

Zastosowanie entomotoksykologii w szacowaniu czasu i ustaleniu przyczyny zgonu

Streszczenie

Entomotoksykologia pozwala na oszacowanie czasu i przyczyny zgonu w przypadkach, gdy zwłoki uległy rozkładowi i tkanki niezbędne do analiz toksykologicznych nie są już dostępne. Uzyskanie informacji o potencjalnie obecnych w ciele denata substancjach toksycznych jest możliwe poprzez ich izolację z obecnych na zwłokach lub w ich pobliżu larw i poczwerek przedstawicieli muchówek (Diptera) i/lub osobników dorosłych, np. chrząszczy (Coleoptera). Celem artykułu jest podsumowanie dotychczasowego stanu wiedzy z zakresu entomotoksykologii z wykorzystaniem przykładów z literatury oraz zaprezentowanie wpływu wybranych substancji toksycznych i leków na rozwój żerujących na zwłokach larw owadów.

Słowa kluczowe: entomologia sądowa, toksykologia, chromatografia, entomofauna, *post mortem intervallum*

Entomologia sądowa jest nauką wykorzystującą owady do ustalania czasu, przyczyny, a nawet miejsca zgonu (z posłużeniem się entomofauną specyficzną dla określonych lokalizacji) (Gennard, 2007). W przypadku szacowania czasu zgonu (PMI, *Post Mortem Intervallum*) stosuje się obserwację czasu potrzebnego do rozwoju form preimaginalnych (larw i poczwerek) w zaobserwowanych warunkach (tzw. metoda rozwojowa) oraz prawidłowość występowania na zwłokach określonych gatunków owadów (tzw. metoda sukcesyjna) (Kaczorowska i in., 2002, 2004; Matuszewski i in., 2010ab, 2011). Czas rozkładu zmienia się w zależności od temperatury (która jest najważniejszą zmienną we wszystkich modelach rozwojowych), środowiska (gleba czy szata roślinna w środowisku otwartym lub warunki panujące w pomieszczeniu zamkniętym), warunków atmosferycznych czy kondycji i ekspozycji zwłok (eksponowane lub zakopane, nagie lub ubrane, nieuszkodzone lub z ranami) występujących w miejscu ich ujawnienia (Gennard, 2007; Matuszewski i in., 2013, 2016).

Innym ważnym czynnikiem w szacowaniu czasu, który upłynął od śmierci oraz ustalaniu jej przyczyny jest występowanie toksycznych substancji w lub na ciele denata, np. w następstwie zatrucia. W przypadku zwłok świeżych, gdy wciąż możliwe jest pobranie tkanek, wykonuje się analizy toksykologiczne. W tym celu w trakcie sekcji zwłok pobiera się m.in. żołądek wraz z zawartością, fragment wątroby, nerki, płuca i mózgu, próbkę krwi i moczu. W przypadku widocznych śladów wklucia pobierany jest fragment skóry (Raszeja

i in., 1990; Seńczuk, 2012). Ze względu na różne prawdopodobne drogi zatrucia i niespecyficzne działanie toksyn ich wykrycie nastręcza trudności. Do zatrucia może dojść poprzez doustne przyjęcie substancji toksycznej, jak również poprzez skórę, drogi oddechowe czy wspomniane wyżej bezpośrednie wklucie. Niemniej wykrycie sposobu jest niezwykle istotne dla dalszego ustalenia, czy do zatrucia doszło na skutek zabójstwa, samobójstwa czy pomyłkowego przyjęcia wykrytej substancji. Niektóre zmiany na zwłokach są tak charakterystyczne, że pozwalają na ustalenie już przy pierwszych oględzinach na miejscu zgonu, które substancje toksyczne je wywołały.

Zatrucie tlenkiem węgla skutkuje pojawieniem się m.in. malinowoczerwonych plam opadowych czy pęcherzy na skórze. Żółty kolor skóry może wskazywać na uszkodzenie wątroby (np. w wyniku zatrucia grzybami). Szorstka skóra z wysypką może być wynikiem zatrucia alkaloidami opium (Raszeja i in., 1990; Seńczuk, 2012). Jednak nie zawsze możliwe jest wykrycie zwłok natychmiast po zgonie. W przypadku zwłok pod koniec aktywnego i w zaawansowanym stadium rozkładu może brakować tkanek, które mogłyby posłużyć do analiz toksykologicznych, a tym samym nie ma możliwości ustalenia potencjalnej obecności substancji toksycznych w ciele denata. Możliwe jest jednak wykonanie tego typu analiz z zastosowaniem owadów, które żerowały na ujawnionych zwłokach. Umożliwia to dział entomologii sądowej nazwany entomotoksykologią.

