) (Diptera, Tipulidae) et *Culex* sp. (Linnæus, 1758) (Diptera, Culicidae) étaient également présentes seulement sur les cadavres emballés avec des effectifs très faibles pendant le stade de dessèchement.

En ce qui concerne les espèces de la famille des Sarcophagidae, leur présence a été notée depuis le stade frais jusqu'au stade de dessèchement avec des nombres limités. Pendant le stade de dessèchement, un petit nombre de *Sepsis* sp. (Fallén, 1810) (Diptera, Sepsidae) a été enregistré sur les trois catégories des cadavres. De plus, la présence des pupes appartenant aux Calliphoridae, Fanniidae et Muscidae a été enregistrée sur touts les cadavres durant cette étape.

#### Les Coléoptères

Quand aux Coléoptères, la plupart des espèces sont arrivées sur les dépouilles durant la putréfaction, à l'exception de *Necrobia rufipes* (Fabricius, 1781) (Coleoptera, Cleridae) qui a été constaté sur des cadavres témoins au stade de gonflement.

L'activité des espèces de Coléoptères s'est poursuivie jusqu'au stade de dessèchement. Des stades immatures de certains Coléoptères ont été observés chez tous les cadavres.

Au cours du stade de putréfaction et de dessèchement, un grand nombre des larves de *D. frischii* ont été identifiées, tandis que des nombres plus faibles des larves de *Cr. maxillossus* et de *Si. tristis* ont été enregistrés.

Les larves de *Philontus* sp. et de *T. sinuatus* ont été observées au stade de dessèchement avec des effectifs restreints.

#### • Les Hyménoptères

La famille des Formicidae était présente sur l'ensemble des cadavres pendant tout le processus de décomposition. Les autres classes d'arthropodes, *Oniscus* sp. et l'ordre des Araneae ont été notées sur tous les cadavres pendant le stade de dessèchement.

| Stade                 | Frais | Go  | nflé | Putréfié |     |     |    |     |    |    | Sec |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-----------------------|-------|-----|------|----------|-----|-----|----|-----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Jours                 | 1     | 2   | 3    | 4        | 5   | 6   | 7  | 8   | 9  | 10 | 11  | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| L. sericata           | 11    | 220 | 332  | 331      | 301 | 192 | 18 | 54  | 42 | 30 | 18  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| L. sericata (larves)  |       |     |      | 60       | 50  | 68  | 64 | 112 | 70 | 44 | 56  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| C. vicina             | 12    | 18  | 16   | 42       | 39  | 15  | 36 | 24  | 18 | 12 | 6   | 6  |    |    |    |    |    | 12 | 6  | 12 |    |    |    |    |    |    | 1  |
| C. vomitoria          |       |     |      |          |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ch. albiceps          |       |     |      | 10       | 12  | 18  | 12 | 18  | 18 | 48 | 18  | 48 | 12 | 6  | 18 | 6  | 2  | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |
| Ch. albiceps (larves) |       |     |      |          | 45  | 43  | 32 | 72  | 50 | 43 | 48  |    | 32 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Po. vagabunda         |       |     | 11   | 13       | 10  | 6   | 6  | 18  | 12 | 6  | 4   | 5  | 9  |    |    |    |    |    | 12 |    |    |    |    |    |    | 5  | 10 |
| Po. Rudis             |       |     |      | 12       | 5   | 8   | 11 | 15  |    |    | 5   | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes (Calliphoridae) |       |     |      |          |     |     |    |     |    | Р  | Р   | Р  |    |    |    |    |    |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. africa             |       |     |      |          | 5   | 9   | 12 | 7   | 6  | 12 | 6   | 5  |    |    |    |    | 24 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. tibialis           |       | 3   | 2    | 1        |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. pandellei          | 1     |     |      | 2        |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. argyrostoma        |       |     |      |          |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyia sp.         |       | 2   |      |          |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Delia sp.             |       | 23  | 10   | 30       | 28  | 34  | 23 | 30  | 36 | 42 | 36  | 31 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyiidae spp.     | 12    | 6   | 3    |          | 1   | 3   |    |     |    |    | 4   |    |    |    |    |    | 1  |    | 8  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Chloropidae sp.       |       |     |      | 21       |     |     |    |     |    |    | 6   |    |    |    |    |    | 5  |    | 4  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. ignava             |       | 3   | 12   | 42       | 38  | 19  | 12 | 8   | 24 | 7  | 30  | 4  | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. dentipes           |       | 43  | 60   | 42       | 36  | 30  | 20 | 21  | 31 |    | 82  | 48 |    |    |    |    | 6  |    | 12 |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Azelia sp.            |       |     |      |          |     | 6   |    |     |    |    | 15  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| St. calcitrans        |       |     |      |          |     |     |    |     |    |    | 6   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| M. domestica          |       |     |      | 3        | 22  | 28  | 24 | 19  | 11 | 10 | 1   |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. prolapsa          |       | 6   |      | 4        | 9   | 4   | 2  | 6   | 4  | 2  | 4   | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. stabulans         | 3     | 6   | 2    | 7        | 25  | 7   | 8  | 4   | 2  | 2  | 6   | 10 | 5  | 4  | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |
| Ph. subventa          |       |     | 8    | 2        | 3   | 4   | 2  | 8   | 2  | 3  | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 7  |
| G. maculata           |       | 4   |      |          |     |     | 5  |     |    | 3  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes (Muscidae)      |       |     |      |          |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    | P  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. canicularis        |       | 4   | 3    | 1        | 5   | 9   | 4  | 7   | 6  | 2  | 5   | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. monilis            |       | 17  |      | 2        | 3   |     |    |     |    |    | 2   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes (Fanniidae)     |       |     |      |          |     |     |    |     |    | P  | P   | P  |    |    |    |    |    |    | P  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| P. casei              |       | 8   | 6    | 3        | 8   | 4   | 1  | 2   | 5  | 7  | 5   | 4  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| P. nigriceps          |       |     |      | 4        | 2   |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Tachinidae sp.        |       | 1   |      |          |     |     |    |     |    |    | 4   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sepsis sp.            |       |     |      |          |     |     |    |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 3  |
| D. frischii           |       |     | 8    | 24       | 26  | 28  | 29 |     | 30 | 29 | 43  | 31 | 24 | 12 | 8  | 9  | 6  | 18 | 6  | 18 | 31 | 13 | 12 | 30 | 11 | 6  | 3  |
| D. frischii (larves)  |       |     |      |          | 6   | 9   |    | 3   | 2  | 4  | 3   | 2  | 6  | 4  | 2  | 5  | 5  | 13 | 6  | 2  | 1  | 4  | 5  |    |    |    |    |
| D. maculatus          |       |     |      |          |     |     | 2  |     |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| N. rufipes            |       | 4   | 2    | 8        |     |     |    | 3   | 2  | 4  | 2   |    |    |    |    |    |    |    | 3  |    |    |    |    | 2  |    | 4  |    |
| N. violaceae          |       |     |      | 1        | 1   |     |    |     | 2  | 1  |     | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

# Tableau 3.29 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres témoins.
| Stade                   | Frais | Go | nflé | Putréfié |    |    |    |    |    |    | . ( |    |    |    |    | Sec | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-------------------------|-------|----|------|----------|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Jours                   | 1     | 2  | 3    | 4        | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | 11  | 12 | 13 | 14 | 15 | 16  | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| Cr. Maxillosus          |       |    |      | 6        | 15 | 50 | 28 | 32 | 29 | 15 | 13  | 9  | 16 | 7  | 2  | 3   | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Cr. maxillosus (larves) |       |    |      |          | 2  | 1  | 1  |    | 1  |    | 1   |    | 2  |    |    |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Philonthus sp.          |       |    |      | 18       | 19 | 13 | 34 | 45 | 44 | 33 | 31  | 19 | 14 | 12 | 7  | 5   | 8  |    | 5  |    | 4  | 6  | 3  | 2  | 2  | 1  |    |
| Philonthus sp. (larves) |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    | 4   |    | 2  |    | 4  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Aleochara sp.           |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    | 2  |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Si. Tristis             |       |    |      | 6        |    |    |    | 45 |    | 31 | 34  | 23 |    | 12 |    | 13  | 11 | 8  | 5  |    |    | 2  |    |    |    |    |    |
| Si. tristis (larves)    |       |    |      |          | 4  | 5  | 7  | 5  | 4  | 3  | 3   | 9  |    | 3  |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| T. sinuatus             |       |    |      | 8        | 3  | 33 | 18 | 15 | 12 | 11 | 9   | 16 | 10 | 5  | 3  | 5   | 7  | 1  | 4  |    | 3  |    | 2  |    |    |    |    |
| T. sinuatus (larves)    |       |    |      |          |    |    |    |    |    | 4  | 2   | 8  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sa. Semistriatus        |       |    |      | 6        | 12 | 11 | 25 | 18 | 9  | 17 | 13  | 12 | 19 | 5  | 9  | 16  | 7  | 12 | 15 |    | 4  |    |    |    |    |    |    |
| H. bipunctatus          |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    | 1  |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Tr. Perlatus            |       |    |      |          | 3  | 1  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Choleva sp.             |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     | 1  | 1  |    |    |     |    |    |    |    |    |    | 2  |    |    |    |    |
| Pachychila sp.          |       |    |      |          |    |    |    |    |    | 2  | 1   | 2  | 1  |    |    | 1   | 2  | 2  |    |    |    |    | 2  |    |    |    |    |
| Heliotaurus sp.         |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     | 1  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sepidium sp.            |       |    |      |          |    | 1  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Chr. Bankii             |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| <i>Timarcha</i> sp.     |       | 1  |      | 2        |    |    |    |    |    |    |     | 1  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Rhagonycha sp.          |       |    |      |          |    |    |    |    |    | 1  |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Tro. Squalida           |       |    |      |          | 1  |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Onthophagus sp.1        |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Onthophagus sp.2        |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| V. canescence           |       |    | 1    | 2        |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| N. vitripennis          |       |    |      |          | 1  |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ve. germanica           |       | 3  |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Aphidius sp.            |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    | 8   |    | 7  |    | 9  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ca. Viatica             |       | 12 | 23   | 41       | 11 | 12 | 10 | 5  | 9  | 17 |     | 3  | 5  | 3  | 8  | 2   | 7  | 2  | 9  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Messor sp.              |       | 11 |      | 5        | 6  |    | 7  | 10 |    | 9  | 6   |    |    | 5  |    | 6   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Miridae sp.             |       |    |      |          | 1  |    |    |    |    |    |     |    | 1  |    |    |     |    |    | 1  |    |    |    |    | 4  |    |    |    |
| Oniscus sp.             |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    | 6   |    |    | 4  |    |    |    | 4  |    |    |    |    |
| Araneae spp.            |       |    |      |          |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    | 4  |    |    |    |    |

Tableau 3.29 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres témoins (suite).

| Stade                   | Fra | is | Go | nflé | Puti | réfié |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    | Sec |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-------------------------|-----|----|----|------|------|-------|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Jour                    | 1   | 2  | 3  | 4    | 5    | 6     | 7  | 8   | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17  | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| L. sericata             | 16  | 28 | 10 | 54   | 579  | 484   | 91 | 134 | 45 | 32 | 21 | 12 |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| L. sericata (larves)    |     |    |    | 76   | 67   | 76    | 54 | 78  | 68 | 64 | 43 | 44 |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| C. vicina               | 4   | 3  | 6  | 15   | 24   |       | 25 | 43  | 33 |    | 12 | 16 |    | 4  |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| C. vomitoria            |     |    | 4  |      |      | 3     |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ch. albiceps            |     |    |    |      | 8    | 6     | 6  | 19  | 11 | 5  | 2  | 3  | 8  |    | 3  |    | 4   | 15 | 12 |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ch. albiceps (larves)   |     |    |    | 68   |      | 36    | 43 | 34  | 49 | 65 | 54 |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Po. vagabunda           |     |    | 4  | 15   |      | 29    |    | 13  |    | 12 |    | 3  |    | 1  |    | 4  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Po. rudis               |     |    |    |      | 1    | 5     |    | 8   |    | 5  | 7  | 2  | 1  |    | 2  |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes des Calliphoridae |     |    |    |      |      |       |    |     |    | Р  |    | Р  |    |    |    |    |     |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. africa               |     |    |    |      | 4    | 8     | 5  | 4   |    |    | 5  | 1  |    | 3  | 2  |    | 5   |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. tibialis             |     |    |    |      |      | 6     | 9  |     |    | 2  |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. pandellei            |     |    |    |      |      |       |    | 1   |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |
| S. argyrostoma          |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    |    |    | 3  |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyia sp.           |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    |    |    | 6  |    |    | 3   | 4  |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |
| Delia sp                |     |    |    |      | 9    | 32    | 24 | 12  | 29 | 23 |    | 13 |    | 5  |    |    | 4   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyiidae spp.       |     |    |    |      |      | 3     |    |     |    |    |    | 2  | 1  |    |    |    | 3   |    | 4  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Chloropidae sp.         |     |    |    |      |      | 4     |    | 6   |    |    |    | 3  |    | 8  |    |    | 19  |    | 5  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. ignava               |     |    |    | 30   | 19   |       | 15 |     | 23 | 15 | 16 | 11 |    | 5  |    | 3  | 4   | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. dentipes             |     |    |    | 36   |      | 33    |    | 29  | 11 |    | 29 | 42 |    |    | 16 |    | 15  | 6  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Azelia sp.              |     |    |    |      |      | 1     |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| St. calcitrans          |     |    |    |      |      | 1     |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| M. domestica            |     |    |    |      | 11   |       | 12 | 10  | 10 | 9  |    | 6  | 8  |    | 4  |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. prolapsa            |     |    |    |      | 5    | 11    |    | 5   |    |    | 5  |    | 3  |    |    |    | 1   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. stabulans           |     | 5  |    | 11   | 7    | 5     | 9  | 5   | 4  | 3  |    | 1  | 1  | 5  |    |    |     |    | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Phaonia subventa        |     |    |    |      | 3    | 4     | 3  | 6   | 3  | 2  | 3  |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes (Muscidae)        |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. canicularis          |     |    |    |      |      | 3     | 6  | 3   | 8  |    | 5  |    | 6  | 1  |    | 2  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. monilis              |     |    |    |      | 2    | 3     |    | 2   |    | 1  |    | 2  | 1  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Pupes (Fanniidae)       |     |    |    |      |      |       |    |     |    | Р  |    | Р  |    |    |    |    |     |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Piophila casei          |     |    | 5  |      | 6    |       |    | 3   |    | 2  |    |    |    |    |    |    | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Piophila nigriceps      |     |    |    |      |      | 3     |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sepsis sp.              |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    | 2  |    | 3  |    |    |     | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Drosophila sp.          |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    |    | 1  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Thereva sp.             |     |    |    |      |      | 7     |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    | 8  |    |    |    |    |
| Tipula sp.              |     |    |    |      |      |       |    |     |    |    |    | 2  |    |    |    |    | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Culex sp.               |     |    |    |      |      | 12    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     | 9  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

Tableau 3.30 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres emballés.

| Stade                       | Fra | ais | Go | nflé | Putr | éfié |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Sec |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-----------------------------|-----|-----|----|------|------|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Jour                        | 1   | 2   | 3  | 4    | 5    | 6    | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17  | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| D. frischii                 |     |     |    |      |      | 9    | 7  | 16 | 11 | 34 | 19 | 45 | 54 | 59 | 34 | 23 | 29  | 21 | 7  | 9  | 2  | 6  | 10 | 6  | 3  | 8  | 15 |
| D. frischii (larves)        |     |     |    |      |      |      | 3  | 13 | 5  | 5  | 8  | 9  | 5  |    | 5  | 2  |     | 3  | 1  |    | 2  | 1  |    |    | 3  |    |    |
| N. rufipes                  |     |     |    |      |      | 4    | 2  |    |    | 3  |    | 5  |    |    | 2  |    |     |    |    |    |    | 2  |    |    |    |    |    |
| N. violaceae                |     |     |    | 3    |      |      |    |    |    |    |    |    | 2  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| C. maxillosus               |     |     |    | 12   |      | 34   | 56 | 22 | 46 | 31 | 32 | 29 |    | 12 | 22 |    | 18  | 20 | 5  | 4  | 7  |    | 3  |    | 8  |    |    |
| C. maxillosus (larves)      |     |     |    |      |      | 5    | 8  |    | 7  |    | 4  |    |    | 5  |    |    |     |    |    | 3  |    |    |    |    |    |    |    |
| philonthus sp.              |     |     |    |      | 2    |      |    | 6  |    | 10 |    | 12 | 8  |    | 8  | 9  | 10  | 7  |    | 5  | 3  |    |    |    |    |    |    |
| philonthus sp. (larves)     |     |     |    |      |      |      |    | 4  |    |    | 3  |    |    |    |    | 3  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Si. tristis                 |     |     |    |      |      | 2    |    | 12 |    | 5  |    | 7  | 4  |    |    | 10 | 12  | 20 | 15 |    | 12 | 10 | 4  |    |    |    |    |
| Si. tristis (larves)        |     |     |    |      |      | 1    |    |    | 5  | 3  |    | 4  |    |    |    | 3  |     | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| T. sinuatus                 |     |     |    |      | 1    | 2    | 16 | 8  | 32 | 6  | 19 | 8  | 14 |    | 2  |    | 2   |    | 6  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| <i>T. sinuatus</i> (larves) |     |     |    |      |      |      |    |    |    | 1  | 2  | 1  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| N. humator                  |     |     |    |      |      |      |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sa. semistriatus            |     |     |    |      | 1    |      | 15 | 12 | 34 | 15 | 21 | 19 | 7  | 9  | 2  |    | 4   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Tr. perlatus                |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    | 2  |    |    | 1  |     |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Timarcha sp.                |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |
| Choleva sp.                 |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    | 4  |    |    |    |    |
| Sepidium sp.                |     |     |    |      | 1    |      |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Na. vitripennis             |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    | 1  |    |    |    |    |    |
| Vespula germanica           |     |     |    |      |      | 1    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Aphidius sp.                |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    | 5  | 6  |    | 9  |    | 4   |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ca. viatica                 |     |     | 24 | 22   | 34   |      | 24 | 12 |    | 10 |    | 15 | 38 |    |    | 6  | 12  | 8  | 2  |    | 6  | 9  | 12 |    |    |    |    |
| Messor sp.                  |     |     |    |      | 1    |      | 8  |    |    | 6  |    | 7  |    | 9  |    |    |     | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Oniscus sp.                 |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    |    | 15 |    | 9  | 5   |    | 14 |    | 3  |    |    |    |    |    |    |
| Araneae spp.                |     |     |    |      |      |      |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    | 3  | 5  |    | 9  |    |    |    |    |

### Tableau 3.30 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres emballés (suite).

| Stade                | Frais | Go  | nflé | Putréfié |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    | Se | C  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----------------------|-------|-----|------|----------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Jour                 | 1     | 2   | 3    | 4        | 5   | 6   | 7  | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| L. sericata          | 5     | 210 | 201  | 221      | 292 | 209 | 10 | 65 | 44 | 22 | 11 | 51 | 22 | 11 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| L. sericata (larves) |       |     |      | 49       | 65  | 12  | 69 | 99 | 87 | 64 | 68 | 21 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| C. vicina            | 11    | 19  | 14   | 22       | 56  | 11  | 30 | 29 | 28 | 5  | 10 | 5  | 2  |    |    | 5  | 10 | 1  | 3  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |
| C. vomitoria         |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ch. albiceps         |       |     |      | 12       | 5   | 4   | 26 | 15 | 25 | 24 | 33 | 11 | 21 | 5  | 2  | 9  | 6  | 8  | 4  | 2  | 5  |    |    |    |    |    |    |
| Ch. albiceps         |       |     |      |          | 33  | 47  | 51 | 65 | 48 | 39 | 47 | 12 | 33 | 12 |    | 10 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| (larves)             |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Ch. megacephala      |       |     |      |          |     | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Po. vagabunda        |       |     | 12   | 5        | 15  | 7   |    | 9  | 11 | 7  | 2  | 4  | 7  | 5  | 6  |    |    |    | 12 |    |    |    |    |    |    | 5  | 10 |
| Pollenia rudis       |       |     |      | 12       | 4   | 5   | 2  | 9  | 2  | 5  | 8  |    | 9  | 8  | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Calliphoridae        |       |     |      |          |     |     |    |    | P  | Р  | Ρ  | Р  | Р  |    |    |    |    |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| (pupes)              |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. africa            |       |     |      | 2        | 7   | 5   | 10 | 8  | 7  | 11 | 7  | 4  |    |    | 11 | 10 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. tibialis          |       | 2   | 1    | 2        |     | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sarcophaga           |       |     | 3    |          |     | 2   |    |    |    |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| pandellei            |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| S. argyrostoma       |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    | 3  |    | 5  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sc. stercoraria      | 1     |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyia sp.        |       |     |      | 2        |     | 8   |    | 5  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Delia sp.            |       | 22  | 11   | 21       | 29  | 24  | 22 | 45 | 14 | 49 | 47 | 44 | 12 | 7  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Anthomyiidae spp.    |       | 5   | 8    | 4        |     |     |    |    |    |    |    | 5  | 7  |    | 8  |    |    |    | 8  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Chloropidae sp.      |       |     |      | 12       |     | 14  |    |    |    |    | 7  |    |    |    |    |    |    |    | 4  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. ignava            |       | 2   | 14   | 41       | 12  | 20  | 12 | 8  | 24 | 7  | 30 | 4  | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| H. dentipes          |       | 44  | 65   | 39       | 29  | 27  | 19 | 15 | 49 |    | 41 | 19 | 22 | 18 |    |    | 6  |    | 12 |    |    |    |    |    |    |    |    |
| St. calcitrans       |       |     |      |          |     | 3   |    |    |    |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Azelia sp.           |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    | 6  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| M. domestica         |       |     |      | 15       | 14  | 24  | 19 | 12 | 14 | 9  | 5  | 7  |    |    |    |    | 1  |    | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. prolapsa         |       | 6   |      | 4        | 9   | 4   | 2  | 6  | 4  | 2  | 4  | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mu. stabulans        | 12    | 7   | 25   | 19       | 22  | 17  | 9  | 15 | 12 | 1  |    | 4  |    | 3  | 2  | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |
| Ph. subventa         |       |     | 4    |          | 2   | 2   | 1  |    | 3  | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 7  |
| Muscidae (Pupes)     |       |     |      |          |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Ρ  | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. canicularis       |       | 2   | 2    | 1        | 7   | 3   | 3  | 4  | 1  | 3  | 1  | 2  | 3  | 5  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| <b>F W</b>           |       | 10  |      |          | _   | -   |    |    |    |    | -  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| F. monilis           |       | 12  | 5    | 2        | 5   | 3   | 2  | 1  |    |    | 2  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Fanniidae (Pupes)    |       |     |      |          |     |     |    |    |    | Р  | Р  | Р  |    |    |    |    |    |    | Р  |    |    |    |    |    |    |    |    |
|                      |       |     |      |          |     |     |    | _  |    |    |    | -  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| P. casei             |       | 4   | 2    | 2        | 2   | 1   | 3  | 5  | 9  | •  |    | 8  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Sepsis sp.           |       |     |      |          |     |     |    |    |    | 3  | 2  | 2  |    | 1  |    | 3  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 3  |

### Tableau 3.31 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres traités.

| Stade                       | Frais | Gor | nflé | Putréfié |    |    |     |    |    |    |    |    |     |    | Se | С  |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
|-----------------------------|-------|-----|------|----------|----|----|-----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|----|----|----|
| Jour                        | 1     | 2   | 3    | 4        | 5  | 6  | 7   | 8  | 9  | 10 | 11 | 12 | 13  | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22  | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| D. frischii                 |       |     | 3    | 5        | 19 | 24 | 14  | 25 | 22 | 17 | 44 | 19 | 17  | 14 | 18 | 17 | 14 | 11 | 8  | 9  | 35 | 37  | 14 | 16 | 21 | 25 | 14 |
| D. frischii (larves)        |       |     |      | 1        | 7  | 2  | 1   | 2  | 3  | 5  | 7  | 3  | 6   | 7  | 3  | 6  | 3  | 11 | 5  | 1  | 2  | 3   | 2  | 3  | 3  |    |    |
| N. rufipes                  |       | 1   | 1    | 5        | 3  | 2  | 2   |    | 4  |    | 2  | 3  | 5   |    |    |    |    |    | 3  |    |    |     |    | 2  |    | 4  |    |
| N. violaceae                |       |     |      |          |    | 3  |     |    |    | 2  |    |    | 3   |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| C. maxillosus               |       |     |      |          | 29 | 41 | 31  | 29 | 24 | 28 | 29 | 17 | 28  | 15 | 19 | 14 | 8  | 2  | 3  |    |    |     |    |    |    |    |    |
| C. maxillosus               |       |     |      |          |    |    | 2   | 3  |    |    |    |    | 5   |    |    |    |    |    | 1  |    |    |     |    |    |    |    |    |
| (larves)                    |       |     |      | 40       | 10 | 40 | 0.4 | 45 |    | 00 | 04 | 10 | 4.4 | 10 |    | -  | 0  |    | -  |    |    |     | 0  |    | 0  | 4  |    |
| Philonthus sp.              |       |     |      | 18       | 19 | 13 | 34  | 45 | 44 | 33 | 31 | 19 | 14  | 12 | 1  | 5  | 8  |    | 5  |    | 4  | 6   | 3  | 2  | 2  | 1  |    |
| philonthus sp.              |       |     |      |          |    |    |     |    |    |    | 4  |    | 2   |    | 4  |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| (larves)                    |       |     |      |          |    |    |     |    |    |    |    |    |     |    |    |    | 1  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Aleochara sp.               |       |     |      |          |    | 2  |     | 18 |    |    | 15 |    |     | 1/ | 11 | 5  | 2  | 9  | 1  | 1  | 5  | 1   |    |    |    |    |    |
|                             |       |     |      |          |    |    |     | 10 |    |    | 15 |    |     | 14 |    | 5  | 2  |    | '  | -  |    | _ ' |    |    |    |    |    |
| S. tristis (larves)         |       |     |      |          |    |    | 5   | 2  | 7  | 2  | 1  | 4  | 5   | 9  | 4  | 1  | 1  | 2  |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| T. sinuatus                 |       |     |      | 8        | 3  | 33 | 18  | 15 | 12 | 11 | 9  | 16 | 10  | 5  | 3  | 5  | 7  | 1  | 4  |    | 3  |     | 2  |    |    |    |    |
| <i>T. sinuatus</i> (larves) |       |     |      |          |    |    |     |    |    | 4  | 2  | 8  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Sa. semistriatus            |       |     | 5    | 2        | 17 | 19 | 22  | 14 | 12 | 11 | 10 | 8  | 22  | 2  | 5  | 7  | 2  | 14 | 10 | 1  | 2  | 5   |    |    |    |    |    |
| Tr. perlatus                |       |     |      |          | 7  | 2  |     | 3  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Sepidium sp.                |       |     |      |          |    |    |     | 5  |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| <i>Timarcha</i> sp.         |       |     | 2    |          | 2  |    |     |    |    |    |    | 1  |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| V. canescence               |       |     | 1    | 2        |    |    |     |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Na. vitripennis             |       |     |      |          | 1  |    |     |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Aphidius sp.                |       |     |      |          |    |    |     |    |    | 5  |    |    | 12  |    |    | 18 |    | 13 |    |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Ca. viatica                 |       | 12  | 23   | 41       | 11 | 12 | 10  | 5  | 9  | 17 |    | 3  | 5   | 3  | 8  | 2  | 7  | 2  | 9  |    |    |     |    |    |    |    |    |
| Messor sp.                  |       | 5   |      | 9        |    | 5  |     | 4  |    | 9  |    | 3  |     | 8  | 5  |    | 5  |    |    |    | 2  |     |    |    |    |    |    |
| Oniscus sp.                 |       |     |      |          |    |    |     |    |    |    |    |    |     |    |    | 15 |    |    | 12 |    | 10 |     | 8  | 2  |    |    |    |
| Araneae spp.                |       |     |      |          |    |    |     |    |    |    |    |    |     |    |    |    |    |    |    |    |    |     | 4  | 3  | 2  | 1  | 2  |

### Tableau 3.31 : Matrice d'occurrence des espèces d'arthropodes sur les cadavres traités (suite).

### 3.4.5. <u>Abondance des arthropodes selon les stades de décomposition des</u> <u>cadavres</u>

Le stade de dessèchement a enregistré des valeurs d'abondance plus élevées tandis que de faibles effectifs ont été observés au stade frais (tableau 3.32). En ce qui concerne l'ordre des Diptères, l'abondance la plus élevée a été observée chez tous les cadavres au stade de dessèchement. Pour les Coléoptères, l'abondance la plus élevée a été notée au stade sec chez tous les individus. Quand à la richesse spécifique, le stade sec a présenté des valeurs supérieures.

Tableau 3.32 : Abondance absolue des ordres d'arthropodes survenus sur les cadavres selon les stades de décomposition.

| Stade       |    | Frais |     |     | Gonflé |     |     | Putréfié |     |      | Sec  |      |
|-------------|----|-------|-----|-----|--------|-----|-----|----------|-----|------|------|------|
|             | Τ. | Emb.  | Tr. | Τ.  | Emb.   | Tr. | Τ.  | Emb.     | Tr. | Τ.   | Emb. | Tr.  |
| Diptera     | 39 | 61    | 29  | 829 | 263    | 702 | 606 | 1550     | 486 | 3285 | 1899 | 3358 |
| Coleoptera  | 0  | 0     | 0   | 7   | 15     | 12  | 63  | 62       | 39  | 1736 | 1324 | 1727 |
| Hymenoptera | 0  | 0     | 0   | 50  | 46     | 41  | 48  | 36       | 24  | 177  | 214  | 193  |
| Hemiptera   | 0  | 0     | 0   | 0   | 0      | 0   | 0   | 0        | 0   | 7    | 46   | 47   |
| Isopoda     | 0  | 0     | 0   | 0   | 0      | 0   | 0   | 0        | 0   | 14   | 17   | 12   |
| Araneae     | 0  | 0     | 0   | 0   | 0      | 0   | 0   | 0        | 0   | 4    | 0    | 0    |
| Total       | 39 | 61    | 29  | 886 | 324    | 755 | 717 | 1648     | 549 | 5223 | 3500 | 5337 |
| RS          | 5  | 4     | 4   | 23  | 8      | 22  | 28  | 34       | 27  | 50   | 47   | 45   |

Abréviations : T., témoins ; Emb., emballés ; Tr., traités, RS, richesse spécifique.

### 3.4.6. Les analyses toxicologiques

Les concentrations ante-mortem de l'éthanol sont mentionnées dans le tableau 3.33. Les chromatogrammes obtenus de la chromatographie en phase gazeuse sont montrés sur les figures 1 et 2 de l'Appendice E. Le taux ante-mortem de l'éthanol mesuré à partir des échantillons du sang variait entre 0,50 et 0.74 g/L. Les concentrations de l'éthanol obtenues des échantillons des tissus larvaires oscillaient entre 0,178 et 0,282 g/L chez les cadavres traités et entre 0,196 et 0,247 g/L chez les témoins.

| Cadavre  | Concentration ante- mortem<br>(g/L) | Concentrations des larves<br>(g/L) |
|----------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Traité 1 | 0,74                                | 0,260                              |
| Traité 2 | 0,70                                | 0,280                              |
| Traité 3 | 0,60                                | 0,178                              |
| Traité 4 | 0,65                                | 0,198                              |
| Traité 5 | 0,50                                | 0,282                              |
| Traité 6 | 0,55                                | 0,223                              |
| Témoin 1 | -                                   | 0,247                              |
| Témoin 2 | -                                   | 0,233                              |
| Témoin 3 | -                                   | 0,196                              |
| Témoin 4 | -                                   | 0,236                              |
| Témoin 5 | -                                   | 0,211                              |
| Témoin 6 | -                                   | 0.191                              |

Tableau 3.33 : Concentrations de l'éthanol obtenues à partir du sang et des tissus larvaires.

### 3.4.7. Identification morphologique des espèces des familles des Diptères

### d'importance forensique

L'identification morphologique des adultes des principales espèces des Diptères nécrophages a été basée sur les critères illustrés sur les figures 3.11-3.19.



Figure 3.11: *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales).

(A) Cuilleron thoracique claire ; (B) Trois paires de macrochètes achrosticales, thorax vert métallique ; (C) Basicosta claire. Barre d'échelle 1 mm.



# Figure 3.12 : Morphologie de *Chrysomya albiceps* (Wiedmann, 1819) et *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales).

