

*Communauté française de Belgique*

**FACULTE UNIVERSITAIRE DES SCIENCES AGRONOMIQUES DE  
GEMBLoux**

Etude des odeurs émises par des carcasses  
de porc (*Sus domesticus* L.) en  
décomposition et suivi de la colonisation  
*postmortem* par les insectes nécrophages

Année académique 2006-2007

Mémoire de fin d'études présenté par :

**Jessica Dekeirsschieter**

Promoteurs :

Eric Haubruge (FUSAGx)

Françoise Hubrecht (INCC)

En vue de l'obtention du grade de

Bioingénieur en Nature, Eaux et Forêts

**Résumé** - La présente étude s'articule autour de deux axes ; la caractérisation des odeurs émises par des carcasses de porc (*Sus domesticus* L.) en décomposition en plein air et leur colonisation postmortem par les insectes nécrophages. Six carcasses ont été disposées dans trois biotopes distincts : un milieu forestier, une zone agricole et un garage désaffecté. Deux techniques de prélèvements des composés organiques volatils (COVs) présents dans l'espace de tête des carcasses ont été utilisées : une technique passive et une technique dynamique. La technique passive utilise le système Radiello® muni de cartouches adsorbantes de Carbograph 4 analysées par TDS-GCMS tandis que la méthode dynamique piège les molécules volatiles sur une phase adsorbante de SuperQ. Les composés volatils piégés dynamiquement sont désorbés par solvant et analysés par GC-MS. Les principaux COVs identifiés sont le 1-butanol, l'indole, le phénol, le *p*-crésol, l'acide butanoïque ainsi que le 2-et 3-méthylbutanoïque, le diméthyldisulfure, le diméthyltrisulfure ainsi que plusieurs aldéhydes. Les insectes nécrophages ont été piégés à l'aide de bacs jaunes et de « pitfall trap », des prélèvements manuels ont également été effectués. Deux ordres sont nettement prépondérants : les Diptères, essentiellement des Calliphoridae, et les Coléoptères avec les familles des Silphidae et des Staphylinidae.

**Mots-clés** : entomologie forensique, décomposition, COVs, Radiello, prélèvement dynamique des molécules volatiles, GCMS, insectes nécrophages

**Abstract** – This study is articulated around two axes; the characterization of the odours from pig's carcasses (*Sus domesticus* L.) in decomposition in open air and their postmortem colonization by necrophagous insects. Six carcasses were laid out in three distinct biotopes: a medium forest, an agricultural zone and an unused garage. Two headspace sampling techniques were used to collect the carcasses VOC's: a passive technique and a dynamic sampling. The passive technique uses the Radiello® system provided with adsorbent cartridges of Carbograph 4 analyzed by TDS-GCMS while the dynamic method traps the volatile molecules on a SuperQ adsorbent. The volatile compounds dynamically trapped are solvent desorbed and analyzed by GC-MS. Principal VOCs identified are 1-butanol, indole, phenol, *p*-cresol, butanoic acid, 2-methylbutanoic acid, 3-methylbutanoic acid, dimethyldisulfide and the dimethyltrisulfide and also several aldehydes. The necrophagous insects were trapped using yellow vats and “pitfall traps”, manual collects were also carried out. Two orders are definitely dominating: Diptera, essentially Calliphoridae, and Coleoptera with the Silphidae's and Staphylinidae's families.

**Key words**: forensic entomology, decomposition, VOCs, Radiello, dynamic headspace collection, GCMS, necrophagous insects

## Table des figures

**Figure 1 :** Evolution de la matière organique morte d'origine végétale et animale dans les écosystèmes terrestres

**Figure 2 :** CDI provoqué par la décomposition d'une carcasse de porc

**Figure 3 :** Schéma des relations trophiques liant les différents groupes écologiques présents sur un cadavre

**Figure 4 :** Cycle de développement des Calliphoridae

**Figure 5 :** Morphologie des différentes larves de Coléoptères associées aux cadavres

**Figure 6 :** Stades de décomposition

**Figure 7 :** Gonflement du corps (*bloating*) et *marbling*

**Figure 8 :** Formation d'adipocire et momification du corps

**Figure 9 :** Succession des stades adultes et juvéniles d'insectes nécrophages sur un cadavre humain dans l'Est du Tennessee

**Figure 10 :** Datation d'un cadavre (IPM) en médecine légale et en entomologie forensique

**Figure 11 :** Géométrie du tube Radiello

**Figure 12 :** Exemple de collecte dynamique des COVs

**Figure 13 :** Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse

**Figure 14 :** Arum titan et Rafflésie

**Figure 15 :** Satyre puant et Diptères

**Figure 16 :** Site expérimental forestier, Braine-Le-Château

**Figure 17 :** Site expérimental agricole et « chemin agricole » permettant l'accès au site

**Figure 18 :** Site expérimental urbain

**Figure 19 :** Schéma du bâtiment (INCC)

**Figure 20 :** Pistolet à balle captive

**Figure 21 :** Cage de protection des carcasses (PIG-O-2, 30 mars 2007)

**Figure 22 :** Enregistreur de température de type testo 175 T1

**Figure 23 :** Eléments constitutifs du tube Radiello

**Figure 24 :** Abri Radiello contenant deux échantillonneurs, PIG-U-1

**Figure 25 :** Système de prélèvement dynamique des COVs (Pompe, cartouche et entonnoir).

**Figure 26 :** Dispositif expérimental de prélèvements des molécules volatiles

**Figure 27 :** Dispositif expérimental de collecte dynamique des composés volatils

**Figure 28 :** Disposition des tubes Radiello au dessus du corps et emplacement boîtier Radiello

**Figure 29 :** PIG-O-2, le 6 avril 2007 et PIG-U-1, le 4 mai 2007

**Figure 30 :** Disposition des pièges à Coléoptères (PIG-F-1, 17 avril 2007)

**Figure 31 :** Chromatogrammes obtenus avec analyse de trois prélèvements dynamique de VOCs réalisés le 24 avril 2007 en milieu ouvert

**Figure 32 :** Répartition des familles de composés chimiques en nombre de COVs par milieu

**Figure 33 :** Comparaison des deux techniques de prélèvements au niveau du nombre de COVs détectés par classe de composé chimique

**Figure 34 :** Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode Radiello » pour PIG-U-1 (A) et PIG-U-2 (B) en fonction du temps (en semaine)

**Figure 35 :** Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés pour PIG-F-1 (A) et PIG-F-2 (B) en fonction du temps (en semaine) avec la méthode Radiello

**Figure 36 :** Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés pour PIG-O-1 (A) et PIG-O-2 (B) en fonction du temps (en semaine) avec la méthode Radiello

**Figure 37 :** Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour PIG-U-1 (A) et PIG-U-2 (B) en fonction du temps (en semaine).

**Figure 38 :** Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour PIG-F-1 (A) et PIG-F-2 (B) en fonction du temps (en semaine)

**Figure 39 :** Profil d'émissions des acides (A : PIG-F-1, B : PIG-F-2)

**Figure 40** : Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour PIG-O-1 (A) et PIG-O-2 (B) en fonction du temps (en semaine)

**Figure 41** : Profil d'émissions des aldéhydes au cours du temps (en jour) (A : PIG-O-1, B : PIG-O-2)

**Figure 42** : Evolution en fonction du temps des différents stades de décomposition pour les six carcasses de porc

**Figure 43** : Répartition, par semaine (semaine 1 à 6), du nombre de Calliphoridae identifiées sur les carcasses présentes dans les milieux forestiers (A) et ouvert (B)

**Figure 44** : Répartition, par semaine (semaine 1 à 6), du nombre de Silphidae identifiés sur les carcasses présentes dans les milieux ouvert (A) et forestier (B)

**Figure 45** : Répartition au cours du temps (en semaine) du nombre de *C. maxillosus* pour les deux milieux naturels (forestier et ouvert)

## Table des tableaux

**Tableau 1** : Identification des COVs spécifiques et non spécifiques émis par différents organismes animaux en décomposition

**Tableau 2** : Légende des unités expérimentales

**Tableau 3** : Division en semaine de la période d'expérimentation

**Tableau 4** : Liste des COVs prélevés à l'aide de deux techniques d'échantillonnage en fonction du milieu

**Tableau 5** : Liste synthétique des paramètres propres aux deux techniques d'échantillonnage des COVs

**Tableau 6** : Liste des COVs principaux identifiés avec la méthode « Radiello » pour chaque carcasse

**Tableau 7** : Liste des COVs majoritaires identifiés avec la technique dynamique

**Tableau 8** : Liste des COVs identifiés au cours des processus de décomposition dans la bibliographie et retrouvés dans cette étude

**Tableau 9** : Perception olfactive de l'intensité des odeurs cadavériques dégagées par les carcasses en fonction du temps

**Tableau 10** : Illustration des différents stades de décomposition des carcasses de porc dans les trois milieux d'étude

**Tableau 11** : Liste des Diptères prélevés sur les carcasses de cochon en fonction du milieu

**Tableau 12** : Liste des Coléoptères prélevés sur les carcasses de cochon en fonction du milieu





## I. Introduction générale

L'entomologie forensique ou criminelle a connu un grand essor depuis le début de ce siècle, notamment avec la création en 2002 de L'Association Européenne pour l'Entomologie Forensique (EAFE) qui regroupe l'ensemble des scientifiques spécialisés dans ce domaine. Cependant, l'idée d'utiliser les insectes en criminalistique n'est pas neuve....déjà en 1894 Mégnin nous parlait de la « faune des cadavres ». Pionnier belge dans le domaine de l'entomologie médico-légale, Monsieur Marcel Leclercq a largement contribué au développement de cette science.

L'utilisation des insectes nécrophages dans la résolution d'enquêtes judiciaires se focalise à l'heure actuelle essentiellement sur une portion de la nécrofaune : les Calliphoridae (*blowflies*). En effet, leur arrivée précoce sur le cadavre, dans les minutes qui suivent la mort (voire même au moment de l'agonie) en font de redoutables bioindicateurs quant à la date de décès.

Cependant, il faut bien admettre que cette science n'en est encore qu'à ses prémises et que de nombreuses synergies sont encore inconnues. Le micro-habitat temporaire créé par la décomposition de la matière organique morte d'origine animale attire une faune variée dont les plus spécialisés, dans nos écosystèmes, sont les insectes nécrophages, principalement des Diptères et des Coléoptères.

Alors que les COVs sont étudiés dans de nombreux domaines (agroalimentaire, écologie chimique, qualité de l'air, médecine *etc.*), le domaine de la décomposition de la matière organique d'origine animale est délaissé. A ce jour, très peu d'études concernant les composés organiques volatils émis par des organismes en décomposition ont été réalisées dans le domaine des sciences forensiques.

Les objectifs de ce travail sont de mettre en évidence les composés organiques volatils émis par un organisme mort à différents stades de décomposition ainsi que le suivi de sa colonisation post-mortem par l'entomofaune nécrophage au sein de trois biotopes distincts. Afin de caractériser les différentes odeurs émises par les carcasses de porc, deux techniques de prélèvements d'odeurs ont été utilisées *in situ*. Quant au suivi de l'entomofaune nécrophage, il a été réalisé au moyen de prélèvements manuels et de piégeages (bac jaune et *pitfall trap*) réguliers.

## II. Synthèse bibliographique

### 1. Ecosystème autour d'un organisme mort- la vie autour d'un cadavre

#### 1.1. Introduction

Lorsqu'une espèce animale meurt, elle est rapidement visitée et colonisée par de nombreux organismes. La majorité de ces organismes sont des arthropodes avec une nette prépondérance d'insectes. Le cadavre constitue pour ces différentes espèces un substrat nourricier, un site de pontes, un refuge ou encore un territoire idéal.

#### 1.2. La décomposition d'un organisme dans un écosystème

##### 1.2.1. Les écosystèmes terrestres

Les sources principales (99%) de matière organique en voie de décomposition dans un écosystème terrestre proviennent des végétaux et des déchets organiques animaux [Swift *et al.*, 1979].

Les organismes morts ne constituent qu'une infime partie de la nécromasse<sup>1</sup>. Cependant, ces corps en décomposition constituent des micro-habitats et des ressources alimentaires pour de nombreux autres organismes vivants [Carter *et al.*, 2007]. En effet, les bactéries, les champignons, les insectes, les animaux incluant les oiseaux (carnassiers et/ou charognards<sup>2</sup>) peuvent se côtoyer autour d'un cadavre. Les plus spécialisés sont les insectes nécrophages, qui associés aux décomposeurs, participent à la minéralisation des matières organiques. Leur rôle est donc primordial au sein des écosystèmes terrestres où ils remplissent la fonction « d'éboueurs entomologiques » (Figure 1) [Leclercq et Verstraeten, 1992]. En effet, ils participent activement au recyclage des matières organiques mortes en intervenant dans les cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote [Hastir et Gaspar, 2001].

---

<sup>1</sup> **Nécromasse** : par opposition à la biomasse, la nécromasse représente la masse de matière organique morte présente dans une parcelle, un volume ou un écosystème donné.

<sup>2</sup> **Charognard** : animal qui se nourrit, partiellement ou exclusivement, d'animaux morts.



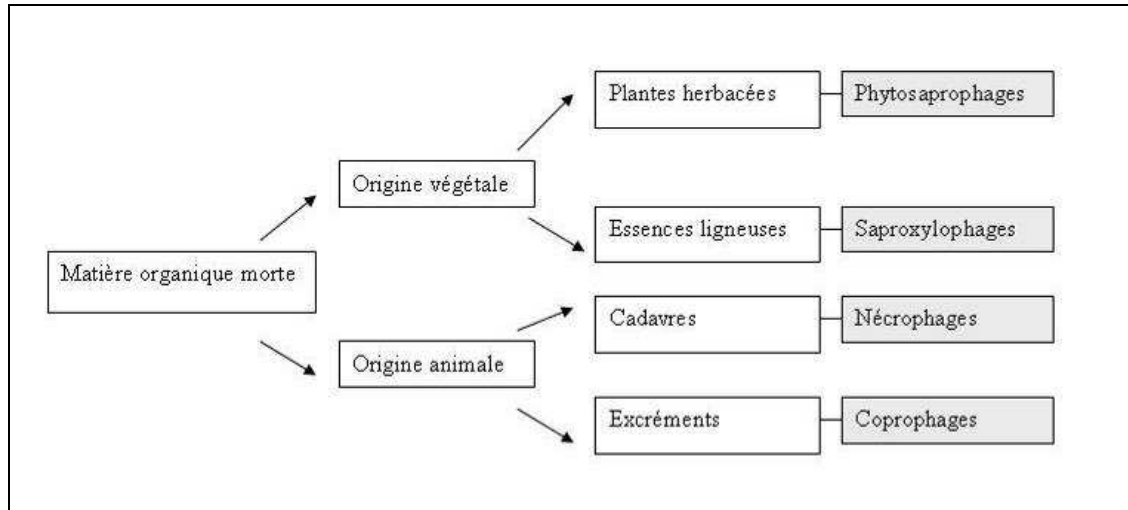


Figure 1. Evolution de la matière organique morte d'origine végétale et animale dans les écosystèmes terrestres (adapté Gobat *et al.*, 1998).

#### 1.2.1.1. Interactions avec la faune terrestre

Les insectes ne sont pas les seuls à convoiter les ressources alimentaires que procure un cadavre. De nombreux mammifères et oiseaux carnassiers peuvent consommer tout ou une partie de la dépouille et disperser des éléments du corps (*scavenging*) [DeVault *et al.*, 2003]. Les animaux consommeraient de 35 à 75% du corps dans un écosystème terrestre et jusqu'à l'entièreté du corps lorsque l'entomofaune et les bactéries sont moins actives [DeVault *et al.*, 2003]. Les cadavres de petite taille sont généralement emportés et consommés *ex situ* tandis que des cadavres de plus grande taille (dont l'homme) sont consommés sur place [Carter *et al.*, 2007].

Au sein même de l'organisme en décomposition, de nombreuses compétitions interspécifiques et intraspécifiques existent. L'intensité de ces interactions compétitives est liée à la taille de la ressource et à sa durée d'existence [Woodcock *et al.*, 2002].

##### ▪ *Compétitions interspécifiques*

Des compétitions existent entre les animaux vertébrés (mammifères et oiseaux), les microorganismes (bactéries) et les arthropodes (insectes) [DeVault *et al.*, 2003]. Cette compétition est particulièrement marquée entre les « charognards » (*scavengers*) et les décomposeurs en milieux tropicaux. Le vautour en est un exemple [DeVault *et al.*, 2003].

Les larves des différentes espèces d'insectes nécrophages interagissent et se concurrencent également pour l'espace et la nourriture [Leclercq, 1978, Smith et Wall, 1997].

▪ **Compétitions intraspécifiques**

Elles se marquent surtout au niveau des larves de Diptères en concurrence pour leur espace vitale et pour la nourriture [Leclercq, 1978]. Ce type de compétition entraîne une diminution de la taille des larves et du nombre d'adultes émergents [Leclercq, 1978, Ireland et Turner, 2006].

**1.2.1.2. Interactions avec la faune édaphique**

La décomposition d'un corps à l'air libre provoque l'écoulement de nombreux liquides putrides qui vont progressivement imprégner le sol (*Gravesoil*<sup>3</sup>). Ces infiltrations vont enrichir le sol et former des îlots de décomposition de matières cadavériques (CDI) (Figure 2) [Carter *et al.*, 2007].



**Figure 2. CDI provoqué par la décomposition d'une carcasse de porc (Carter *et al.*, 2007).**

La décomposition d'un corps provoque donc une perturbation naturelle du milieu qui modifie l'équilibre édaphique et biologique du sol [Hopkins *et al.*, 2000 ; Towne, 2000].

Les CDIs sont des pools de carbone et de nutriments qui influencent la pédofaune, on y enregistre une augmentation de la biomasse microbienne du sol, une recrudescence de l'activité bactérienne et une plus grande abondance des nématodes [Hopkins *et al.*, 2000 ; Towne, 2000]. Les Collemboles et les Acariens sont généralement absents au niveau des CDIs [Bornemissza, 1957].

**1.2.1.3. Interactions avec la flore**

La présence d'un corps en décomposition avancée entraîne la destruction de la végétation sous le cadavre et à ses alentours.

---

<sup>3</sup> Les *gravesoil* sont définis comme étant des sols associés avec la décomposition d'un cadavre, quelque soit l'espèce animale qui se décompose et peu importe si le processus de décomposition à lieu en surface ou dans le sol [Carter *et al.*, 2007].

La disparition de la végétation environnante est causée par différents facteurs dont certains sont encore inconnus à l'heure actuelle. Les facteurs incriminés dans la disparition de la flore sont l'étouffement par le corps, la toxicité de l'azote et enfin l'excrétion d'antibiotiques par les larves de mouches [Carter *et al.*, 2007]. Les composés volatils émis par l'organisme en décomposition pourraient également être mis en cause dans la disparition de la végétation [Vespermann et Piechulla, 2007].

### **1.2.2. Les écosystèmes aquatiques**

La faune des cadavres immergés est différente de celle des cadavres retrouvés à l'air libre [Anderson, 2001]. Contrairement aux écosystèmes terrestres, il n'y a pas d'espèces aquatiques nécrophages. Cependant, les restes humains (et/ ou animaux) attirent une faune aquatique diversifiée : des larves d'insectes (Trichoptères, Coléoptères, *etc.*), des crustacés, des mollusques et des poissons [Merritt et Wallace, 2001]. Le cadavre constitue une source de nourriture pour une large variété d'invertébrés et de poissons, c'est aussi un abri pour de nombreuses espèces. Les algues peuvent également coloniser et croître sur le cadavre [Merritt et Wallace, 2001]. Par la suite, ces végétaux aquatiques vont attirer des herbivores.

Néanmoins, les corps partiellement immergés peuvent être colonisés par des arthropodes terrestres [Anderson, 2001]. L'eau limite le nombre et les espèces d'arthropodes nécrophages présents sur le corps. En effet, le tiers de la faune présente sur un cadavre à l'air libre est retrouvée sur les corps immergés [Leclercq, 1978].

### **1.3. Les différents groupes écologiques que l'on rencontre autour d'un cadavre**

On distingue quatre groupes d'arthropodes, en fonction de leur régime alimentaire, sur un organisme en décomposition. On y rencontre des espèces nécrophages, nécrophiles, omnivores et des opportunistes. Une cinquième catégorie est parfois citée, il s'agit des espèces dites accidentelles (Figure 3).

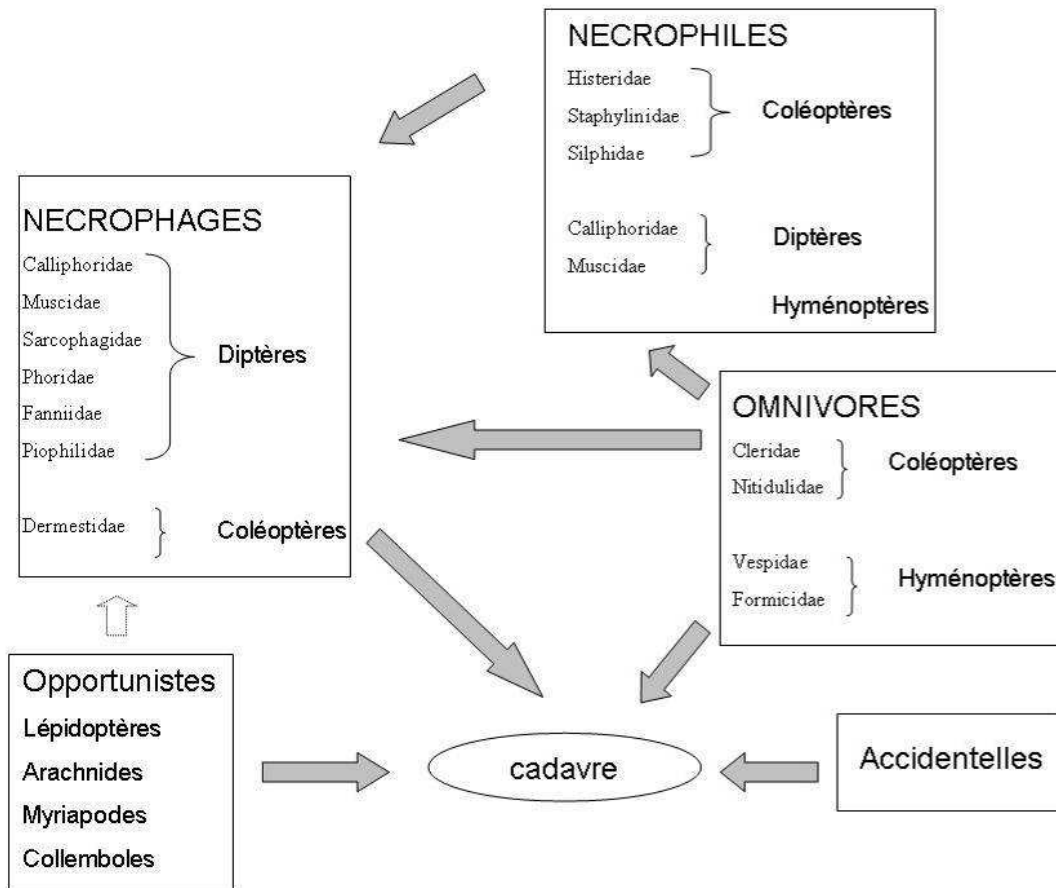


Figure 3. Schéma des relations trophiques liant les différents groupes écologiques présents sur un cadavre (adapté de Arnaldo et al., 2005).

### 1.3.1. Les espèces nécrophages

Les nécrophages sont directement attirés par le cadavre, ils se nourrissent aux dépens de l'organisme en décomposition et plus spécifiquement des liquides. On rencontre principalement des insectes appartenant aux ordres des Diptères et des Coléoptères [Leclercq, 1978 ; Campobasso *et al.*, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006].

### 1.3.2. Les espèces nécrophiles

Les espèces nécrophiles sont prédatrices ou parasites des larves et des pupes des nécrophages [Leclercq, 1978 ; Leclercq et Verstraeten, 1992]. On rencontre régulièrement des Coléoptères (*Silphidae*, *Histeridae*, *Staphylinidae*), des Diptères (*Calliphoridae* et *Stratiomyidae*) ainsi que des Hyménoptères [Campobasso *et al.*, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006]. Les larves de certains Diptères peuvent devenir prédatrices à partir d'un certain stade de développement. C'est le cas, par exemple, des larves de stade III appartenant au genre *Muscina* [Gaudry, 2002] et de certaines *Chrysomya*.

### **1.3.3. Les espèces omnivores**

Les principales espèces omnivores sont généralement des Hyménoptères (fourmis et guêpes) ainsi que des Coléoptères. Ces espèces se nourrissent aussi bien des insectes nécrophages et nécrophiles présents sur le cadavre que du corps en décomposition [Leclercq et Vestraeten, 1992 ; Campobasso *et al.*, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006]. Ces espèces omnivores arrivent pratiquement en même temps que les nécrophiles [Arnaldos *et al.*, 2005].

### **1.3.4. Les espèces opportunistes**

Les espèces opportunistes perçoivent la présence du cadavre comme une extension de leur habitat [Wyss et Cherix, 2006]. Ils utilisent le cadavre comme une annexe de leur biotope afin de s'abriter, se réchauffer, hiberner et parfois même pour se nourrir [Leclercq et Vestraeten, 1992]. Ils sont originaires de la végétation environnante ou de la pédofaune et peuvent exceptionnellement être prédateur des espèces nécrophages [Campobasso *et al.*, 2001]. On y dénombre des collemboles, des araignées, des mille-pattes, des Lépidoptères mais aussi des acariens qui se nourrissent des moisissures et champignons qui peuvent se développer sur le corps en décomposition [Campobasso *et al.*, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006].

### **1.3.5. Les espèces accidentelles**

La présence de certaines espèces sur le cadavre est parfois due au hasard [Arnaldos *et al.*, 2005].

Les insectes représentent la majorité des espèces nécrophages, deux ordres sont majoritairement attirés par les cadavres : les Diptères et les Coléoptères. Seuls les trois premiers groupes écologiques sont utiles en entomologie forensique, les deux derniers groupes étant présents de manière fortuite.

## **1.4. Les insectes nécrophages**

### **1.4.1. Les Diptères**

#### **1.4.1.1. Généralités**

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.

Les Diptères nécrophages appartiennent au sous-ordre des Brachycères (antennes courtes avec moins de 6 segments) et au groupe des Cyclorhaphes. Parmi les Diptères, seules les mouches ont aujourd'hui un intérêt en entomologie criminelle, les autres espèces n'étant présentes que fortuitement.

Les mouches nécrophages sont recensées dans plusieurs familles (26 familles sont fréquemment citées dans la littérature) mais seules six familles sont couramment rencontrées sur les cadavres humains et y effectuent leur cycle de développement. Il s'agit des Calliphoridae, des Sarcophagidae, des Fanniidae, des Muscidae, des Piophilidae et des Phoridae [Byrd et Castner, 2001, Wyss et Cherix, 2006].

#### 1.4.1.2. Biologie

Les Diptères sont des insectes à métamorphose complète (holométabole), la larve est très différente de l'insecte adulte. Les larves, de couleur blanchâtre, sont apodes (asticots) et n'ont pas de capsule céphalique visible. La larve va subir plusieurs mues avant d'entrer en nymphose (pupaison). La durée de développement de chaque stade est dépendante de la température (fonction linéaire) et est différente pour chaque espèce [Wyss et Cherix, 2006].

La plupart des espèces sont ovipares (exception faite des Sarcophagidae [Byrd et Castner, 2001]), en quelques heures, les œufs vont éclore et donner naissance à des larves ou asticots. Ces asticots vont passer par trois stades larvaires. Le troisième stade est le plus vorace, la masse larvaire est très active et dépouille le cadavre de ses chairs très rapidement [Haskell *et al.*, 1997]. Après s'être suffisamment alimentés, les asticots vont migrer et vont s'éloigner du corps pour effectuer leur métamorphose. Contrairement aux autres stades qui sont mobiles, ce dernier stade est statique (*puparium*) (Figure 4).

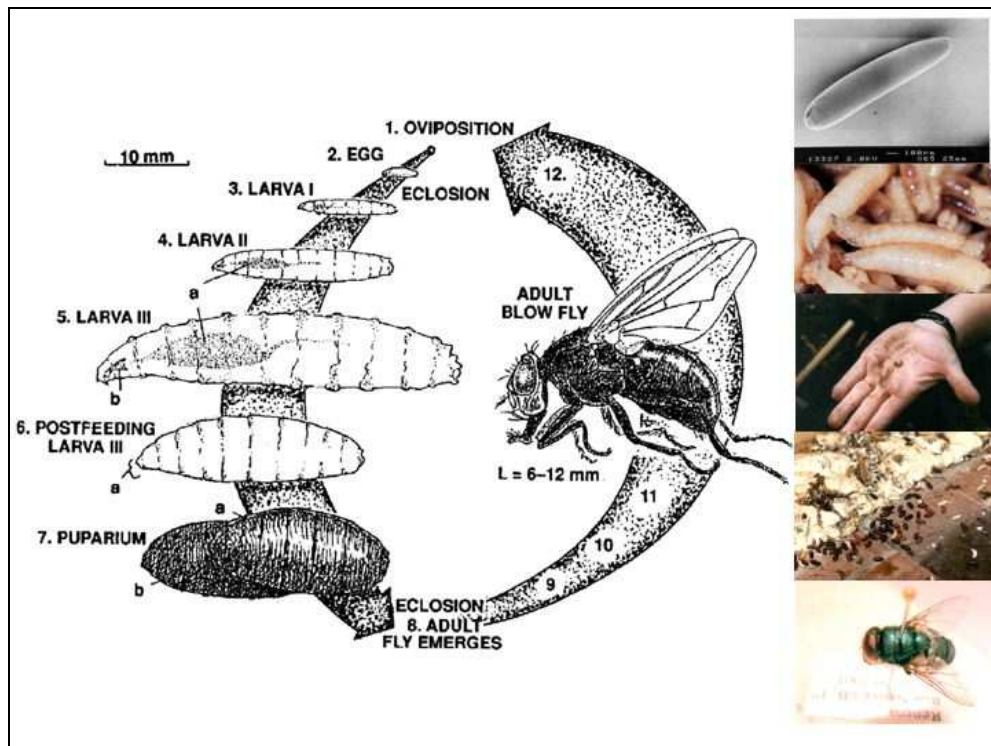


Figure 4. Cycle de développement des Calliphoridae (www.entomologieforensique.ch).

Au fur et à mesure que le temps passe, le *puparium* va se sclérifier et se mélaniser. Ce changement de couleur, plus ou moins marqué, est une des techniques utilisées pour dater l'âge des pupes [Haskell *et al.*, 1997].

#### **1.4.1.3. Les familles présentes sur les cadavres humains et/ ou animaux**

##### **a. *Calliphoridae* (1100 espèces mondiales dont 110 espèces européennes)- blow flies**

Les *Calliphoridae* sont des Diptères de taille moyenne (4 à 16 mm) avec des reflets métalliques bleus (*Calliphora spp.*), verts (*Lucilla spp.*), bronzes ou noirs [Chinery, 1988 ; Byrd et Castner, 2001].

