

LA ENTOMOLOGÍA COMO CIENCIA FORENSE: DESDE SUNG TZ'U A LAS GRANJAS DE CUERPOS**ENTOMOLOGY AS FORENSIC SCIENCE: FROM SONG CI UNTIL BODIES FARMS**

Castelló A

Adam A

Francès F

Unidad Docente de Medicina Legal

Universitat de València. España

Correspondencia: Ana.Castello@uv.es

Resumen: Desde la historia que el investigador Sung Tz'u relató en 1247, hasta las modernas instalaciones de las granjas de cuerpos, la entomología forense ha recorrido sin duda un largo camino. Es de destacar el empeño de los expertos en conseguir datos más precisos, intentado controlar en lo posible todas las variables que pueden alterar los datos que proceden de sus exámenes.

En el momento actual las técnicas de laboratorio facilitan su labor, pero se debe reconocer que esta especialidad forense trabaja en condiciones extremadamente complejas, puesto que utiliza como muestra un sistema biológico (los insectos) que se desarrolla sobre otro (el cadáver). De ahí la necesidad de reconocer la imposibilidad de mantener bajo control todos los factores que van a determinar el resultado final. Lo que obliga a que estos vayan acompañados siempre del necesario margen de error a la hora de ser valorados.

Palabras clave: Entomología forense, medicina forense, ciencia forense, criminalística.

Abstract: Since the story related by Sung Tz'u, to the modern bodies farms, forensic entomology certainly has come a long way. It is worth noting the efforts of the experts on getting more accurate data, tried to control as far as possible, all the variables that can alter the outcome of their assessment results.

At present, laboratory techniques facilitate their work but it should be recognized that this forensic specialty operating in extremely complex conditions because sample used is a biological system (insects) that develops over another (the body). Hence the need to recognize the impossibility of being in control of all the factors that will determine the final results. What compels these will always be accompanied by the necessary caution when they must be valued.

Keywords: Forensic entomology, forensic medicine, forensic science, criminalistics.

1. ANTECEDENTES

Quién le iba a decir al investigador Sung Tz'u (también conocido como Song Ci), que su relato sobre el asesinato sucedido en una pequeña aldea de China¹, sería reproducido una y otra vez en las más importantes obras sobre Ciencias Forenses. Por varias razones, además. La primera es que se trata de un buen ejemplo de resolución de un caso criminal con base científica en una época muy temprana; pero también se debe a que se considera la primera investigación en la que se hace participar los insectos con ese fin (1)

El término Entomología es sin embargo, posterior al famoso experto chino. Fue propuesto por el botanista francés, Charles Bonnet en 1745, uniendo los términos griegos έντομον (éntomon = insecto) y λόγος (logos = palabra, expresión, tratado, estudio), al sufijo -ία (-ia = acción, cualidad). De esta forma se denominó desde entonces a la Ciencia que estudia los insectos.

La metamorfosis de los insectos fue estudiada intensamente durante el siglo XVII y más adelante en el XIX, se constató que los cadáveres aún siendo recientes, resultan ser muy atractivos para ellos. Sobre todo para determinadas clases. De hecho científicos de prestigio en el ámbito forense, -el profesor Mateo Orfila es un buen ejemplo-, dedicaron parte de su tiempo a investigar a este asunto, pero sin relacionar en principio la entomología con la determinación del intervalo postmortal.

¹ Ocurrió que en una aldea se produjo un crimen. Una persona fue encontrada muerta como consecuencia del ataque con una hoz. El investigador encargado de resolver el asunto, reunió a los sospechosos y les pidió que llevaran sus hoces que depositó en el suelo.

Tras un tiempo de espera, comprobó que las moscas se acumulaban en uno sólo de los instrumentos y dedujo que ese era, sin duda, el arma del crimen ya que las moscas habían acudido al olor de la sangre.

Debemos situarnos en 1850 para encontrar la primera aplicación de esta Ciencia en la sala de un tribunal de Justicia. Fue en Francia y el encargado de la prueba pericial, el médico Louis François Étienne Bergeret, publicó en 1855 su experiencia en forma de artículo de investigación (2). La historia en la que se vio implicado fue como sigue: sucedió que durante la reforma de una casa antigua se hallaron, ocultos tras una antigua chimenea, los restos de un niño. Como es natural, las sospechas recayeron sobre los habitantes del edificio. Sin embargo, el profesor Bergeret tras el estudio de las larvas que se encontraron en el cuerpo, dedujo que la muerte debería haberse producido al menos un año antes de ser encontrado.

Como en esa época la casa pertenecía a otras personas, los actuales propietarios quedaron libres de cargo alguno. Aunque con toda seguridad sus resultados serían cuestionables en la actualidad, en su momento la prueba tuvo una gran repercusión y potenció el interés por el conocimiento de la biología de los insectos y su contribución a la Medicina Forense. Son muchos los investigadores que aportan nuevos datos hasta que en 1888, George P. Yovanovich publica su obra titulada *Entomologie appliquée à la Médecine Légale* (3) y unos años después, en 1894, Jean Pierre Mégnin da a conocer *La Faune des cadavres* (4), donde explica cómo los insectos, en forma de escuadras, van accediendo sucesivamente y en perfecto orden a los cadáveres. En consecuencia el estudio de la fauna entomológica podrá dar una información trascendental para determinar la data de la muerte.

Volveremos sobre las aportaciones de Megnin más adelante. Avancemos ahora hasta el siglo XXI para revisar qué puede decirnos hoy en día la Entomología Forense y qué cuestiones forenses es capaz de responder.

2. LA ENTOMOLOGÍA FORENSE EN LA ACTUALIDAD

Ante el hallazgo de un cadáver o unos restos humanos, el primero objetivo es sin duda, la identificación. Comencemos entonces por intentar responder a esta cuestión:

- ¿ *Quién es?* -

Hace algunos años se dieron a conocer los primeros trabajos que trataban de identificar ADN humano, en el tracto digestivo de insectos y larvas. En ellos se ha trabajado con ADN nuclear (5,6) y también mitocondrial (7)

Este tipo de análisis será de interés para la identificación cuando esta no es factible por otros medios, dado el mal estado de los restos o incluso, cuando el cadáver ha desaparecido del lugar del suceso, pero han quedado larvas que se alimentaban de él.

También será útil para que los expertos en entomología constaten que los insectos estaban desarrollándose en el cadáver y su hallazgo no se debe a una contaminación. Asimismo con su ayuda se podrá conseguir relacionar diferentes partes de un cuerpo cuando se encuentran por separado y en lugares distintos. El artículo que se referencia (8) describe un caso en el que apareció un cuerpo sin cabeza, en un jardín de la ciudad de Changsha (China). El cadáver solo vestía ropa interior. En principio su mal estado hizo inútiles los intentos de identificación.

Posteriormente se encontró un cráneo en una zona algo alejada de la anterior, envuelto en ropas.

En ambos casos se localizaron insectos en gran cantidad. De ellos tras su análisis, se obtuvo ADN mitocondrial humano, que resultó ser idéntico en el cuerpo y el cráneo. De esta forma se corroboró que, como se sospechaba, pertenecían al mismo individuo.

Pero no solo se implicará en la identificación de la víctima, sino que también puede dar información sobre quién anduvo por el escenario. La bibliografía muestra ejemplos en los que diferentes insectos como garrapatas, chinches, ladillas, piojos o mosquitos (9,10,11,12) han proporcionado ADN humano suficiente para la identificación del individuo con quien tuvieron contacto, contribuyendo a demostrar su presencia en un lugar o el contacto con otros implicados.

Incluso se han hecho curiosas experiencias de laboratorio como la que se diseñó para averiguar si sería posible encontrar en larvas que se alimentaran de la víctima de una agresión sexual, el ADN del agresor (13). El estudio se

realizó preparando muestras de 100 gramos de hígado a las que se añadió semen y huevos de *phaenicia sericata* que se dejaron evolucionar. Después se tomaron muestras de larvas a diferentes tiempos.

Los resultados indican que se obtiene positivo en antígeno prostático y se consigue la amplificación de SRTs del cromosoma Y, hasta 48 horas después de comenzar la investigación.

No obstante es necesario tener en cuenta que se trata de un ensayo de laboratorio, realizado con muestras controladas. De forma que su aplicación práctica aún está por demostrar.

