

## **Zum altersabhängigen Wandel der Darmtraktfüllung bei Schmeißfliegenmaden – eine Untersuchungsmethode im Rahmen der forensischen Todeszeitbestimmung**

**C. Reiter<sup>1</sup> und P. Hajek<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Wien, Sensengasse 2, A-1090 Wien, Österreich

<sup>2</sup>Zentrales Institut für Radiodiagnostik der Universität Wien, Alserstraße 4, A-1090 Wien, Österreich

### **Age-dependent Change of Intestinal Filling of Blowfly Maggots— an Aid in Establishing Time of Death**

**Summary.** Maggots of the forensically important blowfly species *Calliphora vicina* were reared under three different temperature conditions. They were fed food containing insoluble contrast medium. Subsequent radiological examinations proved that the maggots stopped eating immediately upon attaining their maximum length. During the course of their subsequent development, the anterior intestine always remains empty. The evaluation of intestinal filling in blowfly maggots represents an efficient method of determining larval age in establishing time of death.

**Key words:** Time of death, intestinal filling of blowflies – Maggots, blowfly *Calliphora vicina*

**Zusammenfassung:** Maden der forensisch bedeutsamen Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* wurden unter 3 Temperaturbedingungen gezüchtet, wobei das Futter mit einem unlöslichen Röntgenkontrastmittel versetzt war. Radiologische Untersuchungen des Darmtraktes konnten nachweisen, daß die Maden zum Zeitpunkt ihrer Maximallänge die Nahrungsaufnahme einstellen und danach einen geleerten Darmtrakt aufweisen. Die Beurteilung der Darmfüllung stellt eine wichtige ergänzende Methode bei der Rekonstruktion des Larvenalters im Rahmen der forensischen Todeszeitbestimmung dar.

**Schlüsselwörter:** Todeszeitbestimmung, Darmtraktfüllung von Schmeißfliegen – Maden, Schmeißfliegenart *Calliphora vicina*

Im Rahmen der Untersuchungen über die Möglichkeiten einer exakten Todeszeitbestimmung anhand des Wachstumsverhaltens der Larven der forensisch bedeutsamen Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* [7, 8] konnte nachgewiesen werden, daß die Maden in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur bis zu einer bestimmten Maximallänge heranwachsen, um nach Erreichen des Peaks wieder an Gesamtlänge abzunehmen. Die größte durchschnittliche Madenlänge beträgt 17,6 bis 18,2 mm, wobei die Larven bei niedrigen Temperaturen größer werden als unter heißen Klimabedingungen. Kurz vor der Verpuppung bzw. während der Winterruhe beträgt die Körperlänge etwa 14,5 mm. Aufgrund des eigentümlichen Verlaufes der Wachstumskurven fällt es daher schwer, bei einer Made, deren Körperlänge zwischen 14,5 mm und der durchschnittlichen Maximalgröße beträgt, das Alter eindeutig zu bestimmen. Mißt ein Individuum z. B. 16 mm, kann es sich in seiner Entwicklung sowohl *vor* als auch *nach* Erreichen des Wachstumsgipfels befinden.

Heranwachsende Maden, welche nicht durch störende Einflüsse von außen, wie etwa extreme Feuchtigkeit oder abnorm hohe Temperaturen irritiert werden, neigen zum Verweilen am bzw. im Freßmedium [6], wandern auf diesem nur wenig herum und bohren sich bei Berührung fluchtartig in prä-existente Freßgänge.

Maden nach Erreichen des Wachstumsgipfels hingegen wandern intensiv auf dem Leichnam umher, verlassen diesen auch und können selbst viele Meter vom ursprünglichen Freßmedium entfernt, aufgefunden werden [3, 4, 9]. Auf Berührung ziehen sich Maden jenes Entwicklungsabschnittes rasch zusammen und runden sich tönchenförmig ab.

Im Zuge der bisherigen Züchtungen fiel auf, daß die Maden der *Calliphora vicina* etwa zum Zeitpunkt des Wachstumsgipfels keine Nahrung mehr aufnehmen. Der, durch die transparenten Gewebe der Maden dunkel hindurchschimmernde, gefüllte Darmtrakt war immer nur *vor* Erreichen des Peaks wahrzunehmen. Es erschien daher angezeigt, den Verdauungstrakt der Fliegenmaden durch eine den Verlauf und den Füllungszustand darstellende Methode zu untersuchen, um zu klären, ob tatsächlich Zusammenhänge zwischen dem Freßverhalten der Maden und dem Larvenalter bzw. Entwicklungsstadium bestehen. In Analogie zur Kontrastmitteldarstellung des Gastrointestinaltraktes im Rahmen der Humanmedizin wurde daher für die gegenständliche Fragestellung eine entsprechende radiologische Untersuchungstechnik entwickelt.