Il s'agit d'une famille très importante en entomologie forensique. En effet ; les *Calliphoridae* arrivent très rapidement sur le cadavre (dans les minutes qui suivent le décès) pour autant qu'il soit accessible et que les conditions climatologiques leur soient propices.

L'arrivée de ces insectes sur le cadavre permet d'estimer un intervalle postmortem [Byrd et Castner, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006]. Elles ont généralement un comportement diurne (pontes en journée) et ne volent pas par temps pluvieux [Anderson, 2001].

##### **b. *Sarcophagidae* (2600 espèces mondiales dont 300 en Europe) – flesh flies**

Les *Sarcophagidae* sont des Diptères assez trapus de 2 à 22mm de longueur, celles-ci se reconnaissent aisément par la présence d'un motif à damier (bandes ou tâches grisées) sur le thorax et par l'absence de coloration métallique [Wyss et Cherix, 2006]. On retrouve des espèces de *Sarcophagidae* aussi bien au début du processus de décomposition du corps qu'aux stades plus avancés [Byrd et Castner, 2001]. Les adultes se retrouvent généralement sur les fleurs tandis que les larves se nourrissent de matières animales en décomposition ou d'excréments [Byrd et Castner, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006]

##### **c. *Muscidae* (4000 espèces dont 400 en Europe occidentale)- Muscid flies**

Les *Muscidae* sont une famille assez hétérogène, la taille peut fortement varier (2 à 18 mm), les mouches de cette famille sont généralement de couleur terne [Wyss et Cherix, 2006]. Beaucoup d'espèces de muscides sont ubiquistes et synanthropiques, on les retrouve souvent dans les habitations [Byrd et Castner, 2001].

##### **d. *Fanniidae* (270 espèces dont une centaine en Europe)**

Les *Fanniidae* sont des petites mouches (4 à 9mm) qui se rencontrent principalement dans l'hémisphère nord [Wyss et Cherix, 2006]. Elles sont généralement de couleur foncée

(noire ou grise) avec parfois des tâches jaunes sur l'abdomen [Wyss et Cherix, 2006]. On les rencontre préférentiellement dans les milieux boisés et sont plus rares en milieux ouverts [Wyss et Cherix, 2006].

**e. *Piophilidae* (75 espèces dont 25 en Europe) – Skipper flies**

Les *Piophilidae* sont des Diptères de petite taille (2,5 à 6 mm de longueur), de couleur sombre mate ou brillante [Wyss et Cherix, 2006]. Elles se retrouvent dans de nombreux microhabitats tels que les charognes, les déchets humains, les os, les peaux et les fourrures [Byrd et Castner, 2001].

**f. *Phoridae* (3000 espèces dont 600 en Europe) – Humpbacked flies or Scuttle flies**

Les *Phoridae* sont également des Diptères de petite taille (1,5 à 6mm de longueur) de couleur brune, noire ou jaunâtre [Wyss et Cherix, 2006]. Contrairement à beaucoup d'autres espèces de Diptères, les *Phoridae* sont capables de coloniser les corps inhumés [Bourel *et al.*, 2004]. Quatre espèces ont été observées sur des cadavres humains en Europe : *Conicera tibialis* SCHMITZ (« coffin fly »), *Triphleba hyalinata* MEIGEN, *Megaselia rufipes* MEIGEN et *M. scalaris* LOEW [Dewaele et Leclercq, 2002].

## **1.4.2. Les Coléoptères**

### **1.4.2.1. Généralités**

L'ordre des Coléoptères est l'ordre d'insectes le plus important en nombre d'espèces (avec environ 370 000 décrites au monde). L'utilisation des Coléoptères, en tant que bioindicateur en entomologie forensique, n'en est toutefois qu'à ses prémises. Cependant, lorsqu'une dépouille est à un stade de décomposition avancée et qu'il ne reste plus que des tissus squelettiques secs, l'utilisation de certains Coléoptères (*Dermestidae* et *Cleridae*) peut se révéler pertinente [Kulshrestha et Satpathy, 2001].

### **1.4.2.2. Biologie**

Les Coléoptères sont des insectes holométaboles. Les larves possèdent généralement trois paires de pattes et une capsule céphalique bien différenciée. Les Coléoptères ont un cycle de développement similaire à celui des Diptères mais ils ont plus de stades larvaires [Haskell *et al.*, 1997]. Les larves de Coléoptères présentent une large variété de morphologie (Figure 5). En outre, certaines espèces prennent soins de leur progéniture (*Silphidae*) [Devault *et al.*, 2003].





Figure 5. Morphologie des différentes larves de Coléoptères associées aux cadavres (Hall, 2001).

#### 1.4.2.3. Les familles présentes sur les organismes mammifères morts

Les Coléoptères nécrophores appartiennent aux familles des Dermestidae, Silphidae, Staphylinidae, Histeridae, Cleridae et Nitidulidae [Byrd et Castner, 2001, Wyss et Cherix, 2006].

##### *a. Dermestidae (1000 espèces dont un peu moins d'une centaine en Europe)- skin beetles*

Les Dermestidae sont de petite taille (2 à 12 mm) ; leur corps est arrondi, recouvert de poils ou d'écaillés de couleur variées et formant des dessins caractéristiques. Les espèces du genre *Dermestes* se retrouvent sur les cadavres lorsque les tissus sont desséchés mais peuvent également être présents plus tôt [Wyss et Cherix, 2006]. Ils se nourrissent de divers types de matière organique sèche.

##### *b. Silphidae (superfamille des Staphyloidea) (193 espèces dont 22 en Belgique [Hastir, 2002])- carrion beetles*

La famille des Silphidae regroupe des individus de taille moyenne à grande (10 à 35 mm) avec des antennes en massue et un sens de l'olfaction très développé [Chinery, 1988, Byrd and Castner, 2001]. En Europe occidentale, trois sous-familles de Silphidae existent : les Nicrophorinae, les Silphinae et les Agyrtinae [Hastir et Gaspar, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006].

Les Nicrophorinae sont des insectes de grande taille (généralement supérieure à 15mm) et de couleur noire avec des élytres généralement ornées de bandes ou de tâches orangées.

On les rencontre généralement seul ou en couple sur le cadavre. Ils ont un comportement « fouisseur », les petits cadavres (oiseaux, rongeurs, etc.) sont rapidement enfouis dans le sol, la femelle va creuser des galeries sous le corps afin d'y pondre et d'y entasser des débris putréfiés qui serviront à alimenter sa descendance. *Nicrophorus humator* OLIVIER (14 à 25mm) est une espèce que l'on rencontre fréquemment sur les cadavres de petits animaux, principalement en milieu forestier du printemps à l'été [Hastir et Gaspar, 2001].

Les Silphinae sont de taille moyenne à grande (habituellement inférieure à 20mm) avec une forme généralement aplatie et de couleur foncée. Leur comportement est très proche de celui des Nicrophorinae, à l'exception qu'ils n'enterrent pas les corps. *Silpha (Nicrodes) littoralis* L. (16 à 23mm) est une espèce que l'on retrouve sur les grandes charognes et parfois sous les amas d'algues en décomposition [Hastir et Gaspar, 2001 ].

La sous-famille des Agyrtinae rassemble des individus de plus petite taille et de couleur brune, leur éthologie est actuellement peu connue. Ils semblent se nourrir de cadavres et d'escargots [Hastir et Gaspar, 2001 ; Wyss et Cherix, 2006]. La seule espèce belge connue est *Agyrtes castaneus* F. et est carnassière [Hastir, 2002].

**c. *Staphylinidae* (superfamille des *Staphylinoidea*) (29 000 espèces dont 2000 en Europe)- rove beetles**

Les staphylins sont reconnaissables à leur morphologie, contrairement aux autres Coléoptères, 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 [Byrd et Castner, 2001]. On les rencontre souvent dans les matières en décomposition où ils chassent d'autres petits insectes [Byrd et Castner, 2001].

Sur les cadavres, ils sont généralement prédateurs des larves de Diptères nécrophages. Ils sont présents rapidement sur le corps et peuvent y rester tant qu'il y a une activité entomologique [Wyss et Cherix, 2006].

**d. *Histeridae* (3900 espèces dont 260 en Europe)- clown beetles**

Les Histeridae sont généralement assez petits (rarement plus de 10 mm) et de couleur noire avec un éclat brillant. Il s'agit d'une famille aux mœurs très diversifiées, 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 [Byrd and Castner, 2001, Wyss et Cherix, 2006].

**e. *Cleridae* (3400 espèces)- bone/ checkered beetles**

Les Cleridae sont des insectes de petite taille (3 à 12 mm) avec une pilosité assez marquée et des couleurs vives. Les larves et les adultes sont prédateurs des œufs et des larves de Diptères nécrophages. On peut les rencontrer sur les cadavres à différents stades de décomposition mais ils affectionnent plus particulièrement les stades avancés [Wyss et Cherix, 2006].

**f. Nitidulidae (3000 espèces dont 127 en Europe)- sap beetles**

Les Nitidulidae, insectes de petite taille (4 à 12 mm), ont généralement une forme ovale ou allongée [Byrd et Castner, 2001]. 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 [Wyss et Cherix, 2006].

**g. Geotrupidae (environ 40 espèces en Europe)-dung beetles**

La famille des Geotrupidae comporte des Coléoptères de taille moyenne à grande (18 à 25mm), de couleur foncée avec généralement des reflets métalliques. La plupart des géotrupes sont coprophages mais certaines espèces du genre *Geotrupes* semblent pouvoir se nourrir de cadavres humains [Wyss et Cherix, 2006].

## 2. Entomologie forensique

### 2.1. Introduction

L'entomologie forensique est un terme général qui reprend plusieurs disciplines de l'entomologie. On y inclut l'entomologie « urbaine », l'entomologie des produits stockés et enfin celle qui nous intéresse plus particulièrement, l'entomologie criminelle [Hall, 2001]. On définit l'entomologie forensique comme étant l'utilisation des insectes et d'autres arthropodes, tels que les Acariens, à des fins médico-légales [Hall, 2001]. L'entomologie criminelle revêt plusieurs vocables tels que l'entomologie (médico-) légale ou judiciaire. L'utilisation des insectes pour dater la mort et/ou aider à la résolution d'enquêtes criminelles n'est pas récente. Le premier cas d'entomologie criminelle recensé dans la littérature date du 13<sup>ème</sup> siècle où un enquêteur chinois (Sung Tz'u) a utilisé les insectes pour démasquer le coupable d'un meurtre à la faucille dans une rizière [Benecke, 2001].

L'entomologie criminelle ne se limite pas à estimer un intervalle postmortem (IPM)<sup>4</sup> en cas de mort suspecte. Les insectes peuvent également servir à déterminer les causes de la mort notamment en cas d'ingestion de drogues ou de substances toxiques, on parle d'entomotxicologie<sup>5</sup>. Dans de nombreux cas de négligences sur des personnes âgées ou sur des enfants en bas âge, les insectes peuvent révéler depuis quand une personne est délaissée [Benecke, 2004]. En effet, les Diptères nécrophages peuvent causer des myiases<sup>6</sup> (myiases des plaies ou traumatiques) [Wyss et Cherix, 2006]. Mais, ils peuvent également jouer un rôle bénéfique sur la santé humaine ; on utilise certaines espèces de Calliphoridae en « *maggot therapy* »<sup>7</sup> [Nigam *et al.*, 2006].

### 2.2. La décomposition d'un corps – thanatomorphose

Hormis la décomposition biologique du corps (champignons, bactéries, insectes) et sa destruction par les vertébrés (mammifères, oiseaux) [Marchenko, 2001], le corps subit une thanatomorphose<sup>8</sup>. Après la mort, les processus de décomposition s'enclenchent plus ou moins rapidement selon les conditions environnantes.

---

<sup>4</sup> **Intervalle postmortem (IPM)** : intervalle de temps entre le moment de la mort et la découverte du cadavre.

<sup>5</sup> **Entomotxicologie** : la recherche de drogues, médicaments, poisons, etc. dans les insectes qui colonisent les cadavres.

<sup>6</sup> **Myiases** : ensemble des désordres produits dans l'organisme d'un animal par une larve de Diptère [Wyss et cherix, 2006].

<sup>7</sup> **Maggot therapy** également appelée luciliathérapie, asticothérapie ou larvothérapie est l'emploi délibéré de la procréation naturelle de la mouche à des fins thérapeutiques [Guilhou *et al.*, 2004].

<sup>8</sup> **Thanatomorphose** : ensemble des modifications morphologiques postmortem subies par un corps.

La décomposition d'un corps comporte une série de processus dynamiques qui vont entraîner des changements physiques, chimiques et biologiques au niveau du cadavre [Anderson, 2001].

La destruction d'une dépouille est donc un phénomène complexe qui varie en fonction de l'organisme ou d'une partie de celui-ci et de l'environnement. Il s'agit souvent d'un phénomène asymétrique [Dix *et al.*, 2000 ; Campobasso *et al.*, 2001].

### **2.2.1. Les modifications post-mortem**

#### **2.2.1.1. Refroidissement du corps (*algor mortis*)**

Après la mort, la température du corps va s'équilibrer avec la température ambiante [Clark *et al.*, 1997]. Il s'agit généralement d'un refroidissement du corps. A l'opposé, en climat chaud, la température corporelle peut augmenter jusqu'à atteindre la température d'équilibre avec le milieu environnant [Ludes *et al.*, 2003]. Après le décès et l'arrêt des phénomènes d'homéothermie, le corps va progressivement perdre 1°C par heure jusqu'à ce que la température corporelle se situe à la température ambiante. Toutefois, selon l'endroit de la découverte du corps, on tient compte de facteurs correctifs relatifs à la réduction ou à l'accélération de ce refroidissement. Ces facteurs correctifs incluent notamment l'habillement du corps, la présence d'une circulation d'air ou d'eau (normogramme de Henssge) [Swift, 2006].

#### **2.2.1.2. Rigidité cadavérique (*rigor mortis*)**

La rigidité cadavérique est un phénomène de raidissement musculaire progressif qui débute entre la deuxième et la quatrième heure après le décès. Cet enraidissement est dû à la dégradation du glycogène et à l'accumulation d'acide lactique. Celui-ci est responsable de la contraction des liaisons actine-myosine des fibres musculaires [Swift, 2006]. La rigidité progresse de façon ordonnée, elle débute par les muscles faciaux, puis elle s'étend au reste du corps selon une marche descendante en contractant en dernier lieu les membres inférieurs [Gill-King, 1997, Ludes *et al.*, 2003]. Elle 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 des processus de putréfaction [Gill-King, 1997].

#### **2.2.1.3. Lividités cadavériques (*livor mortis*)**

Les lividités cadavériques correspondent à une coloration rouge à violacée de la peau. Celles-ci apparaissent sur les parties déclives du corps, à l'exception des parties sous pression (zones d'appuis).

L'accumulation du sang par gravité débute dès l'arrêt de la fonction hémodynamique mais, elles ne sont généralement perceptibles que deux à quatre heures après la mort [Swift, 2006]. Durant les quinze premières heures, elles sont mobiles, passé ce délai, elles deviennent fixes [Ludes *et al.*, 2003]. Contrairement à la rigidité cadavérique qui disparaît avec la putréfaction, les lividités ne disparaissent pas mais sont masquées par les changements de coloration du corps.

#### **2.2.1.4. Déshydratation**

La déshydratation marque rapidement tout le corps, on estime la perte de masse corporelle à environ un kilogramme par jour [Ludes *et al.*, 2003].

#### **2.2.1.5. Autolyse**

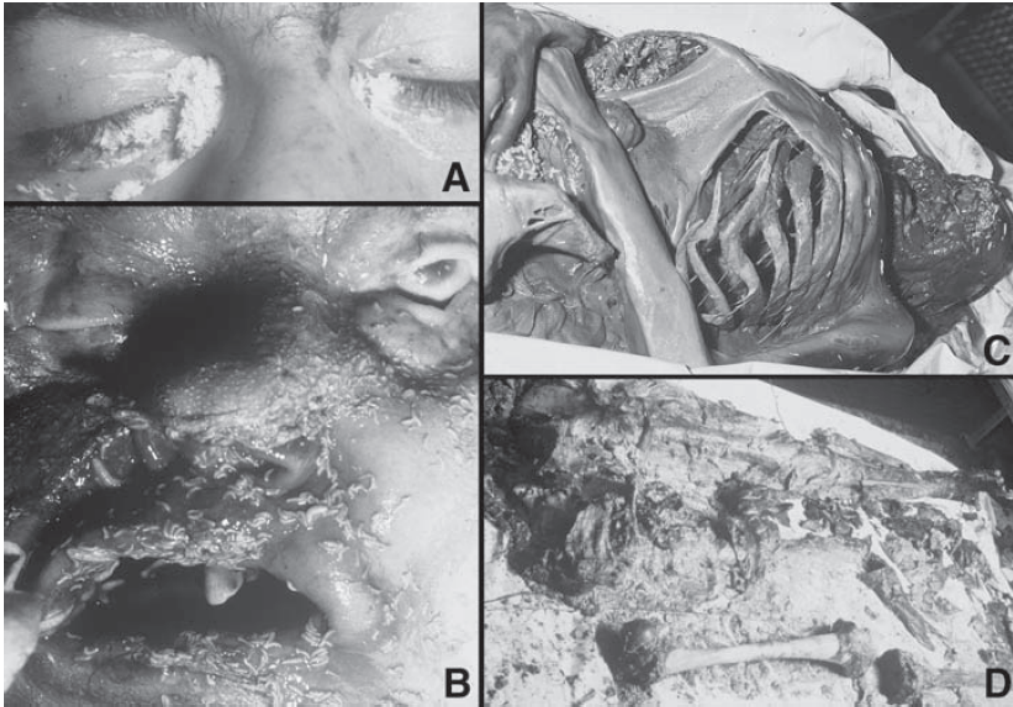
La première étape du processus de dégradation du corps est l'autolyse des cellules, cette autodestruction, sous l'action d'enzymes hydrolytiques, va peu à peu libérer les contenus cellulaires [Clark *et al.*, 1997]. Lorsque les cellules du corps sont privées d'oxygène, le pH intracellulaire diminue et enclenche l'autolyse [Vass, 2001].

Au niveau biochimique, il s'agit de transformations fermentatives qui vont dégrader les hydrates de carbone, les protides et dans une moindre mesure, les lipides [Leclercq, 1978 ; Clark *et al.*, 1997]. Ces processus autolytiques produisent de nombreux gaz tels que l'ammoniac, le sulfure d'hydrogène, le dioxyde de carbone et le diazote [Leclercq, 1978]. Cette autodigestion s'accélère sous l'action des micro-organismes que nous hébergeons (bactéries intestinales, pulmonaires et champignons saprophytes), c'est le début de la putréfaction [Leclercq, 1978, Gill-King, 1997].

#### **2.2.1.6. Putréfaction**

La putréfaction est la destruction des tissus mous du corps sous l'action de micro-organismes (bactéries, protozoaires et champignons) endogènes et exogènes [Leclercq, 1978, Vass, 2001].

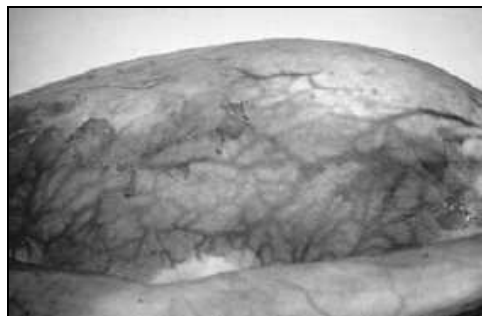
La putréfaction se manifeste par des changements de couleurs, d'odeurs et par le gonflement du corps (Figure 6) [Clark *et al.*, 1997].



**Figure 6. Stades de décomposition (A : pontes de Calliphoridae au niveau des yeux, B : larves de Diptère de stades I sur la face, C et D : *Advanced decay* (Benecke, 2004).**

Le premier signe visible de la putréfaction est l'apparition d'une tache verte abdominale au niveau de la fosse iliaque droite, celle-ci va progressivement s'étendre au reste de l'abdomen [Dix *et al.*, 2000 ; Vass, 2001].

Le métabolisme bactérien et l'autolyse conduisent à la production de nombreux gaz qui vont s'accumuler dans le corps et provoquer son gonflement (*bloating*) (Figure 7) [Dix *et al.*, 2000 ; Amendt *et al.*, 2004]. Le sang se dégrade (hémolyse) et les vaisseaux sanguins forment un dessin visible à la surface du corps (*marbling*) (Figure 7).



**Figure 7. Gonflement du corps (*bloating*) et *marbling* (Dix et Graham, 2000).**

Des boursouflures (phlyctènes) peuvent également se former sous la peau et des décollements des couches supérieures de l'épiderme peuvent apparaître (*skin slipping*).

Sous la pression des gaz, les fluides sanguins et autres « jus d'autolyse » peuvent s'écouler des orifices naturels, plus particulièrement du nez et de la bouche (*purging*).

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 [Dix *et al.*, 2000].

La plupart des cadavres vont se putréfier, cependant sous certaines conditions environnementales, la putréfaction n'a pas lieu et fait place à d'autres mécanismes. La momification du corps (Figure 8B) et la formation d'adipocire<sup>9</sup> (Figure 8A) sont deux alternatives aux processus de putréfaction « classique » [Campobasso *et al.*, 2001].

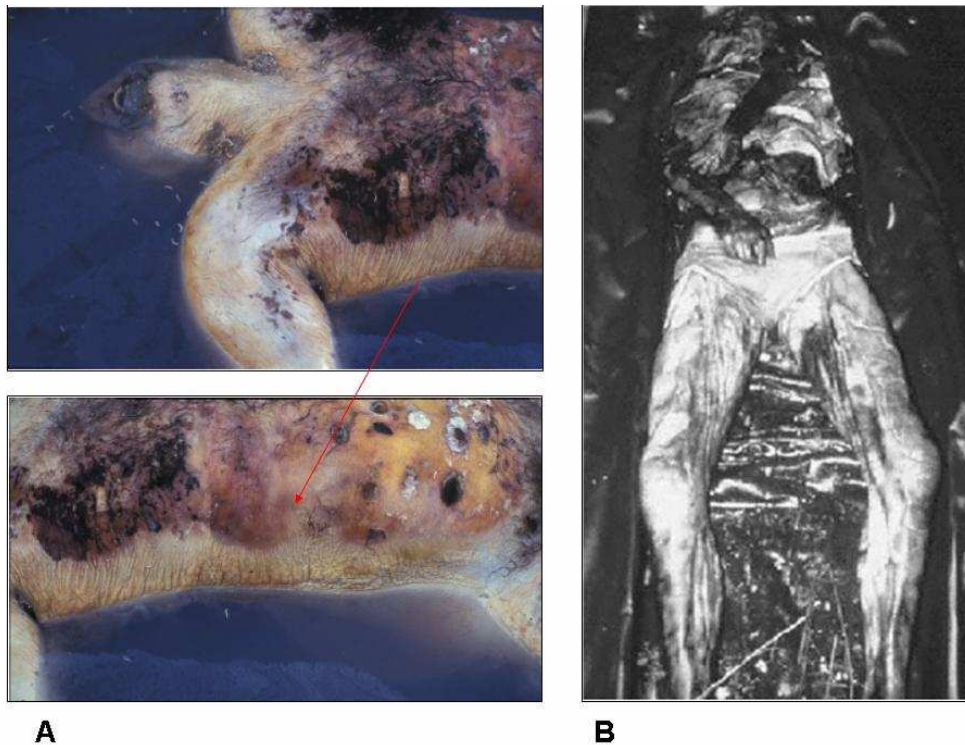


Figure 8. A : formation d'adipocire (O'Brien, 2007), B : momification du corps (Dix et Graham, 2000).

#### 2.2.1.7. Squelettisation

Après la putréfaction, les chairs et organes mous ont disparu, seuls subsistent les os, les cartilages, les phanères et des fragments de peau. Le processus de squelettisation peut être complet ou partiel, dans ce cas, seule une partie des os est exposée [Dent *et al.*, 2004].

#### 2.2.2. La décomposition des macromolécules biologiques

Les macromolécules biologiques telles que les protéines, les acides nucléiques, les hydrates de carbone et les lipides libèrent leurs constituants (C, H, O, N, P et S) [Statheropoulos *et al.*, 2005]. La dégradation des hydrates de carbone fournit principalement des composés oxygénés : alcools, aldéhydes, cétones, acides, esters et éthers.

<sup>9</sup> **Adipocire** : Savon ammoniacal résultant de l'altération des lipides au cours de la décomposition cadavérique (gras des cadavres), souvent observé au cours des submersions prolongées ou après inhumation dans une terre humide et froide [answers.com]



Les protéines fournissent des composés azotés et phosphorés tandis que les lipides libèrent des hydrocarbures, des composés azotés, phosphorés et oxygénés [Statheropoulos *et al.*, 2005].

### **2.2.3. Classification des stades de décomposition**

Le processus de décomposition d'un corps peut être divisé en plusieurs stades ou phases. Cependant ces phases de dégradation du corps doivent être interprétées comme étant une séquence de phénomènes qui se superposent et se combinent et non comme étant des stades clairement identifiables les uns des autres. En effet, il n'y a pas de distinction précise entre la fin d'un stade et le début du suivant [Campobasso *et al.*, 2001]. On distingue généralement cinq stades de décomposition [Galloway, 1997] :

- stade initial (*fresh*)
- décomposition active- gonflement (*active decay- bloating*)
- décomposition avancée (*advanced decay*)
- squelettisation (*skeletonization*)
- dégradation des matières osseuses (*diagenesis*)

Ces stades de décomposition forment une séquence temporelle, mais du fait de la variabilité des conditions environnementales, des variations interindividuelles et des causes de décès, il n'est pas possible d'assigner un temps absolu à chaque stade [Clark *et al.*, 1997]. Un cadavre peut très rapidement arriver au stade de squelettisation (en trois jours) ou au contraire mettre des millénaires (corps emprisonné dans les glaces) [Clark *et al.*, 1997].

### **2.2.4. Paramètres influençant la décomposition d'un corps**

La décomposition d'un corps et sa colonisation par les insectes sont deux phénomènes intimement liés et sont influencés par de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques au cadavre [Campobasso *et al.*, 2001].

Les facteurs intrinsèques, directement liés à la personne décédée, sont l'âge, la masse corporelle, la cause du décès (drogues, infection), l'hygiène corporelle, l'intégrité du corps (blessures, plaies) et la présence de vêtements [Campobasso *et al.*, 2001]. Parmi les facteurs externes, le facteur le plus important est la zone biogéoclimatique incluant l'habitat, la végétation, le type de sol et les conditions météorologiques (température, vent, humidité atmosphérique) du lieu où se situe la dépouille [Anderson, 2001 ; Campobasso *et al.*, 2001].

D'autres paramètres ont une influence significative sur la vitesse de décomposition d'un corps ; on peut citer la saison, l'emplacement du corps (ombragé vs. ensoleillé) et enfin

l'accessibilité du corps aux organismes vivants qu'ils soient mammifères (animaux domestiques ou sauvages) ou insectes [Anderson, 2001 ; Campobasso *et al.*, 2001].

De plus, les processus de décomposition et la faune des cadavres varient fortement en fonction du lieu où se trouve le cadavre. Les corps enterrés ou submergés subiront des évolutions différentes des corps laissés à l'air libre [Anderson, 2001].

Parmi tous ces facteurs, deux sont prépondérants dans la décomposition d'un corps, il s'agit de la température ambiante et de l'accessibilité du corps aux insectes [Campobasso *et al.*, 2001].

### **2.3. La colonisation du corps par les arthropodes – attractivité du corps**

Les insectes sont généralement les premiers organismes à arriver sur le corps peu après la mort et le colonisent selon une séquence plus ou moins prédictible [Smith, 1986, Anderson, 2001]. La décomposition du corps va entraîner des changements biochimiques importants, celui-ci va émettre des odeurs plus attractives pour certaines espèces et d'autres moins attractives [Anderson, 2001].

#### **2.3.1. Paramètres influençant la colonisation entomologique du corps**

La colonisation d'une dépouille par les insectes peut être favorisée ou au contraire entravée par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques [Wells et Lamotte, 1997].

Outre l'accessibilité du corps, la saison et les conditions météorologiques vont fortement influencer le développement et la succession des insectes sur le corps [Campobasso *et al.*, 2001]. La zone biogéoclimatique et la localisation du corps (zone rurale vs zone urbaine) détermine les espèces entomologiques qu'il est théoriquement possible de retrouver sur une dépouille. La présence de toxiques sur ou à l'intérieur du corps peut limiter son attractivité pour les insectes nécrophages et peut également interférer avec leur croissance [Wells et Lamotte, 1997]. Le type d'organisme mort qui va servir de substrat nourricier (mammifère, oiseaux) influence également la guildes des insectes nécrophores [Amendt *et al.*, 2004].

#### **2.3.2. La colonisation par les Diptères nécrophages**

Les Diptères nécrophages sont très rapidement attirés sur le corps, parfois quelques minutes seulement après le décès (ou même avant celui-ci). Les Calliphoridae sont les premières à arriver, suivies de près par les Sarcophagidae [Smith, 1986 ; Anderson, 2001]. Les Calliphoridae pondent à proximité des orifices naturels (nez, bouche, anus, organes génitaux) ou des plaies. En effet, les larves du premier stade ont besoin d'un substrat protéique liquide pour se nourrir et sont incapables de percer la peau.

Les larves de deuxième stade sont munies de crochets buccaux et peuvent sécréter des enzymes protéolytiques leur permettant de perforer la peau (trous circulaires) et de progresser dans la colonisation du corps. Le troisième stade est le plus actif et se nourrit abondamment des tissus en décomposition. Après le stade III, les larves vont cesser de s'alimenter et migrer en vue de leur métamorphose. Les larves peuvent se disperser à plusieurs mètres du corps et vont soit s'enfoncer dans le sol (milieu naturel) soit se dissimuler dans les vêtements, tapis, literies, sous les meubles, etc. (habitation) [Wyss et Cherix, 2006].

### 2.3.3. Les escouades successives d'insectes

Les odeurs émises par le cadavre au cours de sa dégradation attirent sélectivement les nécrophages. Le substrat va évoluer, repoussant certaines espèces et attirant de nouvelles [Leclercq, 1978] (Figure 9).

