

ENTOMOTOXICOLOGÍA FORENSE EN CADÁVERES EN ESTADO DE DESCOMPOSICIÓN

ARTÍCULO ORIGINAL

María José Hidalgo Pozo,
MD^a

RESUMEN

Introducción: la entomotoxicología se enfoca en la aplicación del análisis toxicológico a los insectos que se encuentran en los cadáveres, para identificar la presencia de drogas y toxinas en los tejidos o restos cadavéricos.

Objetivo: realizar una revisión sobre la utilidad de la entomotoxicología como herramienta para las Ciencias Forenses, en cadáveres que se encuentran en estado de descomposición avanzada, cuando no es factible la recolección de muestras biológicas.

Materiales y métodos: se realizó una búsqueda en Pubmed, Scopus, Scielo y Google Académico con las palabras clave: Forensic entomology / entomología forense, Forensic entomotoxicology / entomotoxicología forense, Criminology / criminología, Forensic toxicology / toxicología forense, Poisoning / envenenamiento y Postmortem interval determination / determinación del intervalo postmortem. Se incluyeron publicaciones de acceso libre, en español e inglés; publicados desde 1992 hasta marzo 2021.

Resultados: la búsqueda inicial arrojó 3476 referencias (Pubmed: 50; Scopus: 402; Scielo: 114; Google académico: 2910). Quinientas sesenta y seis publicaciones fueron excluidas por duplicación; 49 fueron incluidas en esta revisión.

Conclusiones: los insectos permiten un análisis fiable de toxinas y drogas cuando no es posible realizarlo directamente desde los restos cadavéricos. En Ecuador, se requieren estudios que indaguen la aplicación y desarrollo de esta rama para determinar su precisión y utilidad a nivel local, provincial y regional. A nivel global, se debe expandir la investigación entomotoxicológica en escenarios acuáticos o de incendios; así como el impacto del cambio climático sobre la entomofauna y sus repercusiones en el análisis toxicológico de las distintas especies.

Palabras clave: Entomología Forense; Criminología; Toxicología forense; Envenenamiento; Cambios Postmortem; Medicina Legal

^aEspecialista en Medicina Forense
^aUniversidad Central del Ecuador

Año realizado
2021

ORCID: 0000-0002-3415-8733
ISSN: 2737-6486

ABSTRACT

Introduction: Entomotoxicology focuses on the application of toxicological analysis of insects found in corpses to identify the presence of drugs and toxins in tissues or cadaveric remains. Objective: To review the usefulness of entomotoxicology as a tool for Forensic Sciences, in severely decomposed corpses, when collection of biological samples is not feasible.

Materials and methods: A search was conducted in Pubmed, Scopus, Scielo and Google Scholar using the keywords: Forensic entomology, Forensic entomotoxicology, Criminology, Forensic toxicology, Poisoning and Postmortem interval determination. Open access publications in Spanish and English published from 1992 to March 2021, were included.

Results: the initial search yielded 3476 references (Pubmed: 50; Scopus: 402; Scielo: 114; Google Scholar: 2910). Five hundred and sixty-six publications were excluded due to duplication; 49 were included in this review.

Conclusions: insects allow reliable analysis of toxins and drugs when this cannot be conducted directly from cadaveric remains. In Ecuador, more studies are required to investigate the application and development of this branch to determine its accuracy and usefulness at local, provincial, and regional levels. Globally, entomotoxicological research should be expanded to aquatic or fire scenarios, as well as the determine the impact of climate change on the entomofauna and its repercussions on the toxicological analysis of the different species.

Keywords: Forensic Entomology; Criminology; Forensic toxicology; Poisoning; Postmortem interval determination; Postmortem Changes; Forensic Medicine

INTRODUCCIÓN

Los artrópodos se sienten atraídos por los cadáveres debido al olor que emana de ellos; un ejemplo es la oviposición en los tejidos por parte de las moscas azules a las pocas horas de muerte. En este sentido, la entomología forense (estudio de los insectos en medicina forense) es de gran utilidad pues permite determinar la data de muerte, la intoxicación como causa de la misma y si el cuerpo ha sido movilizado (1).

La entomotoxicología es una rama de la entomología que se enfoca en el análisis toxicológico a los insectos que se encuentran en los cadáveres (necrófagos) para identificar drogas y toxinas en los tejidos o restos (2,3); adicionalmente, estudia el efecto que tienen estas sustancias sobre el desarrollo de estos especímenes, como una manera de establecer el intervalo postmortem (IPM). La farmacocinética en este tipo de invertebrados depende de la especie, la etapa de desarrollo; el mecanismo de acción del fármaco, su absorción, distribución, metabolismo y estabilidad (4,5).

Diversos métodos se han utilizado para las pruebas toxicológicas, incluidos los inmunoensayos, la cromatografía de gases y la

cromatografía líquida. Además, la combinación de cromatografía líquida con espectrómetros de masas en tándem puede proporcionar una mayor sensibilidad y selectividad, con tiempos de análisis y preparación de muestras muy reducidos (6,7).

En la actualidad, se ha observado un incremento en el consumo humano de drogas, lo que se asocia a la muerte, ya sea accidental, de carácter suicida, u homicida. El tipo de insectos que se encuentra en el cadáver y su grado de desarrollo, permiten identificar sustancias tóxicas en los restos cadavéricos y establecer la data de muerte; estos especímenes son valiosos porque muchas veces constituirán la única evidencia fiable en un cadáver y su recolección debe ser cuidadosa (8).

Esta revisión parte de la necesidad de recolectar información actualizada y de calidad acerca de la entomotoxicología como herramienta para las Ciencias Forenses, a nivel global; sobre todo, cuando no es posible la recolección de muestras biológicas cadavéricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta revisión se elaboró siguiendo las directrices PRISMA 2015 (9,10).

Estrategia de búsqueda:

Se utilizaron las siguientes palabras clave:

- Forensic entomology / entomología forense
- Forensic entomotoxicology / entomotoxicología forense.
- Criminology / criminología.
- Forensic toxicology / toxicología forense.
- Poisoning / envenenamiento.

- Postmortem interval determination / determinación del intervalo post-mortem.
- Post Mortem Changes / Cambios Post Mortem

Criterios de selección

Inclusión:

- Publicaciones sobre entomotoxicología, técnicas, métodos, aportes, utilidad en las ciencias forenses.
- Idioma castellano e inglés.
- Publicaciones de acceso libre.

Exclusión:

- Artículos sin descripción clara de la metodología utilizada.
- Artículos sin declaración de conflicto de interés.
- Artículos sin declaraciones éticas de no maltrato animal.