## Material und Methodik

### *Kontrastmittel*

Zur radiologischen Untersuchung war es nicht nur erforderlich Maden der Art *Calliphora vicina* unter genormten Bedingungen zu züchten, sondern es mußten die Tiere auch eine gleichmäßige Kontrastmittelfüllung des Darmtraktes aufweisen. Um jegliche Beeinflussung oder Beeinträchtigung der Entwicklungsvorgänge durch lösliche Kontrastmittel [1], die aus dem Darm resorbiert würden, ausschließen zu können, erschien Bariumsulfat ( $\text{BaSO}_4$ ), das klassische radiologische Kontrastmittel, aufgrund seiner physikalischen und biologischen Eigenschaften [2] auch im gegenständlichen Untersuchungsbereich am geeignetsten. Das außerordentlich strahlendichte Bariumsulfat verhält sich nach Aufnahme in den Darmtrakt

der Maden infolge seiner Unlöslichkeit inert und wird nach der Passage unverändert wieder an das Brutmedium abgegeben. Um eine kontinuierliche Aufnahme der Kontrastmittelsubstanz durch die Made zu erzielen, ohne gleichzeitig die Ernährung der Larven zu beeinträchtigen, war es erforderlich, Bariumsulfat im Nahrungssubstrat zu emulgieren. Zur Stabilisierung dieser Emulsion, als auch zur Erhöhung der Futterkonsistenz – junge Maden erstickten sehr leicht in flüssigem Futter – wurde dem Barium-Futterbrei Gelatine beigegeben.

Als beste Zusammensetzung des Kontrastmittelfutters erwies sich folgendes Rezept: 25g BaSO<sub>4</sub>Pulver p. a. werden gut in 100 g Leberhomogenisat emulgiert und nach Erwärmung im Wasserbad mit 3 Stück Blattgelatine vermischt. Das erkaltete Kontrastmittelgelee kann in entsprechend große Blöcke portioniert und im Kühlschrank mehrere Tage gelagert werden.

### *Züchtung*

Je ein Gelee (ca. 100 Eier) der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* wurde auf Kontrastmittelgelee deponiert und dieses in weithalsige, mit Stoff verschlossene 200 ml Gläser gebracht, deren Boden ca. 1 cm hoch mit feuchtem, groben Sägemehl bedeckt war. Die Aufzucht der geschlüpften Maden erfolgte bei 3 unterschiedlichen Temperaturbedingungen: 12° C, 20° C und 30° C. Die Larven von jeweils 5 Eiballen wurden unter derselben Temperaturgegebenheit herangezogen. Zur Konstanthaltung der gewünschten Bruttemperatur konnten die Züchtungen in einem Klimaschrank vorgenommen werden. Feuchtigkeit des Brutmediums und das Angebot an Kontrastmittelfutter unterlagen einer mehrmaligen täglichen Kontrolle.

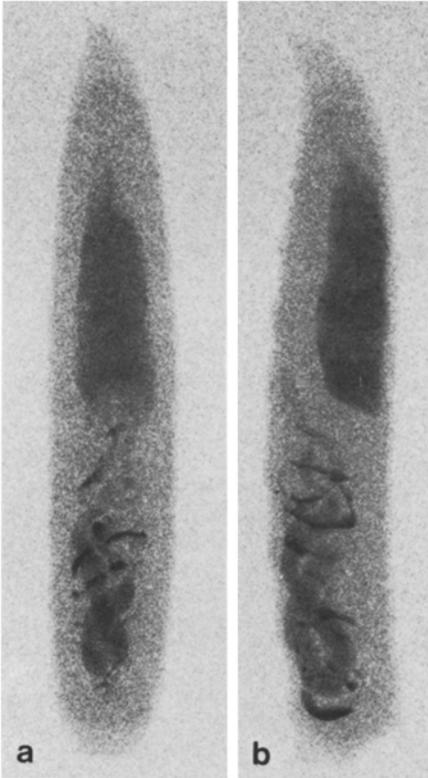
Zur Dokumentation des Wachstumsverlaufes war es erforderlich, 1–2 mal täglich jeder Züchtungscharge 5–10 Individuen zu entnehmen, sie in siedendem Wasser abzutöten und die Länge jeder Made unter gleichzeitigem Vermerk des Untersuchungszeitpunktes zu protokollieren. Bis zur röntgenologischen Untersuchung blieben die abgetöteten Maden in 5%iger Formaldehydlösung verwahrt.