Por otra parte se ha valorado los posibles errores de interpretación debidos a que los insectos quizá puedan retener ADN humano del entorno en el que se mueven, sin haber estado en contacto directo con su portador. Con esta hipótesis de trabajo y para corroborarla o rebatirla, se puso en marcha una prueba que consistió en liberar moscas, cucarachas y grillos en diferentes espacios para transcurrido un tiempo determinado, recuperarlos e intentar extraer ADN humano, tanto nuclear como mitocondrial.

Los investigadores eligieron diferentes escenarios, algunos que ocupaban pocas personas (oficinas o laboratorios) y otros considerados como *de mucho tráfico* (aulas)

Sus datos demuestran cómo los insectos son capaces de retener ADN humano de forma indirecta, simplemente por contacto con restos biológicos depositados por las personas que pasaron por allí. En las conclusiones advierten de la posibilidad de una contaminación previa que puede hacer errar en la interpretación de los resultados (14)

Pero los insectos tienen otros recursos para despistar a los investigadores. Solo hay que imaginar lo que ocurre cuando las moscas que se han alimentado de una mancha de sangre –u otro fluido biológico humano- dejan sus deposiciones allá donde se les ocurre. ¿Quedará ADN humano? Pues sí y además en muchos casos, en cantidad suficiente para ser detectado y analizado (15,16). No obstante y a pesar de que sin duda puede ser una molesta interferencia, estos hallazgos podrán tener su parte útil al proporcionar material genético que quizá pueda ser un buen indicio en ocasiones.

Otra de las preguntas a las que el médico forense se ve apremiado a responder hace referencia al momento en el que sucedieron los hechos.

-¿Cuándo ocurrió?-

Indiscutiblemente la determinación de la data de la muerte es un problema fundamental en la investigación criminal y una de las herramientas utilizadas para conseguir determinarla, es la Entomología Forense.

Al comienzo de este texto se recordó la obra de Jean Pierre Mégnin que durante muchos años, fue considerada la guía a seguir en el estudio entomológico destinado a averiguar cuándo sucedieron los hechos. La posibilidad de estudiar y determinar con exactitud los tiempos de desarrollo de las larvas, proporcionó los datos necesarios para ajustar más los resultados.

Sin embargo, con el tiempo se han ido obteniendo evidencias que hacen dudar de *las escuadras de la muerte*. Son las que ponen de manifiesto que existen numerosos -e incontrolables- factores que pueden alterar el perfecto orden descrito por Megnin. Se empieza a ser consciente de que cada escenario es distinto y merece un estudio individual (17)

Con el fin de evaluar estos factores se comenzó por trabajar con dos de ellos que en principio, se suponía que debían tener mucho que ver en los resultados del estudio entomológico. Son el lugar y la temperatura.

En un artículo publicado en 2010, se distribuyeron cadáveres de cerdos en diferentes zonas de un parque natural de Polonia -los bosques de Biedrusko- donde se han descrito hasta dieciocho hábitat distintos. La experiencia se realizó en tres estaciones del año, primavera, verano y otoño.

Los resultados reflejan como era de esperar, diferencias significativas dependiendo de la época del año, pero no se encuentran entre las distintas zonas en las que se ha obtenido la muestra.

Quizá esto se deba a que en realidad aunque se prueban hábitats distintos, la zona geográfica es la misma- Lo que conduce a la siguiente cuestión: ¿qué pasará en la realidad, cuando se trabaje en zonas muy alejadas unas de otras?

También se dejó sin evaluar la acción del invierno. Esta carencia la cubre otro estudio en el que se trabaja a una temperatura de 11°C, demostrando que los insectos no se desarrollan igual que a temperaturas más altas (18) Sin embargo este ensayo no contempla aquellas situaciones en las que esta época del año es extremadamente fría y tiene además otra carencia, considera que la temperatura siempre es constante. Algo que no sucede en la realidad.

Por su parte, otros equipos se han centrado en la investigación de ambientes igualmente extremos, como por ejemplo zonas muy áridas (19)

Trabajos posteriores realizados en condiciones controladas de laboratorio completan estos resultados, confirmando el efecto de la temperatura en la evolución de las larvas (20). Pero además se deberá tener en cuenta que el desarrollo a temperatura constante diferirá de forma apreciable del que se observaría en condiciones reales, cuando este parámetro fluctúa. Por eso dependiendo de la gama de temperaturas así como los valores mínimos y máximos, habrá variaciones considerables. Esto supone que es necesario valorar cada caso como único. Se aconseja además que los métodos estandarizados sean aplicados con extrema prudencia (21)

Asimismo, se advierten de la necesidad de considerar otros factores, además de la temperatura. Concretamente la humedad, la luz e incluso la cantidad de larvas existentes, pueden alterar los resultados.

Este último factor –la cantidad de larvas- fue evaluado en una prueba realizada en 2011 (22) que comprobó la emisión de calor que estas producen cuando se acumulan, aunque no sea necesariamente en gran cantidad. Esto provoca indudablemente un aumento local de temperatura, observándose diferencias de más de 20°C entre la temperatura ambiente y la de la masa de larvas, que puede llegar a alcanzar los 50°C.

Como es lógico este incremento de temperatura local acelerará su desarrollo. Además de ser un dato a tener en cuenta por los médicos forenses, a la hora de estimar el periodo de menor incertidumbre para el momento de la muerte a partir de la medida de la temperatura del cadáver.

Para controlar en lo posible el efecto del lugar y la temperatura, se realizan estudios en zonas delimitadas, comprobando cómo se comporta la fauna entomológica en cada una de las estaciones del año (23) De esta forma se intenta obtener la información válida para ser aplicada en ese lugar exclusivamente, sin recurrir a tablas estándar.

Las dificultades aumentan cuando el escenario del suceso es el agua. Aunque incluso en esta situación se ha intentado obtener datos que puedan ser de utilidad. El artículo que se referencia (24) describe la experiencia realizada en lagos de los Andes Colombianos. La toma de muestras –de artrópodos en este caso- se realizó únicamente entre abril y junio, en diferentes zonas de los lagos. Los resultados reflejan una variabilidad apreciable entre las distintas áreas e incluso en una misma, en diferentes momentos de toma. Los autores explican sus hallazgos en base a que las propiedades físicas y químicas del hábitat, tales como la temperatura del agua, concentración de CO₂ y la conductividad, varían de acuerdo con las lluvias. Por tanto, cuando se trabaja con cadáveres sumergidos, estos factores abióticos se suman a los demás a la variación del proceso de descomposición, provocando diferentes condiciones ecológicas en un mismo lugar.

Con respecto a estos casos en los que participa un medio líquido, también se ha prestado atención a la evolución de especies consideradas terrestres, cuando por alguna razón se han visto en situación de entrar en contacto con el agua. Por ejemplo en investigaciones de cadáveres parcialmente sumergidos, o en casos en los que el cuerpo es arrojado al agua una vez iniciada la putrefacción.

En esta línea de trabajo, en 2011 se evaluaron las posibilidades de supervivencia de las larvas, pre-pupas, pupas e insectos adultos, sometidos a sumersión (25) Curiosamente se comprueba que tienen capacidad de superar esas

condiciones tan adversas, aunque no igualmente en todos los estados. Así, aunque todos ellos soportan una sumersión de hasta 72 horas, las larvas lo hacen en una proporción mucho menor.

En consecuencia encontrar fauna entomológica terrestre viva en un cadáver sumergido, será un dato más a considerar en el análisis de los resultados. Siempre en conjunto con todos los demás.

Supongamos ahora que las variables lugar y temperatura permanecen constantes. ¿Qué otras influirán en la mayor o menor efectividad de los insectos?

Comencemos por considerar la situación del cadáver, en concreto si está o no enterrado. ¿Habrá diferencias en su evolución en ambos casos? Aunque la lógica parece indicar que no, siempre es necesario obtener datos que confirmen esta primera impresión. Eso es lo que se propusieron los autores del estudio que se cita (26), quienes trabajaron con cadáveres de conejos a los que sometieron a cuatro condiciones distintas de degradación:

- 1- Exposición a insectos y enterrados.
- 2- No exposición a insectos y enterrados.
- 3- Exposición a insectos y no enterrados.
- 4- No exposición a insectos y no enterrados.

Es decir, algunos se protegieron del acceso a insectos y se dejaron en superficie o se enterraron. Otros se mantuvieron con acceso libre a la fauna entomológica, también en superficie o enterrados.

