

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

# FACULTAD DE CIENCIAS

CONFORMACION DEL LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA FORENSE EN LA PROCURADURIA GENERAL DE JUSTICIA DEL DISTRITO FEDERAL (PGJDF)

# REPORTE DE TRABAJO PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B** I O L O G O
P R E S E N T A:

HUMBERTO ANTONIO MOLINA CHAVEZ



TUTORA: DRA. NORA ELIZABETH GALINDO MIRANDA



FACULTAD DE CIENCIAS Secretaría General División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT, MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Conformación y desarrollo del laboratorio de Entomología Forense en la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal

realizado por Molina Chávez Humberto Antonio con número de cuenta 0-8321834-5 quien ha decidido titularse mediante la opción de trabajo profesional en la licenciatura en Biología. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario

Dr. Santiago Zaragoza Caballero

Lucks

Propietario

Dra. Rosa Gabriela Castaño Meneses

Propietario

Dra. Nora Elizabeth Galindo Miranda

Tutora

Dr. Atilano Contreras Ramos

Suplente

Suplente

Biól. Luis Manuel Nava Hernández

Atentamente,

"Por Mi Raza Hablará El Espíritu"

Ciudad Universitaria, D. F., a 16 de octubre de 2009

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Dr. Pedro García Barrera

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo. 'nlm.

#### Las moscas

A un panal de rica miel Dos mil Moscas acudieron, Que por golosas murieron, Presas de patas en él. Otra dentro de un pastel Enterró su golosina. Así si bien se examina Los humanos corazones Perecen en las prisiones Del vicio que los domina.

Félix María Samaniego

"Nunca es tarde si la dicha es buena"

"No hay nada imposible, porque los sueños de ayer son las esperanzas de hoy y pueden convertirse en realidad mañana".

#### **DEDICATORIAS**

A mí amada Blanca Estela por su amor y apoyo, a mis hijos Montserrat, Humberto y Leonel Iván, por que son mi fuerza, templanza y el motor que impulsa mi andar por este mundo.

A mi madre, "Minta" de mi corazón, por darme el impulso primario para volar y por todo el sacrificio, sin ti no sería lo que soy.

A mi padre, por que siempre has derramado confianza y comprensión durante la larga espera y por tu ejemplo de vida.

A mis hermanos Xochitl, Gena, Jesús Andrés, César, Alfredo, por que en la distancia nos acercamos más.

A mis sobrinos Valeria, Samantha, Karla, Mariam, Paulo, Benjamin, Emiliano y Gamaliel, por llenar cada uno de los espacios vacios.

A toda mi familia, Tíos Juan Manuel y Beto (in memorian), Nayo, Toña (mi segunda madre), Rosa, Eva y cada uno de mis primos y sobrinos por ser parte de mi núcleo de vida y a todas y cada una de las familias que se han ido formando e integrando a lo largo de los años.

A mis suegros Francisco Carreón y María Arroyo, cuñados y sobrinos por permitirme formar parte de su familia... no existen palabras.

A Carmen, Isabel, Martha y Daniel, gracias por la conjunción familiar.

A todos los caleros de origen y a los tuxtlecos adoptivos (Dr, Cuz) que me impulsaron a seguir cuando la orilla se veía lejos...

A cada uno de mis compañeros de mi Facultad de Ciencias, UNAM, por todos aquellos momentos que quedaron entre las paredes y pasillos de sus edificios, jardineras y autobuses donde aprendimos, soñamos y comprendimos que lo mejor de la vida está en nosotros mismos y por que son parte importante de mi vida. ¿Cómo olvidarlos?

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Biólogo Luis Manuel Nava Hernández, Perito en Entomología Forense y al Antropólogo Jesús Agustín Luy Quijada, Perito en Jefe del Laboratorio de Antropología Forense de la CGSP-PGJDF, por ser tan grandes compañeros y permitirme compartir con ellos la aventura del Laboratorio.

A la Dra. Nora Elizabeth Galindo Miranda por la tutoría, orientación, apoyo y tiempo invertido para la realización de este trabajo.

A los sinodales Dr. Santiago Zaragoza Caballero, Dra. Gabriela Castaño Meneses, Dr. Atilano Contreras Ramos y Biol. Luis Manuel Nava Hernández, por las valiosas correcciones y aportaciones realizadas.

Al Dr. Alejandro Cruz Reyes, por permitirme compartir tanto tiempo el gusto por la biología, el campo y la tierra veracruzana, así como sus valiosos consejos durante la realización del presente trabajo.

Al Dr. Guillermo Salgado Maldonado, por su apoyo, impulso y confianza de siempre, además de la inestimable orientación y aportación para generar este trabajo.

A mi entrañable amiga Kandy, mis compañeros Paty, Rosa, Gaby, Lucila, Lucia, Dolores, Elsa, Clemente, José Luis, Mike, José Antonio, Manuel Martínez Paniagua, Horacio, Mario, Daniel Carreño (RIP), Jesús Toledo (RIP), Alfonso Aquino (RIP) y todos aquellos que han compartido conmigo este quehacer de la investigación forense en la Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, que sin ustedes este trabajo no sería una realidad.

A mis compañeros Antropólogos del Laboratorio de Antropología Forense, de Servicio Social, Maise, Gaby, Diana y Araceli por su apoyo durante las largas travesías de la rutina de trabajo en el Laboratorio de Entomología Forense.

Agradecimiento especial a: el Dr. Juan Manuel Lechuga Soler, Psic. Maura Ramírez G., C.D. Anselmo Apodaca, Lic. María de Carmen Murguía B. y Q. Noé Tapia Albino, por las facilidades otorgadas, así como el Dr. Pedro Estrada González por su visión para el desarrollo de las disciplinas forenses.

Gracias Samuel Gutiérrez Rodríguez por la lealtad, ayuda, confianza y por los momentos de sana discusión entomológica y criminalística.

# CONFORMACION DEL LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA FORENSE EN LA PROCURADURIA GENERAL DE JUSTICIA DEL DISTRITO FEDERAL (PGJDF)

# **INDICE**

INTRODUCCION	1
1 PERFIL DE LA INSTITUCION	2
1.1 Organigrama de la Coordinación General de Servicios Periciales de la	
Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal	3
2 ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO	4
2.1 Entomología Forense	5
2.2 Antecedentes	5
2.3 Entomología Forense en México	7
2.4 Aplicaciones	9
3 ACTIVIDADES DESARROLLADAS	12
3.1 Conformación del Laboratorio de Entomología Forense en la Procuraduría	
General de Justicia del Distrito Federal	12
3.1.1 Requerimientos de Materiales y del local	14
3.2 Estudios biológicos de dípteros	17
3.2.1 Distribución	17
3.2.2 Emergencia diferencial en tejido humano	18
3.2.3 Ciclos de vida en condiciones de laboratorio	19
3.2.4 Ensayos de sucesión de insectos en cadáver de cerdo	21
3.2.5 Aislamiento de ADN Humano a partir de larvas de dípteros	25
3.2.6 Colección de dípteros de importancia forense	26
3.3 Ejercicios de aplicaciones en la practica forense	27
3.3.1 Intervalo postmortem (IPM)	28
3.3.2 Causa de muerte	30
3.3.3 Estructuras de insectos en productos consumo humano	32
4 EVALUACION CRÍTICA	33
5 BIBLIOGRAFIA	35
6 ANEXOS	
A-1 Trabajo presentado en el XLI Congreso Nacional de Entomología de la	
Sociedad Mexicana de Entomología	41
A-2 Trabajo presentado en el XLIII Congreso Nacional de Entomología de la	
Sociedad Mexicana de Entomología	45
Serie de Microfotografías presentadas en el trabajo del anexo 2	48
A-3 Trabajo presentado en el XLIII Congreso Nacional de Entomología de la	
Sociedad Mexicana de Entomología	53

#### **RESUMEN**

Se describen las actividades y acciones que se realizaron durante el establecimiento y desarrollo del laboratorio de Entomología Forense de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. La Entomología Forense se define como una ínter disciplina donde la investigación sobre insectos y otros artrópodos principalmente necrófagos y necrófilos, se aplica en investigaciones que realiza el sistema judicial. Entre éstas, se encuentra la posibilidad de estimar el denominado Intervalo Postmortem (IPM), que se define como el intervalo de tiempo transcurrido desde que ocurre la muerte hasta el momento en que se efectúa el hallazgo de un cadáver, relacionando los fenómenos de transformación de cadáveres, con los patrones de colonización y las variables ambientales, entre otros datos de índole criminalístico.

La conformación de un laboratorio de este tipo en la Coordinación General de Servicios Periciales del Distrito federal, se establece bajo un esquema multidisciplinario, dónde además de biólogos se involucran especialistas en Antropología Forense, Medicina forense y Criminalística, entre otras especialidades del mismo tipo. A partir de esta premisa se gestionaron acciones institucionales para crear el espacio físico, estructural y operativo que ha dado paso a la adecuación de equipos y materiales con el propósito de obtener datos de identificación y distribución de especies, ciclos de vida, observación de los fenómenos de sucesión ecológica que se presenta durante la degradación de la materia orgánica, relacionándola con los fenómenos de la degradación de cadáveres en la Ciudad de México; en tanto que en otro sentido, la referencia biológica obtenida, permite sustentar conclusiones forenses, con información obtenida en el Distrito Federal.

En aspectos de biología, se han generado diferentes estudios de la diversidad de dípteros asociados a la degradación de cadáveres vertebrados y humanos, establecimiento de ciclos de vida y emergencia diferencial; de la misma manera se han practicado ensayos de sucesión de especies en modelo animal, se enlistan géneros y especies de dípteros y coleópteros, así como otros grupos de artrópodos como Himenópteros y ácaros. Así mismo se logró aislar ADN humano a partir de larvas de dípteros de diferentes especies, se practicaron barridos mediante microscopia electrónica con ejemplares de larvas L-III de la especie *L. sericata* y del mismo modo, se dio inicio a una Colección de Dípteros de Importancia Forense, que ha servido de referencia para distintos estudios practicados.