### *Radiologische Untersuchung*

Die abgetöteten, fixierten Maden wurden entsprechend dem Larvenalter vor Durchführung der Röntgenuntersuchung in chronologischer Reihenfolge mit Gelatin-Glycerin derart auf Folien geklebt, daß die Abbildungen im dorso-ventralen bzw. lateralen Strahlengang angefertigt werden konnten. Da trotz geringer Weichteildicke der Objekte eine hohe Kontrastauflösung und Detailerkennbarkeit gewünscht waren, wurden die Aufnahmen mit einem Mammographiegerät „Mammomat“, Fa. Siemens, durchgeführt (6-puls Röntgengenerator, Molybdän-Drehanodenröhre mit Molybdänfilter 0,03 mm, Aufnahmespannung 28–40 kV, Fokus-Filmabstand 45 cm, Brennfleckgröße 0,6 mm × 0,6 mm, wahlweise Belichtungsautomatik oder freie Wahl der Aufnahmedaten). Anwendung fanden folienlose Kassetten 13/18 und als Film ein X-Omat S (Fa. Kodak). Wegen der geringen Weichteildicke der Maden mußten die Aufnahmen ohne Belichtungsautomatik bei freier Wahl der Aufnahmedaten angefertigt werden. Die Aufnahmespannung betrug 30 kV, die verwendeten mAs-Werte variierten zwischen 64 und 100. Die erhaltenen Abbildungen ließen gut den durch BaSO<sub>4</sub> markierten Darmtrakt, aber auch den zum Teil fettgedichten Weichteilkörper der Maden erkennen. Da sich der gefüllte Darmtrakt bei Betrachtung einer Made mit freiem Auge als braunschwarzes Gebilde deutlich durch die übrigen grauweißen Gewebe (Fettkörper, Drüsen und Muskulatur) hindurch erkennen läßt, erschien es instruktiver, die erhaltenen Röntgennegative photo-technisch direkt zu vergrößern.

### **Ergebnisse**

Die Mittelwerte  $\bar{x}$  der erhobenen täglichen Meßdaten der abgetöteten Maden wurden in ein Zeit-Längen- Koordinatensystem eingetragen, sodaß für jede der 3 Temperaturbereiche die charakteristische Wachstumskurve zur Darstellung kam. Nachdem alle Röntgenabbildungen des Intestinaltraktes in zeitlicher



**Abb. 1a, b.** Phototechnisch vergrößertes Positiv des Darmtraktröntgens einer Made von *Calliphora vicina* vor Erreichen des Wachstumsgipfels (Individuenlänge 17 mm). **a** dorso-ventraler Strahlengang, **b** lateraler Strahlengang (rechts: dorsal)

Reihenfolge aufgereiht worden waren, erfolgte die Zuordnung der einzelnen Darmfüllungsbilder zum jeweiligen Asservierungszeitpunkt auf der Wachstumskurve.

Unabhängig von der Züchtungstemperatur wiesen alle Maden im Bereich des aufsteigenden Kurvenschenkels eine starke Füllung des Darmtraktes auf. Dieser läßt während des Heranwachsens 2 markante Abschnitte erkennen (Abb. 1).

Im apikalen – vorderen – Anteil der Maden findet sich, unabhängig von der Individuengröße, eine unterschiedlich große, konstant nachzuweisende lanzettförmige Kontrastmittelanreicherung. Ihre Anordnung am Beginn des Verdauungstraktes spricht für eine „kropfartige“ Funktion. Die räumliche Ausdehnung dieses Kropfes nimmt auch nach erfolgter Fütterung deutlich an Größe und Füllungsichte zu. Vollständig geleerte Kröpfe findet man jedoch im Stadium des Heranwachsens – also vor dem Wachstumsgipfel – *nie*, wenn den Maden in ausreichender Menge Nahrung angeboten wird. Je mehr sich die Madenlänge der Maximallänge nähert, desto kleiner wird der kropfartige Darmabschnitt.