Identyfikacja substancji toksycznych bioakumulowanych w entomofaunie zwłok

Jako pierwsze na zwłokach pojawiają się muchówki z rodziny plujkowatych i to ich larwy wykazują największy udział podczas aktywnego rozkładu (Gennard, 2007). Tysiące larw są w stanie w sprzyjających warunkach temperaturowych rozłożyć tkanki miękkie bardzo szybko, zanim nastąpi ujawnienie zwłok i możliwe będzie pobranie próbek do analiz toksykologicznych (Campobasso i in., 2004). W przypadku, gdy tkanki są niedostępne, możliwa jest identyfikacja związków chemicznych znajdujących się w owadach żerujących na zwłokach (larwy, poczwarki, osobniki dorosłe), a nawet pozostawionych przez nie wylinkach czy odchodach (Gagliano-Candela, Aventaggiato, 2001). Larwy żerujące na tkance zawierającej substancje toksyczne wprowadzają je do swojego układu metabolicznego. W sytuacji, gdy taka larwa zostanie spożyta przez chrząszcza polującego na padlinie (np. *Creophilus maxillosus*, Linnaeus, 1758; Matuszewski, 2012), substancja zostaje przekazana i wprowadzona do jego układu, oczywiście w odpowiednio niższym stężeniu. Jest to tzw. bioakumulacja drugiego rzędu (ang. *secondary bioaccumulation*). Według danych literaturowych najczęściej wykorzystywanymi w entomotoksykologii są muchówki z rodzin plujkowatych, ścierwicowatych (Sarcophagidae), muchowatych (Muscidae) oraz chrząszcze z rodziny skórnikowatych (Dermestidae) (por. Gagliano-Candela, Aventaggiato, 2001). Wykryciu podlegają różne substancje (organiczne i nieorganiczne) będące lekami, truciznami, narkotykami czy pestycydami.

Główną metodą identyfikacji poszczególnych ksenobiotyków (leków, narkotyków, alkoholu) w tkankach larw jest chromatografia, która rozdziela i analizuje skład chemiczny mieszaniny różnych związków chemicznych. Rozdział przeprowadza się poprzez przepuszczenie mieszaniny (tutaj tkanki larw po homogenizacji, czyli roztarciu i utworzeniu jednolitej mieszaniny) przez tzw. fazę stacjonarną (rozdzielczą), czyli złożę. Złożę zbudowane jest z substancji, które wykazują właściwości sorpcyjne (zdolność pochłaniania) względem przepływających przez nią związków chemicznych. Następnie związane ze złożem różne związki chemiczne są wymywane przy użyciu fazy ruchomej (eluentu). W zależności od intensywności oddziaływania poszczególnych składników mieszaniny z fazą ruchomą, jedne składniki są zatrzymywane w fazie stałej dłużej niż inne i następuje ich separacja. W entomotoksykologii znajdują zastosowanie m.in. chromatografia gazowa (GC, *gas chromatography*), cienkowarstwowa (TLC, *thin layer chromatography*), cieczowa wysokociśnieniowa (HPLC-MS, *high pressure liquid chromatography – mass spectrometry*), jak również metoda radioimmunologiczna (RIA, *radioimmunoassay*) i spektrometria masowa (GC-MS, *gas chromatography – mass spectrometry*).

Entomotoksykologia wykorzystuje analizy toksykologiczne w celu identyfikacji toksyn i środków farmakologicznych potencjalnie obecnych w ciele denata w czasie zgonu, spożytych wraz z tkankami miękkimi przez owady nekrofagiczne. Bada ona również, jaki efekt wywierają te substancje na rozwój żerujących na zwłokach owadów, a tym samym – w jaki sposób obecność tych substancji wpływa na możliwości szacowania czasu zgonu z zastosowaniem metod entomologii sądowej (Goff, Lord, 1994).

Chrząszcze i larwy muchówek, żywiące się tkankami zwłok w trakcie poszczególnych etapów rozkładu (głównie etap aktywnego i zaawansowanego rozkładu), wprowadzają do swojego ciała te same substancje, które przed śmiercią znajdowały się w ciele denata. Ich stężenie w tkankach owadów jest niższe niż w pierwotnym źródle (substancja i produkty jej metabolizowania ulegają z czasem stopniowemu wydaleniu), jednak nie stanowi to przeszkody w ich identyfikacji (Carvalho i in., 2001). Taka bioakumulacja substancji toksycznych pozwala na skuteczne wykorzystanie metod entomotoksykologii w toku śledztwa do określania przyczyny zgonu. Niniejszy artykuł ma na celu podsumowanie dotychczasowego stanu wiedzy z zakresu zastosowania entomotoksykologii w czynnościach dochodzeniowych z wykorzystaniem przykładów z literatury oraz zaprezentowanie wpływu wybranych substancji toksycznych i leków na rozwój żerujących na zwłokach larw owadów.