Sus resultados no marcan diferencias en la evolución de los cadáveres que no se encuentran expuestos a la acción de los insectos, independientemente de si están enterrados o no. Su evolución sin embargo, es más lenta que la que se observa en los grupos 1 y 3 (expuestos a insectos)

El estudio de estos últimos indica que la evolución de la putrefacción es más rápida cuando el cadáver no está enterrado.

Veamos más posibilidades. El cuerpo puede encontrarse en un espacio cerrado o por contrario, ser depositado en el exterior. En esta ocasión la experiencia que permitirá la evaluación, se realizó con cadáveres de cerdos que se situaron en un lugar cerrado, dejando la ventana abierta para facilitar el acceso a los insectos, dejando otros al aire libre sin proteger (27).

Tras recopilar los datos necesarios se constató un retraso de veinticuatro horas en la infestación por huevos de mosca, de los cuerpos protegidos en el interior. Además hubo especies (moscardones, por ejemplo) que se encontraron en escasa cantidad. Este retardo deberá ser tenido en cuenta al interpretar los resultados.

En cualquier caso se debe considerar que durante esta experiencia la diferencia de temperaturas entre dentro y fuera era de solo dos grados, manteniéndose en un intervalo entre 15 a 25°C. Aunque mientras se efectuó el ensayo llovió, parece que esto no causó efecto alguno. O al menos eso es lo que reflejan los autores en sus conclusiones.

Otros expertos han dedicado su tiempo a determinar posibles variaciones en el conjunto de compuestos volátiles que emanan del cadáver y que tienen como función atraer a la fauna entomológica (28). Trabajando con ratones se ha comprobado que estos compuestos son muy variables dependiendo de la temperatura y humedad relativa, por lo que esto será un nuevo elemento, difícil de controlar, que tendrá mucho que decir en el avance de la putrefacción.

Si se supone de nuevo que todos los anteriores factores son constantes, aún quedaría por comprobar el efecto de las ropas. ¿Tendrán que ver en la evolución del cadáver? Y si es así ¿cómo intervienen?

Para determinar la posible influencia de las ropas se vistieron cadáveres de cerdos pequeños y tras situarlos en un lugar adecuado, se controló su evolución (29). Los investigadores seleccionaron un vestuario ligero, camisetas de algodón holgadas y pantalones cortos que se sujetaban a la cintura con goma elástica. Después fijaron las condiciones del estudio que fue desarrollado durante el otoño, repitiéndolo en dos años no consecutivos (2001 y 2003)

Tras reunir la información necesaria se concluyó que las ropas tienen una doble influencia. Por una parte favorecen en proceso de putrefacción porque contribuyen a mantener el calor y la humedad. Además sirven para proteger a los insectos. Por otra pueden ralentizar la evolución porque dificultan el acceso al cuerpo.

En consecuencia su efecto se deberá valorar en base su cantidad, tipo y material.

A estas variables que se pueden calificar como circunstanciales, se debe unir otras que dependen del fallecido. Su estado anterior tendrá sin duda mucho que ver en el avance de la descomposición. La causa de la muerte, si existen lesiones y sus características, el estado general de salud, posibles enfermedades (pensemos en la diabetes por ejemplo) o tratamientos a que estuviera sometido. Es decir todo aquello que condiciona la evolución de los fenómenos cadavéricos será de aplicación también aquí.

Valga como ejemplo, las drogas, medicamentos o tóxicos en general con los que se haya tratado el occiso y que pueden afectar a los insectos y también la evolución de las larvas.

En este sentido se ha estudiado la acción de diferentes opioides en el desarrollo de la fauna entomológica sobre el cadáver, con la ayuda de un insectario, donde se depositaron piezas de ternera a las que se había inyectado diferentes dosis de metadona y se dejaron evolucionar (30).

Los resultados muestran cómo el tóxico provoca alteraciones en el desarrollo e incrementa la mortalidad de las larvas. No obstante no se observa una relación lineal entre concentración de metadona y efecto provocado.

La acción de la cocaína ha sido valorada a base de inyectar dosis letales a conejos y haciendo un seguimiento del proceso de descomposición. Se pudo comprobar cómo las larvas se desarrollaban en principio más rápidamente que las control –procedentes de conejos no intoxicados-, lo que indica que esta droga estimula su crecimiento, siendo este efecto más acusado –según los datos expuestos- a partir de las doce horas tras la ingestión (31).

También se ha investigado el efecto del malation (32) mediante tres conejos a los que se les administró una dosis letal mediante un enema y transcurrida una hora del tratamiento, se les sacrificó usando una inyección de aire en vena. Un cuarto animal no afectado por el tóxico, se utilizó como control.

Inmediatamente después de la muerte se tomaron muestras de músculo e hígado que fueron expuestas a la acción de los insectos. Concretamente se utilizó una colonia de *Chrysomya megacephala* criada en laboratorio. Mediante un sistema de video se grabó la evolución para determinar la tasa de crecimiento. A tiempos marcados se fue obteniendo muestras de pupas y adultos, que se congelaron antes de abordar el análisis necesario para la determinación de malation.

Tras las pruebas se comprobó que la presencia del tóxico retarda el ritmo normal de crecimiento del insecto en su etapa larval. En todas las colonias alimentadas por tejidos de conejos tratados con malation, las larvas eran más pequeñas y alcanzaron la longitud máxima más tarde que las procedentes de la colonia control. Además se prolongó significativamente la duración de las etapas de larva y pupa.

Asimismo la dieta habitual del individuo quizá sea un elemento más a considerar. De forma que se han diseñado los ensayos necesarios para evaluar su influencia. En un artículo publicado en 2011 (33) se trabajó con dos especies - *Chrysomya megacephala* y *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae)- que se criaron usando cuatro dietas diferentes: carne picada de vacuno (que se consideró como dieta control) y tres alimentos sintéticos a base de sardina, estómago de rumiante y huevos de gallina.

En sus resultados se refiere que no se ha detectado diferencias en el tiempo total de desarrollo de las larvas. Sin embargo su tamaño sí se vio afectado, de forma que las larvas alimentadas con carne fueron más grandes. La mortalidad de este grupo fue menor.

De todas las testadas, la dieta basada en huevos de gallina, fue considerada la menos eficaz.

Posteriormente más grupos de investigación han aportado sus propios resultados, comprobándose que por ejemplo, la alimentación a base de hígado liofilizado es mucho más eficaz que la que combina huevos y leche en polvo, para el desarrollo de la especie *Magellanica Sarconesiopsis* (34). Datos que por otra parte no se corresponden con los presentados por otros expertos que comprueban cómo el desarrollo de las larvas no es igualmente efectivo cuando se alimentan de hígado en descomposición (35)

En otros ensayos se han combinado variables como dieta y temperatura, con el fin de comprobar su posible influencia e interacción (36).

De forma que el estado anterior del individuo es de gran importancia, pero ¿y el estado anterior del lugar dónde se encuentra su cadáver? Habría que valorar entonces la posible influencia de los productos de uso doméstico.

De hecho se sabe que la pintura, por ejemplo, induce un retraso en la colonización del cuerpo, dando lugar a la subestimación del intervalo de menor incertidumbre para el momento de la muerte. También se ha trabajado con otros productos de uso frecuente en el hogar, como son gas, repelente de mosquitos, perfumes, cloro, ácido clorhídrico y soda (37).

Todos ellos se aplicaron sobre cadáveres de ratas que después se dejaron reposar en una misma zona del campo. Después se comprobó su evolución, determinando que en comparación con los controles, había un retraso evidente -de varios días- en la colonización de los cuerpos tratados con los diferentes productos. Curiosamente algunos de ellos –el repelente de mosquitos y el ácido clorhídrico, por ejemplo- tenían un mayor efecto sobre insectos hembra.

En las conclusiones, los investigadores afirman que indiscutiblemente, los productos del hogar pueden ser usados para ocultar o alterar el olor asociado con un cadáver e inducir una demora en la llegada de moscas necrófagas. Sin embargo, los efectos exactos siguen siendo difíciles de determinar y cuantificar. Esto se debe a que las condiciones ambientales afectarían al tiempo durante el que estas sustancias domésticas ejercen su acción. Así, el calor contribuirá a eliminar antes aquellos que se evaporan con facilidad y por tanto su acción sería menos eficaz que cuando hace frío.

Tras lo expuesto aún cabe preguntar ¿hay algo más que se deba tener en cuenta? Se ha incluido el entorno, las condiciones de la víctima, pero falta por valorar a los propios insectos. Porque evidentemente como seres vivos que son, no cabe el asignarles un comportamiento uniforme (38).

