



**WPLYW LEKU THIOCODIN NA CZAS ROZWOJU I TEMPO PRZEOBRAŻEŃ  
*LUCILIA SERICATA* (MEIGEN, 1826) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)  
– WSTĘPNE WYNIKI BADAŃ**

**EFFECTS OF THIOCODIN DRUG ON DEVELOPMENT TIME AND GROWTH RATE  
OF *LUCILIA SERICATA* (MEIGEN, 1826) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)  
– PRELIMINARY RESULTS**

DOI: 10.5281/zenodo.3545865

**ARIADNA JANKOWSKA, ELŻBIETA KACZOROWSKA, WOJCIECH GILKA \***

University of Gdańsk, Faculty of Biology,  
Department of Invertebrate Zoology and Parasitology, Laboratory of Systematic Zoology,  
Wita Stwosza 59, 80–308 Gdańsk, Poland  
\* wojciech.gilka@biol.ug.edu.pl

**ABSTRACT.** Immature stages of *Lucilia sericata* (MEIGEN, 1826) were studied as cultured in medium at three concentrations of Thiocodin, the cough suppressant based on codeine phosphate (methyl morphine derivative) and guaiacolsulfonate, available without a prescription. The obtained results proved that the presence of the drug affects both development time and growth rate, which consequently may affect the estimation of the postmortem interval (PMI).

**KEY WORDS:** Diptera, Calliphoridae, *Lucilia sericata*, entomotoxicology, codeine, PMI

## WSTĘP

Pierwsze obserwacje wpływu trucizn na kolonizację zwłok przez Diptera opisał UTSUMI w 1958 (BYRD *et* CASTNER 2010), jednak dopiero od roku 1980 rozpoczęto badania nad detekcją związków chemicznych gromadzących się w żerujących na zwłokach stadiach preimaginalnych, dając początek nowemu rozdziałowi w dziedzinie entomologii sądowej – entomotoksykologii (GOSSELIN *et al.* 2011, DAYANDA *et* KIRAN 2013). Obecnie w entomotoksykologii, w aspekcie medyczno-kryminalnym, wyróżnia się dwa główne nurty badań – wpływu ksenobiotyków na zastosowanie metody sukcesyjnej i rozwojowej przy określaniu *post mortem intervallum* (PMI) oraz wykorzystywania zebranego materiału

entomologicznego, jako alternatywnego źródła do analiz toksykologiczno-sądowych (SKOWRONEK 2012, CHOPHI *et al.* 2019). Należy pamiętać, że wyniki uzyskiwane w tego rodzaju badaniach pozostają w istotnym związku z naturalnymi uwarunkowaniami w miejscu zbioru prób (lokalizacji geograficznej, strefy klimatycznej, sezonu) oraz biologii/fenologii gatunków tam występujących, sama entomotoksykologia zaś jest nauką młodą, a liczba dostępnych ksenobiotyków i ich pochodnych cały czas się zwiększa (INTRONA *et al.* 2001, SKOWRONEK *et* CHOWANIEC 2010). Dlatego tak ważnym jest, aby kontynuować badania wpływu związków chemicznych na owady o znaczeniu medyczo-kryminalnym.

Gatunkiem modelowym wykorzystanym w niniejszych badaniach jest *Lucilia sericata* (MEIGEN, 1826). Jest to muchówka heliotropowa, pospolita i szeroko rozprzestrzeniona w strefie klimatu umiarkowanego. Dorosłe samice są silnie wabione zapachem padliny, fekaliiów czy otwartych ran, do których składają jaja (VALACHOVÁ *et al.* 2013). W większości przypadków, *Lucilia* jako pierwsze dokonują owipozycji na zwłokach, dlatego odgrywają kluczową rolę w określaniu PMI (KACZOROWSKA *et* DRABER-MOŃKO 2010).