Pierwsze badania entomotoksykologiczne

W roku 1958 Utsumi zauważył, że muchówki (Diptera) wykazują różny stopień zainteresowania padliną szczura – w zależności od trucizny, która wywołała śmierć zwierzęcia. W latach 70. XX wieku po raz pierwszy zaobserwowano akumulację różnych metali (cynku, miedzi oraz wapnia) w tkankach dorosłych much domowych *Musca domestica* (Linnaeus, 1758; Sohal, Lamb, 1977, 1979). Beyer i in. (1980) opisali akumulację fenobarbitalu w larwach zebranych z całkowicie rozłożonych zwłok 22-letniej kobiety. Mimo braku tkanek do analizy toksykologicznej udało się ustalić, że zgon nastąpił w wyniku samobójstwa. Denatka po raz ostatni była widziana żywa dwa tygodnie wcześniej. Z kolei Nuorteva i Nuorteva (1982) wykazali akumulację rtęci u larw, poczwerek i osobników dorosłych muchówek z rodziny Calliphoridae (plujkowate) żerujących na rybach zawierających ten metal. Kolejne doniesienie pochodzi z Francji, gdzie w 1985 roku Leclercq i Brahy wykazali akumulację arsenu w muchówkach z rodzin Fanniidae, Piophilidae i Psychodidae. Natomiast Gunatilake i Goff (1989) opisali akumulację insektycydu malationu w larwach *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) i *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1842).

(Campobasso i in., 2004; Kaczorowska, Draber-Mońko 2010).

Kintz i in. (1990) analizowali z zastosowaniem chromatografii cieczowej próbki serca, wątroby, płuc i nerki oraz larwy płujek pobrane ze zwłok dwa miesiące po śmierci. Umożliwiło to wykrycie pięciu leków (były to barbiturany, benzodiazepiny i antydepresanty trójpierścieniowe). Badania wykazały również, że lepsze niż by się mogło wydawać wyniki i większą czułość identyfikacji zapewnia izolacja substancji chemicznych z larw, a nie tkanek zwłok.

Campobasso i in. (2004) prowadzili badania nad korelacją poziomu akumulacji różnych substancji toksycznych w tkance ludzkiej i żyjących się nią larw *Lucilia sericata* (Meigen, 1826). Łącznie przeanalizowano 18 przypadków. Tkanka została na początku poddana analizie toksykologicznej, a następnie badano, jakie stężenie zawartych w niej związków chemicznych było wykrywalne w żerujących na niej larwach muchówek. Analizy wykazały, że jedynie w przypadku kokainy stężenie było podobne w obu tkankach (ludzkiej i larw); pozostałe substancje wykazywały znacznie niższe stężenia w tkankach larw niż w tkance kontrolnej.

Podobne badania przeprowadzili Aguiar França i in. (2015). Analizowali oni 11 substancji (6 leków, kokainę i jej metabolity, popularny insektycyd i jego metabolity) w 28 ciałach pochodzących z formalnych śledztw policyjnych. Skuteczność identyfikacji w odniesieniu do analizowanych substancji wyniosła prawie 70%. Badania te potwierdziły również, że tego typu analiza jest szybka i łatwa w przeprowadzeniu (wyróżnia ją wyjątkowo prosta procedura), wymaga niewielkiego stężenia identyfikowanego związku chemicznego, a także jest możliwe analizowanie kilkunastu substancji jednocześnie.

Poprawna identyfikacja związków chemicznych zawartych w lub na zwłokach umożliwia nie tylko określenie przyczyny zgonu, ale jest również istotna przy szacowaniu czasu, który upłynął od śmierci. Brak wiedzy o potencjalnej obecności określonego związku chemicznego w zwłokach i jego potencjalnego wpływu na rozwój form preimaginalnych owadów może zatem skutkować istotnymi błędami w szacowaniu czasu zgonu, a tym samym nie może stanowić rzetelnego dowodu w śledztwie.

Wpływ wybranych związków chemicznych na rozwój larw na zwłokach

Obecnie w literaturze dostępnych jest wiele wyników badań prowadzonych nad wpływem różnych substancji na tempo rozwoju larw owadów na padlinie. Z powodu ich dużej liczby w tym artykule zostaną zaprezentowane jedynie niektóre przykłady. Wybrano substancje, które (1) zostały eksperymentalnie przebadane, a przebieg tych analiz został dokładnie opisany w literaturze; (2) mające potwierdzony wpływ na tempo rozwoju larw

oraz takie, (3) które wyizolowano ze zwłok w trakcie czynności dochodzeniowo-śledczych. Zdecydowana większość analizowanych związków chemicznych przyspiesza rozwój larw, jednak nietrudno znaleźć substancje, które ten rozwój opóźniają lub dla których nie zauważono żadnego wpływu na ten proces. W tabeli nr 1 podsumowano dotychczasowy stan wiedzy z zakresu entomotoksykologii, prezentując nie tylko wybrane i opisane w niniejszym tekście najczęściej pojawiające się w literaturze substancje, ale rozszerzając informacje również o inne ksenobiotyki.