Evaluación de la calidad de los estudios

Se tuvo en cuenta el factor de impacto y elemento de prestigio de la revista. La calidad de los artículos se analizó según el grado de calidad de la evidencia utilizando la lista de chequeos de SACKET, y de acuerdo al cumplimiento de las listas de chequeo STROBE, PRISMA, CONSORT, entre otras, conforme el diseño del estudio.

Protocolo de búsqueda

Se realizó una búsqueda en las bases de datos PubMed, Scopus, Scielo y Google Scholar, con restricción de idioma a español e inglés y años de publicación a partir de 1992 hasta marzo 2021.

Elegibilidad de estudios

Los títulos y resúmenes de los estudios obtenidos fueron revisados para su elegibilidad, basándose en los criterios de inclusión y exclusión previamente descritos. Se excluyeron todas las referencias duplicadas.

Análisis de datos

En esta revisión se realizó un análisis descriptivo de los resultados de interés de las publicaciones incluidas.

RESULTADOS

Resultados de la búsqueda

La búsqueda inicial con las palabras clave designadas arrojó 3476 referencias (Pubmed: 50; Scopus: 402; Scielo: 114; Google académico: 2910). Quinientas sesenta y seis publicaciones fueron excluidas por duplicación. Después de la revisión del título de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, 523 trabajos fueron recobrados. Tras la revisión del resumen, 68 publicaciones fueron consideradas potencialmente relevantes y fueron sometidas a revisión completa, incluyendo finalmente 49 en esta revisión (Figura 1).

Análisis descriptivo de los estudios incluidos

Calidad de los estudios y riesgo de sesgo

Cuarenta y cinco trabajos cumplieron con los criterios de inclusión. La calidad de la información de todos ellos estuvo en concordancia con las herramientas CONSORT, STROBE y PRISMA, según fuese el caso.

Año de publicación y país de origen

Los años de publicación de los estudios variaron desde 1992 hasta 2021. Los países de publicación: Irlanda (N = 2); Alemania (N = 2); EEUU (N = 4); China (N = 5); Sudáfrica (N = 2); Australia (N = 2); Italia (N = 6); Taiwán (N = 1); Francia (N = 4); Irán (N = 1); Egipto (N = 1); México (N = 3); India (N = 4); Arabia Saudita (N = 1); Reino Unido (N = 1); Brasil (N = 2); Jordania (N = 1); Ecuador (N = 7).

Definición

La entomotoxicología es una rama relativamente nueva de la entomología forense, donde los insectos constituyen muestras alternativas confiables para realizar análisis toxicológicos en ausencia de tejidos y líquidos que generalmente se toman para tales fines. Esta también investiga los efectos causados por fármacos y toxinas en el desarrollo de artrópodos para estimar el IPM, determinar la causa y forma de muerte en casos de intoxicación por drogas antemortem, e incluso si el cadáver ha sido movido o no (2,11–18).

Los insectos que colonizan por primera vez un cadáver humano suelen pertenecer a las familias *Calliphoridae*, *Sarcophagidae* y *Muscidae* (19). *Diptera* (*Calliphoridae*), son probablemente los más importantes porque son más abundantes; sin embargo, la mayor parte de la evidencia entomológica depende en gran medida de una identificación precisa de las especies, pues esta permite aplicar los datos de desarrollo adecuados (20).

Aplicación en ciencias forenses

A través del estudio toxicológico de los insectos es posible determinar: el IPM, cuestiones médico-legales sobre el entorno y la higiene del lugar, maltrato físico o negligencia, presencia de toxinas o drogas, entre otros. Existen diversos factores que alteran el patrón, como cambios ambientales, barreras físicas (agua, bolsas de plástico, etc.) o intervenciones culturales relacionadas con prácticas funerarias (21–23).

Salimi et al., por ejemplo, analizaron la concentración de morfina en los insectos que colonizaron cadáveres de conejos; encontraron que la concentración de morfina en los insectos, no siempre fue directamente proporcional a la del cadáver, pero permitió su identificación de forma precisa, por lo tanto, se pudo incluir la presencia de esta sustancia entre las posibles causas de muerte a descartar (12).

Contrariamente, en años anteriores, Tracqui et al. presentaron una serie de 29 necropsias en las que se detectaron compuestos orgánicos (incluyendo benzodiazepinas, barbitúricos, antidepresivos, fenotiazina, opiáceos, cannabinoides, meprobamato, digoxina y nefopam) en larvas de artrópodos muestreadas en cadáveres humanos, donde se concluyó que el análisis de larvas casi no tuvo interés para el análisis forense práctico, al no observarse correlación entre las concentraciones de fármaco en las larvas y las muestras humanas (24).

En otro estudio, se describió su utilidad en un escenario de filicidio materno por fuego. Se trató de un reporte de caso acerca de una mujer de 40 años y sus hijos, que fueron encontrados completamente quemados dentro de un automóvil, donde se halló diazepam y sus metabolitos en los cadáveres de los niños mediante el análisis toxicológico de las larvas que se alimentaban de sus cuerpos. Las cámaras de videovigilancia domiciliarias confirmaron la sedación premortem grabando a la madre mientras administraba unas gotas de sedantes en un refresco a los niños solo un par de horas antes de prender fuego al automóvil. Este estudio tuvo un enfoque especial en la entomotoxicología y el papel potencial de los insectos en las investigaciones de muerte de cuerpos quemados, supuestamente un sustrato inadecuado para la colonización de insectos, demostrando que, incluso en ellos, la colonización de artrópodos puede ser bastante inmediata tras la extinción del fuego (25).

Determinación del intervalo postmortem a partir de la entomotoxicología

Los insectos necrófagos son una evidencia que difícilmente se pierde y son los primeros testigos que llegan en minutos a los cadáveres heridos, o en 24 horas en ausencia de heridas. Estos ingieren sustancias químicas que se encuentran en los cadáveres, que, a su vez, afectan de forma diversa a su tasa de desarrollo y duración de su ciclo de vida, alterando la estimación del IPM (26,27).

En el estudio de Richards et al. se demostró que la micro tomografía computarizada (micro-TC) pudo describir cambios morfológicos internos y externos en *Calliphora vicina* (*Diptera: Calliphoridae*) durante la metamorfosis. Para esto se tomaron muestras de las pupas y se colocaron directamente en etanol al 80% para su conservación. Cuatro lotes de pupas se trataron de forma diferente: el lote uno se teñió en yodo acuoso 0.5 M durante 1 día; dos por 7 días; tres estaban marcados con un tinte radiopaco y cuatro se dejaron sin teñir (control). Las pupas teñidas durante 7 días en yodo dieron como resultado las mejores exploraciones con micro-TC de contraste, concluyendo

que esta técnica podría usarse como una medida para estimar un intervalo post-mortem mínimo (IPM-mín) en casos de muerte sospechosa donde las pupas son los insectos en la etapa más antigua, recolectados como evidencia (28).