Przeprowadzone badania miały na celu wykazanie, czy powszechnie dostępny lek Thiocodin (preparat złożony, zawierający metylową pochodną morfiny) zastosowany w pożywce larw *Lucilia sericata* wpływa na czas rozwoju oraz tempo przeobrażeń stadiów preimaginalnych tego gatunku, a tym samym, czy obecność leku w pożywce larw *L. sericata* może zaważyć na szacowaniu PMI w analizach kryminologicznych.

## MATERIAŁY I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły wszystkie stadia rozwojowe *Lucilia sericata*. Muchówki poławiano w okresie VI-IX 2016 roku, na terenie Sopotu Kamiennego Potoku. Postaci dorosłe wabiono wyłożoną na nasłonecznionym balkonie świeżą kurzą wątrobą i odławiano za pomocą siatki entomologicznej. Imagines umieszczano pojedynczo w osobnych pojemnikach z pożywką, następnie przenoszono do szafy termicznej. Po złożeniu jaj samice uśmiercano w 70% etanolu celem oznaczenia. Hodowle prowadzono w szafie termicznej o stałej temperaturze 20°C. Jako pożywki użyto zhomogenizowanej, świeżej kurzej wątroby w proporcji 25 gram na 100 larw. Po wylęgu, larwy pierwszego stadium rozdzielano w równej liczbie do czterech pojemników stanowiących od tego momentu próbę kontrolną oraz trzy próby badawcze – A, B i C. Badanym preparatem był Thiocodin, którego substancję aktywną stanowi fosforan kodeiny – dobrze rozpuszczalna w wodzie i łatwo przyswajalna z przewodu pokarmowego metylowa pochodna morfiny, stosowana w lekach przeciwbólowych i przeciwkaszlowych (SZUKALSKI 1997) oraz sulfogwajakol – substancja stymulująca wydzielanie gruczołów nabłonka oskrzeli. Thiocodin to lek do stosowania doustnego, dostępny bez recepty. Jedna tabletkę zawiera 15 mg fosforanu kodeiny oraz 300 mg sulfogwajakolu, jednocześnie bez dodatku powszechnie łączonych z kodeiną paracetamolu i kofeiny. Do badań użyto roztworów wodnych z rozkruszonych tabletek leku Thiocodin w trzech różnych stężeniach, wyrażonych w dawkach dla dorosłego człowieka (70 kg):  
**A:** stężenie odpowiadające 45 mg fosforanu kodeiny, maksymalnej dawce leczniczej na dobę;  
**B:** stężenie odpowiadające 300 mg fosforanu kodeiny, wywołujące efekt narkotyczny;  
**C:** stężenie odpowiadające 800 mg fosforanu kodeiny, najniższa stwierdzona dawka śmiertelna (MOFFAT 1986).

Roztwory uzyskano poprzez całkowite rozpuszczenie jednej tabletki leku w objętości wody destylowanej pozwalającej uzyskać pożądane stężenie w przeliczeniu na 25 gram pożywki. Do pożywki w próbach badawczych dodawano 1 ml odpowiedniego dla danej próby stężenia roztworu z preparatem. Aby zachować jednakową konsystencję pożywki, do próby kontrolnej dodawano 1 ml wody destylowanej. Od momentu rozpoczęcia hodowli, co dwa dni zmieniano pożywkę, przeliczano larwy oraz przeprowadzano pomiary: długości ciała z dokładnością do 0,01 milimetra oraz masy ciała z dokładnością do 0,001 grama. Postaci preimaginalne uśmiercano we wrzątku. Do konserwacji zastosowano 70% etanol. Moment zakończenia hodowli wyznaczał czas pojawienia się stadium imago. Analizie poddano 5 hodowli, których sumaryczna liczba początkowa wynosiła 1240 larw.

## WYNIKI I DYSKUSJA

W każdej hodowli wykazano wpływ leku Thiocodin na czas rozwoju oraz tempo przeobrażeń *Lucilia sericata* – różny w zależności od zawartego w pożywce stężenia leku. Krzywa wzrostu w hodowlach kontrolnych odpowiadała krzywej wzrostu dla *L. sericata* w temperaturze 20°C (TAB. 1).