Diazepam jest substancją bardzo łatwo dostępną, wykazującą działanie uspokajające, przeciwlękowe, rozluźniające mięśnie i ułatwiające zasypanie. Carvalho i in. (2001) analizowali jego wpływ na rozwój larw *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) i *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830), hodowanych na wątrobie zawierającej diazepam, z zastosowaniem metody GS-MS. Początkowo nie zauważono żadnych zmian w tempie wzrostu larw, ale już w 18 godzinie rozwoju okazało się, że larwy są większe niż przewidywano. Badania wykazały, że zaobserwowane przyspieszenie ich wzrostu wynikało z bioakumulacji podawanego leku, który był łatwo wykrywalny nie tylko u larw, ale również u poczwerek i postaci dorosłych. Ustalono, że diazepam może prowadzić do błędów w szacowaniu wieku larw (a tym samym czasu zgonu) wynoszącego nawet 54 godziny.

Innymi przyspieszającymi rozwój larw muchówek substancjami są m.in.: kokaina, heroina, metamfetamina czy ketamina (Goff i in., 1989, 1991, 1992; Mullany i in., 2014; Zou i in., 2013). Larwy muchówek hodowane na tkance zawierającej letalną dawkę kokainy rozwijają się znacznie szybciej po 36 godzinach od wylęgnięcia (osiągając maksimum długości około 76 godziny), przez co cały proces rozwoju ulega skróceniu (Goff i in., 1989). Lord (1990) opisał przypadek 20-letniej kobiety, na której zwłokach znaleziono różnej długości larwy *Lucilia sericata* i *Cynomyopsis cadaverina* (Robineau-Desvoidy, 1830). Larwy tych płujek zebrane z tułowi miały długość 6–9 mm, co wskazywałoby, że zgon nastąpił 7 dni wcześniej. Natomiast larwy zebrane z okolic otworów nosowych były znacznie dłuższe (17,7 mm) i sugerowały znacznie dłuższy PMI (3 tygodnie). Różnice w rozwoju larw zebranych z różnych części ciała wynikały jednak z tego, że denatka tuż przed śmiercią zażyła donosowo kokainę i resztki tej substancji znacznie przyspieszyły wzrost larw znalezionych na twarzy.

W przypadku larw *Sarcophaga peregrina* (Robineau-Desvoidy, 1830) rozwijających się na tkance zawierającej heroinę Goff i in. (1991) zaobserwowali szybszy wzrost larw między 18 a 96 godziną oraz wolniejszy czas przepoczwarczenia. Larwy żerujące na tkance zawierającej metamfetaminę wykazywały szybszy wzrost między 24 a 60 godziną, po czym ich rozwój spowalniał i ostatecznie larwy były mniejsze niż larwy z próby kontrolnej, czyli hodowane na tkance

bez letalnej dawki tego narkotyku (Goff i in., 1992). Przyspieszenie rozwoju larw po zażyciu metamfetaminy potwierdziły także inne badania Mullany i in. (2014).

Podobne działanie może wykazywać anestetyk ketamina. Zou i in. (2013) wykazali, że hodowanie larw *Lucilia sericata* na tkance zawierającej ketaminę skraca czas trwania stadium larwalnego. Jednak Lü i in. (2014) doszli do innych wniosków. Hodując larwy *Chrysomya megacephala* na tkankach zawierających różne stężenia tej substancji, nie stwierdzili żadnych istotnych zależności pomiędzy dawką ketaminy a różnicą w tempie wzrostu.

Nie wszystkie związki chemiczne przyspieszają rozwój larw; część z nich może doprowadzić do jego znacznego spowolnienia. Doskonale obrazuje to przykład tlenku węgla, potocznie nazywanego czadem. Związek ten opóźnia kolonizację zwłok, łącząc się z hemoglobina zawartą we krwi i tym samym odstrasza owady (Smith, 1986).

Niezwykle ciekawym przykładem jest morfina, która w jednym eksperymencie zauważalnie opóźniła wzrost larw *Lucilia sericata*, natomiast w przypadku larw *Chrysomya megacephala* rozwój został przyspieszony (Bourel i in., 1999). Przykład ten po raz kolejny pokazuje zatem, że związek chemiczny może oddziaływać na różne gatunki Calliphoridae w odmienny sposób. Podobną zależność zaobserwowano u tych samych gatunków w przypadku opisanej wyżej ketaminy (Zou i in., 2013; Lü i in., 2014).