Con respecto al ámbito forense, se hace un recuento de las intervenciones ministeriales practicadas durante el tiempo que formalmente lleva en funcionamiento el Laboratorio y se reseñan tres de las distintas aplicaciones que se han tenido en la práctica forense, para concluir se describe la situación actual de la entomología forense y algunas de las proyecciones que se presentan para el futuro, sin omitir una revisión a los antecedentes e historia de la disciplina en los planos nacional e internacional.

# INTRODUCCIÓN

El presente reporte de trabajo profesional muestra las actividades que he realizado durante la conformación y el establecimiento del Laboratorio de Entomología Forense en la Coordinación General de Servicios Periciales (CGSP) de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal (PGJDF), México, institución en la que, de junio de 1996 a Agosto del año 2004, me desempeñé en el Laboratorio de Química Forense, para posteriormente ser comisionado, en el mes de septiembre del 2004, al Laboratorio de Antropología Forense formando parte de un equipo interdisciplinario encaminado al desarrollo de un Laboratorio de Entomología Forense. A partir de ese momento, se formalizan los trabajos que se habían desarrollado, de manera intermitente, desde el año 1997, con la búsqueda y recopilación de información documental para la elaboración de un protocolo ejecutivo para el establecimiento de dicho laboratorio. En Octubre de 2004, año en que se inician los trabajos de colecta de dípteros que se asocian con la degradación de cadáveres en el Distrito Federal y a partir de Enero del 2005, se desarrollan protocolos de trabajo para la resolución de solicitudes ministeriales en colaboración con las Áreas de Antropología y Criminalística de la misma Institución.

La presentación del trabajo realizado se divide en cuatro capítulos:

- 1. Perfil de la Institución
- 2. Antecedentes y marco teórico
- 3. Descripción de actividades desarrolladas
- 4. Evaluación critica de la especialidad

En el apartado de <u>perfil de la institución</u>, se refieren las características generales de la dependencia y su papel como auxiliar de la institución encargada de la procuración de justicia, así mismo, se describe el valor que se les asigna a algunas especies de artrópodos durante una investigación criminalística.

En el capítulo de <u>antecedentes y marco teórico</u>, se incluyen una serie de antecedentes que han permitido el desarrollo de la Entomología Forense en diferentes países, así como la situación que se presenta en México, la utilidad de ciertos artrópodos en la resolución de índices forenses y su vinculación a los trabajos dentro de la CGSP.

La <u>descripción de las actividades desarrolladas</u> se presenta en la cuarta sección. Se plantea la conformación del Laboratorio de Entomología Forense, y se describen algunos protocolos de trabajo que se han generado en torno a la distribución de especies de dípteros, ciclos de vida y su papel en la sucesión ecológica que se presenta en cadáveres en descomposición. Se muestran los trabajos presentados en congresos nacionales de entomología, así como las aplicaciones que he efectuado durante las numerosas intervenciones ministeriales.

En el último capítulo, <u>evaluación critica de la especialidad</u>, se hace una valoración de logros y proyecciones para la especialidad de Entomología Forense como disciplina pericial emergente, así como de la situación que guarda en el país en el ámbito académico y en el de investigación pericial, así como la situación de difusión y aplicación.

# 1. PERFIL DE LA INSTITUCIÓN

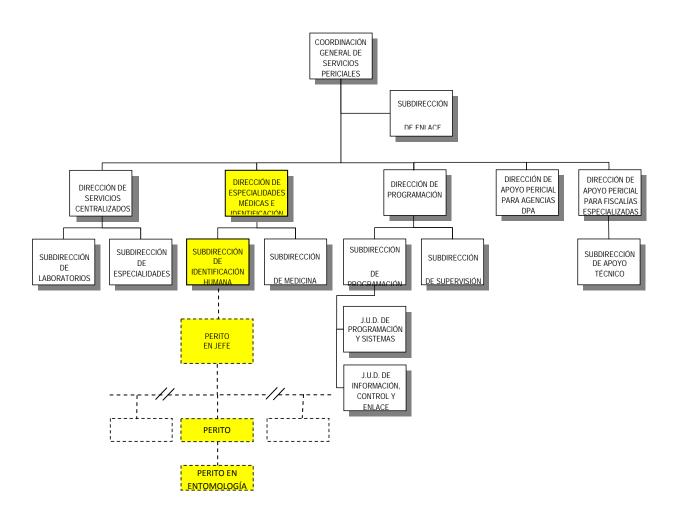
La Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal del Distrito Federal (PGJDF) es la entidad encargada de la procuración de justicia en el Distrito Federal, cuenta con cinco Subprocuradurías responsables de coordinar y dirigir las actividades de las distintas Fiscalías de Investigación, una Oficialía Mayor, la Jefatura General de la Policía Judicial, la Visitaduría General, una Contraloría Interna, Una Fiscalía Central de Investigación para Servidores Públicos, cuatro Direcciones Generales, una Coordinación de Agentes del Ministerio Público Auxiliares del C. Procurador y la Coordinación General de Servicios Periciales –CGSP- (Ley Orgánica y Reglamento de la Ley Orgánica de la PGJDF).

La CGSP, se constituye como auxiliar de la Institución del Ministerio Público (MP) y tiene como encargo establecer científicamente que relación guardan los indicios durante la investigación de un hecho delictivo. Así mismo, sus atribuciones le permiten integrarse a un proceso de actualización e innovación constante de las distintas ramas de la ciencia y tecnología, de tal manera que los avances propios de las ciencias básicas se traducen en progresos para la investigación criminalística y en una mejor procuración de justicia.

En el Distrito Federal, la CGSP cuenta con 1037 Peritos Profesionales o Técnicos; 60 Peritos supervisores: 28 Peritos en Jefe y 12 peritos en Jefe Supervisor de Zona, distribuidos en las 16 Fiscalías Desconcentradas de Investigación, en la Fiscalía Central de Investigación de Homicidios, en la Fiscalía Central para Delitos Financieros y en las cinco Direcciones de Área con las que cuenta dicha Coordinación. Concentra 36 especialidades reconocidas y otras especialidades diversas, que se establecen según los requerimientos del Agente del Ministerio Público o Autoridad judicial solicitante. Para su funcionamiento, cuenta con distintos laboratorios y unidades administrativas, a las cuales genéricamente se les denominan especialidades forenses, cuyos elementos técnicos, científicos y/o artísticos que emite el especialista se obtienen a partir del análisis de los indicios. Entre las especialidades que conforman a la CGSP, se encuentra la Entomología Forense, cuyo laboratorio forma parte de la Subdirección de Identificación, de la Dirección de Identificación Humana (Boletín Mensual de la PGJDF y Manual Específico de la CGSP).

#### 1.1 ORGANIGRAMA DE LA CGSP-PGJDF

El Laboratorio de Entomología Forense, se ubica en el área central, depende de la Dirección de Especialidades Médicas e Identificación, y proporciona el servicio a todas las fiscalías centrales y desconcentradas de la Institución, así como a otras autoridades competentes que lo soliciten. La organización funcional de esta especialidad pericial se presenta en el siguiente organigrama (Manual de organización específico de la CGSP).



#### 2. ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

Una problemática frecuente dentro de la investigación pericial, es establecer criterios de temporalidad cuando se encuentra un cadáver humano en procesos de degradación. Las interpretaciones médica y criminalística emplean índice un denominado cronotanatodiagnostico, que se basa en los fenómenos de transformación cadavérica, pero no considera en toda su magnitud la utilidad de los indicios biológicos como artrópodos y otros animales en asociación con el propio cuerpo, atribuyéndoles únicamente un valor anecdótico y en el mejor de los casos al relacionarlos, se hace de manera general con base en información bibliográfica ajena a las condiciones ecológicas y geográficas de la zona, además carece de especialización y conocimiento en la identificación taxonómica.

Sin embargo, existen otros criterios de interpretación que involucran por un lado factores inherentes al propio cadáver, al sitio de depósito, a las circunstancias de muerte, factores biológicos y climáticos, junto con los fenómenos de transformación cadavérica que influyen para establecer la probable fecha de la muerte. Por tal motivo, la interpretación correcta a los indicios biológicos es fundamental para establecer con mayor precisión un índice criminalístico que estima el tiempo transcurrido desde que ocurre la muerte el momento del hallazgo, denominado Intervalo Postmortem (IPM) el cual involucra todos los factores que rodean el fenómeno de la degradación cadavérica incluyendo los indicios entomológicos.

En la Ciudad de México, aún cuando se registra un número fluctuante de decesos en donde se observa la asociación de insectos con un cadáver humano, a los artrópodos no se les ha considerado como indicios biológicos asociados como parte de un fenómeno ecológico de sucesión y de transformación de materia orgánica. Contrario a esta situación, la evolución de la Entomología Forense en otros países, es tal que el estudio de los insectos se emplean como una herramienta criminalística que auxilia en la resolución de casos que van desde homicidios altamente engañosos, hasta infracciones por la mala prestación de un servicio.

Ante esta problemática, la CGSP de la PGJDF ha creado y conformado el Laboratorio de Entomología Forense, para auxiliar técnica y científicamente durante una investigación ministerial o judicial, cuando se vincule la presencia de artrópodos durante el proceso de investigación, pero que al mismo tiempo ha planificado y desarrollado estudios experimentales con insectos asociados a la degradación cadavérica, con el fin de dar soporte a las conclusiones periciales que emite. Dicho Laboratorio tiene como objetivo practicar diversas investigaciones biológicas de identificación taxonómica y manejo de especies de insectos que se asocian a la degradación cadavérica, con el fin de conocer sus ciclos de vida y la distribución en la Ciudad de México, para que a partir de esa información se sustenten los análisis de los mismos cuando sea necesario estimar el IPM, índice que, en la actualidad, se torna un medio de prueba pericial que integra las variables climáticas, edáficas, de flora y los fenómenos de transformación cadavérica, que se presentan en el cuerpo a partir de la muerte.