**TABELA 1.** Średnia długość [mm] larw *Lucilia sericata* w próbach kontrolnych w porównaniu z wynikami badań GRASSBERGERA i REITERA (2001).

**TABLE 1.** Average length [mm] of *Lucilia sericata* larvae in control samples vs result published by GRASSBERGER and REITER (2001).

Długość larwy [mm]							
Dzień hodowli	K1	K2	K3	K4	K5	Średnia z prób K1-5	GRASSBERGER i REITER (2001)
4	13,78	16,18	12,45	13,58	15,45	<b>14,28</b>	<b>13,80</b>
6	16,21	15,18	15,13	16,39	14,72	<b>15,52</b>	<b>16,30</b>
8	12,83	14,1	16,38	15,89	15,1	<b>14,86</b>	<b>14,00</b>

## CZAS ROZWOJU I TEMPO PRZEOBRAŻEŃ

### Stężenie A

Przeprowadzone pomiary wykazały, że obecność leku w stężeniu odpowiadającym dawce leczniczej przyspieszyła średni całkowity czas rozwoju o ok. 48 godzin (TAB. 2, RYC. 1). Taka zawartość leku Thiocodin zwiększyła wyrażane długością i masą ciała tempo przeobrażeń larw *Lucilia sericata* przez pierwsze osiem dni od owipozycji, natomiast już dwa dni później obecność leku wykazała wpływ hamujący. Największa dysproporcja parametrów pomiarowych w stosunku do próby kontrolnej wystąpiła w pierwszych czterech i po dziesięciu dniach (TAB. 3, RYC. 2-3).

**TABELA 2.** Średni czas rozwoju [dni] stadiów preimaginalnych *Lucilia sericata* dla wszystkich hodowli. W nawiasach podano wartości skrajne.

**TABLE 2.** Average time [days] of development of *Lucilia sericata* larvae and pupae from all samples. Ranges are in brackets.

Próba	Stadium			
	Jajo	Larwa	Poczwarka	Całkowity czas rozwoju
Kontrola	1	15,68 (13-20,6)	13,26 (12,5 -14,4)	29,94 (26-36)
A	1	12,68 (12-22,8)	14,26 (13,4-16)	27,94 (27,3-37,2)
B	1	16,88 (12-18,6)	12,74 (12-13,2)	30,62 (26,1-39)
C	1	15,26 (12-22,8)	12,68 (11-14)	28,94 (26,7-37)

**TABELA 3.** Średnia masa [g] i długość [mm] larw *Lucilia sericata* dla wszystkich hodowli w zależności od zawartego w pożywce stężenia leku Thiocodin.

**TABLE 3.** Average weight [g] and length [mm] of *Lucilia sericata* larvae for all samples, depending of Thiocodin concentration in the medium.