Innymi związkami chemicznymi mogącymi opóźnić rozwój larw są m.in. stosowana jako lek psychotropowy amitryptylina, hydrokortyzon (stosowany m.in. w leczeniu chorób skórnych), insektycyd malation (który opóźnia składanie jaj przez owady) czy etanol (Gagliano-Candela, Aventaggiato, 2001; Lü i in., 2014). W przypadku hydrokortyzonu Musvasva i in. (2001) wykazali, że rozwój larw *Sarcophaga tibialis* (Macquart, 1851) został przez ten steroid przyspieszony.

Z kolei larwy Calliphoridae hodowane na tkance zawierającej m.in. fencyklidynę (dawniej używana do znieczulenia przedoperacyjnego; Goff i in., 1994) czy paracetamol (O'Brien, Turner, 2004) nie wykazywały żadnych różnic we wzroście w porównaniu do próby kontrolnej. W przypadku fencyklidyny zaobserwowano za to dłuższy okres przepoczwarczenia (Goff i in., 1994).

Podsumowanie

Przedstawione w niniejszym artykule przykłady pokazują, że przy ustalaniu przyczyny oraz czasu zgonu należy przeprowadzić analizę tkanek zebranych ze zwłok larw owadów (głównie muchówek) na obecność substancji farmakologicznych. Co więcej, larwy owadów żerujące na zwłokach włączają do swojego układu nie tylko potencjalne toksyny, ale i tkanki zawierające DNA. Wells i in. (2001) wykazali, że jest możliwe wyizolowanie ludzkiego DNA z przewodu pokarmowego larw muchówek; natomiast

Chávez-Briones i in. (2013) przeprowadzili z sukcesem identyfikację zwłok poprzez analizę mikrosatelitarnego DNA wyizolowanego z treści pokarmowej larw muchówek zebranych z ciała. Z kolei Curic i in. (2014) sugerują, że możliwa jest identyfikacja osoby na podstawie DNA odzyskanego z komarów. Ich badania zakładały, że hipotetycznie komar mógłby żywić się na ofierze lub mordercy na miejscu zbrodni, a tym samym izolacja DNA z jego układu mogłaby stanowić potencjalne narzędzie do połączenia osoby i miejsca, nawet po usunięciu ciała. Jest to o tyle użyteczne w śledztwie, że niektóre gatunki komarów nie oddalają się od miejsca „pożywiania się” na większe odległości (podczas gdy inne mogą oddalić się nawet o 30 km).

Niektóre owady mogą również pełnić funkcję tzw. sensorów biologicznych. Frederickx i in. (2014) opisali potencjalne wykorzystanie osy *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) do wykrywania lotnych związków chemicznych wydzielanych przez zwłoki (co umożliwia ich ujawnienie) lub narkotyków. Owady są tanie w hodowli, a do tego łatwo uczą się reakcji na określoną substancję.

Niewątpliwie entomologia sądowa, a także będąca jej działem entomotoksykologia są pomocne w śledztwie i metodyka w nich stosowana powinna być włączana do standardowych czynności dochodzeniowych. Prowadzenie dalszych, rozszerzonych badań, analizujących wpływ różnych związków chemicznych na rozwój licznych gatunków muchówek i chrząszczy bytujących na zwłokach pozwoli na dokładniejsze zrozumienie mechanizmu bioakumulacji i skuteczniejsze szacowanie *post mortem interval*.

Tabela 1. Podsumowanie dotychczasowej wiedzy uzyskanej z wybranych analiz entomotoksykologicznych, z uwzględnieniem rodzaju substancji i jej wpływu na owady żerujące na zwłokach.