En este sentido se sabe que hay determinadas circunstancias que influyen en la ovoposición, provocando que varíe el momento de realizarla (39). Basta con cubrir los cadáveres con ramas para comprobarlo. El efecto es aún más evidente si se envuelven en mantas, alfombras o bolsas de plástico. Como se ha expuesto antes, hay diferencias significativas entre la evolución en interior y exterior.

La ovoposición también se ve afectada por el clima, de forma que las condiciones adversas la retrasarían.

Por contra, se ha comprobado que incluso en las situaciones más complicadas, como son las que presenta un cuerpo enterrado a diez metros de profundidad y con una temperatura de cinco grados centígrados, se produce colonización (40). Este hecho va en contra de la creencia de que la temperatura menor de diez grados centígrados detiene la actividad de las moscas necrófagas (41,42,43).

Se debe tener en cuenta que el caso que soporta la anterior afirmación sucedió a una altitud de 1260 metros y es de esperar que las especies que habiten en esa zona, hayan desarrollado unas condiciones especiales para su supervivencia.

Otro aspecto interesante que los entomólogos han estudiado con detalle hace referencia a los picos de ovoposición. Se supone que determinados insectos no son activos por las noches y en consecuencia durante ese periodo, no ponen huevos (44,45,46,47).

Este dato debería tenerse en cuenta si se halla un cadáver en el que se detectan huevos de esas especies. No obstante en otras experiencias se ha obtenido la prueba de que este comportamiento no es general y dentro de una misma especie algunos individuos pueden elegir la ovoposición nocturna (48). Estos resultados contradictorios no hacen más que corroborar la imposibilidad de llegar a una regla de obligado cumplimiento por parte de los poco colaboradores insectos.

También se ha dedicado el tiempo necesario al estudio de la diapausa, es decir, el periodo durante el que el crecimiento y desarrollo de los insectos se suspende. Se trata de un mecanismo de defensa que ayuda a su supervivencia cuando las condiciones son adversas, como temperaturas extremas, sequía o ausencia de alimento (49).

Otro factor que podría complicar la estimación del periodo postmortal es la posibilidad de que las hembras retengan en el oviducto los huevos, tras haber sido fecundados. Sería con la intención de buscar la mejor localización para depositarlos. Evidentemente en el momento en que fueran depositados, podrían haber cubierto diferentes etapas de su desarrollo y esto sin duda, podría despistar fácilmente a los investigadores (50,51).

Aunque aparentemente en las páginas anteriores se ha recopilado todos los elementos que pueden equivocar a los expertos en la interpretación de los datos procedentes del examen de los insectos, queda todavía por considerar un último factor: la alteración causada por el propio investigador. Se ha comprobado que durante la necesaria toma de muestras en diferentes etapas, se producen alteraciones que en su conjunto inducen un error que con frecuencia no se tiene en cuenta en los resultados finales (52).

Efectivamente se detectaron diferencias significativas en el desarrollo de cadáveres de ratas de los que se obtuvieron muestras de forma periódica, con respecto a otros –control- que no recibieron la visita de los investigadores.

Tras este ensayo se debe admitir que la presencia de los expertos y sus aparatos de medida en el escenario, provoca una alteración que no se puede valorar pero que debe ser considerada al interpretar los resultados. Su efecto acumulativo podría provocar errores en las conclusiones de los estudios entomológicos.

Asimismo se ha intentado determinar si los medios utilizados para conservar las muestras tienen algún efecto no deseado que interfiera en el estudio posterior. En este sentido un artículo publicado en 2013 llama la atención sobre la alteración que se produce en el tamaño de las larvas de *Calliphora Vicina*, conservadas en etanol al 80%. Algo que sin duda debe ser tenido en cuenta (53).

Una vez completada la lista de posibles causas de error queda el conocer cómo es posible si no evitarlo, al menos reducirlo. La bibliografía muestra el gran esfuerzo realizado en este sentido.

Una de las iniciativas destinadas a este efecto es la creación de granjas de cuerpos, como la que se encuentra en la Universidad de Tennessee (54), en las que se estudia la evolución de cadáveres en condiciones ambientales determinadas. Para intentar que los datos se ajusten lo máximo posible a la realidad se reproduce el escenario y se sitúa un cadáver de condiciones similares al *problema*, siguiendo después su evolución. Sin embargo y atendiendo a las infinitas variables que quedan fuera de control, se debe esperar un error en los resultados considerablemente alto. Este será todavía más acusado si, como es habitual, se sustituye los cadáveres humanos por otros de animales, generalmente cerdos.

Por otra parte, los datos que se obtienen se someten a complicados análisis matemáticos y estadísticos con el fin de que sean lo más exactos posible (55). En estos modelos se tiene en cuenta la no linealidad del desarrollo de las larvas e insectos que es quizá la principal causa de error.

La genética también ha aportado lo necesario para un mejor ajuste de los resultados, mediante el estudio de los genes –nueve en total- encargados de codificar determinadas proteínas que tienen mucho que ver con el grado de desarrollo de las larvas e insectos. El ARN mensajero es quien proporciona la información necesaria (56,57).

Por su parte la Química también ha aportado su granito de arena al dar a conocer cómo el perfil de hidrocarburos cuticulares, obtenido por cromatografía, cambia con la edad de las larvas y este cambio es de utilidad para determinar en qué momento de su evolución se encuentran (58).

De esta forma se pretende valorar con mayor precisión la edad de la fauna entomológica, ajustando los valores que los expertos determinarían en principio a base de la estimación del tamaño y desarrollo. Sin embargo estos ensayos tan solo se han realizado con muestras controladas, de laboratorio, por lo que su aplicación práctica está por demostrar.

Además se ha probado el uso de técnicas de examen no invasivas, como la tomografía computarizada, para observar la distribución de larvas (59,60). Con su ayuda se puede apreciar con facilidad el efecto de distintos factores como por ejemplo, la temperatura.

A pesar de estos procedimientos destinados a controlar todas las variables posibles, siempre será necesario recordar que se está trabajando con un sistema biológico (los insectos) que se desarrolla sobre otro sistema biológico (el cadáver). Nunca será posible reproducir las condiciones reales que serán distintas en casa caso, ni acercarse siquiera a controlar todos los factores que pueden ser causa de error.

Valga como prueba el artículo publicado en 2011 (61), que llama la atención sobre la posibilidad de que los insectos decidan marcharse del cadáver tras haber permanecido un tiempo en él. Esto provocaría errores en los cálculos de los entomólogos forenses y en consecuencia en el del intervalo postmortal.

Tras plantear esta posibilidad, los autores del estudio aconsejan que se amplíe el perímetro de toma de muestras alrededor del cadáver, lo suficiente para poder valorar a los ejemplares que han decidido dispersarse.

Incluso se ha comprobado que larvas enterradas son capaces de completar su desarrollo y salir a la superficie. Eso sí, con diferente grado de eficacia (62) porque como muestra un artículo publicado en la revista Science (63), hay insectos –en este caso abejas- más aventureros que otros y a los que les gusta vivir emociones fuertes.

Atendiendo a todo lo expuesto es fácil deducir que la prudencia debe ser fundamental a la hora de valorar los resultados obtenidos en el laboratorio de entomología. Será necesario contrastar todos los datos que se hayan reunido para considerados en su conjunto, llegar a una conclusión lo más certera posible. De no hacerlo así se puede incurrir en contradicciones como la que expone el artículo que se cita (64), en el que se trata dos casos distintos, un cadáver – etiquetado como a- para el que el médico forense determinó una data de la muerte de una semana y otro –el b- en el que se calculó un tiempo de dos a tres meses.

De ambos se obtuvieron muestras para el laboratorio de entomología y sorprendentemente el intervalo postmortal que se dedujo de su estudio fue de siete días para a y b.

La siguiente cuestión a responder por el médico forense hace referencia a la causa de la muerte.

- ¿Cómo ocurrió?-

La entomología es capaz de nuevo de ser de ayuda para dar con una respuesta acertada. Se ha hecho mención anteriormente al efecto que medicamentos o drogas que se encuentren en el cadáver, causan sobre los insectos y larvas. Este efecto que es negativo porque interfiere en el cálculo de la data de la muerte, puede sin embargo servir a los expertos en toxicología para obtener la evidencia de la presencia de estos tóxicos y su posible implicación en los hechos.