(A) Femelle de *Chrysomya albiceps*, gena (joues) jaunâtres, stigmate antérieur jaunâtre et cuilleron thoracique blanc ; (B) Mâle de *Chrysomya megacephala* montrant des joues oranges, un stigmate antérieur sombre, un cuilleron thoracique foncé ; (C) Tête du mâle de *Chrysomya megacephala* en vue fronto-latérale, ligne de démarcation séparant les grandes facettes oculaires supérieures des petites facettes oculaires inférieures (flèche) ; (D) Tête du mâle de *Chrysomya megacephala* en vue frontale, ligne de démarcation séparant les grandes facettes oculaire supérieures des petites facettes inférieures (flèche) ; (D) Tête du mâle de *Chrysomya megacephala* en vue frontale, ligne de démarcation séparant les grandes facettes oculaire supérieures des petites facettes inférieures (flèche) ; (E) Femelle de *Chrysomya megacephala*, tête en vue frontale montrant la plaque fronto-orbitaire sombre. Barre d'échelle 1



Figure 3.13 : *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Diptera, Calliphoridae) (photos originales).

Poils géniques orangés, stigmate thoracique orange, tronc radial nu ; (B) Cuilleron thoracique noir ; (C) Trois paires de macrochètes achrosticales sur la zone postsutural ; (D) Basicosta jaune-orangé. Barre d'échelle 1 mm.



Figure 3.14 : *Calliphora vomitoria* (Linnæus, 1758) (Diptera: Calliphoridae) (photos originales).

Morphologie générale de *C. vomitoria* ; (B) gena gris-noirâtre, couvertes en dessous de poils orangés. Barre d'échelle 1 mm.



Figure 3.15 : Morphologie des Calliphoridae de la sous familles des *Polleniinae* (photos originales).

(A) *Pollenia vagabunda* (Meigen, 1826); (B) *Pollenia rudis* (Fabricius, 1794). Barre d'échelle 1 mm (photos originales).



D



Figure 3.16 : Morphologie de quelques espèces de la famille des Sarcophagidae (photos originales).

- (A) Sarcophaga africa (Wiedemann, 1824); (B) Sarcophaga pandellei (Rohdendorf, 1937); (C)
   Sarcophaga argyrostoma (Robineau-Desvoidy, 1830);
  - (D) Sarcophaga tibialis (Macquart, 1851). Barre d'échelle 1 mm.

С



Figure 3.17 : Morphologie de quelques espèces de la famille des Muscidae (photos originales).

(A) Hydrotaea ignava (Harris, 1780); (B) Hydrotaea dentipes (Fabricius, 1805)
(C) Muscina stabulans (Fallén, 1817); (D) Muscina prolapsa (Harris, 1780); (E) Musca domestica (Linnæus, 1758). Barre d'échelle 1 mm.



Figure 3.18 : Morphologie de quelques espèces de la famille des Fanniidae (photos originales).

(A) Fannia canicularis (Linnæus, 1760); (B) Fannia monilis (Haliday, 1838). Barre d'échelle 1 mm.



Figure 3.19 : Morphologie de quelques espèces de la famille des Piophilidae (photos originales).

(A) Piophila casei (Linnæus, 1758) ; (B) Piophila nigriceps (Meigen, 1826). Barre d'échelle 1 mm.

### 3.5. Entomogénétique

### 3.5.1. Résultats de l'analyse spectrophotométrique

Le résultat de l'analyse spectrophotométrique est montré sur le Tableau 5 de l'Appendice F. La technique d'extraction d'ADN en utilisant le kit DNeasy® Blood and Tissue (Qiagen, Allemagne) a donnée des quantités d'ADN adéquates pour l'amplification de la cytochrome c oxydase I de tous les échantillons utilisés. Les concentrations d'ADN extraites de deux pattes des Calliphoridae varient de 3 à 9,2 ng/µL. Chez les Sarcophagidae, les concentrations des extraits d'ADN d'une patte oscillient entre 5,5 et 13,2 ng/µL. Chez les Piophilidae le rendement de l'ADN extrait d'une mouche adulte entière varie entre 3,1 et 6,7 ng/µL.

### 3.5.2. Résultats de l'amplification de l'ADN

Des fragments du gène mitochondrial COI de 65 spécimens mesurant entre 492 et 506 pb et appartenant à 13 espèces de mouches nécrophages ont été amplifiés et séquencé avec succès (Figure 3.20).

Le résultat de l'identification moléculaire des échantillons utilisés dans cette étude avec leurs taux de similarité sur la base de données GenBank est montré dans le tableau 6 de l'Appendice F. Tous les spécimens ont été correctement identifiés à l'aide de l'outil nBLAST à partir de la base de donnée GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Cependant, la base de donnée BOLD (http://www.boldsystems.org) n'a montré aucun résultat. Le pourcentage de similarité du premier hit variait entre 95 et 100% chez les Calliphoridae, entre 91 et 99% chez les Sarcophagidae et entre 91 et 100% chez les Piophilidae.



Figure 3.20 : Visualisation des bandes des amplifiâts de la PCR sur le gel d'agarose après électrophorèse des adultes de treize espèces de mouches nécrophages utilisées dans notre étude (photo originale).

#### 3.5.3. L'analyse phylogénétique

L'arbre phylogénétique de chaque famille inclue non seulement les spécimens algériens, mais aussi des séquences de spécimens du monde entier a été construit avec la méthode NJ [275].

Une recherche sur GenBank a été effectuée pour obtenir les séquences d'ADN des mêmes espèces provenant de plusieurs écozones. Chaque pays a été désigné par son code ISO. Le numéro d'accession sur GenBank de chaque séquence a été également mentionné.

### 3.5.3.1. Les Calliphoridae

L'arbre optimal des Calliphoridae avec la somme de longueur de branche=2,41 est montré sur la figure 3.21. Le pourcentage d'arbres répliqués dans lesquels les taxons associés regroupés dans le test bootstrap (500 répétitions) sont affichés au-dessus des branches [280].

L'arbre a été dessiné à l'échelle, avec des longueurs de branche dans les mêmes unités que celles des distances évolutives utilisées pour déduire l'arbre phylogénétique. L'analyse a porté sur 73 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y a un total de 107 positions dans l'ensemble de données finales.

Nous remarquons que les séquences de chaque espèce algérienne des Calliphoridae se situent sur la même branche sous forme de groupes avec la séquence de la même espèce originaire de l'Espagne. Les populations des mouches Calliphoridae algériennes semblent être séparées des autres populations des différents pays sauf celle des mouches Calliphoridae espagnoles (figure 3.21).



Figure 3.21 : Arbre phylogénétique des Calliphoridae réalisé par la méthode Neighbor-Joining utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila melanogaster* a été définie comme un groupe externe.

Abréviations : AU, Australie ; CA, Canada ; CN, Chine ; DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; EG, Egypte ; ES, Espagne ; IN, Inde ; IT, Italie ; UK, Royaumes Unies ; US, Etats-Unis ; ZA, Sud d'Afrique.

### 3.5.3.2. Les Sarcophagidae

L'arbre phylogénétique des Sarcophagidae est montré sur la figure 3.22. L'arbre optimal a été tracé avec une somme de longueur de branche =1,87. Le pourcentage d'arbres répliqués dans lesquels les taxons associés regroupés dans le test bootstrap (500 répétitions) sont affichés au-dessus des branches [280].

L'arbre a été tracé à l'échelle, avec des longueurs de branche dans les mêmes unités que celles des distances évolutives utilisées pour déduire l'arbre phylogénétique. L'analyse a impliqué 33 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y avait un total de 109 positions dans l'ensemble des données finales.

Nous constatons que les séquences de *S. pandellei* et de *S. argyrostoma* originaire de l'Algérie sont groupées sur l'arbre avec celles des mêmes espèces provenant de l'Espagne. Les séquences de ces espèces des autres pays apparaissent sur des branches différentes. Les séquences de *S. africa* et *S. tibialis* se situent également sur des branches sous formes de groupes séparés, chacun contenant les échantillons de la même espèce. Cependant, toutes les séquences des différentes écozones du monde de *S. africa* et *S. tibialis* se trouvent sur des endroits différentes de l'arbre.



Figure 3.22 : Arbre phylogénétique des Sarcophagidae réalisé par la méthode Neighbor-Joining en utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila yakuba* et *Musca Domestica* ont été utilisées comme un groupe externe.

Abréviations : AU, Australie ; CA, Canada ;.CL, Chili ; CN, Chine ; CZ, Tchèque; EG, DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; Egypte ES, Espagne ; HR, Croatie ; IN, Inde ; IT, Italie ;; UK, Royaumes Unies ; US, Etats-Unis ; ZA, Sud d'Afrique .

#### 3.5.3.3. Les Piophilidae

L'arbre optimal des Piophilidae avec la somme de la longueur de branche=1,07 est montré sur la figure 3.23. Le pourcentage d'arbres répliqués dans lesquels les taxons associés regroupés dans le test bootstrap (500 répétitions) sont affichés au-dessus des branches [280]. L'arbre a été dessiné à l'échelle, avec des longueurs de branche dans les mêmes unités que celles des distances évolutives utilisées pour déduire l'arbre phylogénétique. L'analyse a impliqué 14 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y avait un total de 297 positions dans l'ensemble des données finales.

Nous observons que les séquences de *P. nigriceps* et *P. casei* de l'Algérie apparaît dans deux groupes séparés. Les séquences des mêmes espèces provenant des autres pays se trouvent sur des branches séparées.



Figure 3.23 : Arbre phylogénétique des Piophilidae réalisé par la méthode Neighbor-Joining en utilisant le modèle de substitution de Kimura à deux paramètres et 500 supports bootstrap. *Drosophila yakuba* a été utilisée comme un groupe externe.

Abréviations : CH, Suisse ; DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; ES, Espagne ; PL, Pologne ; PT, Portugal ; US, Etats-Unis ; US-AK, Etats-Unis Alaska.

#### 3.5.4. La variation intra- et interspécifique

#### 3.5.4.1. Les Calliphoridae

Les pourcentages de polymorphisme intra- et interspécifiques des espèces Calliphoridae dans le cadre de notre étude sont donnés dans le tableau 7 de l'Appendice F. Le nombre de substitutions de bases par site d'une séquence à l'autre a été calculé. Les analyses ont été menées en utilisant le modèle de Kimura à 2 paramètres [278]. L'analyse a porté sur 73 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y avait un total de 107 positions dans l'ensemble des données finales. La divergence intra-spécifique des séquences de L. sericata de l'Algérie est très faible (0-0,9%). L. sericata de l'Espagne est similaire aux séquences de L. sericata de l'Algérie (0-0,9%). Le pourcentage de la variation intra-spécifique des séquences de L. sericata des autres pays et celles de l'Algérie varie entre 75,7 et 78,3%. Le Polymorphisme intra-spécifique des séquences Ch. albiceps (0-0,9%) est restreint alors que celui de Ch. megacephala est nul. Ch. albiceps de l'Espagne est similaire aux séquences de Ch. albiceps de l'Algérie (0-0,9%). La similarité des séquences de Ch. albiceps des autres pays et celles de l'Algérie varie entre 78,3 et 83,8%. Aucune séquence de Ch. megacephala de l'Espagne n'a été trouvé sur GenBank. Les séquences de Ch. megacephala provenant des différentes régions du monde que nous avons utilisé présentent des pourcentages de divergence élevés (5,99-7,59%) sauf celle provenant du Brésil qui est similaire à nos séquences de l'Algérie (0-29%).

Le polymorphisme intra-spécifique de nos séquences de *C. vicina* est nul alors que celui de *C. vomitoria* (0-0,9%) est bas. *C. vicina* et *C. vomitoria* de l'Espagne sont similaire à nos séquences et représentent un pourcentage variant entre 0 et 3,9% pour *C. vicina* et entre 0,9 et 4,8% pour *C. vomitoria*. Les séquences de *C. vicina* et *C. vomitoria* que nous avons utilisé provenant des différentes régions du monde présentent des pourcentage de divergence supérieurs variant entre 7,07 et 8,13% pour *C. vicina* et entre 7,07 et 7,32% pour *C. vomitoria*. La divergence intra-spécifique de nos séquences de *Po. vagabunda* est nulle alors que celle de *Po. rudis* fluctue entre 0 et 0,9%. Les séquences de *Po. vagabunda* disponible sur GenBank proviennent uniquement du Canada. La séquence canadienne du *Po. vagabunda* n'est pas similaire à nos séquences et la même espèce (89,8%). *Po rudis* de l'Espagne était similaire à nos séquences et

représentent un pourcentage variant entre 0 et 9%. Cependant, les séquences de *Po. rudis* originaire de l'Inde et du Canada montrent de hauts pourcentages de divergence variant entre 71 et 73,3%. L'analyse de la divergence interspécifique des Calliphoridae révèle la présence des valeurs proches. *Calliphora vomitoria* et *Pollenia vagabunda* présentent les séquences les moins similaires (19,1%). En général, les membres de la même sous-famille sont plus proches les uns des autres que les membres d'autres sous-familles. La variation entre les espèces des sous-familles *Chrysomyiinae* et *Luciliinae* varie de 3,8 à 10%, entre *Calliphorinae* et 12,2%, entre *Polleniinae* et *Luciliinae* 9 et 14,4%, entre *Polleniinae* et *Chrysomyiinae* 10,1 et 16,8% et entre *Polleniinae* et *Calliphorinae* 9,1 et 19,1%.

### 3.5.4.2. Les Sarcophagidae

Les variations intra- et interspécifiques des Sarcophagidae sont présentées sur le tableau 8 de l'Appendice F. Le nombre de substitutions de bases par site d'une séquence à l'autre est indiqué. Les analyses ont été menées en utilisant le modèle de Kimura à 2 paramètres [278]. L'analyse a porté sur 43 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y a un total de 444 positions dans l'ensemble de données final.

La divergence intra-spécifique de nos séquences de *S. argyrostoma* est nulle tandis que celles de *S. pandellei* (0-0,9%), *S. africa* (0-0,9%) et *S. tibialis* (0-0,9%) sont restreintes. *S. argyrostoma* et *S. pandellei* de l'Espagne était similaire à nos séquences et représentent un pourcentage variant entre 0,9 et 6,7%. Cependant, les séquences de *S. africa* et *S. tibialis* provenant de l'Espagne montrent des pourcentages de divergence plus élevés fluctuant entre 8,8 et 13,1% chez *S. africa* et entre 67,6 et 70,2% chez *S. tibialis*. Les séquences des espèces Sarcophagidae originaires des autres pays ne sont pas similaires à nos séquences (55,5-81,7%). L'analyse de la divergence interspécifique des Sarcophagidae montre des valeurs proches les une aux autres oscillant entre 6,7 et 24%. *S. africa* et *S. pandellei* sont les séquences les moins similaires (divergence de 24%).

### 3.5.4.3. Les Piophilidae

Les variations intra- et interspécifique des Piophilidae sont présentées sur le tableau 9 de l'Appendice F. Le nombre de substitutions de base par site entre les séquences est indiqué. Les analyses ont été effectuées à l'aide du modèle de Kimura à 2 paramètres [278]. L'analyse a impliqué 14 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. Il y a un total de 297 positions dans l'ensemble de données final. La divergence intra-spécifique des séquences de *P. casei* et de *P. nigriceps* est nulle. Toutes les séquences de *P. nigriceps* et *P. casei* des autres pays ne sont pas similaires à nos séquences (66-76,6%) L'analyse de la divergence interspécifique entre *P. nigriceps* et *P. casei* montre des valeurs proches les une aux autres qui varient entre 12,8 et 17,4%.

### CHAPITRE 4 DISCUSSION

### 4.1. Distribution de Lucilia sericata, Calliphora vicina et Chrysomya albiceps en Algérie

### 4.1.1. Occurrence spatio-temporelle

Ce travail est le premier à examiner l'occurrence et la dynamique saisonnière de *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* et *Chrysomya albiceps* en Algérie.

Dans cette étude, *L. sericata* est présente en Algérie dans les zones bioclimatiques humides, subhumides, semi-arides et sahariennes préférant un climat chaud. *Lucilia sericata* est connu sous le nom de *Phaenicia sericata* chez les auteurs américains. Originaire de l'Europe, *L. sericata* est surtout présente dans la région holarctique. Elle est cosmopolite et présente partout dans le monde [120][281]. VALACHOVÀ et al. [282] signalent que *L. sericata* ayant une distribution côtière est présente dans les climats chauds et humides.

*Calliphora vicina* préfère un climat tempéré à frais. Elle est présente dans les zones bioclimatiques humides, subhumides, semi-arides et sahariennes. *C. vicina* est l'une des espèces les plus abondantes sur les cadavres dans tous les habitats [1][283][284]. Elle est connue pour sa large distribution holarctique et sa présence dans toutes les écozones à l'exception des zones tropicales [285]. *Chrysomya albiceps* préfère les températures chaudes. Elle est signalée dans les régions climatiques humides, subhumides et semi-arides. *Ch. albiceps* est connue d'être une espèce favorisant les températures élevées et l'humidité [25][286]. Ceci est en accord avec notre observation puisqu'elle n'a été enregistrée que dans le nord du pays pendant les saisons chaudes et humides. A l'exception de certains records de *Ch. albiceps* de la France, cette espèce est rare dans la région paléarctique du nord [9]. Cependant, *Ch. albiceps* est très fréquemment signalé dans la région paléarctique du sud, en Afrique du Nord, dans la zone afrotropicale, orientale (de l'Inde à la Chine) et néotropicale (Amérique centrale et du Sud) et aux Etats-Unis [129][287]–[291].

### 4.1.2. Occurrence selon le type de l'habitat

Dans cette étude *L. sericata*, *C. vicina* et *Ch. albiceps* étaient présentes dans une grande variété d'habitats. *L. sericata* est une espèce synanthropique qui préfère les zones urbanisées [16][284][292]. *Calliphora vicina* est également considérée comme une espèce synanthropique commune dans les zones urbaines [62]. VINOGRADOVA et REZNIK [293] ont rapporté que *C. vicina* était une espèce optionnellement synanthropique trouvé dans les milieux urbains et naturels [293][294]. VELASQUEZ [294] ont observé que *Calliphora vicina* était fréquente sur les cadavres découverts dans les écosystèmes synanthropes et asynanthropes. En ce qui concerne *Ch. albiceps*, il s'agit d'une espèce hémisynanthropique [295][296]. Ces observations sont en accord avec nos résultats.

Les facteurs climatiques qui influent la dynamique saisonnière des insectes semblent expliquer la distribution altitudinale de ces espèces [295][297]. LAMBIASE et CAMERINI [295] ont observé deux espèces thermophiles à faible altitude : *Lucilia sericata* et *Chrysomya albiceps* alors que les hautes altitudes étaient représentées par *Calliphora vicina* et *Calliphora vomitoria*. En contraste, *L. sericata* a été signalée dans notre étude à Tikjda, une zone montagneuse dont l'altitude est de 1561 m.

### 4.1.3. <u>Distribution saisonnière de *L. sericata* et *C. vicina* dans deux habitats <u>différents</u></u>

Au cours des relevés des dynamiques saisonniers, *Chrysomya albiceps* n'a pas été enregistrée sur les appâts de viande. Cela peut être due au fait qu'il s'agit d'une espèce secondaire ou à sa préférence pour un type d'appât particulier puisqu'elle a été attirée par des appâts, par des cadavres animaux et par des corps humains au cours de cette étude. Par conséquent, l'étude de l'influence de la taille et du type d'appât sur l'attraction de *Ch. albiceps* a besoin d'une recherche plus approfondie.

*Chrysomya albiceps* semble être une espèce moins commune en Algérie que *L. sericata* et *C. vicina*. C'est l'une des espèces les plus fréquemment rencontrées en Afrique du Sud et en Égypte où elle est considérée comme une espèce estivale [20][287]. Nos résultats montrent que *Ch. albiceps* était présente du mois d'avril jusqu'à octobre. De même, BAZ et al. [298] ont rapporté l'occurrence de *Ch. albiceps* de mai à octobre au centre de l'Espagne. Au Portugal, PRADO e

CASTRO [129] ont trouvé cette espèce abondante durant l'été et l'automne à Lisbonne. Ainsi, nos observations concordent avec la littérature selon laquelle cette espèce préfère les températures tièdes à chaudes [9][28].

Les effectifs de *L. sericata* et *C. vicina* piégés n'ont pas montré de différence significative entre le milieu urbain et le milieu forestier (P>0,05). *L. sericata* était présente toute au long de l'année avec une préférence pour la saison printanière. Ces observations sont conformes aux résultats rapportés dans des études antérieures [15][284][299].

À Lisbonne, PRADO E CASTRO et al. [129] ont enregistré la présence de *L. sericata* au printemps, en été et en automne. VANIN et al. [292] ont indiqué que la dynamique des communautés d'Europe du Sud de cette espèce différait de celles des pays d'Europe centrale et d'Europe du Nord. De même, des collectes de *L. sericata* à partir des corps humains en hiver (février et novembre) ont également été signalées en Espagne [28]. Par conséquent, à partir de la découverte de pupes de *L. sericata* sur des cadavres en hiver, nous ne pouvons pas conclure que la mort s'est produite en été.

Dans cette étude, *C. vicina* avait une préférence pour l'hiver. Cette espèce a été observée d'être active durant les périodes hivernales les plus froides [14] et peut même coloniser des cadavres dans la neige [300]. En Allemagne, *C. vicina* a été trouvé sur des cadavres humains tout au long de l'année à Hambourg mais plus souvent en décembre, janvier et février [299]. Des spécimens de *C. vicina* ont été échantillonnés en Espagne au printemps à partir des dépouilles de porc [301]. ARNALDOS et al. [302] ont signalé la présence de ces espèces dans le sud-est de la péninsule Ibérique sur des cadavres d'animaux au printemps, en été et en hiver. En Calabre (sud de l'Italie), *C. vicina* a été observé en automne, en hiver et au printemps [303]. Ces observations sont similaires à nos résultats. Cependant, à Lisbonne, PRADO E CASTRO et al. [129] ont recueilli *C. vicina* pendant les quatre saisons sur des cadavres de porcs. De même, dans une étude en Belgique, FREDERICKX et al. [283] a échantillonné *C. vicina* tout au long de l'année. Cela peut être expliqué par la différence des températures moyennes saisonnières entre l'Europe et l'Afrique du Nord.

### 4.2. Etude du cycle de développement des principales mouches d'intérêt médicolégale

### 4.2.1. Estimation de la fécondité des populations des mouches

Durant notre étude, nous avons obtenu une moyenne de 236±14,50 œufs des pontes obtenues à partir des femelles de *L. sericata* et une moyenne de 260±40,47 œufs à partir des femelles de *C. vicina* collectées de l'extérieur et maintenues au laboratoire. WALL [84] a trouvé que les femelles gravides de *L. sericata* collectées sur le terrain contenaient en moyenne 225±7 ovocytes matures, ce qui ne différait pas significativement de celui des femelles maintenues au laboratoire, qui avaient une moyenne de 223±12 ovocytes par amas. La fécondité quotidienne moyenne sur 40 jours des individus nourris avec du poisson était 202,45±22,0 tandis que celle des mouches qui se sont alimentaire avait une influence sur la fécondité de *C. vicina* [304]. Pour cela, ont peut dire que la fécondité des mouches est influencé par des facteurs intrinsèque (l'espèce, la taille, etc.) et des facteurs extrinsèque (régime alimentaire).

### 4.2.2. <u>Évaluation de la durée du cycle de développement de L. sericata et C.</u> vicina

À partir des élevages de *L. sericata* à 24 et 27°C, il ressort que le pourcentage d'émergence était 84,67% et 83,33% respectivement. Le pourcentage d'émergence chez *C. vicina* était 68% à 24°C et 66,66% à 27°C.

Comme tous les insectes, les mouches nécrophages sont des animaux à sang froid ou poïkilothermes. Leur activité et développement dépendent strictement de la température [20]. Selon WALL et al. [305], le pourcentage d'émergence dépend de la température et est extrêmement variable, allant de 0 à 96%. GOSSELIN et al. [306] ont rapporté que le profil d'émergence d'une population unique à différentes températures constantes montrait une grande variabilité due au taux de développement individuel différent.

Nos résultats montrent que le taux d'émergence a augmenté avec l'augmentation de la température chez *L. sericata* mais a diminué avec l'augmentation de la température chez *C. vicina.* Cela peut être expliqué par les préférences thermiques de ces espèces.

Les données de cette étude comparées à d'autres références de la région paléarctique (tableau 4.1) montrent des taux de développement de *L. sericata* et *C. vicina* différents.

La durée du cycle de vie de *L. sericata* décrite dans cette recherche, de l'œuf à l'adulte, était 15 et 12,5 jours à 24 et 27 °C respectivement. Ces durées sont différentes des données fournies par MARCHENKO [25] (30,193 et 36,231 jours à 24 et 27°C respectivement) et par GRASSBERGER et REITER [120] (12,375 et 11,450 jours à 25 et 28°C respectivement).

La durée de développement de *C. vicina* était 18 jours à 24°C et 15°C à 27°C. Ces données diffèrent légèrement des donnée trouvées par MARCHENKO [25] (17,6 et 15,5 jours à 24 et 27°C respectivement) et par DEFILIPPO et al. [307] (17, 16 et 15 jours à 23, 25 et 28°C respectivement). Nos résultats montre que d'une façon générale, la durée de développement diminue avec l'augmentation de la température.

La disparité entre ces résultats peut être principalement expliquée par des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Dans une étude rapportée par WARREN et al. [308], la durée de développement de *L. sericata* sur le foie et le cœur du bœuf différait par 1 jour de celle sur des substrats du foie et du cœur du porc. La différences entre les données de la même espèce pourraient être due aux variations intra-spécifique des populations géographiquement séparées [308].

| Température | Durée (     | (jours)   | Béférence        |
|-------------|-------------|-----------|------------------|
| (°C)        | L. sericata | C. vicina |                  |
| 22          | 26,167      | -         | [25]             |
| 22          | 14,125      | -         | [120]            |
| 22          | 28,180      | 18,5      | [25]             |
| 23          | -           | 17,0      | [307]            |
| 24          | 30,193      | 17,6      | [25]             |
| 24          | 15,000      | 18,0      | L'étude présente |
|             | 32,206      | 16,6      | [25]             |
| 25          | 12,375      | -         | [120]            |
|             | -           | 16,0      | [307]            |
| 26          | 34,219      | 16,2      | [25]             |
| 27          | 36,231      | 15,5      | [25]             |
| 21          | 12,500      | 15,0      | L'étude présente |
|             | 38,244      | 14,9      | [25]             |
| 28          | 11,450      | -         | [120]            |
|             | -           | 15,0      | [307]            |

Tableau 4.1 : Comparaison de la durée de développement (en jours) de *L. sericata* et *C. vicina* de cette étude et de la littérature.

### 4.2.3. Estimation des températures moyennes journalières (ADD)

Le tableau 4.2 montre des sommes d'ADD de *L. sericata* et *C. vicina* obtenues à partir de notre étude et celles de la littérature de la région paléarctique. En utilisant le seuil de développement minimal de 9°C nous avons obtenu des sommes ADD de 210±15 et 207±12,73°C à 24 et 27°C respectivement. Nos valeurs sont similaires à celles données par MARCHENKO [25] (207°C).

Tableau 4.2 : Comparaison des températures journalières accumulées (ADD) de *L. sericata* et *C. vicina* de cette étude et de la littérature.

| <b>T</b> ( ( (00)                            | ADD         | (°C)      | Seuil           | D///             |
|--|-------------|-----------|-----------------|------------------|
| Temperatures (°C)                            | L. sericata | C. vicina | minimal<br>(°C) | Reference        |
| 23   | -           | 360,4±15  | 1,8°C           | [307]            |
| 24   | 210+15°C    | 374±22    | 2               | l'átudo prácopto |
| 24   | 210±15 C    | 391±23    | 1               | L'elude presente |
| 25   | -           | 371,2±0,0 | 1,8             | [307]            |
| 07   | 007.40.7000 | 375±25    | 2               |                  |
| 27   | 207±12,73°C | 390±26    | 1               | L'étude présente |
| 28   | -           | 393,0±8   | 1,8             | [307]            |
| R <sub>4</sub> (30, 24, 18 et 15)            | 223         | -         | 8,9             | [309]            |
| R <sub>5</sub> 30, 24, 18, 15 et 12)         | 226         | -         | 8,7             | [309]            |
| R <sub>6</sub> (30, 24, 18, 15, 12 et<br>10) | 228         | -         | 8,6             | [309]            |
| R <sub>3</sub> (10, 12 et 15)                | 243         | -         | 8,3             | [309]            |
| 11-30  | 207         | 388       | 9               | [25]             |

CERVANTÈS et al. [309] ont établi des modèles de régression linéaire adaptés à l'estimation du temps de développement total, en fonction de la température subie par *L. sericata*. Le modèle construit avec quatre températures,  $R_4$  (30, 24, 18 et 15°C) a permis d'obtenir un total de degrés-jours cumulés (ADD) de 223°C et un seuil de développement minimal  $T_{min}$  de 8,9°C. Le modèle à cinq températures,  $R_5$  (30, 24, 18, 15 et 12°C), a donné un ADD de 226°C et un  $T_{min}$  de 8,7°C, et le modèle  $R_6$  (30, 24, 18, 15 et 12, 10°C) a donné des valeurs très similaires à  $R_5$  (ADD=228°C et  $T_{min}$ =8,6°C). Cette étude indique que plus la température extrême est basse, plus les valeurs ADD et  $T_{min}$  sont élevées. Ces valeurs sont très différentes du modèle  $R_3$  (10, 12 et 15°C) (ADD=243°C et  $T_{min}$ =8,3°C) (tableau 4.2).

Ainsi, CERVANTÈS et al. [309] ont démontré que les valeurs de la constante thermique théorique ne sont pas fixes mais dépendent du modèle appliqué. Les

résultats obtenus avec  $R_3$  sont les plus proches à des données expérimentales testées par les mêmes auteurs. Afin d'obtenir une estimation correcte, CERVANTÈS et al. [309] ont proposé la combinaison du model  $R_3$  avec le model de MARCHENKO [25].

Concernant *C. vicina*, la constante de développement minimale n'est pas universellement acceptée et les valeurs publiées vont de 6°C [310] à 2°C [311][312]. DAVIES et RATCLIFFE [313] ont observé que les œufs de *C. vicina* éclosent à 3,5°C et ont donc conclu que le seuil minimal devait être inférieur à 3,5°C. AMES et TURNER [314] ont étudié le développement de *C. vicina* à des températures allant jusqu'à 1°C, mais ont conclu qu'il n'existait pas un seuil minimal évident.

En utilisant le seuil de développement minimal de 2°C, nous avons obtenu des sommes de 374±22 et 375±25°C à 24 et 27°C respectivement. En calculant avec le seuil de 1°C, les ADD obtenus étaient 390±26 et 391±23°C à 24 et 27°C respectivement.

Nos valeurs diffèrent légèrement de celles données par MARCHENKO [25] (207°C entre 11 et 30°C) et par DEFILIPPO et al. [307] 393.0±8.0 et 371.2±0.0°C à 25 et 28°C respectivement. Cette disparité dans la constante thermique de *C. vicina* peut être expliqué par la différence du model de croissance des espèces dans les différentes régions zoogéographiques [120].

### 4.3. Étude in vitro du pouvoir antimicrobien des larves de Lucilia sericata

### 4.3.1. La stérilisation

Le travail réalisé dans cette partie vise à maîtriser les méthodes de stérilisation des œufs et des larves de *L. sericata* 

La stérilisation des œufs ou des larves à utiliser en larvothérapie est une étape primordiale car les larves seront appliquées sur un patient à des fins thérapeutiques. Ainsi, la prévention des contaminants tels que le tétanos signalé par BAER [203] est une priorité.

L'évaluation du succès d'un produit désinfectant se base sur son effet sur la mortalité des œufs ou des larves ainsi que sur la présence des contaminants après la stérilisation. Dans cette étude, l'hypochlorite de sodium à 0,5% a donné un taux de mortalité de 23,43% et 16,67% chez les œufs et les larves respectivement. La polyvidone iodée à 10% a donnée un taux de mortalité de

77,08% et 47,50% chez les œufs et les larves respectivement. L'hexamidine à 0,1% a montré un taux de mortalité de 92,19% et 52,50% chez les œufs et les larves respectivement.

Aucune contamination n'a été observée après la stérilisation des œufs et des larves dans cette étude. Les larves stérilisées étaient plus viables car ces dernières étaient apparemment plus résistantes que les œufs [315].

Des études antérieures ont rapporté la stérilisation des œufs de mouches à l'aide de diverses substances. Les œufs de *L. sericata* ont été lavés avec une solution de lysol à 3%. Les larves stériles issues de ses œufs se sont avérées appropriées pour une application sur les plaies [316]. Ce désinfectant a été également recommandé pour stériliser les œufs de *L. sericata* et d'autres Calliphoridae. Une immersion de 10 minutes dans le Lysol à 3% a éliminé les bactéries aérobies de la surface externe de trois espèces d'œufs de Calliphoridae, tout en permettant des taux élevés d'éclosion des œufs [317].