Substancja chemiczna	Gatunek i stadium rozwojowe	Wpływ na metabolizm owada	Literatura
diazepam	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe <i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann, 1819) <i>Chrysomya putoria</i> (Wiedemann, 1830)	przyspiesza rozwój larw	Carvalho i in., 2001
kokaina	larwy <i>Sarcophaga peregrina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	przyspiesza rozwój larw	Goff i in., 1989
	larwy <i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826) i <i>Cynomyopsis cadaverina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	przyspiesza rozwój larw	Lord, 1990
heroina	larwy <i>Sarcophaga peregrina</i>	przyspiesza rozwój larw, ale przepoczwarczenie przebiega wolniej	Goff i in., 1991
metamfetamina	larwy <i>Sarcophaga ruficornis</i> (Fabricius, 1794)	przyspiesza rozwój larw, jednak ostatecznie larwy są mniejsze niż próba kontrolna	Goff i in., 1992
	larwy <i>Calliphora stygia</i> (Fabricius, 1781)	przyspiesza rozwój larw	Mullany i in., 2014
ketamina	larwy <i>Lucilia sericata</i>	przyspiesza rozwój larw	Zou i in., 2013
	larwy <i>Chrysomya megacephala</i> (Fabricius, 1794)	brak zależności	Lü i in., 2014
morfina	larwy <i>Lucilia sericata</i>	opóźnia rozwój larw	Bourel i in., 1999
	larwy <i>Chrysomya megacephala</i>	przyspiesza rozwój larw	Bourel i in., 1999
hydrokortyzon	larwy <i>Sarcophaga tibialis</i> (Macquart, 1851)	przyspiesza rozwój larw	Musvasva i in., 2001
paracetamol	larwy <i>Calliphora vicina</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	brak zależności	O'Brien, Turner, 2004
fencyklidyna	larwy <i>Sarcophaga ruficornis</i>	brak wpływu na wzrost larw, ale przepoczwarczenie przebiega znacznie dłużej	Goff i in., 1994
malation (insektycyd)	larwy <i>Chrysomya megacephala</i> i <i>Chrysomya rufilacies</i> (Macquart, 1842)	spowalnia wzrost larw, opóźnia składanie jaj przez owady dorosłe	Gunatilake, Goff, 1989
etanol	larwy <i>Phormia regina</i> (Meigen, 1826)	spowalnia wzrost larw	Tabor i in., 2005
kodeina	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe <i>Lucilia sericata</i>	przyspiesza rozwój larw	Kharbouche i in., 2008
metadon	larwy <i>Lucilia sericata</i>	wysoka użyteczność w wykrywaniu metadonu, brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Gosselin i in., 2010
metrylofenidat	larwy <i>Lucilia sericata</i> i <i>Calliphora vicina</i>	wysoka użyteczność w wykrywaniu metylofenidatu, brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Bushby i in., 2012
pentotal sodu	larwy <i>Calliphora vicina</i>	powoduje śmierć larw	Sadler i in., 1997
dichlorek parakwatu (herbicyd)	larwy Calliphoridae	wysoka użyteczność w wykrywaniu herbicydu, brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Lawai i in., 2015

Substancja chemiczna	Gatunek i stadium rozwojowe	Wpływ na metabolizm owada	Literatura
kadm	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe <i>Lucilia sericata</i>	spowalnia rozwój larw, wydłuża czas przepoczwarczenia, waga ciała larw, poczwarek i osobników dorosłych ulega redukcji	Simkiss i in., 1993
ołów	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe <i>Calliphora dubia</i> (Macquart, 1855)	wysoka użyteczność w wykrywaniu różnych koncentracji ołowiu, brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Roeterdink i in., 2004
cynk, żelazo, miedź, wapń	larwy <i>Musca domestica</i> (Linnaeus, 1758)	brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Sohal, Lamb, 1977, 1979
rtęć	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe Calliphoridae oraz osobniki dorosłe <i>Creophilus maxillosus</i> (Linnaeus, 1758)	akumulacja ksenobiotyków w całym łańcuchu pokarmowym (nie tylko w tkankach larw muchówek, ale i żyjących się nimi chrząszczy), brak danych na temat wpływu na rozwój larw	Nuorteva, Nuorteva, 1982
N, N-Dietylo-meta-toluamid (DEET, środek owadobójczy)	larwy i osobniki dorosłe <i>Lucilia sericata</i> i <i>Blaesoxipha plinthopyga</i> (Wiedemann, 1830)	opóźnia składanie jaj na zwłokach, opóźnia rozwój i zwalnia wzrost larw	Shelomi i in., 2012
flunitrazepam („pigulka gwałtu”)	larwy, poczwarki i osobniki dorosłe <i>Chrysomya megacephala</i>	nie wpływa na tempo rozwoju larw, wpływa znacząco na wagę poczwarek i osobników dorosłych	Baia i in., 2016a
	larwy <i>Chrysomya megacephala</i> , <i>Chrysomya albiceps</i> i <i>Cochliomyia macellaria</i> (Fabricius, 1775)	wysoka użyteczność w wykrywaniu flunitrazepamu	Baia i in., 2016b

Źródło tabeli: autor

Bibliografia

1. Aguiar França, J., Brandão, M., Sodr , F. F., Caldas, E. D. (2015). Simultaneous determination of prescription drugs, cocaine, aldicarb and metabolites in larvae from decomposed corpses by LC-MS-MS after solid-liquid extraction with low temperature partitioning. *Forensic Toxicology*, 33, 93.

2. Baia, T. C., Campos, A., Wanderley, B. M. S., Gama, R. A. (2016a). The effect of flunitrazepam (Rohypnol (R)) on the development of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) and its implications for forensic entomology. *Journal of Forensic Sciences*, 61, 1112.

3. Baia, T. C., Gama, R. A., de Lima, L. A. S., Lima, K. M. G. (2016b). FTIR microspectroscopy coupled with variable selection methods for the identification of flunitrazepam in necrophagous flies. *Analytical Methods*, 8, 968.