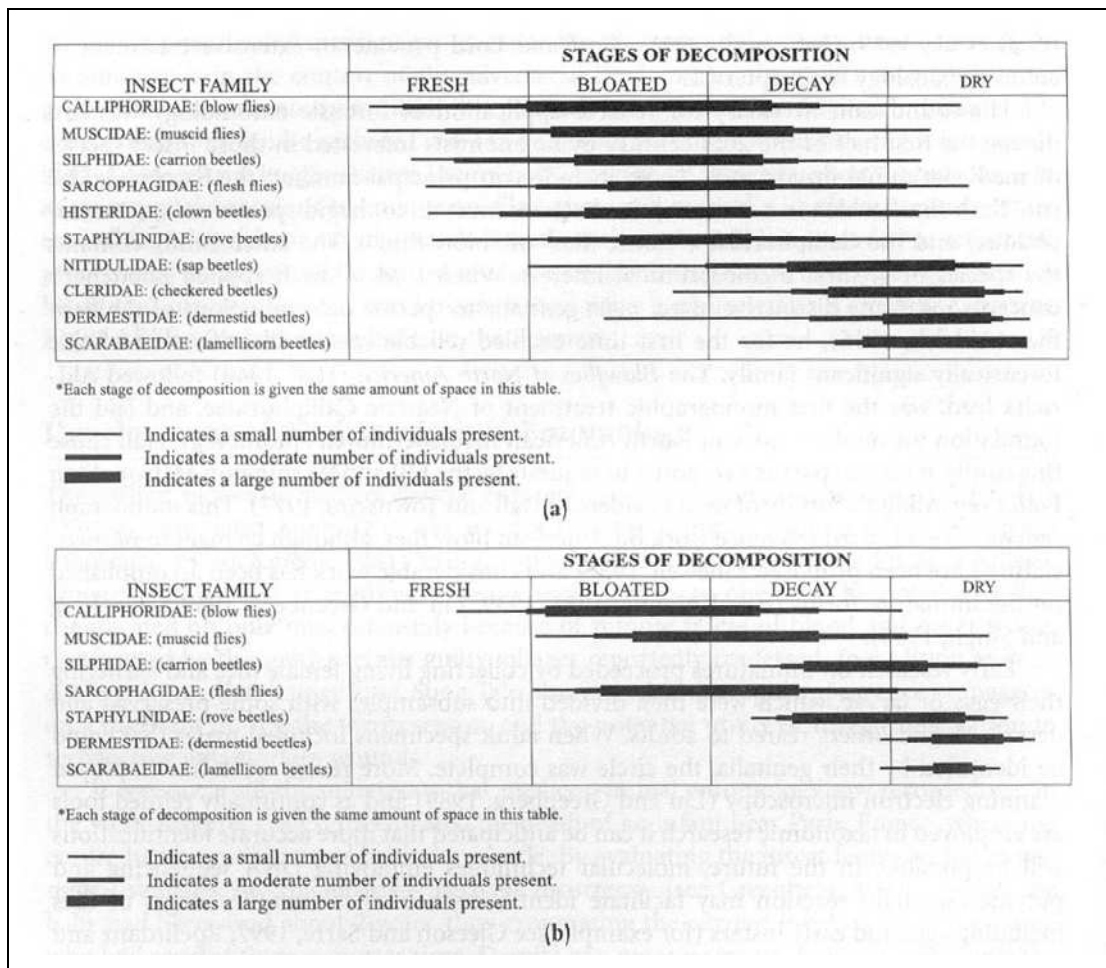


Figure 9. Succession des stades adultes (a) et juvéniles (b) d'insectes nécrophages sur un cadavre humain dans l'Est du Tennessee (Byrd et Castener, 2001).

C'est aux travaux de Mégnin (« La faune des cadavres »), en 1894, que l'on doit la schématisation de la colonisation du cadavre en huit vagues successives d'arthropodes nécrophages. Cette théorie associe à chaque stade de décomposition du corps une espèce ou un groupe d'espèces d'arthropodes [Campobasso *et al.*, 2001].

La description des huit escouades de Mégnin revue par M. Leclercq [Leclercq, 1978, Wyss et Cherix, 2006] :

**Première escouade** : elle apparaît immédiatement après la mort sur le cadavre frais alors qu'aucune odeur n'est encore perceptible. Il s'agit surtout de *Calliphoridae* avec les genres *Calliphora* (*Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, *Calliphora vomitoria* L.), *Protophormia* (*Protophormia terraenovae* Robineau-Desvoidy), *Lucilia* et de *Muscidae* représentées par les genres *Musca* (*Musca domestica* L.) et *Muscina* (*Muscina stabulans* Fall.).

**Deuxième escouade** : elle fait son apparition dès que l'odeur cadavérique se fait sentir (entre 48 et 72 heures). Ce sont principalement des *Sarcophagidae* et des *Calliphoridae* (genres *Lucilia*, *Cynomya*, *Chrysomya*).

**Troisième escouade** : elle arrive sur le cadavre au moment du rancissement des graisses (fermentation butyrique) qui dégage des acides gras volatiles dont l'acide butyrique. On retrouve cette vague d'insectes au bout de quelques mois (3 à 6 mois) sur le cadavre. Les Coléoptères font leur apparition, surtout des *Dermestes*, et des Lépidoptères du genre *Aglossa*.

**Quatrième escouade** : elle colonise le substrat au moment de la fermentation des matières protéiques (fermentation caséique), elle est présente de 4 à 8 mois sur le corps. On rencontre des Diptères (*Piophilidae*, *Fanniidae*) et des Coléoptères appartenant à la famille des *Cleridae* (genre *Necrobia*). Cette escouade correspond également à l'écoulement des liquides putrides qui attirent des *Drosophilidae*, des *Sepsidae* et des *Bordoridae*.

**Cinquième escouade** : elle apparaît lorsque le cadavre est au stade de la fermentation ammoniacale. Les liquides putrides s'évaporent et d'autres Diptères font leur apparition (*Phoridae*, *Muscidae* avec le genre *Ophyra*). De nombreux *Silphidae* sont présents (les genres *Necrophorus*, *Necrodes*, *Silpha*) ainsi que des *Histeridae* et des *Nitidulidae*.

**Sixième escouade** : elle va achever d'absorber tous les liquides dont le cadavre reste imprégné et contribuer à sa dessiccation. Cette escouade est constituée de nombreux acariens et est présente de 5 à 10 mois sur la dépouille.

**Septième escouade** : elle fait son apparition sur le cadavre lorsque celui-ci est complètement desséché (à partir de 8 mois). On rencontre de nombreux Dermestes et des Lépidoptères (*Aglossa* et *Tineola*) qui se nourrissent de matières animales sèches (fourrure, laine, *etc.*)

**Huitième escouade** : lorsque la mort est ancienne (de 1 à 3 ans), elle vient nettoyer les débris organiques laissés par les escouades précédentes. Il s'agit essentiellement de petits Coléoptères appartenant aux familles des Tenebrionidae (genre *Tenebrio*) et des *Ptinidae* (genre *Ptinus*).

D'autres scientifiques ont modélisé l'arrivée des insectes sur le cadavre et ont dénombré moins d'escouades que Mégnin. Par exemple, en Italie Porta (1929) dénombre cinq escouades tandis que Fuller (1934), un australien, en dénombre trois [Leclercq, 1978].

L'extrême variabilité des processus biochimiques qui régissent la décomposition d'un corps empêche d'observer les escouades décrites par Mégnin comme une hypothèse strictement reproductible en toutes circonstances [Leclercq, 1978 ; Wyss et Cherix, 2006].. En effet, le nombre d'escouades, leur succession et leur composition spécifique est fortement remis en question par de nombreuses études entomologiques de terrain concernant la colonisation des cadavres par les insectes. Certaines escouades peuvent coexister, se chevaucher, d'autres peuvent être absentes, mais le plus souvent, elles ne suivent pas l'ordre chronologique établi dans la théorie des escouades. Des espèces réputées appartenir aux 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> escouades peuvent se retrouver très tôt sur le cadavre [Wyss et Cherix, 2006].

## 2.4. Datation de la mort

Lorsqu'un corps sans vie est découvert, une des premières énigmes à résoudre, outre la cause de la mort, est la date du décès. Passé un certain délai, les méthodes médicales ne sont plus fiables et seuls les insectes peuvent aider à déterminer la date du décès [Benecke, 2004]. L'intervalle post-mortem (IPM) désigne le laps de temps entre la découverte du corps et la date du décès (Figure 10).

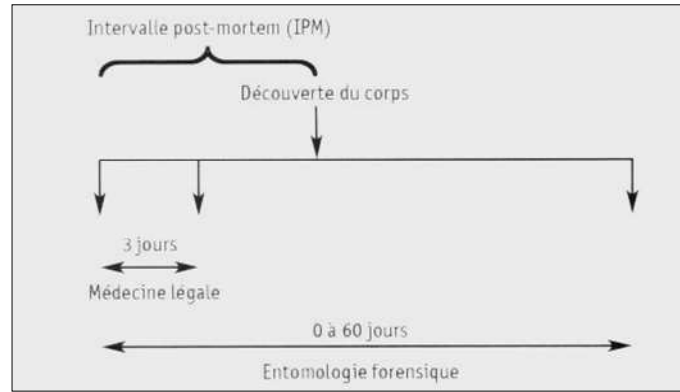


Figure 10. Datation d'un cadavre (IPM) en médecine légale et en entomologie forensique (Wyss et Cherix, 2006).

Cet IPM peut être très court, le corps est découvert rapidement après la mort, ou au contraire très long. Lorsque la mort remonte à plus 72h (mort « ancienne ») ou que des signes de putréfaction avancée sont visibles, les méthodes médicales classiques (méthodes thermométriques, rigidité et lividités cadavériques et les méthodes biochimiques) ne sont plus applicables. La présence et l'identification des insectes présents sur le corps, et de façon plus large sur la scène du décès, permettent d'estimer l'IPM avec un certain intervalle de confiance.

#### 2.4.1. Les méthodes entomologiques

Dans la littérature, on parle souvent de deux méthodes pour déterminer un IPM en utilisant les insectes comme bioindicateurs [Swift, 2006 ; Wyss et Cherix, 2006].

La première méthode se base sur le cycle de développement des Diptères nécrophages (presque uniquement des Calliphoridae). Pour être correcte, cette méthode doit tenir compte de nombreux facteurs tels que l'accessibilité du corps aux insectes dès le décès et des conditions climatiques favorables à l'activité des mouches. En effet, on part du postulat que si les mouches ont accès au substrat, le jour des premières pontes correspond au jour du décès.

La deuxième méthode utilise les escouades pour déterminer l'IPM, selon Wyss et Cherix, cette méthode n'est pas pertinente et est peu fiable [Wyss et Cherix, 2006]. En effet, la succession chronologique des espèces sur un cadavre n'est pas immuable. Le taux de décomposition du corps est variable de même que le cycle de développement de l'insecte, tout deux fortement influencés par les conditions climatiques locales.

L'utilisation de la première méthode, accumulation des degrés jours (ADJ) ou degrés heures (ADH) pour achever son cycle de développement, est recommandée par les experts pour fournir une estimation aussi précise que possible de l'IPM [Haskell *et al.*, 1997 ; Wyss et Cherix, 2006]. Il existe des tables (ou index) publiées concernant les vitesses de développement de la plupart des Diptères d'importance forensique [Marchenko, 1988 ; Marchenko 2001]. Mais compte tenu des variations qui peuvent exister entre les populations d'une même espèce, il peut être opportun d'établir ses propres tables en fonction des températures régionales les plus représentatives [Wyss et Cherix, 2006]. Une étude [Karapetian, 2003], adaptée à la Belgique, a été réalisée afin d'évaluer la pertinence des tables de Marchenko pour deux espèces de Diptères (*Calliphora vicina* et *Lucilia sericata*) et ce afin de déterminer la date de décès.

### **3. Prélèvements des Composés Organiques Volatils**

#### **3.1. Introduction**

Les composés organiques volatils ou VOCs sont un sujet d'intérêt pour de nombreuses disciplines [Dewulf et Van Langenhove, 2002]. On peut citer le domaine de l'agroalimentaire avec le monde des arômes et autres saveurs ainsi que le domaine de l'écologie chimique et plus particulièrement celui des molécules volatiles émises par les végétaux et les insectes. La perception des odeurs est un sens très développé chez les insectes. Les chémiochimiques leur permettent de communiquer et de percevoir leur environnement [Arnaud *et al.*, 2003].

Cependant, le domaine qui les a le plus étudiés et dont la plupart des techniques de prélèvements de COVs sont issues est celui de recherche environnementale et plus particulièrement le domaine ayant trait à la qualité de l'air.

Très peu de prélèvements d'odeurs ont été effectués dans le domaine des sciences forensiques.

#### **3.2. Prélèvements d'odeur et extraction des composés organiques volatils**

Les odeurs sont constituées d'un ensemble de molécules volatiles qu'il faut pouvoir prélever, identifier et quantifier. On peut prélever les odeurs en conditions normalisées (laboratoire) ou *in situ*.

##### **3.2.1. Extraction par solvant des composés organiques volatils**

Avant l'apparition de méthodes d'extractions spécifiques aux molécules volatiles, on utilisait les méthodes d'extraction des composés semi-volatils et non volatils telles que l'extraction par solvant [Millar et Sims, 1998]. L'extraction par solvant est utilisée lorsque l'on souhaite extraire des petites quantités de chémiochimiques produites par un organisme (végétal, animal) ou par une glande spécialisée. [Streblor, 1989 ; Jones et Oldham, 1999].

##### **3.2.2. Prélèvements et extraction des composés volatiles organiques (VOCs)**

Actuellement, les odeurs émises par un organisme sont « piégées » selon deux techniques de prélèvements. On distingue les échantillonnages dynamiques des échantillonnages statiques ou passifs sur base de la mise en mouvement de l'air autour de la source d'émission de molécules volatiles. Contrairement aux méthodes passives, les techniques dynamiques requièrent des dispositifs actifs tels que des pompes pour faire circuler le flux d'air et des débitmètres [Namiesnik *et al.*, 2004].



### **3.2.2.1. Les matériaux adsorbants utilisés pour le prélèvement des COVs**

On peut regrouper les adsorbants en quatre familles de support [Lhuillier *et al.*, 2000] :

- Les **adsorbants minéraux** : tamis moléculaires (alumino-silicates métalliques synthétiques) et terres de diatomées (silice).
- Les **carbones graphités** tels que les Carbograph®, les Carbotrap® et les Carbopack®.
- Les **tamis moléculaires carbonés** obtenus par carbonisation contrôlée de polymères organiques de synthèse tels que les Carbosieves® et les Carboxen®.
- Les **polymères poreux** : Les Tenax®, les Porapak® et les Chromosorb®.

### **3.2.2.2. Echantillonnage statique**

Les molécules volatiles sont piégées sur un matériau adsorbant ou directement prélevées dans l'espace de tête sans mise en mouvement de l'air.

#### **a. Prélèvement direct dans l'espace de tête**

Le prélèvement direct dans l'espace de tête est réalisé à l'aide d'une seringue qui prélève une petite quantité de gaz (100 à 1000 µl ou plus) [Millar et Sims, 1998]. Le contenu gazeux est directement introduit dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse [Millar et Sims, 1998 ; Tholl *et al.*, 2006]. Cette méthode est valable pour des composés qui ont une concentration et une pression de vapeur suffisantes afin d'obtenir des quantités de l'ordre du nanogramme injectable dans la colonne du chromatographe [Millar et Sims, 1998].

#### **b. Microextraction sur phase solide (SPME)**

La microextraction en phase solide est une technique qui permet l'extraction de molécules organiques volatiles ou semi-volatiles sans utiliser de solvant [Supelco, 1998, Burgot et Pellerin, TI 2003]. Les molécules volatiles sont piégées sur une fibre de silice recouverte d'une phase adsorbante de type polymérique. [Millar et Sims, 1998 ; Burgot et Pellerin, 2003]. La fibre de silice est fixée à une tige d'acier inoxydable qui coulisse à l'intérieur d'une seringue [Supelco, 1998]. L'extraction s'effectue en perçant le septum de l'enceinte d'échantillonnage et en exposant la fibre dans l'espace de tête ou dans le liquide pendant un temps de prélèvement déterminé (de 2 à 90 minutes) [Supelco, 1998]. A la fin de l'échantillonnage, la fibre est rétractée dans le corps de l'aiguille et est transférée dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse. Les composés piégés sont directement thermodésorbés dans le chromatographe [Millar et Sims, 1998 ; Tholl *et al.*, 2006].

**c. Extraction sur barreau (SBSE – *Stir Bar Sorptive Extraction*)**

La microextraction sur barreau aimanté est une technique proche de la SPME mais est beaucoup plus sensible que cette dernière. Il s'agit d'un barreau aimanté recouvert d'une phase adsorbante du même type que celles utilisées en SPME, par exemple le polydiméthylsiloxyane ou PDMS [Tholl et al, 2006]. La technique a été développée dans le but d'extraire des composés organiques présents dans des échantillons aqueux [Baltussen *et al.*, 1999] mais elle est également utilisée pour effectuer des piégeage de VOCs dans l'espace de tête de végétaux [Tholl *et al.*, 2006]. Les volatiles piégés sont thermodésorbés dans l'injecteur d'un GC [Tholl *et al.*, 2006].

**d. Échantillonneurs passifs (*passive dosimetry*)**

Il existe de nombreux types d'échantillonneurs passifs, les deux géométries principales sont soit cylindriques (tubes) soit rectangulaires (badges) [Namiesnik *et al.*, 2004]. Dans la plupart des échantillonneurs passifs, le parcours diffusif est axial, il existe cependant des capteurs dont la géométrie est radiale [Cocheo *et al.*, 1996]. C'est le cas du tube Radiello® qui a été mis au point et breveté par la Fondazione Salvatore Maugeri de Padoue, en Italie.

La diffusion se fait parallèlement au rayon du cylindre sur toute la longueur du tube (Figure 11).

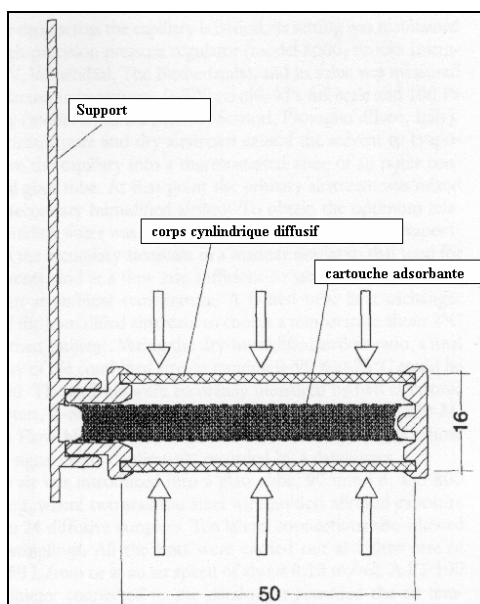


Figure 11. Géométrie du tube Radiello (adapté de Cocheo *et al.*, 1996).

L'échantillonneur passif Radiello® se compose d'un corps cylindrique microporeux en polyéthylène (membrane diffusive) au sein duquel est insérée une cartouche adsorbante et d'une plaque de support en polycarbonate munie d'une attache métallique [Cocheo *et al.*, 1996].

Le principe de l'échantillonneur passif est basé sur la diffusion des molécules volatiles dans l'air ambiant, celles-ci vont se fixer sur un support adsorbant (loi de Fick) [Cocheo *et al.*, 1996 ; Varshney et Singh, 2003].

### 3.2.2.3. Echantillonnage dynamique

Les méthodes dynamiques se basent sur la mise en mouvement de l'air contenu dans l'espace de tête de l'organisme étudié. Un système de filtrage de l'air va permettre de piéger les molécules volatiles sur un adsorbant (Charbon actif, Tenax, PDMS, etc) [Millar et Sims, 1998 ; Jones et Oldham, 1999]. Les prélèvements peuvent se faire en enceinte close, semi- ouverte ou ouverte [Tholl *et al.*, 2006]. Les composés organiques volatils piégés seront désorbés soit par solvant (élution avec un solvant pur ou un mélange de solvants organiques) soit par thermodésorption [Millar et Sims, 1998 ; Tholl *et al.*, 2006].

#### a. Système prélevant les composés volatils en circuit fermé (*closed-loop stripping system*)

Dans les systèmes de prélèvements en circuit fermé, il n'y a pas d'échanges de flux gazeux entre le milieu extérieur et l'enceinte de collecte des volatiles [Tholl *et al.*, 2006]. L'air contenu dans la chambre de prélèvement est continuellement mis en mouvement au moyen d'une pompe ; les molécules volatiles contenues dans l'air sont piégées sur un matériau adsorbant [Jones et Oldham, 1999].

Cette technique a été utilisée pour étudier le métabolisme de certains végétaux et l'émission de phéromones [Millar et Sims, 1998], elle est adaptée aux organismes qui émettent de faibles quantités de COVs. Contrairement aux systèmes ouverts, cette technique permet de limiter le piégeage des contaminants atmosphériques [Tholl *et al.*, 2006].

#### b. Systèmes prélevant les volatiles en circuit semi- ouvert (« *push-pull* » *system*) ou ouvert (« *pull* » *system*)

Ces systèmes font intervenir des flux d'air entre le milieu extérieur et le système de prélèvement.

Dans un système de collecte des molécules volatiles ouvert, l'air ambiant qui entre dans l'enceinte est aspiré par une pompe à vide [Tholl *et al.*, 2006]. Cette pompe est connectée à un adsorbant qui va piéger les volatiles contenus dans le flux d'air avant que celui-ci ne quitte l'enceinte d'échantillonnage. Le flux d'air qui entre dans le système n'est pas purifié, contrairement aux systèmes de collectes semi- ouvert ou le flux entrant est au préalable filtré [Tholl *et al.*, 2006].

Le système de prélèvement « pull » se compose d'une enceinte ouverte (englobant tout ou une partie de l'organisme étudié), d'un adsorbant, d'un débitmètre et d'une pompe à vide (Figure 12 a et b). Le système « push – pull » est identique au système « pull » mis à part l'existence d'un système de filtration de l'air entrant qui se compose d'un filtre (charbon actif) et d'un débitmètre (Figure 12 c et d) [Tholl *et al.*, 2006]. Cette technique d'échantillonnage est adaptée aux organismes qui émettent de grande quantité de composés organiques volatils [Tholl *et al.*, 2006].

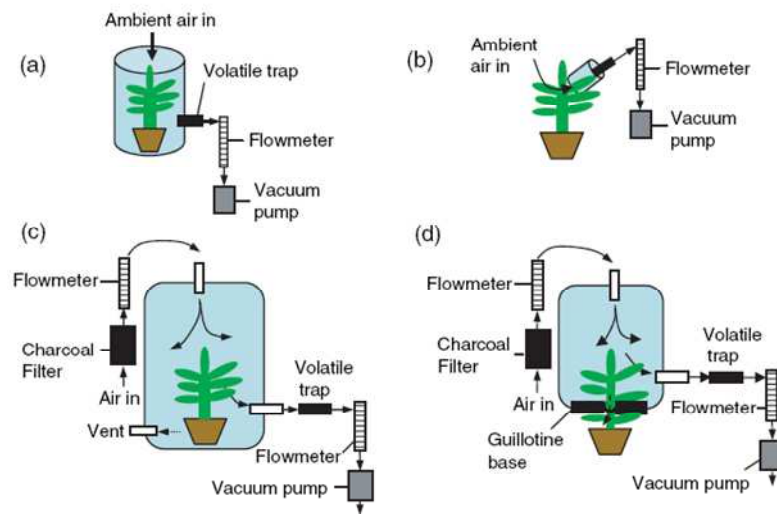


Figure 12. Exemple de collecte dynamique des COVs (a et b: systèmes « pull », c et d : systèmes « push-pull » (Tholl *et al.*, 2006).

### 3.3. Méthodes de séparation et d'identification des composés volatils

Les molécules piégées doivent être identifiées, la chromatographie en phase gazeuse est une méthode couramment utilisée pour analyser des composés volatils ou semi-volatils [Heath et Dueben, 1998].

#### 3.3.1. Méthodes chromatographiques

##### 3.3.1.1. Généralités

La chromatographie est une méthode séparative performante qui se prête bien à l'identification des mélanges complexes. Le chromatographe est couplé à un système d'injection des échantillons à analyser et à un système de détection en continu couramment de type FID ou MS. Le résultat de l'analyse est présenté sous la forme d'un chromatogramme [Caude et Jardy, 1996].

Les séparations sont basées sur la distribution des solutés entre une phase fixe dite stationnaire et une phase en mouvement dite mobile (un gaz vecteur en chromatographie gazeuse), celle-ci percolera à travers la colonne [Caude et Jardy, 1996].

### 3.3.1.2. La chromatographie en phase gazeuse (GC/ CPG)

La GC capillaire permet de séparer des centaines de composés contenus dans une solution lors d'un seul passage [Heath et Dueben, 1998].

Les composants essentiels du chromatographe gazeux consistent en un flux d'air contrôlé, d'un port d'injection, d'un four à température programmable, d'une colonne (capillaire) contenant la phase stationnaire et d'un détecteur, le plus courant étant le détecteur à ionisation de flamme (FID) (Figure 13) [Heath et Dueben, 1998].

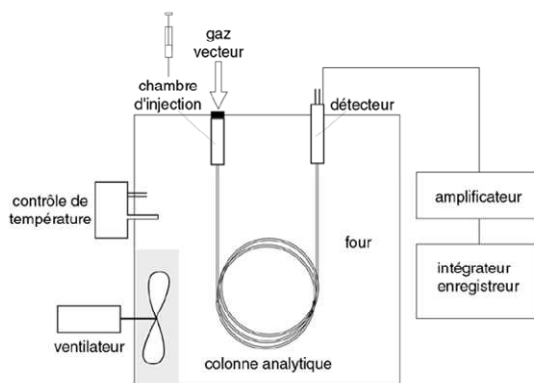


Figure 13. Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse (www.123.bio.net).

Le GC peut également être couplé à un détecteur plus sensible tel que le spectromètre de masse (GC-MS) [Heath et Dueben, 1998].

Avant leur injection sur la colonne, les composés à analyser peuvent être cryoconcentrés en tête de colonne [Tholl *et al.*, 2006].

### 3.3.1.3. Couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS)

L'utilisation du détecteur de masse permet d'identifier les molécules de l'échantillon et leur masse moléculaire. L'un des principaux avantages de la spectrométrie de masse est d'apporter des informations à partir d'une quantité infime d'échantillon (de l'ordre du picogramme) [Jones et Oldham, 1999].

Le principe de la spectrométrie de masse est assez simple, les molécules séparées vont être bombardées d'électrons ce qui va casser les molécules en fragments chargés. Ces fragments seront analysés selon leur rapport masse/charge ( $m/Z$ ) et leur abondance relative fournit un spectre de masse [Jones et Oldham, 1999].

Le spectre de masse peut être considéré comme étant l' « empreinte digitale » d'une molécule, il existe des bibliothèques spectrales qui permettent de comparer le spectre obtenu avec des spectres théoriques catalogués dans une ou plusieurs bases de données informatisées [Jones et Oldham, 1999].

Le spectromètre de masse est par conséquent un outil particulièrement bien adapté à la détection de molécules ou d'éléments à l'état de traces [Bouchoux et Sablier, 2005]. Le couplage chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse permet d'associer l'analyse structurale des composés du mélange à l'analyse chromatographique [Webster *et al.*, 1998]. Le GC-MS permet d'obtenir directement le spectre de masse de chaque constituant d'un mélange au fur et à mesure de leur séparation sur la colonne chromatographique qui fonctionne en amont du spectromètre de masse [Strebler, 1989].

### **3.4. Les molécules émises par un corps en décomposition**

Les principales substances volatiles issues du processus de décomposition sont des gaz : méthane, hydrogène, sulfure d'hydrogène, ammoniac, dioxyde de soufre et gaz carbonique. Il y a aussi de nombreux acides organiques tels que les acides lactique, acétique, acétoacétique, propionique et butyrique qui sont responsables de l'acidification du milieu [Gill-King, 1997 ; Statheropoulos *et al.*, 2005 ]. Une production d'alcools (éthanol, butanol) et d'acétone est également identifiée [Gill- King, 1997]. L'acétone est un produit de la lipolyse (catabolisme des graisses, triglycérides) [Statheropoulos *et al.*, 2005]. On peut également identifier des esters. D'autres substances volatiles sont également renseignées dans la littérature, indole, scatole, la putrescine ou 1,4 diaminobutane (décarboxylation de l'ornithine) et la cadavérine aussi appelée 1,5 diamio-pentane (dégradation de la lysine) [Gill- king, 1997 ; Dent *et al.*, 2004].

Le cadavre dégage des odeurs très fortes surtout pendant les stades de décomposition humide lorsque la production de gaz putréfactifs et d'amines est la plus élevée [Dix et Graham, 2000]. En général, l'odeur tend à se dissiper avec la disparition progressive des tissus mous du corps. Les cadavres momifiés et/ ou partiellement squeletisés ont tendance à dégager une odeur de moisi tandis que les restes complètement squeletisés n'émettent plus d'odeur perceptible à l'odorat humain [Dix et Graham, 2000].

Une étude sur les composés organiques volatils provenant d'un corps humain en décomposition (stade de la putréfaction) a permis d'identifier un peu plus de quatre-vingts substances différentes [Statheropoulos *et al.*, 2005] (Annexe n°1). Il ressort de cette étude que le diméthylsulfite (DMDS) est un des composés majoritaires [Statheropoulos *et al.*, 2005].

On retrouve certains COVs<sup>10</sup> émis lors de la putréfaction chez des personnes vivantes mais souffrant de pathologies lourdes [Statheropoulos *et al.*, 2005]. On identifie notamment des dérivés des alcanes et du benzène dans le souffle des patients souffrant d'un cancer du poumon [Phillips *et al.*, 1999]. Une autre étude sur les COVs émanant de corps inhumés établit une classification de ces COVs en huit catégories de composés chimiques et énumère les composés les plus significatifs (Annexe n°2) [Vass *et al.*, 2004]. Smedts *et al.* 2007, on également étudié les COVs émis par différents tissus animaux en décomposition ; la liste des composés spécifiques à chaque espèce est présenté au Tableau 1 :

**Tableau 1. Identification des COVs spécifiques et non spécifiques émis par différents organismes animaux en décomposition (en rouge identification du composé) (Smedts *et al.*, 2007).**

composés	Homme	chat	chien	cochon	rat	oiseaux	lapin
diméthyldisulfure							
1-R- $\alpha$ -pinene							
3-carene							
1,1-diméthylcyclohexane							
1-méthylpropylcyclohexane							
$\alpha$ - phellandrene							
$\beta$ - phellandrene							
$\beta$ -pinene							
camphene							
limonene							
phenanthrene							

Très peu d'études portant sur l'analyse chimique des composés volatils émis par un cadavre ont été réalisées. Or, ces odeurs sont facilement perçues par différents insectes grâce à leur système olfactif très sensible aux effluves cadavériques [Statheropoulos *et al.*, 2005].

Ces odeurs peuvent également être perçues par d'autres mammifères et plus particulièrement les chiens.

---

<sup>10</sup> COV : composé organique volatile, cette terminologie reprend plusieurs centaines d'espèces chimiques (hydrocarbures aromatiques, hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures halogénés, alcanes, cycloalcanes, alcènes, terpènes, alcools, cétones, aldéhydes, esters, acides) dont le point commun est leur capacité à s'évaporer à la température ambiante et de diffuser dans l'air [Heuskin, 2004].

En effet, les chiens spécialisés dans la recherche de cadavres (cadaver dogs) sont exclusivement entraînés pour détecter la présence de cadavres et/ ou de personnes vivantes (Oosterhelweg *et al.*, 2007). Un composé soufré (le diméthylsulfure) qui est associé à la chair en décomposition de nombreux organismes (homme, rat, lapin, volaille, cochon) semble être un élément clé dans la détection des cadavres par ces chiens spécialisés (Smedts *et al.*, 2007).