Néanmoins, Les larves nouvellement écloses de *L. sericata* provenant d'œufs désinfectés nettoyés avec une solution de chloramine à 0,25% se sont révélées contaminées par *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* et *Paenibacillus pabuli* [245].

Dans une autre étude, YEONG et al. [318] ont signalé l'absence de flore microbienne sur les œufs de *Lucilia cuprina* (Wiedemann) après traitement de NaOCI à 0,05%, suivi de formaldéhyde à 5% sous microscope électronique à balayage. La stérilisation de *L. cuprina* avec la chlorhexidine (les détails de la concentration ne sont pas mentionnés) suivie par l'alcool à 70° présentait un taux d'éclosion élevé (36,67±4,41%) mais un faible taux de survie (31,67±1,67%). Néanmoins, une stérilité complète a été obtenue dans tous les cas, sauf que *Proteus mirabilis* a été régulièrement trouvé [315].

Une autre étude récente a été menée sur la stérilisation des œufs de *Chrysomya megacephala* et *L. cuprina* avec trois désinfectants : chlorhexidine à 0,05%, chlorhexidine-cétrimide chlorhexidine à 1,5%, polyvidone iodée à 10% et l'hypochlorite de sodium à 0,5%. Contrairement à nos résultats, la capacité de survie des larves chez les deux espèces n'était pas significativement différente entre les groupes traités et les témoins [319]. En raison de son efficacité de désinfection élevée dans la destruction des micro-organismes présents dans les œufs de mouches, la stérilisation avec l'hypochlorite de sodium à 0,5% a été

recommandée par ces auteurs [319]. Dans notre étude, la stérilisation des œufs et des larves de *L. sericata* avec l'hypochlorite de sodium à 0,5% était la meilleure méthode du point de vue du taux de mortalité des individus stérilisés. La polyvidone iodée à 10% était efficace mais a donné un taux de mortalité plus élevé.

### 4.3.2. Tests antimicrobiens

Le but de ces tests vise à tester le pouvoir antibiotique des asticots de *Lucilia sericata* contre des souches bactériennes et fongiques choisies.

Après 24 heures de contact des asticots de *L. sericata,* nous avons constaté la disparition des colonies dans la zone d'application des larves et leur persistance dans le pourtour de la boite. Cela montre que les asticots étaient capables d'éliminer les colonies bactériennes.

Le taux de mortalité corrigé des larves en contact avec *B. subtilis* était le plus élevé (32,99%) suivi de celui de *P. aeruginosa* (17,52%), *K. pneumoniae* (17,52%) et *E. coli* (18,57%). Le taux de mortalité corrigé chez les larves déposées sur les souches de *S. aureus* MSSA (1,03%), *C. freundii* (3,09%) et *S. aureus* MRSA (9,28%) était bas. Néanmoins, Une croissance bactérienne a été notée sur les boites ensemencées avec la suspension intestinale des larves en contact avec *B. subtilis*.

Concernant les tests antifongiques, le taux de mortalité corrigé des larves en contact avec *C. albicans* était 26,73% suivi de celui de *S. cerevisiae* (15,84%) et *A. niger* (11,88%).

La mortalité des larves peut être causée par des facteurs intrinsèques liés à la tolérance de la présence des microorganismes dans la larve ou par la charge en microorganisme élevée et la faible densité larvaire.

Dans une étude *in vitro* du pouvoir antimicrobien des asticot de *L. sericata* MARGOLIN et GIALANELLA [261] ont rapporté une lyse complète des cultures de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Enterococcus* résistant à la vancomycine dans la zone d'application des larves vivantes. Ces résultats concordent avec nos observations.

Nos résultats sont en accord avec les observations notées par THOMAS et al. [215] qui ont montré que les larves de *Lucilia sericata* étaient capables de tuer

ou de diminuer le nombre des bactéries total de *Staphylococcus aureus in vitro* et de combattre les infections cliniques de divers types de plaies.

Les enzymes sécrétées participent au débridement des plaies et présentent une activité antimicrobienne. Les propriétés antibactériennes des excrétions/sécrétions (ES) des larves ont été démontrées contre différentes bactéries à Gram positif et à Gram négatif, y compris *S. aureus* résistant à la méthicilline [320]–[322], *Micrococcus luteus* [262], *E. coli* [262][320][323], *S. aureus* sensibles à la méthicilline [262][323][324], *P. aeruginosa* [320][322]–[324], *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus subtilis* [320][323], *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus epidermidis* [320] et *Streptococcus pyogenes* [324].

Contrairement aux études décrites précédemment, HASSAN et al. [323] ont rapporté l'absence d'une activité antibactérienne contre *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *Proteus vulgaris* et *K. pneumoniae*. CAZANDER et al. [325] n'ont pas trouvé de propriétés antibactériennes chez les larves vivantes ajoutées aux suspensions bactériennes de Gram positif (*S. aureus*, staphylocoque à coagulase négative, *S. pyogenes* et *E. faecalis*) ou à Gram négatif (*K. oxytoca* et *P. aeruginosa*). En outre, toutes les bactéries, à l'exception de *P. aeruginosa*, ont montré une croissance supérieure à celle des cultures témoins sans larves. Les auteurs ont établi l'hypothèse que l'effet antibactérien clinique des asticots pourrait être une action antibactérienne indirecte se produisant par des mécanismes à médiation immunitaire [325] ce qui nécessite une évaluation plus approfondie.

Les résultats de la présente étude sont comparables à ceux obtenus par JAKLIC et al. [326]. Ils ont mené des recherches quantitatives *in vitro* et *in vivo* pour évaluer l'effet des ES des larves de *Lucilia sericata* sur des souches bactériennes de *S. aureus* colonisant le plus souvent les plaies chroniques.

L'activité antibactérienne a été également étudiée dans des études *in vitro* et *in vivo* en comparant la diversité bactérienne des plaies avant et après l'application des larves de *L. sericata*. Les auteurs ont conclu que la larvothérapie était fortement recommandée, en particulier pour le traitement des plaies infectées par des bactéries à Gram positif, comme *S. aureus*, mais moins pour les plaies infectées par des bactéries à Gram négatif, en particulier *Proteus* spp. et *Pseudomonas* spp. Les bactéries du genre *Vagococcus* étaient résistantes aux ES des larves [326]. En contraste, cette thérapie a éliminé *in vivo* les micro-

organismes multirésistants (*K. pneumoniae*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) présents dans des plaie [327].

Peu d'auteurs ont testé le pouvoir antifongique des larves de *L. sericata*. Dans une étude réalisée *in vitro* par ALNAIMAT et al. [206], les auteurs ont montré une activité des larves de *L. sericata* vis-à-vis de *Trycophyton terestre* et *Saccharomyces cerevisiae*. Ils ont également trouvé que les souches fongiques ingérées par les larves ont été éliminées dans leur tube digestif. En accord avec ces observations et nos résultats, MEYLAERS et al. [328] ont observé que le dernier stade larvaire de la mouche domestique, *Musca domestica* présentait une activité antifongique contre *Saccharomyces cerevisiae* en plus de l'activité antibactérienne.

MARGOLIN et GIALANELLA [261] ont rapporté une lyse complète des cultures de *Candida albicans par les larves de L. sericata* appliquées vivantes sur ces dernières ce qui est en accord avec notre résultat. HASSAN et al. [323] ont étudié le pouvoir antifongique des ES de *L. sericata* et ont rapporté que *Geotricum candidum* était la souche testée la plus sensible suivie de *Aspergillus fumigatus*. En revanche, aucune activité n'a été détectée contre *C. albicans* et *Syncephalastrum racemosumas*. Ces observations contrastent avec nos résultats et ceux de MARGOLIN et GIALANELLA [261].

## 4.4. <u>Etude de décomposition des cadavres des lapins dans un milieu ouvert sous</u> conditions particulières

### 4.4.1. Données climatologiques

Les insectes nécrophages colonisent habituellement les cadavres peu de temps après la mort à condition qu'ils ne soient pas influencés par les conditions météorologiques [259]. La température influence directement le processus de la décomposition. Les températures extrêmes inhibent la prolifération bactérienne ralentissant la décomposition et préservant les tissus du corps. De plus, la température a une influence directe sur l'activité et le développement des insectes [26].

La période expérimentale était dominée par un climat tempéré (la température moyenne variait de 12,5 à 23,5°C). Les plages thermiques enregistrées se situaient entre les seuils des températures minimales et maximales requises pour l'activité et le développement de la plupart des insectes

d'importance médico-légale [20][25]. Comme prévu, les températures étaient chaudes et les précipitations n'ont pas eu lieu durant cette étude. Par conséquent, l'influence potentielle des facteurs climatiques sur la décomposition et l'activité de l'entomofaune charognarde a été évitée.

### 4.4.2. Les stades et le taux de décomposition

Les stades de décomposition observés dans cette étude étaient les mêmes que ceux d'autres études réalisées avec des cadavres des lapins exposées [290][329]. La durée du stade frais était de 27 heures pour les cadavres exposés (témoins et traités) et les cadavres emballés. Le stade gonflé a commencé le deuxième jour après le dépôt du corps et a duré 41 heures chez les cadavres exposés, tandis que le même stade a duré plus longtemps chez les cadavres emballés avec des durées variables pendant ce stade (de 64 à 93 heures). Quant à la phase de putréfaction, elle a duré 25 heures chez les cadavres exposés et a varié de 48 à 77 heures chez les cadavres emballés. Au cours de la période d'étude, le séchage des cadavres a été enregistré après environ 94 heures de dépôt des témoins et les traités alors que le début de dessèchement des cadavres emballés variait de 140 à 192 heures.

Malgré la non significativité statistique révélée par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney avec correction de la continuité, l'observation visuelle a montré également que les dépouilles exposées se sont décomposées à un rythme beaucoup plus rapide que celles emballées. Les cadavres exposés ont pris seulement environ 4 jours pour atteindre le stade sec. En revanche, les cadavres emballés ont atteint le stade sec en 6 à 8 jours. Ainsi, les cadavres emballés se décomposent plus lentement que les carcasses exposées.

De même, MANN et al. [31] ont découvert que l'enfermement des corps ou des parties du corps dans le plastique ralentissait la décomposition. Par contre, des observations faites sur des corps humains aux États-Unis à l'établissement de la recherche anthropologique (également connu sous le nom de «ferme des cadavres») à l'Université du Tennessee ont montré que les corps recouverts de plastique se décomposaient plus rapidement que ceux laissés exposés [124].

Au cours d'une étude anthropologique menée par DAUTARTAS [330], l'auteur n'a pas rapporté de différences statistiques significatives entre le taux de décomposition d'un corps humain enveloppé dans une couverture et un autre

dans une bâche en plastique. Cependant, des différences visuelles ont été observées, telles que la momification du corps dans la couverture, ou la décomposition humide prolongée de ce celui dans la bâche en plastique [330]. KELLY et al. [123] ont étudié l'effet de l'habillement et de l'emballage des cadavres de porcs sur leur décomposition et la colonisation par les insectes en Afrique du Sud. Les auteurs ont également signalé que les vêtements et l'emballage avait un effet sur le taux de décomposition des cadavres. En conséquence, la durée du stade de putréfaction avancé s'est allongée et la perte de la biomasse a diminué [123]. Ces résultats sont en accord avec nos observations. FORMAN [124] a indiqué que la décomposition des corps emballés semblait plus avancée puisque l'humidité emprisonnée à l'intérieur de l'emballage de plastique augmentait le dépôt de la condensation sur les tissus corporels. Les mêmes observations ont été notées au cours de ce travail. En ce qui concerne les cadavres exposés, l'humidité a été perdue à l'air libre, ce qui a entraîné une momification rapide des tissus non couverts. De même, ATURALIYA et LUKASEWYCZ [331] ont constaté que le mouvement de l'air sur des dépouilles de rats a amplifié le taux de dessiccation.

Concernant la décomposition des cadavres traités avec l'éthanol, nos résultats sont comparables à ceux de TABOR et al. [165]. Les auteurs ont trouvé que l'ingestion de l'éthanol des porcs n'a pas changé le taux de décomposition des animaux traités.

#### 4.4.3. Composition et abondance de la communauté d'arthropodes

Selon la classification écologique, nous avons enregistré des espèces nécrophages, des prédateurs et des parasitoïdes de nécrophages, des espèces saprophages, des espèces omnivores, des espèces de la faune locale (accidentelles) et des espèces opportunistes (Figure 4.1.). Les principales espèces d'insectes d'importance médico-légale sont largement représentées parmi les populations échantillonnées, et leur abondance relative concorde avec les observations antérieures sur les cadavres d'animaux en milieu naturel [332][333]. La plupart des espèces qui ont été collectées dans la présente étude ont également été collectées lors des études antérieures en Algérie [259][334], à Lisbonne [129][289][335] et à Murcia, au sud-est de l'Espagne [28][336], dont les conditions environnementales sont similaires à celles du nord de l'Algérie. *L.* 

*sericata* (adultes et larves) était l'espèce la plus abondante, suivie de *C. vicina*. Cependant, la ponte de *C. vicina* n'a pas pu être confirmée car leurs asticots n'ont pas été collectés. Cela peut être due aux températures élevées ou à la présence de prédateurs.



Figure 4.1 : Schéma des relations trophiques des espèces d'arthropodes les plus representatives associées aux cadavres.

Les statistiques ont montré que certaines espèces étaient attirées par les cadavres des lapins exposés, alors que d'autres semblaient être attirées par les cadavres emballés. En ce qui concerne la diversité des espèces, la richesse en espèces ne différait pas significativement entre les groupes des cadavres. En outre, nous notons que les proportions respectives d'espèces piégées n'étaient pas significativement variables entre les trois groupes.

Dans une étude entomologique sur le terrain mené par AHMAD et al. [37] en Malaisie sur l'effet de l'emballage des cadavres de singes sur les Diptères, les auteurs n'ont observé aucune différence sur l'abondance des mouches ce qui est en accord avec nos résultats.

Nos observations montrent que la présence du sac plastique n'a pas influencé l'accessibilité des insectes nécrophages. Une étude a été réalisée par BHADRA et al. [30] sur l'accessibilité des insectes au foie de poulet et aux têtes de porcs enfermés dans des valises. Les auteurs ont rapporté que des femelles de *Calliphora vomitoria* et *Calliphora vicina* étaient attirées à ses substrats et leurs larves ont accédés à ces derniers à travers les petits trous de la fermeture à glissière. Dans une autre étude menée par CHARABIDZE et al. [38], l'arrivée des mouches et leur colonisation des boîtes appâtées et présentant des trous d'accès de différentes dimensions ont été étudiées. Les auteurs ont signalé que *L. sericata* était capable d'entrer aux endroits les plus difficiles [38]. Ces observations expliquent l'abondance des mouches sur les individus emballés au cours de notre étude.

#### 4.4.4. L'occurrence des arthropodes

La succession des arthropodes dans cette étude était généralement similaire à celle signalée dans les régions tropicales et tempérées. D'abord, l'invasion rapide des cadavres par les Diptères adultes et les fourmis. Ensuite, l'apparition des asticots et des Coléoptères adultes avec une richesse maximale en arthropodes. Plus tard, on note une diminution de la diversité des espèces et de leur dispersion [290]. Bien que certaines variations aient été observées dans la composition des espèces, la succession générale des arthropodes sur toutes les cadavres était similaire à la succession obtenue dans d'autres études [333][335].

TABOR et al. [165] ont rapporté que la présence de l'éthanol n'a pas modifié les schémas de succession des taxons d'insectes. De plus, la colonisation par les insectes a eu lieu au même rythme chez les animaux traités à l'éthanol et les témoins. Même lorsque la concentration de l'éthanol dans le sang atteignait 2,6 g/L, soit environ 3 fois la limite légale dans de nombreux États américains. Ces observations sont en accord avec nos résultats.

Dans des expériences sur le terrain examinant l'effet de l'habillement et l'emballage sur la colonisation des cadavres de porcs par les insectes pendant l'automne et l'été, KELLY et al. [123] n'ont observé aucune différence dans le profil de succession des espèces entre les cadavres. De plus, KELLY et al. [123] et VOSS et al. [34] ont signalé qu'il n'y avait pas un retard dans la colonisation ou la ponte des mouches Calliphoridae sur les cadavres habillés ou enveloppés. De même, AHMAD et al. [37] ont signalé qu'il n'y avait pas un retard dans l'oviposition des mouches sur les corps de singes emballées. Ces résultats concordent largement avec nos observations mais contrastent avec celles de GOFF [122] qui ont trouvé que l'accès des mouches à des cadavres emballés et bien fermés a été
retardé de 2,5 jours. Le retard dans la ponte peut être attribué à la présence de plusieurs couches d'emballages serrés, contrairement à l'emballage et aux vêtements utilisés dans notre étude et les études susmentionnées. Par conséquent, la présence d'emballage ou de vêtements ne semble pas empêcher les mouches d'avoir accès aux cadavres [34]. On peut aussi suggérer que les températures chaudes pendant notre expérience étaient favorables à l'activité des insectes, ce qui a augmenté leur nombre et a entraîné une compétition pour accéder à la source alimentaire [37].

Au cours de cette étude, l'emballage n'a pas retardé l'arrivée des espèces des mouches rencontrées mais a affecté l'abondance des premiers colonisateurs. Ceci est probablement due à la présence de l'emballage qui a diminué la diffusion de l'odeur des cadavres enveloppés. En revanche, AHMAD et al. [37] ont signalé un retard dans l'arrivée des mouches qui variait de 1 à 13 jours.

Les premiers insectes présents sur les dépouilles étaient *Lucilia sericata*, ce qui est conforme avec la littérature [1][20]. Cette espèce est apparue peu après la mise en place des cadavres. Sa présence a été notée tout au long de la période d'étude en nombres élevés. *L. sericata* a été identifié parmi les premiers colonisateurs durant les saisons chaudes [1][53][256][260][337][338]. Ainsi, cette espèce joue un rôle de premier plan dans la décomposition des corps, ce qui confirme son utilité en entomologie médico-légale. *Chrysomya albiceps* a été observée sur les trois types des cadavres. Les larves de *L. sericata* et *Ch. albiceps* étaient présentes pendant plusieurs jours au cours de cette étude. Cette observation met en évidence l'importance de ces espèces pour l'estimation de l'IPM.

SZPILA [339] a collecté quelques spécimens de *Po. vagabunda* en Pologne en été. Cette espèce a une distribution holarctique. Les pupes de *Po. vagabunda* ont été trouvée dans la tige de maïs infestée par la teigne de *Sesamia nonagrioides* Lefebvre [340]. SZPILA [339] a également enregistré des adultes de *Po. rudis* en Pologne dans tous les habitats, principalement au printemps et en été avec une très grande abondance dans les prairies. *Po. rudis* est largement répandue dans la région paléarctique, la région néarctique, l'orient et les régions australasiennes. Elle est connue comme parasite de ver de terre [340]. Ces deux espèces n'avaient jamais été rapportées en Algérie probablement due au manque des études sur ses dernières. Les spécimens de *Pollenia* Robineau-Desvoidy, en particulier ceux de *Po. rudis*, sont régulièrement collectés lors d'expériences de succession sur des charognes en Europe et en Amérique du Nord [13][129][284][302][341]. SULAKIVA et BARTAK [341] ont proposé d'attribuer à *Pollenia* le statut de « prédateur/parasite sur les espèces nécrophages », suivant la classification proposée par SMITH [6]. Les vers de terre, hôtes d'espèces de *Pollenia rudis* peuvent participer à la décomposition des cadavres des vertébrés, mais la présence de *Pollenia* sur les charognes semble plutôt liée à l'alimentation des mouches adultes sur les cadavres. Néanmoins, les larves de ces vrais parasites ne peuvent terminer leur développement en se nourrissant des cadavres [339]. Leur présence dans notre étude et d'autres avec des effectifs élevés montre que la présence des adultes de ces espèces ne peut pas être attribuée au hasard et être totalement accidentelle. Le fait que les femelles de cette espèce se nourrissent de produits de décomposition liquides et semi-liquides supporte notre hypothèse [339].

*Hydrotaea* spp. arrive généralement après les Calliphoridae, ce qui confirme les observations précédentes [27][129][333]. *Drosophila* sp., *Thereva* sp., *Tipula* sp. et *Culex* sp. étaient présentes seulement sur les cadavres emballés. La présence de ces espèces peut être due aux niveaux élevés d'humidité due à l'emballage.

*Piophila casei* a été observé sur les trois types des cadavres dès le stade de gonflement et leur activité était parallèle à celle des Calliphoridae et des Muscidae. La même observation a été rapportée par AHMAD et al. [37] à partir des cadavres de singes. Inversement, MATUSZEWSKI et al. [333] ont enregistré leur présence sur des cadavres de porcs après l'arrivée des Calliphoridae et des Muscidae. Les Piophilidae sont des espèces secondaires [6]. *Piophila nigriceps* a était enregistrée au stade de putréfaction avec un effectif restreint sur les cadavres témoins et emballés pour la première fois en Algérie et en Afrique. Cela concordent avec l'observation de PRADO E CASTRO et al. [129] qui ont noté la présence de cette espèce pendant le stade de putréfaction. L'occurrence des mouches Piophilidae a été expliquée par la présence de protéines et d'acides gras en décomposition dans les cadavres [6][62]. Leur apparition au début de la décomposition les rend utiles en entomologie médico-légale. Pourtant, elles pourraient ne pas être fiables car elles peuvent être présentes durant touts les stades de la décomposition [37].

En ce qui concerne la présence des Coléoptères, *Necrobia rufipes* était la première espèce observée sur les individus exposés. Leur absence au début de la décomposition sur les cadavres emballés peut être due à la présence de l'emballage qui minimise la diffusion des odeurs. Cependant, MATUSZEWSKI et al. [333] et PRADO E CASTRA et al. [130] ont signalé la présence de cette espèce au cours des derniers stades de décomposition.

La présence de *Dermestes frischii* a été marquée au stade de gonflement chez les cadavres exposés intervenant beaucoup plus vers la fin de la décomposition. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature et les observations rapportées par certains auteurs [1][53][130]. *Creophilus maxillosus* et *Philonthus* sp. sont apparus au début de la décomposition, ce qui concorde avec les observations antérieures [130][333]. Ces espèces sont prédatrices des larves de Diptères [1][20]. Ces observations expliquent leur présence durant cette période qui correspond à une forte activité larvaire. Des larves de *D. frischii*, de *Cr. maxillosus*, de *Philonthus* sp., *T. sinuatus* et de *Si. tristis* ont été recueillies à partir des trois types des dépouilles. La reproduction de ces espèces sur les cadavres leur confère une grande importance médico-légale.

Pour les Hyménoptères, les Formicidae étaient également présents sur tous les cadavres et tout au long du processus de la décomposition. BHARTI et SINGH [337] ont également signalé la présence des fourmis durant toutes les étapes de la décomposition. Cela peut s'expliquer par le fait que les fourmis qui fréquentent les cadavres sont des espèces nécrophages et nécrophiles ; ils se nourrissent des tissus morts et des larves des Diptères [1][20]. ARNALDOS et al. [28] ont signalé que les Formicidae utilisent le cadavre comme refuge pour obtenir l'humidité et la nourriture et peuvent donc être considérées comme omnivores.

La famille des Vespidae était représentée par la guêpe germanique *Vespula germanica* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera, Vespulidae). MORETTI [342] ont étudié le rôle des Vespidae dans l'écosystème des cadavres. Les auteurs ont remarqué que les guêpes consommaient simultanément le tissu mort et attaquaient les insectes trouvés dans les carcasses. Ces observations confirment le comportement alimentaire de ces espèces. *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera, Pteromalidae) a été piégé sur les cadavres exposés et emballés. Cette espèce parasite habituellement les pupes fraiches des Diptères. Cependant, dans cette étude, des adultes de ce parasitoïde ont émergé des pupes qui ont été élevées à partir du stade larvaire. Cela peut être dû au fait que les larves de *N. vitripennis* sont capables de se développer sur les larves tardives [343]. La présence de cette guêpe ectoparasitoïde est souvent signalée dans des expériences de terrain ou dans des rapports de cas [30][78][344].

Les espèces opportunistes de l'ordre des Araneae (*Oniscus* sp.) sont arrivées pendant le stade de dessèchement. Cette catégorie comprend les taxons qui profitent du corps et en fait une expansion de leur propre habitat naturel [70].

#### 4.4.5. Abondance selon les stades de décomposition du cadavre

L'abondance des Diptères était la plus élevée pendant la phase de desséchement. Les Coléoptères sont généralement attirés par les cadavres secs, ce qui explique leur abondance à ce stade. La richesse spécifique était la plus élevée au stade sec. Cela peut être due probablement à la durée des stades de décomposition au cours de notre étude car le dessèchement du cadavre était le plus long. Nos résultats diffèrent de ceux de PRADO E CASTRO [335] qui ont étudié la décomposition des cadavres de porcs au Portugal au cours de différentes saisons. L'auteur a signalé que le stade de putréfaction présentait généralement des valeurs d'abondance et de richesse spécifique plus élevées. Cette différence est probablement due à la différence dans la taille des cadavres et dans la vitesse de décomposition.

#### 4.4.6. Les analyses toxicologiques

Des concentrations décelables de l'éthanol ont été trouvées dans les échantillons de sang prélevé des lapins traités. En outre, ces taux d'alcoolémie dans les échantillons de sang étaient tous inférieurs à 0,8 g/L.

Les résultats d'analyse des larves par la chromatographie en phase gazeuse ont montré que les concentrations d'alcool des cadavres traités étaient similaires à celles des témoins. La présence de l'éthanol dans les larves prélevées des témoins avec des concentrations semblables aux larves prélevées des traités montre que l'éthanol présent dans les larves n'est probablement pas lié à celui présent dans le sang. Ce dernier peut être attribué au processus de la fermentation qui se déroule lors du stade de la putréfaction.

Il a été documenté que les micro-organismes peuvent provoquer une augmentation de la production post-mortem de d'alcool [345]. Des études sur des

souris ont montré que l'éthanol était produit par des microorganismes au cours du processus de la putréfaction [346].

GILLILAND et BOST [347] ont mené une étude rétrospective sur la source de production de l'éthanol et l'analyse de sa distribution dans les tissus du corps. Les critères de détermination de la production endogène ont compris la présence de l'éthanol dans le sang, mais pas dans d'autres fluides, la distribution atypique de l'éthanol parmi les fluides et la présence d'autres alcools tel que l'alcool isopropylique et le propanol-2.

Pour différencier entre la production ante-mortem et post-mortem, l'éthanol est analysé à partir de l'humeur vitrée car un retard se produit dans l'absorption et l'élimination de l'alcool de cette dernière par rapport au sang. Cependant, dans le cas où des fluides vitreux, d'autres fluides corporels ou des tissus ne sont pas présents ou trop décomposé, la détermination de l'ingestion ante-mortem d'alcool peut être difficile [49].

Si l'éthanol reste non absorbé dans l'estomac au moment de la mort, cela soulève la possibilité d'une diffusion locale continue dans les tissus environnants et le sang central après la mort. Des recherches récentes portées sur le développement de divers tests biochimiques ou de marqueurs de synthèse postmortem de l'éthanol. Celles-ci comprennent les métabolites urinaires de la sérotonine et les métabolites non oxydants de l'éthanol, tels que l'éthylglucuronide, la phosphatidyl-éthanol et les esters éthyliques d'acides gras [345].

La présence de l'éthanol dans les tissus du corps peut affecter le développement des asticots et donc l'estimation de l'IPM, mais il est incertain à quelle concentration des différences significatives se produiraient. TABOR et al. [165] ont rapporté que l'éthanol a causé des variations significatives dans la longueur des larve du 3ème stade de *Phormia regina* Meigen (Diptère, Calliphoridae) se nourrissant sur un substrat de viande contenant de l'éthanol (0,15-0,17% m/v) comparativement à un témoin non traité sous conditions de terrain [165]. MONTHEI [49] a étudié *in vitro* le développement de *Phormia regina* sur la viande porcine traitée avec des solutions d'éthanol à 1, 5 ou 10%. Une différence significative dans le temps nécessaire pour que le 2ème stade soit achevé a été observée entre les traités avec les solutions de l'éthanol à 1% et les

témoins. Des différences significatives ont également été observées dans le poids des pupes et des adultes entre les lots traités et le groupe témoin.

La teneur en éthanol de *Phormia regina* des larves de 3ème stade a été examinée. Toutes les larves avaient une teneur de 0,01% m/v, y compris les témoins [49]. Ces observations sont comparables à nos résultats.

#### 4.5. Entomogénétique

#### 4.5.1. Extraction, amplification et analyse des séquences d'ADN

Cette étude constitue la première recherche en Algérie sur l'identification moléculaire des mouches nécrophages en utilisation le gène mitochondrial COI.

Dans notre étude, les concentrations d'ADN extrait étaient inférieures à 14 ng/µL avec peu de variations dans le rendement entre les espèces surtout celles de la même famille. Ainsi, le kit DNeasy® Blood and Tissue (Qiagen, Allemagne) a donné des quantité d'ADN suffisantes pour amplifier des fragments de 492 à 506 pb du gène mitochondrial COI de 65 échantillons de 13 espèces de mouches nécrophages.

AMES et al. [348] ont rapporté des concentrations d'ADN de *C. vicina* et *C. vomitoria* allant de 0,2 ng/mL d'une seule aile à 30 ng/mL pour une mouche adulte complète. Ces auteures ont trouvé peu de variation dans le rendement de l'ADN entre ces deux espèces ce qui est comparable à notre résultat.

MALGORN et COQUOZ [349] ont testé l'amplification d'une gamme des quantités d'ADN de quelques mouches Calliphoridae : *Lucilia ampullacea* Villeneuve, *Lucilia caesar* Linnæus, *Lucilia illustris* (Meigen), *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* (1, 5, 10, 50, 100 et 500 ng). Un produit d'amplification a été obtenu pour toute cette gamme. Les mêmes auteurs ont signalé que des quantités de 10 à 100 ng d'ADN ont donné les meilleurs résultats. Dans une autre étude, CHEN et al. [350] ont extrait et amplifié l'ADN avec succès de plusieurs parties des mouches Calliphoridae.

Les données de la littérature ainsi que nos résultats montrent que l'utilisation d'un minimum de tissus pour l'extraction et l'amplification de l'ADN peut donner un résultat. Cela peut être utile lorsque uniquement des parties des insectes (pattes, ailes, etc.) sont trouvés sur les scènes de crimes. De plus, il est toujours utile de garder l'échantillon pour la possibilité d'une re-examination morphologique si nécessaire.

Nous avons vérifié que le code à barres d'ADN peut être utilisé pour l'identification de nos spécimens Calliphoridae, Sarcophagidae et Piophilidae ce qui constitue une étape importante dans l'application des méthodes moléculaire en entomologie forensique.

La base de donnée GenBank a fourni une identification correcte de toutes les espèces avec des pourcentages de similarité du premier hit variant entre 91 à 100%.

La comparaison entre les deux bases de données moléculaires, GenBank et BOLD révèle que la base de données GenBank peut identifier plus de séquences requêtes que la base de donné BOLD. Cela peut être due au fait que GenBank est une base de donnée plus complète que BOLD (c'est une base de données plus récente). Autre fait peut être associé aux outils de recherche BLAST. Celles-ci utilisent des différents algorithmes pour calculer la similarité entre les séquences référence et les séquences requête [351].

#### 4.5.2. Analyse phylogénétique

Toutes nos séquences des espèces identifiées sont séparées dans l'arbre phylogénétique des autres populations du monde sauf la majorité de celles originaire de l'Espagne. Chez les Calliphoridae, le résultat de l'arbre phylogénétique a montré un modèle dans lequel les séquences algériennes apparaissent mélangées avec celles de l'Espagne mais bien séparées des autres séquences des différentes régions du monde. Ainsi, les populations algériennes sont clairement distinctes des autres populations. Cela ne peut être le cas pour tous les pays car par exemple REIBE [352] a trouvé que les populations des Calliphoridae de l'Allemagne n'étaient pas séparées des autres populations du monde entier à part celles de *C. vicina*.

Notre étude rapporte pour la première fois l'apparition de *Chrysomya megacephala* en Algérie. Cette espèce est originaire de la région orientale et est trouvée dans la région afrotropicale et la région néotropicale. Ce record élargit la répartition actuelle de cette espèce en Afrique et dans la région paléarctique. La distribution de *Ch. megacephala* semble être en migration remarquable vers l'hémisphère du nord dans la région paléarctique et néarctique [353]. Récemment, IRISH et al. [354] et LUTZ et al. [355] ont signalé la répartition de cette espèce dans tous les pays africains, à l'exception de l'Algérie, le Tchad, la Tunisie et le

Maroc. *Ch. megacephala* a été collecté à Alicante (sud-est de l'Espagne) [356], un endroit très proche à la côte algérienne. Cependant, aucune séquence de *Ch. megacephala* de l'Espagne n'a était trouvée sur GenBank. Notre résultat nous montre que la séquence de *Ch. megacephala* du Brésil est similaire à nos séquences. Cela suggère que *Ch. megacephala* de l'Algérie et du Brésil ont la même origine.