También los factores que afectan la longitud de las larvas postmortem afectarán la estimación del IPM, entre ellos se incluyen los métodos utilizados para matar y preservar las larvas. En un estudio se analizó los efectos de diferentes conservantes y las variaciones en el protocolo utilizado sobre la longitud de larvas muertas de dos especies comunes de mosca azul: *Calliphora vomitoria* y *Lucilia sericata* del tercer estadio. Estas se sometieron a muerte por inmersión en agua hirviendo y luego se colocaron en una solución de etanol al 80% o formaldehído al 10%, o se colocaron vivas en los conservantes. Para ambas especies, tanto la elección del conservante como el método de destrucción, afectaron significativamente al IPM (29).

Uno de los casos reportado por Wang et al. involucró un cuerpo femenino descubierto en su habitación después de que se suicidara consumiendo clozapina y alcohol en exceso. El IPM-mín estimado a través de datos entomológicos no coincidió con el momento de la muerte que indicaban las demás evidencias, esto pudo ser debido a la influencia de la clozapina y el alcohol sobre el desarrollo de larvas de mosca (30).

Efecto de las principales sustancias tóxicas de interés médico legal en el desarrollo de la entomofauna

El estudio de George et al. investigó los efectos de la morfina en las tasas de crecimiento de la mosca azul nativa australiana, *Calliphora stygia* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Para ello se incorporaron varias concentraciones de morfina en la carne picada para simular concentraciones postmortem en cadáveres con morfina, codeína y/o heroína. La presencia continua de morfina en la carne se verificó cualitativamente mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detección de quimioluminiscencia de permanganato de potasio ácido. Las tasas de crecimiento de *C. stygia* alimentadas con carne picada con morfina no difirieron significativamente de las alimentadas con carne picada de control para cualquier intervalo de comparación o parámetro medido. Además se concluyó que el análisis de *Calliphora stygia* fue confiable para determinar con precisión si el cadáver contenía morfina (27).

Musvasva et al. criaron larvas de *Sarcophaga* (*Curranea*) *tibialis* (*S. tibialis*) a temperatura constante en hígado de pollo tratado con un esteroide o un barbitúrico en concentraciones letales, medio letales y dos veces más letales para los seres humanos. Ellos encontraron que a concentraciones más altas de fármaco hubo mayor mortalidad, pero no fue estadísticamente significativa; y, que, en comparación al control, las larvas expuestas a cualquiera de los fármacos tardaron mucho más en llegar a la pupa, mientras que las larvas expuestas al metohexital de sodio alcanzaron la pupación significativamente más rápido. No se encontró una relación entre la concentración del fármaco y el tiempo de desarrollo de las larvas o pupas. El período de desarrollo total no difirió entre tratamientos, implicando que las estimaciones de los IPM basadas en la aparición de moscas adultas no se vieron afectadas por la participación de estos medicamentos; sin embargo, los intervalos de pupación

anómalos indicaron la presencia de barbitúricos (31).

Varios estudios han revelado que productos como el gas o la pintura que se encuentran en el cadáver inducen un retraso en la colonización del cuerpo, desencadenando una subestimación del IPM. En un estudio, se agregaron seis productos domésticos comunes (gas, repelente de mosquitos, perfume, lejía, ácido clorhídrico y refrescos) a ratas muertas (*Rattus norvegicus*) en un campo (Instituto Forense de Lille, Francia). Se comprobó la presencia de moscas necrófagas a intervalos regulares durante 1 mes. Este experimento se repitió durante cuatro años consecutivos. Los resultados mostraron claramente el efecto repelente de tres de las seis sustancias probadas: gas (alcohol de petróleo), perfume y repelente de mosquitos, lo que provocó un retraso medio de varios días en la aparición de las primeras especies de dípteros. A continuación, se llevaron a cabo experimentos en condiciones controladas para confirmar las observaciones anteriores. Se diseñó un olfatómetro especialmente para observar el comportamiento de la hembra *Calliphora vicina* (*Diptera: Calliphoridae*) en respuesta a estímulos de olor de cadáveres de ratones (*Mus musculus*) combinados con productos domésticos. El olor a ratón muerto fue un fuerte estímulo atractivo para la mayoría de los individuos evaluados. Además, se observó que la presencia de repelente de mosquitos, perfume, ácido clorhídrico y paradiclorobenceno produjo un efecto repelente significativo sobre las moscas hembras. Todo esto en conjunto, confirmó el efecto repelente de algunos productos domésticos sobre las moscas y la necesidad de que los entomólogos forenses consideren esta hipótesis a la hora de estimar el IPM (32).

Ishak et al. realizaron un estudio para detectar metabolitos de heroína en especímenes inmaduros de *Lucilia cuprina* (Weidemann, 1830) alimentados con diferentes concentraciones de carne tratada con heroína (500, 1000, 2500, 5000 y 10000 ng/ μ l). La detección de metabolitos de heroína se realizó mediante un análisis de espectrofotometría de masas por cromatografía de gases (GCMS). Se demostró que *L. cuprina* se podía utilizar en un análisis toxicológico para detectar heroína en un huésped. Sin embargo, los metabolitos completos esperados de la heroína no se detectaron en las larvas y pupas del primer estadio, mientras que las larvas del segundo y tercer estadio mostraron un metabolito completo de la heroína: la morfina (dependiente de la concentración de heroína dada). Los metabolitos de heroína detectados en el segundo y tercer estadio larvario probaron que se producen conversiones bioquímicas en las larvas de mosca (33).

Fahd et al. investigaron el impacto del dimetoato en tres especies de moscas *sarcophagidae*: *Sarcophaga peregrina*, *Sarcophaga dux* y *Sarcophaga ruficornis*. Los efectos de diversas concentraciones del insecticida sobre estas especies se documentaron en condiciones controladas de humedad y temperatura. Se demostró que la tasa de desarrollo en los estadios larval, prepupal y pupal, se correlacionó negativamente con las concentraciones de dimetoato, asegurando así, que altera la estimación del IPM (26).

Baia et al. investigaron los efectos potenciales del flunitrazepam (conocido como "droga de violación en una cita") en el ciclo de desarrollo de *Chrysomya megacephala*, una importante especie forense, y sus posibles implicaciones para el cálculo del IPM.

Para ello, los huevos de esta especie se colocaron en un medio artificial preparado con cuatro concentraciones distintas de flunitrazepam (4, 8, 16 y 32 ng/g). Se evaluaron los efectos potenciales sobre el tiempo de desarrollo, la mortalidad durante los ciclos y el aumento de peso, encontrando que el fármaco no tuvo un efecto significativo sobre los dos primeros, aunque sí afectó el peso de las pupas y adultos (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$). En otras palabras, que la determinación del IPM no se vio afectada (34).