## 2.1 Entomología Forense.

La Entomología Forense se define como una ínter disciplina, en donde el estudio de los insectos y otros artrópodos interactúa con el sistema judicial (Hall, 2001). En ella se hace uso de estos organismos como indicios biológicos para solucionar diferentes planteamientos ministeriales y judiciales, ya que proporcionan información durante una investigación ministerial (Varatharajan y Sen 2000). Al Considerar las circunstancias y la forma como se asocien estos animales o sus partes, durante una disputa ya sea civil o penal, ésta especialidad forense se ha dividido en tres rubros: Entomología Urbana, Entomología de Productos Almacenados y Entomología Médico-legal ó Médico-criminal (Hall, 2001; Anderson y Servenka, 2002), en este sentido, es una herramienta que auxilia a la procuración de justicia, al interpretar bajo una visión integral la biología, ecología y taxonomía de los insectos, relacionándolos con las circunstancias del hecho que se investiga. Uno de los objetivos medulares de su aplicación, es la posibilidad de relacionar los fenómenos de transformación de cadáveres, con los patrones de colonización y las variables ambientales, entre otros datos, para estimar el IPM.

Aunque se trata de una disciplina forense con casi dos siglos de aplicación, se le considera reciente, ya que su evolución ha sido lenta y su desarrollo ha dependido de la dedicación de un número de científicos relativamente bajo, en comparación con otras especialidades biológicas. Actualmente, la Entomología Forense ha ganado más reconocimiento, sobre todo en el ámbito internacional y son muchos los retos planteados para el futuro, siendo uno de los más importantes la combinación de los resultados obtenidos en las investigaciones académicas con el trabajo en casos reales (Gómez et al., 2007).

#### 2.2 Antecedentes

En uno de los primeros registros, que al parecer es el primer compendio de medicina legal, al menos desde el punto de vista del derecho, es la compilación de Si-Yuan-Lu, texto típicamente medico legal que data de mediados del Siglo XIII, que puede traducirse como "Compilación de la Reparación de las Injusticias", su autor, Song Ts'eu, del que no se puede especificar concretamente si se trataba de un médico o un juez (Corbella, 1994), durante la investigación de un homicidio en un poblado de campesinos, a todos los habitantes hombres se les ordenó exponer sus herramientas de trabajo, resultando que sólo en una de ellas se posaron las moscas, al confrontar esta evidencia con el propietario de la misma, esté confesó el delito. Este hecho, se ha descrito como la primera observación del comportamiento de los insectos y su asociación con lo que en la actualidad conocemos como aplicaciones de la Entomología Forense, según McKnight en Hall (2001). Pero no es hasta mediados del Siglo XIX, cuando en Francia, en 1855 Bergeret investiga el homicidio de un infante, se plantea el primer caso

criminal en donde se emplea la sucesión de insectos como una herramienta forense (Hall, 2001).

En 1894 J. P. Mégnin, a quien se le considera el padre de la Entomología Forense, en su obra, "La Fauna de los Cadáveres", establece el modelo de "Las escuadras de trabajadores de la muerte", reconoce que existe un orden cronológico de ocho oleadas de insectos que se relacionan directamente con el proceso de degradación de un cuerpo hasta su desaparición (Castillo, 2002). En 1895, en Canadá, Wyatt Johnston y Geoffrey Villanueve, además de practicar colectas en diferentes exhumaciones, plantean la necesidad de adecuar los trabajos de Mégnin a cada localidad debido a las características de la fauna del lugar; en Estados Unidos de Norteamérica, Murray Galt Motter publica "Underground zoology and legal medicine" como resultado de observaciones efectuadas durante las exhumaciones de 159 cadáveres (Benecke, 2001).

Entre 1899 y 1900, el médico forense Eduard Ritter von Niezabitowski, hace experimentos con fetos de gato, zorro, rata, topo y vaca, que le permiten realizar una importante contribución al establecer que "los cadáveres humanos comparten la misma fauna con cadáveres de animales" (Benecke, 2001). Posteriormente, durante la primera mitad del Siglo XX, se encuentran trabajos entomológicos en general, relacionados con especies carroñeras o degradadoras de materia orgánica, pero no enfocados directamente a la Entomología Forense, aunque se realizan esporádicamente investigaciones relacionadas con la atención a casos judiciales (Benecke, 2001; Castillo, 2002; Gómes y Von Zuben, 2006). Investigadores como Bornemissza (1957) en Australia, Leclerq (1948, 1975) en Europa y Payne (1965) en Norteamerica, reactivan el interés por la Entomología Forense a partir de la comunicación de estudios de los efectos de la sucesión de artrópodos durante la degradación de animales, así como de aplicaciones de ésta en casos reales. Establecen que la relación y asociación de insectos con los cadáveres dependen de las características del sitio de depósito y las circunstancias de la muerte, así mismo categorizan a algunos como indicadores en la llamada "Data de Muerte".

En 1986, Smith, presenta el libro "A manual of forensic entomology", el cual sirve de base para el desarrollo actual de la disciplina como tal, a partir de una descripción detallada de la aplicación de la entomología en las ciencias forenses. Posteriormente aparecen trabajos que bajo la misma visión integral, establecen la interdisciplinariedad del quehacer de la Entomología Forense y la utilidad de los insectos como indicadores forenses, tal es el caso de "Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations" de Byrd y Castner (2001); "Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators" de Greenberg y Kunich (2002) y "Forensic entomology: The insects and corpses" de Benecke (2004).

Mención aparte, merecen los trabajos de Rodríguez y Bass (1983), quienes desarrollaron estudios experimentales con cuerpos humanos, en éstos estudios dichos autores, establecen cuatro fases de descomposición de un cadáver, denominadas: cromática, enfisematosa, colicuativa y de reducción esquelética, así mismo, observaron la presencia de insectos pertenecientes a 10 diferentes familias de dípteros y coleópteros, relacionaron los

factores ambientales, la estacionalidad con el lapso de tiempo que dura cada una de las fases de descomposición cadavérica y la sucesión de insectos que se presenta en un cadáver.

Cabe destacar que, por obvias razones éticas y legales, el estudio de los insectos potencialmente importantes para la Entomología Forense se ha practicado en modelos animales, incluyendo perros, gatos, ardillas zorros, osos, cerdos, focas y otros pequeños mamíferos (Castillo, 2002; Mavárez-Cardozo et al., 2005).

En Latinoamérica, los estudios relacionados con la Entomología forense son escasos uno de estos, lo constituye un análisis retrospectivo de la región neotropical, en donde se plantea la necesidad de investigaciones en esta región con el fin de conocer mejor el proceso de degradación cadavérica y a los artrópodos asociados en este tipo de ambientes, ya que "los bosques de América Latina y el Caribe son los bosques tropicales más importantes del mundo, tanto por su extensión geográfica como por su riqueza biológica y complejidad ecológica. De los diez países con los bosques tropicales más extensos, seis se encuentran en el Neotrópico, estos son: Brasil, Perú, Colombia, Bolivia, México y Venezuela, abarcando casi la mitad de los bosques de esta categoría" (Mavárez-Cardozo, et al., 2005), de los países aquí citados, además de Costa Rica y Argentina, donde en 1994 se formó el Laboratorio de Entomología Forense en el Museo Argentino de Ciencias Naturales, ya cuentan con cierta tradición en el estudio de esta disciplina, de forma tal que se han generado trabajos en torno a la distribución de las especies de insectos involucradas en la sucesión en un cadáver, así como ciclos de vida, descripciones y la utilidad de éstos como indicadores forenses, además de estudios de análisis toxicológicos a partir de insectos (Baumgartner y Greenberg, 1985; Calderón-Arguedas et al., 2005; Centeno, 2000; Centeno et al., 2002; Daza y Yusseff, 2003; Gomes y Von Zuben, 2006; Guarin, 2005; Jirón et al, 1983; Oliva, 2001; Oliveira y Mello, 2004; Wolff et al., 2001.

#### 2.3 Entomología Forense en México.

En México, la entomología como disciplina científica se ha desarrollado en distintos terrenos como en taxonomía y sistemática, que han permitido el conocimiento de la biodiversidad de este grupo de organismos, tanto en nuestro país como en el extranjero; También hay avances notorios en áreas en las que se aplican conocimientos entomológicos relacionados con salud, alimentación y agricultura. Sin embargo, la Entomología Forense, en cuanto a su aplicación, es relativamente reciente y cuenta con escasa información, con una evolución lenta, limitada a esfuerzos individuales y al desarrollo de talleres, cursos y conferencias que en la mayoría de los casos poco han impactado en el desarrollo de la disciplina.

La Sociedad Mexicana de Entomología se ha constituido como un foro en donde se han presentado trabajos de investigación que contemplan aspectos básicos de esta disciplina en México, como la importancia de los insectos para establecer el tiempo de muerte (De la

Barrera-Escamilla, 1999), la sucesión de especies de artrópodos en modelos animales (Anguiano y Quiroz-Rocha, 2006; Flores et al., 2008<sup>1</sup>; Martínez et al., 2007; Stephano et al., 2006; Valdés et al. 2008), distribución, descripción y registro de especies necrófagas y necrófilas en localidades específicas (Flores et al., 2008<sup>2</sup>; Molina et al., (2006 y 2008), Quiroz et al., 2008, Vázquez et al., 2007; Villamil, 2007), ciclos de vida de especies relacionadas con la degradación cadavérica (González et al., 2006) así como la comunicación de casos de interés forense (Quintero et al., 2006), aislamiento de ADN humano a partir de larvas de dípteros (Hernández et al., 2007, Nava et al., 2008), así como aspectos de toxicología ligada a larvas de dípteros (Cortes, 2005). Además, dicha asociación, convocó al Primer Simposio Internacional de Entomología Forense desarrollado en el año 2007, coordinado por la Dra. María Teresa Quintero de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Dr. Humberto Quiroz Martínez de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con la participación de expositores extranjeros (Martha Wolff, Margherita Turchetto, Olguer Calderón y Andrea Lafisca) y ponentes nacionales como Humberto Quiroz Martínez, Georgina Quiroz, Ariadna Rodríguez Castro, Samuel Gutiérrez Rodríguez y Humberto Molina Chávez (Memorias en revisión).