Les Sarcophagidae sont difficiles à identifier en utilisant les critères morphologiques surtout en absence des spécimens mâles. Les méthodes moléculaires sont particulièrement utiles pour faciliter et confirmer l'identification de cette famille de mouches.

Contrairement à *S. pandellei* et de *S. argyrostoma* de l'Algérie, *S. africa* et *S. tibialis* n'était pas groupés avec les séquence de l'Espagne. Cela peut être du à la présence des variations géographiques entres les populations des espèces au sein d'un même pays. De plus, les séquences obtenues de GenBank ne proviennent pas de la même étude ou de la même région de l'Espagne.

Concernant les Piophilidae, *P. nigriceps* et *P. casei* étaient séparées des population des autres pays. *P. nigriceps* est appelée *Piophila foveolata* en Europe de l'Est et en Russie, alors qu'elle est appelée *Stearibia nigriceps* dans l'ouest. Les deux nominations décrivent la même espèce [357]. Cette espèce est distribuée dans plusieurs régions du monde mais n'avait jamais été rapportée en l'Algérie ou en Afrique [358].

Malheureusement, GenBank contient beaucoup moins de séquences de Sarcophagidae et de Piophilidae identifiées au niveau de l'espèce par rapport à celles des Calliphoridae (à l'exception de *Po. vagabunda* et *Po. rudis*). Ceci est probablement due à un manque de recherches sur les Sarcophagidae et les Piophilidae.

#### 4.5.3. Variations intra- et interspécifique

La divergence intra-spécifique de toutes les espèces analysées dans cette étude était <1% (entre 0 et 0,9%). Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par d'autres chercheurs. WELLS et SPERLING [359] ont rapporté un niveau de variation intra-spécifique inférieur à 1% dans la séquence COI et la séquence COII pour les *Chrysomyiinae*. De même, SALEM et al. [190] ont trouvé un pourcentage de divergence intra-spécifique inférieur à 1% chez des espèces du genre *Chrysomya*. AMES et al. [348] n'ont pas trouvé des variations intra-spécifiques chez la plupart des échantillons de *C. vicina* et *C. vomitoria* séquencées ; ils ont observé une variation intra-spécifiques dans deux nucléotides chez un seul individu (variation de 0,48%).

La faible variation intra-spécifique devra être confirmée en utilisant un plus grand nombre d'individus de chaque espèce [349].

Dans la présente étude, la divergence interspécifique entre les espèces des sous-familles *Chrysomyiinae* et *Luciliinae* varie de 3,8 à 10%, entre *Calliphorinae* et *Luciliinae* de 4,8 à 11,1%, entre *Calliphorinae* et *Chrysomyiinae* de 1,9 et 12,2%, entre *Polleniinae* et *Luciliinae* 9 et 14,4%, entre *Polleniinae* et *Chrysomyiinae* 10,1 et 16,8% et entre *Polleniinae* et *Calliphorinae* 9,1 et 19,1%. Chez les Sarcophagidae, le polymorphisme interspécifique oscille entre 6,7 et 24%. La divergence interspécifique entre *S. nigriceps* et *P. casei* est de 12,8 à 17,4%.

AMES et al. [348] ont trouvé une variation interspécifique de 4% entre *C. vicina* et *C. vomitoria*. SALEM et al. [190] ont rapporté que la divergence interspécifique entre les Calliphoridae variait de 3,6% (entre *Ch. albiceps* et *Chrysomya rufifacies* (Macquart) à 11,7% (entre *Ch. rufifacies* et *Calliphora vicina*). Chez le genre *Chrysomya*, la divergence maximale en nucléotides était de 8,6% pour *C. rufifacies* et *Chrysomya bezziana* (Villeneuve). Pareillement, WELLS et SPERLING [359] ont trouvé une variation supérieure à 3% entre les espèces de mouches *Chrysomyiinae*. Tous ces résultats concordent avec nos pourcentages de divergence trouvés dans cette étude qui dépassent le seuil proposé de 3%.

La discussion du seuil séparatif des espèces est encore ambiguë : WELLS et al. [181] ont rapporté chez les espèces des mouches nécrophages le pourcentage de divergence intra-spécifique inférieur ou égal à 1% pour les séquences du COI+COII et du pourcentage de divergence interspécifique supérieur à 3% comme des seuils adéquats.

Plusieurs tentatives ont été faites pour établir une valeur standard de la divergence intra-spécifique et interspécifique. Par exemple la règle de 3% de divergence proposée par HEBERT et al. [182] qui ont également proposé une règle de divergence interspécifique au moins 10 fois plus grandes que la divergence intra-spécifique [182]. Cependant, aucune de ces règles ne peut être généralisée sur tous les groupes des organismes. Donc, il n'y a pas de seuil

universel de divergence interspécifique puisque certaines paires d'espèces ne peuvent pas être séparées par des séquences de COI. Par exemple *Lucilia caesar* et *Lucilia illustris* n'étaient différenciées de manière satisfaisante par REIBE [352] en comparant la séquence de COI. Ces espèces sont également très difficiles à identifier en utilisant des caractéristiques morphologiques. REIBE [352] a donc suggéré qu'il était probable que les séquences des deux espèces fournies dans la base de données proviennent de spécimens mal identifiés. Dans ce cas, il serait peut-être utile d'utiliser un gène nucléaire [352].

### **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

La recherche présentée ici est le premier travail en Algérie traitant : l'écologie et la biologie des Diptères à 'intérêt médico-légale ainsi que leur utilité en biochirurgie, les facteurs abiotiques influençant l'IPM et l'identification moléculaire de ces espèces.

Nous concluons que *Lucilia sericata* et *Calliphora vicina* sont largement distribuées en Algérie. La répartition de *Chrysomya albiceps* semble varier en Algérie selon les facteurs bioclimatiques. Cette espèce ne semble pas se limiter à un type d'habitat particulier.

Le pourcentage d'émergence de *L. sericata et C. vicina* dépendent de la température. Le taux de développement et les budgets thermiques accumulés par *L. sericata* et *C. vicina* collectées en Algérie différent légèrement des données de la littérature.

L'utilisation de l'hypochlorite de sodium à 0,5% et avec un traitement avec de l'éthanol à 70° pour la stérilisation des larves destinées à la larvothérapie est recommandée. Les larves sont capables d'éliminer la plupart des souches bactériennes et fongiques testées.

Les cadavres emballés semblent se décomposer plus lentement que ceux exposés. Cependant, cette observation visuelle n'est pas statistiquement significative. Nos résultats prouvent que *L. sericata* est capable de coloniser les cadavres emballés et pond sans délai. Nous pouvons également conclure que la présence d'un sac plastique qui n'est pas bien fermé ne semble pas influencer l'accès des insectes au corps, mais peut affecter la composition de la faune.

L'analyse toxicologique des larves a révélé qu'il n'y a pas de différence entre les concentrations d'alcool des cadavres traités comparativement aux témoins. Ainsi, l'hypothèse visant à identifier et quantifier des xénobiotiques dans les échantillons entomologiques ne semble pas être valable pour la détection de l'éthanol.

La méthode du code à barres COI est une approche onéreuse mais exacte. L'identification moléculaire au niveau de l'espèce des mouches nécrophages provenant de l'Algérie a été réalisée avec un grand succès. La base de données GenBank a permis d'identifier 13 espèces de mouches collectées lors de notre travail. Les populations algériennes sont clairement séparées des autres populations du monde sauf de la majorité des espèces originaires de l'Espagne. La présence d'une variation intra-spécifique élevée entre les populations des mouches nécrophages algériennes et la majorité de celles des autres pays incite à développer une base de données d'ADD propre à nos espèces afin d'estimer l'IPM avec précision.

Comme perspectives, nous suggérons de :

 - étudier les différents stades du cycle de développement des espèces nécrophages (Diptères et Coléoptères) afin d'accélérer la durée des expertises entomologiques;

 - étudier l'effet de la basse température sur le cycle de développement des insectes nécrophages et la fiabilité de la méthode ADD à un spectre de températures en utilisant différents modèles de régression linéaire ;

- faire des études plus approfondie sur le pouvoir antimicrobien vis-à-vis les souches résistantes et tester le pouvoir antibiotiques des larves stériles *in vivo* ;

 réaliser éventuellement des études sur l'effet d'autres facteurs sur l'accessibilité des insectes tel que la présence du cadavre à l'intérieur dans une pièce enfermée qui est un emplacement souvent trouvé durant les enquêtes judiciaires ;

- faire une recherche approfondie sur l'effet de l'éthanol sur le développement des mouches nécrophages en réalisant des élevages au laboratoires des mouches nécrophages sur des substrats qui contiennent des doses connues de l'éthanol ;

 séquencer l'ADN des insectes d'intérêt forensique des différentes régions en utilisant plusieurs marqueurs génétiques et des amorces d'ADN plus spécifiques afin de vérifier la présence de variation géographiques entre les populations algériennes.

Une meilleure compréhension de l'écologie des insectes nécrophages permettrait de mieux cerner l'écosystème cadavre. En guise de conclusion, les données obtenues fourniront des informations de base sur l'entomofaune nécrophage de l'Algérie. Elles serviront également de base à des études similaires dans les différentes régions géographiques et climatologiques du pays.

# APPENDICES

# **APPENDICE A : Liste des symboles et des abréviations**

| ADD       | Accumulated Degree Days.   |
|-----------|--|
| ADN       | Acide désoxyribonucléique.                                       |
| ADH       | Accumulated Degree Hours.  |
| BLAST     | Basic Local Alignment Search Tool.                               |
| BOLD      | Barcode of Life Data System.                                     |
| COI       | Cytochrome c Oxydase I.  |
| Cys       | Cystéine.  |
| dNTP      | Deoxyribonucleotide Triphosphate.                                |
| ddNTP     | Dideoxyribonucleotide Triphosphate.                              |
| E         | Est.   |
| EGF       | Epidermal Growth Factor.   |
| F         | Ratio de Fisher (variance inter-groupes/variance intra-groupes). |
| FGF       | Fibroblaste Growth Factor.                                       |
| HS-GC-FID | Headspace Gas Chromatographywith Flame Ionization Detection.     |
| IGF       | Insulin-like Growth Factor.                                      |
| IL1       | Interleukine 1.  |
| IPM       | Intervalle post-mortem.  |
| MDMA      | 3,4-méthylènedioxy-N-méthylamphétamine.                          |
| MDM       | 3,4-méthylènedioxyamphétamine.                                   |
| nBLAST    | Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool.                    |
| NCBI      | National Center for Biotechnology Information.                   |
| NJ        | Neighbor-Joining.  |
| Ν         | Nord.  |
| pb        | Paire de base.   |
| PCR       | Polymerase Chain Reaction.                                       |
| PDGF      | Platelet-Derived Growth Factor.                                  |
| SARM      | Staphylococcus aureus résistant à la méticilline.                |
| TGF-β     | Transforming Growth Factor bêta (Cytokine).                      |
| U         | Valeur du test de Mann-Whitney.                                  |
| W         | Ouest.   |

# **APPENDICE B : Matériel utilisé dans la partie expérimentale**

#### • Matériel du terrain

- Pinces souples en acier, pinces brucelles rigides.
- Flacons en plastique
- Cage métallique.
- Piège en bouteille de plastique, piège pour les insectes volants, pots de Barber.
- Appâts (viande bovine, foie et abats).
- Appareil photos numérique.
- Pelle.

#### • Matériel de laboratoire

- Pinces, scalpel, ciseaux.
- boites en plastique, sable et viande bovine pour l'élevage.
- Lame de dissection.
- Pipettes Pasteur.
- Micropipettes.
- Bec Bunsen.
- Boites Pétri.
- Tubes Ependorf et tubes PCR.
- Erlenmeyer, éprouvette graduée, entonnoir.
- Epingles entomologiques.
- Boisson alcoolique (Vodka 40°).
- Tubes EDTA, cathéters et seringues.

#### • <u>Appareillage</u>

- Etuve, bain Marie, vortex, centrifugeuse.
- Enregistreur de température Testo® modèle 174T.
- Enceinte climatique Binder® KBF ;
- Chromatographie HS-GC-FID
- Spectrophotomètre NanoDrop® ND-1000.

- Stéréomicroscopes Carl Zeiss® Stemi 2000-C et Leica® EZ4 HD couplés à des appareils photo numériques.
- Thermocycleur ProFlex™ 3x32-well PCR System (ThermoFisher, USA).
- Thermocycleur Bio-RAD T100.
- Appareil de lumière ultraviolette (Transilluminateur Alpha Innotech ou UVIblue).
- Séquenceur automatique ABI 3130 (Applied Biosystem, USA).
- Appareil d'électrophorèse (Life Technologies, USA).

## • Produits chimiques et kits commerciaux

- Acétate d'éthyle (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>).
- Alcool éthylique (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O).
- Eau distillée.
- Eau physiologique stérile.
- Hypochlorite de sodium (Dakin).
- Hexamidine (Isomédine).
- Polyvidone iodée (Bétadine).
- Sérum salin.
- Azote liquide.
- Kit d'extraction d'AND Blood & Tissue (Qiagen, Allemagne).
- Kit PCR (GeneAll, Corée).
- dNTPs (GeneAll, Corée).
- Agarose (NZYTech, Portugal).
- TBE (NZYTech, Portugal).
- Colorant GelRed® (Biotium, USA).
- 1 Kb DNA ladder (ThermoFisher Scientific™, USA).
- Clean-up Kit<sup>™</sup> (Zymo Research Corp.).
- BigDye® Terminator v3.1 (ThermoFisher Science™, USA).
- Milieux de culture
  - Gélose nutritive.
  - Gélose au sang.
  - Milieu Sabouraud.

# **APPENDICE C** : Données de l'occurrences des espèces étudiées

Tableau 1 : Données de l'occurrence de Lucilia sericata en Algérie entre 2010 et 2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.).

| date            | Localité              | coordonnées                    | altitude | habitat         | piège/   | min. | max. | E.B.       |
|-----------------|-----------------------|--------------------------------|----------|-----------------|----------|------|------|------------|
|                 |                       |                                | (m)      |                 | cadavre  | (°C) | (°C) |            |
| 01/05/2010      | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E   | 643      | urbain          | chien    | 25   | 13   | semi-aride |
| 01/06/2010      | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E   | 643      | urbain          | chien    | 24   | 12   | semi-aride |
| 01/10/2011      | Tizi Rached           | 36°40'47.827"N 4°12'31.424"E   | 312      | rural           | piège    | 28   | 19   | subhumide  |
| 01/06/2012      | Gouraya               | 36°33'55.667"N 1°55'20.770"E   | 270      | rural           | chat     | 30   | 18   | subhumide  |
| 11/07/2012      | Bouchaoui             | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E    | 86       | forêt           | lapin    | 33   | 22   | subhumide  |
| 01/08/2012      | Tizi Rached           | 36°40'47.827"N 4°12'31.424"E   | 312      | rural           | piège    | 38   | 23   | subhumide  |
| 01/09/2012      | Tlemcene              | 35°4'26.069"N 1°13'44.249"W    | 245      | semi-<br>urbain | humain   | 30   | 19   | semi-aride |
| 01/08/2012      | Gouraya               | 36°33'55.667"N 1°55'20.770"E   | 270      | rural           | chat     | 31   | 20   | subhumide  |
| 01/07/2013      | Bordj Bou<br>Arreridj | 36°7'59.398"N 4°44'3.192"E     | 1039     | forêt           | sanglier | 31   | 22   | semi-aride |
| 15/09/2013      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | piège    | 31   | 28   | saharien   |
| 14/10/2013      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | piège    | 36   | 27   | saharien   |
| 03/11/2013      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | piège    | 28   | 19   | saharien   |
| 25/12/2013      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | piège    | 18   | 9    | saharien   |
| 01/02/2014      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | piège    | 16   | 10   | saharien   |
| 26/03/2014      | Ouled Yaich           | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | semi-<br>urbain | sanglier | 23   | 7    | subhumide  |
| 01/04/2014      | Oued Souf             | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E    | 70       | rural           | Piège    | 27   | 17   | saharien   |
| 20/04/2014      | Blida                 | 36° 30'16.994"N 2°52' 21.629"E | 172      | semi-<br>urbain | sanglier | 25   | 13   | subhumide  |
| 01/05/2014      | Tikjda                | 36°27'43.448"N 4°10'56.798"E   | 1561     | forêt           | piège    | 25   | 12   | humide     |
| 01/05/2014      | llizi                 | 28°6'56.502"N 6°45'17.107"E    | 356      | désert          | piège    | 40   | 24   | saharien   |
| 07/05/2014      | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E   | 643      | urbain          | chien    | 32   | 14   | semi-aride |
| 08/05/2014      | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E   | 643      | urbain          | lapin    | 29   | 10   | semi-aride |
| 25/05/2014      | Bejaia                | 36°45'3.204"N 5°3'24.239"E     | 18       | urbain          | humain   | 22   | 17   | subhumide  |
| 15/06/2014      | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E   | 643      | urbain          | chien    | 34   | 18   | semi-aride |
| 29/08/2014      | Annaba                | 36°43'15.769"N 7°33'26.921"E   | 32       | semi-<br>urbain | humain   | 33   | 21   | subhumide  |
| 24/09/2014      | Skikda                | 36°51'56.952"N 7°17'46.723"E   | 11       | semi-<br>urbain | humain   | 30   | 22   | subhumide  |
| 06/10/2014      | Bouira                | 36°17'0.708"N 3°59'16.235"E    | 568      | semi-<br>urbain | humain   | 32   | 16   | subhumide  |
| 01/11/2014      | llizi                 | 28°6'56.502"N 6°45'17.107"E    | 356      | désert          | piège    | 12   | 26   | saharien   |
| 05/04//201<br>4 | Beni Isguen           | 32°28'22.681"N 3°41'43.962"E   | 494      | semi-<br>urbain | foie     | 25   | 11   | saharien   |
| 02/02/2015      | Bouchaoui             | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E    | 86       | forêt           | piège    | 26   | 13   | subhumide  |
| 05/03/2015      | Bechar                | 31°37'5.696"N 2°12'51.563"W    | 787      | désert          | humain   | 23   | 13   | saharien   |
| 14/03/2015      | Tiaret                | 35°22' 2.478"N 1°19'19.315"E   | 1013     | forêt           | humain   | 20   | 10   | semi-aride |
| 15/03/2015      | Cheraga               | 36°45'44.446"N 2°55'21.32"E    | 145      | urbain          | humain   | 17   | 10   | subhumide  |

Tableau 1 : Données de l'occurrence *de Lucilia sericata* en Algérie entre 2010 et 2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne maximale (max. ), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.) (suite).

| Date       | Localité    | coordonnées                  | altitude | habitat | piège/  | min. | max. | E.B.       |
|------------|-------------|------------------------------|----------|---------|---------|------|------|------------|
|            |             |                              | (m)      |         | cadavre | (°C) | (°C) |            |
| 21/03/2015 | Beni Tamou  | 36°32'40.474"N 2°49'19.567"E | 83       | urbain  | lapin   | 23   | 9    | Subhumide  |
| 23/03/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | humain  | 24   | 10   | subhumide  |
| 01/04/2015 | Mascara     | 35°23'25.483"N 0°8'58.196"E  | 563      | semi-   | humain  | 20   | 5    | semi-aride |
|            |             |                              |          | urbain  |         |      |      |            |
| 12/05/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 22   | 14   | subhumide  |
| 27/06/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 36   | 25   | subhumide  |
| 15/06/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 36   | 25   | subhumide  |
| 16/06/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 30   | 24   | subhumide  |
| 15/07/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 35   | 28   | subhumide  |
| 09/07/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 35   | 28   | subhumide  |
| 15/08/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 31   | 26   | subhumide  |
| 16/09/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 31   | 24   | subhumide  |
| 17/09/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 34   | 23   | subhumide  |
| 01/10/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 26   | 19   | subhumide  |
| 02/11/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 27   | 18   | subhumide  |
| 15/11/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 24   | 13   | subhumide  |
| 01/12/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 23   | 15   | subhumide  |
| 22/12/2015 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 24   | 8    | subhumide  |
| 27/12/2015 | Bousmail    | 36°39'37.145"N 2°44'27.726"E | 114      | urbain  | viande  | 22   | 8    | subhumide  |
| 15/01/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 22   | 10   | subhumide  |
| 15/02/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 22   | 7    | subhumide  |
| 02/02/2016 | Chiffa      | 36°27'39.01"N 2°44'12.588"E  | 115      | urbain  | viande  | 22   | 7    | subhumide  |
| 15/03/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 15   | 4    | subhumide  |
| 15/03/2016 | Tizi Ouzou  | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137      | urbain  | chien   | 19   | 4    | subhumide  |
| 20/03/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 20   | 10   | subhumide  |
| 01/04/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 20   | 9    | subhumide  |
| 13/04/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86       | forêt   | viande  | 22   | 12   | subhumide  |
| 03/04/2016 | Tizi Ouzou  | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137      | urbain  | chien   | 26   | 9    | subhumide  |
| 04/04/2016 | Alger       | 36°45'13.572"N 3°3'31.655"E  | 42       | urbain  | humain  | 25   | 12   | subhumide  |
| 01/04/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 20   | 9    | subhumide  |
| 24/04/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172      | semi-   | lapin   | 22   | 10   | subhumide  |
|            |             |                              |          | urbain  |         |      |      |            |
| 04/05/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172      | semi-   | foie    | 26   | 14   | subhumide  |
|            |             |                              |          | urbain  |         |      |      |            |
| 04/05/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172      | semi-   | foie    | 26   | 14   | subhumide  |
|            |             |                              |          | urbain  |         |      |      |            |
| 24/05/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172      | urbain  | lapin   | 21   | 10   | subhumide  |
| 10/06/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 34   | 21   | subhumide  |
| 27/06/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189      | urbain  | viande  | 33   | 21   | subhumide  |

Tableau 2 : Données de l'occurrence *de Calliphora vicina* en Algérie entre 2010 et 2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B).

| Date        | location     | coordonnées                  | altitude<br>(m) | habitat         | piège/<br>cadavre | temp.<br>(°C) | temp.<br>(°C) | E.B.       |
|-------------|--------------|------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------|---------------|------------|
| 01/05/2010  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | chien             | 25            | 13            | semi-aride |
| 01/06/2010  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | chien             | 24            | 12            | semi-aride |
| 01/02/2011  | Ouargla      | 32°10'4.012"N 4°58'35.954"E  | 241             | rural           | piège             | 18            | 8             | saharien   |
| 01/03/2011  | Skikda       | 36°52'17.472"N 6°54'36.652"E | 11              | urbain          | chien             | 13            | 8             | subhumide  |
| 01/12/2012  | Gouraya      | 36°33'55.667"N 1°55'20.77"E  | 270             | rural           | sanglier          | 11            | 6             | subhumide  |
| 01/11/2012  | Ouargla      | 32°16'36.000"N 5°22'06.00"E  | 105             | rural           | piège             | 28            | 22            | saharien   |
| 01/01/2013  | Gouraya      | 36°33'55.667"N 1°55'20.77"E  | 270             | rural           | chat              | 13            | 5             | subhumide  |
| 01/02/2013  | Alger        | 36°45'13.572"N 3°3'31.655"E  | 42              | urbain          | humain            | 26            | 10            | subhumide  |
| 12/03/2013  | Bouchaoui    | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | lapin             | 18            | 8             | subhumide  |
| 15/03/2013  | Blida        | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | lapin             | 19            | 12            | subhumide  |
| 25/12/2013  | Oued Souf    | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E  | 70              | rural           | piège             | 18            | 9             | saharien   |
| 03/01/2014  | Taref        | 36°45'3.020"N 7°58'51.902"E  | 65              | urbain          | humain            | 18            | 11            | humide     |
| 01/02/2014  | Oued Souf    | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E  | 70              | rural           | piège             | 16            | 10            | saharien   |
| 26/03/2014  | Ouled Yaich  | 36°30'38.59"N 2°52'20.752"E  | 172             | semi-<br>urbain | sanglier          | 23            | 7             | subhumide  |
| 01/04/2014  | Oued Souf    | 33°24'4.014"N 6°51'48.424"E  | 70              | désert          | piège             | 27            | 17            | saharien   |
| 05/04//2014 | Ghardaia     | 32°28'22.681"N 3°41'43.962"E | 494             | rural           | foie              | 25            | 11            | saharien   |
| 20/04/2014  | Ouled Yaich  | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172             | semi-<br>urbain | sanglier          | 25            | 13            | subhumide  |
| 01/05/2014  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | chien             | 26            | 10            | semi-aride |
| 15/05/2014  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | lapin             | 21            | 6             | semi-aride |
| 15/05/2014  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | chien             | 21            | 6             | semi-aride |
| 15/06/2014  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | lapin             | 34            | 18            | semi-aride |
| 15/06/2014  | Constantine  | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643             | urbain          | chien             | 34            | 18            | semi-aride |
| 22/09/2014  | Taref        | 36°43'10.441"N 7°48'24.786"E | 15              | semi-<br>urbain | humain            | 33            | 22            | humide     |
| 01/11/2014  | Sidi Belabes | 35°9'34.535"N 0°37'57.259"W  | 490             | semi-<br>urbain | humain            | 25            | 14            | semi-aride |
| 03/01/2015  | Tiaret       | 35°34'56.694"N 1°15'58.457"E | 395             | forêt           | humain            | 15            | 3             | semi-aride |
| 04/01/2015  | Bejaia       | 36°50'22.852"N 4°42'25.423"E | 305             | semi-<br>urbain | humain            | 20            | 9             | subhumide  |
| 01/03/2015  | Mascara      | 35°23'25.483"N 0°8'58.196"E  | 563             | urbain          | humain            | 20            | 7             | semi-aride |
| 14/03/2015  | Tiaret       | 35°22'2.478"N 1°19'19.315"E  | 1013            | urbain          | humain            | 20            | 10            | semi-aride |
| 21/03/2015  | Beni Tamou   | 36°32'40.474"N 2°49'19.567"E | 83              | urbain          | lapin             | 23            | 9             | subhumide  |
| 23/03/2015  | Blida        | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | humain            | 24            | 10            | subhumide  |

Tableau 2 : Données de l'occurrence *de Calliphora vicina* en Algérie entre 2010 et 2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.) (suite).

| date       | location    | coordonnées                  | altitude<br>(m) | habitat         | piège/<br>cadavre    | temp.<br>(°C) | temp.<br>(°C) | E.B.       |
|------------|-------------|------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------|---------------|---------------|------------|
| 06/04/2015 | Beni Tamou  | 36°32'40.474"N 2°49'19.567"E | 83              | urbain          | lapin                | 18            | 10            | subhumide  |
| 01/10/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 26            | 19            | subhumide  |
| 02/11/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 27            | 18            | subhumide  |
| 15/11/2015 | Blida       | 36°28'47.587"N 2°48'2.084"E  | 189             | urbain          | viande               | 24            | 13            | subhumide  |
| 01/12/2015 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 23            | 15            | subhumide  |
| 20/12/2015 | Mechtita    | 36°33'11.254"N 1°48'5.749"E  | 100             | rural           | viande               | 23            | 10            | subhumide  |
| 22/12/2015 | Blida       | 36°28'47.587"N 2°48'2.084"E  | 189             | urbain          | viande               | 24            | 8             | subhumide  |
| 27/12/2015 | Bousmail    | 36°39'37.145"N 2°44'27.726"E | 114             | urbain          | viande               | 22            | 8             | subhumide  |
| 15/01/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 19            | 11            | subhumide  |
| 16/01/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 22            | 10            | subhumide  |
| 02/02/2016 | Chiffa      | 36°27'39.01"N 2°44'12.588"E  | 115             | urbain          | viande               | 22            | 7             | subhumide  |
| 15/02/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 26            | 13            | subhumide  |
| 15/03/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 15            | 4             | subhumide  |
| 02/02/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 26            | 13            | subhumide  |
| 20/03/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | semi-<br>urbain | viande               | 20            | 10            | subhumide  |
| 24/03/2016 | Bourkika,   | 36°29'24.295"N 2°30'6.649"E  | 94              | rural           | foie                 | 17            | 4             | subhumide  |
| 01/03/2016 | Chiffa      | 36°27'39.01"N 2°44'12.588"E  | 115             | semi-<br>urbain | semi- foie<br>urbain |               | 6             | subhumide  |
| 15/03/2016 | Tizi Ouzou  | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137             | urbain          | chien                | 19            | 4             | subhumide  |
| 20/03/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 20            | 10            | subhumide  |
| 17/04/2016 | Bourkika    | 36°29'24.295"N 2°30'6.649"E  | 94              | rural           | foie                 | 25            | 13            | subhumide  |
| 01/04/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 20            | 9             | subhumide  |
| 01/04/2016 | Chiffa      | 36°27'39.01"N 2°44'12.588"E  | 115             | semi-<br>urbain | foie                 | 17            | 9             | subhumide  |
| 03/04/2016 | Tizi Ouzou  | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137             | urbain          | chien                | 26            | 9             | subhumide  |
| 13/04/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 22            | 12            | subhumide  |
| 25/04/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172             | semi-<br>urbain | lapin                | 22            | 10            | subhumide  |
| 01/04/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 20            | 9             | subhumide  |
| 04/05/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172             | semi-<br>urbain | viande               | 26            | 14            | subhumide  |
| 12/05/2016 | Bouchaoui   | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86              | forêt           | viande               | 22            | 14            | subhumide  |
| 22/05/2016 | Batna       | 35°33'39.679"N 6°10'26.083"E | 1025            | urbain          | humain               | 29            | 12            | semi-aride |
| 04/05/2016 | Blida       | 36°28'47.525"N 2°48'2.045"E  | 189             | urbain          | viande               | 26            | 14            | subhumide  |
| 24/05/2016 | Ouled Yaich | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172             | semi-<br>urbain | foie                 | 21            | 10            | subhumide  |

Tableau 3 : Données de l'occurrence *de Calliphora vicina* en Algérie entre 2010 et 2016 selon la date, le lieu, les coordonnées géographiques, l'altitude, la température quotidienne minimale (min.), la température quotidienne maximale (max.), le type d'habitat et l'étage bioclimatique (E.B.).

| date       | location              | coordonnées                  | altitude<br>(m)  | habitat         | piège/<br>cadavr<br>e | max.<br>(°C) | min.<br>(°C) | E.B.       |
|------------|-----------------------|------------------------------|------------------|-----------------|-----------------------|--------------|--------------|------------|
| 01/05/2010 | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643              | urbain          | chien                 | 25           | 13           | semi-aride |
| 01/06/2010 | Constantine           | 36°21'36.558"N 6°38'32.759"E | 643              | urbain          | chien                 | 24           | 12           | semi-aride |
| 01/06/2012 | Gouraya               | 36°33'55.667"N 1°55'20.77"E  | 270              | rural           | chat                  | 30           | 18           | subhumide  |
| 11/07/2012 | Bouchaoui             | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 54'4.381"E 86 se |                 | lapin                 | 33           | 22           | subhumide  |
| 01/08/2012 | Gouraya               | 36°33'55.667"N 1°55'20.77"E  | 270              | semi-<br>urbain | chat                  | 31           | 20           | subhumide  |
| 01/09/2012 | Tlemcen               | 35°4'26.069"N 1°13'44.249"W  | 245              | urbain          | humain                | 30           | 19           | semi-aride |
| 01/07/2013 | Bordj Bou<br>Arreridj | 36°7'59.398"N 4°44'3.192"E   | 1039             | forêt           | sanglier              | 31           | 22           | semi-aride |
| 30/03/2014 | Ouled Yaich           | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172              | semi-<br>urbain | sanglier              | 23           | 7            | subhumide  |
| 20/04/2014 | Ouled Yaich           | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172              | semi-<br>urbain | sanglier              | 25           | 13           | subhumide  |
| 03/07/2014 | Boumerdas             | 36°45'2.912"N 3°27'52.247"E  | 20               | semi-<br>urbain | humain                | 31           | 22           | subhumide  |
| 06/07/2014 | Seghouane             | 35°59'19.478"N 2°55'3.346"E  | 735              | semi-<br>urbain | humain                | 31           | 22           | subhumide  |
| 05/08/2014 | Tizi Ouzou            | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137              | urbain          | humain                | 33           | 21           | subhumide  |
| 19/08/2014 | Annaba                | 37°0'14.666"N 7°22'23.758"E  | 98               | urbain          | humain                | 36           | 26           | subhumide  |
| 03/09/2014 | Msila                 | 35°48'53.197"N 3°42'10.44"E  | 617              | semi-<br>urbain | humain                | 33           | 20           | semi-aride |
| 10/09/2014 | Mostaganem            | 36°15'12.856"N 0°34'31.573"E | 151              | forêt           | humain                | 31           | 27           | semi-aride |
| 02/10/2014 | El Tarf               | 36°43'47.579"N 8°17'13.013"E | 468              | urbain          | humain                | 30           | 21           | humide     |
| 12/11/2014 | Alger                 | 36°43'49.444"N 2°50'24.418"E | 9                | urbain          | humain                | 20           | 18           | subhumide  |
| 14/11/2014 | Chlef                 | 36°8'50.726"N 1°18'30.128"E  | 124              | urbain          | humain                | 27           | 13           | semi-aride |
| 03/03/2015 | Tiaret                | 35°22'2.478"N 1°19'19.315"E  | 1013             | urbain          | humain                | 23           | 10           | subhumide  |
| 21/03/2015 | Beni Tamou            | 36°32'40.474"N 2°49'19.567"E | 83               | urbain          | lapin                 | 23           | 9            | subhumide  |
| 01/04/2015 | Mascara               | 35°23'25.483"N 0°8'58.196"E  | 563              | urbain          | humain                | 20           | 5            | semi-aride |
| 03/04/2015 | Ain Defla             | 36°15'39.676"N 2°14'3.523"E  | 980              | urbain          | humain                | 24           | 8            | semi-aride |
| 13/04/2015 | Alger                 | 36°46'38.075"N 3°14'28.81"E  | 6                | urbain          | humain                | 27           | 15           | subhumide  |
| 20/12/2015 | Mechtita              | 36°33'11.254"N 1°48'5.749"E  | 100              | rural           | viande                | 23           | 10           | subhumide  |
| 01/04/2016 | Tizi Ouzou            | 36°41'53.812"N 4°3'32.738"E  | 137              | urbain          | chien                 | 27           | 7            | subhumide  |
| 04/05/2016 | Bouchaoui             | 36°45'32.116"N 2°54'4.381"E  | 86               | semi-<br>urbain | viande                | 26           | 16           | subhumide  |
| 26/04/2016 | Ouled Yaich           | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172              | semi-<br>urbain | lapin                 | 25           | 12           | subhumide  |
| 01/05/2016 | Ouled Yaich           | 36°30'38.588"N 2°52'20.752"E | 172              | semi-<br>urbain | foie                  | 26           | 16           | subhumide  |

# APPENDICE D : Calcul des ADD de L. sericata et C. vicina

| Jour | L. sericata à | <i>L. sericata</i> à | C. vicina à | C. vicina à | C. vicina à | C. vicina à |
|------|---------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|      | 24°C (-9°C)   | 27°C (-9°C)          | 24°C (-2°C) | 24°C (-1°C) | 27°C (-2°C) | 27°C (-1°C) |
| 1    | 0             | 0                    | 0           | 0           | 0           | 0           |
| 2    | 15            | 18                   | 22          | 23          | 25          | 26          |
| 3    | 30            | 36                   | 44          | 46          | 50          | 52          |
| 4    | 45            | 54                   | 66          | 69          | 75          | 78          |
| 5    | 60            | 72                   | 88          | 92          | 100         | 104         |
| 6    | 75            | 90                   | 110         | 115         | 125         | 130         |
| 7    | 90            | 108                  | 132         | 138         | 150         | 156         |
| 8    | 105           | 126                  | 154         | 161         | 175         | 182         |
| 9    | 120           | 144                  | 176         | 184         | 200         | 208         |
| 10   | 135           | 162                  | 198         | 207         | 225         | 234         |
| 11   | 150           | 180                  | 220         | 230         | 250         | 260         |
| 12   | 165           | 198                  | 242         | 253         | 275         | 286         |
| 13   | 180           | 216                  | 264         | 276         | 300         | 312         |
| 14   | 195           | 234                  | 286         | 299         | 325         | 338         |
| 15   | 210           | 252                  | 308         | 322         | 350         | 364         |
| 16   | 225           | 270                  | 330         | 345         | 375         | 390         |
| 17   | 240           | 288                  | 352         | 368         | 400         | 416         |
| 18   | 255           | 306                  | 374         | 391         | 425         | 442         |
| 19   | 270           | 324                  | 396         | 414         | 450         | 468         |

Tableau 4 : Feuille de calcul des ADD de *L. sericata* et *C. vicina*.