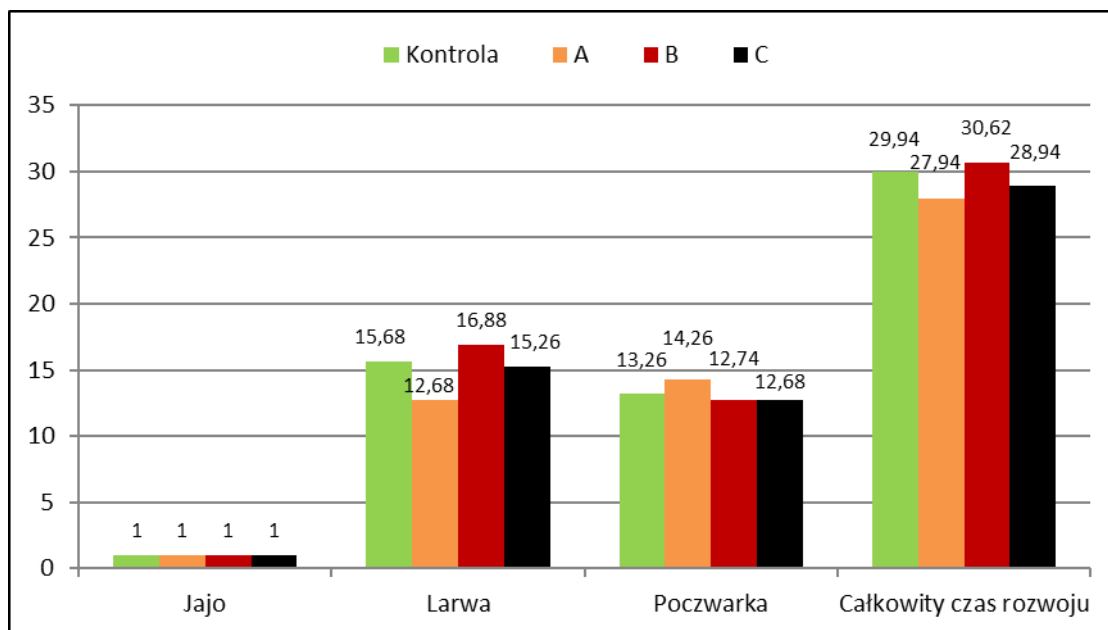
Dni	Kontrola		A		B		C	
	Masa	Długość	Masa	Długość	Masa	Długość	Masa	Długość
4	0,046	14,288	0,059	15,071	0,062	15,215	0,048	14,592
6	0,067	15,526	0,075	16,113	0,069	15,732	0,069	15,582
8	0,065	14,860	0,067	15,237	0,064	15,246	0,069	15,411
10	0,069	15,089	0,056	13,748	0,056	13,589	0,060	14,088
12	0,063	14,453	0,063	13,954	0,065	13,532	0,055	13,335
14	0,070	14,412	0,062	13,965	0,063	15,303	0,064	13,143
16	0,058	13,692	0,061	13,718	0,060	14,339	0,061	12,774
18	0,055	13,545	0,054	13,528	0,058	13,780	0,050	12,603

### Stężenie B

Stężenie odpowiadające dawce toksycznej wydłużyło całkowity średni czas rozwoju o kilkanaście godzin (TAB. 2, RYC. 1). Larwy charakteryzowały się również odmiennym wzrostem masy i długości ciała w stosunku do próby kontrolnej oraz próby odpowiadającej dawce leczniczej. Stężenie badanej substancji zastosowane w próbie B zwiększyło tempo przeobrażeń wyrażone długością larw do ósmego dnia od wylęgu larwy L1. Jednocześnie wykazano nieznaczny wpływ hamujący leku Thiocodin na tempo przeobrażeń wyrażone masą larw od szóstego dnia hodowli. W próbie B także zanotowano wpływ hamujący badanego preparatu w dziesiątym dniu hodowli, wyrażony zarówno długością jak i masą larw (TAB. 3, RYC. 2-3).