Der apikalen Kontrastmittelanreicherung entspringt ein dünnes, außerordentlich stark gewundenes Darmrohr, dessen exakter Verlauf infolge wechselnder Kontrastmittelfüllung nicht darzustellen war. Die Gesamtlänge dieses „distalen“ Darmabschnittes dürfte jedoch ein Mehrfaches der Individuenlänge

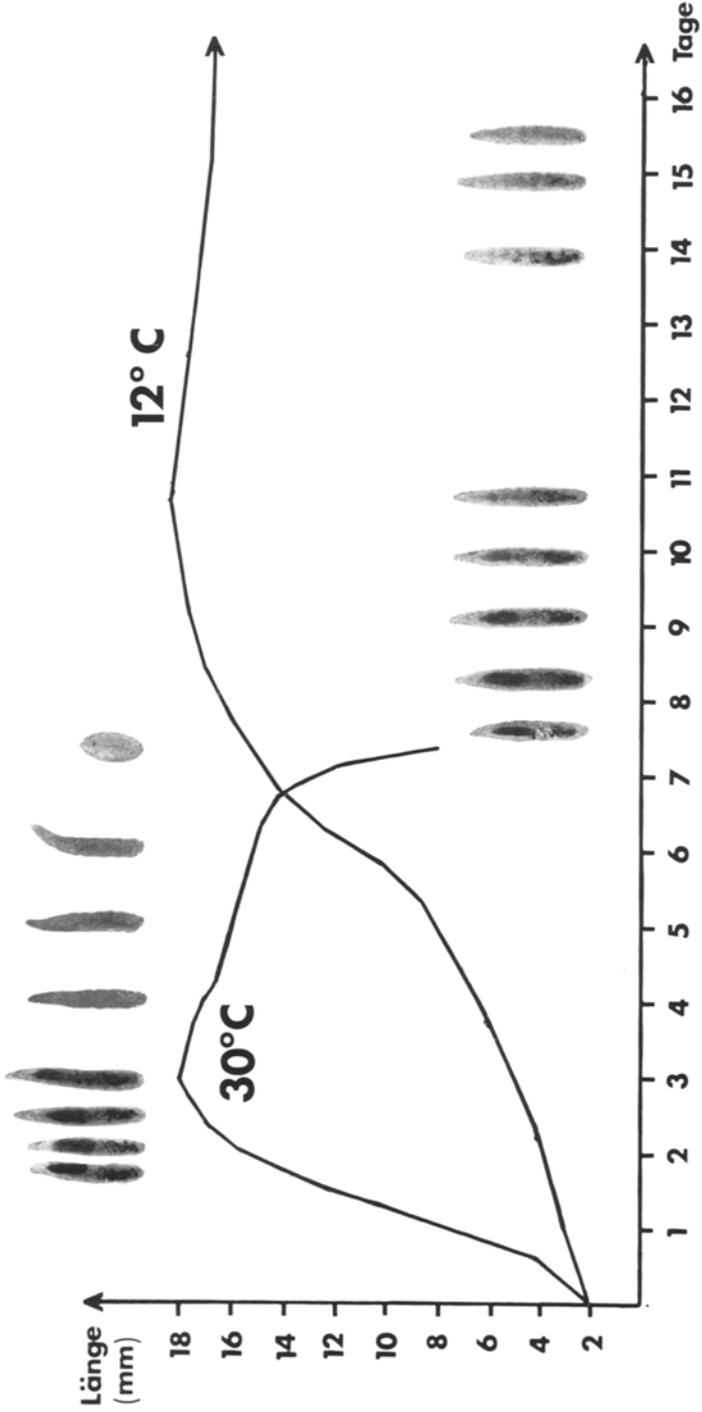


Abb. 2. Temperaturabhängigkeit der Darmfüllung und der Körperlänge bei Maden der Art *Calliphora vicina*

betragen. Die Analöffnung befindet sich ventral in der Mittellinie im Bereich des 12. – des letzten – Madensegmentes [5].

Während bei den untersuchten Temperaturbedingungen zum Zeitpunkt des Wachstumsgipfels der gesamte Darmtrakt noch deutlich gefüllt war, konnte schon wenige Stunden danach bei allen Individuen, welche unter 20°C und 30°C gezüchtet wurden, ausnahmslos ein leerer Intestinaltrakt nachgewiesen werden.