Existen otras obras, en donde se ha hace una revisión de la disciplina tomando en consideración las observaciones efectuadas en los denominados "pudrideros experimentales" descritos por Marín (1978); así mismo el registro de especies de insectos asociados a cadáveres humanos (González y Labrador, 2003) y otros con enfoques retrospectivos en el país (Garduño et al., 2007).

En la actualidad la Universidad Autónoma de Nuevo León, la Universidad de Guadalajara, el Colegio de Postgraduados de la Universidad Autónoma Chapingo, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Robles y la Universidad Nacional Autónoma de México cuentan con proyectos de investigación en el campo de la Entomología Forense y colaboran con instituciones encargadas de la procuración de justicia.

Existen centros institucionales que emplean las herramientas que aporta la Entomología Forense en la resolución de casos reales, entre ellos cabe destacar a la CGSP de la PGJDF, el Servicio Médico Forense de la Ciudad de México, el Instituto Jalisciense de Ciencias Forenses y la Procuraduría General de Justicia del Estado de Coahuila. Además investigadores de diferentes instituciones académicas han colaborado o colaboran con instituciones de procuración de justicia en la resolución de casos y en la elaboración de opiniones periciales.

En cuanto a la actividad educativa, aunque no es posible establecer con claridad el número exacto de cursos o conferencias relacionadas con la disciplina, se han incluido aspectos de Entomología Forense en cursos de criminalística, criminología y ciencias forenses en general y sólo uno que ha profundizado en el tema (Taller Internacional de Entomología Forense efectuado en el año 2008, auspiciado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Robles y la Procuraduría General de Justicia del Estado de Coahuila), con la

participación de expertos de Canadá (Gail Anderson) y de USA (John R. Wallace y Jeffery K Tomberlin).

La PGJDF a través de la CGSP, han desarrollado protocolos que se dirigieron a la conformación de un Laboratorio de Entomología Forense, que proporcione la atención a ordenes ministeriales y además, en otro sentido, establezca líneas de trabajo tendientes a desarrollar el estudio de aspectos entomológicos que incrementen el conocimiento de la Entomología Forense en la Ciudad de México y que permita vincular y capacitar a más personal de las áreas periciales que se encargan del estudio criminalístico de circunstancias donde los artrópodos se asocien a la degradación de cadáveres, tales como el desarrollo de ciclos de vida bajo diferentes circunstancias ambientales, la sucesión ecológica que se establece cuando interactúan los insectos con los restos cadavéricos, así mismo generar protocolos, en conjunto con otras áreas periciales específicas de la propia coordinación, orientados a estudios de genética, toxicología y criminalística, entre otros.

## 2.4 Aplicaciones

La Entomología Forense se orienta principalmente a estimar el *intervalo postmortem*, sin embargo, si se emplea de manera adecuada el estudio de los artrópodos, durante una investigación criminalística, es posible determinar el lugar del fallecimiento, rutas de abandono, detección de drogas o venenos, causas de muerte, negligencia, trafico de drogas o bien, auxiliar en la identificación de una persona a partir de larvas de dípteros (Benecke, 2001; Hall, 2001; Nava et al, 2008; Varatharajan y Sen, 2000). Para ello el entomólogo forense participa en la identificación de los insectos y la interpretación de la información biológica de éstos, generalmente siguiendo dos enfoques: el primero consiste en la observación del desarrollo de los insectos tomando en cuenta variables ambientales, tales como temperatura, humedad y fotoperiodo, principalmente; y el segundo está representado por el reconocimiento de la sucesión predecible de artrópodos que se asocian a la descomposición de la materia orgánica, ya sea en cuerpos humanos o de animales.

Un cadáver es un recurso trófico, que de acuerdo con la etapa de descomposición y circunstancias en torno al mismo, induce una sucesión de colonizaciones con diferente composición faunística. Este proceso es dependiente casi en su totalidad de un gran cúmulo de variables como la temperatura, la humedad relativa, el tipo de vegetación, el pH del suelo, la temporada del año y las circunstancias de la muerte, por lo que en los últimos años el objetivo fundamental de la Entomología Forense se ha enfocado hacia el estudio del comportamiento de estas oleadas necrófagas con respecto a tales factores, y dirigido principalmente hacia la determinación del IPM.

De manera general los primeros organismos en colonizar un cuerpo después de la muerte, son insectos y otros grupos de pequeños artrópodos, esto no sucede al azar, en todo caso es una secuencia predecible. Durante dicha colonización, se presenta una asociación entre los insectos y los restos animales ó humanos, donde estos últimos se constituyen como una fuente de alimento, refugio o sitio de oviposición y/o viviposición. Entonces ocurren una serie de cambios drásticos y rápidos de la fauna que se encarga de descomponerlos, las especies predadoras que se alimentan de estos y en los restos se presenta una secuencia de modificaciones, que en el ámbito médico legal se reconocen como "fenómenos cadavéricos".

Estos fenómenos, se reconocen como: fenómenos cadavéricos tempranos o abióticos y fenómenos cadavéricos tardíos o mediatos (Luy y Ramírez, 1997). Los fenómenos cadavéricos tempranos o abióticos de manera general se suscitan dentro de las primeras 24 horas a partir de la muerte y en la mayoría de las ocasiones no implican alteraciones notables en la morfología macroscópica del cadáver. Estos son consecuencia de cambios de orden fisicoquímico, como la perdida de temperatura corporal (*algor mortis*), perdida de agua corporal en la superficie y mucosas expuestas, acumulación de fluidos corporales hacia las áreas declives (*livor mortis*), también llamadas livideces, o bien rigidez corporal (*rigor mortis*) como consecuencia de contractura muscular que afecta las articulaciones, y por último, el espasmo (Gisbert y Villanueva, 1994).

Los fenómenos cadavéricos tardíos o mediatos se clasifican a su vez en procesos destructores y procesos conservadores del cadáver. Los primeros derivan de la destrucción de las estructuras celulares (autolisis) de los denominados tejidos blandos y la acción de bacterias aerobias y anaerobias (putrefacción) hasta llegar a la reducción esquelética. La putrefacción es un proceso complejo, el cual se divide en distintos periodos dinámicos, cuya evolución dependerá de las circunstancias inherentes al cadáver y al ambiente que lo rodea (Bonnet, 1967; Villanueva y Concheiro, 1994; Castilla, 1994; Luy y Ramírez, 1997; Magaña, 2001). Estas fases se conocen como:

- Periodo cromático. Está determinado por la acción de bacterias aerobias y anaerobias facultativas, la mayor parte de ellas residentes en el tracto digestivo. Se inicia con una mancha verde abdominal localizada en la fosa iliaca derecha progresando hacia un color negro o café en toda la superficie corporal. De forma general se presenta a partir de las 24 horas posteriores a la muerte.
- Periodo enfisematoso. Se caracteriza por la formación y acumulación de gases que transforman la morfología corporal, ello como consecuencia de la acción de bacterias anaerobias. Su duración puede ser de varios días hasta semanas.
- <u>Periodo colicuativo o de licuefacción</u>. Es consecuencia de la desintegración bacteriana de las estructuras celulares, iniciando por los tejidos más especializados, (encéfalo, glóbulos oculares, suprarrenales) y terminando con el tejido dérmico y muscular.

 <u>Periodo de reducción esquelética</u>. Comprende distintos estadios de desintegración de los residuos de los tejidos blandos y fibrosos, hasta llegar a su pérdida total conservándose sólo los huesos.

En cuanto a los procesos considerados como conservadores, dependen de las circunstancias individuales y ambientales, lo cual puede producir conservación por deshidratación de los tejidos blandos dando lugar a la momificación, o bien a una transformación estructural o saponificación de tejidos grasos como consecuencia de ambientes húmedos, originando la denominada adipocira o saponificación. La exposición de un cadáver en sitios con hielo da lugar a la congelación. Aunque de manera artificial se practica el embalsamamiento, la conservación transitoria, la conservación con fines docentes y la refrigeración, cuando estos fenómenos se llegan a presentar, en poco o nada ayudan a una investigación en donde está involucrada la estimación del intervalo post mortem, por lo que criminalísticamente se consideran poco útiles para la estimación de este dato (Castilla, 1994).

#### 3. ACTIVIDADES DESARROLLADAS

#### 3.1 Conformación del Laboratorio de Entomología Forense en la PGJDF

En el año 2000, se iniciaron los trabajos tendientes a establecer el Laboratorio de Entomología Forense en la Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, con el objetivo de brindar apoyo técnico y científico durante la investigación Judicial y criminalística, sobre todo cuando se trata de un cadáver asociado a insectos. Hasta ese momento, el Laboratorio de Antropología Forense, era el encargado de los estudios enfocados a la identificación de restos óseos y/o de cadáveres en distintos estados de degradación o conservación y de manera recurrente, se les planteaba establecer el tiempo de muerte. Sin embargo, la falta de especialización en la identificación taxonómica y la biología de insectos y artrópodos en general, la asociación de éstos a un cuerpo se refería como una observación prácticamente anecdótica, sin el valor y utilidad que estos representan cuando se identifica de manera adecuada al organismo. Cuando era posible, se solicitaba la asesoría de biólogos para desarrollar en el laboratorio algunos especímenes entomológicos colectados en los cadáveres o sitios de hallazgo.