Lo que hoy en día se ha denominado entomotoxicología forense tiene una larga historia. En 1958, se dieron a conocer investigaciones realizadas con ratas a las que se suministró diferentes agentes tóxicos, observando que el comportamiento de las moscas se veía afectado por los diferentes tipos de veneno (65)

Más adelante, en 1970, se comprobó la presencia de diferentes metales en insectos adultos. También se detectó mercurio en larvas, lo que fue de gran interés para la resolución de un caso en el que se encontró un cadáver en

avanzado estado de descomposición. El suceso se produjo en Finlandia y al estudiar las larvas, se demostró la presencia de mercurio en baja concentración, lo que ayudó a situar a la víctima en una zona determinada donde según se sabía, existía contaminación ambiental por este elemento.

Años después, en 1985, se demostró la presencia de arsénico en las moscas que habitaban un cadáver y posteriormente se detectó organofosforados (malation) en la investigación de un supuesto suicidio (66).

Desde entonces se han publicado numerosos trabajos sobre entomotoxicología, que ponen de manifiesto la posibilidad de utilizar los insectos para aislar tóxicos que se encontraban en el cadáver (67,68,69,70).

Por el contrario, también se han publicado otros en los que se pone en duda su aplicación práctica. Valga como ejemplo uno que sus autores titularon "*mucho ruido y pocas nueces*", en el que se trabajó con veintinueve cadáveres de los que se obtuvieron larvas de artrópodos y se sometieron a análisis toxicológico.

Tal como consta en el trabajo publicado (71), se detectaron diferentes compuestos orgánicos como benzodiazepinas, barbitúricos, antidepresivos, fenotiazinas, opiáceos, cannabinoides, meprobamato, digoxina y nefopam. Sin embargo no hubo correlación entre las concentraciones halladas en las larvas y las que se obtuvieron de muestras de tejidos procedentes de los cadáveres.

Además se comprobaron resultados muy dispares en larvas que habitaban el mismo cadáver e incluso el mismo tejido.

En las conclusiones se insiste en que estos datos demuestran que los estudios entomotoxicológicos no son de utilidad práctica.

Quizá lo más prudente sea quedarse en el término medio y delimitar en qué situaciones puede ser útil este tipo de estudio, porque en Ciencia Forense siempre se está en la zona del gris. Es lo que se intenta en otro trabajo de revisión, publicado en 2011 (72), en el que se califica como utopía esta intención de establecer el estudio toxicológico a partir de los insectos. Se acepta que de momento imposible establecer una correlación entre los valores que se obtienen en el estudio entomológico y los correspondientes al cadáver por tanto el análisis cuantitativo, efectivamente, no es fiable.

No obstante, este puede ser la única posibilidad de detectar tóxicos cuando se trabaja con huesos. Aunque siempre se debe considerar como un análisis orientativo de tipo cualitativo.

Otras situaciones en la que el estudio entomológico puede ser de gran ayuda son aquellas relacionadas con el abandono o maltrato de personas. En 2001 se publicó un artículo en el que se describe un caso sucedido en Alemania en julio del año anterior, cuando al ejecutar una diligencia de desalojo de un apartamento, se encontró en su interior el cadáver de una niña con evidentes signos de descomposición (73). La madre –y propietaria del apartamento- dijo no haber estado allí durante las últimas dos semanas y añadió que no recordaba cuándo había visto a la niña por última vez. Desde hacía varios meses, en diferentes ocasiones los vecinos habían dado parte a los servicios sociales de la situación en la que estaba la niña. Sabían que se quedaba sola durante largos periodos, con las ventanas de la casa cerradas.

Así, con las ventanas herméticamente cerradas, se encontró su cadáver que fue trasladado al Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Leipzig para la autopsia. Durante el procedimiento se obtuvieron larvas del área anal-genital y del área de la cara, aunque de diferentes especies. Concretamente de la primera, se identificaron larvas crisálidas de dos especies de moscas, *Muscina stabulans* y *Fannia canicularis*, mientras de la segunda fueron larvas de la especie *Calliphora vomitoria*.

Los expertos explicaron que tanto la *Muscina stabulans* como la *Fannia canicularis* adultas, son atraídas por la materia orgánica en descomposición y orina o heces, pero no por los cadáveres. Por esto, con toda probabilidad la infestación de la niña se había producido en vida. Es lo que se conoce como miasis.

En esta ocasión la evidencia entomológica recogida del cuerpo demostró el abandono que la víctima había padecido y se inculcó a la madre, pero a también los servicios sociales que actuaron con negligencia.

En otras ocasiones el maltrato y abandono se ha ejercido sobre ancianos. La determinación de miasis sobre heridas o en las regiones anal y genital, ha sido la prueba necesaria. Así se describe en el trabajo que se cita (74), que trata el caso de la desaparición de una anciana de ochenta años que, lamentablemente, fue hallada muerta ocho días después. Los médicos forenses constataron que su cadáver no mostraba ningún signo de inicio descomposición. Tan sólo describieron algunas zonas de coloración rojiza, en la frente. La boca y el pelo estaban cubiertos de huevos de insectos y la zona de los genitales se mostraba infestada de larvas.

La diferente ubicación de la fauna entomológica, así como el distinto grado de desarrollo indicaba un acceso ante y postmortem. Se interpretó que la suciedad en la región genital habría provocado miasis, siendo un indicador del abandono sufrido por la anciana.

La entomología, como Ciencia Forense que es, podrá actuar como auxiliar de otras especialidades de la Criminalística, por ejemplo del la Química Forense. Es lógico pensar que si los insectos pueden almacenar tóxicos o semen, como ya se ha demostrado, ¿porqué no también otros indicios de interés que se encuentren en el cadáver? Residuos de disparo, por ejemplo.

Para comprobar esta hipótesis se realizó un estudio de laboratorio en el que se prepararon diferentes piezas de carne de vacuno a las que se les disparó repetidamente (75). Después se dejó que evolucionaran. Las larvas que se recuperaron en su momento dieron positivo en plomo, bario y antimonio. Sin embargo las muestras control no acumularon estos elementos.

En una segunda etapa, se transfirieron larvas *contaminadas* a otras piezas de carne limpias de residuos de disparo. Se observó como las cantidades de plomo, bario y antimonio disminuían progresivamente, llegando a desaparecer.

Con estos resultados en la mano, los responsables del ensayo confirman la posibilidad de que las larvas acumulen residuos de disparo presentes en el cadáver del que se alimentan. Sin embargo advierten de que sus datos proceden de un estudio de laboratorio y por tanto aún debe comprobarse su validez en casos reales. Indican además que la presencia de Pb, Ba y Sb en las larvas de mosca, aunque muy indicativo de la presencia de GSR, no es una prueba concluyente de su presencia. Una contaminación ambiental podría ser la causa. Exponen la necesidad de obtener las muestras de las zonas que rodean a supuestas heridas y en cualquier caso, insisten en la precaución a la hora de interpretar los resultados.

Además de esta contribución a los estudios que implican a armas de fuego, se ha dado a conocer la aptitud de los insectos –en este caso abejas- para la detección de explosivos. En un curioso artículo publicado en New Scientist se describe cómo con un correcto entrenamiento, las abejas se convierten en un eficaz competidor de los perros especialistas en detección de explosivos².

Queda resolver ahora la cuestión sobre el lugar del suceso. Respondamos entonces al,

-¿Dónde ocurrió?-

Para hacerse una idea de cómo la entomología podrá ser de auxilio para los investigadores, basta con recordar la novela "*El silencio de los inocentes*"(76), más conocida por la película que derivó de ella. Se recordará que al examinar la boca de una joven asesinada, se encuentra la crisálida de una mariposa. La agente Starling –protagonista de

² Se puede leer la noticia en <http://www.newscientist.com/article/mg20527524.000-bee-hotel-trains-residents-as-bomb-sniffers.html> (último acceso enero 2014)

la novela- consulta con los entomólogos quienes identifican a una *Esfinge de la Calavera* (*Acherontia Atropos*), cuyo hábitat se limita meramente a algunas zonas de Asia y los Estados Unidos.

El hecho de encontrar a una *Esfinge* adulta sobrevolando la casa del sospechoso tuvo mucho que ver con el desenlace de la historia.