El efecto de la clorpromazina (CPZ) sobre la longitud y el ancho de las larvas de *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Fallén) (Diptera: Sarcophagidae) se investigó en condiciones de laboratorio para determinar las posibles implicaciones para las investigaciones forenses. Para esto, se trató carne de res fresca con una de cuatro concentraciones de CPZ (0, 0.5, 1.0 y 1.5 μg por g de carne de res) para simular concentraciones postmortem en cadáveres humanos. Luego, se midió el largo y ancho de larvas de 2 y 4 días de edad para todos los tratamientos, y la presencia de CPZ en las carnes tratadas se verificó cualitativamente mediante cromatografía líquida-espectrofotometría de masas acoplada con ionización por electropulverización. Se encontró una correlación significativa entre la concentración de CPZ y la longitud y ancho de las larvas en ambas edades ($p < 0.001$), concluyendo que las larvas de *S. haemorrhoidalis* pueden resultar un modelo confiable para estimar el IPM-mín en cadáveres que contienen CPZ $< 1.5 \mu\text{g/g}$ (35).

Boulkenfenet, et al. analizaron la intoxicación por benzodiazepinas en cadáveres experimentales. Se concluyó que las drogas tuvieron un impacto en los ciclos de vida de los insectos y en la estimación del IPM. Otro de los hallazgos fue que la presencia de benzodiazepinas en los tejidos del cadáver, afectó al ciclo de desarrollo larvario de tres moscas necrófagas: larvas de *Chrysomya albiceps* se desarrollaron con mayor rapidez, mientras que el desarrollo de larvas de *L. sericata* y *L. silvarum* se ralentizó (36).

Wang et al. analizaron el efecto de la metanfetamina sobre el desarrollo, morfología y sobrevivencia de las larvas de *Aldrichina grahami*. Para esto, utilizaron dosis de 0, 45, 90 y 180 ng/mg de metanfetaminas. Se encontró que las larvas tuvieron un desarrollo más lento, demorando en alcanzar el estadio de pupa. Adicionalmente, su longitud fue significativamente superior a la de las larvas de cadáveres sin metanfetaminas y su peso fue inversamente proporcional a la concentración; por esto, y considerando el incremento del consumo de la sustancia en la actualidad, se concluyó tener en cuenta la exposición a metanfetaminas ante el cálculo del IPM (37).

Jales et al., analizaron la presencia de organofosforados en restos cadavéricos, observando que, a mayor dosis, se produjo la descomposición cadavérica con mayor rapidez en las primeras 24 horas, se redujo el número de insectos que aparecieron en el cadáver, hubo cambios en el patrón de sucesión, y demoró la llegada de especies importantes para la determinación del IPM; además, se vio un incremento en la mortalidad de las especies (38).

Técnicas de análisis toxicológico de la entomofauna

Un estudio encontró que, debido a la heterogeneidad de las muestras, no se reco-

mienda el uso de pruebas no específicas (como las pruebas de inmunoenzimas) y se sugieren técnicas específicas y sensibles. Métodos como cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) y HPLC permiten la identificación exacta de las sustancias tóxicas y sus metabolitos (39).

En el estudio de Bourel et al. la morfina se detectó por inmunohistoquímica en secciones de larvas de tercer estadio de *Calliphora vomitoria* (Diptera, Calliphoridae) criadas en carne de vacuno tratada con clorhidrato de morfina. La detección se realizó con un método de complejo avidina-biotina-peroxidasa. Las muestras positivas mostraron una tinción específica de la hemolinfa y una inmunorreacción más intensa en una zona situada en el límite entre la exocutícula y la endocutícula. Estos resultados constituyeron una evidencia de acumulación de morfina dentro de la cutícula de las larvas de Diptera durante su desarrollo, demostrando la posibilidad de analizar puparios vacíos cuando no hay tejidos adecuados o insectos necrófagos vivos (40).

Gosselin et al. describieron el desarrollo y validación de un método de espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida sensible para la cuantificación de metadona y su principal metabolito; 2-etiliden-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina (EDDP), sobre el desarrollo de *Lucilia sericata*. El método validado se aplicó a larvas de tercer estadio criadas en corazón de res enriquecido con 4 ug/g de metadona y en un caso de sobredosis de metadona postmortem. La validación y el análisis de la muestra real demostraron que el método fue sensible, robusto, preciso, exacto y adecuado para el análisis de rutina de metadona y EDDP en una sola larva en casos forenses (41).

Debido al uso delictivo de la nicotina, Magni et al. desarrollaron y validaron un método de GC-MS para la detección de nicotina en *Calliphora vomitoria* L. (Diptera: Calliphoridae). Además, se estudió el efecto de la nicotina en el desarrollo, la tasa de crecimiento y la supervivencia de esta mosca azul. Las larvas se criaron en sustratos de hígado enriquecidos de manera homogénea con cantidades medidas de nicotina (2, 4 y 6 ng/mg) basadas en concentraciones que son letales para los humanos. Los resultados demostraron que el método GC-MS pudo detectar tanto la nicotina como su metabolito cotinina en *C. vomitoria* inmadura; que la presencia de nicotina en las tres concentraciones mencionadas anteriormente no modificó el tiempo de desarrollo de *C. vomitoria*; que durante el período de pupación, las larvas expuestas a la nicotina murieron dependiendo de la concentración de nicotina en el sustrato; y que las longitudes resultantes de larvas y pupas expuestas a concentraciones de nicotina de 4 y 6 ng/mg fueron significativamente más cortas que las del control (42).

Un estudio propuso un medio de crecimiento estandarizado para ser empleado en futuros estudios entomotoxicológicos sobre la mosca *Megaselia scalaris* (Loew, 1866), (Diptera: Phoridae), importante en casos forenses que involucran descomposición de restos humanos encontrados en interiores y/o en ambientes ocultos, debido a su pequeño tamaño y capacidad para ingresar a ellos antes que otros insectos, y por ello utilizada para estimar el IPM. El medio propuesto fue una formulación de composición conocida, libre de xenobióticos, en la que *M. scalaris* mostró tasas de crecimiento y tiempos de desarrollo similares a los obtenidos cuando se cría en tejido; que podrá ser utilizado para probar el efecto de sustancias de interés forense (drogas de

prescripción o ilícitas, venenos, etc.) sobre el tiempo de desarrollo larvario, ayudando a ajustar la estimación del IPM en función de la presencia de dichas sustancias (43).

de Lima et al. desarrollaron dos métodos basados en voltamperometría diferencial de pulso (DPV) y espectroscopía de matriz de excitación-emisión de fluorescencia (EEM) para clasificar larvas necrófagas (*Chrysomya megacephala*, *C. albiceps*, *Lucilia sp.* y *Cochliomyia macellaria*) que contenían flunitrazepam. Concluyeron que DPV y EEM combinados con quimiometría podían usarse como herramientas para la clasificación de flunitrazepam en larvas de mosca (44).