En el año 2003, bajo el diseño de un protocolo en el que se contemplaron diferentes requerimientos, agrupados en estrategias que se denominaron a corto, mediano y largo plazo, se forma un grupo interdisciplinario para dar viabilidad al proyecto y colaborar en investigaciones básicas que permitieran identificar y manejar especies de insectos, para que, a partir de un modelo que incluya parámetros ambientales, biológicos y criminalísticos, se cuente con una herramienta útil para establecer con mayor precisión el IPM, además de dictaminar con bases más sólidas en querellas relacionadas con delitos ambientales, económicos o de salud. Igualmente, se implementaron estrategias institucionales enfocadas a establecer vínculos con otras instituciones relacionadas con el área forense y de investigación científica. En dicho plan, se incluyen necesidades de espacio físico, materiales y de recursos humanos, junto con la vinculación con otros laboratorios de la propia institución, así como la extensión a otras instituciones académicas y periciales interesadas en el desarrollo de la Entomología Forense como disciplina pericial.

Se planteó, que dentro de las funciones del Laboratorio de Entomología Forense, se cuente con los elementos para establecer conclusiones ministeriales y judiciales en diferentes ámbitos, tanto para la estimación del IPM, como querellas civiles y ambientales a través de criterios biológicos y ecológicos generados a partir de estudios en la Ciudad de México; Por otro lado, generar modelos experimentales y líneas de investigación que permitan auxiliar en la diferenciación entre un lugar de hallazgo y uno de hechos así como las probables causas de muerte, de acuerdo con las aplicaciones y funciones de otras disciplinas forense ligadas a la investigación de este tipo.

Los resultados alcanzados al momento son: el diseño y adecuación de un área física compartida con el Laboratorio de Antropología Forense, en la que se encuentra una zona de oficina, otra de microscopía y colecciones (entomológica y osteoteca), un bioterio y zona de lavado; la elaboración de un Manual de Procedimientos Específico para la Especialidad de Entomología Forense, acorde con las políticas de la Institución; la adquisición de equipo y material, así como el diseño y fabricación de materiales de uso en bioterio; la atención de diferentes solicitudes ministeriales y la vinculación del laboratorio con otras especialidades criminalísticas de la propia CGSP, así como con la Facultad de Ciencias de la Universidad

Nacional Autónoma de México, lo cual ha permitido orientar en dos sentidos el trabajo que se desarrolla en el Laboratorio de Entomología Forense:

- A. Atención a las solicitudes ministeriales de intervención de la especialidad como tal, donde se han establecido procedimientos para:
  - a) Colecta e identificación de artrópodos relacionados durante una investigación ministerial.
  - b) Estimación del IPM.
  - c) Auxiliar en denuncias civiles que involucren especímenes entomológicos con productos alimenticios, almacenados y en general de interés económico.
  - d) Coadyuvar con otras especialidades periciales cuando se vinculen indicios entomológicos y éstos sean susceptibles de estudio en sus procedimientos de análisis o presunciones criminalísticas.
  - e) Establecer las probables rutas de traslado y/o abandono de restos humanos.
- B. Generar protocolos de investigación biológica y los procedimientos que den el sustento al quehacer de la disciplina considerando aspectos como:
  - a) Identificar las especies entomológicas asociadas al proceso de degradación cadavérica en la Ciudad de México, en distintos tiempos estacionales.
  - b) Determinar los ciclos de vida de especies entomológicas de importancia forense y el papel que desempeñan durante la sucesión ecológica que ocurre en el proceso de putrefacción.
  - c) Establecer criterios de trabajo para la identificación taxonómica de insectos o sus partes colectados como indicios criminalísticos en un lugar de hechos.
  - d) Diseñar modelos multifactoriales a partir de estudios de ciclos de vida de insectos, practicados bajo distintas condiciones ambientales y circunstancias de depósito, que permitan estimar índices forenses como el IPM.
  - e) Relacionar a los insectos con criterios criminalísticos como causa de muerte, diferenciación entre lugar de hechos y lugar de hallazgo, lesiones, negligencia, importancia económica, riesgos a la salud, rutas de tráfico de drogas, identificación de metabólitos de drogas y/o tóxicos a partir de estados inmaduros de insectos y el aislamiento de ADN humano, a partir del tracto digestivo de larvas de dípteros.
  - f) Formar una colección entomológica y un banco de datos de especies de importancia forense.
  - g) Crear un acervo bibliográfico especializado, que incluya documentos escritos y en formatos digitalizados, con el propósito de formar una base de datos de referencia para México.

# 3.1.1 Requerimientos materiales y del local.

Considerando que no se contaba con un local específico para un Laboratorio de este tipo, y que es en el Laboratorio de Antropología Forense como especialidad, donde se recibían las solicitudes para establecer el tiempo de muerte en cadáveres, se contemplaron acciones de adecuación de un espacio en dicho Laboratorio, para vincular el quehacer de ambas disciplinas, tomando en cuenta las necesidades de cada una, se plantearon requerimientos básicos de espacios y materiales para la conformación de un laboratorio de entomología, descritos en la siguiente tabla.

Cuadro 1. Requerimientos del Laboratorio.

Cuadro 1. Requerimientos del Laboratorio.						
PRODUCTO	FUNCIÓN	REQUERIMIENTO				
	Área destinada para establecer estudios					
	de ciclos de vida de insectos asociados					
	al proceso de putrefacción de cadáveres,	-lámparas U.V.				
	bajo diferentes condiciones ambientales					
	(variables); así como el desarrollo de	- 1 mesa de trabajo de 1.5 x 0.80 x 0.75 m				
	estos organismos dentro del proceso de	-15 cajas de acrílico transparente.				
	intervención pericial, en condiciones	-500 Tubos de plástico de 50 ml con tapa.				
	controladas de luminosidad.	-Viales de vidrio de 4 y 8 ml de capacidad				
		-2 Termómetros ambientales con rango de –10 a 50 °C, con				
DIOTEDIO I		hidrómetro				
BIOTERIO I SIN LUZ		-10 Termómetros para laboratorio de −20 a 150 °C				
SIN LUZ		-2 Estuches de disección completos, 2 lupas				
		-20 Charolas de plástico de diferentes tamaños				
		-2 Vernier				
		-Batas, cubre bocas, cubre botas, guantes, gorros				
		desechables, googles, mascarillas.				
		-Etiquetas, plumones indelebles, pinceles, lápices.				
		-Tubos de ensayo y gradillas.				
		-10 Hojas de unicel y 5 hieleras de unicel				
		-Recipientes de plástico de distintas capacidades.				
		-10 m de tela organza.				
	Área destinada para establecer estudios	-Área de 3.0 m X 3.0 m				
	de ciclos de vida de insectos asociados	-Extractor de aire				
	al proceso de putrefacción de cadáveres,	- 5 Estantes con entrepaños de 90 x 41 cm y postes de 2.1 m				
	bajo diferentes condiciones ambientales	-1 mesa de trabajo de 1.5 x 0.80 x 0.75 m				
	(variables); así como el desarrollo de	-15 cajas de acrílico transparente.				
	estos organismos dentro del proceso de					
	intervención pericial, en condiciones					
	estándar de luminosidad.	-2 Termómetros ambientales con rango de -10 a 50 °C, con				
		hidrómetro				
BIOTERIO II		-5 Termómetros para laboratorio de –20 a 150 °C				
AREA DE MANEJO		-2 Estuches de disección completos,-2 lupas.				
AMBIENTAL		-10 Charolas de plástico de diferentes tamaños.				
		-Alfileres entomológicos de 000, 00, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7				
		2 Vernier				
		-Batas, cubrebocas, cubrebotas, guantes, gorros				
		desechables, googles, mascarillas.				
		-Etiquetas, plumones indelebles, pinceles, lápices.				
		-Tubos de ensaye medidas de 100 x 13 mm y 2 gradillas.				
		-10 Hojas de unicel y 5 hieleras de unicel				
		-Recipientes de plástico de distintas capacidades.				
		-10 m de tela organza.				

Cuadro 1. Requerimientos del Laboratorio (Continuación).

PRODUCTO	FUNCIÓN	REQUERIMIENTO
		-Área de 4.0 m X 6.0 m
	Área destinada para lavado de	-Extractor de aire
	materiales utilizados para crecimiento	-1 Gabinete de lavado con tarja
	de especies de insectos necrófagos.	-1 Gabinete para laboratorio
		- Material de desinfección (cloro, extran, benzil, etc.)
	Área destinada para ubicar desechos	-2 Estantes con entrepaños de 90 x 41 cm y postes de 2.1 m.
AREA DE	biológico-infecciosos.	-Cubetas de plástico de 30 cm altura y 25 cm de diámetro.
SEGURIDAD		-5 Charolas de plástico de diferentes tamaños
LAVADO Y		-contenedores de desechos biológico-infecciosos.
DESINFECCION		-1 Autoclave
2201112001011		-10 escobillones medidas variadas, mango de plástico y
		metal
		-2 escurridores para secado de material de 630 x 430 mm.
		-guantes de látex medidas 7½ y 8 para lavado de material.
		-10 rollos de gasa.
		-1 rollo de franela
		-1 Congelador
		-Área de 6.0 m X 4.0 m
	Área destinada para definir e identificar	
	especies de insectos necrófagos.	-1 microscopio estereoscópico.
	Tark and amounts are amounts and amounts and amounts are amounts and amounts and amounts and amounts are amounts are amounts and amounts a	-1 Esterilizador
		-1 Refrigerador
	Área destinada para diseñar la	-Material de cristalería: probetas, pipetas, embudos, vasos
	preparación de ejemplares.	de precipitados, tubos de ensaye, matraces aforados y
		Erlenmeyer
AREA DE		-1 Gabinete para laboratorio
IDENTIFICACIÓN		-2 Estuches de disección completos-2 lupas.
TAXONOMICA		-4 sillas
		-Alfileres entomológicos de grosor 000, 00, 0, 1, 2, 3, 4, 5,
		6 y 7.
		-Campana de flujo para control de aire
		-3 soportes universales
		-Balanza analítica
		-1 Computadora con impresora
		-guantes de látex medidas 7½ y 8
		-2 Termómetros para laboratorio de -20 a 150 °C
	Análisis microscópico de ejemplares de	-Área de 2 m X 3 m
	estudio.	-1 mesa de trabajo de 1.5 x 0.80 x 0.75 m
		-2 sillas
MICDOCCODIA		-1 microscopio óptico equipado
MICROSCOPIA (*)		-1 microscopio estereoscópico.
		-1 adaptador de cámara y video
		-1 monitor
		-videograbadora
		1 1 5 W 2
<b>BODEGA DE</b>	Almacenamiento de reactivos sólidos y	-Área de 1.5 m X 3 m
SUSTANCIAS (*)	líquidos.	-3 Estantes con entrepaños de 90 x 41 cm y postes de 2.1 m.