Certaines plantes et champignons imitent la viande en décomposition. Un mimétisme olfactif et/ ou visuel permet à ces fleurs d'être pollinisées par les insectes nécrophages (sapromyophilie ou myophilie) [Jurgens *et al.*, 2006].

La plus grande fleur du monde, la rafflésie (*Rafflesia arnoldii* R.Br.) appartenant à la famille des Rafflesiaceae (Figure 14 B), et l'arum titan (*Amorphophallus titanum* BECC.) de la famille des Araceae (Figure 14 A) considéré comme la plus grande inflorescence mondiale, émettent une odeur de chair en décomposition [Wyss et Cherix, 2006]. Ce qui leur vaut le nom de « fleurs de cadavre ». La rafflésie peut atteindre un mètre de diamètre et peser un peu plus de dix kilogrammes. Quant à l'arum titan, il peut atteindre un peu plus de 2,5 mètres de hauteur. Ces deux plantes sont originaires de la forêt tropicale humide asiatique.

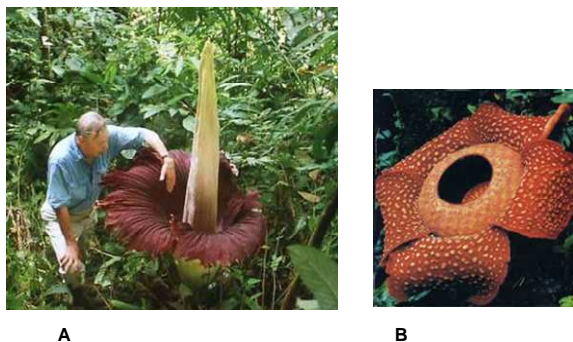


Figure 14. A : Arum titan (source : globby.org), B, Rafflésie.

Plus près de chez nous, le satyre puant (*Phallus impudicus*) (Figure 15) est un champignon de la famille des Phallaceae qui émet lui aussi une odeur de charogne.



Figure 15. Satyre puant et Diptères (Wikipédia).



### III. Matériels et méthodes

#### 4. Description des sites expérimentaux

Trois sites expérimentaux ont été choisis afin de suivre l'évolution « postmortem » de carcasses de porc : un milieu forestier (coordonnées GPS : 50,66°- 4,25°), un milieu agricole (coordonnées GPS : 50,66°- 4,25°) et un milieu urbain.

##### 4.1. Site forestier

Le site expérimental forestier (Figure 16) est situé à Braine-le-Château (carte IGN 39/2 sud) et est inclus dans le Domaine privé de Braine-le-Château.



Figure 16. Site expérimental forestier, Braine-Le-Château.

Il s'agit d'une parcelle feuillue de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.), hêtre (*Fagus sylvatica* L.) et d'érable sycomore (*Acer pseudoplatanus* L.). La strate herbacée est peu développée, la végétation se compose principalement de ronces des bois (*Rubus fruticosus* L.) et de jonquilles (*Narcissus pseudo-narcissus* L.). L'altitude moyenne de la parcelle est de 80m.

##### 4.2. Site agricole

Le site agricole est un milieu ouvert (Figure 17) localisé à la limite des communes de Ittre et de Braine-le Château (carte IGN 39/2 sud). L'accès au site est fortement limité étant donné l'absence de routes macadamisées (chemin Niderand).



Figure 17. Site expérimental agricole et « chemin agricole » permettant l'accès au site.

De plus, Nous sommes dans une zone à caractère rurale, les habitations les plus proches sont situées à environ 1km du site d'expérimentation. De plus, l'entrée du « chemin agricole » est fermée par une chaîne métallique marquant la limite entre le chemin Niderand et le « chemin agricole ». Des passages de véhicules motorisés peuvent avoir eu lieu durant la période d'expérimentation, notamment des engins agricoles.

Il s'agit d'une bordure de chemin agricole boisée séparant une prairie de pâture clôturée d'un champ d'escourgeon (*Hordeum vulgare* L.). Un alignement de saules marque la limite entre le chemin proprement dit et la prairie. La végétation au sol se compose de graminées, de lierre terrestre (*Glechoma hederacea* L.), de petite oseille (*Rumex acetosella* L.) et de prêle des champs (*Equisetum arvense* L.). La distance entre le champ cultivé et la prairie est de 5m, l'altitude moyenne du site est de 85m.

Suite à un accord avec le propriétaire, la prairie n'a pas été pâturée durant toute la période d'expérimentation.

### 4.3. Site urbain

Le site urbain est un ancien garage désaffecté, situé dans l'enceinte de l'Institut National de Criminologie et de Criminalistique (INCC- NICC). L'INCC se situe dans le zoning industriel de Neder-Over-Heembeek (Chaussée de Vilvorde, 100B- 1120 Bruxelles).

Les porcelets ont été placés au deuxième étage du bâtiment, chacun étant dans une pièce distincte (Figures 18 A et B, Figure 19).



A

B

Figure 18. Site expérimental urbain, A : pièce n°2 et B : pièce n°1.

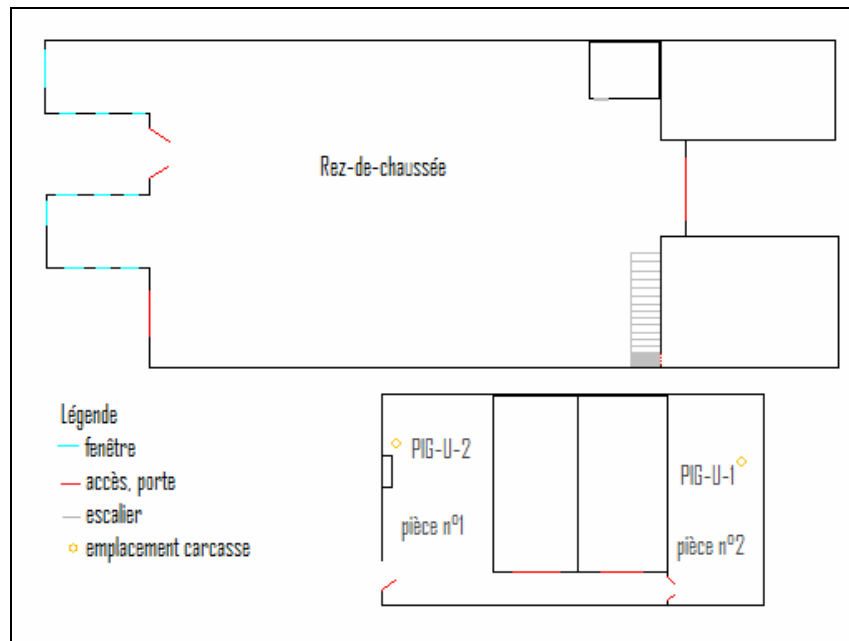


Figure 19. Schéma du bâtiment (INCC).

Les pièces sont assez lumineuses bien qu'il n'y ait aucune fenêtre au deuxième étage du bâtiment ; certaines parties du toit sont translucides et assurent un éclairage naturel des pièces. On peut d'ailleurs noter le développement d'une végétation lianescente à l'intérieur du bâtiment. Cette végétation n'est pas présente dans la pièce du fond (pièce n°2). Il existe des grilles d'aération au sommet des murs dans la pièce n°1, de même que de nombreuses ouvertures (vitres brisées) dans le bâtiment.

## 5. Dispositif expérimental

Des porcs en post-sevrage issus des élevages du Département Productions et Nutrition animale du CRA-W ont été utilisés pour les besoins de l'expérience. En effet, le cochon domestique est considéré comme un excellent modèle de la décomposition humaine [Rodriguez et Bass, 1983 ;Catts et Goff, 1992 ; Anderson et VanLaerhoven, 1996].

Six porcelets (*Sus domesticus* L.) de 25 kg ont été euthanasiés selon une méthode physique (fusil à balle captive) (Figure 20).



Figure 20. Pistolet à balle captive (Chevillon *et al.*, 2004).

Bien que préférable d'un point de vue éthique (bien-être des animaux), les méthodes chimiques de mise à mort ont été écartées car les produits injectés ou inhalés peuvent altérer le processus normal de décomposition du corps et donc modifier son odeur et sa colonisation « postmortem » par les insectes nécrophages.

La mise à mort a été effectuée le 29 mars 2007 en début d'après-midi. Les carcasses ont ensuite été déposées sur les trois sites d'étude en fin de journée.

Deux carcasses de porc ont été déposées sur chaque site avec un espacement moyen de 50m, excepté dans le bâtiment de l'INCC où les cochons ont été placés dans deux pièces distinctes. Les carcasses ont été placées sur le flan, à même le sol, dans les milieux naturels tandis qu'un bac destiné à contenir l'écoulement des liquides sagnieux a été placé sous les carcasses en milieu urbain.

Chaque carcasse de porc a reçu un nom se composant de trois éléments (Tableau 2). Premièrement, le type de matériel animal utilisé (PIG), deuxièmement, le milieu d'étude (U pour urbain, F pour forestier et O pour ouvert) et en troisième lieu, un numéro permettant d'identifier la carcasse (1 ou 2).



**Tableau 2. Légende des unités expérimentales.**

Type de milieu	Nom de la carcasse	Sexe des carcasses	Emplacement sur le terrain
urbain	PIG-U-1	Male	pièce n°2
	PIG-U-2	Male	pièce n°1
forestier	PIG-F-1	Femelle	sommet Sud du vallon
	PIG-F-2	Male	sommet Nord du vallon
ouvert	PIG-O-1	Femelle	fond de l'alignement
	PIG-O-2	Femelle	début de l'alignement

Afin de protéger les carcasses de toute prédation animale, celles-ci ont été placées dans des cages grillagées métalliques (Figure 21), excepté à l'INCC. Les cages sont constituées de panneaux ayant une maille carrée de 4 cm que l'on assemble par des liens de type « colson ». Les cages ont une dimension de 180 cm de longueur sur 90 cm de largeur et 90 cm de hauteur.



**Figure 21. Cage de protection des carcasses (PIG-O-2, 30 mars 2007).**

Des repères visuels, matérialisés par des piquets en bois, ont été disposés autour de la carcasse afin de suivre les modifications de volume du corps.

La période de suivi « post-mortem » a duré 6 semaines du 29 mars 2007 au 11 mai 2007 inclus.

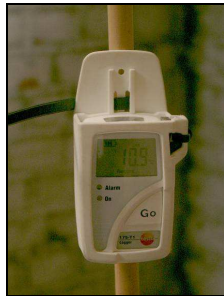
**Tableau 3. Division en semaine de la période d'expérimentation.**

	<b>date</b>
euthanasie	29/03/07
Semaine n°1	30/03/07 au 06/04/07
Semaine n°2	06/04/07 au 13/04/07
Semaine n°3	13/04/07 au 20/04/07
Semaine n°4	20/04/07 au 27/04/07
Semaine n°5	27/04/04 au 04/05/07
Semaine n°6	04/05/07 au 11/05/07

A la fin de la période d'expérimentation, les milieux naturels ont été débarrassés des restes de carcasse. Ceux-ci ont été collectés et déposés dans un container pour déchets biologiques afin de procéder à leur incinération ultérieure.

## **6. Mesures des facteurs climatiques**

La température ambiante a été mesurée, pour chaque carcasse, durant toute la durée de l'expérimentation grâce à des enregistreurs de températures de type « Testo 175-T1 temperature data logger » (Figure 22). Ceux-ci ont été fixés sur les cotés latéraux des cages (hauteur de 70cm) ou sur un montant en bois et ont été programmés pour enregistrer la température toutes les heures.



**Figure 22. Enregistreur de température de type testo 175 T1.**

Pour les milieux ouverts et forestiers, une station météorologique de type Davis se situant à moins d'1 km des sites d'expérimentation a permis de collecter d'autres variables climatiques telles que l'humidité, l'ensoleillement et la pluviosité.

## 7. Prélèvement des molécules volatiles

Les molécules organiques volatiles émises par les carcasses animales en décomposition ont été collectées au moyen de deux techniques de prélèvement d'odeurs : une méthode passive utilisant le système Radiello® et une méthode dynamique de prélèvement dans l'espace de tête piégeant les volatiles sur une phase adsorbante de SuperQ.

### 7.1. Radiello®

#### 7.1.1. Description du matériel

Le cylindre diffusif jaune (code 120-2) utilisé pour le piégeage des COVs a une épaisseur de 5mm et une porosité de  $10 \pm 2 \mu\text{m}$ , la longueur du parcours diffusif est de 150 mm [Radiello, 2004]. La cartouche adsorbante (code 145) est un tube en acier inoxydable de 4,8mm de diamètre rempli avec  $350 \pm 10\text{mg}$  de Carbograph 4 (charbon graphité) (Figure 23) [Radiello, 2004].

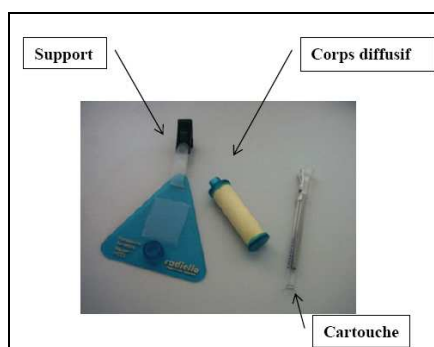


Figure 23. Eléments constitutifs du tube Radiello.

Ce matériau adsorbant a démontré par le passé d'excellentes propriétés d'adsorption vis-à-vis des molécules organiques volatiles appartenant aux familles de molécules attendues lors de nos études.

Les cartouches adsorbantes vierges, c'est-à-dire après reconditionnement, sont conservées dans des tubes en verre fermés et ne sont introduites dans les corps diffusifs qu'au moment de l'échantillonnage. A la fin de la période de prélèvements, les cartouches sont retirées des corps diffusifs et réintroduites dans des tubes en verre, eux-mêmes placés dans des bocaux teintés et placés au réfrigérateur avant d'être analysées en laboratoire. Les analyses ont été effectuées dans un laps de temps compris entre trois et cinq jours après l'échantillonnage des COVs.

Le tube Radiello doit être à l'abri des intempéries. C'est pourquoi un abri spécifique en polypropylène, placé au dessus de la cavité abdominale (environ 5 cm entre la carcasse et les Radiello®), a été utilisé (Figure 24) sur les 3 sites d'expérimentation afin de respecter les mêmes conditions d'échantillonnage.



Figure 24. Abri Radiello contenant deux échantillonneurs, PIG-U-1.

L'analyse des composés adsorbés sur les cartouches Radiello utilisées nécessitent une désorption thermique afin de permettre l'injection des composés adsorbés dans un système chromatographique.

### 7.1.2. Analyses TDS-GCMS des cartouches Radiello

Les échantillons ont été analysés par chromatographie gazeuse (6890 GC, Agilent Technologie) couplée à la spectrométrie de masse (5972A MS, Agilent Technologie) au Service Qualité de l'Air de l'Issep (Marie Gohy). Le système d'analyses GC-MS est équipé d'un désorbeur thermique automatique Perkin Elmer (ATD 400). Le thermodésorbeur ATD 400 effectue deux étapes. Premièrement, la thermodésorption des COVs retenus sur la cartouche et leur *retrapping* sur un piège à froid et dans un deuxième temps, la désorption du piège afin d'acheminer les COVs vers le système chromatographique.

Préalablement à leur thermodésorption, les cartouches Radiello sont transférées dans des tubes cylindriques en acier Perkin Elmer.

#### Paramètres de l'analyse TDS-GCMS, Service Qualité de l'Air de l'Issep

- **Thermodésorbeur :**
  - Appareillage : Perkin Elmer, ATD 400
  - Paramètres de désorption des cartouches :  $T^{\circ} = 350^{\circ}\text{C}$  pendant 5min sous flux d'hélium
  - Température de la vanne rotative :  $200^{\circ}\text{C}$
  - Paramètres de désorption du piège :  $T^{\circ} \text{ min} = -30^{\circ}\text{C}$  et  $T^{\circ} \text{ max} = 300^{\circ}\text{C}$
  - Température de la ligne de transfert :  $250^{\circ}\text{C}$



- **CPG**

- Appareillage : Agilent Technologies, 6890
- Injecteur : mode splitless
- Colonne : légèrement polaire (Rtx/MXT-1301/624) composée de 6% cyanopropylphényl et de 94% de diméthylpolysiloxilane  
dimensions : 60mx 0,32 mm x 1,8 µm
- Nature et débit du gaz vecteur : hélium à 1,0 ml/min
- Programmation en températures du four :

palier	Température (°C)	Maintien (min)
Température initiale	35	5
Montée en température	3 °C/min	
1 <sup>ème</sup> palier	50	0
Montée en température	6°C/min	
2 <sup>ème</sup> palier	110	0
Montée en température	10°C/min	
3 <sup>ème</sup> palier	245	5

- Détecteur : spectromètre de masse (Agilent Technologies, 5972 A)
- Temps d'analyse : 38,50 min
- **Détecteur** (spectromètre de masse, 5972 A)
- Appareillage : Agilent Technologies, 5972 A
- Délai de solvant : 5min
- Masses scannées : m/Z de 35 à 300

## 7.2. Collecte dynamique des molécules volatiles

### 7.2.1. Description du matériel

Le système de collecte des composés organiques volatiles se compose d'une pompe, d'un tuyau en téflon, d'une cartouche en téflon et verre contenant 40 mg de SuperQ® (polymère de divinylbenzène et d'éthylvinylbenzène) et d'un entonnoir en pyrex (Figure 25). La longueur des cartouches de prélèvements est comprise entre 8 et 10 cm, la phase adsorbante de SuperQ est située au centre du corps cylindrique des cartouches.

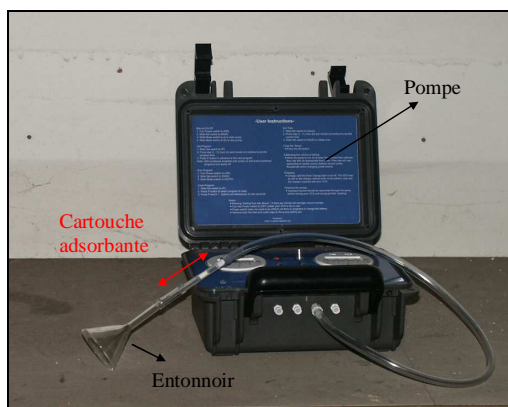


Figure 25. Système de prélèvement dynamique des COVs (Pompe, cartouche et entonnoir).

La pompe fonctionne sur secteur ou sur batteries d'autonomie de 8h. Le débit d'aspiration des pompes est réglable ; il a été calibré, avant chaque journée de prélèvements, grâce à un débitmètre sur 1Lmin-1. Pour extraire les composés organiques adsorbés sur le SuperQ, il faut éluer les cartouches avec un solvant adéquat (exemple : hexane, dichlorométhane, diéthyloxy). L'éluat est récupéré dans une fiole (contenance de 1,5 ml) contenant un insert (contenance 0,5ml) et fermée par un bouchon à vis, l'échantillon est ensuite étiqueté (nom, date) et conservé au réfrigérateur.

Avant toute nouvelle utilisation, les cartouches sont lavées avec du solvant (diéthyloxy) et séchées grâce à un léger flux d'air pur, elles sont ensuite enrobées de papier aluminium et conservées dans une boîte hermétique.

### 7.2.2. Analyses GC-MS des échantillons prélevés en espace de tête

Les échantillons ont été analysés par chromatographie gazeuse (TraceGC Ultra, Interscience) couplée à un spectromètre de masse (Finnigan, Trace MS) à l'Unité de Chimie analytique de la FUSAGx. Un volume de 1µl a été injecté à l'aide d'une seringue GC.

#### Paramètres de l'analyse GCMS, Unité de chimie analytique (Fusagx)

- **CPG**

- Appareillage : Interscience, TraceGC Ultra
- Injecteur : mode splitless
- Colonne : apolaire (Optima 5-MS) composée de 5% de diphenyl et de 95% de dimethylpolysiloxilane  
dimensions : 30mx 0,25 mm x 0,25 µm
- Nature et débit du gaz vecteur : hélium à 1,5 ml/min

- Programmation en températures du four :

palier	Température (°C)	Maintien (min)
Température initiale	40	5
Montée en température	10 °C/min	
1 <sup>ème</sup> palier	230	0
Montée en température	30°C/min	
2 <sup>ème</sup> palier	280	10

- Détecteur : spectromètre de masse (Agilent Technologies, 5972 A)
- Temps d'analyse : 32 min

- **Détecteur**

- Appareillage : Finnigan, Trace MS
- délai de solvant : 5min
- masses scannées : m/Z de 40 à 300

En outre, deux échantillons ont également été analysés sur colonne polaire au laboratoire du Beagx (colonne de type CP-wax 58 (FFAP)-CB et de dimensions 25m x 0,32mm).

### 7.3. Mise au point des méthodes de prélèvement : essai préliminaire

Les méthodes de prélèvements des composés organiques volatiles émis par un corps en décomposition ont été mises au point sur un pigeon ramier (*Colomba palumbus* L.) tué le 23 février 2007. Les conditions climatiques étant peu clémentes au début de l'expérience, la carcasse de pigeon a été placée en serre le 5 mars 2007 afin d'accélérer le processus de décomposition et de détecter la présence de composés organiques volatiles. Celui-ci a été disposé sur le dos avec la poitrine déplumée, sur une table grillagée.

#### 7.3.1. Radiello

##### 7.3.1.1. Disposition des tubes Radiello®

Les tubes Radiello® ont été disposés horizontalement au dessus de la carcasse dans un abri Radiello (Figure 26).

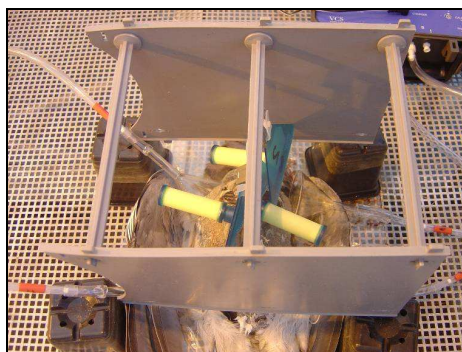


Figure 26. Dispositif expérimental de prélèvements des molécules volatiles

Les échantillonneurs Radiello® ont été placés aussi près que possible du corps en veillant toutefois à ce que ceux-ci n'entrent pas en contact avec la carcasse. Afin de discriminer les molécules émises par le corps en décomposition des composés atmosphériques, des prélèvements simultanés d'air ambiant ont été réalisés dans une autre logette de la serre.

#### 7.3.1.2. Choix du matériau adsorbant

Afin de déterminer l'adsorbant adéquat, des tests ont été effectués avec deux types de cartouches adsorbantes adaptées aux prélèvements des COVs : Le Tenax Ta® (polymère d'oxyde de 2,6 diphényle) et le Carbograph 4® (noir de carbone graphité). Pour effectuer la comparaison, deux Radiello® avec du Carbograph 4 et deux Radiello® avec du Tenax Ta ont été disposés au dessus du pigeon pendant 48 heures. La comparaison des chromatogrammes obtenus suite à l'analyse GC-MS des prélèvements effectués au dessus du pigeon a permis de porter notre choix sur le Carbograph 4.

#### 7.3.1.3. Choix de la durée de prélèvement

Des durées de prélèvements de deux jours et d'une semaine ont été testées. Notre choix s'est porté sur la période d'échantillonnage d'une semaine. En effet, les conditions de prélèvement des COVs sur les carcasses de porc se faisant en extérieur et non plus en milieu clos, nous avons préféré une plus longue période d'échantillonnage.

### 7.3.2. Prélèvements dynamiques (*dynamic headspace collection*)

#### 7.3.2.1. Disposition des cartouches de SuperQ

Les cartouches, fixées sur un entonnoir en pyrex, ont été placées de part et d'autre du pigeon (Figure 27) aussi près que possible de la source d'émissions des COVs. Le débit d'aspiration de la pompe a été calibré sur 1Lmin<sup>-1</sup>.



Figure 27. Dispositif expérimental de collecte dynamique des composés volatils.

### **7.3.2.2. Choix de la durée de prélèvement**

Deux prélèvements simultanés d'une durée de 30 minutes, 1 heure et 24 heures ont été réalisés afin de fixer notre durée d'échantillonnage. La durée de prélèvements qui a été choisie pour suivre l'évolution des molécules volatiles émises par les carcasses de porc en décomposition est d'une heure. En effet, des prélèvements de 24 heures révèlent des chromatogrammes trop « chargés » tandis que les essais préliminaires réalisés avec une durée de 30 minutes permettent d'identifier la présence de composés chimiques, mais de façon moins marquée qu'avec les durées de prélèvement d'une heure. Notre choix s'est donc porté sur une durée de prélèvement de 60 minutes.

### **7.3.2.3. Choix du solvant pour extraire les composés organiques volatiles adsorbés**

Deux solvants ont été testés pour l'élution des cartouches, du dichlorométhane et du diéthylether. Ces deux solvants sont communément utilisés dans la désorption des molécules organiques volatiles à partir de matériaux adsorbant, de par leur polarité qualifiée d'intermédiaire.

Afin d'effectuer notre choix, deux cartouches ayant prélevés pendant une heure les molécules émises par le cadavre ont été éluées avec 150 $\mu$ l de diéthylether et deux autres cartouches ont été désorbées avec 150 $\mu$ l de dichlorométhane.

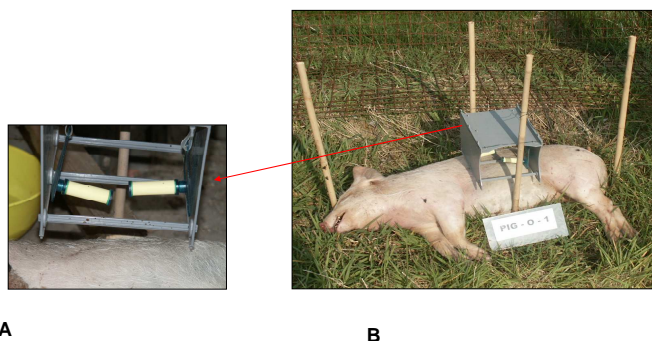
Le diéthylether a été préféré comme solvant.

## **7.4. Mise au point des méthodes de prélèvement in situ**

Les six carcasses de porcs ont permis d'étudier les volatiles émis par un corps en décomposition en plein air.

### **7.4.1. Prélèvement d'échantillons « Radiello »**

Les Radiellos, abrités dans leur boîtier, ont été disposés horizontalement au dessus des carcasses de porc (Figure 28 A et B).



**Figure 28. A : Disposition des tubes Radiello au dessus du corps, B : Emplacement boîtier Radiello.**

Deux Radiello® par carcasse ont été placés aussi près que possible du corps. Pour les carcasses situées à l'INCC, le boîtier Radiello® est fixé sur un montant en bois et peut coulisser en fonction du gonflement du corps. Pour les milieux naturels, les boîtiers sont attachés entre les deux repères visuels situés face ventrale et face dorsale (Figure 28 B).

La durée d'échantillonnage est d'une semaine complète ; chaque vendredi, les cartouches Radiellos ont été récupérées et remplacées par des nouvelles. Les corps diffusifs jaunes ont été remplacés à la moitié de la période d'échantillonnage soit le 20 avril 2007.

#### **7.4.2. Prélèvements d'échantillons « Headspace »**

Les prélèvements des molécules volatiles émises par la carcasse de porc ont été effectués au dessus de l'abdomen. Un « statique » a été utilisé pour maintenir en place le système de prélèvement à une distance de plus ou moins 1 cm du cadavre (Figures 29).



**Figure 29. A : PIG-O-2, le 6 avril 2007, B : PIG-U-1 (4 mai).**

Des prélèvements ponctuels de 1 heure ont été effectués à intervalle régulier sur chaque carcasse de porc. En outre, des prélèvements d'air ambiant ont été réalisés simultanément aux prélèvements sur les carcasses. Ceux-ci ont été effectués sur les sites d'études à une distance approximative de 25m par rapport aux carcasses.

Les prélèvements sur le site urbain ont été réalisés dans la matinée, ceux concernant les milieux ouvert et forestier ont respectivement été effectués en début d'après-midi et en fin d'après-midi. L'échantillonnage des molécules volatiles émises par les deux carcasses d'un même site ainsi que le prélèvement d'air ambiant ont été réalisés simultanément.



## 8. Entomofaune

Des observations, des prélèvements manuels et des piégeages entomologiques ont été réalisés durant toute la phase de prélèvements d'odeurs.

### 8.1. Observations entomologiques visuelles

Afin de quantifier les espèces observées au moment des visites de terrain une échelle avec des classes d'amplitudes variables a été mise en place.

Des pavés (10x10 cm) ont été disposés à l'intérieur des cages afin de faciliter l'observation des insectes lucifuges ainsi que les larves de Diptères au moment de leur pupaison.

La présence et/ou l'absence des stades juvéniles (immatures) a également été collationnées.

### 8.2. Piégeage des insectes

#### 8.2.1. Bacs jaunes

Deux bacs jaunes (provenant de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive) contenant de l'eau savonneuse ont été disposés à l'intérieur de chaque cage, un se situant au niveau du sol face à la tête, l'autre se situant à l'extrémité postérieure du porc à 20-30 cm de hauteur. Ceux-ci sont destinés au piégeage des insectes volants. Les bacs jaunes ont été vidés de leur contenu le vendredi de chaque semaine. Les insectes récoltés ont ensuite été conservés dans une solution de Norvanol (*cf*r point 8.3).

#### 8.2.2. Piègeage au moyen de « pitfall trap »

Dans les milieux naturels, des « pitfall trap » ont été disposés autour de la carcasse (Figure 30). Il s'agit de bocaux en verre d'une hauteur de 15 cm et d'un diamètre de 8 cm remplis au tiers d'eau savonneuse. Six pitfall trap affleurant à la surface du sol et à une distance moyenne de 15 cm par rapport à la dépouille ont été mis en place : 2 du côté ventrale, 2 du côté dorsale, 1 au niveau de la tête et 1 au niveau de l'anus.



Figure 30. Disposition des pièges à Coléoptères (PIG-F-1, 17 avril 2007).

Les pièges à Coléoptères ont été récoltés deux fois par semaine, le mardi et le vendredi (*cfr* point 8.3).

### **8.3. Identification des insectes prélevés sur les carcasses de porc**

Les insectes récoltés sur le terrain ont été triés d'une part par famille et d'autre part par espèce. Les spécimens sont conservés dans des flacons transparents dans une solution de Norvanol à 80%. Une étiquette reprenant la date de récolte, le type de piégeage et le nom du cochon est placée dans chaque flacon.

En outre, plusieurs spécimens de chaque espèce capturée ont été préparés et montés sur épingle entomologique pour être enregistrée au Conservatoire entomologique de Gembloux.

### **8.4. Identification des espèces prélevées : ordre des Diptères et des Coléoptères**

L'identification de l'entomofaune récoltée au niveau des cadavres s'est focalisée prioritairement sur deux ordres : les Diptères (famille des Calliphoridae) et les Coléoptères (famille des Silphidae).