Otro estudio se realizó en moscas *Sarcophaga bullata*, que son las primeras en aparecer en un difunto: se trataron porciones de 50 g de carne de cerdo molida con ketamina y norketamina (metabolito de la ketamina) y se dejó que las larvas se alimentaran durante aproximadamente tres días. Una vez que se produjo y recogió un número suficiente de larvas, se analizaron mediante GC-MS que utilizó un método de monitoreo de iones seleccionados (SIM) programado para detectar tanto ketamina como norketamina. Se concluyó que ambos compuestos podrían detectarse con éxito mediante este método (45).

Wolff et al. utilizaron la técnica de HPLC para la detección y cuantificación del propoxur (insecticida) en insectos de importancia forense (*Diptera* y *Coleoptera*) y para la búsqueda de indicadores entomotoxicológicos en cadáveres de conejos. Esta técnica mostró una alta sensibilidad a partir de 0.1 g o menos por cada muestra, para la cuantificación de residuos de propoxur en larvas y adultos (46).

De manera similar, Estrada-Camacho et al. determinaron que la técnica de HPLC permitió la detección de residuos de malatión (insecticida organofosforado) aún después de varios días de la exposición al mismo. En dicho estudio, se cuantificó malatión en larvas de mosca (*Diptera*) de tercer estadio, que eclosionaron sobre carne de cerdo *Sus scrofa domesticus* tratada con una dosis letal de malatión para humanos (60 g/60 kg). El tiempo de retención del malatión fue de 4.1 min (47).

Estado de la entomotoxicología en el Ecuador

Autores ecuatorianos como Jara, también han analizado la importancia de la química forense, en la determinación de la data de muerte. Esta investigadora defiende el papel de la toxicología y entomotoxicología forense, en la resolución de casos relacionados con el consumo de alcohol u otras sustancias químicas, como parte de intoxicaciones accidentales, suicidas u homicidas; en los casos en los que no es posible otro tipo de análisis para establecer IPM o causa de muerte. Sin embargo, destaca que la entomotoxicología es una rama de la medicina forense relativamente reciente, por lo que sería conveniente profundizar en sus aplicaciones y cuestiones teóricas, ya que indudablemente aportan herramientas valiosas para la solución de casos de importancia médico legal (48).

Desafortunadamente, al momento los estudios acerca de entomología y entomotoxicología son escasos en el país, y aunque algunos han investigado insectos como Dípteros, el enfoque ha sido más orientado a la biología (49,50) o a las leyes (51)

que a la medicina forense. Existen series de casos, estudios experimentales o estudios a manera de guía, acerca de la entomología en general, pero sin enfoque entomotoxicológico específico (52–54)

DISCUSIÓN

El uso de técnicas médicas como la medición de la temperatura corporal o el análisis del hígado y el rigor mortis, ha permitido el cálculo de parámetros como el IPM únicamente durante los primeros dos o tres días después de la muerte; por el contrario, calculando la edad de los estados inmaduros de los insectos que se alimentan de un cadáver y analizando toxicológicamente estas especies necrófagas, el IPM se puede estimar desde el primer día hasta varias semanas más tarde (55).

Sin embargo, ciertos factores pueden influir sobre la entomofauna; por ejemplo, se ha encontrado que la presencia de adipocera (saponificación) es perjudicial para su desarrollo ($X^2 = 6.64$, $gl = 1$, $p < 0.01$); además, que algunas especies, en particular *Proisotoma sepulcralis* (Collembola), *Eleusis pallida* (Coleoptera) y *Conicera tibialis* (Diptera), han demostrado una asociación positiva con enfermedades infecciosas ($p < 0.01$) mientras que *Piophilha casei* (Diptera) ha demostrado una asociación negativa ($p < 0.05$). La presencia de dichas enfermedades infecciosas perimortem influye en la colonización postmortem del cuerpo enterrado por insectos, incrementando la abundancia de algunas especies, y por lo tanto, la descomposición mediada por las cargas bacterianas: algo favorable para la alimentación de la entomofauna (56). De todas maneras, estos cambios, así como una demora en la identificación de las especies (57), probablemente generarían resultados variables en caso de realizar análisis entomotoxicológicos.

La actividad de alimentación o movimiento de los insectos alrededor de la escena del crimen, entre la ropa y en el cuerpo, también causa algunas alteraciones que podrían conducir a una reconstrucción incorrecta y malas interpretaciones (58,59).

A pesar de la utilidad de la entomotoxicología para el cálculo del IPM, es importante reconocer que la precisión en su estimación no ha mejorado significativamente tras décadas de investigación; y actualmente, no se puede utilizar un método único para ello. El investigador debe ser cuidadoso al formular dicha estimación, pues depende de múltiples factores circunstanciales y ambientales, y la exactitud y precisión de esta disminuyen a medida que aumenta el IPM real (60,61).

También cabe mencionar que a pesar de que se ha descrito el desarrollo y aplicación de la entomotoxicología en varios casos, la literatura relacionada con ambientes acuáticos es escasa (62).

Por otro lado, con respecto a sustancias específicas como la heroína, se ha demostrado que la ausencia de sus metabolitos en las larvas y pupas del primer estadio no significa necesariamente que la droga no se encuentre presente en el hospedador, limitando la capacidad de detección de la droga durante estas etapas, lo que podría contribuir a un resultado falso negativo en un análisis forense. Es por ello que si todas las etapas están disponibles durante la reco-

lección de la muestra, es crucial priorizar las larvas del tercer estadio en un análisis toxicológico (33).

En cuanto a los estudios experimentales que utilizan análogos de cadáveres humanos (comúnmente de cerdo), se ha encontrado que tienen mayor facilidad para ser replicados y permiten un mejor control de los factores de confusión en comparación con los estudios basados únicamente en humanos, por lo tanto, es probable que sigan siendo la principal fuente epistémica de conocimiento forense en el futuro inmediato (63).

Otro punto interesante son los estudios recientes que han demostrado una pérdida dramática de biomasa y de especies de insectos o incluso su extinción, a pesar de que la metodología aplicada en ellos sea controversial. Una disminución hipotética en la diversidad de especies y la densidad de población de insectos necrófagos podría derivar en una colonización tardía de cadáveres y un patrón de sucesión modificado debido a la desaparición o nueva aparición de especies, o la alteración de su estacionalidad. El cambio climático, como uno de los impulsores de la disminución de insectos, probablemente también tiene un impacto en los insectos necrófagos y la entomología forense

(y por ende en la entomotoxicología), pudiendo reducir la actividad de vuelo y oviposición, modificar las tasas de crecimiento y, por lo tanto, causar una sobrestimación o subestimación del IPM. Con esto se puede decir que debido al calentamiento global, se requiere una mayor investigación de la respuesta de los insectos necrófagos a las variaciones ambientales (64).