Cuadro 1. Requerimientos del Laboratorio (Continuación).

ea de 4.5 m X 3 m
desas de trabajo de 1.5 x 0.80 x 0.75 m debinete de lavado con tarja dicrótomo de año maría de año con ultrasonido de portes universales de enciómetro digital de cristalería: probetas, pipetas, embudos, vasos precipitados, pipetas capacidad variada, matraces ados y Erlenmeyer. De de tinción de taobjetos y cubreobjetos de anza analítica de de plástico de 22 x 15 cm. lancha de secado

AREA DE HICIENE	Área	destinada	para	la	higiene	del	-Área de 2 m X 3.5 m
(*)	person	nal.					-1 Regadera, 1 W.C. y Anaqueles.

## 3.2 Estudios biológicos de dípteros

#### 3.2.1 Distribución

El planteamiento primario para los trabajos en el Laboratorio, consistió en conocer que especies de dípteros se asocian a la degradación cadavérica en la Ciudad de México, para ello se realizaron muestreos en todas las delegaciones políticas del Distrito Federal, a partir de necro-trampas diseñadas con material sintético reciclado y empleando carne de cerdo como sebo. Los resultados preliminares se presentan en el Anexo 1, que corresponde al trabajo que presente en el 2006, en el XLI Congreso Nacional de Entomología.

Con los avances de este proyecto se determinaron más especies de dípteros que se enlistan en el Cuadro 2, donde se puede observar que el número de familias y especies identificadas, aumentaron, respecto a lo referido en el trabajo del Anexo 1, esto como resultado del mayor número de colectas. A partir de ello se han utilizado otros métodos para la descripción de especies, como es microscopio electrónico de barrido, con el cual se han obtenido imágenes que se presentaron en XLIII Congreso Nacional de Entomología en el año 2008 (Anexo 2), cuyas imágenes originales, se presentan por separado, con el fin de subsanar la calidad de éstas en la impresión del escrito de las memorias del congreso.

Para la identificación taxonómica, los insectos se clasificaron por su importancia forense en correspondencia con Byrd y Castner (2001) y posteriormente mediante las claves taxonómicas de Brues et al. (1954) James (1947), Peterson (1960), Stojanovich (1969), Bland y Jacques (1978), Brindle y Smith (1978), Arnett y Jacques (1981), McAlpine (1981), Borror et al. (1989), Well et al. (1999) y Whitworth (2006).

Cuadro 2.- Especies de Dípteros asociados a la degradación cadavérica en la Ciudad de México.

<b>FAMILIA</b>	ESPECIE
Calliphoridae	Calliphora latifrons (Hough)
	Calliphora vomitoria (Linneaus)
	Lucilia cuprina (Wiedemann)
	Lucilia eximia (Wiedemann)
	Lucilia sericata (Meigen)
Muscidae	Musca domestica (Linnaeus)
	Synthesiomyia nudiseta (Wulp)
	Stomoxys calcitrans (Linnaeus)
Sarcophagidae	Sarcophaga sp.
Piophilidae	Piophila casei (Linnaeus)
Fanniidae	Fannia canicularis (Linnaeus)
Phoridae	Megacelia sp

#### 3.2.2 Emergencia diferencial en tejido animal

Como parte del protocolo diseñado para la distribución de dípteros en la Ciudad de México, durante el año 2005, con el fin de observar los tiempos de desarrollo de estos organismos, así como la sucesión que se presenta en la materia orgánica animal, las trampas se trasladaron al bioterio para observar el desarrollo de los especímenes colectados. En el bioterio se mantuvieron condiciones con promedios de 22.5°C de temperatura (14°C para la temporada de Diciembre a Febrero), humedad relativa de 50% (80% en temporada de lluvia) y fotoperiodo de 12 horas luz por 12 horas de obscuridad. Se observó que los tiempos de desarrollo presentaron diferencias sustanciales determinados a partir de la emergencia de adultos durante el ciclo anual por trimestres, así como los periodos de crecimiento larval y de pupación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Rangos en días de la emergencia de estadios adultos de dípteros en la Ciudad de México, año 2005.

Especie	Enero-Marzo	Abril-Junio	Julio-Septiembre	Octubre-Diciembre
Megacelia sp	12-16	10-12	8-10	12-14
Calliphora vomitoria	15-19	15-16	16-17	16-21
Calliphora latifrons	17-19	14-15	15-19	18-20
Lucilia sericata.	17-22	14-18	14-17	18-23
Synthesiomya nudiseta	19-22	18-19	20-22	22-25
Sarcophaga sp	23-28	20-22	20-24	25-30

Otro fenómeno que se pudo observar bajo las condiciones de este modelo, fue la sucesión de especies de dípteros y la interacción de éstos durante la degradación de la materia orgánica animal. A partir del primer día de la colocación de las trampas, se observó un patrón definido de crecimiento y desarrollo, que consiste en la emergencia de los adultos de las familias de Phoridae, durante los primeros 10 días en promedio, seguido de Calliphoridae, con los géneros *Calliphora*, *Lucilia* y *Chrysomia* alrededor de las dos semanas, para dar paso a Muscidae (*Synthesiomya*) a las tres semanas y Sarcophagidae (*Sarcophaga*) posterior a las tres semanas. Otro díptero del género *Piophila* (Piophilidae), se encontró para cuando la región superficial del tejido ya se encontraba en deshidratación.

#### 3.2.3 Ciclos de vida en condiciones de laboratorio.

Se reprodujeron ciclos de vida de dípteros con condiciones estándar de laboratorio, utilizando especies de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae, con la finalidad de observar y registrar el desarrollo y crecimiento de los organismos, tomando como parámetros la longitud, el grosor y los cambios morfológicos de las larvas; la longitud, coloración y morfología de las pupas; el tiempo de emergencia y los periodos de oviposición y/o larviposición; además se observó la morfología de los huevos. Se presentan dos líneas de desarrollo a partir de dos especies recurrentes asociadas a la degradación cadavérica en la Ciudad de México, y que de manera común se emplean como indicadores tanto en protocolos de trabajo en Laboratorio como en la estimación del IPM.

Los organismos se midieron con un calibrador vernier MITUTOYO 505-681 D15FN, mediante la observación con un microscopio estereoscópico LOMO SF-100, considerando como los extremos a la parte más distal de la región cefálica y la porción final del octavo segmento abdominal -región caudal- (Day y Wallman, 2006). Previamente, los ejemplares se fijaron mediante inmersión en agua a una temperatura de 90°C durante diez segundos, depositándolas inmediatamente en una solución de alcohol etílico al 70% para su preservación y posterior medición.

Durante el periodo de agosto a octubre del 2007, bajo condiciones de laboratorio, se desarrollaron lotes de crecimiento de las especies *Sarcophaga* sp. y *L. sericata*, con valor promedio de temperatura de 21.5°C con temperatura mínima de 14.7°C y la máxima de 25.5°C, humedad relativa de 55% con fotoperiodo de 12 horas luz. *Sarcopahaga* sp completo el ciclo desde huevo a adulto en 19.99 días (479.65 horas), considerando como la hora 1 la presencia de huevos y/o larvas sobre el tejido, la fase de larva duró 9 días y la de pupa 10 días y periodo de emergencia de adultos de 4 días (Cuadro 4 y Figura 1); En tanto que la especie *L. sericata* concluyó su ciclo en 12.6 días (302.47 horas) con 5 días para la fase de larva y casi 7 días durante la fase de pupa que concluyo a las 302.47 horas cuando se inició la emergencia de adultos que se estableció durante 5 días (Cuadro 4 y Figura 2).

Cuadro 4. Desarrollo en horas (Media ± D.E), desde la oviposición y/o larviposición hasta la emergencia de adultos de dos especies de dípteros en condiciones de Laboratorio.

Especie	Huevo	Larva	Pupa	Total
Sarcophaga sp *	$18.42 \pm 1.07$	$216.28 \pm 8.6$	$244.95 \pm 19.67$	$479.65 \pm 20.18$
Lucilia sericata	$16.75 \pm 0.09$	119.94 ± 4.8	$165.78 \pm 13.96$	$302.47 \pm 14.57$

<sup>\*</sup> La especie puede poner huevos o bien ser vivípara, ya que suele depositar larvas directamente sobre el sustrato.

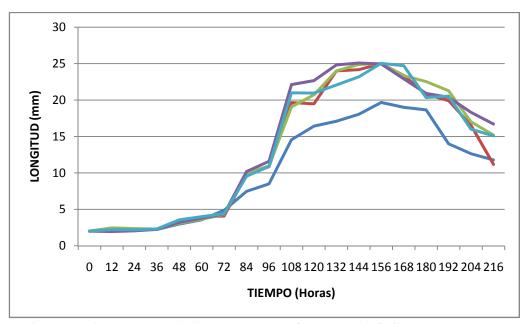


Figura 1. Tiempo de crecimiento de *Sarcophaga* sp a 22.5°C de temperatura promedio, de cinco lotes experimentales desarrollados durante los meses de Agosto a Octubre del 2007 en el Laboratorio de Entomología Forense de la CGSP-PGJDF.