# APPENDICE E : Chromatogrammes de l'analyse toxicologique des larves



Figure 1 : Chromatogrammes obtenus de l'analyse de l'éthanol par HS-GC-FID à partir des larves prélevées sur les cadavres témoins.

(A) Témoin 1 ; (B) Témoin 2 ; (C) Témoin 3 ; (D) Témoin 4 ; (E) Témoin 5 ; (F) Témoin 6.



Figure 2 : Chromatogrammes obtenus de l'analyse de l'éthanol par HS-GC-FID à partir des larves prélevées sur les cadavres traités.

(A) Traité 1 ; (B) Traité 2 ; (C) Traité 3 ; (D) Traité 4 ; (E) Traité 5 ; (F) Traité 6.

# **APPENDICE F** : Résultats des analyses moléculaires

Tableau 5 : Résultats de l'analyse des échantillons d'ADN extraits en utilisant un spectrophotomètre NanoDrop®.

| Échantillon | Identification        | ADN ng/µL | 260/280 | 260/230 |
|-------------|-----------------------|-----------|---------|---------|
| 1           | l ucilia sericata     | 7 0       | 1 75    | 0.19    |
| 2           | Lucilia sericata      | 8.9       | 1,134   | 0.23    |
| 3           | Lucilia sericata      | 6.1       | 1,59    | 0.20    |
| 4           | Lucilia sericata      | 61        | 1,00    | 0.33    |
| 5           | Lucilia sericata      | 8.5       | 1,89    | 0.66    |
| 6           | Lucilia sericata      | 9.1       | 1,54    | 0.45    |
| 7           | Lucilia sericata      | 5.6       | 1.47    | 0.67    |
| 8           | Lucilia sericata      | 4,4       | 1,69    | 0,49    |
| 9           | Lucilia sericata      | 8,3       | 1,98    | 0,33    |
| 10          | Lucilia sericata      | 6,8       | 167     | 0,22    |
| 11          | Lucilia sericata      | 9,2       | 1,45    | 0,47    |
| 12          | Lucilia sericata      | 5,5       | 2,22    | 0,69    |
| 13          | Chrysomya albiceps    | 3,0       | 2,45    | 0,16    |
| 14          | Chrysomya albiceps    | 6,6       | 2,74    | 0,29    |
| 15          | Chrysomya albiceps    | 5,1       | 2,09    | 0,22    |
| 16          | Chrysomya albiceps    | 3,9       | 2,31    | 0,19    |
| 17          | Chrysomya albiceps    | 4,2       | 2,22    | 0,17    |
| 18          | Chrysomya albiceps    | 5,6       | 2,19    | 0,26    |
| 19          | Chrysomya albiceps    | 7,2       | 2,17    | 0,54    |
| 20          | Chrysomya albiceps    | 3,9       | 2,01    | 0,33    |
| 21          | Chrysomya megacephala | 6,3       | 1,90    | 0,22    |
| 22          | Chrysomya megacephala | 5,6       | 1,64    | 0,20    |
| 23          | Chrysomya megacephala | 7,1       | 1,55    | 0,44    |
| 24          | Calliphora vicina     | 5,3       | 2,28    | 0,20    |
| 25          | Calliphora vicina     | 4,7       | 2,64    | 0,15    |
| 26          | Calliphora vicina     | 4,9       | 2,78    | 0,17    |
| 27          | Calliphora vicina     | 4,6       | 2,01    | 0,65    |
| 28          | Calliphora vicina     | 5,8       | 2,48    | 0,22    |
| 29          | Calliphora vicina     | 5,5       | 2,17    | 0,24    |
| 30          | Calliphora vicina     | 6,7       | 2,14    | 0,33    |
| 31          | Calliphora vicina     | 6,1       | 1,98    | 0,54    |
| 32          | Calliphora vicina     | 8,1       | 1,79    | 0,14    |
| 33          | Calliphora vicina     | 5,2       | 2,02    | 0,43    |
| 34          | Calliphora vomitoria  | 3,9       | 3,04    | 0,13    |
| 35          | Calliphora vomitoria  | 7,1       | 2,61    | 0,20    |
| 36          | Calliphora vomitoria  | 8,0       | 2,21    | 0,64    |
| 37          | Calliphora vomitoria  | 5,3       | 2,14    | 0,17    |
| 38          | Pollenia sp. 1        | 4,3       | 1,74    | 0,19    |
| 39          | Pollenia sp. 1        | 4,6       | 1,69    | 0,14    |
| 40          | Pollenia sp. 1        | 7,6       | 1,97    | 0,15    |
| 42          | Pollenia sp 2         | 3,8       | 3,20    | 0,13    |
| 43          | Pollenia sp 2         | 7,1       | 2,9     | 0,17    |
| 44          | Pollenia sp 2         | 6,3       | 2,15    | 0,98    |
| 45          | Liopygia sp.          | 11,4      | 2,09    | 0,48    |

| Échantillon | Identification<br>morphologique | ADN ng/µL | 260/280 | 260/230 |
|-------------|---------------------------------|-----------|---------|---------|
| 46          | <i>Liopygia</i> sp.             | 10,1      | 2,45    | 0,49    |
| 47          | <i>Liopygia</i> sp.             | 11,5      | 2,09    | 0,84    |
| 48          | Sarcophaga sp.                  | 8,5       | 1,95    | 0,28    |
| 49          | Sarcophaga sp.                  | 9,5       | 1,58    | 0,47    |
| 50          | Sarcophaga sp.                  | 10,1      | 1,44    | 0,65    |
| 51          | Sarcophaga africa               | 9,8       | 1,82    | 0,34    |
| 52          | Sarcophaga africa               | 13,2      | 1,66    | 0,33    |
| 53          | Sarcophaga africa               | 11,5      | 1,74    | 0,45    |
| 54          | Sarcophaga africa               | 14,3      | 1,63    | 0,47    |
| 55          | Sarcophaga africa               | 12,1      | 1,29    | 0,65    |
| 56          | Sarcophaga africa               | 13,5      | 1,38    | 0,74    |
| 57          | Liosarcophaga sp.               | 5,5       | 1,77    | 0,16    |
| 58          | Liosarcophaga sp.               | 6,5       | 1,89    | 0,17    |
| 59          | Liosarcophaga sp.               | 6,7       | 1,98    | 0,25    |
| 60          | Piophila nigriceps              | 6,7       | 1,69    | 0,27    |
| 61          | Piophila nigriceps              | 3,0       | 2,02    | 0,12    |
| 62          | Piophila nigriceps              | 4,8       | 2,14    | 0,14    |
| 63          | Piophila casei                  | 4,3       | 1,74    | 0,19    |
| 64          | Piophila casei                  | 3,8       | 3,20    | 0,13    |
| 65          | Piophila casei                  | 5,1       | 1,98    | 0,19    |

**Tableau 5.** Résultats de l'analyse des échantillons d'ADN extraits en utilisant un spectrophotomètre NanoDrop® (suite).

Tableau 6 : Identification moléculaire des échantillons utilisés dans cette étude avec leurs taux de similarité sur la base de données GenBank.

| Échantillon | Identification  | Identificat           | tion moléculaire |               |
|-------------|---|-----------------------|------------------|---------------|
|             | Identification<br>morphologiqueLucilia sericataLucilia sericataChrysomya albicepsChrysomya megacephalaChrysomya megacephalaChrysomya megacephalaChrysomya megacephalaCalliphora vicinaCalliphora vicina | GENBANK               | % de similarité  | Longueur (pb) |
| 1           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 492           |
| 2           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 97               | 492           |
| 3           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 503           |
| 4           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 503           |
| 5           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 506           |
| 6           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 506           |
| 7           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 506           |
| 8           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 504           |
| 9           | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 503           |
| 10          | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 503           |
| 11          | Lucilia sericata  | L. sericata           | 99               | 502           |
| 12          | Lucilia sericata  | L. sericata           | 98               | 503           |
| 13          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 99               | 492           |
| 14          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 99               | 495           |
| 15          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 99               | 491           |
| 16          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 99               | 491           |
| 17          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 97               | 491           |
| 18          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 96               | 491           |
| 19          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 95               | 492           |
| 20          | Chrysomya albiceps  | Chrysomya albiceps    | 95               | 492           |
| 21          | Chrysomya megacephala   | Chrysomya megacephala | 97               | 500           |
| 22          | Chrysomya megacephala   | Chrysomya megacephala | 96               | 501           |
| 23          | Chrysomya megacephala   | Chrysomya megacephala | 97               | 499           |
| 24          | Calliphora vicina   | Calliphora vicina     | 99               | 498           |
| 25          | Calliphora vicina   | Calliphora vicina     | 99               | 498           |

| Échantillon | Identification           | Identifi                                  | cation moléculai | ire           |  |  |  |  |
|-------------|--------------------------|---|------------------|---------------|--|--|--|--|
|             | morphologique            | GENBANK                                   | % de similarité  | Longueur (pb) |  |  |  |  |
| 26          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 99               | 500           |  |  |  |  |
| 27          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 97               | 498           |  |  |  |  |
| 28          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 98               | 500           |  |  |  |  |
| 29          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 97               | 501           |  |  |  |  |
| 30          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 98               | 499           |  |  |  |  |
| 31          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 100              | 497           |  |  |  |  |
| 32          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 99               | 497           |  |  |  |  |
| 33          | Calliphora vicina        | Calliphora vicina                         | 98               | 497           |  |  |  |  |
| 34          | Calliphora vomitoria     | Calliphora vomitoria                      | 99               | 494           |  |  |  |  |
| 35          | Calliphora vomitoria     | Calliphora vomitoria                      | 99               | 492           |  |  |  |  |
| 36          | Calliphora vomitoria     | Calliphora vomitoria                      | 96               | 493           |  |  |  |  |
| 37          | Calliphora vomitoria     | Calliphora vomitoria                      | 97               | 97 492        |  |  |  |  |
| 38          | Pollenia sp. 1           | Pollenia vagabunda                        | 96               | 96 496        |  |  |  |  |
| 39          | Pollenia sp. 1           | Pollenia vagabunda                        | 92               | 496           |  |  |  |  |
| 40          | Pollenia sp. 1           | Pollenia vagabunda                        | 93               | 496           |  |  |  |  |
| 42          | Pollenia sp 2            | Pollenia rudis                            | 98               | 494           |  |  |  |  |
| 43          | Pollenia sp 2            | Pollenia rudis                            | 98               | 494           |  |  |  |  |
| 44          | Pollenia sp 2            | Pollenia rudis                            | 97               | 492           |  |  |  |  |
| 45          | <i>Liopygia</i> sp.      | Liopygia                                  | Liopygia 99      |               |  |  |  |  |
| 46          | <i>Liopygia</i> sp.      | Liopygia                                  | 97               | 492           |  |  |  |  |
| 47          | <i>Liopygia</i> sp.      | Liopygia                                  | 98               | 492           |  |  |  |  |
| 40          |                          | argyrostoma                               |                  | 40.4          |  |  |  |  |
| 48          | Sarcophaga sp.           | Sarcophaga<br>pandellei                   | 98               | 494           |  |  |  |  |
| 49          | Sarcophaga sp.           | Sarcophaga<br>pandellei                   | 96               | 496           |  |  |  |  |
| 50          | Sarcophaga sp.           | Sarcophaga<br>pandellei                   | 98               | 496           |  |  |  |  |
| 51          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 93               | 497           |  |  |  |  |
| 52          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 93               | 497           |  |  |  |  |
| 53          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 93               | 497           |  |  |  |  |
| 54          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 92               | 498           |  |  |  |  |
| 55          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 91               | 499           |  |  |  |  |
| 56          | Sarcophaga africa        | Sarcophaga africa                         | 93               | 499           |  |  |  |  |
| 57          | Liosarcophaga sp.        | Sarcophaga<br>(Liosarcophaga)<br>tibialis | 99               | 490           |  |  |  |  |
| 58          | Liosarcophaga sp.        | Sarcophaga<br>(Liosarcophaga)<br>tibialis | 96               | 491           |  |  |  |  |
| 59          | <i>Liosarcophaga</i> sp. | Sarcophaga<br>(Liosarcophaga)<br>tibialis | 99               | 493           |  |  |  |  |
| 60          | Piophila nigriceps       | Piophila nigriceps                        | 94               | 488           |  |  |  |  |
| 61          | Piophila nigriceps       | Piophila nigriceps                        | 94               | 488           |  |  |  |  |
| 62          | Piophila nigriceps       | Piophila nigriceps                        | 91               | 488           |  |  |  |  |
| 63          | Piophila casei           | Piophila casei                            | 98               | 490           |  |  |  |  |
| 64          | Piophila casei           | Piophila casei                            | 95               | 492           |  |  |  |  |
| 65          | Piophila casei           | Piophila casei                            | 100              | 483           |  |  |  |  |

Tableau 6 : Identification moléculaire des échantillons utilisés dans cette étude avec leurs taux de similarité sur la base de données GenBank (suite).

|    |         | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    |
|----|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | LS DZ1  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 2  | LS DZ2  | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 3  | LS DZ3  | 0,000 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 4  | LS DZ4  | 0,009 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 5  | LS DZ5  | 0,000 | 0,000 | 0,009 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 6  | LS DZ6  | 0,000 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 7  | LS DZ7  | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 8  | LS DZ8  | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 9  | LS DZ9  | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 10 | LS DZ10 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 11 | LS DZ11 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 12 | LS DZ12 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |
| 13 | LS ES   | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |
| 14 | LS EG   | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 |       |       |       |       |       |
| 15 | LS UK   | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,000 |       |       |       |       |
| 16 | LS USA  | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |
| 17 | LS DE   | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |
| 18 | LS CN   | 0,761 | 0,787 | 0,761 | 0,813 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,761 | 0,876 | 0,876 | 0,876 | 0,876 |       |
| 19 | ChA DZ1 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,820 |
| 20 | ChA DZ2 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,820 |
| 21 | ChA DZ3 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,820 |
| 22 | ChA DZ4 | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,794 |
| 23 | ChA DZ5 | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,794 |
| 24 | ChA DZ6 | 0,089 | 0,100 | 0,089 | 0,100 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,816 |
| 25 | ChA DZ7 | 0,090 | 0,100 | 0,090 | 0,100 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,852 |
| 26 | ChA DZ8 | 0,090 | 0,100 | 0,090 | 0,100 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,852 |
| 27 | ChA ES  | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,820 |
| 28 | ChA EG  | 0,811 | 0,839 | 0,811 | 0,840 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,947 |
| 29 | ChA DE  | 0,811 | 0,839 | 0,811 | 0,840 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,947 |
| 30 | ChA IT  | 0,811 | 0,839 | 0,811 | 0,840 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,947 |
| 31 | ChM ZA  | 0,811 | 0,839 | 0,811 | 0,840 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,947 |
| 32 | ChM DZ1 | 0,038 | 0,048 | 0,038 | 0,058 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,768 |
| 33 | ChM DZ2 | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,089 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,820 |
| 34 | ChM DZ3 | 0,038 | 0,048 | 0,038 | 0,058 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,768 |
| 35 | ChM CN  | 0,599 | 0,620 | 0,599 | 0,605 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 1,111 |
| 36 | ChM ZA  | 0,708 | 0,732 | 0,708 | 0,733 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,768 |
| 37 | ChM BR  | 0,038 | 0,048 | 0,038 | 0,058 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,768 |
| 38 | ChM EG  | 0,708 | 0,732 | 0,708 | 0,733 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,768 |
| 39 | ChM AU  | 0,599 | 0,620 | 0,599 | 0,605 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,599 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 1,111 |

|    |            | 19    | 20    | 21    | 22    | 23    | 24    | 25    | 26    | 27    | 28    | 29    | 30    | 31    | 32    | 33    | 34    | 35    | 36    | 37    | 38    |
|----|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 19 | ChA        |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 20 | ChA        | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 21 | DZ2        | 0.000 | 0.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 21 | DZ3        | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 22 | ChA<br>DZ4 | 0,009 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 23 | ChA<br>DZ5 | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 24 | ChA<br>DZ6 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,009 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 25 | ChA<br>DZ7 | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 26 | ChA<br>DZ8 | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,000 | 0,009 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 27 | ChA<br>ES  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,009 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 28 | ChA<br>EG  | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,810 | 0,810 | 0,839 | 0,838 | 0,838 | 0,783 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 29 | ChA<br>DE  | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,810 | 0,810 | 0,839 | 0,838 | 0,838 | 0,783 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 30 | ChA<br>IT  | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,810 | 0,810 | 0,839 | 0,838 | 0,838 | 0,783 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 31 | ChA<br>ZA  | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,810 | 0,810 | 0,839 | 0,838 | 0,838 | 0,783 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 32 | ChM<br>DZ1 | 0,059 | 0,059 | 0,059 | 0,049 | 0,049 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,059 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 |       |       |       |       |       |       |       |
| 33 | ChM<br>DZ2 | 0,090 | 0,090 | 0,090 | 0,079 | 0,079 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,090 | 0,872 | 0,872 | 0,872 | 0,872 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |
| 34 | ChM<br>DZ3 | 0,059 | 0,059 | 0,059 | 0,049 | 0,049 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,059 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |
| 35 | ChM<br>CN  | 0,646 | 0,646 | 0,646 | 0,625 | 0,625 | 0,713 | 0,628 | 0,628 | 0,646 | 0,929 | 0,929 | 0,929 | 0,929 | 0,599 | 0,618 | 0,599 |       |       |       |       |
| 36 | ChM<br>ZA  | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,838 |       |       |       |
| 37 | ChM<br>BR  | 0,059 | 0,059 | 0,059 | 0,049 | 0,049 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,059 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,000 | 0,029 | 0,000 | 0,599 | 0,733 |       |       |
| 38 | ChM<br>EG  | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,838 | 0,000 | 0,733 |       |
| 39 | ChM<br>AU  | 0,646 | 0,646 | 0,646 | 0,625 | 0,625 | 0,713 | 0,628 | 0,628 | 0,646 | 0,929 | 0,929 | 0,929 | 0,929 | 0,599 | 0,618 | 0,599 | 0,000 | 0,838 | 0,599 | 0,838 |

|    |          | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    |
|----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 40 | CVi DZ1  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 41 | CVi DZ2  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 42 | CVi DZ3  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 43 | CVi DZ4  | 0,091 | 0,101 | 0,091 | 0,100 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,847 | 0,847 | 0,847 | 0,847 | 0,866 |
| 44 | CVi DZ5  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 45 | CVi DZ6  | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,82  |
| 46 | CVi DZ7  | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,82  |
| 47 | CVi DZ8  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 48 | CVi DZ9  | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 49 | CVi DZ10 | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,079 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,068 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,82  |
| 50 | CVo ES   | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,058 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,799 |
| 51 | CVo IT   | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,757 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,881 |
| 52 | CVo DE   | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,757 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,881 |
| 53 | CVo US   | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,757 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,881 |
| 54 | CVo UK   | 0,733 | 0,759 | 0,733 | 0,757 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,881 |
| 55 | CVo DZ1  | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,079 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,069 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,794 |
| 56 | CVo DZ2  | 0,058 | 0,068 | 0,058 | 0,079 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,764 |
| 57 | CVo DZ3  | 0,111 | 0,1   | 0,111 | 0,122 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,816 |
| 58 | CVo DZ4  | 0,058 | 0,068 | 0,058 | 0,079 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,764 |
| 59 | CVo ES   | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,089 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,768 |
| 60 | CVo IT   | 0,732 | 0,757 | 0,732 | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,91  |
| 61 | CVo DE   | 0,732 | 0,757 | 0,732 | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,91  |
| 62 | CVo US   | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,039 | 0,039 | 0,039 | 0,039 | 0,91  |
| 63 | PoV_DZ1  | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,876 |
| 64 | PoV_DZ2  | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,876 |
| 65 | PoV_DZ3  | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,144 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,876 |
| 66 | PoV CA   | 0,81  | 0,839 | 0,81  | 0,838 | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,81  | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,936 |
| 67 | PoR DZ1  | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,79  |
| 68 | PoR DZ2  | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,79  |
| 69 | PoR DZ3  | 0,100 | 0,111 | 0,100 | 0,111 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,661 | 0,661 | 0,661 | 0,661 | 0,79  |
| 70 | PoR ES   | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,1   | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,09  | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,684 | 0,79  |
| 71 | PoR IN   | 0,757 | 0,784 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,1   | 1,021 |
| 72 | PoR CA   | 0,757 | 0,784 | 0,757 | 0,783 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,1   | 0,1   | 0,1   | 0,1   | 1,021 |
| 73 | DM       | 0,787 | 0,813 | 0,787 | 0,816 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,787 | 0,1   | 0,1   | 0,1   | 0,1   | 0,973 |

| P  |          |       | 1440 (04 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|----|----------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|    |          | 19    | 20       | 21    | 22    | 23    | 24    | 25    | 26    | 27    | 28    | 29    | 30    | 31    | 32    | 33    | 34    | 35    | 36    | 37    | 38    | 39    |
| 40 | CVi DZ1  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 41 | CVi DZ2  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 42 | CVi DZ3  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 43 | CVi DZ4  | 0,080 | 0,080    | 0,080 | 0,069 | 0,069 | 0,090 | 0,091 | 0,091 | 0,080 | 0,979 | 0,979 | 0,979 | 0,979 | 0,070 | 0,102 | 0,070 | 0,671 | 0,847 | 0,070 | 0,847 | 0,671 |
| 44 | CVi DZ5  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 45 | CVi DZ6  | 0,068 | 0,068    | 0,068 | 0,058 | 0,058 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,068 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,048 | 0,079 | 0,048 | 0,665 | 0,733 | 0,048 | 0,733 | 0,665 |
| 46 | CVi DZ7  | 0,068 | 0,068    | 0,068 | 0,058 | 0,058 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,068 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,048 | 0,079 | 0,048 | 0,665 | 0,733 | 0,048 | 0,733 | 0,665 |
| 47 | CVi DZ8  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 48 | CVi DZ9  | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 49 | CVi DZ10 | 0,068 | 0,068    | 0,068 | 0,058 | 0,058 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,068 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,048 | 0,079 | 0,048 | 0,665 | 0,733 | 0,048 | 0,733 | 0,665 |
| 50 | CVo ES   | 0,048 | 0,048    | 0,048 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,059 | 0,059 | 0,048 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,840 | 0,029 | 0,059 | 0,029 | 0,622 | 0,733 | 0,029 | 0,733 | 0,622 |
| 51 | CVo IT   | 0,710 | 0,710    | 0,710 | 0,685 | 0,685 | 0,708 | 0,710 | 0,710 | 0,710 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,684 | 0,707 | 0,684 | 0,810 | 0,089 | 0,684 | 0,089 | 0,810 |
| 52 | CVo DE   | 0,710 | 0,710    | 0,710 | 0,685 | 0,685 | 0,708 | 0,710 | 0,710 | 0,710 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,684 | 0,707 | 0,684 | 0,810 | 0,089 | 0,684 | 0,089 | 0,810 |
| 53 | CVo US   | 0,710 | 0,710    | 0,710 | 0,685 | 0,685 | 0,708 | 0,710 | 0,710 | 0,710 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,684 | 0,707 | 0,684 | 0,810 | 0,089 | 0,684 | 0,089 | 0,810 |
| 54 | CVo UK   | 0,710 | 0,710    | 0,710 | 0,685 | 0,685 | 0,708 | 0,710 | 0,710 | 0,710 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,111 | 0,684 | 0,707 | 0,684 | 0,810 | 0,089 | 0,684 | 0,089 | 0,810 |
| 55 | CVo DZ1  | 0,029 | 0,029    | 0,029 | 0,019 | 0,019 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,029 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,049 | 0,079 | 0,049 | 0,668 | 0,732 | 0,049 | 0,732 | 0,668 |
| 56 | CVo DZ2  | 0,038 | 0,038    | 0,038 | 0,029 | 0,029 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,038 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,039 | 0,069 | 0,039 | 0,668 | 0,732 | 0,039 | 0,732 | 0,668 |
| 57 | CVo DZ3  | 0,069 | 0,069    | 0,069 | 0,059 | 0,059 | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,069 | 0,839 | 0,839 | 0,839 | 0,839 | 0,089 | 0,122 | 0,089 | 0,713 | 0,757 | 0,089 | 0,757 | 0,713 |
| 58 | CVo DZ4  | 0,038 | 0,038    | 0,038 | 0,029 | 0,029 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,038 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,810 | 0,039 | 0,069 | 0,039 | 0,668 | 0,732 | 0,039 | 0,732 | 0,668 |
| 59 | CVo ES   | 0,038 | 0,038    | 0,038 | 0,029 | 0,029 | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,038 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,059 | 0,090 | 0,059 | 0,690 | 0,757 | 0,059 | 0,757 | 0,690 |
| 60 | CVo IT   | 0,732 | 0,732    | 0,732 | 0,707 | 0,707 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,684 | 0,708 | 0,684 | 0,783 | 0,100 | 0,684 | 0,100 | 0,783 |
| 61 | CVo DE   | 0,732 | 0,732    | 0,732 | 0,707 | 0,707 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,684 | 0,708 | 0,684 | 0,783 | 0,100 | 0,684 | 0,100 | 0,783 |
| 62 | CVo_US   | 0,757 | 0,757    | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,155 | 0,155 | 0,155 | 0,155 | 0,708 | 0,733 | 0,708 | 0,811 | 0,111 | 0,708 | 0,111 | 0,811 |
| 63 | PoV_DZ1  | 0,157 | 0,157    | 0,157 | 0,146 | 0,146 | 0,168 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,135 | 0,159 | 0,135 | 0,716 | 0,810 | 0,135 | 0,810 | 0,716 |
| 64 | PoV_DZ2  | 0,157 | 0,157    | 0,157 | 0,146 | 0,146 | 0,168 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,135 | 0,159 | 0,135 | 0,716 | 0,810 | 0,135 | 0,810 | 0,716 |
| 65 | PoV_DZ3  | 0,157 | 0,157    | 0,157 | 0,146 | 0,146 | 0,168 | 0,157 | 0,157 | 0,157 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,898 | 0,135 | 0,159 | 0,135 | 0,716 | 0,810 | 0,135 | 0,810 | 0,716 |
| 66 | PoV CA   | 0,868 | 0,868    | 0,868 | 0,839 | 0,839 | 0,839 | 0,868 | 0,868 | 0,868 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,838 | 0,868 | 0,838 | 0,838 | 0,100 | 0,838 | 0,100 | 0,838 |
| 67 | PoR DZ1  | 0,112 | 0,112    | 0,112 | 0,101 | 0,101 | 0,122 | 0,123 | 0,123 | 0,112 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,102 | 0,135 | 0,102 | 0,725 | 0,732 | 0,102 | 0,732 | 0,725 |
| 68 | PoR DZ2  | 0,112 | 0,112    | 0,112 | 0,101 | 0,101 | 0,122 | 0,123 | 0,123 | 0,112 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,102 | 0,135 | 0,102 | 0,725 | 0,732 | 0,102 | 0,732 | 0,725 |
| 69 | PoR DZ3  | 0,123 | 0,123    | 0,123 | 0,112 | 0,112 | 0,134 | 0,135 | 0,135 | 0,123 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,732 | 0,113 | 0,146 | 0,113 | 0,697 | 0,708 | 0,113 | 0,708 | 0,697 |
| 70 | PoR ES   | 0,112 | 0,112    | 0,112 | 0,101 | 0,101 | 0,122 | 0,123 | 0,123 | 0,112 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,102 | 0,135 | 0,102 | 0,725 | 0,732 | 0,102 | 0,732 | 0,725 |
| 71 | PoR IN   | 0,812 | 0,812    | 0,812 | 0,784 | 0,784 | 0,783 | 0,786 | 0,786 | 0,812 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,783 | 0,810 | 0,783 | 0,839 | 0,100 | 0,783 | 0,100 | 0,839 |
| 72 | PoR CA   | 0,812 | 0,812    | 0,812 | 0,784 | 0,784 | 0,783 | 0,786 | 0,786 | 0,812 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,783 | 0,810 | 0,783 | 0,839 | 0,100 | 0,783 | 0,100 | 0,839 |
| 73 | DM       | 0,840 | 0.840    | 0.840 | 0.813 | 0,813 | 0,843 | 0.783 | 0.783 | 0.840 | 0,167 | 0.167 | 0.167 | 0.167 | 0,787 | 0.816 | 0.787 | 0.737 | 0,100 | 0.787 | 0,100 | 0,737 |

Tableau 7 : Matrice de la divergence intra- et inter-spécifique par paire (p-distance) calculée par la méthode de Kimura à deux paramètres entre les séquences des espèces de Calliphoridae (suite).