## **9. Caractérisation des stades de décomposition (thanatomorphose)**

Les stades de décomposition ont été définis comme suit [Karapetian, 2003] :

- *Fresh* : commence au moment de la mort et finit lorsque le gonflement du corps (bloating) est manifeste.
- *Bloating* : apparition des phénomènes visibles de la putréfaction (gonflement du corps, changement de couleur du corps, tâche verte abdominale).
- *Active Decay* : rupture de la paroi abdominale, pénétration des larves de Diptères nécrophages dans la peau, dégonflement du corps et liquéfaction des tissus.
- *Advanced Decay* : les chairs restantes se détachent du corps sous forme de liquides putrides, assèchement progressif des carcasses. Présence de peau séchée et d'os avec cartilages.
- *Dry/ remains* : dessèchement complet du cadavre, présence uniquement de peau séchée et des os.

## IV. Résultats et discussions

### 10. Prélèvement des composés organiques volatils

#### 10.1. Étude qualitative des composés volatils

##### 10.1.1. Nature des COVs prélevés sur les carcasses de porc

Les 143 composés organiques volatils identifiés selon les deux techniques d'échantillonnage (prélèvements dynamiques et Radiello ®) sont présentés au Tableau 4. Ils appartiennent aux différentes familles chimiques suivantes (entre parenthèses le nombre de composés appartenant à chaque famille) : acides carboxyliques (17), esters (12), alcools (14), aldéhydes (13), cétones (13), composés azotés (22) (dont amides, amines et nitriles), composés soufrés (8) (dont sulfures, thiols et thioesters), composés aromatiques (28), composés halogénés (2), alcanes (7) et alcènes (6).

La distinction entre les COVs émis par les carcasses et ceux présents dans l'air ambiant a été faite sur base des chromatogrammes (Figure 31).

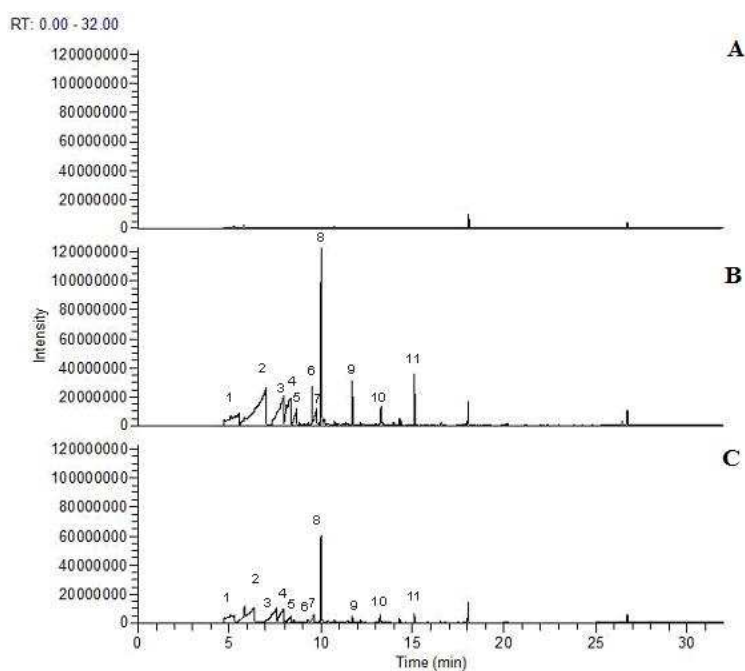


Figure 31. Chromatogrammes obtenus avec analyse de trois prélèvements dynamique de VOCs réalisés le 24 avril 2007 en milieu ouvert (A : prélèvement atmosphérique; B : PIG-O-2 ; C : PIG-O-1). 1 : acide 2-méthylpropanoïque, 2 : acide butanoïque, 3 : acide 3-méthylbutanoïque, 4 : acide 2-méthylbutanoïque, 5 : acide pentanoïque, 6 : diméthyltrisulfure, 7 : acide 4-méthylpropanoïque, 8 : phénol, 9 : *p*-crésol, 10 : 2-pipéridone, 11 : indole.

Les composés organiques prélevés en quantités similaires dans l'air ambiant et au dessus des carcasses de porcs ont été considérés comme faisant partie des COVs atmosphériques et n'ont donc pas été pris en compte dans cette étude.

La nature des composés identifiés au cours de cette étude est cohérente avec les études antérieurement réalisées dans le domaine des COVs liés à la décomposition d'organismes que ce soit des COVs émis par des cadavres humains [Vass *et al.*, 2004, Statheropoulos *et al.*, 2005, Smedts *et al.*, 2007] ou provenant de la décomposition d'autres mammifères dont le cochon domestique [Smedts *et al.*, 2007].

A l'aide des deux techniques d'échantillonnage utilisées durant cette étude, la cadavérine et la putrescine, deux composés importants des processus de décomposition [Gill-King, 1997], n'ont pu être prélevés. D'autres études [Vass *et al.*, 2004, Statheropoulos *et al.*, 2005, Smedts *et al.*, 2007] utilisant des techniques de prélèvements similaires à celles employées ici, mentionnent également la non détection de ces deux diamines. L'absence de ces composés dans les échantillons prélevés de façon dynamique, a été confirmée par injection en GC-MS d'une solution contenant de la cadavérine et de la putrescine de synthèse (cadavérine : Fluka 33211 pureté  $\geq 97,0\%$  ; putrescine : Fluka 32790, pureté  $\geq 99\%$ ). Cependant, la 2-pipéridone a été détectée ; celle-ci peut être un métabolite de la cadavérine (Callery et Geelhaar, 1984).



composé	F	O	U	composé	F	O	U	composé	F	O	U
<b>Amines</b>				<b>Composés aromatiques (suite)</b>				<b>Alcanes</b>			
N-nitrosodiméthylamine	R	R	R	biphényl	R	R	R	3-hexylpentadécane	R		
triméthylamine	R	R	R	<i>p</i> cymene	R	R		4-méthylheptane		R	R
<b>Nitriles</b>				3-carène	D			2-méthyldécane			R
acétonitrile	R		R	éthylméthylbenzène	R			2,6 diméthylundécane	R		
méthylisonitrile	R		R	3-méthylthiophène		R		pentadécane		D	
diméthylaminoacétonitrile		R		phénylthiophène			R	heptadécane		D	
benzonnitrile	R	R		1-méthylnaphtalène		R		eicosane	R	R	R
octanenitrile	R			2,6-Diisopropylnaphtalene	D	D	D				
nonanitrile	R			<b>Sulfures</b>							
phénylacétonitrile			R	diméthyldisulfure	R,D	R,D	R				
<b>Composés aromatiques cycliques</b>				diméthyltrisulfure	R,D	R,D	R,D				
indole	D	D	R,D	diméthyltétrasulfure		D	D				
a-méthylindole	D			dioxyde de soufre	R	R	R				
pyrrole		R		disulfure de carbone	R	R	R				
benzoxazole	R	R		<b>Thiols</b>							
pyridine	R			méthanethiol	R	R	R				
3-méthylpyridine		R		<b>Thioesters</b>							
quinazoline	R,D	R,D	R	méthylthioacétate	R						
4-méthylquinazoline		D		Methanesulfonate de butyle	R	R	R				
2,4-diméthylquinazoline	D	D		<b>Composés halogénés</b>							
quinoléine	R,D	R,D		1-chloro-2-méthylpropane		R					
quinoxaline		R		1-chlorobutane	R						
2-pipéridone	R,D	R,D	R	<b>Autres COVs</b>							
2,3,5-triméthylpyrazine	R,D			thiocyanométhane	R						
2,6-diméthylpyrazine	D	R		<b>Alcènes</b>							
phénol	R,D	R,D	R,D	2-méthyl-1-propène	R	R	R				
<i>p</i> -crésol	R,D	R,D	R,D	1-butène	R	R					
2-nitrophénol	R	R		E 2-butène	R	R					
hydroquinone	R	R		1-pentène		R					
cumène	R	R	R	2-hexène			R				

Absence du COV  
 Présence du COV  
D Prélèvement dynamique  
R Prélèvement passif Radiello®

### 10.1.2. Répartition des COVs identifiés par milieu

Une différence en termes de nombre de COVs existe entre les trois milieux : 97 COVs ont été identifiés sur les carcasses déposées en milieu forestier contre 110 COVs en milieu ouvert et 59 COVs en milieu urbain. La répartition des familles de composés chimiques (en nombre de COVs) par type de milieu étudié (forestier, ouvert et urbain) est présentée à la Figure 32.

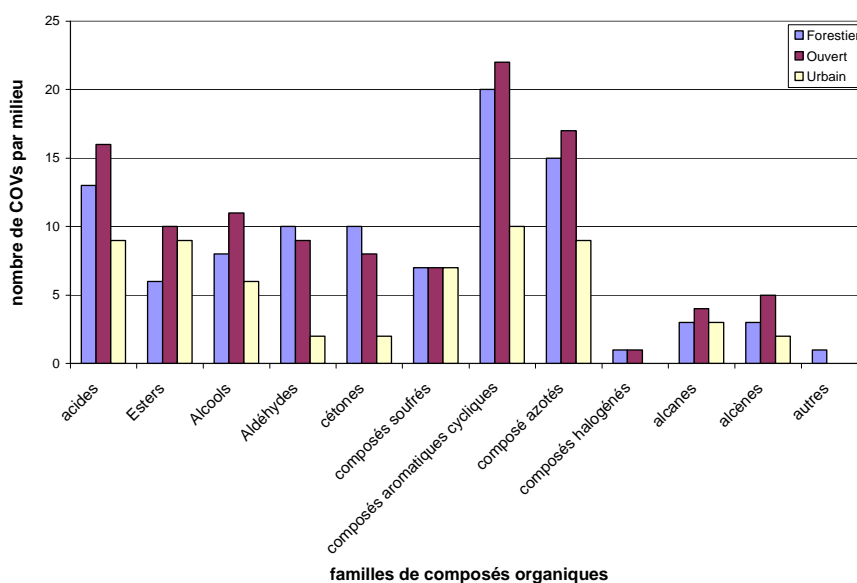


Figure 32. Répartition des familles de composés chimiques en nombre de COVs par milieu.

Pour les 3 milieux d'études (forestier, ouvert et urbain), la famille chimique la plus importante en nombre de COVs est celle des composés aromatiques cycliques, suivie de celles des composés azotés puis des acides carboxyliques.

On remarque une différence entre le milieu urbain et les milieux naturels au niveau du nombre de composés aromatiques, il y a deux fois moins de composés aromatiques dans le milieu urbain. Le nombre de COVs soufrés est identique au sein des trois milieux. Il existe cependant des tendances différentes entre les milieux pour les composés oxygénés tels que les alcools, les cétones et les aldéhydes. En effet, on retrouve peu d'aldéhydes et de cétones dans le milieu urbain comparativement aux milieux agricole et forestier. On remarque un nombre d'alcools supérieurs dans le milieu ouvert agricole.

### 10.1.3. Comparaison des deux techniques de prélèvements

La comparaison *sensu stricto* des deux méthodes de prélèvements est rendue difficile par de nombreux paramètres les différenciant, ceux-ci sont repris sous forme synthétique au Tableau 5.

Tableau 5. Liste synthétique des paramètres propres aux deux techniques d'échantillonnage des COVs

Paramètres	Méthode passive	Méthode dynamique
Type d'échantillonnage et durée	Continu, une semaine complète	Ponctuel, 2 fois par semaine pendant une heure
Adsorbant	Carbograph 4	SuperQ
Analyse GC-MS et colonne GC	TDS-GCMS Colonne légèrement polaire	GC-MS avec injection manuelle Colonne apolaire

Si on compare les deux techniques de prélèvements au niveau des COVs détectés, la méthode passive permet de mettre en évidence une plus large gamme de COVs par rapport à la méthode dynamique (Figure 33). En effet, 50 COVs ont été détectés avec la méthode dynamique tandis que 123 composés ont pu être identifiés avec la méthode de prélèvement passive.

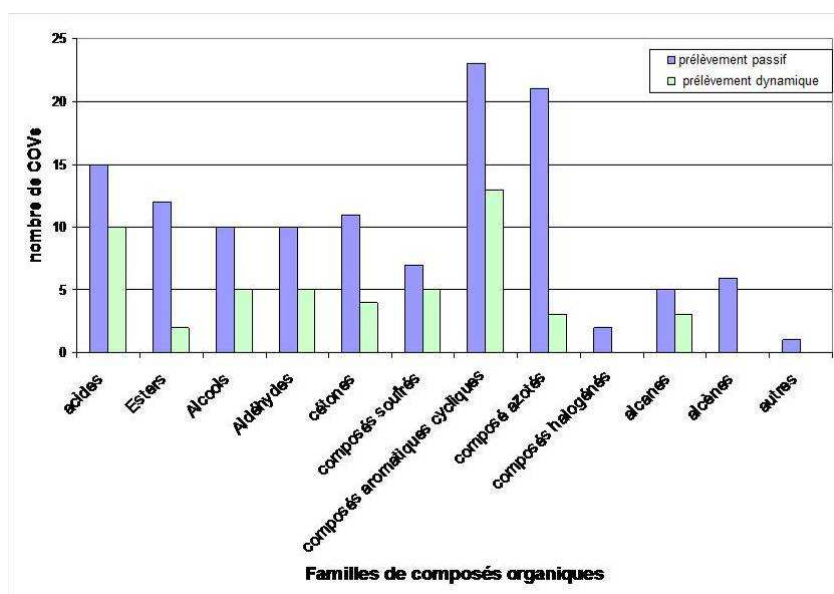


Figure 33 .Comparaison des deux techniques de prélèvements au niveau du nombre de COVs détectés par classe de composé chimique.

Cependant, la méthode passive n'a pu détecter de façon régulière la présence d'indole. Or ce composé est identifié comme étant un des composés majoritaires dans les échantillons prélevés en *dynamic headspace*.

Une autre différence significative est l'absence de 1-butanol dans les échantillons prélevés de façon dynamique, alors qu'il s'agit d'un composé prépondérant dans les échantillons piégés passivement. Cependant, cette différence ne peut être imputée à la technique de prélèvement. En effet, l'analyse de deux échantillons, prélevés dynamiquement, sur un autre appareil GC-MS muni d'une colonne polaire, a permis de mettre en évidence sa présence.

C'est donc la méthode d'analyse et la programmation des paramètres du GC-MS qui est responsable de la non détection du 1-butanol au sein des échantillons prélevés dynamiquement.

L'utilisation simultanée des deux techniques de prélèvement a permis d'obtenir une large gamme de COVs composant la signature olfactive d'un organisme en décomposition. L'analyse des résultats obtenus avec les deux techniques d'échantillonnage montre la complémentarité de celles-ci. Le choix ultérieur d'une des deux techniques de prélèvements doit se faire à la lumière des objectifs poursuivis. En effet, le caractère destructeur de l'analyse TDS-GCMS requise pour les cartouches Radiello® empêche le réemploi de l'échantillon pour d'autres analyses. Leur utilisation convient donc bien pour caractériser l'ensemble des COVs présents. Quant aux prélèvements dynamiques, l'obtention après désorption d'un échantillon en solution permet d'utiliser celui-ci à plusieurs fins, notamment en vue d'effectuer des essais biologiques ultérieurs.

## **10.2. Etude semi-quantitative des composés volatils**

Une étude quantitative des COVs présents dans les échantillons n'était pas envisageable en raison du prélèvement partiel des COVs émis par les carcasses. En effet, seule une fraction des COVs produits par les carcasses a été échantillonnée et nous sommes dans l'incapacité de quantifier cette proportion.

### **10.2.1. Méthode passive : Radiello ®**

La répartition des COVs identifiés au cours des six semaines sur les carcasses est présentée sous forme d'histogramme (Figures 34 à 40). Les COVs sont exprimés en « aire-pourcent », ce qui signifie que les surfaces arbitraires des pics identifiés sur un chromatogramme comme étant émis par la carcasse ont été divisées par le total de ces mêmes pics (tableau des aire % en annexes).

Parmi les 123 COVs identifiés, on distingue les COVs principaux (Tableau 6) des COVs mineurs. Ces derniers sont regroupés sous la catégorie « autres COVs ». La distinction entre COVs principaux et mineurs est faite sur base des surfaces arbitraires relatives des pics des différents chromatogrammes. D'une façon générale, les composés principaux sont le dioxyde de soufre, la triméthylamine, le 1-butanol, le diméthyldisulfure, le 3-méthyl-1-butanol, l'acide 2-méthylpropanoïque, l'acide butanoïque, l'acide 3-méthylbutanoïque, l'acide 2-méthylbutanoïque, le diméthyltrisulfure et le phénol.



La catégorie « autres COVs » regroupe différentes familles de composés chimiques de COVs tels que des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones), des composés soufrés, des composés azotés (amines, amides, nitriles), des acides, des esters, des hydrocarbures non cycliques (alcanes et alcènes), des composés aromatiques cycliques. L'ensemble des COVs non identifiés avec les banques de données spectrales ont été regroupés sous l'appellation « COVs non identifiés ».

**Tableau 6. Liste des COVs principaux identifiés avec la méthode « Radiello » pour chaque carcasse (R ouge détecté, Bleu non détecté).**

COVs	PIG-F-1	PIG-F-2	PIG-O-1	PIG-O-2	PIG-U-1	PIG-U-2
Composés soufrés						
Dioxyde de soufre						
Diméthyldisulfure						
Diméthyltrisulfure						
Composés azotés						
Triméthylamine						
N-nitrosodiméthylamine						
N,N-diméthylformamide						
Aldéhydes						
Butanal						
Acides						
Acide propanoïque						
Acide 2-méthylpropanoïque						
Acide butanoïque						
Acide 3-méthylbutanoïque						
Acide 2-méthylbutanoïque						
Acide benzoïque						
Esters						
Méthanoate de butyle						
Alcools						
1-Butanol						
3-Méthyl-1-butanol						
Composés aromatiques						
Phénol						
Hydrocarbures non cycliques						
1-Heptène						

### 10.2.1.1. Milieu urbain

#### a. FIG-U-1 et FIG-U-2

On remarque l'absence de COVs détectés durant les deux premières semaines (Figure 34 A) pour FIG-U-1 tandis que quelques COVs sont piégés la deuxième semaine pour FIG-U-2 (Figure 34 B).

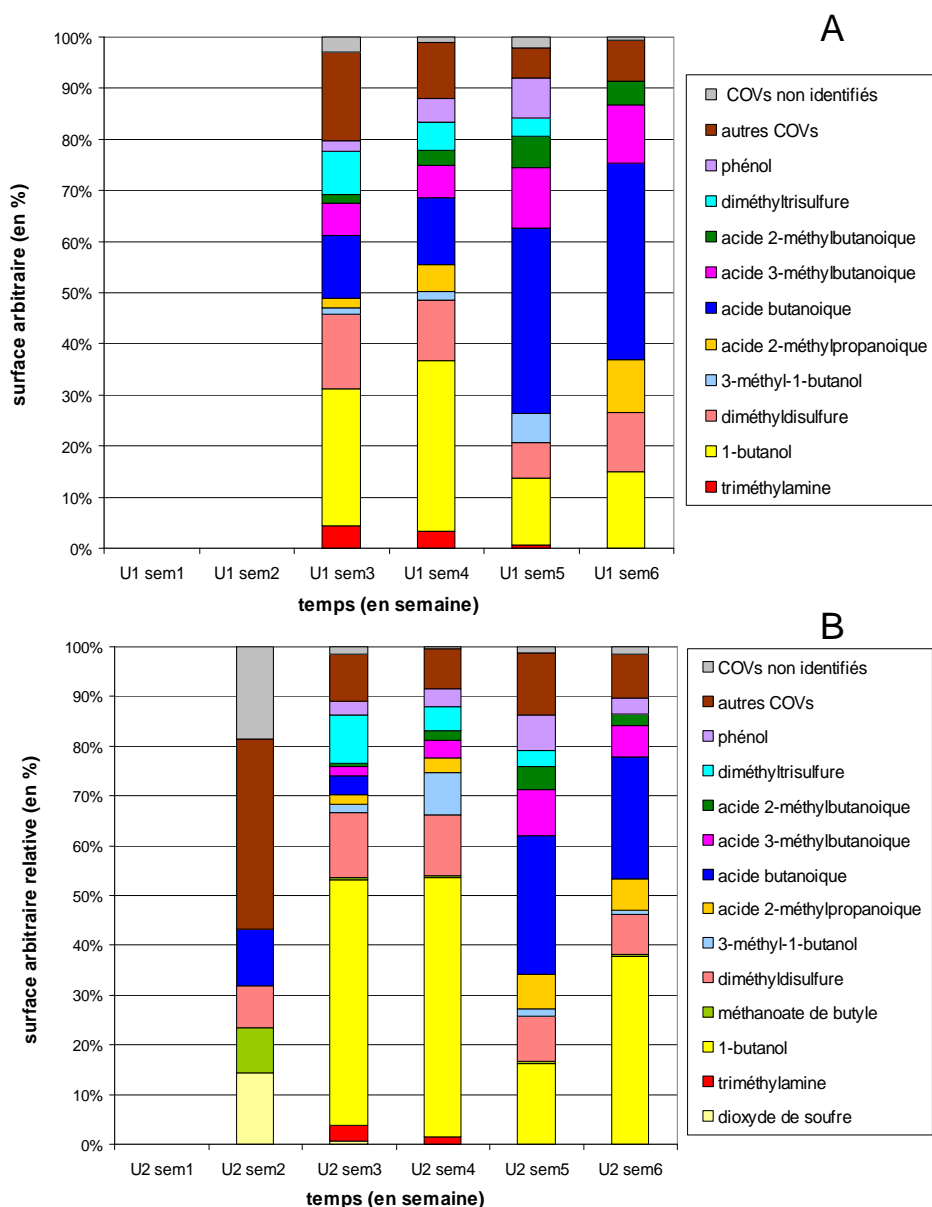


Figure 34. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode Radiello » pour FIG-U-1 (A) et FIG-U-2 (B) en fonction du temps (en semaine).

Pour FIG-U-2, il faut également mentionner une proportion plus importante de « COVs non identifiés » (18,5% du total des pics) au cours de la semaine 2.

Le 1-butanol est en proportion plus importante au cours des semaines 3 et 4 de même que les sulfures ; on remarque d'ailleurs l'absence de diméthyltrisulfure à partir de la semaine 6 pour PIG-U-1. La triméthylamine n'est détectée de façon significative qu'au cours des semaines 3 et 4. L'acide butanoïque et ses formes méthylées sont prépondérants au cours des semaines 4 et 5 pour PIG-U-1. Cette constatation est également vraie pour PIG-U-2 mais avec un décalage d'une semaine. En effet, les proportions sont maximales les deux dernières semaines.

En outre, pour PIG-U-2, on détecte du dioxyde de soufre au cours des prélèvements effectués lors des semaines 2 et 3 ainsi que du méthanoate de butyle.

### **b. Comparaison entre PIG-U-1 et PIG-U-2**

Une différence majeure entre les deux profils d'émission de volatiles est la détection de COVs émis par PIG-U-2 dès la semaine n°2 contrairement à PIG-U-1 où il faut attendre la semaine n°3.

L'émission des COVs principaux suit la même évolution au cours du temps pour les 2 carcasses. Les semaines 3 et 4 se caractérisent par une plus grande proportion de 1-butanol et des sulfures. Le diméthyltrisulfure n'est détecté de façon significative qu'au cours des semaines 3 à 5 tandis que le diméthyldisulfure a été prélevé sur les cartouches Radiello® jusqu'à la fin de la période de suivi « postmortem ». La triméthylamine apparaît de façon significative au cours des semaines 3 et 4.

#### **10.2.1.2. Milieu forestier**

##### **a. PIG-F-1 et PIG-F-2**

Aucun COV n'a été détecté durant la première semaine sur les deux carcasses (Figure 35). Les carcasses commencent à émettre des molécules volatiles détectables avec les cartouches Radiello® à partir de la semaine n°2 où l'on a pu identifier du 1-butanol, de l'acide propanoïque et du phénol sur les prélèvements PIG-F-1. Tandis que seul le phénol est détecté chez PIG-F-2. Au cours de cette deuxième semaine, on remarque également une part non négligeable de « COVs non identifiés » (un peu plus de 10% de la surface totale des pics) sur les prélèvements F1. Pour cette même carcasse, le diméthyldisulfure est présent significativement au cours des semaines 5 et 6 tandis que la proportion de diméthyltrisulfure la plus importante est relevée au cours de la semaine n°4 pour PIG-F-1 et au cours de la semaine 3 pour PIG-F-2.

Un aldéhyde, le butanal, est particulièrement visible au cours des semaines 3 et 6 pour les deux carcasses. La semaine 3 est caractérisée par une grande proportion de 1-butanol et dans une moindre mesure par la présence de composés azotés (principalement de la famille des amides).

Tandis que pour PIG-F-2, cette même semaine se caractérise par la présence de dioxyde de soufre, de triméthylamine et d'amides.

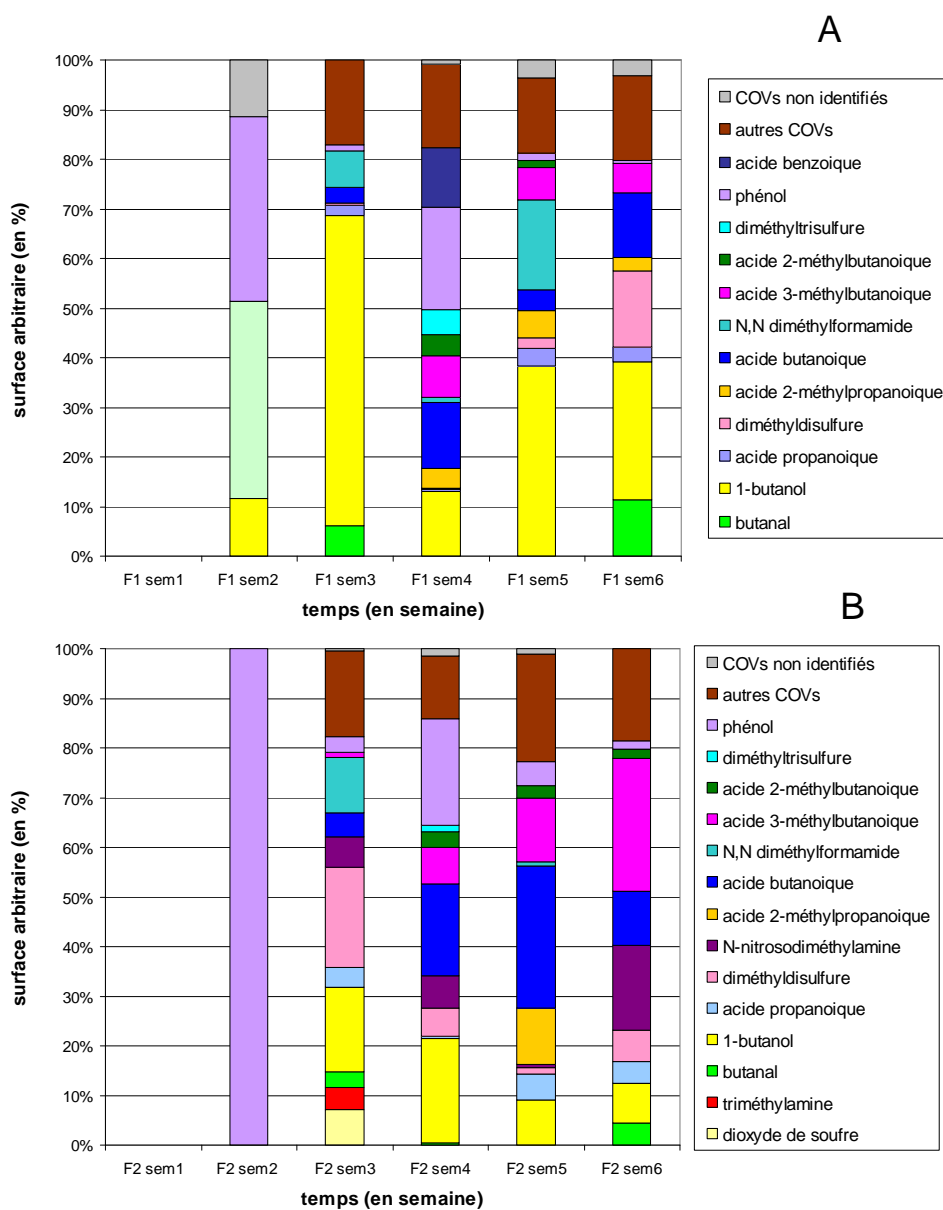


Figure 35. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés pour PIG-F-1 (A) et PIG-F-2 (B) en fonction du temps (en semaine) avec la méthode Radiello.

### b. Comparaison entre PIG-F-1 et PIG-F-2

Les cartouches Radiello n'ont détectés des COVs émis par les carcasses qu'à partir de la semaine n°2. Au cours de la semaine n°2, seul du phénol a pu être identifié sur PIG-F-2 tandis que les prélèvements effectués sur PIG-F-1 indiquent également la présence de 1-butanol et d'acide propanoïque. Le butanal est détecté aux mêmes périodes sur les deux carcasses, soit les semaines 3 et 6.

L'acide benzoïque a uniquement été détecté sur PIG-F-1 au cours de la semaine n°4. Les autres acides sont en général en proportions moins importantes sur les prélèvements effectués sur PIG-F-2 que sur ceux effectués sur PIG-F-1.

### 10.2.1.3. Milieu ouvert

#### a. PIG-O-1 et PIG-O-2

Comme pour les autres prélèvements Radiello®, on ne commence à détecter des COVs émis par la carcasse qu'au cours de la semaine n°2 (Figure 36 A et B).