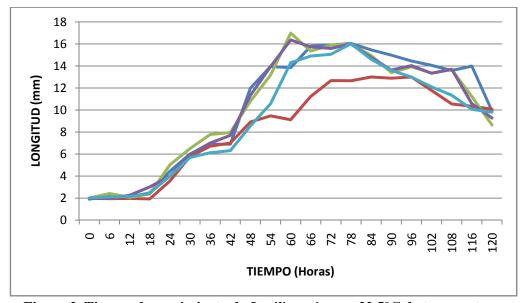


Figura 2. Tiempo de crecimiento de *Lucilia sericata* a 22.5°C de temperatura promedio, de cinco lotes experimentales desarrollados durante los meses de Agosto a Octubre del 2007 en el Laboratorio de Entomología Forense de la CGSP-PGJDF.

## 3.2.4 Ensayos de sucesión de insectos en cadáver de cerdo.

El proceso de descomposición cadavérica, es una micro sucesión en donde es posible distinguir fases de transformación y niveles tróficos, observándose artrópodos que se alimentan tanto del cadáver como de otros artrópodos. Los estudios relacionados con dípteros en este proceso, establecen que la oviposición y sus tasas de desarrollo dependen tanto de la acción de los factores abióticos como de los factores bióticos, distinguiéndose en climas templados la llegada de dípteros de la familia Sarcophagidae en cadáveres de cerdos, seguida de las familias Muscidae y Calliphoridae (Payne, 1965; Yusseff, 2007; Wolff, 2001).

En la Ciudad de México, la mayoría de los decesos en los que se asocia la presencia de insectos ocurre en el interior de las habitaciones, por lo que con la finalidad de observar las especies de insectos que participaron en la degradación cadavérica y la sucesión ecológica de especies bajo condiciones de sitios cerrados con escasa perturbación por intemperización ambiental, se han generado estudios de sucesión utilizando el modelo animal con la especie *Sus scrofa* L. en un sitio ubicado en el primer piso de un conjunto de oficinas, en el periodo comprendido de agosto a noviembre de 2007. Diariamente, en tres diferentes horarios (matutino, vespertino y nocturno), se tomaron muestras de insectos, tanto adultos durante el arribo al cuerpo, como especímenes inmaduros, junto con datos de humedad relativa, temperatura del sitio, ambiental, corporal y de las masas larvales, así como el registro de los fenómenos de transformación cadavérica, según Rodríguez y Bass (1983), crómatico, enfisematosos, colicuativo y de reducción esquelética.

Se describieron y registraron los tiempos de oviposición y larviposición en el cadáver, considerando el momento de larviposición y/o oviposición como el tiempo "cero" del desarrollo de los dípteros hasta su estado adulto. Durante el registro, se colectaron muestras de distintos estados larvales, tomando en cuenta las áreas cefálica, torácica, abdominal y región anal; los ejemplares fueron introducidos en un recipiente con agua caliente para posteriormente ser fijados en alcohol al 70% y aclarados en solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% para su identificación taxonómica. Con respecto a la fase de pupa, se establecieron patrones de pupación así como la migración de larvas dentro del sitio de depósito, midiendo la distancia que recorrieron desde el cadáver al lugar de pupación, la profundidad y los tiempos de emergencia a imago. Algunas de las pupas se preservaron en alcohol etílico al 70 % para complementar la identificación.

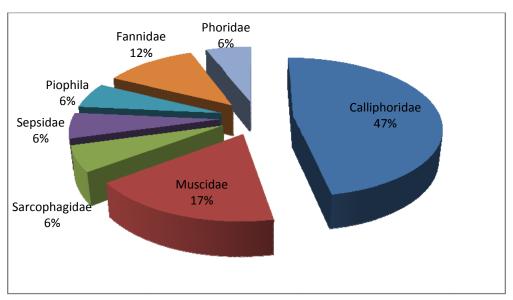
Con fundamento en los criterios de Castillo (2002), los artrópodos capturados en el cadáver del cerdo, se clasifican de acuerdo a las características biológicas y las relaciones tróficas, identificándose los siguientes grupos: 1. **Necrófagos:** principalmente las larvas de dípteros y de coleópteros que se alimentaron directamente del cadáver durante las fases primarias de descomposición cadavérica **2. Necrófilos:** aquellos que se alimentaron de los necrófagos o bien que tuvieron relación como parásitos de las larvas de los dípteros para completar su ciclo biológico, entre los que se identificaron especies pertenecientes a coleópteros de las familias Staphilinidae y otros grupos como Hymenoptera (Vespidae). **3.** 

**Saprófagos:** representados principalmente por dípteros que se presentaron en fases de putrefacción avanzada y que sus larvas se alimentaron de los desechos del cadáver principalmente de las familias Fanidae y Piophilidae. Además se incluyen los escarabajos de la familia Dermestidae y del género *Necrobia* **4. Oportunistas:** Aquellos que utilizaron el cadáver como refugio o que simplemente se les colectaron en el interior del sitio pero que en apariencia no presentaron relación alguna con los otros grupos.

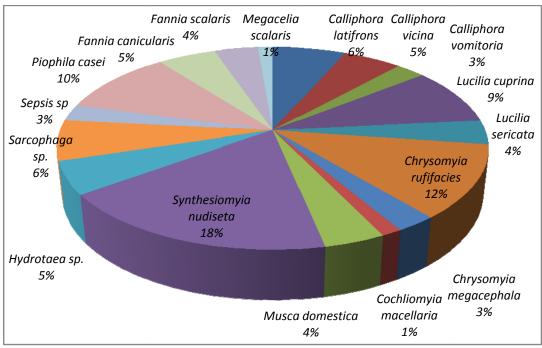
De este trabajo, se presentan algunos de los resultados, sobre todo los relacionados con dípteros, de los cuales se identificaron en las diferentes etapas de putrefacción un total de 7 familias y 17 especies, con la abundancia relativa por familia y por especie (Figuras 3 y 4).

Cuadro 5. Especies de dípteros colectados durante la degradación de un cerdo *Sus scrofa* L. en un sitio cerrado en la Ciudad de México.

FAMILIA	ESPECIE	Día de arribo
Calliphoridae	Calliphora latifrons (Hough)	2, 3, 5
	Calliphora vicina (Robineau-Desvoidy)	3, 4
	Calliphora vomitoria (Linneaus)	2, 3, 5, 6
	Lucilia cuprina (Wiedemann)	2, 3, 5,
	Lucilia sericata (Meigen)	2,3,4,5,6
	Chrysomyia rufifacies (Macquart)	2, 4, 5, 6, 7, 8
	Chrysomyia megacephala (Fabricius)	2,3
	Cochliomyia macellaria (Fabricius)	4, 5
Muscidae	Musca domestica (Linnaeus)	2, 3, 4, 6, 7
	Synthesiomyia nudiseta (Vav Der Wulp)	2, 4, 5, 6, 7, 8
	Hydrotaea sp.	5,6
Sarcophagidae	Sarcophaga sp.	4, 5
Sepsidae	Sepsis sp	2, 3
Piophilidae	Piophila casei (Linnaeus)	2, 4,5,6,7,8*
Fanniidae	Fannia canicularis (Linnaeus)	3,4,5
	Fannia scalaris (Robineau-Desvoidy)	4,7
Phoridae	Megacelia scalaris (Rondani)	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8



Gráfica 3. Abundancia relativa de dípteros de diversas familias asociados a la degradación de cerdo, en un sitio cerrado en la Ciudad de México.



Gráfica 4. Abundancia relativa de especies de dípteros, asociados a la degradación de cerdo, en sitio cerrado en la Ciudad de México.

Cuadro 6. Grupos de artrópodos asociados a la degradación de un cerdo *Sus scrofa* en un sitio cerrado en la Ciudad de México.

ORDEN	FAMILIA
Acarii	Dermanyssidae
	Microchelidae
Coleoptera	Cleridae
•	Dermestidae
	Hydrophilidae
	Histeridae
	Staphylinidae
Diptera	Calliphoridae
•	Muscidae
	Sarcophagidae
	Sepsidae
	Piophilidae
	Fanniidae
	Phoridae
Hymenoptera	Chalcididae 1
	Ichneumonidae 1

# 3.2.5 Aislamiento de ADN humano a partir de larvas de dípteros.

El análisis de ADN humano es una prueba pericial de mucha confiabilidad para la identificación de una persona, ya sea victima o agresor. Se toma como base que, durante el proceso de alimentación, las larvas de dípteros consumen tejidos del cuerpo al que se asocian y que el tejido que sirve de alimento es parcialmente digerido y almacenado en la zona anterior al intestino (buche), dicho tejido se puede extraer y aislarse para emplearlo en análisis de ADN humano, con el fin de establecer el estudio y la secuencia de ADN mitocondrial empleando marcadores STR´s que permiten establecer la identificación de un individuo cuando el cuerpo se encuentra en etapas avanzadas de la putrefacción cadavérica o hasta cuando dicho cuerpo a sido removido y no es posible localizarlo.

En ese sentido los indicios entomológicos, además de establecer el IPM, permiten identificar los restos cadavéricos utilizando métodos de biología molecular a partir del análisis del tejido humano ingerido por las larvas de insectos colonizadores de un cadáver, dado que se pueden obtener perfiles genéticos humanos susceptibles de comparación en un estudio criminalístico.

Los resultados de este estudio se pueden observar en el trabajo que se encuentra en el Anexo 3, donde se realizó la comparación de dos procedimientos de levantamiento de muestras y el tipo de tejido que sirve de nutriente para las larvas. En la Gráfica 5 se representa la eficiencia de los dos sistemas de toma, conservación y embalaje de muestra, así como el origen de tejido al que se asociaron las larvas.