Más allá de la ficción, para poder utilizar este potencial de la entomología en la respuesta al dónde, es imprescindible disponer de un conocimiento exacto de la fauna entomológica de cada lugar. De ahí que continuamente se publiquen estudios que contienen bases de datos, que recopilan la fauna de una determinada zona, e incluso su distribución en diferentes estaciones del año (77, 78).

Se debe señalar que en todos estos ensayos se utilizan cadáveres de animales y se limitan a una determinada zona de trabajo.

Por otra parte se ha comprobado que incluso en ausencia del cadáver, el examen del lugar donde este se encontraba, puede ser de interés. Al menos esto es lo que se observó en el caso que se describe brevemente a continuación (79). Sucedió en agosto de 2003, cuando los restos de un hombre joven fueron descubiertos en el bosque de una zona rural de Vizcaya. El cadáver estaba tendido en el suelo, vestido, reducido a un esqueleto con los restos de tejidos blandos secos, y cubierto con ácaros e insectos. El fallecido había pasado sido visto con vida tres meses antes.

Desafortunadamente, el cuerpo había sido retirado del escenario antes de que llegaran los entomólogos. Sin embargo estos recogieron muestras del suelo que después coincidieron con las que los médicos forenses habían obtenido del cadáver. En consecuencia ante un desplazamiento del cuerpo, el examen del suelo aún podrá aportar en ocasiones, datos de interés.

Ante esta posibilidad de responder al dónde y con el fin de asegurar en lo posible los resultados, es imprescindible una correcta identificación de los insectos. Es por esto que, sin dejar de valorar la capacidad de los expertos para determinar la especie a la que pertenecen las muestras, se ha propuesto el uso del ADN como herramienta auxiliar para corroborar sus resultados. Con esta intención se han descrito marcadores de las diferentes variedades de insectos, de forma que se les puede identificar y situar en su lugar de origen (80).

Incluso se han creado bancos de datos con los que identificar a diferentes especies. En ellos se trabaja con el marcador más común en entomología forense, una región de 658 pares de bases del gen citocromo oxidasa I (COI) que se puede considerar como un código de barras exclusivo de cada una de ellas (81,82)

Esta información sería de utilidad para determinar si un cuerpo ha sido trasladado de un lugar a otro.

La sensibilidad de las técnicas es tal que incluso han permitido obtener perfiles a partir de pupas vacías (83).

Pero además, por si el ADN no diera resultados se ha propuesto otros procedimientos como el uso de antígenos de diferentes proteínas específicas para cada especie. Este método se considera sencillo y rápido pero aún está pendiente de ensayos que corroboren su validez en la práctica (84,85).

Sin embargo y aunque se intente mantener controlada a la naturaleza e identificar todo lo identificable, es necesario advertir que se está abocado al fracaso. Sólo hace falta recordar que con frecuencia se publican noticias en las que se da a conocer “una nueva especie” que anteriormente no se había detectado en un determinado lugar³. Ante este hallazgo cabe preguntarse ¿realmente no estaba? o ¿será que antes no se había visto? ¿Puede ser que haya venido de otro sitio? ¿quién limita el tráfico de especies? (86)

³ Por ejemplo: <http://www.elmundo.es/elmundo/2010/11/22/ciencia/1290423594.html> (último acceso enero 2014)
<http://www.europapress.es/ciencia/noticia-investigadores-descubren-mas-100-pequenas-especies-escarabajos-depredadores-tahiti-20130809154104.html> (último acceso enero 2014)

Para terminar este apartado dedicado al dónde queda tan sólo recordar que el trabajo del entomólogo no se centra exclusivamente en el estudio del cadáver sino que se extiende a los lugares relacionados con él.

En ocasiones ni siquiera tiene que haber un cadáver. Es el caso del examen de edificios en los que aparecen insectos, vehículos que se sospecha han estado en un determinado lugar y que pueden haber transportado a testigos de su paso.

Cabe añadir alguna curiosa investigación que ha intentado resolver una de las cuestiones más complejas de la investigación criminal, nada menos que la antigüedad de una mancha de sangre. Es lo que se intenta al menos en un artículo publicado en 1974 (87), donde se trabaja con una mancha infestada de larvas de mosca que fue encontrada en un contenedor de basura. El estudio entomológico consiguió, según se describe, localizar la casa donde se produjo el suceso.

Con este último caso llega el momento de concluir este texto en el que se ha intentado reunir y revisar las aplicaciones de la entomología a la Ciencia Forense. Es necesario insistir en recordar que como todas las demás especialidades de la investigación criminal, por sí misma no será suficiente para resolver un caso. Sin embargo será de utilidad si se usa en colaboración con todas las demás. Trabajando en equipo es cómo se conseguirá llegar lo más cerca posible de la verdad.

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Benecke M. A brief history of forensic entomology. *Forensic Sci Int.* 2001 Aug 15;120(1-2):2-14.
- ² Bergeret L. Infanticide, Momification naturelle du cadavre. *Annales d'hygiène publique et de médecine légale série 2*, no 4. Jean-Baptiste Baillière. Paris, 1855.
- ³ Yovanovich GP. *Entomologie appliquée à la Médecine Légale.* Olier-Henry. Paris, 1888.
- ⁴ Megnin P. *La Faune des cadavres.* Masson y Gautier-Villars. Paris. 1894.
- ⁵ Wells JD, Sperling FA. DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci Int.* 2001 Aug 15;120(1-2):110-115.
- ⁶ de Lourdes Chávez-Briones M, Hernández-Cortés R, Díaz-Torres P, Niderhauser-García A, Ancer-Rodríguez J, Jaramillo-Rangel G, Ortega-Martínez M. Identification of human remains by DNA analysis of the gastrointestinal contents of fly larvae. *J Forensic Sci.* 2013 Jan;58(1):248-250. doi: 10.1111/j.1556-4029.2012.02279.x.
- ⁷ Wells JD, Intra F Jr, Di Vella G, Campobasso CP, Hayes J, Sperling FA. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. *J Forensic Sci.* 2001 May;46(3):685-687.
- ⁸ Li X, Cai JF, Guo YD, Xiong F, Zhang L, Feng H, Meng FM, Fu Y, Li JB, Chen YQ. Mitochondrial DNA and STR analyses for human DNA from maggots crop contents: a forensic entomology case from central-southern China. *Trop Biomed.* 2011 Aug;28(2):333-338.
- ⁹ Gill JS, Rowley WA, Bush PJ, Viner JP, Gilchrist MJ. Detection of human blood in the bat tick *Carios (Ornithodoros) kelleayi* (Acari: Argasidae) in Iowa. *J Med Entomol.* 2004 Nov;41(6):1179-1181.
- ¹⁰ Szalanski A et al. Isolation and Characterization of Human DNA From Bed Bug, *Cimex lectularius* L., (Hemiptera: Cimicidae) Blood Meals. *J. Agric. Urban Entomol.* 2006;23(3):189-194.
- ¹¹ Mumcuoglu KY, Gallili N, Reshef A, Brauner P, Grant H. Use of human lice in forensic entomology. *J Med Entomol.* 2004 Jul;41(4):803-806.
- ¹² Kreike J, Kampf S. Isolation and characterization of human DNA from mosquitoes (Culicidae). *Int J Legal Med.* 1999;112(6):380-382.
- ¹³ Clery JM. Stability of prostate specific antigen (PSA), and subsequent Y-STR typing, of *Lucilia (Phaenicia) sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) maggots reared from a simulated postmortem sexual assault. *Forensic Sci Int.* 2001 Aug 15;120(1-2):72-76.
- ¹⁴ Kester KM, Toothman MH, Brown BL, Street WS 4th, Cruz TD. Recovery of environmental human DNA by insects. *J Forensic Sci.* 2010 Nov;55(6):1543-1551. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01500.x.
- ¹⁵ Durdle A, Mitchell RJ, van Oorschot RA. The human DNA content in artifacts deposited by the blowfly *Lucilia cuprina* fed human blood, semen and saliva. *Forensic Sci Int.* 2013 Dec 10;233(1-3):212-219. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.09.015.
- ¹⁶ Durdle A, van Oorschot RA, Mitchell RJ. The morphology of fecal and regurgitation artifacts deposited by the blow fly *Lucilia cuprina* fed a diet of human blood. *J Forensic Sci.* 2013 Jul;58(4):897-903. doi: 10.1111/1556-4029.12145.
- ¹⁷ Amendt J, Krettek R, Zehner R. *Forensic entomology.* Naturwissenschaften. 2004 Feb;91(2):51-65.
- ¹⁸ Cammack JA, Nelder MP. Cool-weather activity of the forensically important hairy maggot blow fly *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) on carrion in Upstate South Carolina, United States. *Forensic Sci Int.* 2010 Feb 25;195(1-3):139-42. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.12.007.
- ¹⁹ Mayer AC, Vasconcelos SD. Necrophagous beetles associated with carcasses in a semi-arid environment in northeastern Brazil: implications for forensic entomology. *Forensic Sci Int.* 2013 Mar 10;226(1-3):41-45. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.11.019.