En Latinoamérica, el auge de la entomología forense no ha sido tan amplio como en otras partes del mundo; países como Argentina, México y Guatemala han incurrido en avances científicos, sin embargo, aún mínimos y aplicados únicamente a nivel universitario o en laboratorios. En Ecuador, el panorama no es diferente, con escasos estudios experimentales publicados respecto a la aplicación de entomología y entomotoxicología en medicina forense (65).

Al ser un país megadiverso, sería interesante el desarrollo de proyectos enfocados hacia esta rama; aunque quedaría la interrogante de su relevancia actualmente en el medio y, por lo tanto, de su financiamiento por parte del estado, entidades de salud o criminología.

CONCLUSIONES

Un enfoque multidisciplinario es esencial en la investigación forense; cuando es posible recuperar insectos, debe haber cooperación entre toxicólogos, patólogos y entomólogos forenses, con el fin de lograr una investigación de calidad y una evaluación más precisa de diferentes características en un cadáver.

Los insectos permiten un análisis fiable de toxinas y drogas cuando no es posible

realizarlo directamente desde los restos cadavéricos; esto recibe el nombre de entomotoxicología forense. En Ecuador, se requieren estudios que indaguen la aplicación y desarrollo de esta rama para determinar su precisión y utilidad a nivel local, provincial y regional.

Cabe recalcar que este medio de pruebas o investigación no son tomadas en cuenta en nuestro país, o con la respon-

sabilidad que el caso amerita, pues se ha demostrado que pueden ser de utilidad la recolección de larvas en un cadáver en estado de descomposición avanzada para detectar ciertas sustancias que nos indiquen la causa de muerte, actualmente muchos de los casos quedan en la impunidad por no aplicar este tipo de pruebas de gran utilidad para las ciencias

forenses.

A nivel global, se debe expandir la investigación entomotoxicológica en escenarios acuáticos o de incendios. Así mismo, es importante investigar el impacto del cambio climático sobre la entomofauna y sus repercusiones en el análisis toxicológico de las distintas especies.

CITAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aly SM, Aldeyarbi H. Applications of forensic entomology: overview and update. *Arch Forensic Med Criminol.* 2020;70(1):44–77.
2. Chopi R, Sharma S, Sharma S, Singh R. Forensic entomotoxicology: Current concepts, trends and challenges. *J Forensic Leg Med.* 2019 Oct;67(5):28–36.
3. Martin-Rodilla, Hattori, Gonzalez-Perez. Assisting Forensic Identification through Unsupervised Information Extraction of Free Text Autopsy Reports: The Disappearances Cases during the Brazilian Military Dictatorship. *Information.* 2019 Jul;10(7):231–40.
4. Charabidze D, Gosselin M, Hedouin V. Use of necrophagous insects as evidence of cadaver relocation: myth or reality? *PeerJ.* 2017 Aug;5(8):35–40.
5. Singh Professor D, Kaur Heer B, Wadhawan B, Bhanvi Wadhawan Student C, Singh D. Detection of Ketamine hydrochloride and its effect on the development of immature stages of a forensically important blow fly *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *J Entomol Zool Stud.* 2016;4(2):16–24.
6. Soares S, Rosado T, Barroso M, Vieira DN, Gallardo E. Organophosphorus pesticide determination in biological specimens: bioanalytical and toxicological aspects. *Int J Legal Med.* 2019 Nov;133(6):1763–84.
7. Al-Asmari AI. Method for Postmortem Quantification of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Metabolites Using LC-MS-MS. *J Anal Toxicol.* 2019 Oct;43(9):703–19.
8. Da Silva EIT, Wilhelmi B, Villet MH. Forensic entomotoxicology revisited—towards professional standardisation of study designs. *Int J Legal Med.* 2017 Sep;131(5):1399–412.
9. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (prisma-p) 2015: Elaboration and explanation. *BMJ.* 2015 Jan 2;349.
10. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Rev Esp Nutr Humana y Diet.* 2016;20(2):148–60.
11. Mahmood HR, Al-Khalidi TM, Burhan AH, Alkhuzaie MM. The role of Insects in Forensic investigation: A review on modern techniques. *J Punjab Acad Forensic Med Toxicol.* 2019;19(1):173–5.
12. Salimi M, Rassi Y, Chatrabgoun O, Kamali A, Oshaghi MA, Shiri-Ghaleh V, et al. Toxicological Analysis of Insects on the Corpse: A Valuable Source of Information in Forensic Investigations. *J Arthropod Borne Dis.* 2018 Sep;12(3):219–31.
13. Goff ML, Lord WD. Entomotoxicology. A new area for forensic investigation. *Am J Forensic Med Pathol.* 1994;15(1):51–7.
14. Introna F, Campobasso C Pietro, Goff ML. Entomotoxicology. *Forensic Sci Int.* 2001 Aug 15;120(1–2):42–7.
15. Singh R, Sharma S, Sharma A. Determination of post-burial interval using entomology: A review. Vol. 42, *Journal of Forensic and Legal Medicine.* Churchill Livingstone; 2016. p. 37–40.
16. Hu G, Wang M, Wang Y, Liao M, Hu J, Zhang Y, et al. Estimation of post-mortem interval based on insect species present on a corpse found in a suitcase. *Forensic Sci Int.* 2020 Jan 1;306.
17. Tembe D, Mukaratirwa S. Forensic entomology research and application in southern Africa: A scoping review. Vol. 116, *South African Journal of Science.* Academy of Science of South Africa; 2020. p. 1–8.