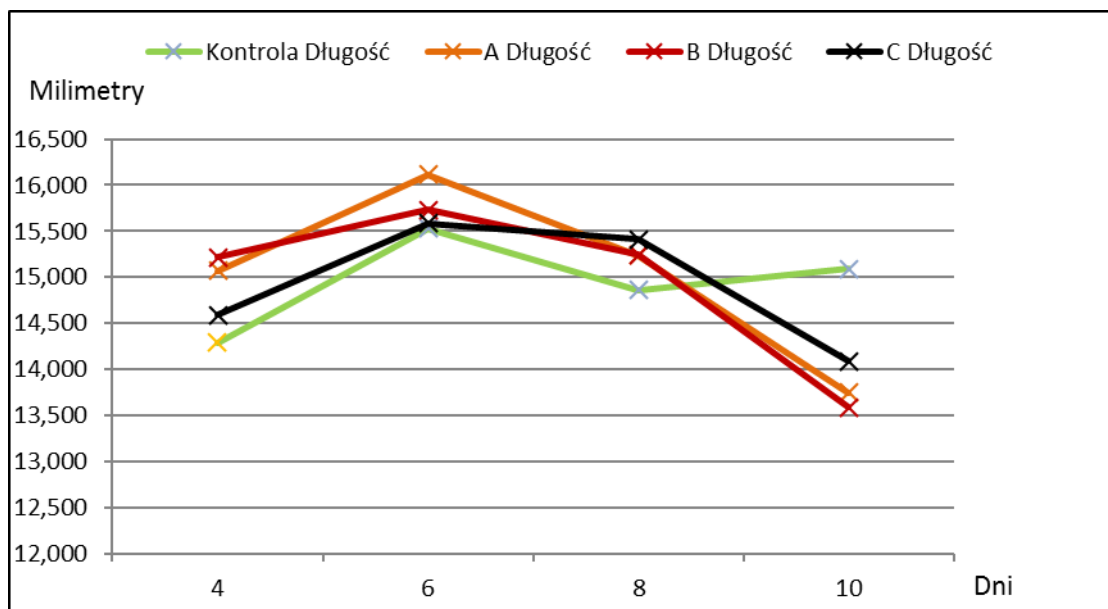
### Stężenie C

Średni całkowity czas rozwoju w przypadku tej próby był krótszy o jeden dzień w porównaniu do średniego czasu rozwoju z prób kontrolnych (TAB. 2, RYC. 1). Obecność leku Thiocodin w pożywce o stężeniu odpowiadającym dawce śmiertelnej również stymulowało tempo przeobrażeń larw *Lucilia sericata*, zwłaszcza między szóstym i ósmym dniem od owipozycji. Wykazano również mniejszy wpływ hamujący w dziesiątym dniu hodowli w stosunku do badanych stężeń A i B (TAB. 3, RYC. 2-3).



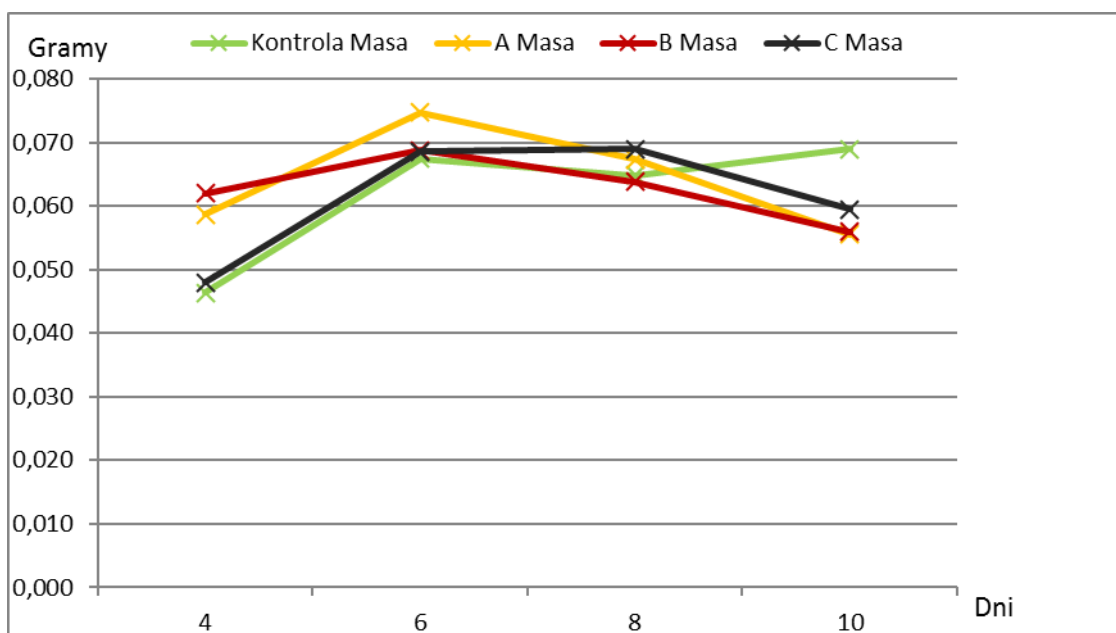
**RYC. 1.** Średni czas rozwoju *Lucilia sericata* [dni] uzyskany ze wszystkich hodowli.