|    |          | 40    | 41    | 42    | 43    | 44    | 45    | 46    | 47    | 48    | 49    | 50    | 51    | 52    | 53    | 54    |
|----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 40 | CVi DZ1  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 41 | CVi DZ2  | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 42 | CVi DZ3  | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 43 | CVi DZ4  | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 44 | CVi DZ5  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 45 | CVi DZ6  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 46 | CVi DZ7  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 47 | CVi DZ8  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 48 | CVi DZ9  | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |
| 49 | CVi DZ10 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |
| 50 | CVi ES   | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,039 | 0,000 | 0,019 | 0,019 | 0,000 | 0,000 | 0,019 |       |       |       |       |       |
| 51 | CVi IT   | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,813 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 |       |       |       |       |
| 52 | CVi DE   | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,813 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,000 |       |       |       |
| 53 | CVi US   | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,813 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,000 | 0,000 |       |       |
| 54 | CVi UK   | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,813 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,707 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |       |
| 55 | CVo DZ1  | 0,039 | 0,039 | 0,039 | 0,080 | 0,039 | 0,058 | 0,058 | 0,039 | 0,039 | 0,058 | 0,039 | 0,685 | 0,685 | 0,685 | 0,685 |
| 56 | CVo DZ2  | 0,049 | 0,049 | 0,049 | 0,091 | 0,049 | 0,069 | 0,069 | 0,049 | 0,049 | 0,069 | 0,049 | 0,685 | 0,685 | 0,685 | 0,685 |
| 57 | CVo DZ3  | 0,079 | 0,079 | 0,079 | 0,122 | 0,079 | 0,100 | 0,100 | 0,079 | 0,079 | 0,100 | 0,079 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 |
| 58 | CVo DZ4  | 0,049 | 0,049 | 0,049 | 0,091 | 0,049 | 0,069 | 0,069 | 0,049 | 0,049 | 0,069 | 0,049 | 0,685 | 0,685 | 0,685 | 0,685 |
| 59 | CVo ES   | 0,048 | 0,048 | 0,048 | 0,091 | 0,048 | 0,068 | 0,068 | 0,048 | 0,048 | 0,068 | 0,048 | 0,710 | 0,710 | 0,710 | 0,710 |
| 60 | CVo IT   | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,816 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,029 |
| 61 | CVo DE   | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,816 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,708 | 0,029 | 0,029 | 0,029 | 0,029 |
| 62 | CVo_US   | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,847 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,038 | 0,038 | 0,038 | 0,038 |
| 63 | PoV_DZ1  | 0,123 | 0,123 | 0,123 | 0,171 | 0,123 | 0,145 | 0,145 | 0,123 | 0,123 | 0,145 | 0,123 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 |
| 64 | PoV_DZ2  | 0,123 | 0,123 | 0,123 | 0,171 | 0,123 | 0,145 | 0,145 | 0,123 | 0,123 | 0,145 | 0,123 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 |
| 65 | PoV_DZ3  | 0,123 | 0,123 | 0,123 | 0,171 | 0,123 | 0,145 | 0,145 | 0,123 | 0,123 | 0,145 | 0,123 | 0,757 | 0,757 | 0,757 | 0,757 |
| 66 | PoV CA   | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,968 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,838 | 0,133 | 0,133 | 0,133 | 0,133 |
| 67 | PoR DZ1  | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,137 | 0,091 | 0,112 | 0,112 | 0,091 | 0,091 | 0,112 | 0,091 | 0,617 | 0,617 | 0,617 | 0,617 |
| 68 | PoR DZ2  | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,137 | 0,091 | 0,112 | 0,112 | 0,091 | 0,091 | 0,112 | 0,091 | 0,617 | 0,617 | 0,617 | 0,617 |
| 69 | PoR DZ3  | 0,102 | 0,102 | 0,102 | 0,149 | 0,102 | 0,123 | 0,123 | 0,102 | 0,102 | 0,123 | 0,102 | 0,597 | 0,597 | 0,597 | 0,597 |
| 70 | PoR ES   | 0,091 | 0,091 | 0,091 | 0,137 | 0,091 | 0,112 | 0,112 | 0,091 | 0,091 | 0,112 | 0,091 | 0,617 | 0,617 | 0,617 | 0,617 |
| 71 | PoR IN   | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,839 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 |
| 72 | PoR CA   | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,839 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,733 | 0,089 | 0,089 | 0,089 | 0,089 |
| 73 | DM       | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,955 | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,816 | 0,122 | 0,122 | 0,122 | 0,122 |

|    |         | 55    | 56    | 57    | 58    | 59    | 60    | 61    | 62    | 63    | 64    | 65    | 66    | 67    | 68    | 69    | 70    | 71    | 72    |
|----|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 55 | CVo DZ1 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 56 | CVo DZ2 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 57 | CVo DZ3 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 58 | CVo DZ4 | 0,009 | 0,000 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 59 | CVo ES  | 0,009 | 0,009 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 60 | CVo IT  | 0,707 | 0,707 | 0,732 | 0,707 | 0,732 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 61 | CVo DE  | 0,707 | 0,707 | 0,732 | 0,707 | 0,732 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 62 | CVo_US  | 0,732 | 0,732 | 0,757 | 0,732 | 0,732 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 63 | PoV DZ1 | 0,146 | 0,158 | 0,191 | 0,158 | 0,157 | 0,757 | 0,757 | 0,783 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 64 | PoV DZ2 | 0,146 | 0,158 | 0,191 | 0,158 | 0,157 | 0,757 | 0,757 | 0,783 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 65 | PoV DZ3 | 0,146 | 0,158 | 0,191 | 0,158 | 0,157 | 0,757 | 0,757 | 0,783 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 66 | PoV CA  | 0,839 | 0,839 | 0,867 | 0,839 | 0,868 | 0,111 | 0,111 | 0,122 | 0,898 | 0,898 | 0,898 |       |       |       |       |       |       |       |
| 67 | PoR DZ1 | 0,101 | 0,112 | 0,144 | 0,112 | 0,112 | 0,661 | 0,661 | 0,684 | 0,112 | 0,112 | 0,112 | 0,784 |       |       |       |       |       |       |
| 68 | PoR DZ2 | 0,101 | 0,112 | 0,144 | 0,112 | 0,112 | 0,661 | 0,661 | 0,684 | 0,112 | 0,112 | 0,112 | 0,784 | 0,000 |       |       |       |       |       |
| 69 | PoR DZ3 | 0,112 | 0,124 | 0,156 | 0,124 | 0,123 | 0,639 | 0,639 | 0,661 | 0,123 | 0,123 | 0,123 | 0,759 | 0,009 | 0,009 |       |       |       |       |
| 70 | PoR ES  | 0,101 | 0,112 | 0,144 | 0,112 | 0,112 | 0,661 | 0,661 | 0,684 | 0,112 | 0,112 | 0,112 | 0,784 | 0,000 | 0,000 | 0,009 |       |       |       |
| 71 | PoR IN  | 0,784 | 0,784 | 0,810 | 0,784 | 0,812 | 0,100 | 0,100 | 0,111 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,079 | 0,733 | 0,733 | 0,710 | 0,733 |       |       |
| 72 | PoR CA  | 0,784 | 0,784 | 0,810 | 0,784 | 0,812 | 0,100 | 0,100 | 0,111 | 0,783 | 0,783 | 0,783 | 0,079 | 0,733 | 0,733 | 0,710 | 0,733 | 0,000 |       |
| 73 | DM      | 0,813 | 0,813 | 0,843 | 0,813 | 0,840 | 0,111 | 0,111 | 0,121 | 0,811 | 0,811 | 0,811 | 0,122 | 0,759 | 0,759 | 0,733 | 0,759 | 0,155 | 0,155 |

Abréviations : LS, Lucilia sericata ;ChA, Chrysomya albiceps ; ChM, Chrysomya megacephala ; CVi, Calliphora vicina ; CVo, Callophora vomitoria ; PoV, Pollenia vagabunda ; PoR, Pollenia rudis ; DM, Drosophila melanogaster (groupe externe).

AU, Australie ; CA, Canada ; CN, Chine DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; EG, Egypte ; ES, Espagne ; IN, Inde ; IT, Italie ; UK, Royaumes Unies ; US, Etats-Unis ; ZA, Sud d'Afrique.

| 100 | 5094011000 | 400 00p | 0000 40 | 0 00100 | priagiaa | 0.    |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|------------|---------|---------|---------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|     |            | 1       | 2       | 3       | 4        | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    |
| 1   | SAr DZ1    |         |         |         |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 2   | SAr DZ2    | 0,000   |         |         |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 3   | SAr DZ3    | 0,000   | 0,000   |         |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 4   | SAr ES     | 0,009   | 0,067   | 0,057   |          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 5   | SAr US     | 0,643   | 0,643   | 0,638   | 0,638    |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 6   | SAr CL     | 0,643   | 0,643   | 0,638   | 0,638    | 0,00  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 7   | SAr DE     | 0,599   | 0,638   | 0,634   | 0,594    | 0,507 | 0,507 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 8   | SAr IT     | 0,643   | 0,643   | 0,638   | 0,638    | 0,000 | 0,00  | 0,507 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 9   | SP DZ1     | 0,100   | 0,168   | 0,154   | 0,110    | 0,682 | 0,682 | 0,750 | 0,682 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 10  | SP DZ2     | 0,121   | 0,154   | 0,154   | 0,132    | 0,649 | 0,649 | 0,713 | 0,649 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |
| 11  | SP DZ3     | 0,120   | 0,178   | 0,133   | 0,131    | 0,697 | 0,697 | 0,766 | 0,697 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |
| 12  | SP ES      | 0,131   | 0,188   | 0,175   | 0,120    | 0,685 | 0,685 | 0,753 | 0,685 | 0,047 | 0,047 | 0,067 |       |       |       |       |       |
| 13  | SP IT      | 0,750   | 0,782   | 0,743   | 0,743    | 0,121 | 0,121 | 0,743 | 0,121 | 0,801 | 0,743 | 0,782 | 0,782 |       |       |       |       |
| 14  | SA DZ1     | 0,179   | 0,177   | 0,142   | 0,168    | 0,676 | 0,676 | 0,685 | 0,676 | 0,231 | 0,216 | 0,228 | 0,202 | 0,697 |       |       |       |
| 15  | SA DZ2     | 0,143   | 0,189   | 0,154   | 0,132    | 0,704 | 0,704 | 0,713 | 0,704 | 0,191 | 0,216 | 0,215 | 0,177 | 0,758 | 0,000 |       |       |
| 16  | SA DZ3     | 0,177   | 0,177   | 0,176   | 0,165    | 0,664 | 0,664 | 0,702 | 0,664 | 0,228 | 0,203 | 0,215 | 0,189 | 0,669 | 0,000 | 0,009 |       |
| 17  | SA DZ4     | 0,188   | 0,188   | 0,187   | 0,177    | 0,659 | 0,659 | 0,698 | 0,659 | 0,240 | 0,215 | 0,227 | 0,201 | 0,664 | 0,000 | 0,000 | 0,009 |
| 18  | SA DZ5     | 0,188   | 0,188   | 0,187   | 0,177    | 0,659 | 0,659 | 0,698 | 0,659 | 0,240 | 0,215 | 0,227 | 0,201 | 0,664 | 0,000 | 0,000 | 0,009 |
| 19  | SA DZ6     | 0,143   | 0,189   | 0,154   | 0,132    | 0,704 | 0,704 | 0,713 | 0,704 | 0,191 | 0,216 | 0,215 | 0,177 | 0,758 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 20  | SA ES      | 0,057   | 0,119   | 0,108   | 0,047    | 0,697 | 0,697 | 0,664 | 0,697 | 0,143 | 0,166 | 0,165 | 0,132 | 0,750 | 0,121 | 0,088 | 0,120 |
| 21  | SA IT      | 0,664   | 0,720   | 0,685   | 0,659    | 0,067 | 0,067 | 0,627 | 0,067 | 0,704 | 0,697 | 0,691 | 0,691 | 0,109 | 0,669 | 0,697 | 0,659 |
| 22  | SA CN      | 0,712   | 0,758   | 0,750   | 0,704    | 0,529 | 0,529 | 0,112 | 0,529 | 0,865 | 0,854 | 0,843 | 0,860 | 0,720 | 0,782 | 0,817 | 0,766 |
| 23  | SA AU      | 0,664   | 0,720   | 0,685   | 0,659    | 0,067 | 0,067 | 0,627 | 0,067 | 0,704 | 0,697 | 0,691 | 0,691 | 0,109 | 0,669 | 0,697 | 0,659 |
| 24  | SA CZ      | 0,676   | 0,720   | 0,713   | 0,669    | 0,527 | 0,527 | 0,100 | 0,527 | 0,854 | 0,843 | 0,833 | 0,799 | 0,713 | 0,713 | 0,743 | 0,702 |
| 25  | SA US      | 0,676   | 0,720   | 0,713   | 0,669    | 0,547 | 0,547 | 0,111 | 0,547 | 0,854 | 0,843 | 0,833 | 0,799 | 0,743 | 0,713 | 0,743 | 0,702 |
| 26  | ST DZ1     | 0,067   | 0,120   | 0,108   | 0,077    | 0,634 | 0,634 | 0,680 | 0,634 | 0,109 | 0,131 | 0,131 | 0,141 | 0,707 | 0,165 | 0,130 | 0,175 |
| 27  | ST DZ2     | 0,109   | 0,130   | 0,088   | 0,119    | 0,627 | 0,627 | 0,698 | 0,627 | 0,154 | 0,153 | 0,143 | 0,175 | 0,698 | 0,152 | 0,164 | 0,175 |
| 28  | ST DZ3     | 0,109   | 0,109   | 0,088   | 0,120    | 0,634 | 0,634 | 0,736 | 0,634 | 0,155 | 0,166 | 0,155 | 0,176 | 0,707 | 0,153 | 0,153 | 0,153 |
| 29  | ST HR      | 0,659   | 0,713   | 0,680   | 0,655    | 0,109 | 0,109 | 0,655 | 0,109 | 0,713 | 0,707 | 0,702 | 0,730 | 0,098 | 0,614 | 0,638 | 0,607 |
| 30  | ST ES      | 0,685   | 0,743   | 0,707   | 0,680    | 0,119 | 0,119 | 0,680 | 0,119 | 0,743 | 0,736 | 0,730 | 0,759 | 0,088 | 0,638 | 0,664 | 0,630 |
| 31  | ST CZ      | 0,557   | 0,643   | 0,638   | 0,553    | 0,583 | 0,583 | 0,078 | 0,583 | 0,697 | 0,691 | 0,713 | 0,702 | 0,766 | 0,638 | 0,614 | 0,630 |
| 32  | DY         | 0,697   | 0,758   | 0,720   | 0,691    | 0,119 | 0,119 | 0,664 | 0,119 | 0,758 | 0,750 | 0,743 | 0,791 | 0,130 | 0,734 | 0,767 | 0,720 |
| 33  | MD         | 0,702   | 0,759   | 0,725   | 0,698    | 0,130 | 0,130 | 0,602 | 0,130 | 0,730 | 0,725 | 0,720 | 0,748 | 0,237 | 0,766 | 0,799 | 0,753 |

|    |        | 17    | 18    | 19    | 20    | 21    | 22    | 23    | 24    | 25    | 26    | 27    | 28    | 29    | 30    | 31    | 32    |
|----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 17 | SA DZ4 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 18 | SA DZ5 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 19 | SA DZ6 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 20 | SA ES  | 0,131 | 0,131 | 0,088 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 21 | SA IT  | 0,655 | 0,655 | 0,697 | 0,704 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 22 | SA CN  | 0,759 | 0,759 | 0,817 | 0,727 | 0,564 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 23 | SA AU  | 0,655 | 0,655 | 0,697 | 0,704 | 0,000 | 0,564 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 24 | SA CZ  | 0,698 | 0,698 | 0,743 | 0,676 | 0,525 | 0,028 | 0,525 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 25 | SA US  | 0,698 | 0,698 | 0,743 | 0,676 | 0,545 | 0,038 | 0,545 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 26 | ST DZ1 | 0,187 | 0,187 | 0,130 | 0,109 | 0,655 | 0,807 | 0,655 | 0,766 | 0,766 |       |       |       |       |       |       |       |
| 27 | ST DZ2 | 0,187 | 0,187 | 0,164 | 0,152 | 0,672 | 0,860 | 0,672 | 0,816 | 0,816 | 0,009 |       |       |       |       |       |       |
| 28 | ST DZ3 | 0,164 | 0,164 | 0,153 | 0,154 | 0,680 | 0,843 | 0,680 | 0,799 | 0,799 | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |
| 29 | ST HR  | 0,604 | 0,604 | 0,638 | 0,643 | 0,067 | 0,634 | 0,067 | 0,568 | 0,591 | 0,651 | 0,669 | 0,676 |       |       |       |       |
| 30 | ST ES  | 0,627 | 0,627 | 0,664 | 0,669 | 0,077 | 0,659 | 0,077 | 0,591 | 0,614 | 0,676 | 0,694 | 0,702 | 0,009 |       |       |       |
| 31 | ST CZ  | 0,627 | 0,627 | 0,614 | 0,572 | 0,585 | 0,132 | 0,585 | 0,120 | 0,131 | 0,634 | 0,702 | 0,743 | 0,651 | 0,676 |       |       |
| 32 | DY     | 0,713 | 0,713 | 0,767 | 0,758 | 0,108 | 0,572 | 0,108 | 0,591 | 0,614 | 0,685 | 0,702 | 0,713 | 0,141 | 0,130 | 0,643 |       |
| 33 | MD     | 0,748 | 0,748 | 0,799 | 0,743 | 0,141 | 0,562 | 0,141 | 0,505 | 0,524 | 0,748 | 0,768 | 0,778 | 0,141 | 0,152 | 0,623 | 0,131 |

Abréviations : SAr, Sarcophaga argyrostoma ; SP, Sarcophaga pandellei ; SA, Sarcophaga africa ; ST, Sarcophaga tibialis.

DY, *Drosophila yakuba*; MD, Musca *domestica* (groupe externe)

AU, Australie ; CA, Canada ;.CL, Chili ; CN, Chine ; CZ, Tchèque; EG, DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; Egypte ES, Espagne ; HR, Croatie ; IN, Inde ; IT, Italie ;

UK, Royaumes Unies ; US, Etats-Unis ;;; ZA, Sud d'Afrique .

|    |          | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    |
|----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | PN DZ1   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 2  | PN DZ2   | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 3  | PN DZ3   | 0,000 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 4  | PN PT    | 0,680 | 0,687 | 0,733 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 5  | PN DE    | 0,698 | 0,705 | 0,751 | 0,024 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 6  | PN PL    | 0,680 | 0,687 | 0,733 | 0,010 | 0,020 |       |       |       |       |       |       |       |       |
| 7  | PN CH    | 0,690 | 0,697 | 0,743 | 0,007 | 0,017 | 0,003 |       |       |       |       |       |       |       |
| 8  | PN US    | 0,690 | 0,697 | 0,743 | 0,007 | 0,017 | 0,003 | 0,000 |       |       |       |       |       |       |
| 9  | PN US-AK | 0,711 | 0,719 | 0,766 | 0,121 | 0,133 | 0,125 | 0,121 | 0,121 |       |       |       |       |       |
| 10 | PC DZ1   | 0,128 | 0,140 | 0,149 | 0,726 | 0,744 | 0,726 | 0,736 | 0,736 | 0,736 |       |       |       |       |
| 11 | PC DZ2   | 0,153 | 0,165 | 0,174 | 0,769 | 0,789 | 0,769 | 0,780 | 0,780 | 0,780 | 0,000 |       |       |       |
| 12 | PC DZ3   | 0,140 | 0,153 | 0,161 | 0,736 | 0,755 | 0,736 | 0,746 | 0,746 | 0,746 | 0,000 | 0,000 |       |       |
| 13 | PC ES    | 0,748 | 0,756 | 0,805 | 0,137 | 0,153 | 0,129 | 0,133 | 0,133 | 0,117 | 0,713 | 0,729 | 0,723 |       |
| 14 | DY       | 0,727 | 0,735 | 0,782 | 0,149 | 0,149 | 0,145 | 0,141 | 0,141 | 0,101 | 0,711 | 0,755 | 0,721 | 0,140 |

Abréviations : PN, Piophila nigriceps ; PC, Piophila casei.

CH, Suisse ; DE, Allemagne ; DZ, Algérie ; ES, Espagne ; PL, Pologne ; PT, Portugal ; US, Etats-Unis ; US-AK, Etats-Unis Alaska.

# **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Wyss, C. et Cherix, D., « <u>Traité d'entomologie forensique : Les insectes sur</u> <u>la scène de crime</u> », V. 2 Lausanne, Presses Polytechniques et Universitaires romandes, (2013), 326 p.
- Frederickx, C., Dekeirsschieter, J. et Verheggen, F. J., « L'entomologie forensique, les insectes résolvent les crimes », Entomologie faunistique – Faunistic Entomology, V. 63, n° 4, (2011), 237-249.
- Anderson, G., « Insect succession on carrion and its relationship to determining time of death », in : « <u>Forensic entomology: The utility of</u> <u>arthropods in legal investigations</u> », J. H. Byrd et J. L. Castner, Éds., Boca Raton, CRC Press, (2001), pp. 143-177.
- Christian, R., Grassberger, M. et Friedrich, E., « The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe », International Journal of Legal Medicine, V. 117, (2003), 75-81.
- 5. Richard, M. J., Wall, R., Hall, M. et Wall, R., « Myiasis of humans and domestic animals », Advances in Parasitology, V. 35, (1995), 258-333.
- 6. Smith, K. G. V., « <u>A manual of forensic entomology</u> », London, The British Museum (Natural History), (1986), 205 p.
- Shiravi, A. H., Mostafavi, R., Akbarzadeh, K. et Oshaghi, M. A., « Temperature requirements of some common forensically important blow and flesh flies (Diptera) under Laboratory conditions », Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases, V. 5, n° 1, (2011), 54-62.
- 8. Steenvoorde, P., « Maggot Debridement therapy in surgery », Université de Leiden, thèse de doctorat, (2008), 128 p.
- Grassberger, M., Friedrich, E. et Christian, R., « The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe », International Journal of Legal Medicine, V. 117, (2003), 75-81.
- 10. Knotek, Z., Fischer, O. A., Jekl, V. et Knotková, Z., « Fatal Myiasis caused by *Calliphora vicina* in Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*)», Acta veterenaria BRNO, V. 74, (2005), 123-128.
- 11. Rivers, D. B. et Dahlem, G. A., « <u>The Science of forensic entomology</u> », Chichester, Wiley-Blackwell, (2014), 4000 p.
- 12. Salvetti, M., Corbellini, C. et Muiesan, M. L., « *Calliphora vicina* human myiasis: a case report », V. 7, (2012), 135-137.
- Benbow, M. E., Lewis, A. J., Tomberlin, J. K. et Pechal, J., « Seasonal necrophagous insect community assembly during vertebrate carrion decomposition », Journal of Medical Entomology, V. 50, n° 2, (2013), 440-450.
- 14. Mohr, R. M. et Tomberlin, J. K., « Environmental factors affecting early
carcass attendance by four species of blow flies », Journal of Medical Entomology, V. 51, n° 3, (2014), 702-708.

- 15. Sabanoglu, B. et Sert, O., « Determination of Calliphoridae (Diptera) fauna and seasonal distribution on carrion in Ankara province », Journal of forensic sciences, V. 55, n° 4, (2010), 1003-1007.
- Weidner, L. M., Jennings, D. E., Tomberlin, J. K. et Hamilton, G. C., « Seasonal and geographic variation in biodiversity of forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) in New Jersey, USA », Journal of Medical Entomology, V. 2015, (2015), 1-10.
- Lefebvre, F. et Gaudry, E., « Forensic entomology: a new hypothesis for the chronological succession pattern of necrophagous insect on human corpses », Annales de la Société Entomologique de France, V. 45, n° 3, (2009), 377-392.
- 18. Wecht, C. H. et Rago, J. T., « <u>Forensic science and law: Investigative</u> <u>applications in criminal, civil and family justice</u> », Boca Raton, CRC Press, (2005), 728 p.
- 19. Charabidze, D., « La biologie des insectes nécrophages et leur utilisation pour dater le décès en entomologie médico-légale », Annales de la Societe Entomologique de France, V. 48, n° 3-4, (2012), 239-252.
- 20. Gennard, D., « Forensic entomology: An introduction », Chichester, Wiley-Blackwell, (2012), 249 p.
- 21. Greenberg, B. et Kunich, J. C., « Entomology and the law: flies as forensic indicators », Cambridge, Cambridge University Press, (2002), 306 p.
- 22. Amendt, J., Krettek, R. et Zehner, R., « Forensic entomology », Naturwissenschaften, V. 91, (2004), 51-65.
- Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., LeBlanc, H. N. et J. R. Hall, M., « Best practice in forensic entomology - Standards and guidelines », International Journal of Legal Medicine, V. 121, (2007), 90-104.
- 24. Sharma, R., Kumar Garg, R. et Gaur, J. R., « Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review », Egyptian Journal of Forensic Sciences, V. 5, (2015), 1-12.
- 25. Marchenko, M. I., « Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death », Forensic Science International, V. 120, (2001), 89-109.
- 26. Campobasso, C. Pietro, Vella, G. Di et Introna, F., « Factors affecting decomposition and Diptera colonization », Forensic Science International, V. 120, (2001), 18-27.
- Bonacci, T., Brandmayr, P., Greco, S., Tersaruolo, C., Vercillo, V. et Brandmayr, T. Z., « A preliminary investigation of insect succession on carrion in Calabria (southern Italy) », Terrestrial Arthropod Reviews, V. 3, (2010), 97-110.
- 28. Arnaldos, I. M., Garcia, M. D., Romera, E. et Presa, J. J., « Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence », Forensic Science International, V. 149, (2005),

57-65.

- 29. Amendt, J., Zehner, R. et Reckel, F., « The nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Central Europe and its forensic implications », Forensic Science International, V. 175, (2008), 61-64.
- Bhadra, P., Hart, A. J. et Hall, M. J. R., « Factors affecting accessibility to blowflies of bodies disposed in suitcases », Forensic Science International, V. 239, (2014), 62-72.
- 31. Mann, R., Bass, W. et Meadows, L., « Time since death and decomposition of the human body: Variables and observations in case and experimental field studies », Journal of Forensic Sciences, V. 35, (1990), 103-111.
- Golf, M. L., Brown, W. A. et Omorf, A. I., « Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* », Journal of Forensic Sciences, JFSCA, V. 37, n° 3, (1992), 867-872.
- George, K. A., Archer, M. S., Green, L. M., Conlan, X. A. et Toop, T., « Effect of morphine on the growth rate of *Calliphora stygia* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) and possible implications for forensic entomology », Forensic science international, V. 193, n° 1-3, (déc. 2009), 21-25.
- 34. Voss, S. C., Cook, D. F. et Dadour, I. R., « Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia », Forensic Science International, V. 211, n° 1-3, (sept. 2011), 67-75.
- 35. Komar, D., « Twenty-seven years of forensic anthropology casework in New Mexico », Journal of Forensic Sciences, V. 48, n° 3, (2003), 521-524.
- 36. Schwartz, L. L. et Isser, N. K., « <u>Child homicide: Parents who kill</u> », Boca Raton, CRC Press, (2007), 297 p.
- Ahmad, A. H. A., Ahmad, A. H. A., Dieng, H., Satho, T., Ahmad, H., Aziz, A. T. et Boots, M., « Cadaver wrapping and arrival performance of adult flies in an oil palm plantation in northern peninsular Malaysia », Journal of Medical Entomology, V. 48, n° 6, (2011), 1236-1246.
- 38. Charabidze, D., Hedouin, V. et Gosset, D., « An experimental investigation into the colonization of concealed cadavers by necrophagous blowflies », Journal of Insect Science R, V. 15, (2015), 1-7.
- 39. Definis-Gojanovi, M., Sutlovi, D., Britvi, D. et Kokan, B., « Drug analysis in necrophagous flies and human tissues », Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, V. 58, (2007), 313-316.
- 40. Amendt, J., Goff, M. L., Campobasso, C. P. et Grassberger, M., « <u>Current</u> <u>concepts in forensic entomology</u> », Dordrecht- Heidelberg-London-New York, Springer, (2010), 376 p.
- Sankhla, M. S., Sharma, K. et Kumar, R., « Future trends in forensic entamotoxicology future trends in forensic entamotoxicology », International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, V. 6, n° 4, (2017), 5584-5590.
- 42. Gagliano-Candela, R. et Aventaggiato, L., « The detection of toxic substances in entomological specimens », International Journal of Legal

Medicine, V. 114, n° 4-5, (2001), 197-203.

- 43. Introna, F., Campobasso, C. Pietro et Goff, M. L., « Entomotoxicology », Forensic Science International, V. 120, (2001), 42-47.
- 44. Trivia, A. L. et de Carvalho Pinto, C. J., « Analysis of the effect of cyclophosphamide and methotrexate on *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) », Journal of Forensic Sciences, V. n° 19, (Jan. 2018), 1-6.
- Essarras, A., Pazzi, M., Dadour, I. R. et Magni, P. A., « The effect of antifreeze (ethylene glycol) on the survival and the life cycle of two species of necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) », Science and Justice, V. 58, n° 2, (2018), 85-89.
- 46. Wilentz, W. C. et Brady, J. P., « The alcohol factor in violent deaths », American practitioner and digest of treatment, V. 12, (nov. 1961), 829-835.
- Rehm, J. et Shield, K. D., « Global alcohol-attributable deaths from cancer, liver cirrhosis, and injury in 2010. », Alcohol research : current reviews, V. 35, n° 2, (2013), 174-83.
- Li, R., Hu, Li, Hu, L., Zhang, X., Phipps, R., Fowler, D. R., Chen, F. et Li, L., « Evaluation of Acute Alcohol Intoxication as the Primary Cause of Death: A Diagnostic Challenge for Forensic Pathologists », Journal of Forensic Sciences, V. 62, n° 5, (2017), 1213-1219.
- 49. Monthei, D. R., « Entomotoxicological and thermal factors affecting the development of forensically important flies », Université de Virginie, thèse de doctorat, (2009), 111 p.
- Cainé, L. M., Corte Real, F., Saloña-Bordas, M. I., Martínez de Pancorbo, M., Magalhães, T. et Pinheiro, F., « DNA typing of Diptera collected from human corpses in Portugal », Forensic Science International, V. 184, (2009), e21-e23.
- Park, J. H., Kim, Y. H., Ham, C. S., Shin, S. E., Lee, H. J., Ko, K. S., Choi, J., Son, G. H. et Park, S. H., « Molecular identification of forensically important Calliphoridae and Sarcophagidae species using ITS2 nucleotide sequences », Forensic Science International, V. 284, (2018), 1-4.
- 52. Hall, R., « Introduction: perceptions and status of forensic », in : « <u>Forensic</u> <u>Entomology: the utility of arthropods in legal investigations</u> », J. Castner et J. Byrd, Éds., Boston, CRC Press, (2001), pp. 1-16.
- Szpila, K., « Key for identification of European and Mediterranean blowflies (Diptera, Calliphoridae) of medical and veterinary importance - adult flies. », in : « Forensic entomology: An introduction », D. Gennard, Éd., London, Willey-Blackwell, (2012), pp. 77-81.
- 54. Tomberlin, J. K. et Benbow, M. E., « Forensic entomology international dimensions and frontiers », Boca Raton, CRC Press, (2015), 422 p.
- 55. Benecke, M., « A brief history of forensic entomology », Forensic Science International, V. 120, (2001), 2-14.
- 56. Megnin, J. P., « <u>La faune des cadavres, application de l'entomologie à la</u> <u>médecine légale</u> », Paris, Encyclopédie Science, (1894), 224 p.