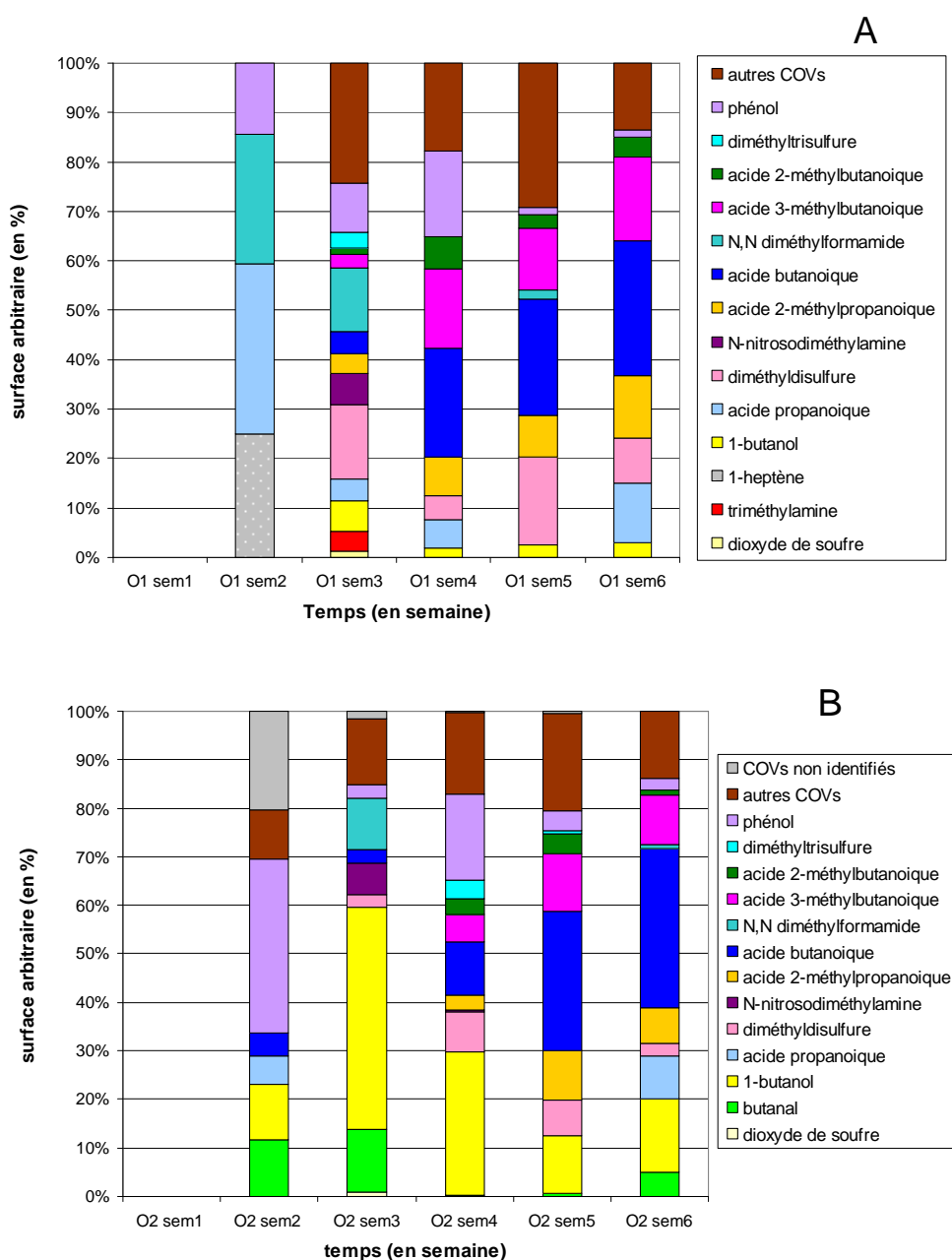


Figure 36. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés pour PIG-O-1 (A) et PIG-O-2 (B) en fonction du temps (en semaine) avec la méthode Radiello.

Les composés identifiés à la semaine 2 sont peu nombreux ; on retrouve du 1-heptène, de l'acide propanoïque et du N,N- diméthylformamide ainsi que du phénol. Ce dernier est d'ailleurs prépondérant sur les prélèvements PIG-O-2. Concernant PIG-O-2, on observe la présence d'une fraction non négligeable de « COVs non identifiés » (environ 20%). Pour PIG-O-1, le dioxyde de soufre et la triméthylamine sont essentiellement présents au cours de la deuxième semaine.

Le diméthyldisulfure est présent de la deuxième semaine (semaine n°3 pour PIG-O-2) à la dernière avec une proportion plus importante au cours de la cinquième semaine pour PIG-O-1 et un à la quatrième semaine pour PIG-O-2. Tandis que le diméthyltrisulfure n'est présent de manière significative qu'au cours de la semaine n°3 sur les échantillons PIG-O-1. Les proportions d'acides volatils augmentent à partir de la semaine 4 et atteignent leur maximum au cours de la semaine n°6 pour PIG-O-1 et au cours de la semaine précédente pour PIG-O-2.

Sur l'histogramme PIG-O-2, on remarque également la présence de butanal, celui-ci a été détecté au cours des semaines 2, 3, 4 et 6.

Pour PIG-O-2, le 1-butanol est prépondérant au cours de la semaine n°3 de même que la N-nitrosodiméthylamine et le N,N-diméthylformamide.

### **b. Comparaison entre PIG-O-1 et PIG-O-2**

La détection des COVs émis par les deux carcasses ne débute qu'à partir de la deuxième semaine. En ce qui concerne la deuxième semaine, on remarque des différences entre PIG-O-1 et PIG-O-2 au niveau du nombre de COVs piégés avec une plus large gamme de COVs émis par PIG-O-2. Les quantités de 1-butanol provenant de PIG-O-1 sont plus faibles que celles enregistrées pour PIG-O-2. Quant à la triméthylamine, elle a été détectée sur les échantillons de volatiles prélevés sur PIG-O-1 mais pas sur PIG-O-2.

#### **10.2.2. Méthode dynamique**

Les résultats sont présentés de la même manière que ceux obtenus avec la méthode passive. Pour rappel, la méthode dynamique a permis d'identifier 50 COVs distincts.

La liste des composés majoritaires est reprise au Tableau 7. Quant aux composés minoritaires, ils ont été regroupés sous la catégorie « autres COVs » afin de faciliter la lecture des résultats. Ce regroupement inclut des quinazolines, des composés oxygénés, des acides et des composés azotés.

**Tableau 7.**Liste des COVs majoritaires identifiés avec la technique dynamique ( Rouge :détecté, Bleu, non détecté).

COVs	PIG-F-1	PIG-F-2	PIG-O-1	PIG-O-2	PIG-U-1	PIG-U-2
Composés soufrés						
diméthyltrisulfure						
Aldéhydes						
benzaldéhyde						
hexanal						
heptanal						
octanal						
nonanal						
Acides						
acide 2-méthylpropanoïque						
acide butanoïque						
acide 3-méthylbutanoïque						
acide 2-méthylbutanoïque						
acide pentanoïque						
Composés aromatiques						
phénol						
<i>p</i> -crésol						
indole						
2-pipéridone						
2,6-diisopropylnaphtalène						
Hydrocarbures non cycliques						
pentadécane						
heptadécane						

### 10.2.2.1. Milieu urbain

#### a. PIG-U-1 et PIG-U-2

Aucun COV n'est détecté au cours des deux premières semaines (Figure 37). La semaine n°3 se caractérise par la présence d'acide butanoïque et de ses formes méthylées (3-méthyl et 2-méthyl) ainsi que par une proportion importante d'indole. Celui-ci sera détecté jusqu'à la fin de la période d'expérimentation. Pour les deux carcasses, le diméthyltrisulfure est prépondérant au cours des semaines 3 et 4. La proportion des acides (acide butanoïque, acide 2-méthylbutanoïque et 3- méthylbutanoïque ainsi que l'acide 2-méthylpropanoïque) est plus importante pour les semaines 5 et 6. On remarque une diminution des proportions de *p*-crésol dès la 3ème semaine, celles-ci deviennent minimales à partir de la semaine n°5.

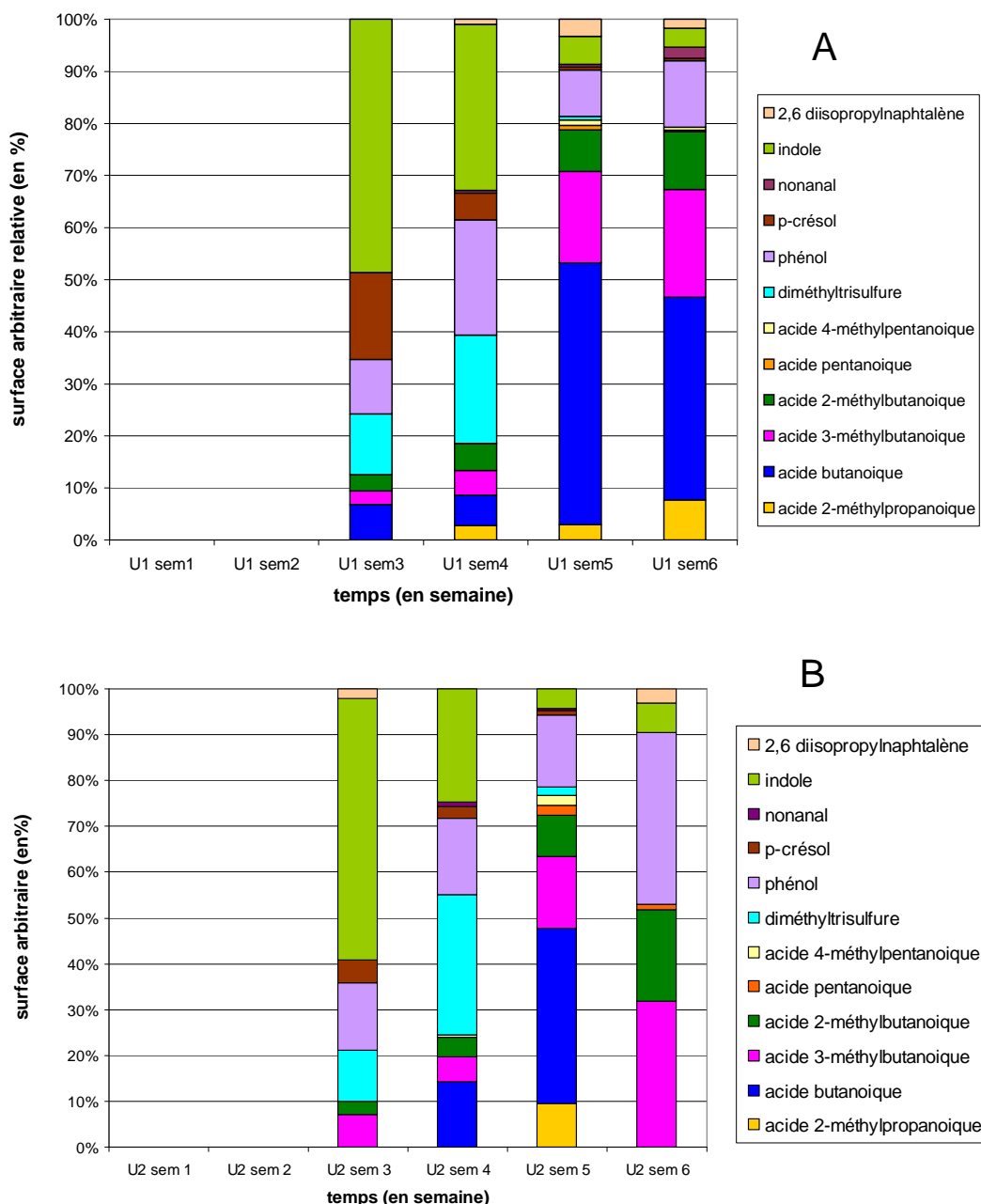


Figure 37. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour FIG-U-1 (A) et FIG-U-2 (B) en fonction du temps (en semaine).

### b. Comparaison entre FIG-U-1 et FIG-U-2

Les deux carcasses émettent un profil de molécules au cours du temps assez similaires avec la non détection de COVs spécifiques aux carcasses en décomposition pendant les deux premières semaines. L'indole est prépondérant dès la troisième semaine et reste présent de façon significative jusqu'à la sixième semaine. Quant au diméthyltrisulfure, il atteint sa proportion maximale au cours de la semaine n°4, mais il est également présent de façon non négligeable lors de la troisième semaine. Par contre, il devient moins important à partir de la semaine 5.



Les acides sont présents dès la troisième semaine et suivent une même tendance, soit une augmentation progressive des proportions avec un maximum au cours de la cinquième semaine.

#### **10.2.2.2. Milieu forestier**

##### **a. PIG-F-1 et PIG-F-2**

On ne détecte aucun COVs spécifiques à la carcasse avant la troisième semaine pour PIG-F-1 tandis que le phénol est détecté dès la deuxième semaine pour PIG-F-2 (Figure 38). Par contre, une plus large variété de COVs est décelée au cours de la troisième semaine sur les prélèvements PIG-F-1 que sur ceux attribués à PIG-F-2 (phénol et p-crésol). En effet, cinq composés sont identifiés au cours de la troisième semaine sur PIG-F-1 : les acides 3- et 2-méthylbutanoïque, le phénol, le p-crésol et l'indole. Ce sont les composés phénoliques (phénol et p-crésol) qui sont prépondérants durant cette semaine. La semaine 4 se caractérise par une importante proportion de phénol et l'apparition d'acide butanoïque en plus de ses formes méthylées. La part des acides augmente progressivement à partir de la quatrième semaine. Ceux-ci sont prépondérants la cinquième semaine, mais ils sont absents la dernière semaine. Les aldéhydes (hexanal, heptanal, octanal, nonanal) font leur apparition la cinquième semaine et sont nettement majoritaires la dernière semaine, notamment le nonanal. D'une manière générale, on remarque que les sulfures ne font pas partie des composés prépondérants.

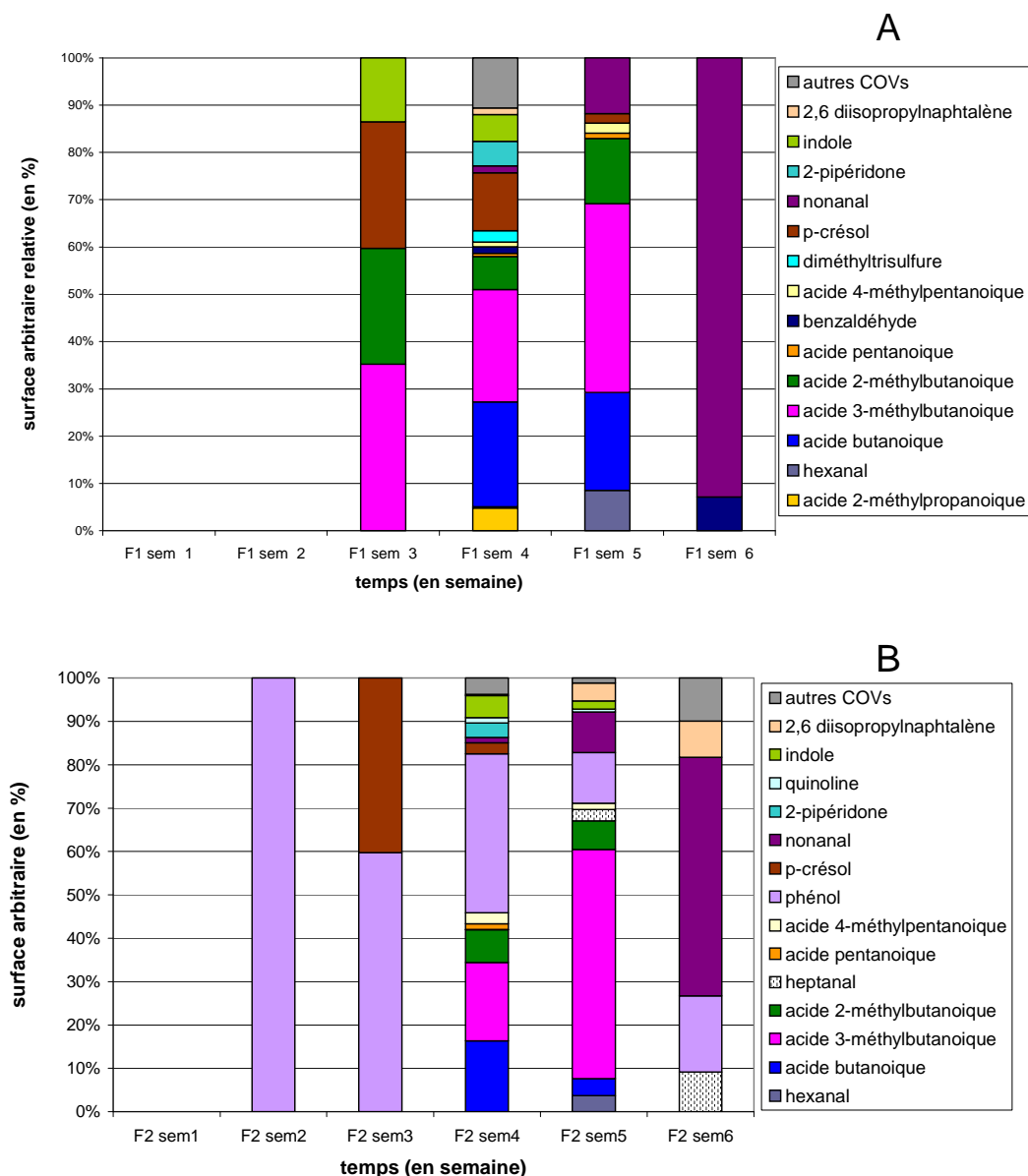


Figure 38. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour PIG-F-1 (A) et PIG-F-2 (B) en fonction du temps (en semaine)

### b. Comparaison entre PIG-F-1 et PIG-F-2

Mis à part la détection précoce de phénol sur la carcasse PIG-F-2 la deuxième semaine, les composés détectés avec la méthode dynamique suivent la même tendance sur les deux carcasses. On remarque que le diméthyltrisulfure est présent, mais dans des proportions assez limitées. Les acides sont majoritaires la semaine 5 et tendent à disparaître la semaine 6 (Figure 39).

La sixième semaine se caractérise par l'abondance d'aldéhydes, surtout le nonanal.

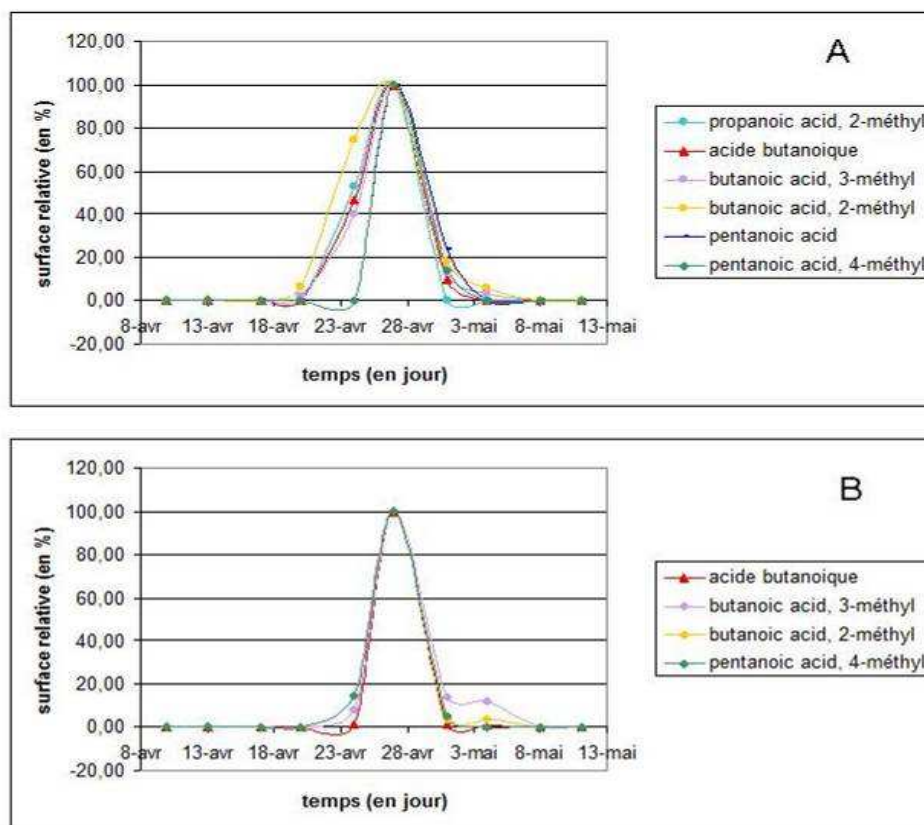


Figure 39. Profil d'émissions des acides (A : PIG-F-1, B : PIG-F-2).

### 10.2.2.3. Milieu ouvert

#### a. PIG-O-1 et PIG-O-2

Les COVs attribués à la décomposition des porcelets sont détectés à partir de la deuxième semaine (Figure 40). De manière similaire au milieu forestier, on retrouve les acides 3- et 2-méthylbutanoïque, le diméthyltrisulfure ainsi que le phénol et l'indole sur les prélèvements PIG-F-1. Pour PIG-O-2, les acides butanoïques (3- et 2-méthylbutanoïque) ainsi que l'acide pentanoïque n'apparaîtront seulement qu'au cours de la troisième semaine. Le p-crésol est également détecté de façon plus significative qu'au cours des autres semaines. Le diméthyltrisulfure est également détecté la troisième semaine puis tend à disparaître. Pour PIG-O-1, la troisième semaine se caractérise par une importante proportion de phénol, celui-ci sera moindre au cours des semaines 4, 5 et 6 tandis qu'on observe des proportions de phénol relativement constantes durant les semaines 3 à 5 chez PIG-O-2. Les acides augmentent fortement la quatrième semaine et atteignent leur maximum lors de la cinquième semaine. La 2-pipéridone est détectée la quatrième semaine, mais également la cinquième semaine en ce qui concerne O2. La sixième semaine se démarque des autres par la présence d'aldéhydes (hexanal, heptanal, octanal et nonanal) et d'alcane (pentadécane et heptadécane).

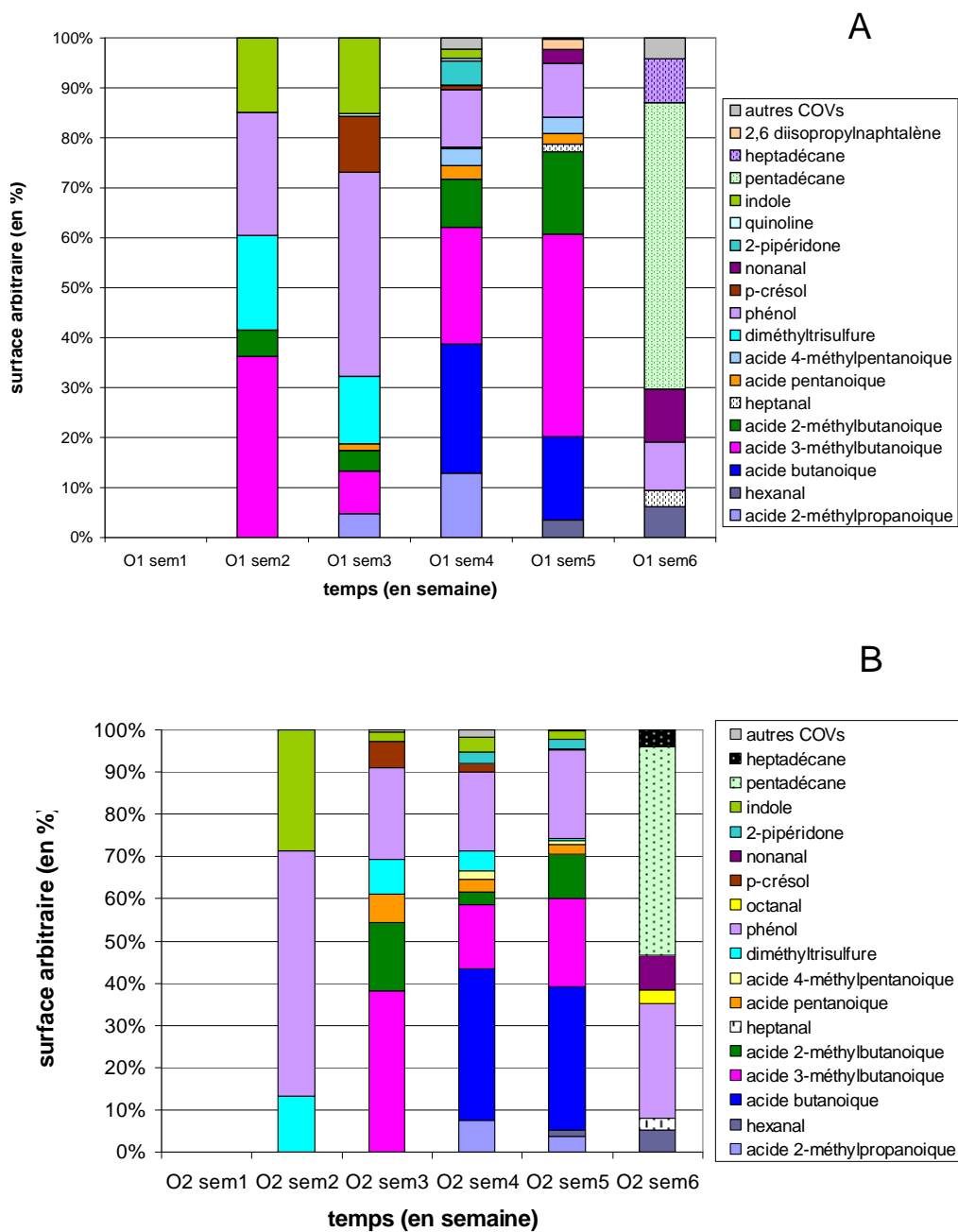


Figure 40. Répartition des surfaces relatives des différents COVs identifiés avec la « méthode dynamique » pour PIG-O-1 (A) et PIG-O-2 (B) en fonction du temps (en semaine)

### b. Comparaison entre PIG-O-1 et PIG-O-2

Les deux carcasses n'émettent de COVs détectables avec la « méthode dynamique » qu'à partir de la deuxième semaine. PIG-O-1 se distingue de PIG-O-2 par la présence des acides 3- et 2-méthylbutanoïque dès la deuxième semaine. Les acides sont nettement dominants à la cinquième semaine tandis que le diméthyltrisulfure ne l'est vraiment que les semaines 2 et 3.

Dans les deux cas, les aldéhydes apparaissent au cours des deux dernières semaines (Figure 41). La sixième semaine enregistre la présence de deux alcanes : le pentadécane et l'heptadécane, avec une nette prépondérance du pentadécane.

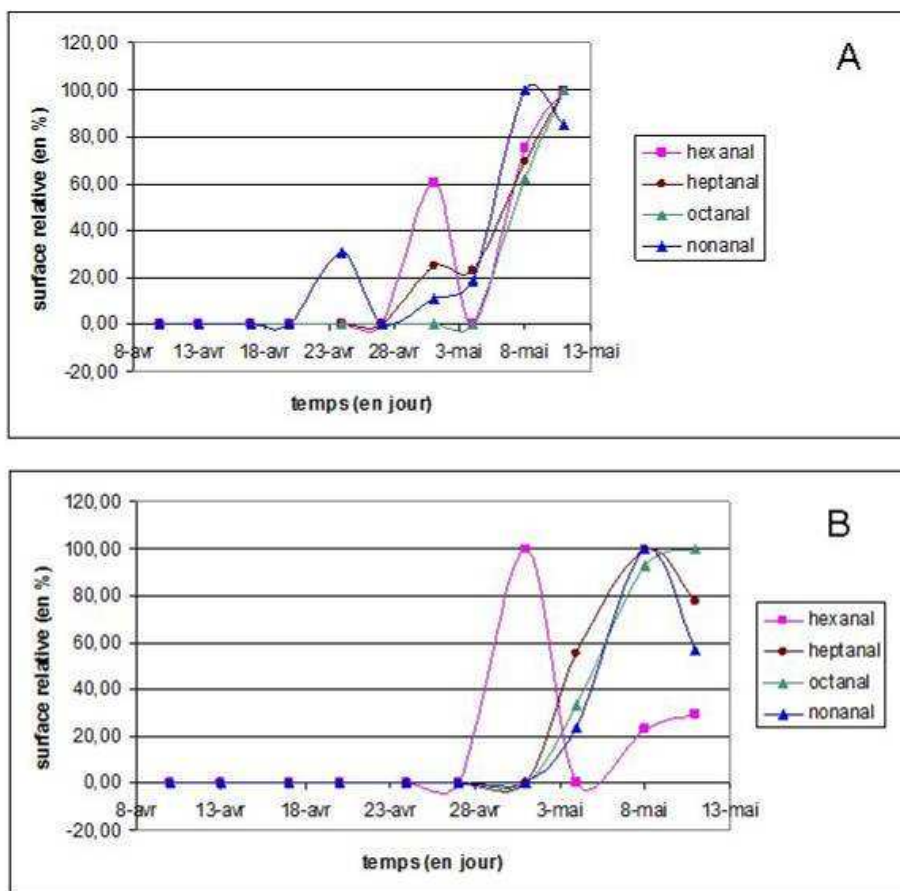


Figure 41. Profil d'émissions des aldéhydes au cours du temps (en jour) (A : PIG-O-1, B : PIG-O-2).

### 10.3. Synthèse sur le prélèvement des COVs et des méthodes d'analyse

Les molécules émises par les carcasses identifiées au cours de cette étude sont en adéquation avec la littérature. Un tableau (Tableau 8) reprend la liste des molécules identifiées dans cette étude et les références bibliographiques ayant trait aux prélèvements des COVs réalisés dans le domaine de la décomposition des carcasses de mammifères.

Tableau 8. Liste des COVs identifiés au cours des processus de décomposition dans la bibliographie et retrouvés dans cette étude.

composé	Références bibliographiques	composé	Références bibliographiques
<b>Acides</b>		<b>Amines</b>	
Acide acétique	5	triméthylamine	7
acide 2-méthylbutanoïque	9	<b>Nitriles</b>	
acide 2-méthylpropanoïque	7-9	benzonitrile	2
acide 3-méthylbutanoïque	9	<b>Composés aromatiques cycliques</b>	
acide benzoïque	7	indole	1-3-4-6-7
acide butanoïque	1-3-6-7-9	2,6 diméthylpyrazine	9
acide heptanoïque	7	cumène	1-7
acide hexanoïque	7	3-carène	7
acide octanoïque	7	éthylméthylbenzène	1-2
acide oléique	7	1-méthylnaphtalène	2-7
acide nonanoïque	7	<b>Sulfures</b>	
acide pentanoïque	7	diméthydisulfure	1-2-7-9
acide propanoïque	1-3-5-7	diméthyltrisulfure	1-2
<b>Esters</b>		dioxyde de soufre	1-2-3-7
acide acétique butylester	7	disulfure de carbone	1-2
acide butanoïque butylester	7	<b>Alcènes</b>	
<b>Alcools</b>		2-méthyl-1-propène	1
1-butanol	1-5-6-8	1-pentène	1
2-butanol	8	<b>Cétones</b>	
1-pentanol	1-7-9	2-butanone	1
éthanol	1-5-6-8	2,3 butanedione	9
2-méthyl-1-propanol	1-8	2-heptanone	1-7-9
3 méthyl-1-butanol	7-8-9	2-pentanone	1
2-éthyl-1-hexanol	2	acétone	1-5-6-8
2-phényl-éthanol	8	acétophénone	8
1-octen-3-ol	9	2-décانونe	7
1-octanol	9	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;">                     Références bibliographiques:                      - 1: Statheropoulos et al. ,2005                      - 2: Vass et al., 2004                      - 3: Vass, 2001                      - 4: Vass et al., 2002                      - 5: Gill-King ,1997                      - 6: Dent et al., 2004                      - 7: Smets et al., 2007.                      - 8: O'Neal et al., 1996                      - 9: Kondjoyan et al., 1997                 </div>	
<b>Aldéhydes</b>			
acétaldéhyde	1-8		
2-butenal	7		
2-méthylbutanal	9		
3-méthylbutanal	9		
benzaldéhyde	2-7		
heptanal	7-9		
hexanal	1-7-9		
pentanal	1-9		
nonanal	2-7-9		
octanal	7-9		

Les deux méthodes utilisées pour le prélèvement des composés organiques volatiles émis par les carcasses de porc se sont avérées complémentaires. En effet, la présence d'indole étant essentiellement révélée sur les échantillons prélevés dynamiquement tandis que le piégeage des alcools, des sulfures et des composés azotés est meilleure avec l'utilisation des Radiellos®. En effet, la méthode Radiello® a montré une plus grande diversité de COVs piégés.