**FIG. 1.** Average time of development of larvae and pupae [days] from all samples.



**RYC. 2.** Średnia długość larw [mm] *Lucilia sericata* żerujących na pożywce z różną zawartością leku Thiocodin.

**FIG. 2.** Average length [mm] of *Lucilia sericata* larvae feeding on medium with diverse Thiocodin content.



**RYC. 3.** Średnia masa larw [g] *Lucilia sericata* żerujących na pożywce z różną zawartością leku Thiocodin.

**FIG. 3.** Average weight [g] of *Lucilia sericata* larvae feeding on medium with diverse Thiocodin content.

Wykazano, że obecność leku Thiocodin w pożywce w każdym z badanych stężeń stymuluje rozwój larw *Lucilia sericata* (wyrażany w długości - we wszystkich próbach i w masie - w większości prób) do 8 dnia hodowli, przy czym najwyższe badane stężenie miało najmniejszy wpływ na wzrost larw w tym przedziale, w szczególności do 6 dnia hodowli. Większa masa oraz długość larw mogą zaburzyć odczyt z wykresu izomegalenicznego, zawyżając czas, w jakim zwłoki były eksponowane i skolonizowane przez *L. sericata*. Zawartość leku Thiocodin odpowiadająca dawce leczniczej (45 mg/70 kg) wykazuje największy wpływ stymulujący wzrost masy oraz długości larw w pierwszych sześciu dniach ich rozwoju, jak również najsilniej skraca całkowity czas rozwoju gatunku. Obecność preparatu w stężeniu odpowiadającym dawce śmiertelnej (800 mg/70 kg) również przyspiesza czas rozwoju, jednakże w mniejszym stopniu niż w przypadku prób badawczych dla stężenia A. Jedynie w przypadku hodowli larw na pożywce o zawartości leku odpowiadającej dawce toksycznej (300 mg/70 kg) całkowity średni czas rozwoju wydłuża się, mogąc powodować błąd w szacowaniu PMI rzędu kilkunastu godzin.

Stymulujący wpływ kodeiny na czas rozwoju i tempo przeobrażeń larw *Lucilia sericata* znajduje potwierdzenie w danych publikowanych (KHARBOUCHE *et al.* 2007), gdzie zastosowano znacznie wyższe stężenia: od 0,05 mg/kg do 30 mg/kg, jednak nie testowano preparatu złożonego (kodeina + sulfogwajakol), którym jest Thiocodin. W tym przypadku nie można wykluczyć oddziaływania obu składników (zintegrowanego lub każdego niezależnie) na rozwój badanego gatunku muchówki. Przy wyborze samego preparatu oraz jego stężeń testowanych w niniejszych badaniach kierowano się jednak przede wszystkim powszechnym zastosowaniem leku Thiocodin w celach medycznych, jak również intencjonalnym uzyskiwaniu efektów narkotycznych, mogących zagrażać zdrowiu a nawet życiu, przy przekroczeniu dawki krytycznej (VAN HOUT *et al.* 2014). Założeniem było przeprowadzenie

badan o możliwie najbardziej praktycznym zastosowaniu dla celów entomotoksykologii sądowej, tj. przy stężeniu leku odpowiadającemu wskazanej dawce leczniczej, wywołującemu efekt narkotyczny oraz dawce śmiertelnej. Przeprowadzone testy wskazały, że obecność leku Thiocodin może wpływać na wyniki uzyskiwane przy zastosowaniu metody rozwojowej, a pominięcie efektu oddziaływania leku może skutkować błędnym szacowaniem PMI w każdym z trzech badanych stężeń.