4. Beyer, J. C., Enos, W. F., Stajic M., (1980). Drug identification through analysis of maggots. *Journal of Forensic Sciences*, 25, 411.

5. Bourel, B., H douin, V., Martin-Bouyer, L., B cart, A., Tournel, G., Deveaux, M., Gosset, D. (1999). Effects of morphine in decomposing bodies on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Forensic Sciences*, 44, 354.

6. Bushby, S. K., Thomas, N., Priemel, P. A., Coulter, C. V., Rades, T., Kieser, J. A. (2012). Determination of methylphenidate in Calliphorid larvae by liquid-liquid extraction and liquid chromatography mass spectrometry – forensic entomotoxicology using an in vivo rat brain model. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70, 456.

7. Campobasso, C. P., Gherardi, M., Caligara, M., Sironi, L., Introna, F. (2004). Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study. *International Journal of Legal Medicine*, 118, 210.

8. Carvalho, L. M. L., Linhares, A. X., Trigo, J. R. (2001). Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. *Forensic Science International*, 120, 140.
9. Chávez-Briones, M. L., Hernández-Cortés, R., Díaz-Torres, P., Niderhauser-García, A., Ancer-Rodríguez, J., Jaramillo-Rangel, G., Ortega-Martínez, M. (2013). Identification of human remains by DNA analysis of the gastrointestinal contents of fly larvae. *Journal of Forensic Sciences*, 58, 248.
10. Curic, G., Hercog, R., Vrselja, Z., Wagner, J. (2014). Identification of person and quantification of human DNA recovered from mosquitoes (*Culicidae*). *Forensic Science International Genetics*, 8, 109.
11. Frederickx, C., Verheggen, F. J., Brostaux, Y., Haubruge, E. (2014). Associative learning of *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae) to methyl disulfanylmethane. *Journal of Forensic Sciences*, 59, 413.
12. Gagliano-Candela, R., Aventaggiato, L. (2001). The detection of toxic substances in entomological specimens. *International Journal of Legal Medicine*, 114, 197.
13. Gennard, D. E. (2007). *Forensic Entomology. An introduction*. Chichester: Wiley.
14. Goff, M. L., Omori, A. I., Goodbrod, J. R. (1989). Effect of cocaine in tissues on the rate of development of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Medical Entomology*, 26, 91.
15. Goff, M. L., Brown, W. A., Hewadikaram, K. A., Omori, A. I. (1991). Effects of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on estimation of postmortem intervals using arthropod development patterns. *Journal of Forensic Sciences*, 36, 537.
16. Goff, M. L., Brown, W. A., Omori, A. I. (1992). Preliminary observations of the effect of methamphetamine in decomposing tissues on the development rate of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on estimations of postmortem intervals. *Journal of Forensic Sciences*, 37, 867.
17. Goff, M. L., Brown, W. A., Omori, A. I., LaPointe, D. A. (1994). Preliminary observations of the effect of phencyclidine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Forensic Sciences*, 39, 123.
18. Goff, M. L., Lord, W. D. (1994). Entomotoxicology: a new area for forensic investigation. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 15, 51.
19. Gosselin, M., del Mar, R. F. M., Wille, S. M. R., Samyn, N., de Boeck, G., Bourel, B. (2010). Quantification of methadone and its metabolite 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine in third instar larvae of *Lucilia sericata* (Diptera: calliphoridae) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, 34, 374.
20. Gunatilake, K., Goff, M. L. (1989). Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae. *Journal of Forensic Sciences*, 34, 714.
21. Kaczorowska, E., Pieśniak, D., Szczerkowska, Z. (2002). Entomologiczne metody określania czasu śmierci. *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii*, 52, 2.
22. Kaczorowska, E., Pieśniak, D., Szczerkowska, Z. (2004). Wykorzystanie metod entomologicznych w próbach określenia daty zgonu – opis przypadków. *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii*, 54, 2.
23. Kaczorowska, E., Draber-Mońko, A. (2010). *Wprowadzenie do entomologii sądowej*. Gdańsk: Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego.
24. Kharbouche, H., Augsburg, M., Cherix, D., Sporkert, F., Giroud, C., Wyss, C., Champod, C., Mangin, P. (2008). Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. *International Journal of Legal Medicine*, 122, 205.
25. Kintz, P., Tracqui, A., Mangin, P. (1990). Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. *Journal of Forensic Science Society*, 30, 243.
26. Lawai, V., Rahim, N. A. A., Ngaini, Z. (2015). Blowfly larval tissues as a secondary detector for determining paraquat-related death in rabbit carcass. *Journal of Forensic Sciences*, 60, 1620.
27. Leclercq, M., Brahy, G. (1985). Entomologie et médecine légale: datation de la mort. *The Journal of Legal Medicine*, 28, 271.
28. Lord, W. D. (1990). Case histories of the use of insects in investigations. W: E. P. Catts, N. H. Haskell (red.), *Entomology and death. A procedural guide*. Clemson: Joyce's Print Shop: 9.
29. Lü, Z., Zhai, X., Zhou, H., Li, P., Ma, J., Guan, L., Mo, Y. (2014). Effects of ketamine on the development of forensically important blowfly *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae) and its forensic relevance. *Journal of Forensic Sciences*, 59, 991.
30. Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, S., Szpila, K. (2010a). Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 1: Pattern and rate of decomposition. *Forensic Science International*, 194, 85.

31. Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, S., Szpila, K. (2010b). Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 2: Composition and residency patterns of carrion fauna. *Forensic Science International*, 195, 42.
32. Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, S., Szpila, K. (2011). Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 3: Succession of carrion fauna. *Forensic Science International*, 207, 150.
33. Matuszewski, S. (2012). Estimating the Preappearance Interval from temperature in *Creophilus maxillosus* L. (Coleoptera: Staphylinidae). *Journal of Forensic Sciences*, 57, 136.
34. Matuszewski, S., Frątczak, K., Konwerski, S., Bajerlein, D., Szpila, K., Jarmusz, M., Szafałowicz, M., Grzywacz, A., Mądra, A. (2016). Effect of body mass and clothing on carrion entomofauna. *International Journal of Legal Medicine*, 130, 221.
35. Matuszewski, S., Szafałowicz, M. (2013). Temperature-dependent appearance of forensically useful beetles on carcasses. *Forensic Science International*, 229, 92.
36. Mullany, C., Keller, P. A., Nugraha, A. S., Wallman, J. F. (2014). Effects of methamphetamine and its primary human metabolite, p-hydroxy-methamphetamine, on the development of the Australian blowfly *Calliphora stygia*. *Forensic Science International*, 241, 102.
37. Musvasva, E., Williams, K. A., Muller, W. J., Villet, M. H. (2001). Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of *Sarcophaga (Curranella) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), and implications for estimating post mortem interval. *Forensic Science International*, 120, 37.
38. Nuorteva, P., Nuorteva, S. L. (1982). The fate of mercury in Sarcosaprophagous flies and in insects eating them. *A Journal of the Human Environment*, 11, 34.
39. O'Brien, C., Turner, B. (2004). Effect of paracetamol on *Calliphora vicina* larval development. *International Journal of Legal Medicine*, 118, 188.
40. Raszeja, S., Nasiłowski, W., Markiewicz, J. (1990). *Medycyna sądowa. Podręcznik dla studentów*. Warszawa: Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich.
41. Roeterdink, E. M., Dadour, I. R., Watling, J. R. (2004). Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *International Journal of Legal Medicine*, 118, 63.
42. Sadler, D. W., Robertson, L., Brown, G., Fuke, C., Pounder, D. J. (1997). Barbiturates and analgesics in *Calliphora vicina* larvae. *Journal of Forensic Sciences*, 42, 481.
43. Seńczuk, W. (2012). *Toksykologia współczesna*. Warszawa: Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich.
44. Shelomi, M., Matern, L. M., Dinstell, J. M., Harris, D. W., Kimsey, R. B. (2012). DEET (N, N-Diethyl-meta-toulamide) induced delay of blowfly landing and oviposition rates on treated pig carrion (*Sus scrofa* L.). *Journal of Forensic Sciences*, 57, 1507.
45. Simkiss, K., Daniels, S., Smith R. (1993). Effects of population density and cadmium toxicity on growth and survival of blowflies. *Environmental Pollution*, 81, 41.
46. Smith, K. G. V. (1986). *A manual of forensic entomology*. London: Cornell University Press.
47. Sohal, R. S., Lamb, R. E. (1977). Intracellular deposition of metals in the midgut of the adult housefly, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 23, 1349.
48. Sohal, R. S., Lamb, R. E. (1979). Storage excretion of metallic cations in the adult housefly, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 25, 119.
49. Tabor, K. L., Fell, R. D., Brewster, C. C., Pelzer, K., Behonick, G. S. (2005). Effects of antemortem ingestion of ethanol on insect successional patterns and development of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 42, 481.
50. Utsumi, K. (1959). Studies on arthropods congregating to animal carcasses, with regard to the estimation of postmortem interval. *Ochanomizu Medical Journal*, 7, 202.
51. Wells, J. D., Introna, F., Di Vella, G., Campobasso, C. P., Hayes, J., Sperling, F. A. H. (2001). Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *Journal of Forensic Sciences*, 46, 685.
52. Zou, Y., Huang, M., Huang, R., Wu, X., You, Z., Lin, J., Huang, X., Qiu, X., Zhang, S. (2013). Effect of ketamine on the development of *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and preliminary pathological observation on larvae. *Forensic Science International*, 226, 273.