Néanmoins, il faut rappeler que ces Radiello® restaient en place pendant une semaine tandis que les prélèvements dynamiques n'étaient effectués que deux fois par semaine pendant une heure. Afin de permettre de mieux comparer ces deux méthodes de prélèvement, il conviendrait dès lors d'augmenter la durée de prélèvement dynamique.

Outre la technique de prélèvement, les méthodes d'analyses et particulièrement le type de colonne chromatographique sont également à prendre en considération. En effet, le fait d'avoir utilisé différentes méthodes d'analyses permet de mettre en avant la mieux adaptée à l'étude des COVs spécifiques à la décomposition de la matière organique. La plupart des composés identifiés étant polaires (alcools, acides gras, phénols, amines (I et II)) ou de polarité intermédiaire (cétones, aldéhydes, esters, nitriles), une colonne polaire ou légèrement polaire répondrait mieux à nos besoins. Cependant, les composés soufrés (CS<sub>2</sub>, sulfures, thiols) ainsi que les hydrocarbures saturés sont apolaires ; une colonne non polaire est plus adaptée. Un bon compromis serait d'utiliser une colonne légèrement polaire, ou, si les conditions de travail le permettent, de réaliser en doublé les analyses sur colonne polaire et sur colonne apolaire.

## 11. Suivi et caractérisation des stades de décomposition

### 11.1. Perception des odeurs

Un tableau synthétique (Tableau 9) reprenant l'intensité des odeurs dégagées par les carcasses de porc au cours du temps (caractérisation au moment des prélèvements de COVs) est présenté ci-dessous. Il faut souligner que ces observations ont été réalisées au cours du suivi de terrain alors que les résultats des analyses chromatographiques n'étaient pas encore connus. La perception des odeurs par l'odorat humain est fonction des individus, il s'agit donc d'une notion subjective et propre à chacun.

**Tableau 9. Perception olfactive de l'intensité des odeurs cadavériques dégagées par les carcasses en fonction du temps (0 : absence d'odeur, - : odeur légèrement perceptible, + : odeur perceptible, ++ : odeur assez forte, +++ : odeur très forte)**

Date	PIG-U-1	PIG-U-2	PIG-F-1	PIG-F-2	PIG-O-1	PIG-O-2
31/03/07	0	0	0	0	0	0
06/04/07	-	-	0	0	0	-
10/04/07	+	-	-	-	-	-
13/04/07	+	+	+	+	+	+
17/04/07	+++	+++	+++	++	+++	++
20/04/07	++	++	++	+++	++	++
24/04/07	++	++	++	++	++	++
27/04/07	++	++	+	++	++	++
30/04/07 ou 01/05/07	++	++				
04/05/07	++	++	-	-	-	+
08/05/07	+	+	-	-	0	-
11/05/07	+	+	0	0	0	-

Aucune odeur cadavérique n'est perçue avant la fin de la première semaine, soit le 6 avril. Ce sont les carcasses disposées dans le milieu urbain (bâtiment) qui émettent les premières une légère odeur perceptible par l'odorat humain lorsque l'on se situe à moins de 50cm de celles-ci. Le fait d'être dans un bâtiment confine les odeurs dans la pièce ce qui n'est pas le cas au sein des milieux naturels ou l'aération disperse les molécules odorantes dans l'environnement. Au cours de la deuxième semaine (du 6/04 au 13/04), les carcasses dégagent une odeur perceptible lorsque l'on se situe à proximité (distance inférieure à 1m). C'est au cours de la troisième semaine de suivi « postmortem » que les carcasses dégagent l'odeur la plus forte, particulièrement en milieu de semaine (le 17 avril). Par la suite, les odeurs émises par le corps seront moins « agressives » avec une quasi complète disparition pour les milieux ouverts et forestiers.



## 11.2. Stades de décomposition

L'évolution du processus de décomposition a été suivie durant toute la période expérimentale, un tableau synthétique (Tableau 10) illustre les principaux stades de décomposition (*fresh*, *bloating*, *active decay*, *advanced decay*) par lesquels sont passés les carcasses de porcs. Le cinquième stade (*dry/ remains*), où seuls subsistent les os, n'a pas été atteint en six semaines de suivi « postmortem ».

L'évolution, au cours du temps, des différents stades de décomposition a été spécifiée pour chaque carcasse à la Figure 42.

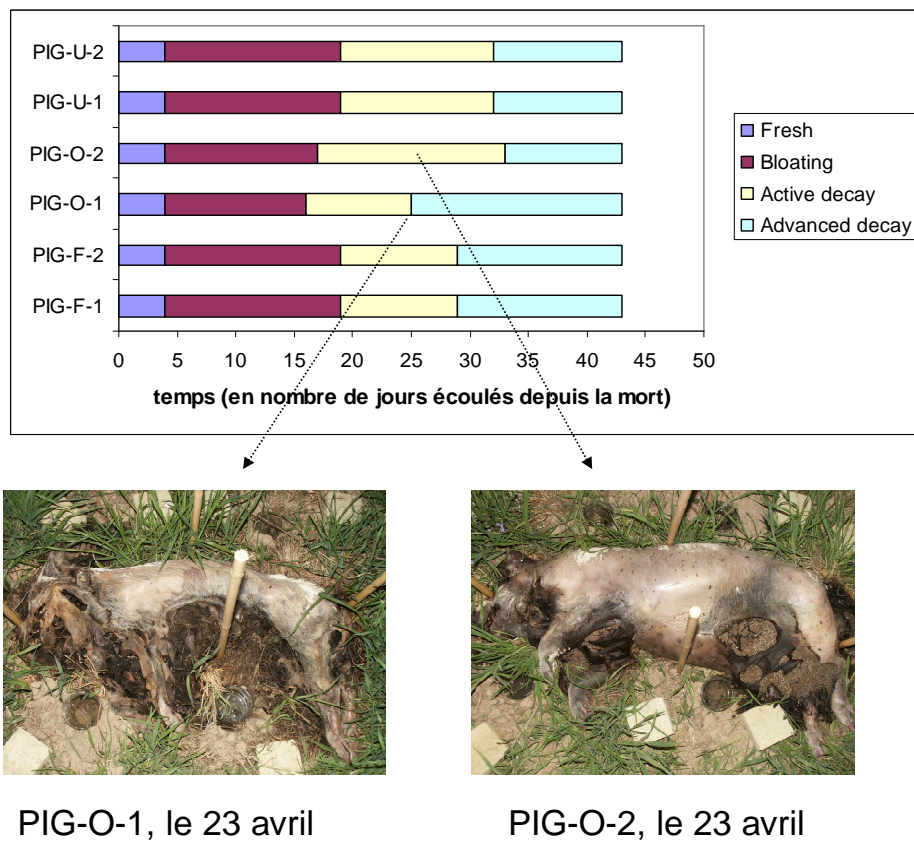


Figure 42. Evolution en fonction du temps des différents stades de décomposition pour les six carcasses de porc.

Les carcasses déposées dans chaque milieu passent par les mêmes stades de décomposition à des moments similaires. Cependant, on remarque un décalage entre PIG-O-1 et PIG-O-2. PIG-O-1 s'est décomposé beaucoup plus vite que les autres carcasses.















Stade de décomposition	<i>Fresh</i>	<i>Bloating</i>	<i>Active Decay</i>	<i>Advanced Decay</i>
Milieu forestier <b>PIG-F-1</b>	 31 mars	 15 avril	 23 avril	 8 mai
Milieu ouvert <b>PIG-O-1</b>	 31 mars	 9 avril	 18 avril	 4 mai
Milieu urbain <b>PIG-U-2</b>	 30 mars PIG - U - 2	 6 avril PIG - U - 2	 17 avril	 11 mai

Tableau 10. Illustration des différents stades de décomposition des carcasses de porc dans les trois milieux d'étude.

## 12. Les insectes nécrophages

### 12.1. Etude qualitative de l'entomofaune nécrophage

Les insectes observés sur les carcasses appartiennent à plusieurs ordres ; des Diptères, des Coléoptères ainsi que quelques Hyménoptères. Seuls les insectes réputés nécrophages ont été identifiés et ce, le plus précisément possible. Etant donné le nombre important de spécimens prélevés durant les six semaines d'expérimentation, et la non disponibilité de clefs d'identification adaptées à toutes les familles retrouvées, une part non négligeable des spécimens n'a pu être identifiée jusqu'à l'espèce.

Parmi les Diptères récoltés, les familles identifiées sont des Calliphoridae avec trois sous-familles (Calliphorinae, Luciliinae et Chrysomiinae), des Muscidae, des Scatophagidae ainsi que des Syrphidae. L'ordre des Coléoptères est représenté par différentes familles dont des Silphidae avec des membres des deux sous-familles : Silphinae et Nicrophorinae. Un grand nombre de Staphylinidae a également été récolté dans les pièges ainsi que des Histeridae. Ont également été récoltés autour des carcasses des Carabidae, des Geotrupidae ainsi que des Scarabaeidae. Des petits Coléoptères appartenant aux Cleridae et aux Nitidulidae ont été recensés de même que des Dermestidae et des Hydrophilidae terrestres.

La liste des principaux insectes nécrophages (Diptères et Coléoptères) identifiées est reprise aux Tableaux 11 et 12.

Outre les stades immatures des Diptères, des larves de Coléoptères, notamment de *Silpha* sp. ainsi que de Staphylinidae ont été observées à partir du 20 avril, soit après 22 jours de suivi postmortem.

#### 12.1.1. Diptères

Les Diptères identifiés au cours de la période expérimentale sont repris au Tableau 11. Il faut remarquer l'absence d'une famille d'importance forensique : les Sarcophagidae. Ceci est probablement dû à la période d'expérimentation. En effet, les Sarcophagidae arrivent plus tard dans la saison (fin du printemps) or la période de suivi postmortem s'est déroulée du 30 mars au 11 mai 2007.

Tableau 11. Liste des Diptères (rouge : présence, bleu : absence) prélevés sur les carcasses de cochon en fonction du milieu (F: Forestier, O: Ouvert, U: Urbain).

Espèces	F	O	U
<b>calliphoridae</b>			
Lucilinae <sup>11</sup>			
<i>Lucilia type caesar</i>			
<i>Lucilia type sericata</i>			
Chrysomiinae			
<i>Phormia regina</i>			
Calliphorinae			
<i>Calliphora vicina</i>			
<i>Calliphora vomitoria</i>			
<b>Scatophagidae</b>			
<i>Scatophaga stercoraria</i>			
<b>Syrphidae</b>			
<i>Eristalis tenax</i>			

Les bacs jaunes utilisés pour piéger les insectes volants tels que les Diptères se sont avérés efficaces dans les milieux naturels mais inopérants au sein du bâtiment situé à Bruxelles. Des piégeages manuels ont donc été effectués dans le milieu urbain pour pouvoir identifier les espèces en présence. Ceux-ci ont révélé la présence de trois espèces dont deux nettement prépondérantes : *Calliphora vicina* et *Lucilia sericata* ; un seul spécimen de *Calliphora vomitoria* a été prélevé à l'intérieur du bâtiment.

### 12.1.2. Coléoptères

La liste des principaux Coléoptères présents aux alentours des carcasses est présentée au Tableau 12. L'utilisation de « pitfall trap » autour des carcasses a permis de récolter de nombreux spécimens. Cependant cette étude s'est plus particulièrement intéressée à l'étude des Coléoptères nécrophages (les Silphidae).

<sup>11</sup> La distinction entre les différentes espèces de Luciliinae se fait sur base des *génitalia*, seul le type est donc repris.



**Tableau 12. Liste des Coléoptères (rouge : présence, bleu : présence) prélevés sur les carcasses de cochon en fonction du milieu (F: Forestier, O: Ouvert, U: Urbain).**

Espèces	F	O	U	Espèces	F	O	U
Silphidae				Scarabaeidae			
Silphinae				<i>Onthophagus sp.</i>			
<i>Silpha thoracica</i>				<i>Aphodius sp.</i>			
<i>Silpha sinuata</i>				Cleridae			
<i>Silpha rugosa</i>				<i>Necrobia rufipes</i>			
<i>Silpha (Necrodes) littoralis</i>				<i>Necrobia ruficollis</i>			
Nicrophorinae				<i>Necrobia violaceae</i>			
<i>Nicrophorus humator</i>				Nitidulidae			
<i>Nicrophorus vespillo</i>				<i>Omosita depressa</i>			
<i>Nicrophorus vespilloides</i>				<i>Omosita discoidea</i>			
Staphylinidae				Hydrophilidae			
<i>Creophilus maxillosus</i>				<i>Sphaeridium scarabaeoides</i>			
<i>Ocypus olens</i>				Dermestidae			
<i>Ontholestes sp.</i>				<i>Dermestes maculatus</i>			
<i>Philonthus marginatus</i>				Histeridae			
Geotrupidae				<i>Hister sp</i>			
<i>Geotrupes stercorarius</i>				<i>sp 2 non identifiée</i>			
<i>Thyphoeus thyphoeus</i>							

Par rapport aux milieux naturels, peu de Coléoptères ont été observés sur les carcasses placées dans le milieu urbain. Cependant, il faut noter l'absence de piégeage spécifique aux Coléoptères au sein du milieu urbain. Or ceux-ci ont permis d'identifier la présence d'espèces non visibles lors des visites de terrain en journée.

## 12.2. Etude quantitative de l'entomofaune nécrophage

Un peu plus de 5600 insectes, appartenant aux familles précitées, ont été identifiés tous milieux confondus. La suite de cette étude se penche sur deux familles particulièrement importantes en abondance : les Calliphoridae et les Silphidae. Pour plus de lisibilité dans les résultats, les spécimens récoltés sur les carcasses disposées dans un même milieu ont été regroupés. Les prélèvements entomologiques effectués lors de la période d'expérimentation ont également été regroupés par semaine.

### 12.2.2. Calliphoridae

Les espèces de Calliphoridae identifiées sont *Calliphora vicina* et *C. vomitoria*, *Lucilia type Caesar* et *type sericata*. Une espèce de *Phormia* a également été identifiée : *Phormia regina*. Il y avait trop peu de spécimens sur PIG-U-1 et PIG-U-2 (milieu urbain) pour pouvoir réaliser une étude quantitative. Cependant, on remarque des différences entre les milieux d'étude. En effet, pour le milieu urbain, l'espèce de Lucilinae prépondérante est *Lucilia sericata* tandis que dans les milieux naturels on retrouve principalement *L. caesar*. Une deuxième tendance inverse est également observée avec les *Calliphora* ; *C. vicina* est principalement identifiée sur le site urbain tandis que *C. vomitoria* est majoritaire au sein des milieux naturels.

Une comparaison entre le milieu forestier et le milieu agricole a été réalisée sur base du nombre d'individus de chaque espèce récoltée avec les piégeages (bacs jaunes et *pitfall trap* confondus) (Figure 43). Les mêmes espèces de Calliphoridae ont été retrouvées dans les deux milieux : *C. vomitoria*, *C. vicina*, *P. regina*, *L. sericata* et *L. caeasar*. Par contre leur abondance et leur occurrence varient d'un milieu à l'autre.

- a. ***Lucilia type caesar*** : une des espèces de Calliphoridae prépondérante dans le milieu forestier, particulièrement au cours de la troisième semaine (81 spécimens) alors qu'elle n'a pas été piégée au cours de cette même semaine dans le milieu agricole.
- b. ***Lucilia type sericata*** : cette espèce est peu abondante dans les deux milieux. Sa présence n'a été relevée qu'au cours des semaines 3 et 4.
- c. ***Phormia regina*** : cette espèce n'a été relevée dans les pièges qu'à partir de la troisième semaine et uniquement durant cette semaine au sein du milieu forestier tandis que sa présence est également enregistrée dans les semaines ultérieures pour le milieu ouvert. On observe d'ailleurs un maximum (10 spécimens) au cours de la 4<sup>ème</sup> semaine.
- d. ***Calliphora vomitoria*** : il s'agit de l'espèce de Calliphoridae la plus abondante au sein des deux milieux. Elle est présente dès la première semaine, 93 spécimens piégés la première semaine en milieu forestier contre un peu plus de 60 en milieu ouvert. On observe un décalage entre les pics d'abondance pour les deux milieux. Cette espèce est prépondérante au cours de la troisième semaine en milieu forestier alors que ce maximum est déplacé à la quatrième semaine pour le milieu ouvert.

e. *Calliphora vicina* : elle est moins abondante que *C. vomitoria* et est principalement piégée au cours des deux premières semaines

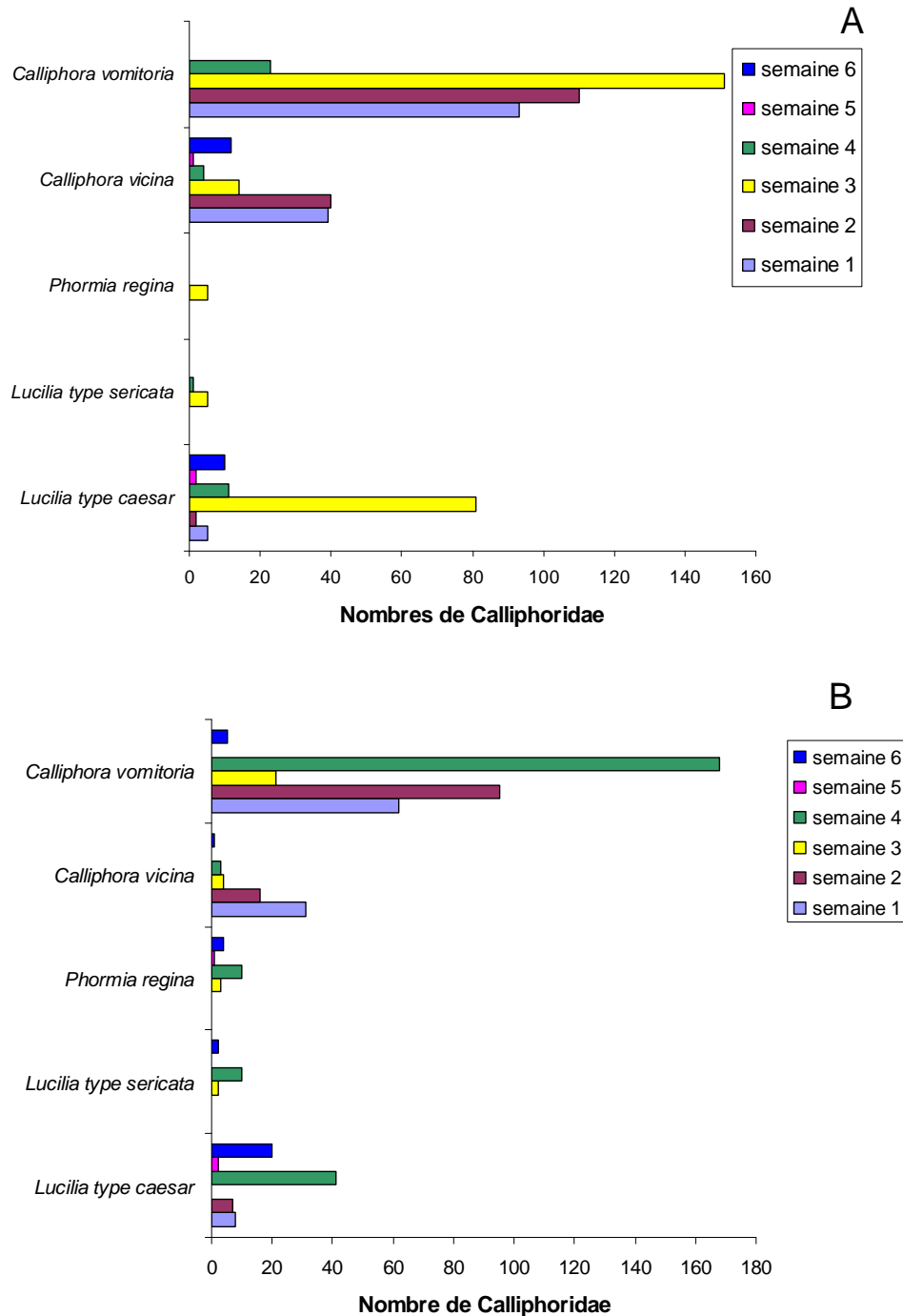


Figure 43. Répartition, par semaine (semaine 1 à 6), du nombre de Calliphoridae identifiées sur les carcasses présentes dans les milieux forestiers (A) et ouvert (B).

Il faut noter que les températures maximales enregistrées au cours de la semaine 3 (13 au 20 avril) dans le milieu ouvert sont particulièrement élevées (voir graphiques avec relevés des températures min, max et moyenne en annexes). En effet, des pointes de chaleur approchant les 35°C ont été relevées et une mortalité au niveau de la masse larvaire a également été observée sur PIG-O-2. Cette chaleur, excessive pour la saison, a eu une influence sur le nombre de Calliphoridae piégées. En effet, les Calliphoridae sont peu représentées au cours de la troisième semaine au sein du milieu ouvert. Cette hausse de température est moindre en milieu forestier (T max d'environ 30°).

Le genre *Calliphora* est présent quasiment toute l'année tandis que la majorité des *Lucilia* n'apparaissent que vers la fin du printemps [Wyss et Cherix, 2006]. Cependant, les températures exceptionnelles du mois d'avril ont contribué à l'apparition plus précoce des Luciliinae.

Les Calliphoridae ont été les premiers insectes à coloniser les carcasses. Dès le 1<sup>er</sup> jour de suivi postmortem (30 mars) des pontes de Calliphoridae ont été observées sur les carcasses déposées au sein des milieux naturels. Les Calliphoridae sont presque absentes des piégeages au cours des deux dernières semaines de suivi. Les stades de décomposition des carcasses étant alors peu favorables à de nouvelles pontes. En effet, l'absence de tissus mous et de chair sur les carcasses rend celles-ci particulièrement impropres au développement des larves de Calliphoridae.

### 12.2.2. Silphidae

Entre six (milieu ouvert) et sept (milieu forestier) espèces de Silphidae ont été identifiées de façon récurrente sur les carcasses : *Silpha thoracica*, *S. sinuata*, *S. rugosa*, *S. littoralis*, *Nicrophorus humator*, *N. vespillo* et *N. vespilloides*. Cependant, il faut remarquer l'absence de *S. thoracica* en milieu ouvert. En effet, le milieu forestier est son biotope de prédilection [Hastir et Gaspar, 2001]. Une comparaison entre les deux biotopes est présentée à la figure 44. Le nombre de Silphidae récolté en milieu ouvert dépasse largement le nombre de récoltes en milieu forestier, notamment avec le piégeage de *S. sinuata*.



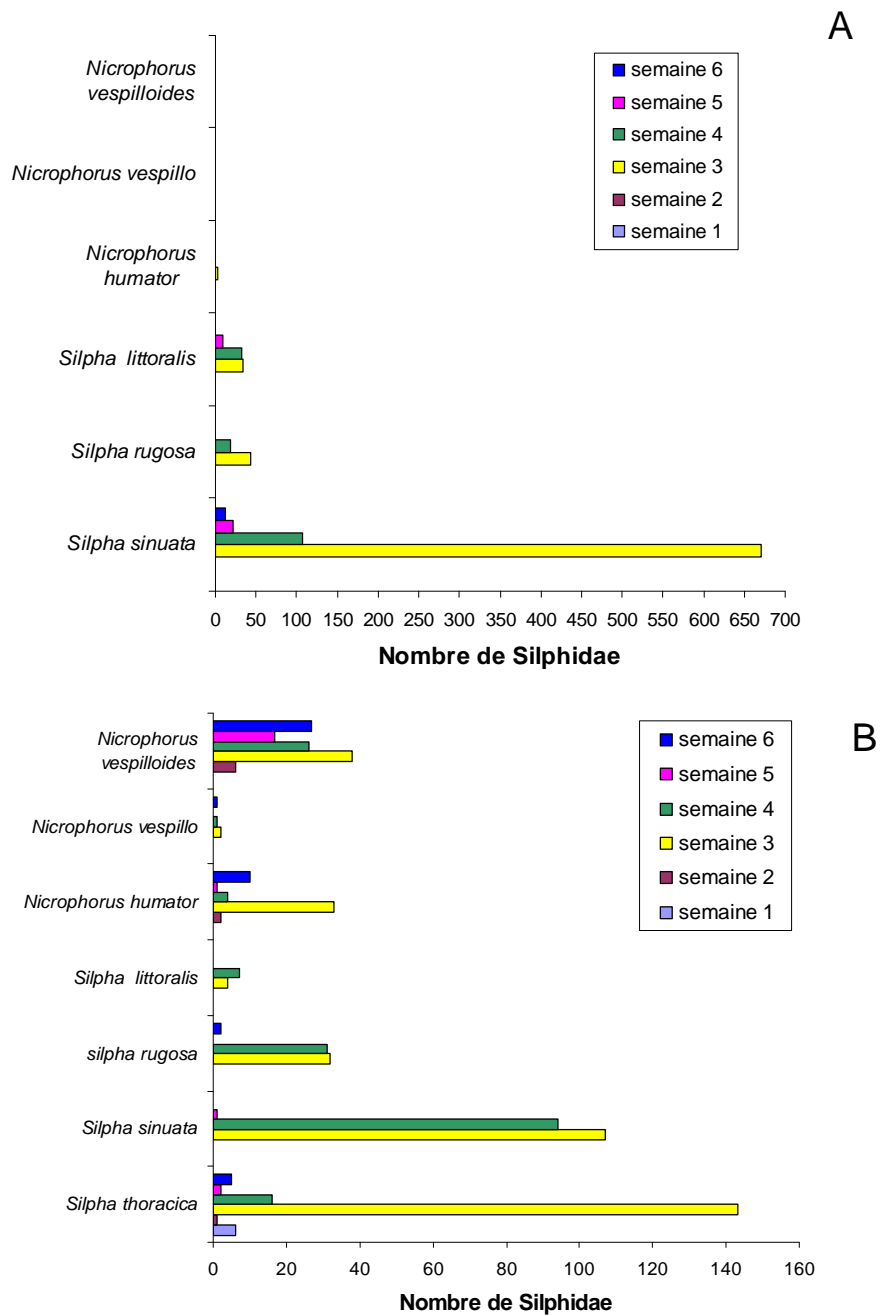


Figure 44. Répartition, par semaine (semaine 1 à 6), du nombre de Silphidae identifiés sur les carcasses présentes dans les milieux ouvert (A) et forestier (B).

a. *Silpha thoracica* : uniquement en milieu forestier, avec un maximum d'individus collectés pendant la troisième semaine. Leur abondance au cours des semaines ultérieures est nettement moindre.

- b. *Silpha sinuata*** : est très largement piégée en milieu ouvert avec une abondance maximale de 650 individus au cours de la troisième semaine contre une centaine d'individus en milieu forestier. Des effectifs importants sont également enregistrés la quatrième semaine avec des abondances comparables entre les deux milieux (environ une centaine d'individus).
- c. *Silpha rugosa*** : pour les deux milieux, le maximum d'individus est collecté la troisième semaine. Cependant, un niveau comparable a également été récolté la semaine suivante au sein du milieu forestier alors que les effectifs diminuent de moitié en milieu ouvert.
- d. *Nicrophorus humator*** : est majoritaire au sein du milieu forestier avec une trentaine d'individus récoltés dans les pièges durant la troisième semaine. Le biotope de prédilection de cette espèce est le milieu forestier [Hastir et Gaspar, 2001], il n'est donc pas surprenant de la retrouver en majorité au sein du milieu forestier.
- e. *Nicrophorus vespillo*** : espèce peu prélevée au cours de la période d'expérimentation ; cinq spécimens ont été récoltés tous milieux confondus. Cependant, il faut remarquer que cette espèce n'est habituellement présente qu'à partir de mai [Hastir et Gaspar, 2001]. Or le suivi postmortem a essentiellement été réalisé dans le courant du mois d'avril.
- f. *Nicrophorus vespilloides*** : est une espèce dont la distribution est essentiellement forestière [Hastir et Gaspar, 2001]. Lors de cette étude, elle a principalement été identifiée au sein du milieu forestier, seulement deux spécimens ont été prélevés au sein du milieu ouvert.

Le genre *Nicrophorus* est principalement observé au sein du milieu forestier tandis que les *Silpha sp.* sont identifiés au sein des deux milieux, exception faite de *S. thoracica* uniquement présente en milieu forestier. Toutes les espèces de Silphidae mentionnées ci-dessus sont généralement observées au début du printemps (avril) sauf *N. vespillo* qui est observable à partir de mai [Hastir et Gaspar, 2001]. On observe beaucoup de Coléoptères au cours de la troisième semaine par rapport aux autres semaines d'observation.

L'apparition des Silphidae, réputés appartenir à la cinquième escouade (5 à 9 mois après le décès) selon la théorie des escouades de Mégnin, semble ne pas respecter ce schéma. En effet, dès la deuxième semaine des Silphidae ont pu être observés sur les carcasses. Leur apparition coïncide également avec le développement d'une très importante masse larvaire

### 12.2.3. Staphylinidae : *Creophilus maxillosus*

Un staphylin, *Creophilus maxillosus*, présente également des effectifs assez importants (Figure 45).

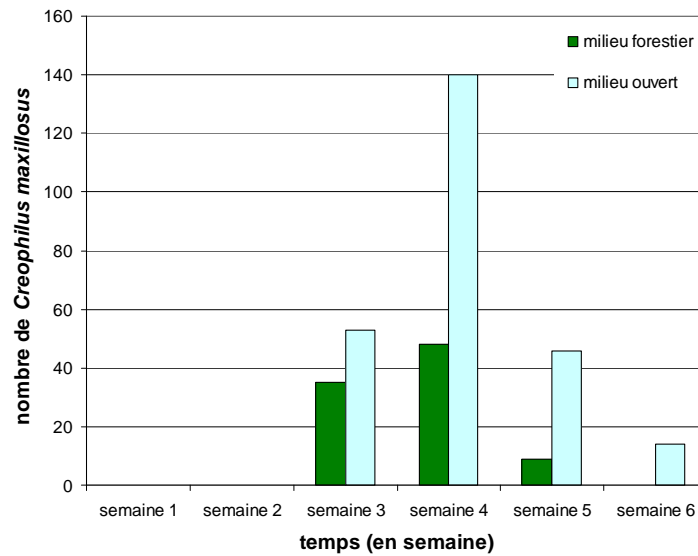


Figure 45. Répartition au cours du temps (en semaine) du nombre de *C. maxillosus* pour les deux milieux naturels (forestier et ouvert).

On observe un maxima au cours de la quatrième semaine pour les deux milieux avec un effectif nettement supérieur au sein du milieu ouvert (140 individus). Cette abondance diminue de plus du triple la semaine suivante. Plus aucun Staphylinidae adulte n'est piégé au cours de la dernière semaine au sein du milieu forestier. Par contre des stades juvéniles ont été observés sous les carcasses.

## 12.3. Relation entre COVs et apparitions des insectes

### 12.3.2. Calliphoridae

Aucun COV spécifique aux carcasses en décomposition n'a pu être détecté au cours des deux premières semaines de prélèvement de volatiles. Dès lors, il est impossible de mettre en relation l'arrivée de ces insectes sur les carcasses avec une quelconque molécule identifiée au cours de cette étude.