- ²⁰ Defilippo F, Bonilauri P, Dottori M. Effect of temperature on six different developmental landmarks within the pupal stage of the forensically important blowfly *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *J Forensic Sci.* 2013 Nov;58(6):1554-1557. doi: 10.1111/1556-4029.12199.
- ²¹ Niederegger S, Pastuschek J, Mall G. Preliminary studies of the influence of fluctuating temperatures on the development of various forensically relevant flies. *Forensic Sci Int.* 2010 Jun 15;199(1-3):72-8. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.03.015.
- ²² Charabidze D, Bourel B, Gosset D. Larval-mass effect: Characterisation of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. *Forensic Sci Int.* 2011 Sep 10;211(1-3):61-6. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.04.016.
- ²³ Battán Horenstein M, Rosso B, García MD. Seasonal structure and dynamics of sarcosaprophagous fauna on pig carrion in a rural area of Cordoba (Argentina): their importance in forensic science. *Forensic Sci Int.* 2012 Apr 10;217(1-3):146-56. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.10.043.
- ²⁴ Barrios M, Wolff M. Initial study of arthropods succession and pig carrion decomposition in two freshwater ecosystems in the Colombian Andes. *Forensic Sci Int.* 2011 Oct 10;212(1-3):164-72. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.06.008.
- ²⁵ Reigada C, Gíao JZ, Galindo LA, Godoy WA. Survival of submerged blowfly species and their parasitoids: implications for postmortem submersion interval. *Forensic Sci Int.* 2011 Oct 10;212(1-3):126-9. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.06.002.
- ²⁶ Simmons T, Cross PA, Adlam RE, Moffatt C. The Influence of Insects on Decomposition Rate in Buried and Surface Remains. *J Forensic Sci.* 2010 Jul;55(4):889-892. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01402.x.
- ²⁷ Reibe S, Madea B. How promptly do blowflies colonise fresh carcasses? A study comparing indoor with outdoor locations. *Forensic Sci Int.* 2010 Feb 25;195(1-3):52-7. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.11.009.
- ²⁸ Kasper J, Mumm R, Ruther J. The composition of carcass volatile profiles in relation to storage time and climate conditions. *Forensic Sci Int.* 2012 Nov 30;223(1-3):64-71. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.08.001.
- ²⁹ Voss SC, Cook DF, Dadour IR. Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia. *Forensic Sci Int.* 2011 Sep 10;211(1-3):67-75. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.04.018.
- ³⁰ Gosselin M, Di Fazio V, Wille SM, Fernandez Mdel M, Samyn N, Bourel B, Rasmont P. Methadone determination in puparia and its effect on the development of *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae). *Forensic Sci Int.* 2011 Jun 15;209(1-3):154-9. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.01.020.
- ³¹ de Carvalho LM, Linhares AX, Badan Palhares FA. The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate. *Forensic Sci Int.* 2012 Jul 10;220(1-3):27-32. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.01.023.
- ³² Liu X, Shi Y, Wang H, Zhang R. Determination of malathion levels and its effect on the development of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) in South China. *Forensic Sci Int.* 2009 Nov 20;192(1-3):14-8. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.07.005.
- ³³ Rabêlo KC, Thyssen PJ, Salgado RL, Araújo MS, Vasconcelos SD. Bionomics of two forensically important blowfly species *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) reared on four types of diet. *Forensic Sci Int.* 2011 Jul 15;210(1-3):257-62. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.03.022.
- ³⁴ Pinilla YT, Patarroyo MA, Bello FJ. *Sarconesiopsis magellanica* (Diptera: Calliphoridae) life-cycle, reproductive and population parameters using different diets under laboratory conditions. *Forensic Sci Int.* 2013 Dec 10;233(1-3):380-386. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.10.014.
- ³⁵ Richards CS, Rowlinson CC, Cuttiford L, Grimsley R, Hall MJ. Decomposed liver has a significantly adverse affect on the development rate of the blowfly *Calliphora vicina*. *Int J Legal Med.* 2013 Jan;127(1):259-262. doi: 10.1007/s00414-012-0697-3.
- ³⁶ Zuha RM, Razak TA, Ahmad NW, Omar B. Interaction effects of temperature and food on the development of forensically important fly, *Megaselia scalaris* (Loew) (Diptera: Phoridae). *Parasitol Res.* 2012 Nov;111(5):2179-2187. doi: 10.1007/s00436-012-3070-z.
- ³⁷ Charabidze D, Bourel B, Hedouin V, Gosset D. Repellent effect of some household products on fly attraction to cadavers. *Forensic Sci Int.* 2009 Aug 10;189(1-3):28-33. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.04.009.
- ³⁸ Amendt J, Krettek R, Zehner R. Forensic entomology. *Naturwissenschaften.* 2004 Feb;91(2):51-65.
- ³⁹ Higley JG, Haskell NH. Insect development and Forensic Entomology en Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. CRC Press LLC. Boca Raton (Florida) 2003.
- ⁴⁰ Faucherre J, Cherix D, Wyss C. Behavior of *Calliphora vicina* (Diptera, Calliphoridae) under extreme conditions. *Journal of Insect Behavior* 1999;12: 687-690.
- ⁴¹ Smith K G . A manual of forensic entomology. British Museum (Natural History), Comstck, London, 1986.
- ⁴² Deonier CC. Carcass temperatures and their relation to winter blowfly populations and activity in the Southwest. *J* 1940;Econ Entomol 33:166-170.
- ⁴³ Nuorteva P. The flying activity of blowflies (Diptera, Calliphoridae) in subarctic conditions. *Ann Entomol Fenn* 1965;31:242-245.
- ⁴⁴ Nuorteva P. Studies on the significance of flies in the transmission of poliomyelitis. III. The composition of the blow fly fauna and the activity of the flies in relation to the weather during the epidemic season of poliomyelitis in south Finland. *Ann Entomol Fenn* 1959;25:137-162.
- ⁴⁵ Baumgartner DL, Greenberg B. The genus *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in the New World. *J Med Entomol* 1984;21:105-113.
- ⁴⁶ Singh D, Bharti M. Further observations on the nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci Int* 2001;120:124-126.
- ⁴⁷ Eban-Rothschild A, Bloch G. Social Influences on Circadian Rhythms and Sleep in Insects. *Advances in Genetics* 2012;77:1-32. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-387687-4.00001-5>
- ⁴⁸ Greenberg B. Nocturnal oviposition behaviour of blow flies (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol* 1990;27:807-810.
- ⁴⁹ Ames C, Turner B. Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. *Med Vet Entomol* 2003;17:178-186.
- ⁵⁰ Reiter C. Zum Wachstumsverhalten der Maden der blauen Schmeißfliege *Calliphora vicina*. *Z Rechtsmed* 1984;91:295-308.
- ⁵¹ Erzinclioglu YZ. On the interpretation of maggot evidence in forensic cases. *Med Sci Law* 1990;30:65-66.