- 57. Gaudry, E., Dourel, L., Chauvet, B., Vincent, B. et Pasquerault, T., « L'entomologie légale lorsque insecte rime avec indice », Revue Francophone des Laboratoires, V. 392, (2007), 23-32.
- 58. Bergeret, M., « Infanticide, momification naturelle », Annal Hygiène Médical et Légal, V. 4, (1855), 442-452.
- 59. Benecke, M., « A brief survey of the history of forensic entomology », Acta Biologica Benrodis, V. 14, (2008), 15-38.
- Nuorteva, P., « Sacrophagous insects as forensic indicators », in : « <u>Forensic medicine. a study in trauma and environmental hazards</u> », V. II, C.G. Tedeschi, W.G. Eckert et L.G. Tedeschi, Éds., Philadelphia, Saunders, (1977), pp. 1072-1095.
- Leclercq, M., « <u>Entomologie et médecine légale. Datation de la mort</u> », Colléctions de Médecine Légale et de Toxicologie Médicale n° 108, Paris, Masson, (1978), 100 p.
- 62. Byrd, J. H. et Castner, J. L., « <u>Forensic entomology: The utility of arthropods</u> <u>in legal investigations</u> », V. 1 Boca Raton, CRC Press, (2001), 418 p.
- Taleb, M., Toumi, M., Djedouani, B., Tail, G., Kara, F. Z. et Açikgöz, H. N., « Current situation of forensic entomology in Algeria », Budapest, 13th International Meeting of the European Assotiation for Forensic Entomology, (25-28 Mai 2016), p. 38.
- 64. Hédouin, V. et Gosset, D., « Médecine legale et datation du décés », in : « <u>Insectes, cadavres et scènes de crime</u> », D. Charabidze et M. Gosselin, Éds., Louvain-La-Neuve, De Boeck, (2014), pp. 39-42.
- 65. Swift, B., « The timing of death », in : « <u>Essentials of autopsy practice</u> », G. N. Ruth, Éd., London, Springer, (2006), pp. 189-214.
- 66. Gill-King, H., « Chemical and ultrastructural aspects of decomposition », in : « <u>Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains</u> », W. Haglund et M. Sorg, Éds., Boca Raton, FL, (1997), pp. 93-108.
- 67. Dix, J. et Graham, M. A., « <u>Time of death, decomposition and identification-</u> <u>an atlas</u> », Boca Raton, CRC Press, (2000), 112 p.
- 68. Vass, A. A., « Beyond the grave understanding human decomposition », Microbiology Today, V. 28, (2001), 190-192.
- Galloway, A., « The process of decomposition: A model from the Arizona-Sonoran Desert », in : « Forensic Taphonomy. The Postmortem Fate of <u>Human Remains</u> », W. D. Haglund et M. H. Sorg, Éds., Boca Raton, CRC Press, (1997), pp. 139-149.
- Goff, M. L., « Early postmortem changes and stages of decomposition », J. Amendt, C. P. Campobasso et M. L. Goff, Éds., Dordrecht Heidelberg London New York, Springer, (2010), pp. 1-24.
- 71. Tabor, K. L., « Succession and development studies on carrion insects of forensic importance », Université de Virginie, thèse de doctorat, (2004), 139 p.
- 72. Dekeirsschieter, J., Verheggen, F., Frederickx, C., Marlet, C., Lognay, G. et

Haubruge, E., « Comment les insectes communiquent-ils au sein de l'écosystème-cadavre? L'écologie chimique des insectes nécrophages et nécrophiles », Entomologie faunistique – Faunistic Entomology, V. 65, (2012), 3-13.

- 73. Charabidze, D. et Bourel, B., « Entomologie médico-légale : les insectes au service de la justice », insecte, V. 147, n° 4, (2007), 29-32.
- 74. Gunn, A. et Bird, J., « The ability of the blowflies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and the muscid flies *Muscina stabulans* (Fallén) and *Muscina prolapsa* (Harris) (Diptera: Muscidae) to colonize buried remains », Forensic Science International, V. 207, n° 1-3, (2011), 198-204.
- 75. Van Emden, H. F., «<u>Handbook of agricultural entomology</u>», Chichester, Wiley-Blackwell, (2013), 343 p.
- 76. Roth, M., « <u>Initiation a la norphologie, la systématique et la biologie des insectes</u> », Paris, ORSTOM, (1980), 213 p.
- Hardouin, J. et Mahoux, G., « <u>Zootechnie d'insectes Elevage et utilisation</u> <u>au bénéfice de l'homme et de certains animaux</u> », Gembloux, Bureau pour l'Echange et la Distribution de l'Information sur le Mini-élevage (BEDIM), (1 janvier 2003), 164 p.
- Charabidze, D., « Étude de la biologie des insectes nécrophages et application à l'expertise en entomologie médico-légale », Université de Lille 2, thèse de doctorat, (2008), 205 p.
- 79. Dajoz, R., « <u>Dictionnaire d'entomologie</u> », Paris, Tec & Doc Lavoisie, (2010), 336 p.
- 80. Matile, L., « Diptera », in : « <u>Encyclopaedia biospeologica</u> », C. Juberthie et V. Decu, Éds., Bucarest, Moulis (C.N.R.S.), (1994), pp. 341-357.
- Szpila, K., « Key for the identification of third instars of European blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance », in : « <u>Current concepts in</u> <u>forensic entomology</u> », M. L. Goff, M. G. J. Amendt et C.P. Campobasso, Éds., Dordrecht- Heidelberg-London-New York, Springer, (2010), pp. 43-56.
- Thyssen, P. J., « Keys for identification of immature insects », in : « <u>Current</u> <u>concepts in forensic entomology</u> », J. Amendt, M. L. Goff, C. P. Campobasso et M. Grassberger, Éds., Dordrecht Heidelberg London New York, Springer, (2010), pp. 25-42.
- 83. McGavin, G. C., « <u>Essential entomology: an order-by-order introduction</u> », Oxford, Oxford University Press, (2001), 318 p.
- 84. Wall, R., « The reproductive output of the blowfly *Lucilia sericata* », Journal of Insect Physiology, V. 39, n° 9, (1993), 743-750.
- 85. Anderson, G. S., « Minimum and maximum development rates of some forensically important calliphoridae (Diptera) », Journal of Forensic Sciences, V. 45, n° 4, (2000), 824-832.
- 86. Hall, M., Whitaker, A. et Richards, C., « Forensic entomology », in : « <u>Forensic ecology handbook</u> », V. 28, N. Marquez-Grant et J. Roberts, Éds., Chichester, Wiley-Blackwell, (2010), pp. 111-140.

- Moemenbellah-Fard, M. D., Keshavarzi, D., Fereidooni, M. et Soltani, A., « First survey of forensically important insects from human corpses in Shiraz, Iran », Journal of Forensic and Legal Medicine, V. 54, (2018), 62-68.
- 88. Richet, R., Blackith, R. et et Pape, T., « <u>Sarcophaga of France (Diptera:</u> <u>Sarcophagidae</u>) », V. 97 Sofia, Pensoft Series Faunistica, (2011), 327 p.
- 89. Barbosa, R. R., Mello-Patiu, C., Mello, R. P. et Queiroz, M. M., « New records of calyptrate dipterans (Fanniidae, Muscidae and Sarcophagidae) associated with the decomposition of domestic pigs in Brazil », Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, V. 104, n° 6, (2009), 923-926.
- 90. Xiong, F., Guo, Y., Luo, B., Zhang, L. Cai, J., Li, X. et Yang, Z. « Identification of forensically important flesh flies based on a shorter fragment of the cytochrome oxidase subunit I gene in China », Medical and Veterinary Entomology, V. 26, n° 3, (2012), 307-313.
- 91. Domínguez, M. C. et Aballay, F., « A new species of the genus *Fannia* Robineau-Desvoidy (Diptera: Fanniidae) collected on pig carrion in Mendoza, Argentina », Annales Zoologici, V. 58, n° 4, (2008), 819-824.
- 92. Bourel, B., Tournel, G., Hédouin, V. et Gosset, D., « Entomofauna of buried bodies in northern France », International Journal of Legal Medicine, V. 118, (2004), 215-220.
- Delvare, G. et Aberlenc, P., « <u>Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale.</u> <u>Clés pour la reconnaissance des familles</u> », Versailles, QUAE GIE, (2004), 302 p.
- 94. Auber, L., « Coléoptères de France », Paris, Editions Boubée, (1999), 250 p.
- DeVault, T. L., Rhodes Jr, O. E. et Shivik, J. A., « Scavenging by vertebrates: behavioral, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems », Oikos, V. 102, n° 2, (2003), 225-234.
- 96. Delobel, A. et Tran, M., « <u>Les Coléoptères des denrées alimentaires</u> <u>entreposées dans les régions chaudes</u> », V. 32 Paris, ORSTOM, (1993), 424 p.
- Dekeirsschieter, J., Verheggen, F. J., Haubruge, E. et Brostaux, Y., « Carrion beetles visiting pig carcasses during early spring in urban, forest and agricultural biotopes of Western Europe », Journal of Insect Science, V. 11, (2010), 1-13.
- Dekeirsschieter, J., Verheggen, F., Lognay, G. et Haubruge, E., « Large carrion beetles (Coleoptera, Silphidae) in Western Europe: A review », Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, V. 15, n° 3, (2011), 435-447.
- 99. Campobasso, C. Pietro et Di Vella, G., « Factors affecting descomposition Diptera colonization », Forensic Science International: Genetics Supplement Series, V. 120, (2001), 18-27.
- 100. Açikgöz, H. N., Açikgöz, A. et İşbaşar, T., « Insan cesetleri üzerinde bulunan *Chrysomya albiceps'*in (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) predatör davranışı », Turkish Journal of Parasitology, V. 105, (2011), 105-109.

- 101. Charabidze, D., Gosselin, M. et Hedouin, V., « Use of necrophagous insects as evidence of cadaver relocation: myth or reality? », PeerJ, V. 5, (2017), 1-32.
- 102. Gaudry, E., Blais, C., Maria, A. et Dauphin-Villemant, C., « Study of steroidogenesis in pupae of the forensically important blow fly Protophormia terraenovae (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) », Forensic Science International, V. 160, (2006), 27-34.
- Szpila, K., Voss, J. G. et Pape, T., « A new dipteran forensic indicator in buried bodies », Medical and Veterinary Entomology, V. 24, n° 3, (2010), 278-283.
- 104. Medina, A. G., Hernando, O. S. et Rios, G. J., « The use of the Developmental Rate of the Aquatic Midge Chironomus riparius (Diptera, Chironomidae) in the Assessment of the Postsubmersion Interval », Journal of Forensic Sciences, V. 60, n° 3, (2015), 822-827.
- 105. Hirota, T., « The evolution of sexual difference in dispersal strategy sensitive to population density », Applied Entomology and Zoology, (2007),.
- 106. Keiper, J. B. et Casamatta, D. A., « Benthic organisms as forensic indicators », The North American Benthological Society, V. 20, n° 2, (2001), 311-324.
- 107. Voss, S. C., Forbes, S. L. et Dadour, I. R., « Decomposition and insect succession on cadavers inside a vehicle environment », Forensic Science, Medicine, and Pathology, V. 4, n° 1, (2008), 22-32.
- Reibe, S. et Madea, B., « Use of Megaselia scalaris (Diptera: Phoridae) for post-mortem interval estimation indoors », Parasitology Research, V. 106, n° 3, (2010), 637-640.
- Bugelli, V., Forni, D., Bassi, L. A., Di Paolo, M., Marra, D., Lenzi, S., Toni, C., Giusiani, M., Domenici, R., Gherardi, M. et Vanin, S., « Forensic Entomology and the Estimation of the Minimum Time Since Death in Indoor Cases », Journal of Forensic Sciences, V. 60, n° 2, (2015), 525-531.
- 110. Murray, K. A. et Rose, J. C., « The analysis of cremains: A case study involving the inappropriate disposal of mortuary remains. », Journal of forensic sciences, V. 38, n° 1, (janv. 1993), 98-103.
- 111. Kennedy, K. A., « The wrong urn: commingling of cremains in mortuary practices. », Journal of forensic sciences, V. 41, n° 4, (juill. 1996), 689-692.
- 112. Avila, F. W. et Goff, M. L., « Arthropod succession patterns onto burnt carrion in two contrasting habitats in the Hawaiian Islands. », Journal of forensic sciences, V. 43, n° 3, (mai 1998), 581-586.
- 113. Catts, E. P. et Goff, M. L., « Forensic entomology in criminal investigations. », Annual review of entomology, V. 37, (1992), 253-272.
- 114. Vanin, S., Gibelli, D. et Taborelli, A., « Decomposition and entomological colonization of charred bodies a pilot study », V. 54, n° 4, (2013), 387-393.
- Benecke, M., Josephi, E. et Zweihoff, R., « Neglect of the elderly: Forensic entomology cases and considerations », Forensic Science International, V. 146, (2004), 195-199.

- 116. Bourel, B., Callet, B., Hédouin, V. et Gosset, D., « Flies eggs: A new method for the estimation of short-term post-mortem interval? », Forensic Science International, V. 135, (2003), 27-34.
- 117. Benecke, M., « Six Forensic Entomology Cases », Journal of Forensic Sciences, V. 43, n° 4, (1998), 797-805.
- 118. Charabidze, D., Hedouin, V. et Gosset, D., « Que font les mouches en hiver ? Étude des variations hebdomadaires et saisonnières des populations d'insectes nécrophages », Revue de Medecine Legale, V. 3, n° 3, (2012), 120-126.
- 119. Byrd, J. H. et Allen, J. C., « The development of the black blow fly, Phormia regina (Meigen) », Forensic Science International, V. 120, (2001), 79-88.
- Grassberger, M. et Reiter, C., « Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram », Forensic Science International, V. 120, (2001), 32-36.
- Grassberger, M. et Reiter, C., « Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly Protophormia terraenovae (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) », Forensic Science International, V. 128, (2002), 177-182.
- 122. Goff, M. L., « Problems in estimation of postmortem interval resulting from wrapping of the corpse : a case study from Hawaii », Journal of Agricultural Entomology, V. 9, n° 4, (1992), 237-243.
- 123. Kelly, J. A., Linde, T. C. Van Der et Anderson, G. S., « The influence of clothing and wrapping on carcass decomposition and arthropod succession during the warmer seasons in Central South Africa », Journal of Forensic Sciences, V. 54, n° 5, (2009), 1105-1112.
- 124. Forman, B. R., « The greenhouse effect: decomposition rates in human remains wrapped in plastic », Université de Tennessee-Knoxville, 2015, thèse de doctorat,(2015), 113 p.
- 125. CHEN, G., Denlinger, D. L. et Lee, R. E., « Seasonal variation in generation time, diapause and cold hardiness in a central Ohio population of the flesh fly, *Sarcophaga bullata* », Ecological Entomology, V. 16, n° 2, (1991), 155-162.
- 126. Introna, F., Altamura, B. M., Erba, A. D., Dattoli, V., Introna, R., Erba, D. et Since, T., « Time since death definition by experimental reproduction of *Lucilia sericata* cycles in growth cabinet », Journal of forensic sciences, V. 34, (1989), 478-480.
- 127. Carvalho, L. M. L., Linhares, A. X. et Trigo, J. R., « Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil », Forensic Science International, V. 120, (2001), 140-144.
- 128. Archer, M. S. et Elgar, M. A., « Yearly activity patterns in southern Victoria (Australia) of seasonally active carrion insects », Forensic Science International, V. 132, (2003), 173-176.

- 129. Prado e Castro, C., Serrano, A., Martins da Silva, P. et Garcia, M. D., « Carrion flies of forensic interest: a study of seasonal community composition and succession in Lisbon, Portugal », Medical and Veterinary Entomology, V. 26, n° 4, (2012), 417-431.
- Prado e Castro, C., Garcia, M. D., Martins da Silva, P., Faria e Silva, I. et Serrano, A., « Coleoptera of forensic interest: A study of seasonal community composition and succession in Lisbon, Portugal », Forensic Science International, V. 232, (2013), 73-83.
- Sharanowski, B. J., Walker, E. G. et Anderson, G. S., « Insect succession and decomposition patterns on shaded and sunlit carrion in Saskatchewan in three different seasons », Forensic Science International, V. 179, n° 2-3, (2008), 219-240.
- 132. Anderson, G. S. et VanLaerhoven, S. L., « Initial studies on Insect Succession on carrion in southwestern British Columbia », Journal of Forensic Sciences, V. 41, n° 4, (1996), 617-25.
- 133. Shean, B. S., Messinger, L. et Papworth, M., « Observations of differential decomposition on sun exposed v. shaded pig carrion in coastal Washington State. », Journal of forensic sciences, V. 38, n° 4, (juill. 1993), 938-949.
- 134. Benecke, M. et Lessig, R., « Child neglect and forensic entomology », Forensic Science International, V. 120, (2001), 155-159.
- 135. Charabidze, D., Vincent, B., Pasquerault, T. et Hedouin, V., « The biology and ecology of Necrodes littoralis, a species of forensic interest in Europe », International Journal of Legal Medicine, V. 130, n° 1, (2016), 273-280.
- Dekeirsschieter, J., Frederickx, C., Verheggen, F. J., Boxho, P. et Haubruge, E., « Forensic Entomology investigations from Doctor Marcel Leclercq (1924-2008): A Review of Cases From 1969 to 2005 », Journal of Medical Entomology, V. 50, n° 5, (2013), 935-954.
- Chauvet, B., Dourel, L., Pasquerault, T. et Gaudry, E., « Répartition des Nicrophorus F., 1775 récoltés sur des cadavres humains (Coleoptera Silphidae) », L'Entomologiste, V. 64, (2008), 15-20.
- Lopes de Carvalho, L. M., « Toxicology and forensic entomology », in : « <u>Current Concepts in forensic entomology</u> », J. Amendt, M. L. Goff, C. P. Campobasso et M. Grassberger, Éds., Dordrecht Heidelberg London New York, Springer, (2010), pp. 163-168.
- 139. Tracqui, A., Keyser-Tracqui, C., Kintz, P. et Ludes, B., « Entomotoxicology for the forensic toxicologist: much ado about nothing? », International Journal of Legal Medicine, V. 118, (2004), 194-196.
- 140. Beyer, J. C., Enos, W. F. et Stajié, M., « Drug identification through analysis of maggots », Journal of Forensic Sciences, V. 25, n° 2, (1980), 411-412.
- 141. Kintz, P., Godelarl, B., Tracqui, A., Mangin, P., Lugnier, A. A. et Chaumont, A. J., « Fly Larvae: A new toxicological method of investigation in forensic medicine », Journal of Forensic Sciences, JFSCA, V. 35, n° 1, (1990), 204-207.
- 142. Levine, B., Golle, M. et Smialek, J., « The American Journal of Forensic

Medicine and Pathology », The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, V. 21, n° 1, (2000), 59-61.

- 143. Sadler, D. W., Chuter, G., Seneveratne, C. et Pounder, D. J., « Barbiturates and analgesics in *Calliphora vicina* larvae. », *Journal of forensic sciences*, V. 42, n° 6. United States, 1214-1215, nov-1997.
- 144. Sadler, D. W., Fuke, C., Court, F. et Pounder, D. J., « Drug accumulation and elimination in *Calliphora vicina* larvae », Forensic Science International, V. 71, (1995), 191-197.
- 145. Goff, M. L., Brown, W. A., Omori, A. I. et Lapointe, D. A., « Preliminary observations of the effects of amitriptyline in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval », Journal of Forensic Sciences, JFSCA, V. 38, n° 2, (1993), 316-322.
- 146. Wilson, Z., Hubbard, S. et Pounder, D. J., « Drug analysis in fly larvae », The American journal of forensic medicine and pathology, V. 14, n° 2, (juin 1993), 118-120.
- 147. Miller, M. L., Lord, W. D., Goff, M. L., Donnelly, B., BcDonough, E. T. et Alexis, J. C., « Isolation of amitriptyline and nortriptyline from fly puparia (Phoridae) and beetle exuviae (Dermestidae) associated with mummified human remains », Journal of Forensic Sciences, V. 39, n° 5, (1994), 1305-1313.
- 148. Introna, F. J., Lo Dico, C., Caplan, Y. H. et Smialek, J. E., « Opiate analysis in cadaveric blowfly larvae as an indicator of narcotic intoxication », Journal of forensic sciences, V. 35, n° 1, (janv. 1990), 118-122.
- 149. Goff, M. L., Brown, W. A., Hewadikaram, K. A. et Omori, A. I., « Effect of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera, Sarcophagidae) and Implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns », Journal of Forensic Sciences, JFSCA, V. 36, n° 2, (1991), 537-542.
- Hedouin, V., Bourel, B., Martin-Bouyer, L., Becart, A., Tournel, G., Deveaux, M. et Gosset, D., « Morphine perfused rabbits: a tool for experiments in forensic entomotoxicology », Journal of forensic sciences, V. 44, n° 2, (mars 1999), 347-350.
- 151. Hedouin, V., Bourel, B., Martin-Bouyer, L., Becart, A., Tournel, G., Deveaux, M. et Gosset, D., « Determination of drug levels in larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. », Journal of forensic sciences, V. 44, n° 2, (mars 1999), 351-353.
- 152. Bourel, B., Tournel, G., Hedouin, V., Deveaux, M., Goff, M. L. et Gosset, D., « Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication », Forensic Science International, V. 120, (2001), 127-131.
- 153. Kharbouche, H., Augsburger, M., Cherix, D., Sporkert, F., Giroud, C., Wyss, C., Champod, C. et Mangin, P., « Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development », International Journal of Legal Medicine, V. 122, n° 205-211,

(2008),.

- 154. Bourel, B., Tournel, G., Hedouin, V., Goff, M. L. et Gosset, D., « Determination of drug levels in two species of necrophagous Coleoptera reared on substrates containing morphine », Journal of forensic sciences, V. 46, n° 3, (mai 2001), 600-603.
- 155. Goff, M. L., Miller, M. L., Paulson, J. D., Lord, W. D., Richards, E. et Omori, A. I., « Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver tissue, larvae, and puparia. », Journal of forensic sciences, V. 42, n° 2, (mars 1997), 276-280.
- 156. Goff, M. L., Omori, A. I. et Goodbrod, J. R., « Effect of cocaine in tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) », Journal of medical entomology, V. 26, n° 2, (1989), 91-93.
- 157. Manhoff, D. T., Hood, I., Caputo, F., Perry, J., Rosen, S. et Mirchandani, H. G., « Cocaine in decomposed human remains », Journal of forensic sciences, V. 36, n° 6, (nov. 1991), 1732-1735.
- Nolte, K. B., Pinder, R. D. et Lord, W. D., « Insect larvae used to detect cocaine poisoning in a decomposed body. », Journal of forensic sciences, V. 37, n° 4, (juill. 1992), 1179-1185.
- 159. Gunatilake, K. et Goff, M. L., « Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae », Journal of Forensic Sciences. JFSCA, V. 34, n° 3, (1989), 714-716.
- 160. Liu, X., Shi, Y., Wang, H. et Zhang, R. J., « Determination of malathion levels and its effect on the development of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) in South China. », Forensic Science International, V. 192, n° 1-3, (nov. 2009), 14-18.
- 161. Abd Rashid, R., Khairul, O., Mohd Iswadi, I., Muhammad, Zuha, R. et Abu Hassan, R., « Determination of malathion levels and the effect of malathion on the growth of *Chrysomya megacephala* (Fibricius) in malathion-exposed rat carcass », Tropical biomedicine, V. 25, n° 3, (2008), 184—190.
- 162. Wolff, M., Builes, A., Zapata, G., Morales, G. et Benecke, M., « Detection of parathion (O,O-diethyl O-(4-nitrophenyl) phosphorothioate) by HPLC in insects of forensic importance in Medellín, Colombia », Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology Guest, V. 5, n° 1, (2004), 6-11.
- Roeterdink, E. M., Dadour, I. R. et Watling, R. J., « Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) », International Journal of Legal Medicine, V. 118, (2004), 63-70.
- 164. Lagoo, L., Schaeffer, L. S., Szymanski, D. W. et Smith, R. W., « Detection of gunshot residue in blowfly larvae and decomposing porcine tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) », Journal of Forensic Sciences, V. 55, n° 3, (2010), 624-632.
- 165. Tabor, K. L., Fell, R. D., Brewster, C. C., Pelzer, K. et Behonick, G. S.,

« Effects of antemortem ingestion of ethanol on insect successional patterns and development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae) », Journal of Medical Entomology, V. 42, n° 3, (2005), 481-489.

- 166. Gosselin, M., Wille, S. M. R., Fernandez, M. del M. R., Di Fazio, V., Samyn, N., De Boeck, G. et Bourel, B., « Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists », Forensic Science International, V. 208, n° 1-3, (2011), 1-9.
- 167. Gosselin, M. et Bourel, B., « Apports de l'entomotoxicologie à l'expertise judiciaire : état de l'art et perspectives », in : « <u>Insectes, cadavres et scènes</u> <u>de crime</u> », D. Charabidzé et M. Gosselin, Éds., (2014), pp. 195-208.
- 168. O'Brien, C. et Turner, B., « Impact of paracetamol on *Calliphora vicina* larval development », international journal of legal, V. 118, (2004), 188-189.
- Lemos, N. P., « Ethanol Analysis in Postmortem and Human Performance Forensic Toxicology Cases », Academic Forensic Pathology, V. 4, n° 2, (2014), 138-145.
- 170. Jones, A. W. et Jonsson, K. A., « Food-induced lowering of blood-ethanol profiles and increased rate of elimination immediately after a meal. », Journal of forensic sciences, V. 39, n° 4, (juill. 1994), 1084-1093.
- 171. Saihia, A., « L'effet d'éthanol sur les paramètres hématologiques, biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin mâle Oryctolagus cuniculus », Université Badji Mokhtar, 2014, thèse de doctorat,(2014), 125 p.
- 172. Jones, A. W., Hahn, R. G. et Stalberg, H. P., « Distribution of ethanol and water between plasma and whole blood; inter- and intra-individual variations after administration of ethanol by intravenous infusion. », Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation, V. 50, n° 7, (nov. 1990), 775-780.
- 173. Brown, D. J., « The pharmacokinetics of alcohol excretion in human perspiration. », Methods and findings in experimental and clinical pharmacology, V. 7, n° 10, (oct. 1985), 539-544.
- 174. Lands, W. E., « A review of alcohol clearance in humans », Alcohol (Fayetteville, N.Y.), V. 15, n° 2, (févr. 1998), 147-160.
- Musshoff, F., « Alcohol and biological markers of alcohol abuse: gas chromatography », in : « <u>Encyclopedia of Separation Science</u> », D. Wilson, E. R. Adlard, M. Cooke et C. F. Poole, Éds., Michigan, Academic Press, (2000), pp. 1921-1931.
- 176. Curry, A. S., Walker, G. W. et Simpson, G. S., « Determination of ethanol in blood by gas chromatography. », The Analyst, V. 91, n° 88, (nov. 1966), 742-743.
- 177. Bowler, K. et Terblanche, J. S., « Insect thermal tolerance: What is the role of ontogeny, ageing and senescence? », Biological Reviews, V. 83, n° 3, (2008), 339-355.
- 178. Sperling, F. A., Anderson, G. S. et Hickey, D. A., « A DNA-based approach to the identification of insect species used for postmortem interval

estimation », Journal of forensic sciences, V. 39, n° 2, (mars 1994), 418-427.

- 179. Stevens, J. et Wall, R., « Genetic variation in populations of the blowflies Lucilia cuprina and Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae). Random amplified polymorphic DNA analysis and mitochondrial DNA sequences », Biochemical Systematics and Ecology, V. 25, n° 2, (1997), 81-97.
- Wells, J. D. et Stevens, J. R., « Application of DNA-Based Methods in Forensic Entomology », Annual review of entomology, V. 53, (2008), 103-120.
- 181. Wells, J. D., Introna, F., Di Vella, G., Campobasso, C. Pietro, Hayes, J. et Sperling, F. A. H., « Human and insect mitochondrial dna analysis from maggots », Journal of forensic sciences, V. 46, n° 3, (2001), 685-687.
- 182. Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. et deWaard, J. R., « Biological identifications through DNA barcodes », Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, V. 270, n° 1512, (2003), 313-321.
- Jinbo, U., Kato, T. et Ito, M., « Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology », Entomological Science, V. 2011, (2011), 1-18.
- 184. Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G. G. et James, S. W., « Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology », Applied Soil Ecology, V. 65, (2013), 35-42.
- Ratnasingham, S. et Hebert, P. D. N., « BOLD : The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org) », Molecular Ecology Notes, V. 7, n° Avril 2016, (2007), 355-364.
- 186. Lessinger, A. C., Martins Junqueira, A. C., Lemos, T. A., Kemper, E. L., Silva, F. R., Vettore, A. L., Arruda, P., L. Azeredo-Espin, A. M. et Azeredo-Espin, A. M. L., « The mitochondrial genome of the primary screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) », Insect Molecular Biology, V. 9, n° 5, (2000), 521-529.
- 187. Cameron, S. L., « Insect Mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny », Annual Review of Entomology, V. 59, n° 1, (2014), 95-117.
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S. et de Waard, J. R., « Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species », Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, V. 270, n° Suppl\_1, (2003), S96-S99.
- 189. Di Luise, E., Magni, P., Staiti, N., Spitaleri, S. et Romano, C., « Genotyping of human nuclear DNA recovered from the gut of fly larvae », Forensic Science International, V. Genetics S, (2008), 591-592.
- 190. Salem, A. M., Adham, F. K. et Picard, C. J., « Survey of the genetic diversity of forensically important *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) from Egypt », Journal of Medical Entomology, V. 52, n° 3, (2015), 320-328.
- 191. Arnaldos, M., Ruiz, C., García, M. et González-mora, D., « DNA barcoding of two forensically important fleshfly species (Diptera: Sarcophagidae) from spain and notes on barcoding success within genus *Sarcophaga* Meigen »,

Ciencia Forense, V. 12, (2015), 73-90.

- 192. Grzywacz, A., Wyborska, D. et Piwczyński, M., « DNA barcoding allows identification of European Fanniidae (Diptera) of forensic interest », Forensic Science International, V. 278, (2017), 106-114.
- 193. Zajac, B. K., Martin-Vega, D., Feddern, N., Fremdt, H., e Castro, C. P., Szpila, K., Reckel, F., Schütt, S., Verhoff, M. A., Amendt, J. et Zehner, R., « Molecular identification and phylogenetic analysis of the forensically important family Piophilidae (Diptera) from different European locations », Forensic Science International, V. 259, (2016), 77-84.
- 194. Boehme, P., Amendt, J., Disney, R. H. L. et Zehner, R., « Molecular identification of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes », International Journal of Legal Medicine, V. 124, n° 6, (2010), 577-581.
- 195. Wells, J. D. et Williams, D. W., « Validation of a DNA-based method for identifying *Chrysomyinae* (Diptera: Calliphoridae) used in a death investigation », International Journal of Legal Medicine, V. 121, (2007), 1-8.
- 196. Cainé, L., Corte Real, F., Lima, G., Pontes, L., Abrantes, D. et Pinheiro, M. F., « Genetic identification of forensically important Calliphoridae in Portugal », International Congress Series, V. 1288, (2006), 846-848.
- 197. Waugh, J., « DNA barcoding in animal species: Progress, potential and pitfalls », BioEssays, V. 29, n° 2, (2007), 188-197.
- 198. Dholaria, S., Dalal, P., Shah, N. et Narkhede, R., « Maggots debridement therapy [ MDT ] », Gujarat Medical journal, V. 69, n° 1, (2014), 32-36.
- 199. Roth, I., « La larvothérapie (*Lucilia sericata*) dans le traitement des plaies chroniques en médecine vétérinaire », Université de Toulouse 3, 2014, thèse de doctorat,(2014), 122 p.
- 200. Goldstein, H. I., « <u>Maggots in the treatment of wound and bone infections</u> », V. 13, n° 3 476-478.
- 201. Stegeman, S. A. et Steenvoorde, P., « Maggot debridement therapy », V. 22, n° Goldstein 1931, (2011), 61-66.
- 202. Adams, G. W., « <u>Doctors in blue: The medical history of the Union Army in</u> <u>the Civil War</u> », New York, Henry Schumann, (1952), 253 p.
- 203. Baer, W. S., « The classic: The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blow fly) », Clinical Orthopaedics and Related Research, V. 469, n° 4, (2011), 920-944.
- 204. Mumcuoglu, K. Y., Miller, J., Mumcuoglu, M., Friger, M. et Tarshis, M., « Destruction of bacteria in the digestive tract of the maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) », Journal of Medical Entomology, V. 38, n° 2, (2001), 161-166.
- 205. Puckner, W. A., « New and nonofficial remdies, surgical maggots-Lederle », Journal of the American Medical Association, V. 98, (1932), 401.
- 206. Alnaimat, S. M., Wainwright, M. et Aladaileh, S. H., « An initial *in vitro* investigation into the potential therapeutic use of *Lucilia sericata* maggot to

control superficial fungal infections », Jordan Journal of Biological Sciences, V. 6, n° 2, (2013), 137-142.