## LITERATURA

- BYRD J.H., CASTNER J.L. 2010. Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations, Second Edition. CRC Press, 429 str.
- CHOPHI R., SHARMA S., SHARMA S., SINGH R. 2019. Forensic entomototoxicology: Current concepts, trends and challenges. Journal of Forensic and Legal Medicine **67**: 28-36.
- DAYANDA R., KIRAN J. 2013. Entomototoxicology. International Journal of Medical Toxicology and Forensic Medicine **3**: 71-74.
- GOSSELIN M., WILLE S.M.R., DEL MAR FERNANDEZ RAMIREZ M., DI FAZIO V., SAMYN N., BOECK G., BOUREL B. 2011. Entomototoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists. Forensic Science International **208**: 1-9.
- GRASSBERGER M., REITER C. 2001. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. Forensic Science International **120**: 32-36.
- HOUT VAN M.C., BERGIN M., FOLEY M., RICH E., RAPCA A.I., HARRIS R., NORMAN I. 2014. A Scoping Review of Codeine Use, Misuse and Dependence, final report. Codemisused Project European Commission 7<sup>th</sup>, Framework Programme, Eu. Brussels, 148 str. + Appendix.
- INTRONA F., CAMPOBASSO C.P., GOFF L.M. 2001. Entomototoxicology. Forensic Science International **120**: 42-47.
- KACZOROWSKA E., DRABER-MOŃKO A. 2010. Wprowadzenie do entomologii sądowej. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, 291 str.
- KHARBOUCHE H., AUGSBURGER M., CHERIX D., SPORKERT F., GIROUD CH., WYSS C., CHAMPOD CH., MANGIN P. 2007. Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae, and imago of blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. International Journal of Legal Medicine **122**: 205-211.
- MOFFAT A.C. 1986. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material. The Pharmaceutical Press, London, str. 490-491.
- SKOWRONEK R. 2012. Wykorzystanie entomologii w kryminalistyce i medycynie sądowej. [W:] MIGULA P., NAKONIECZNY M. (red.). Problemy środowiska i jego ochrony. Centrum Studiów nad Człowiekiem i Środowiskiem Uniwersytetu Śląskiego, Katowice **20**: 115-137.
- SKOWRONEK R., CHOWANIEC CZ. 2010. Polska entomologia sądowa – rys historyczny, stan obecny i perspektywy na przyszłość. Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii **60**: 55-58.

- SZUKALSKI B. 1997. Opiaty naturalne i syntetyczne. Alkoholizm i Narkomania. Zakład Biochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie. Warszawa, str. 529-548.
- VALACHOVÁ I., BOHOVÁ J., KOZÁNEK M., TAKÁČ P., MAJTÁN J. 2013. *Lucilia sericata* medicinal maggots: a new source of antimicrobial compounds. [W:] MÉNDEZ-VILAS A. (red.). Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Formatex Research Center, str. 1745-1753.

## SUMMARY

An aim of this research was to test the impact of the Thiocodin drug, containing codeine phosphate (methyl morphine derivative) and guaiacolsulfonate, on growth rate and development time of the blowfly *Lucilia sericata* (MEIGEN, 1826). Larvae of this species were cultured in the medium with three different concentrations of Thiocodin. The results revealed that even a small dose of the test substance stimulates both length and weight of larvae, and also affect the total time of development of *L. sericata*. The Thiocodin content corresponding to the therapeutic dose shows the greatest stimulating effect on weight and length in the first six days and shortens the total development time for approximately 48 hours. The presence of Thiocodin at a concentration corresponding to the lethal dose also accelerates the development time, however, to a smaller extent than in the case of research tests for the previous drug concentration. When rearing larvae on medium with a Thiocodin content corresponding to a toxic dose, the total average development time is prolonged, which may cause an error in PMI estimation of over a dozen hours.

---

\* **Editorial remarks:**

\* Papers of the 35th volume of Dipteron are dedicated to the late AGNIESZKA DRABER-MOŃKO.