18. Pounder DJ. Forensic entomo-toxicology. Vol. 31, Journal of the Forensic Science Society. J Forensic Sci Soc; 1991. p. 469–72.
19. Bonacci T, Vercillo V, Brandmayr P, Fonti A, Tersaruolo C, Zetto Brandmayr T. A case of Calliphora vicina Robineau-Desvoidy, 1830 (Diptera, Calliphoridae) breeding in a human corpse in Calabria (southern Italy). Leg Med. 2009 Jan;11(1):30–2.
20. Chen WY, Hung TH, Shiao SF. Molecular Identification of Forensically Important Blow Fly Species (Diptera: Calliphoridae) in Taiwan. Vol. 41, Journal of Medical Entomology. Entomological Society of America; 2004. p. 47–57.
21. Catts EP, Goff ML. Forensic Entomology in Criminal Investigations. Annu Rev Entomol. 1992 Jan 28;37(1):253–72.
22. Benecke M, Lessig R. Child neglect and forensic entomology. Forensic Sci Int. 2001 Aug 15;120(1–2):155–9.
23. Charabidze D, Hedouin V. Temperature: the weak point of forensic entomology. Vol. 133, International Journal of Legal Medicine. Springer Verlag; 2019. p. 633–9.
24. Tracqui A, Keyser-Tracqui C, Kintz P, Ludes B. Entomotoxicology for the forensic toxicologist: Much ado about nothing? In: International Journal of Legal Medicine. Springer Verlag; 2004. p. 194–6.
25. Bugelli V, Papi L, Fornaro S, Stefanelli F, Chericoni S, Giusiani M, et al. Entomotoxicology in burnt bodies: a case of maternal filicide-suicide by fire. Int J Legal Med. 2017 Sep 1;131(5):1299–306.
26. Abd Al Galil FM, Zambare SP, Al-Mekhlafi FA, Wadaan MA, Al-Khalifa MS. Effects of insecticide dimethoate on the developmental rate of forensic importance sarcophagid flies. J King Saud Univ - Sci. 2021 Mar 1;33(2):101349.
27. George KA, Archer MS, Green LM, Conlan XA, Toop T. Effect of morphine on the growth rate of Calliphora stygia (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) and possible implications for forensic entomology. Forensic Sci Int. 2009 Dec 15;193(1–3):21–5.
28. Richards CS, Simonsen TJ, Abel RL, Hall MJR, 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):251–64.
29. Adams ZJO, Hall MJR. Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. Forensic Sci Int. 2003 Dec 17;138(1–3):50–61.
30. Wang M, Chu J, Wang Y, Li F, Liao M, Shi H, et al. Forensic entomology application in China: Four case reports. J Forensic Leg Med. 2019 Apr 1;63:40–7.
31. Musvasva E, Williams KA, Muller WJ, Villet MH. Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of Sarcophaga (Curranella) tibialis Macquart (Diptera: Sarcophagidae), and implications for estimating post mortem interval. Forensic Sci Int. 2001 Aug 15;120(1–2):37–41.
32. 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.
33. Ishak N, Ahmad AH, Mohamad Noor SA, Ahmad A. Detection of heroin metabolites at different developmental stages of Lucilia cuprina (Diptera: Calliphoridae) reared in heroin-treated meat: a preliminary analysis. Egypt J Forensic Sci. 2019 Dec 1;9(1):65.
34. Baia TC, Campos A, Wanderley BMS, Gama RA. The Effect of Flunitrazepam (Rohypnol®) on the Development of Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) and its Implications for Forensic Entomology. J Forensic Sci. 2016 Jul 1;61(4):1112–5.
35. Nusair SD, Abed SI, Rashaid AHB. Chlorpromazine Impacts on the Length and Width of Sarcophaga haemorrhoidalis (Diptera: Sarcophagidae) Larvae: Potential Forensic Implications. J Entomol Sci. 2017 Oct 1;52(4):370–8.
36. Boulkenafet F, Dob Y, Karroui R, Al-Khalifa M, Boumrah Y, Toumi M, et al. Detection of benzodiazepines in decomposing rabbit tissues and certain necrophagic dipteran species of forensic importance. Saudi J Biol Sci. 2020 Jul;27(7):1691–8.
37. Wang S, Zhang C, Chen W, Ren L, Ling J, Shang Y, et al. Effects of Methamphetamine on the Development and Its Determination in Aldrichina grahami (Diptera: Calliphoridae). Geden C, editor. J Med Entomol. 2020 May;57(3):691–6.
38. Jales JT, Barbosa T de M, dos Santos LC, Rachetti V de PS, Gama RA. Carrion decomposition and assemblage of necrophagous dipterans associated with Terbufos (Organophosphate) intoxicated rat carcasses. Acta Trop. 2020 Dec;212(5):105–14.
39. Gagliano-Candela R, Aventaggiato L. The detection of toxic substances in entomological speci-