- 207. Sherman, R. A. et Pechter, E. A., « Maggot therapy: a review of the therapeutic applications of fly larvae in human medicine, especially for treating osteomyelitis. », Medical and veterinary entomology, V. 2, n° 3, (juill. 1988), 225-230.
- 208. Beasley, W. D. et Hirst, G., « Making a meal of MRSA The role of biosurgery in hospital-acquired infection », Journal of Hospital Infection, V. 56, n° 1, (2004), 6-9.
- 209. Dissemond, J., Koppermann, M., Esser, S., Schultewolter, T., Goos, M. et Wagner, S. N., « Therapie eines methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA) im rahmen der behandlung eines chronischen ulkus mittels biochirurgie », Hautarzt, V. 53, n° 9, (2002), 608-612.
- 210. Sherman, R. A., « Maggot therapy takes us back to the future of wound care: New and improved maggot therapy for the 21st century », Journal of Diabetes Science and Technology, V. 3, n° 2, (2009), 336-344.
- 211. Sherman, R. A., Shapiro, C. E. et Yang, R. M., « Maggot therapy for problematic wounds: uncommon and off-label applications », Advances in Skin & Wound Care, V. 20, n° 11, (2007),.
- 212. Sherman, R. A., « Mechanisms of maggot-induced wound healing: What do we know, and where do we go from here? », Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, V. 2014, (2014),.
- 213. Fleischmann, W., Grassberger, M. et Sherman, R., « <u>Maggot therapy: a</u> <u>handbook of maggot-assisted wound healing</u> », Thieme, (2011), 93 p.
- 214. Nigam, Y., Bexfield, A., Thomas, S. et Ratcliffe, N. A., « Maggot therapy: The science and implication for CAM part II - Maggots combat infection », Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, V. 3, n° 3, (2006), 303-308.
- 215. Thomas, S., Andrews, A. M., Hay, N. P. et Bourgoise, S., « The antimicrobial activity of maggot secretions: results of a preliminary study », Journal of tissue viability, V. 9, n° 4, (1999), 127-132.
- 216. Richards, C. S., Simonsen, T. J., Abel, R. L., Hall, M. J. R., Schwyn, D. A. et Wicklein, M., « Virtual forensic entomology: Improving estimates of minimum post-mortem interval with 3D micro-computed tomography », Forensic Science International, V. 220, (2012), 251-264.
- 217. Thomas, S., « <u>Surgical dressings and wound management</u> », Medetec. Cardiff, Medetec, (2010), 708 p.
- 218. Bekins, L., « Maggot Therapy for Removal of Non-healing Wounds Maggot Therapy for Removal of Non-healing Wounds », Pacific University, 2010, thèse de doctorat,(2010), 21 p.
- Choudhary, V., Choudhary, M., Pandey, S., Chauhan, V. D. et Hasnani, J. J., « Maggot debridement therapy as primary tool to treat chronic wound of animals », Veterinary World, V. 9, n° 4, (2016), 403-409.
- 220. Téot, L., « Revue générale : la détersion des plaies », Journal des Plaies et

Cicatrisations, V. 996, n° 3, (1996), 7-12.

- 221. Kennedy, K. et Tritch, D., « Debridment », in : « <u>Chronic wound care, a</u> <u>clinicat source book for heaithcare professionals</u> », D. Krasner et D. Kane, Éds., Wayne. PA, Health Management publications Inc., (1997), p. 233.
- 222. Toussaint, P., « Larvothérapie », (2008), http://www.cicatrisation.info/methodes-therapeutiques/aspectsmedicaux/larvotherapie.html, [consulté le 13/01/16].
- 223. Courtenay, M., « The use of larval therapy in wound management in the UK. », Journal of wound care, V. 8, n° 4, (avr. 1999), 177-179.
- 224. Bonn, D., « Maggot therapy: an alternative for wound infection », The Lancet, V. 356, (2000), 1174.
- 225. Courtenay, M., Church, J. C. et Ryan, T. J., « Larva therapy in wound management », Journal of the Royal Society of Medicine, V. 93, n° 2, (2000), 72-74.
- 226. Fritzpatrick, M., « Patient safety: from research to practice », Jama, V. 284, n° 18, (2000), 2306-2307.
- 227. Morison, M., Moffat, C., Bridel-Nixon, J. et Bale, S., « A colour guide to the nursing management of chronic wounds », in : « <u>A Colour Guide to the</u> <u>Nursing Management of Chronic Wounds</u> », M. Morison, Éd., Mosby, (1997), p. 98.
- 228. Salimi, M., Goodarzi, D., Karimfar, M. et Edalat, H., « Human urogenital myiasis caused by *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) and *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) in Markazi Province of Iran », Iran Journal of Arthropod-Borne Diseases, V. 4, n° 1, (2010), 72-76.
- 229. Apperson, C. S., Arends, J. J., Baker, J. R., Carter, C. C. et Payne, C. S., « Blow flies. Insect and related pests of man and animals», (2011), http://www.ipm.ncsu.edu/ag369/notes/blow\_flies.html. [consulté le: 15-07-2017].
- 230. INPN, « Lucilia sericata (Meigen, 1826) Taxonomy », (2017), https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\_nom/224838/tab/taxo. [consulté le: 06-04-2018].
- Tarone, A. M. et Foran, D. R., « Components of developmental plasticity in a Michigan population of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae ) », Journal of medical entomology, V. 43, (2006), 1023-1033.
- 232. Cazander, G., Pritchard, D. I., Nigam, Y., Jung, W. et Nibbering, P. H., « Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds: Larval secretions contain molecules that accelerate wound healing, reduce chronic inflammation and inhibit bacterial infection », BioEssays, V. 35, n° 12, (2013), 1083-1092.
- 233. Valachova, I., Takac, P. et Majtan, J., « Midgut lysozymes of *Lucilia sericata* new antimicrobials involved in maggot debridement therapy », Insect Molecular Biology, V. 23, n° 6, (2014), 779-789.
- 234. Barnard, D. R., « Skeletal-muscular mechanisms of the larva of *Lucilia sericata* (Meigen) in relation to feeding habit (Diptera: Calliphoridae) », Pan

Pacific Entomologist, V. 53, n° 3, (1977), 223-229.

- 235. Nigam, Y., Dudley, E., Bexfield, A., Bond, A. E., Evans, J. et James, J., « The physiology of wound healing by the medicinal maggot, *Lucilia sericata* », Advances in Insect Physiology, V. 39, (2010), 39-81.
- Blake, F. A. S., Abromeit, N., Bubenheim, M., Li, L. et Schmelzle, R., « The biosurgical wound debridement: Experimental investigation of efficiency and practicability », Wound Repair and Regeneration, V. 15, n° 5, (2007), 756-761.
- 237. Simmons, S. W., « A bactericidal principle in excretions of surgical maggots which destroys important etiological agents of pyogenic infections », Journal of bacteriology, V. 30, n° 3, (1935), 253-267.
- 238. Cerovsky, V. et Bém, R., « Lucifensins, the insect defensins of biomedical importance: The story behind maggot therapy », Pharmaceuticals, V. 7, n° 3, (2014), 251-264.
- 239. Prete, P. E., « Growth effects of *Phaenicia sericata* larval extracts on fibroblasts: Mechanism for wound healing by maggot therapy », Life Sciences, V. 60, n° 8, (1997), 505-510.
- 240. Chambers, L Woodrow, S., Brown, A. P., Harris, P. D., Phillips, D., Hall, M., Church, J. C.T. et Pritchard, D. I., « Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds », British Journal of Dermatology, V. 148, n° 1, (2003), 14-23.
- 241. Horobin, A. J., Shakesheff, K. M., Woodrow, S., Robinson, C. et Pritchard, D. I., « Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon interactions between human dermal fibroblasts and extracellular matrix components », The British journal of dermatology, V. 148, n° 5, (mai 2003), 923-933.
- 242. Toussaint, P., « Larvothérapie », (2008), http://www.cicatrisation.info/d\_u/cours2008/TOUSSAINT2008.pdf, [consulté le: 01-04-2015].
- 243. Acton, C., « A know-how guide to using larval therapy for wounD », Wound Essesntials, V. 2, (2007), 156-159.
- 244. P. Kuffler, D., « Techniques for wound healing with a focus on pressure ulcers elimination », The Open Circulation & Vascular Journal, V. 3, n° 1, (2012), 72-84.
- 245. Wolff, H. et Hansson, C., « Rearing larvae of *Lucilia sericata* for chronic ulcer treatment An improved method », Acta Dermato-Venereologica, V. 85, n° 2, (2005), 126-131.
- 246. Brown, A., « The role of debridement in the healing process », Nursing times, V. 109, n° 40, (2013), 16-9.
- 247. Jones, G. et Wall, R., « Maggot-therapy in veterinary medicine », Research in Veterinary Science, V. 85, n° 2, (2008), 394-398.
- 248. Steenvoorde, P., Jacobi, C. E., Van Doorn, L. et Oskam, J., « Maggot debridement therapy of infected ulcers: Patient and wound factors

influencing outcome - A study on 101 patients with 117 wounds », Annals of the Royal College of Surgeons of England, V. 89, n° 6, (2007), 596-602.

- 249. Magalon, G. et Vanwijck, R., « <u>Guide des plaies : du pansement à la chirurgie</u> », JOHN LIBBE, Paris, (2003), 304 p.
- 250. Kočišová, A., Pistl, J., Link, R., Čonková, E. et Goldová, M., « Maggot debridement therapy in the treatment of footrot and foot scald in sheep », Acta Veterinaria Brno, V. 75, n° 2, (2006), 277-281.
- 251. Abdolmaleki, A., Mirarab Razi, J., Nourzad Moghaddam, M. et Mastari Farahani, H., « Maggot debridement therapy: Concepts, methods, issues and future », International Journal of Pharmacotherapy, V. 5, (2015), 27-31.
- 252. BioMonde, « BioBag® Size Guide », (2016), http://biomonde.com/attachments/article/25/BM48\_EN\_08\_0914\_IP.PDF. [consulté le : 09-04-2018].
- 253. Gupta, A., « A Review of the Use of Maggots in Wound Therapy », Annals of Plastic Surgery, V. 60, n° 2, (2008),.
- 254. Quezel, P. et Santa, S., « <u>Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques</u> <u>méridionales</u> », Paris, C.N.R.S., (1962), 566 p.
- 255. Mohamed Sahnoune, A., Doumandji, S. eddine et Desutter-Grandcolas, L., « A check-list of Ensifera from Algeria (Insecta: Orthoptera) », Zootaxa, V. 2432, (2010), 1-44.
- Açikgöz, H. N., Köse, S. K. et Divrak, D., « Chemical meat bait traps versus basic meat bait traps in collection of adult flies », Entomological research, V. 47, (2017), 21-27.
- 257. Flores, M., Longnecker, M. et Tomberlin, J. K., « Effects of temperature and tissue type on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) (Macquart) development », Forensic Science International, V. 245, (2014), 24-29.
- 258. Al-saeed, W. M., « Effect of maggot (larva) secretions on bacterial growth », Al-Rafidain Dental Journal, V. 12, (2012), 160-164.
- 259. Taleb, M., Tail, G., Kara, F. Z., Djedouani, B. et Toumi, M., « A preliminary study of the effects of environmental variables on early Diptera carrion colonizers in Algiers, Algeria », Journal of Entomology and Zoology Studies, V. 4, n° 1, (2016), 181-188.
- Taleb, M., Tail, G., Kara, F. Z., Djedouani, B. et Moussa, T., « Identification and occurrence records of *Lucilia sericata* Meigen (Diptera, Calliphoridae) in Algeria », Istanbul, Proceedings of the International Conference on Chemical, Agricultural and Biological Sciences (CABS-2015), (4-5 septembre 2015), 126-131.
- 261. Margolin, L. et Gialanella, P., « Assessment of the antimicrobial properties of maggots », International Wound Journal, V. 7, n° 3, (2010), 202-4.
- 262. Daeschlein, G., Mumcuoglu, K. Y., Assadian, O., Hoffmeister, B. et Kramer, A., « *In vitro* antibacterial activity of *Lucilia sericata* maggot secretions », Skin Pharmacology and Physiology, V. 20, n° 2, (2007), 112-115.
- 263. Boonsriwong, W., Sukontason, K., Vogtsberger, R. C. et Sukontason, K. L.,

« Alimentary canal of the blow fly *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae): An emphasis on dissection and morphometry », Journal of Vector Ecology, V. 36, n° 1, (2011), 2-10.

- 264. Abbott, W. S., « A Method of computing the effectiveness of an insecticide », Journal of Economic Entomology, V. 18, n° 2, (1925), 265-267.
- 265. Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E. M., Bromage, N., Bunyan, J., Erhardt, W., Flecknell, P., Gregory, N., Hackbarth, H., Morton, D. et Warwick, C., « Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2 », Laboratory animals, V. 31, (1997), 1-32.
- 266. Wolfenshon, S. et Llyod, M., « <u>Handbook of laboratory animal management</u> <u>and welfare</u> », Oxford, Bmackwell Publishing, (2003), 416 p.
- 267. Dvorak, L. et Roberts, S. P. M., « Key to the paper and social wasps of Central Europe (Hymenoptera: Vespidae) », Acta Entomologicza Musei Nationalis Pragae, V. 46, (2006), 221-244.
- 268. Gomy, Y., Labrique, H., Chavanon, G., Janati Idrissi, A. et Francois, A., « Contribution à la connaissance des Histeridae du Maroc (Coleoptera) », Les Cahiers du Musée des Confluences, V. 2, (2011), 23-74.
- Rozkošný, R., Gregor, F. et Pont, A. C., « The European Fanniidae (Diptera) », Acta Scientarium Naturalium Academiae Bohemicae Brno, V. 31, (1997), 1-80.
- 270. Háva, J., « World keys to the genera and subgenera of Dermestidae (Coleoptera), with descriptions, nomenclature and distributional records », Acta Musei Nationalis Pragae, V. 60, n° 3-4, (2004), 149-164.
- 271. Pont, A. et Meier, R., « The Sepsidae (Diptera) of Europe », Fauna Entomologica Scandinavica, V. 37, n° January 2002, (2002), 1-195.
- 272. Desjardins, P. R. et Conklin, D. S., « Microvolume quantitation of nucleic acids », Current Protocols in Molecular Biology, V. 45, (2010), 1-5.
- 273. Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. et Flook, P., « Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers », Annals of the Entomological Society of America, V. 87, n° 6, (1994), 651-701.
- Sanger, F., Nicklen, S. et Coulson, A. R., « DNA sequencing with chainterminating inhibitors », Proceedings of the National Academy of Sciences, V. 74, n° 12, (1977), 5463-5467.
- Saitou, N. et Nei, M., « The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees », Molecular Biology and Evolution, V. 4, (1987), 406-425.
- 276. Kumar, S., Stecher, G. et Tamura, K., « MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets », Molecular Biology and Evolution, V. 33, n° 7, (2016), 1870-1874.
- 277. Edgar, R. C., « MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput », Nucleic Acids Research, V. 32, n° 5, (2004), 1792-1797.

- 278. Kimura, M., « A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences », Journal of Molecular Evolution, V. 16, (1980), 111-120.
- Reed, H. B., « A study of dog carcass communities in tennessee with special reference to the insects », American Midland Naturalist, V. 59, n° 1, (1958), 213-245.
- 280. Felsenstein, J., « Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap », Evolution, V. 39, n° 4, (1985), 783-791.
- 281. Williams, K. A., Richards, C. S. et Villet, M. H., « Predicting the geographic distribution of *Lucilia sericata* and *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) in South Africa », African Invertebrates, V. 55, n° 1, (2014), 157-170.
- 282. Valachová, I., Bohová, J., Kozánek, M., Takác, P. et Majtán, J., « *Lucilia sericata* medicinal maggots: a new source of antimicrobial compounds », in : « <u>Microbial pathogens and strategies for combating them. Science, technology and education</u> », A. Méndez-Vilas, Éd., (2013), pp. 1745-1753.
- 283. Frederickx, C., Verheggen, F., Bonnet, S. et Haubruge, E., « Recensement de *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, de *Calliphora vomitoria* L. et de *Cynomya mortuorum* L. (Diptera: Calliphoridae) dans les collections entomologiques des étudiants de Gembloux Agro-Bio Tech sur la période 1995-2009 », Entomologie faunistique – Faunistic Entomology, V. 64, n° 3, (2012), 57-62.
- 284. Hwang, C.-C. et Turner, B. D., « Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera from urban to rural areas », Medical and Veterinary Entomology, V. 19, (2005), 379-391.
- 285. Hall, D. G., « <u>The blowflies of North America</u> », Lafayette, IN, Thomas Say Foundation, (1948), 477 p.
- Carvalho Queiroz, M. M., « Temperature requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions », Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, V. 91, n° 6, (1996), 785-788.
- 287. Abd El-bar, M. M. et Sawaby, R. F., « A preliminary investigation of insect colonization and succession on remains of rabbits treated with an organophosphate insecticide in El-Qalyubiya Governorate of Egypt », Forensic Science International, V. 208, n° 1-3, (2011), 26-30.
- 288. Baumgartner, D. L. et Greenberg, B., « The Genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the New World », Journal of Medical Entomology, V. 21, (1984), 105-113.
- Farinha, A., Dourado, C. G., Centeio, N., Oliveira, A. R., Dias, D. et Rebelo, M. T., « Small bait traps as accurate predictors of dipteran early colonizers in forensic studies », Journal of insect science (Online), V. 14, n° 77, (2014), 77.
- 290. Tantawi, T. I., El-kady, E. M. et Greenberg, B., « Arthropod Succession on Exposed Rabbit Carrion in Alexandria , Egypt », Entomological Society of America, V. 33, n° 4, (1996), 566-580.

- 291. Zumpt, F., « <u>Myiasis in man and animals in the Old World.</u> », Lausanne, Butterworths, (1965), 267 p.
- 292. Vanin, S. Tasinato, P., Ducolin, G., Terranova, C., Zancaner, S., Montisci, M., Ferrara, S. D., Turchetto, M., « Use of *Lucilia species* for forensic investigations in Southern Europe », Forensic Science International, V. 177, (2008), 37-41.
- 293. Vinogradova, E. B. et Reznik, S. Y., « Seasonal development of the blowfly *Caliphora vicina* R.-D. (Diptera , Calliphoridae) in the Environs of St . Petersburg », Entomological review, V. 96, n° 3, (2016), 263-268.
- 294. Velasquez, Y., Magana, A., Martinez-Sanchez, A. et Rojo, S., « Diptera of forensic importance in the Iberian Peninsula: larval identification key », Medical and Veterinary Entomology, V. 24, (2010), 293-308.
- 295. Lambiase, S. et Camerini, G., « Spread and habitat selection of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera Calliphoridae) in northern Italy: Forensic implications », Journal of Forensic Sciences, V. 57, n° 3, (2012), 799-801.
- 296. Verves, Y. G., « Records of *Chrysomya albiceps* in the Ukraine », Medical and Veterinary Entomology, V. 18, (2004), 308-310.
- 297. Baz, A., Cifrián, B., Díaz-äranda, L. M. et Martín-vega, D., « The distribution of adult blow-flies (Diptera: Calliphoridae) along an altitudinal gradient in Central Spain », Annales de la Société Entomologique de France, V. 43, n° 3, (2007), 289-296.
- 298. Baz, A., Botias, C., Martin-Vega, D., Cifrian, B. et Diaz-Aranda, L. M., « Preliminary data on carrion insects in urban (indoor and outdoor) and periurban environments in central Spain », Forensic Science International, V. 248, (2015), 41-47.
- 299. Schroeder, H., Klotzbach, H. et Püschel, K., « Insects' colonization of human corpses in warm and cold season », Legal Medicine, V. 5, (2003), s372-s374.
- 300. Wyss, C., Cherix, D., Michaud, K. et Romain, N., « Pontes de *Calliphora vicina*, Robineau-Desvoidy et de *Calliphora vomitoria*, (Linné) (Diptères, Calliphoridae) sur un cadavre humain enseveli dans la neige », Revue Internationale de Criminologie et de Police Technique et Scientifique, V. 56, (2003), 112-116.
- 301. García-rojo, A. M., « Estudio de la sucesión de insectos en cadáveres en alcalá de henares (comunidad autónoma de Madrid) utilizando cerdos domésticos como modelos animales », Boletín de Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.), V. 34, (2004), 263-269.
- 302. Arnaldos, I. M., Romera, E., Presa, J. J., Luna, A. et Garcia, M. D., « Studies on seasonal arthropod succession on carrion in the southeastern Iberian Peninsula », international journal of legal, V. 118, (2004), 197-205.
- 303. Bonacci, T., Vercillo, V., Brandmayr, P., Fonti, A., Tersaruolo, C. et Zetto Brandmayr, T., « Estudio de la sucesión de insectos en cadáveres en alcalá de henares (comunidad autónoma de Madrid) utilizando cerdos domésticos como modelos animales », Legal Medicine, V. 11, (2009), 30-32.

- 304. Vinogradova, E. B., « Effect of food and temperature on the reproduction of the blowfly, *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera, Calliphoridae), a popular model object in biological research », Entomological Review, V. 89, n° 2, (2009), 137-142.
- 305. Wall, R., Pitts, K. M. et Smith, K. E., « Pre-adult mortality in the blowfly *Lucilia sericata* », Medical and Veterinary Entomology, V. 15, n° 3, (2001), 328-334.
- 306. Gosselin, M., Charabidze, D., Frippiat, C., Bourel, B. et Gosset, D., « Development time variability: Adaptation of Régnière's method to the intrinsic variability of Belgian *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae) population », Journal of Forensic Research, V. 1, n° 2, (2010), 1-3.
- 307. Defilippo, F., Bonilauri, P. et Dottori, M., « Effect of temperature on six different developmental landmarks within the pupal stage of the forensically important blowfly *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) », Journal of Forensic Sciences, V. 58, n° 6, (2013), 1554-1557.
- 308. Warren, J. A., Ratnasekera, T. D. P., Campbell, D. A. et Anderson, G. S., « Hyperspectral measurements of immature *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) raised on different food substrates », PLoS ONE, V. 13, n° 2, (2018), 1-17.
- 309. Cervantès, L., Dourel, L., Gaudry, E., Pasquerault, T. et Vincent, B., « Effect of low temperature in the development cycle of *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera, Calliphoridae): implications for the minimum postmortem interval estimation », Forensic Sciences Research, V. 3, n° 1, (2017), 1-8.
- 310. Haskell, N. H., Lord, W. D. et Byrd, J. H., « Collection of entomological evidence during death investigations », in : « <u>Forensic Entomology: the</u> <u>Utility of Arthropods in Legal Investigations</u> », J. H. Byrd et J. L. Castner, Éds, Boca Raton, CRC Press, (2000), pp. 81-120.
- 311. Vinogradova, E. B. et Marchenko, M. I., « Use of temperature parameters of the development of flies in forensic medical practice », Sudebnomeditsinskaia ekspertiza, V. 27, n° 1, (1984), 16-19.
- 312. Greenberg, B., « Flies as forensic indicators », Journal of Medical Entomology, V. 28, n° 5, (sept. 1991), 565-577.
- 313. Davies, L. et Ratcliffe, G. G., « Development rates of some pre-adult stages in blowflies with reference to low temperatures », Medical and Veterinary Entomology, V. 8, n° 3, (1994), 245-254.
- Ames, C. et Turner, B., « Low temperature episodes in development of blowflies: Implication for postmortem interval estimation », Medical and Veterinary Entomology, V. 17, (2003), 178-186.
- 315. Mohd Masri, S., Nazni, W. A., Lee, H. L., T Rogayah, T. A. et Subramaniam, S., « Sterilisation of *Lucilia cuprina* Wiedemann maggots used in therapy of intractable wounds. », Tropical biomedicine, V. 22, n° 2, (2005), 185-189.
- 316. Sherman, R. A. et Wyle, F. A., « Low-cost, low-maintenance rearing of maggots in hospitals, clinics, and schools », American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, V. 54, n° 1, (1996), 38-41.

- 317. Brundage, A. L., Crippen, T. L. et Tomberlin, J. K., « Methods for external disinfection of blow fly (Diptera: Calliphoridae) eggs prior to use in wound debridement therapy », Wound Repair and Regeneration, V. 24, n° 2, (2016), 384-393.
- 318. Yeong, Y. S., Nazni, W. A., Santana, R. L., Mohd Noor, I., Lee, H. L. et Mohd Sofian, A., « Scanning electron microscopic evaluation of the successful sterilization of *Lucilia cuprina* (Wiedemann) utilized in maggot debridement therapy (mdt) », Tropical Biomedicine, V. 28, n° 2, (2011), 325-332.
- 319. Limsopatham, K., Khamnoi, P., Sukontason, K. L., Boonyawan, D., Chaiwong, T. et Sukontason, K., « Sterilization of blow fly eggs, *Chrysomya megacephala* and *Lucilia cuprina*, (Diptera: Calliphoridae) for maggot debridement therapy application », Parasitology Research, V. 116, n° 5, (2017), 1581-1589.
- 320. Bexfield, A. Bond, A. E., Roberts, E. C., Dudley, E., Nigam, Y., Thomas, S., Newton, R. P., Ratcliffe, N. A., « The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a <500 Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) », Microbes and Infection, V. 10, n° 4, (2008), 325-333.
- 321. Bexfield, A., Nigam, Y., Thomas, S. et Ratcliffe, N. A., « Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) », Microbes and Infection, V. 6, n° 14, (2004), 1297-1304.
- 322. Huberman, L., Gollop, N., Mumcuoglu, K. Y., Block, C. et Galun, R., « Antibacterial properties of whole body extracts and haemolymph of *Lucilia sericata* maggots », Journal of Wound Care, V. 16, n° 3, (2007), 123-127.
- 323. Hassan, M. I., Amer, M. S., Hammad, K. M. et Zidan, M. M., « Antimicrobial activity for excretion and secretion », journal of the Egyptian Society of Parasitology, V. 46, n° 1, (2016), 179-184.
- 324. Kerridge, A., Lappin-Scott, H. et Stevens, J. R., « Antibacterial properties of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata* », Medical and Veterinary Entomology, V. 99, (2005), 333-337.
- 325. Cazander, G., van Veen, K. E. B., Bernards, A. T. et Jukema, G. N., « Do maggots have an influence on bacterial growth? A study on the susceptibility of strains of six different bacterial species to maggots of *Lucilia sericata* and their excretions/secretions », Journal of Tissue Viability, V. 18, n° 3, (2009), 80-87.
- 326. Jaklič, D., Lapanje, A., Zupančič, K., Smrke, D. et Gunde-Cimerman, N., « Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria », Journal of Medical Microbiology, V. 57, n° 5, (2008), 617-625.
- 327. McInnes, W., Ruzehaji, N., Wright, N., Cowin, A. J. et Fitridge, R., « Venous ulceration contaminated by multi-resistant organisms: larval therapy and debridement. », Journal of wound care, V. 22, n° 10, (2013), S27-S30.
- 328. Meylaers, K., Clynen, E., Daloze, D., DeLoof, A. et Schoofs, L.,

« Identification of 1-lysophosphatidylethanolamine (C16:1) as an antimicrobial compound in the housefly, *Musca domestica* », Insect Biochemistry and Molecular Biology, V. 34, n° 1, (2004), 43-49.

- 329. Singh, D. et Bharti, M., « Further observations on the nocturnal oviposition behaviour of blow flies (Diptera: Calliphoridae) », Forensic Science International, V. 120, (2001), 124-126.
- Dautartas, A. M., « The effect of various coverings on the rate of human decomposition », Université de Tennessee-Knoxville, thèse de doctorat, (2009), 74 p.
- 331. Aturaliya, S. et Lukasewycz, A., « Experimental forensic and bioanthropological aspects of soft tissue taphonomy: 1. Factors influencing postmortem tissue desiccation rate », Journal of forensic sciences, V. 44, n° 5, (1999), 893-896.
- 332. Al-Mesbah, H., Moffatt, C., El-Azazy, O. M. E. et Majeed, Q. A. H., « The decomposition of rabbit carcasses and associated necrophagous Diptera in Kuwait », Forensic Science International, V. 217, (2012), 27-31.
- 333. Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, S. et Szpila, K., « An initial study of insect succession and carrion decomposition in various forest habitats of Central Europe », Forensic Science International, V. 180, (2008), 61-69.
- Boulkenafet, F., Berchi, S. et Lambiase, S., « Preliminary study of necrophagous Diptera succession on a dog carrion in Skikda, North-east of Algeria », Journal of Entomology and Zoology Studies, V. 364, n° 35, (2015), 364-369.
- 335. Prado e Castro, C., « Seasonal carrion Diptera and coleopteran communities from Lisbon (Portugal) and the utility of forensic entomology in legal medicine », Université de Lisbonne, thèse de doctorat, (2011), 171 p.
- 336. Arnaldos, I., Romera, E., Garcia, M. D. et Luna, A., « An initial study on the succession of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian peninsula », International Journal of Legal Medicine, V. 114, (2001), 156-162.
- 337. Bharti, M. et Singh, D., « Insect faunal succession on decaying rabbit », Journal of Forensic Sciences, V. 48, n° 5, (2003), 1-11.
- 338. Acikgoz, H. N., Divrak, D. et Taleb, M., « Identification of a forensically and medically important blowfly: A Case study of adult *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) in Turkey. Identification of adult *Calliphora vicina* », European Journal of Forensic Sciences, V. 3, n° 4, (2016), 1-4.
- Szpila, K., « Annotated list of blowflies (Diptera: Calliphoridae) recorded during studies of insect succession on large carrion in Poland », V. 69, (2017), 85-93.
- 340. Rognes, K., « <u>Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and</u> <u>Denmark</u> », Leiden, Brill, (1991), 272 p.
- 341. Šuláková, H. et Barták, M., « Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with animal and human decomposition in the Czech Republic: preliminary results », Casopis Slezkeho Zemskeho Muzea, V. 62, (2013),

255-266.

- 342. Moretti, T. de C., Giannotti, E., Thyssen, P. J., Solis, D. R., Augusto, W., Godoy, C., Jacqueline, C. I. A., Moretti, T. D. E. C., Giannotti, E., Solis, D. R. et Conde Godoy, W. A., « Bait and habitat preferences , and temporal variability of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) attracted to vertebrate carrion », Journal of medical entomology, V. 48, n° 5, (2011), 1069-1075.
- 343. Danneels, E. L., Formesyn, E. M., Hahn, D. A., Denlinger, D. L., Cardoen, D., Wenseleers, T., Schoofs, L. et De Graaf, D. C., « Early changes in the pupal transcriptome of the flesh fly Sarcophagha crassipalpis to parasitization by the ectoparasitic wasp, Nasonia vitripennis », Insect Biochemistry and Molecular Biology, V. 43, (2013), 1189-1200.
- 344. Amendt, J., Krettek, R., Niess, C., Zehner, R. et Bratzke, H., « Forensic entomology in Germany », Forensic Science International, V. 113, (2000), 309-314.
- 345. Kugelberg, F. C. et Jones, A. W., « Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature », Forensic Science International, V. 165, n° 1, (2007), 10-29.
- 346. Davis, G. L., Leffert, R. L. et Rantanen, N. W., « Putrefactive ethanol sources in postmortem tissues of conventional and germ-free mice. », Archives of pathology, V. 94, n° 1, (juill. 1972), 71-74.
- 347. Gilliland, M. G. et Bost, R. O., « Alcohol in decomposed bodies: postmortem synthesis and distribution. », Journal of forensic sciences, V. 38, n° 6, (nov. 1993), 1266-1274.
- 348. Ames, C., Turner, B. et Daniel, B., « The use of mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) to differentiate two UK blowfly species - *Calliphora vicina* and *Calliphora vomitoria* », Forensic Science International, V. 164, (2006), 179–182.
- 349. Malgorn, Y. et Coquoz, R., « DNA typing for identification of some species of Calliphoridae. An interest in forensic entomology », Forensic Science International, V. 102, n° 2-3, (1999), 111-119.
- 350. Chen, W.-Y., Hung, T.-H. et Shiao, S.-F., « Molecular identification of forensically important blow fly species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan », Journal of Medical Entomology, V. 41, n° 1, (2004), 47-57.
- 351. Alves Rolo, E. S., « DNA barcoding and forensic entomology: a molecular approach for diptera species' identification », Université de Lisbonne, thèse de doctorat, (2010), 70 p.
- 352. Reibe, S., « Development, ecology and molecular species identification of corpse-associated Calliphoridae (Diptera) - Consequences for estimating the post-mortem interval », Université rhénane Frédéric-Guillaume de Bonn, thèse de doctorat, (2010), 132 p.
- 353. Badenhorst, R. et Villet, M. H., « The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology », Forensic Sciences Research, V. 3, n° 1, (2018), 2-15.
- 354. Irish, A. S., Lindsay, T. et Wyatt, N., « Key to adults of afrotropical species of

the genus *Chrysomya* Robineau-Desvoidy (Diptera: Calliphoridae) », African Entomology, V. 22, n° 2, (2014), 297-306.

- 355. Lutz, L., Williams, K. A., Villet, M. H., Ekanem, M. et Szpila, K., « Species identification of adult African blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance », International Journal of Legal Medicine, V. August 28, (2017), 1-12.
- 356. Martínez-Sánchez, A., Marcos-García, M. A. et Rojo, S., « First collection of *Chrysomya megacephala* (Fabr.) in Europe (Diptera: Calliphoridae) », Pan-Pacific Entomologist, V. 77, (2001), 240-243.
- 357. Martín-Vega, D., « Skipping clues: Forensic importance of the family Piophilidae (Diptera) », Forensic Science International, V. 212, n° 1-3, (2011), 1-5.
- 358. Ragan, E., « Piophilidae distribution in consideration of forensic applications », Université de Nebraska, Rapport de projet, (2015), 9 p.
- 359. Wells, J. D. et Sperling, F. A. H., « DNA-based identification of forensically important *Chrysomyiinae* (Diptera: Calliphoridae) », Forensic Science International, V. 120, n° 1-2, (2001), 110-115.