Bei 12°C hatten bereits 24 Stunden nach Erreichen der durchschnittlichen Maximallänge nur mehr 40% der Tiere einen kleinen, geringfügig gefüllten Kropf, nach 48 Stunden waren alle Kröpfe leer, jedoch bei 70% der Maden konnte noch eine starke Füllung des distalen Darmabschnittes wahrgenommen werden. Erst am 5. Tag nach dem Peak verlief der radiologische Kontrastmittelnachweis auch in diesem Teil des Darmtraktes bei allen Tieren negativ (Abb. 2).

Nach Anfertigung der Röntgenaufnahmen wurden die Maden zusätzlich noch bei starkem Durchlicht betrachtet und das Füllungsausmaß des durch die Gewebe hindurch dunkel durchschimmernden Darmtraktes mit den vorliegenden Röntgenbildern verglichen. Während es nur sehr schwer war, das Füllungsausmaß des distalen Darmabschnittes zu erkennen, konnte das Volumen des Kropfinhaltes auch mit Hilfe der Durchlichtbetrachtung bei allen Individuen gut beurteilt werden, da der Kropf dorsal von keinen störenden Gewebsstrukturen überlagert wird (Abb. 1). Basierend auf den Erkenntnissen der röntgenologischen Untersuchungen erweist sich daher die Durchleuchtung der Maden für die Beurteilung der Kropffüllung in der Praxis als aussagekräftige und einfach durchführbare Methode.

## Diskussion und Schlußfolgerung

Das Ergebnis der gegenständlichen Untersuchungen bestätigt den bisherigen subjektiven Eindruck, daß die Maden der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* nach Erreichen der Maximallänge ihren Darmtrakt leeren. Es konnte zudem nachgewiesen werden, daß der Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme mit dem Wachstumsgipfel ident ist. Dies erklärt auch, warum Maden, die sich in ihrer Entwicklung bereits nach dem Peak befinden, für immer den Leichnam – ihr Freßmedium – verlassen können, um einen entfernten Verpuppungsort zu suchen. In diesem Lebensabschnitt zehrt die Made offenbar nurmehr von ihren Fettreserven. Eine Entleerung des gesamten Darmtraktes vor Einsetzen des Verpuppungsvorganges erscheint aus biologischer Sicht insofern erforderlich, da während des abgekapselten Zustandes der Puppenruhe ein Verweilen von Darminhalt unweigerlich zur Fäulnis oder Gärung und somit zum Tod des Individuums führen müßte. Aus demselben Grunde dürfte der Darmtrakt auch bei jenen Temperaturbedingungen geleert werden, die nicht mehr zur Verpuppung der Made führen [8], da ein mit Keimen kontaminierter Darminhalt während der Ruhephase der Überwinterung ebenfalls ein Überleben der kalten Jahreszeit gefährden könnte. Infolgedessen ist die Made auch bei Zunahme der Umgebungstemperatur im Frühjahr bereits für die Verpuppung hinreichend vorbereitet.

Für die Untersuchung von Maden im Rahmen der forensischen Todeszeitbestimmung muß daher gelten, daß keine Altersbestimmung durchgeführt werden darf, ohne vorher den Füllungszustand der Madenkröpfe bei starkem Durchlicht kontrolliert zu haben.

## Literatur

1. Amiel M (1982) Contrast media in radiology. Springer, Berlin Heidelberg New York
2. Baudisch E (1978) Grundlagen der medizinischen Radiologie. Volk und Gesundheit, Berlin
3. Campbell E, Black RJ (1960) The problem of migration of mature fly larvae from refuse containers and its implication of the frequency of refuse collection. Calif Vector Views 7 : 9
4. Green AA (1951) The control of blowflies infesting slaughterhouses. I. Field observations on the habits of blowflies. Ann Appl Biol 38 : 475
5. Ishijima H (1967) Revision of the third stage larvae of synanthropic flies of Japan (Diptera, Anthomyiidae, Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae). Jpn J Sanit Zool 18 : 47
6. Reiter C, Wollenek G (1982) Bemerkungen zur Morphologie forensisch bedeutsamer Fliegenmaden. Z Rechtsmed 89 : 197
7. Reiter C, Wollenek G (1983) Zur Artbestimmung der Maden forensisch bedeutsamer Schmeißfliegen. Z Rechtsmed 90 : 309
8. Reiter C (1984) Zum Wachstumsverhalten der Maden der blauen Schmeißfliege *Calliphora vicina*. Z Rechtsmed 91 : 295-308
9. Walsh JD, Linsdale DD, White KE, Bergstrom RE (1968) Fly larval migration from residential refuse containers in the city of Fresno. Calif Vector Views 15 : 55

Eingegangen am 24. Oktober 1983