Des études approfondies concernant les volatiles émis par un cadavre au cours des stades de décomposition précoces, particulièrement au cours des premiers jours

« postmortem » doivent être mises au point afin de corrélérer leur présence et leur perception éventuelle par les Diptères nécrophages.

En effet, aucune molécule émise par les carcasses n'a pu être détecté avec les méthodes d'échantillonnage utilisées avant la deuxième ou troisième semaine. Cependant, une autre étude [Vass *et al.*, 2004] utilisant des techniques de prélèvements et des méthodes analytiques similaires en vue de caractériser la signature chimique émise par des cadavres humains inhumés n'a détecté des COVs qu'à partir du dix-septième jour de suivi *postmortem*.

### **12.3.2. Silphidae et *Creophilus maxilosus***

L'apparition de la majorité des Silphidae recensés coïncident avec la détection des premiers COVs spécifiques à la décomposition. Les COVs principaux émis par les carcasses au cours des troisième et quatrième semaines sont, toutes méthodes de prélèvement d'odeurs confondues, l'indole, le phénol, le p-crésol, le diméthyldisulfure et le diméthyltrisulfure ainsi que le 1-butanol.

Des études permettant d'établir un lien entre ces molécules et leur perception olfactive par les Coléoptères nécrophages doivent être poursuivies. Notamment en développant l'aspect écologie chimique au travers de tests électrophysiologiques (EAG, GC-EAG) et par des études comportementales.

## V. Conclusion générale et perspectives

Les deux techniques de prélèvements des odeurs (méthode passive et dynamique) se sont avérées complémentaires et efficaces. Les composés organiques volatils émis par les carcasses de porc (*Sus domesticus* L.) en décomposition ont pu être identifiés et appartiennent à de nombreuses familles de molécules chimiques. Les principaux COVs sont des alcools (1-butanol), des acides (acide butanoïque, les acides 3-et 2-méthylbutanoïque, acide pentanoïque), des sulfures (diméthyltrisulfure et diméthyldisulfure), la triméthylamine, des aldéhydes (octanal, nonanal) ainsi que des composés aromatiques cycliques (indole, phénol et *p*-crésol).

Des différences entre les trois milieux d'étude en terme de nombre de COVs ont été mises en évidence avec par ordre d'importance : le milieu ouvert (110 COVs), le milieu forestier (93 COVs) et enfin le milieu urbain (59 COVs). Néanmoins, les composés organiques volatils principaux sont similaires au sein des trois biotopes.

Cependant aucun COV n'a été détecté au cours des deux premières semaines de suivi avec les méthodes de prélèvement d'odeurs employées *in situ*. Une autre étude [Vass et *al.*, 2004], employant des techniques de prélèvements et d'analyses similaires, mentionne également l'absence de détection de COVs spécifiques au cadavre durant les quinze premiers jours de suivi *postmortem* (après 17 jours). Des études approfondies concernant les stades précoces de décomposition (*fresh*), alors qu'aucune odeur de décomposition ne semble émaner de cadavre, devraient être envisagées. Notamment en vue d'établir d'éventuelles relations, entre les molécules émises par le corps, avec l'arrivée des premiers insectes nécrophages sur les carcasses et plus particulièrement des Diptères Calliphoridae.

Il existe également une évolution dans les profils d'émission de volatiles avec l'apparition en premier lieu des alcools (1-butanol), de la triméthylamine, ainsi que des sulfures dont le disulfure de carbone. Ceux-ci sont progressivement remplacés par des acides, notamment l'acide butanoïque et ses deux formes méthylées (2- et 3-méthylbutanoïque). Aux stades de décomposition plus avancées (*Advanced Decay*), les aldéhydes font leur apparition (hexanal, heptanal, octanal et nonanal).

En ce qui concerne le volet biologique et le suivi de la colonisation *postmortem* des carcasses par les Diptères (Calliphoridae) et Coléoptères nécrophages, il y a des différences entre les milieux. En effet, très peu de Coléoptères nécrophages ont été retrouvés au sein du milieu urbain. On remarque également des différences au niveau des espèces de Calliphoridae avec *Calliphora vicina* et *Lucilia type sericata* essentiellement retrouvée en milieu urbain tandis que *Calliphora vomitoria* et *Lucilia type caesar* sont prépondérantes en milieu naturels (forestier et ouvert). Parmi les milieux naturels, les Nicrophorinae sont prépondérants au sein du biotope forestier tandis que les Silphinae sont majoritaires dans le milieu agricole à l'exception de *Silpha sinuata* qui est une espèce forestière.

La connaissance des volatiles émis par la matière organique morte d'origine animale et leurs évolutions au cours du temps est une étape nécessaire à toute étude ultérieure concernant l'écologie chimique de ces insectes. Une voie intéressante à poursuivre serait de réaliser des essais biologiques sur les insectes nécrophages prépondérants au sein de nos écosystèmes, notamment en réalisant des études électrophysiologiques avec les COVs spécifiques aux processus de décomposition (indole, p-crésol, 1-butanol, etc.) et de compléter ces recherches par des études comportementales.

## VI. Références bibliographiques

- Amendt, J., Krettek, R. and Zehner R. (2004). Forensic entomology. *Naturwissenschaften*. **91**: 51-65.
- Anchling, F. (2004). Etude de la famille des Nitidulidae. *L'Abeille de France et l'apiculteur*. **909**
- Anderson, G.S. (2001). Insect Succession on Carrion and its Relationship to Determining Time of Death. J.H. Castner and J.L. Byrd. Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. 143-175.
- Anderson, G.S. and Cervenka, V.J. (2002). Insects Associated with the Body: Their Use and Analyses. Advances in Forensic Taphonomy: Method, Theory and Archaeological Perspectives. W.D. Haglund and M.H. Sorg. Boca Raton, CRC Press LLC.
- Anderson, G.S. and VanLaerhoven, S.L. (1996). Initial studies on insect succession on carrion in Southwestern British Columbia. *Journal of Forensic Science*. **41**: 617-625.
- Arnaldos, M.I., Garcia, M.D., Romera, E., Presa, J.J. and Luna, A. (2005). Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International*. **149**: 57-65.
- Arnaud, L., Detrain, C., Gaspar, C., Haubruge, E. (2003). Insectes et communication. *Le journal des Ingénieurs*. **87**: 25-28.
- Baltussen, E., Sandra, P., David, F. and Cramers, C. (1999). Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles. *Journal of Microcolumn Separations*. **11** (10): 737-747.
- Benecke, M. (2001). A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*. **120**: 2-14.
- Benecke, M. (2002). Les insectes judiciaires. *Pour La Science*. **296**: 76-83.
- Benecke, M. (2004). Arthropods and Corpses. Forensic Pathology Reviews. M. Tsokos. Totowa, Humana Press. **2**: 207-240.
- Bornemissza, G.F. (1957). An analysis of Arthropods succession in Carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. *Australian Journal of Zoology*. **5**(1): 1-12.
- Bouchoux, G., Sablier, M. (2005). Spectrométrie de masse-Principe et appareillage. Technique de l'Ingénieur. **TA3**
- Bourel, B. Tournel, G., Hédouin, V., Gosset, D. (2004). Entomofauna of buried bodies in northern France. *International Journal of Legal Medicine*. **118**: 215-220.
- Bruno, P., Caselli, M., de Gennaro, G., Solito, M. and Tutino, M. (2007). Monitoring of odor compounds produced by solid waste treatment plants with diffusive samplers. *Waste Management*. **27**(4): 539-544.

- Byrd, J.H. and Castner, J.L. (2001). Insects of Forensic Importance. Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., CRC Press. 43-79.
- Cabirol, N., Pommier M.T., Gueux, M., Payen, G. (1998). Comparison of lipid composition in two types of human putrefactive liquid. *Forensic science international*. **94**: 47-54.
- Callery, P.S. and Geelhaar, L.A. (1984). Biosynthesis of 5-Aminopentanoic Acid and 2-Piperidone from Cadaverine and 1-Piperidine in Mouse. *Journal of Neurochemistry*. **43** (6):1631–1634.
- Campobasso, C.P., Di Vella, G. and Introna, F. (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*. **120**: 18-27.
- Carter, D.O., Yellowlees, D. and Tibbett, M. (2007). Cadaver Decomposition in terrestrial ecosystems. *Naturwissenschaften*. **94**: 12-24.
- Catts, E.P., Goff, M.L. (1992). Forensic entomology in Criminal Investigations. Annual review of entomology. **37**:253-272.
- Caude, Jardy, (1996). Méthodes chromatographiques-introduction. Techniques de l'Ingénieur. **TA1**.
- Chevillon, P., Mircovich, C., Dubroca, S., Fleho, J-Y. (2004). Euthanasie en élevage de porc. *Techni-porc*. **27**(4) : 21-27.
- Chinery, M. (1988). Insectes de France et d'Europe occidentale. Paris.
- Clark, M.A., Worrel, M.B. and Pless, J.E. (1997). Postmortem changes in soft tissues. Forensic Taphonomy. The Postmortem Fate of Human Remains. W.D. Haglund and M.H. Sorg. Boca Raton. CRC Press. 151-160.
- Cocheo, V., Boaretto, C. and Sacco, P. (1996). High Uptake Rate Radial Diffusive Sampler Suitable for Both Solvent and Thermal Desorption. *American Industrial Hygiene Association Journal*. **57**: 897-904.
- Crescenzi, C., Di Corcia, A., Passariello, G., Samperi, R., Turnes Carou, M.I. (1996). Evaluation of two new examples of graphitized carbon blacks for use in solid-phase extraction cartridges. *Journal of Chromatography A*. **733**: 41-55.
- Dent, B.B., Forbes, S.L. and Stuart, B.H. (2004). Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology*. **45**: 576-585.
- DeVault, T.L., Rhodes, O.E. and Shivik J.A. (2003). Scavenging by vertebrates: behavioural, ecological, and evolutionary perspectives on an important energy transfer pathway in terrestrial ecosystems. *Oikos*. **102**: 225-234.
- Dewaele, P., Leclercq, M. (2002). Les Phorides (Diptères) sur cadavres humains en Europe occidentale. In : Proceedings of The First European Forensic Entomology Seminar. Rosny-sous-bois, France.
- Dewulf, J., Van Langenhove, H. (2002). Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography. *Trends in analytical chemistry*. **21** (9 +10): 637-646.
- Dix, J. and Graham, M.A. (2000). Time of Death, Decomposition and Identification- an atlas. Boca Raton. CRC Press. 112



- Du Chatenet, G. (1986). Guide des Coléoptères d'Europe. Lausanne-Paris, Delachaux et Niestlé. 480.
- Fiedler, S., Graw, M. (2003). Decomposition of buried corpses, with special reference to the formation of adipocere. *Naturwissenschaften*. **90**: 291-300.
- FONDAZIONE SALVATORE MAUGERI-IRCCS. (2004). Manuel de fonctionnement Radiello®.
- Galloway, A. (1997). The Process of Decomposition: A Model from the Arizona-Sonoran Desert. Forensic Taphonomy. The Postmortem Fate of Human Remains. W.D. Haglund and M.H. Sorg. Boca Raton. CRC Press. 139-149.
- Gaudry, E. (2002). Eight squadrons for one target: the fauna of cadaver described by J.P. Mégnin. *Proceeding of the First European Forensic Entomology Seminar*. 31-36.
- Gosselin, M. (non daté). Clé des adultes des espèces de Calliphoridae Belges, données non publiée.
- Grassberger, M. and Frank, C. (2004). Initial study of arthropod succession on pig carrion in a central European urban habitat. *Journal of Medical Entomology*. **X**: 511-523.
- Gill-King, H. (1997). Chemical and Ultrastructural Aspects of Decomposition. Forensic Taphonomy. The Postmortem Fate of Human Remains. W.D. Haglund and M.H. Sorg. Boca Raton. CRC Press. 93-108.
- Guilhous, J.J., Teot, L., Dereure, O. (2004). Plaies et cicatrises, disponible en ligne (<http://www.sffpc.org>), consulté en juillet 2007
- Hall, R.D. (2001). Perceptions and Status of Forensic Entomology. J.H. Castner and J.L. Byrd. Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. 1-15.
- Haskell, N.H., Hall, R.D., Cervenka, V.J. and Clark, M.A. (1997). On the Body: Insect's Life Stage Presence and Their Postmortem Artifacts. Forensic Taphonomy. The Postmortem Fate of Human Remains. W.D. Haglund and M.H. Sorg. Boca Raton. CRC Press. 415-441.
- Hastir, P. and Gaspar, C. (2001). Diagnose d'une famille de fossoyeurs: les Silphidae. *Notes Fauniques de Gembloux*. **44** : 13-25.
- Hastir, P. (2002). Une famille de fossoyeurs: les Silphidae. *Forêt Wallonne*. **59**: 2-8.
- Haupt, J. et Haupt H. (2000). Le guide des mouches et des moustiques. L'identification des espèces européennes. Lausanne-Paris, Delachaux et Niestlé. 352.
- Heath, R.R. and Dueben, B.D. (1998). Analytical and preparative gas chromatography. Methods in Chemical Ecology. J.G. Millar and K.F. Haynes. Boston, Dordrecht, London, Kluwer Academic Publisher. **1**: 85-126.
- Heuskin, S. (2004). Contribution à l'étude de métabolites d'origines diverses (MVOCs et sémiochimiques) par analyse TDS-GCMS. Chimie organique, Fusagx.
- Hopkins, D.W., Wiltshire, P.E.J. and Turner, B.D. (2000). Microbial characteristics of soils from graves: an investigation at the interface of soil microbiology and forensic science. *Applied Soil Ecology*. **14**: 283-288.
- Ireland, S., Turner, B. (2006). The effects of larval crowding and food type on the size and the development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Science International*. **159**: 175-181.

- Jensen, M.J., Hansen, L.L., Anderson, H.J. Transfer of the meat aroma precursors (dimethyl sulphide; dimethyl disulfide and dimethyl trisulfide) from feed to cooked pork.
- Jones, G.R. and Oldham, N.J. (1999). Pheromone analysis using capillary gas chromatographic techniques. *Journal of Chromatography*. **843**: 199-236.
- Jurgens, A., Dotterl, S. and Meve, U. (2006). The chemical nature of fetid floral odours in stapeliads (Apocynaceae- Asclepiadaceae- Ceropogoniaceae). *New Phytologist*. **172** (3): 452-468.
- Karapetian, J. (2003). Evaluation des tables de Marchenko pour la détermination de la date de décès, dans différents biotopes, grâce à deux espèces de Diptères : *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy et *Lucilia sericata* Meigen. *Fusgax*
- Kondjoyan, N., Viallon, C., Berdagué, J. L., Daridan, D., Simon, M.N., Legault, C. (1997). Analyse comparative de la fraction volatile de jambons secs de porcs Gascon et Large-White x Landrace Français. *Journées de la Recherche Porcine en France*. INRA. 29 : **405-410**.
- Kulshrestha, P. et Satpathy, D.K. (2001). Use of beetles in forensic entomology. *Forensic Science International*. **120**: 15-17.
- Leclercq, M. (1978). Entomologie et médecine légale. Datation de la mort. Masson, Paris, Collection de Médecine Légale et de Toxicologie Médicale. **108**: 100.
- Leclercq, M. et Verstraeten, C. (1992). Eboueurs entomologiques bénévoles dans les écosystèmes terrestres. *Notes Fauniques de Gembloux*. **25**: 17-23.
- Lhuillier, F., Moulut, O., Protois, J.C. (2000). Nouveaux supports pour le prélèvement de polluants atmosphériques –Etude comparative. *Cahiers de notes documentaires-Hygiène et Sécurité du travail (INRS)*. **179** :15-28 .
- Ludes, B., Tracqui, A., Kintz, P., Raul, J.S. (2003). Cours de médecine légale, Faculté de Médecine de Strasbourg, disponible en ligne sur [http://www-ulpmed.u-strasbg.fr/medecine/cours\\_en\\_ligne/e\\_cours/medecine\\_legale.htm](http://www-ulpmed.u-strasbg.fr/medecine/cours_en_ligne/e_cours/medecine_legale.htm) , consulté en février 2007.
- McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H.J., Vockeroth, J.R., Wood, D.M. (1981). *Manual of Nearctic Diptera*. 1: 1-674.
- McAlpine, J.F., Peterson, B.V., Shewell, G.E., Teskey, H.J., Vockeroth, J.R., Wood, D.M. (1981). *Manual of Nearctic Diptera*. 2: 675-1332.
- Marchenko, M.I. (1988). Medico-legal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time since death. *Acta Medicinæ legalis et Socialis*. **38**: 257-302.
- Marchenko, M.I. (2001). Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of time of death. *Forensic Science International*. **120**: 89-109.
- Merritt, R.W. and Wallace, J.R. (2001). The Role of Aquatic Insects in Forensic Investigations. J.H. Castner and J.L. Byrd. Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. 177-222.

- Millar, J.G. and Sims, J.J. (1998). Preparation, Cleanup and Preliminary Fractionation of Extracts. *Methods in Chemical Ecology*. J.G. Millar and K.F. Haynes. Boston, Dordrecht, London, Kluwer Academic Publisher. **1**: 391.
- Namiesnik, J., Zabiegala, B., Kot-Wasik, A., Partyka, M. and Wasik, A. (2005). Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **381**: 279-301.
- Nigam, Y., Bexfield, A., Thomas, S., Ratcliffe, N.A. (2006). Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part II—Maggots Combat Infection. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*. **3**(3) :303–308.
- O'Brien, T.G., Kuehner, A.C. (2007). Waxing grave about adipocere: soft tissue change in an aquatic context. *Journal of forensic science*. **52**(2): 294-301.
- O'Neal, C.L., Poklis, A. (1996). Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation: a critical review. *American Journal of Forensic Medicine & Pathology*. **17**(1):8-20.
- Oesterhelweg, L., Krober, S., Rottmann, K., Willhoft, J., Braun, C., Thies, N., Puschel, K., Silkenath, J., Gehl, A. (2007). Cadaver dogs-A study on detection of contaminated carpet squares. *Forensic Science International*. Article sous presse.
- Pennequin-Cardinal, A., Plaisance, H., Locoge, N., Ramalho, O., Kirchner, S., Galloo, J-C. (2005). Dependence on sampling rates of Radiello® diffusion sampler for BTEX measurements with the concentration level and exposure time. *Talanta*. **65**: 1233-1240.
- Phillips, M., Gleeson, K., Hugues, J.M.B., Greenberg, J., Cataneo, R.N., Bager, L. and McVay, W.P. (1999). Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross sectional study. *Lancet*. **353**: 1930-1933.
- Rodriguez, W.C., Bass, W.M. (1983). Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in East Tennessee. *Journal of Forensic Sciences*. **28** (2): 423-432.
- Schilthuisen, M., Vallenduuk, H. (1998). *Kevers op kadavers*. Utrecht, KNNV. 148.
- Smedts, B.R., Dewinne, J., Vass, A.A. (2007). Detection of buried cadavers in soil using analysis of volatile metabolites. Article soumis à comité de lecture.
- Smith, K.G.V. (1986). *A Manual of Forensic Entomology*. Ithaca, Comstock Publishing Associates, Cornell Univ Pr. 205.
- Smith, K.E., Wall, R. (1997). A asymmetric competition between larvae of blowflies *Calliphora vicina* et *Lucilia sericata* in carrion
- Statheropoulos, M., Spiliopoulou, C. and Agapiou, A. (2005). A study of volatile organic compounds evolved from decaying human body. *Forensic Science International*. **153**: 147-155.
- Supelco. (1998). Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. *Bulletin* **923**: 1-8.
- Swift, B. (2006). The Timing of Death. *Essentials of Autopsy Practice*. G.N. Rutty. Springer London. 189- 214.

- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M. (1979). Decomposition in terrestrial ecosystems. Oxford, Blackwell Scientific. 371.
- Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Rose, U.S.R. and Schnitzler, J-P. (2006). Practical approaches to plant volatile analysis. *The Plant Journal*. **45**: 540-560.
- Towne, E.G. (2000). Prairie vegetation and soil nutrient responses to ungulate carcasses. *Oecologia*. **122**: 232-239.
- Vallat, A., Gu, H. and Dorn, S. (2005). How rainfall, relative humidity and temperature influence volatile emissions from apple trees in situ. *Phytochemistry*. **66**: 1540–1550.
- Vass, A.A. (2001). Beyond the grave- understanding human decomposition. *Microbiology Today*. **28**: 190-192.
- Vass, A.A., Smith, R.R., Thompson, C.V., Burnett, M.N., Wolf, D.A., Synsteli, J.A., Dulgerian, N. and Eckenrode, B.A. (2004). Decompositional Odor Analysis Database. *Journal of Forensic Science*. **49** :760-769.
- Varshney, C.K. and Singh, A.P. (2003). Passive Samplers for NO<sub>x</sub> Monitoring: A Critical Review. *The Environmentalist*. **23**: 127-136.
- Verheggen, F. (2005). Contribution à l'étude des relations tritrophiques entre la tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller), le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae* Sulzer) et le syrphé ceinturé (*Episyrphus balteatus* DeGeer). Mémoire de fin d'études. Gembloux, FUSAGx. 75.
- Vespermann, A., Kai, M., Piechulla, B. (2007). Rhizobacterial volatiles affect the growth of fungi and *Arabidopsis thaliana*. *Applied and Environmental Microbiology*. In press.
- Yatin, M. (2002). Polyamines in living organisms. *Journal of Cell and Molecular Biology*. **1**: 57-67.
- Webster, F.X., Millar, J.G. and Kiemle, D.G. (1998). Mass spectrometry. Methods in Chemical Ecology. J.G. Millar and K.F. Haynes. Boston, Dordrecht, London, Kluwer Academic Publisher. **1**: 127-152.
- Wells, J.D. and LaMotte, L.R. (2001). Estimating the Postmortem Interval. J.H, Castner and J.L. Byrd. Forensic entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. 263-285.
- Woodcock, B.A., Watt, A.D. and Leather, S.R. (2002). Aggregation, habitat quality and coexistence: a case study on carrion fly communities in slug cadavers. *Journal of animal Ecology*. **71**: 131-140.
- Wyss, C. and Cherix, D. (2006). Traité d'entomologie forensique. Les insectes sur la scène de crime. Lausanne, Presses polytechniques et universitaires romandes. 317.



# Table des matières

<b>I. INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>7</b>
<b>II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>8</b>
<b>1. ECOSYSTEME AUTOUR D'UN ORGANISME MORT- LA VIE AUTOUR D'UN CADAVRE</b> .....	<b>8</b>
1.1. INTRODUCTION.....	8
1.2. LA DECOMPOSITION D'UN ORGANISME DANS UN ECOSYSTEME.....	8
1.2.1. <i>Les écosystèmes terrestres</i> .....	8
1.2.1.1. Interactions avec la faune terrestre.....	9
1.2.1.2. Interactions avec la faune édaphique.....	10
1.2.1.3. Interactions avec la flore.....	10
1.2.2. <i>Les écosystèmes aquatiques</i> .....	11
1.3. LES DIFFERENTS GROUPES ECOLOGIQUES QUE L'ON RENCONTRE AUTOUR D'UN CADAVRE.....	11
1.3.1. <i>Les espèces nécrophages</i> .....	12
1.3.2. <i>Les espèces nécrophiles</i> .....	12
1.3.3. <i>Les espèces omnivores</i> .....	13
1.3.4. <i>Les espèces opportunistes</i> .....	13
1.3.5. <i>Les espèces accidentelles</i> .....	13
1.4. LES INSECTES NECROPHAGES.....	13
1.4.1. <i>Les Diptères</i> .....	13
1.4.1.1. Généralités.....	13
1.4.1.2. Biologie.....	14
1.4.1.3. Les familles présentes sur les cadavres humains et/ ou animaux.....	15
1.4.2. <i>Les Coléoptères</i> .....	16
1.4.2.1. Généralités.....	16
1.4.2.2. Biologie.....	16
1.4.2.3. Les familles présentes sur les organismes mammifères morts.....	17
<b>2. ENTOMOLOGIE FORENSIQUE</b> .....	<b>20</b>
2.1. INTRODUCTION.....	20
2.2. LA DECOMPOSITION D'UN CORPS – THANATOMORPHOSE.....	20
2.2.1. <i>Les modifications post-mortem</i> .....	21
2.2.1.1. Refroidissement du corps ( <i>algor mortis</i> ).....	21
2.2.1.2. Rigidité cadavérique ( <i>rigor mortis</i> ).....	21
2.2.1.3. Lividités cadavériques ( <i>livor mortis</i> ).....	21
2.2.1.4. Déshydratation.....	22
2.2.1.5. Autolyse.....	22
2.2.1.6. Putréfaction.....	22
2.2.1.7. Squelettisation.....	24
2.2.2. <i>La décomposition des macromolécules biologiques</i> .....	24
2.2.3. <i>Classification des stades de décomposition</i> .....	25
2.2.4. <i>Paramètres influençant la décomposition d'un corps</i> .....	25
2.3. LA COLONISATION DU CORPS PAR LES ARTHROPODES – ATTRACTIVITE DU CORPS.....	26
2.3.1. <i>Paramètres influençant la colonisation entomologique du corps</i> .....	26
2.3.2. <i>La colonisation par les Diptères nécrophages</i> .....	26
2.3.3. <i>Les escouades successives d'insectes</i> .....	27
2.4. DATATION DE LA MORT.....	29
2.4.1. <i>Les méthodes entomologiques</i> .....	30
<b>3. PRELEVEMENTS DES COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS</b> .....	<b>32</b>
3.1. INTRODUCTION.....	32
3.2. PRELEVEMENTS D'ODEUR ET EXTRACTION DES COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS.....	32
3.2.1. <i>Extraction par solvant des composés organiques volatils</i> .....	32
3.2.2. <i>Prélèvements et extraction des composés volatiles organiques (VOCs)</i> .....	32

3.2.2.1. Les matériaux adsorbants utilisés pour le prélèvement des COVs.....	33
3.2.2.2. Echantillonnage statique.....	33
3.2.2.3. Echantillonnage dynamique.....	35
3.3. METHODES DE SEPARATION ET D'IDENTIFICATION DES COMPOSES VOLATILS.....	36
3.3.1. Méthodes chromatographiques.....	36
3.3.1.1. Généralités.....	36
3.3.1.2. La chromatographie en phase gazeuse (GC/ CPG).....	37
3.3.1.3. Couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS).....	37
3.4. LES MOLECULES EMISES PAR UN CORPS EN DECOMPOSITION.....	38
<b>III. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>41</b>
<b>4. DESCRIPTION DES SITES EXPERIMENTAUX.....</b>	<b>41</b>
4.1. SITE FORESTIER.....	41
4.2. SITE AGRICOLE.....	41
4.3. SITE URBAIN.....	42
<b>5. DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....</b>	<b>44</b>
<b>6. MESURES DES FACTEURS CLIMATIQUES.....</b>	<b>46</b>
<b>7. PRELEVEMENT DES MOLECULES VOLATILES.....</b>	<b>47</b>
7.1. RADIELLO®.....	47
7.1.1. Description du matériel.....	47
7.1.2. Analyses TDS-GCMS des cartouches Radiello.....	48
7.2. COLLECTE DYNAMIQUE DES MOLECULES VOLATILES.....	49
7.2.1. Description du matériel.....	49
7.2.2. Analyses GC-MS des échantillons prélevés en espace de tête.....	50
7.3. MISE AU POINT DES METHODES DE PRELEVEMENT : ESSAI PRELIMINAIRE.....	51
7.3.1. Radiello.....	51
7.3.1.1. Disposition des tubes Radiello®.....	51
7.3.1.2. Choix du matériau adsorbant.....	52
7.3.1.3. Choix de la durée de prélèvement.....	52
7.3.2. Prélèvements dynamiques (dynamic headspace collection).....	52
7.3.2.1. Disposition des cartouches de SuperQ.....	52
7.3.2.2. Choix de la durée de prélèvement.....	53
7.3.2.3. Choix du solvant pour extraire les composés organiques volatiles adsorbés.....	53
7.4. MISE AU POINT DES METHODES DE PRELEVEMENT IN SITU.....	53
7.4.1. Prélèvement d'échantillons « Radiello ».....	53
7.4.2. Prélèvements d'échantillons « Headspace ».....	54
<b>8. ENTOMOFAUNE.....</b>	<b>55</b>
8.1. OBSERVATIONS ENTOMOLOGIQUES VISUELLES.....	55
8.2. PIEGEAGE DES INSECTES.....	55
8.2.1. Bacs jaunes.....	55
8.2.2. Piègeage au moyen de « pitfall trap ».....	55
8.3. IDENTIFICATION DES INSECTES PRELEVES SUR LES CARCASSES DE PORC.....	56
8.4. IDENTIFICATION DES ESPECES PRELEVEES : ORDRE DES DIPTERES ET DES COLEOPTERES.....	56
<b>9. CARACTERISATION DES STADES DE DECOMPOSITION (THANATOMORPHOSE).....</b>	<b>57</b>
<b>IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>58</b>
<b>10. PRELEVEMENT DES COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS.....</b>	<b>58</b>
10.1. ÉTUDE QUALITATIVE DES COMPOSES VOLATILS.....	58
10.1.1. Nature des COVs prélevés sur les carcasses de porc.....	58
10.1.2. Répartition des COVs identifiés par milieu.....	62
10.1.3. Comparaison des deux techniques de prélèvements.....	62
10.2. ÉTUDE SEMI-QUANTITATIVE DES COMPOSES VOLATILS.....	64
10.2.1. Méthode passive : Radiello®.....	64
10.2.1.1. Milieu urbain.....	66
10.2.1.2. Milieu forestier.....	67

10.2.1.3. Milieu ouvert .....	69
10.2.2. <i>Méthode dynamique</i> .....	70
10.2.2.1. Milieu urbain .....	71
10.2.2.2. Milieu forestier .....	73
10.2.2.3. Milieu ouvert .....	75
10.3. SYNTHÈSE SUR LE PRÉLEVEMENT DES COVS ET DES MÉTHODES D'ANALYSE .....	77
<b>11. SUIVI ET CARACTÉRISATION DES STADES DE DÉCOMPOSITION.....</b>	<b>80</b>
11.1. PERCEPTION DES ODEURS .....	80
11.2. STADES DE DÉCOMPOSITION.....	81
<b>12. LES INSECTES NECROPHAGES.....</b>	<b>83</b>
12.1. ÉTUDE QUALITATIVE DE L'ENTOMOFAUNE NECROPHAGE .....	83
12.1.1. <i>Diptères</i> .....	83
12.1.2. <i>Coléoptères</i> .....	84
12.2. ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ENTOMOFAUNE NECROPHAGE.....	85
12.2.2. <i>Calliphoridae</i> .....	86
12.2.2. <i>Silphidae</i> .....	88
12.2.3. <i>Staphylinidae : Creophilus maxillosus</i> .....	91
12.3. RELATION ENTRE COVS ET APPARITIONS DES INSECTES .....	91
12.3.2. <i>Calliphoridae</i> .....	91
12.3.2. <i>Silphidae et Creophilus maxillosus</i> .....	92
<b>V. CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>87</b>
<b>VI. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	