- ⁵² De Jong GD, Hoback WW, Higley LG. Effect of investigator disturbance in experimental forensic entomology: carcass biomass loss and temperature. *J Forensic Sci.* 2011 Jan;56(1):143-9. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01552.x.
- ⁵³ Richards CS, Rowlinson CC, Hall MJ. Effects of storage temperature on the change in size of *Calliphora vicina* larvae during preservation in 80% ethanol. *Int J Legal Med.* 2013 Jan;127(1):231-241. doi: 10.1007/s00414-012-0683-9.
- ⁵⁴ <http://fac.utk.edu/> (último acceso enero 2014)
- ⁵⁵ Reibe S, Doetinchem PV, Madea B. A new simulation-based model for calculating post-mortem intervals using developmental data for *Lucilia sericata* (Dipt.: Calliphoridae). *Parasitol Res.* 2010 Jun;107(1):9-16. doi: 10.1007/s00436-010-1879-x.
- ⁵⁶ Tarone AM, Foran DR. Gene expression during blow fly development: improving the precision of age estimates in forensic entomology. *J Forensic Sci.* 2011 Jan;56 Suppl 1:S112-22. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01632.x.
- ⁵⁷ Boehme P, Spahn P, Amendt J, Zehner R. The analysis of temporal gene expression to estimate the age of forensically important blow fly pupae: results from three blind studies. *Int J Legal Med.* 2013 Nov 1. Epub ahead of print]
- ⁵⁸ Moore HE, Adam CD, Drijfhout FP. Potential Use of Hydrocarbons for Aging *Lucilia sericata* Blowfly Larvae to Establish the Postmortem Interval. *J Forensic Sci.* 2012 Nov 6. [Epub ahead of print] doi: 10.1111/1556-4029.12016.
- ⁵⁹ Richards CS, Simonsen TJ, Abel RL, Hall MJ, Schwyn DA, Wicklein M. Virtual forensic entomology: improving estimates of minimum post-mortem interval with 3D micro-computed tomography. *Forensic Sci Int.* 2012 Jul 10;220(1-3):251-264. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.03.012.
- ⁶⁰ Johnson A, Archer M, Leigh-Shaw L, Brown M, O'Donnell C, Wallman J. Non-invasive visualisation and volume estimation of maggot masses using computed tomography scanning. *Int J Legal Med.* 2013 Jan;127(1):185-94.
- ⁶¹ Lewis AJ, Benbow ME. When entomological evidence crawls away: *Phormia regina* en masse larval dispersal. *J Med Entomol.* 2011 Nov;48(6):1112-1119.
- ⁶² Balme GR, Denning SS, Cammack JA, Watson DW. Blow flies (Diptera: Calliphoridae) survive burial: Evidence of ascending vertical dispersal. *Forensic Sci Int.* 2012 Mar 10;216(1-3):e1-4. doi: 10.1016/j.forsciint.2011.07.017.
- ⁶³ Liang ZS, Nguyen T, Mattila HR, Rodriguez-Zas SL, Seeley TD, Robinson GE. Molecular determinants of scouting behavior in honey bees. *Science.* 2012 Mar 9;335(6073):1225-1228. doi: 10.1126/science.1213962.
- ⁶⁴ Agudo J, Amestoy MP, Sancho M. La influencia de las condiciones medio- ambientales sobre el desarrollo de la fauna cadavérica. *Estudio de dos casos.* *Cuad Med Forense* 1998; 14:49-53.
- ⁶⁵ Utsumi K. Studies on arthropods congregating to animal carcasses, with regard to the estimation of postmortem interval. *Ochanumizo Med J.* 1958;7:202-223.
- ⁶⁶ Beyer JC, Enos WF, Stajic M. Drug identification through analysis of maggots. *J Forensic Sci.* 1980 Apr;25(2):411-412.
- ⁶⁷ Gosselin M, Ramirez Fernandez Mdel M, Wille SM, Samyn N, De Boeck G, Bourel B. 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. *J Anal Toxicol.* 2010 Sep;34(7):374-80.
- ⁶⁸ Mahat NA, Jayaprakash PT, Zafarina, Z. Malathion extraction from larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) for determining death due to malathion. *Tropical Biomedicine* 2012; 29(1): 9-17.
- ⁶⁹ Bushby SK, Thomas N, Priemel PA, Coulter CV, Rades T, Kieser JA. Determination of methylphenidate in Calliphorid larvae by liquid-liquid extraction and liquid chromatography mass spectrometry--forensic entomotoxicology using an in vivo rat brain model. *J Pharm Biomed Anal.* 2012 Nov;70:456-461. doi: 10.1016/j.jpba.2012.06.024.
- ⁷⁰ Souza CM, Lima CG, Alves MJ Jr, Arrais-Silva WW, Giorgio S, Linhares AX, Thyssen PJ. Standardization of histological procedures for the detection of toxic substances by immunohistochemistry in dipteran larvae of forensic importance. *J Forensic Sci.* 2013 Jul;58(4):1015-1021. doi: 10.1111/1556-4029.12140.
- ⁷¹ Tracqui A, Keyser-Tracqui C, Kintz P, Ludes B. Entomotoxicology for the forensic toxicologist: much ado about nothing?. *Int J Legal Med.* 2004 Aug;118(4):194-196.
- ⁷² Gosselin M, Wille SM, Fernandez Mdel M, Di Fazio V, Samyn N, De Boeck G, Bourel B. Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists. *Forensic Sci Int.* 2011 May 20;208(1-3):1-9. doi: 10.1016/j.forsciint.2010.12.015.
- ⁷³ Benecke M, Lessig R. Child neglect and forensic entomology. *Forensic Sci Int.* 2001 Aug 15;120(1-2):155-159.
- ⁷⁴ Baumjohann K, Schiwy-Bochat KH, Rothschild MA. Maggots reveal a case of antemortal insect infestation. *Int J Legal Med.* 2011 Jul;125(4):487-492. doi: 10.1007/s00414-011-0571-8.
- ⁷⁵ Roeterdink EM, Dadour IR, Watling RJ. Extraction of gunshot residues from the larvae of the forensically important blowfly *Calliphora dubia* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae). *Int J Legal Med.* 2004 Apr;118(2):63-70.
- ⁷⁶ Harris T. *The Silence of the lambs*, 1988.
- ⁷⁷ Horenstein MB, Linhares AX, De Ferradas BR, García D. Decomposition and dipteran succession in pig carrion in central Argentina: ecological aspects and their importance in forensic science. *Med Vet Entomol.* 2010 Mar;24(1):16-25. doi: 10.1111/j.1365-2915.2009.00854.x.
- ⁷⁸ Ortloff A, Peña P, Riquelme M. Preliminary study of the succession pattern of necrobiont insects, colonising species and larvae on pig carcasses in Temuco (Chile) for forensic applications. *Forensic Sci Int.* 2012 Oct 10;222(1-3):e36-41. doi: 10.1016/j.forsciint.2012.04.022.
- ⁷⁹ Saloña MI, Moraza ML, Carles-Tolrà M, Iraola V, Bahillo P, Yélamos T, Outerelo R, Alcaraz R. Searching the soil: forensic importance of edaphic fauna after the removal of a corpse. *J Forensic Sci.* 2010 Nov;55(6):1652-5. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01506.x.
- ⁸⁰ Picard CJ, Wells JD. The population genetic structure of North American *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), and the utility of genetic assignment methods for reconstruction of postmortem corpse relocation. *Forensic Sci Int.* 2010 Feb 25;195(1-3):63-67. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.11.012.
- ⁸¹ Boehme P, Amendt J, Disney RH, Zehner R. Molecular identification of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes. *Int J Legal Med.* 2010 Nov;124(6):577-581. doi: 10.1007/s00414-010-0429-5.
- ⁸² Guo Y, Zha L, Yan W, Li P, Cai J, Wu L. Identification of forensically important sarcophagid flies (Diptera: Sarcophagidae) in China based on COI and period gene. *Int J Legal Med.* 2013 Oct 8. [Epub ahead of print]

-
- ⁸³ Mazzanti M, Alessandrini F, Tagliabracci A, Wells JD, Campobasso CP. DNA degradation and genetic analysis of empty puparia: genetic identification limits in forensic entomology. *Forensic Sci Int.* 2010 Feb 25;195(1-3):99-102. doi: 10.1016/j.forsciint.2009.11.022.
- ⁸⁴ McDonagh L, Thornton C, Wallman JF, Stevens JR. Development of an antigen-based rapid diagnostic test for the identification of blowfly (Calliphoridae) species of forensic significance. *Forensic Sci Int Genet.* 2009 Jun;3(3):162-165. doi: 10.1016/j.fsigen.2009.01.013.
- ⁸⁵ Yung-Hung RL, Ismail A, Lim TS, Choong YS. A 35 kDa antigenic protein from *Shigella flexneri*: in silico structural and functional studies. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Nov 18;415(2):229-234. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.09.116.
- ⁸⁶ Magni PA, Pérez-Bañón C, Borrini M, Dadour IR. *Syrirta pipiens* (Diptera: Syrphidae), a new species associated with human cadavers. *Forensic Sci Int.* 2013 Sep 10;231(1-3):e19-23. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.05.023.
- ⁸⁷ Nuorteva P. Age determination of a blood stain in a decaying shirt by entomological means. *Forensic Sci.* 1974 Feb;3(1):89-94.