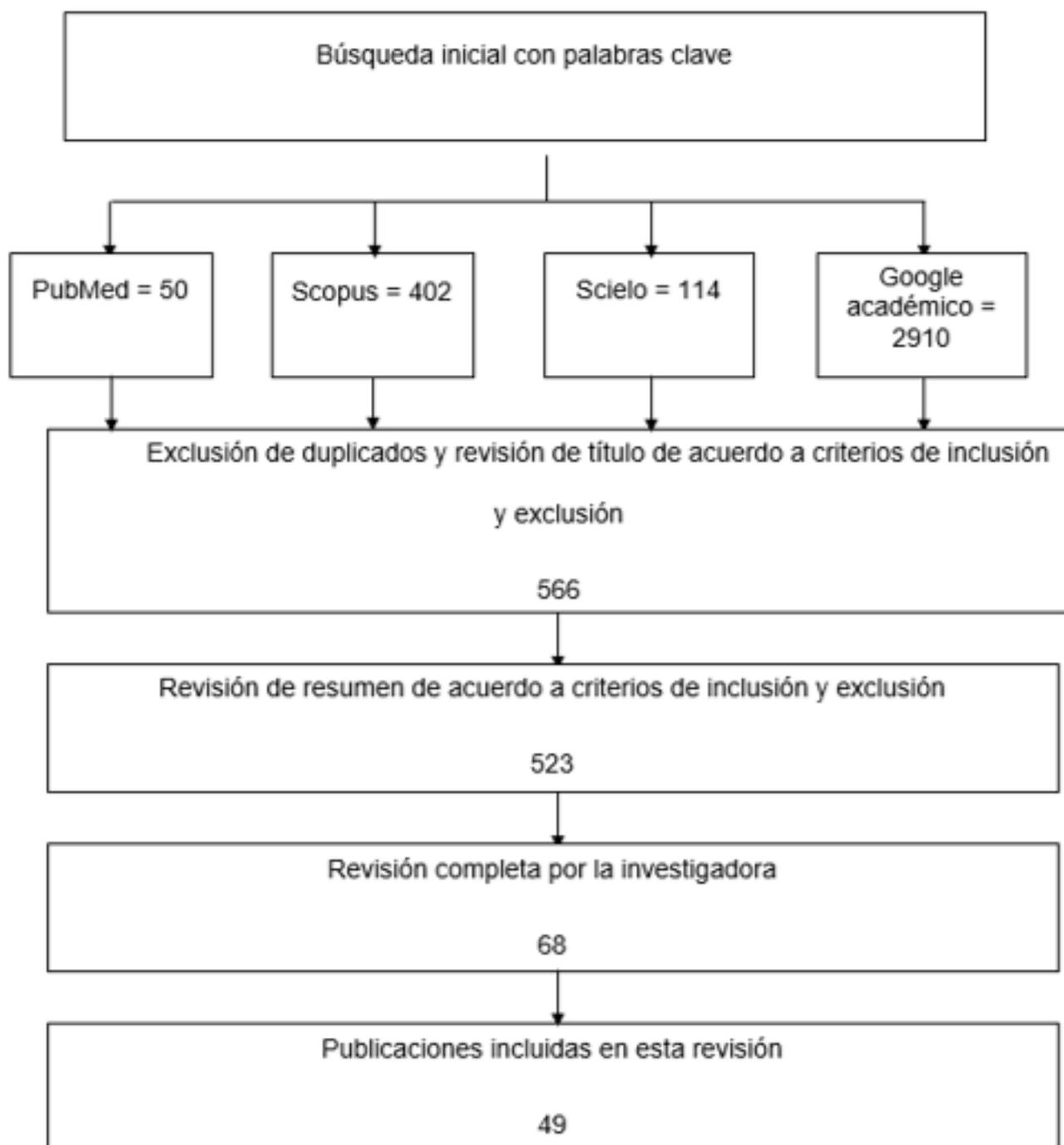
- mens. Vol. 114, International Journal of Legal Medicine. Int J Legal Med; 2001. p. 197–203.
40. Bourel B, Fleurisse L, Hédouin V, Cailliez JC, Creusy C, Gosset D, et al. Immunohistochemical contribution to the study of morphine metabolism in Calliphoridae larvae and implications in forensic entomotoxicology. J Forensic Sci. 2001;46(3):596–9.
 41. Gosselin M, Fernandez M del MR, Wille SMR, 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;34(7):374–80.
 42. Magni PA, Pazzi M, Vincenti M, Alladio E, Brandimarte M, Dadour IR. Development and validation of a GC-MS method for nicotine detection in *Calliphora vomitoria* (L.) (Diptera: Calliphoridae). Forensic Sci Int. 2016 Apr 1;261:53–60.
 43. Castillo-Alanis LA, González-Hernández AE, Quijano-Mateos A, Pedraza-Lara CS, Villavicencio-Queijeiro A, Bravo-Gómez ME. Standardization of a Culture Medium for *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae) for Entomotoxicological Studies. Hillyer J, editor. J Med Entomol. 2020 Sep 7;57(5):1421–31.
 44. De Lima LAS, Morais CLM, Jales JT, Gama RA, Lemos SG, Lima KMG. Identification using classification analysis of flunitrazepam in necrophagous larvae via differential pulse voltammetry and fluorescence Excitation-Emission Matrix (EEM) spectroscopy. J Braz Chem Soc. 2018;29(12):2595–604.
 45. Cranston C. Bugs and Drugs: Ketamine Detection from Necrophagous Insects using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. 2020.
 46. Wolff M, Zapata Y, Morales G, Benecke M. Detección y Cuantificación de Propoxur en la Sucesión de Insectos de Importancia Médico-Legal. Rev Colomb Entomol. 2006;32(2).
 47. Estrada-Camacho I, Hernández-Mendoza JL, Torres-Ortega J, Quiroz-Velázquez JDC, Villareal-Sotelo K. Detection of malathion in dipterous larvae of forensic importance in northeast Mexico. Rev Colomb Entomol. 2020;46(1):1–5.
 48. Jara E. El valor de la química forense en la investigación criminal. Rev Ecuat Med Cienc Biol. 2015;36(2):25–31.
 49. Blacio Cueva K. Estructura y variación espacial de Dípteros de importancia forense en el Cantón Pedro Moncayo, Pichincha, Ecuador. Universidad Central del Ecuador; 2018.
 50. Torres Donoso AK. Diversidad de moscas de la familia Calliphoridae (Diptera, Oestroidea) en tres ambientes con diferentes grados de antropización en siete localidades adyacentes a la ciudad de Quito, Pichincha. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2016.
 51. Campoverde Mieles D. La importancia de la entomología forense en los delitos contra la vida y su aplicación en el proceso penal. Pontificia Universidad Católica del Ecuador;
 52. García Ruilova AB, Moreno E, Barragán Á, Cáceres V, Freddy, Donso DA. Evidencias entomológicas al servicio de la justicia: Protocolo de actuación enmarcado a la legislación de Ecuador. Rev Ecuat Med Cienc Biol. 2020 Nov 30;41(2):85–93.
 53. Belén García-Ruilova A, Donoso DA. CASOS SIN RESOLVER Y LA ENTOMOLOGÍA FORENSE EN ECUADOR.
 54. Guamangallo Calles MA, Ijujes Guerra WH. Tanatocronodiagnóstico en Quito y el Valle del Tumbaco de acuerdo a la fase evolutiva de la entomofauna en cerdos *Sus Scrofa* en el periodo Julio-Agosto 2011. Universidad Central del Ecuador; 2012.
 55. Amendt J, Krettek R, Zehner R. Forensic entomology. Vol. 91, Naturwissenschaften. Springer; 2004. p. 51–65.
 56. Whittington AE. Effects of peri-mortem infection on the entomofauna of decomposing buried human remains – a metadata analysis. Sci Justice. 2019 Jul 1;59(4):452–8.
 57. Magni PA, Harvey ML, Saravo L, Dadour IR. Entomological evidence: Lessons to be learnt from a cold case review. Forensic Sci Int. 2012 Nov 30;223(1–3).
 58. Viero A, Montisci M, Pelletti G, Vanin S. Crime scene and body alterations caused by arthropods: implications in death investigation. Int J Legal Med. 2019 Jan 14;133(1):307–16.
 59. Bonacci T, Storino P, Scalercio S, Brandmayr P. Darkness as factor influencing the oviposition delay in *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae). J Forensic Leg Med. 2016 Nov 1;44:98–102.
 60. Brooks JW. Veterinary forensic pathology. Vol. 1, Veterinary Forensic Pathology. Springer International Publishing; 2018. 1–155 p.
 61. Matuszewski S. Post-Mortem Interval Estimation Based on Insect Evidence: Current Challenges. Insects. 2021 Apr 1;12(4):314.
 62. Magni PA, Borrini M, Dadour IR. Human remains found in two wells: A forensic entomology perspective. Forensic Sci Med Pathol. 2013 Sep;9(3):413–7.

63. Matuszewski S, Hall MJR, Moreau G, Schoenly KG, Tarone AM, Villet MH. Pigs vs people: the use of pigs as analogues for humans in forensic entomology and taphonomy research. Vol. 134, International Journal of Legal Medicine. Springer Verlag; 2019. p. 793–810.
64. Amendt J. Insect Decline—A Forensic Issue? Insects. 2021 Apr 6;12(4):324.
65. Espinoza Díaz C, Verdugo Guilcaso A, Saquipay Ortega H, Velásquez Zambrano C, Ganan Perrazo J, Falconez Cobeña K, et al. Forensic Entomology in Latin America. Arch Venez Farmacol y Ter. 2020;39(1).

ANEXOS Y APÉNDICES

FIGURA 1.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE BÚSQUEDA



Fuente: Autor 2021