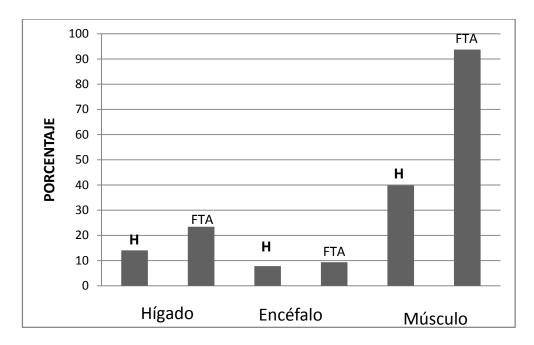


Figura 5. Porcentaje de eficiencia de identificación de DNA-Humano a partir del contenido gástrico de larvas de dípteros preservado en hisopo (H) y papel FTA (FTA).

# 3.2.6 Colección de dípteros de Importancia Forense.

A partir de las capturas mediante trampeo en diferentes sitios de la Ciudad de México, los organismos desarrollados en el bioterio y los ejemplares entomológicos colectados durante una investigación criminalística, se ha formado la Colección Entomológica de referencia del Laboratorio de Entomología Forense de la CGSP-PGJDF. Iniciando con ejemplares de dípteros y coleópteros que al momento se encuentran en fase de sistematización, para posteriormente efectuar la correlación de cada uno de las especies con colecciones de referencia para este tipo de organismos.

Se cuenta con diferentes fases de desarrollo de dípteros, preservados en seco y en soluciones fijadoras a base de etanol, así como laminillas de larvas en diferentes estados de desarrollo.

Esta colección ha servido como cotejo con los organismos recibidos en solicitudes ministeriales que se plantean durante algunas investigaciones legales, involucrados en diferentes planteamientos relacionados con causa de muerte, IPM y denuncias civiles por alteración o mala calidad de un producto de consumo humano.

# 3.3 Ejercicios de aplicaciones en la practica forense

Durante Octubre del 2004 se presentaron las primeras solicitudes formales, dirigidas al Laboratorio de Entomología Forense, a partir de esa fecha se han atendido distintos planteamientos ministeriales. Conforme han transcurrido los años se ha incrementado el número de intervenciones de la especialidad, esto permite inferir el posicionamiento del Laboratorio con respecto a los años anteriores y la utilidad que se le está dando a los dictámenes, durante una investigación criminalística.

Cuadro 7. Intervenciones periciales del Laboratorio de Entomología Forense. Periodo Octubre del 2004 al 31 de Octubre del 2009.

Año	IPM*	Asociación a degradación	Traslado	Riesgos para la salud	Productos de consumo	Total de intervenciones
2004		1		Surua	Consumo	1
2005	2					2
2006		1				1
2007	5			1		6
2008	14		2		1	17
2009	43			2		45
Total	64	2	2	4	1	72

<sup>\*</sup> Intervalo Postmortem

A continuación se reseñan tres intervenciones practicadas, esto con el fin de mostrar y ejemplificar algunos de los múltiples planteamientos que se han solicitado para la especialidad. Cabe mencionar que cuando no se encuentran elementos suficientes para emitir un dictamen, se genera un informe donde se describa el motivo por el que no se puede efectuar ningún tipo de análisis.

#### 3.3.1 Intervalo Postmortem (IPM)

La estimación del tiempo transcurrido entre la muerte y el momento del hallazgo, se considera la principal aplicación de los insectos en la resolución de problemas criminalísticos. Establecer el IPM, requiere de la identificación de los artrópodos que se asocian a los cuerpos en degradación, por lo que desde el punto de vista de la Biología, el punto crítico es la identificación taxonómica.

A partir de la identificación biológica de los organismos, es posible correlacionar las tasas de crecimiento, desarrollo y comportamiento con los fenómenos cadavéricos que se observan en los restos, para que junto con las condiciones ambientales (temperatura, humedad y exposición a la luz); las características del sitio de depósito; la ubicación geográfica; las circunstancias y causa de la muerte; así como los factores intrínsecos al cuerpo, como enfermedades, tratamientos farmacológicos, peso y edad entre otros, se puedan plantear modelos que se aproximen al momento del fallecimiento.

También es pertinente mencionar, que la información recabada durante el proceso de estudio, por mínima que parezca, siempre es necesaria, incluyendo la que se obtiene a partir de la investigación Policial y Ministerial.

El día 15 de marzo del 2006, se localizó un cuerpo sin vida. El lugar del hallazgo correspondía a un sitio abierto en una zona de suelo pedregoso de origen volcánico, con presencia vegetación del tipo de matorrales, con características de deshidratación por exposición a la intemperie, con temperaturas que fluctuaron entre 5°C y 25°C con promedios de 19.5°C para la zona en un periodo de 30 días contados en retrospectiva a partir del día y hora de la intervención criminalística para el levantamiento del cuerpo. Los signos de transformación cadavérica que presentaba el cadáver correspondieron a la fase de reducción esquelética, con presencia de ligamentos y escaso tejido blando, con señales de depredación por faunas carroñera (caninos y roedores), que provocaron la perdida y dispersión de la extremidad inferior izquierda y la mano del mismo lado, además se observó el tejido encefálico en licuefacción, con asociación de larvas y pupas de dípteros, así como adultos de escarabajos. La causa de muerte se determina a partir de las lesiones craneoencefálicas que se presentan en la región parietal derecha.

El estudio tanatológico incluyó la participación de expertos en criminalística que determinan en periodo de muerte mayor a los seis meses, en tanto que a partir de la necropsia se establece un periodo, denominado cronotanatodiagnostico, mayor a tres meses. Sin embargo el Laboratorio de Entomología Forense estimó el IPM de 18 a 20 días. Basando dicha conclusión en:

- a) La clasificación e identificación taxonómica de los insectos, como dípteros en fases de prepupa de la especie *Sarcophaga sp* y pupas de la especie *Lucilia sericata*, así como escarabajos adultos de la especie *Creophilus maxilosus* (L.).
- b) El desarrollo biológico observado en los especímenes de *L. sericata* analizados, fue de la emergencia de adultos al día 2 después de la colecta,

infiriendo que el desarrollo al momento de la colecta se encontraba entre los días 18 a 20 posteriores a la oviposición, según los datos obtenidos en el laboratorio para la época del año en que se da el hallazgo. Esta especie presenta hábitos necrófagos, alimentándose de materia orgánica en descomposición, sobre todo durante la fase larval y se cataloga como pionera en la sucesión de especies que se asocia a un cuerpo, arribando a este en lapsos de tiempo que van de minutos a horas en sitios abiertos y cuerpos con exposición de fluidos biológicos por lesiones.

- c) Los adultos de *Sacophaga sp*, emergieron 12 días posteriores a la colecta, por lo que se estima el tiempo de desarrollo entre los días 11 a 14 a partir de los datos obtenidos para estos en el laboratorio, durante los meses en que se presentó dicho caso. Esta especie, presenta hábitos semejantes a *L. sericata* y se consideran como del grupo de especies pioneras, sin embargo suelen asociarse a los restos después de los califóridos.
- d) Con respecto a la presencia de los escarabajos, éstos se asocian como depredadores o necrofililos, ya que suelen alimentarse de larvas de dípteros y no de materia orgánica en degradación y se involucran en la sucesión de especies cuando ya se han establecido colonias de larvas de dípteros.

En este ejercicio, se considera el desarrollo de *L. sericata* para establecer el criterio de temporalidad, ya que bajo el esquema de trabajo, siempre se elige a la especie que representa la mayor longevidad, en tanto que los otras dos se consideran como parte del proceso de sucesión ecológica y refuerzan la observación de dicho fenómeno y suelen ser de utilidad cuando se requieren análisis como el de identificación de ADN.

## 3.3.2 Causa de muerte.

Otra de las aplicaciones que se han contemplado en el Laboratorio, es auxiliar en la interpretación para establecer la causa de muerte, sustentando una hipótesis en la toxicidad del veneno de un escorpión que de manera común se contemplan como mascota.

En una habitación de una vivienda, sobre la cama se localizó el cadáver de un sujeto masculino de 25 años de edad, que presentaba signos tanatológicos descritos como cianosis en labios y el ápice de los dedos de las manos y pies, así como la presencia de "hongo espumoso" en la boca, que sugiere a una asfixia por bronco-aspiración como la probable causa de muerte.

La necropsia reveló edema pulmonar en región derecha, sin oclusión de vías aéreas y la presencia de pequeñas cicatrices interpretadas como producto de punciones con aguja hipodérmica. Con esos datos la investigación se centró en una asfixia de tipo tóxica por exposición a gases tóxicos o el consumo de drogas de abuso. Además se descartó una asfixia mecánica, ya que no se encontraron señales de forcejeo ni defensa en el cuerpo ni de violencia en el sitio de hallazgo.

De tal manera que, en el presente caso, se solicitó la intervención de especialistas en química forense para que desarrollaran protocolos de trabajo tendientes a establecer la presencia de gases tóxicos en la habitación, el domicilio en general así como en diferentes muestras biológicas del cuerpo del occiso, obteniéndose en todos los casos resultados negativos, así mismo se practicaron análisis para detectar sustancias de abuso en el cadáver, obteniéndose resultados negativos. Otras especialidades periciales como arquitectura y de instalaciones hidrosanitarias, reportan a la vivienda y sus instalaciones como seguras y sin alteraciones con respecto a probables fugas de combustibles domésticos.

Durante las inspecciones ministeriales efectuadas en el sitio, se localizó un par de escorpiones, que se confirmaron como propiedad del occiso y según referencias de una persona entrevistada, constantemente los manipulaba sin ninguna protección ni precaución provocándole picaduras en múltiples ocasiones.

Los resultados negativos de los análisis desarrollados hasta esta parte, descartaron a las drogas de abuso, los gases tóxicos y venenos como arsénico, cianuro, pesticidas, ácidos y álcalis en general; por lo que no era posible establecer la causa de muerte, ni se explicaba el edema pulmonar asociado a la cianosis que se presentó en el cadáver.

En el Laboratorio de Entomología Forense, se recibe una solicitud ministerial que plantea la identificación taxonómica de los organismos (escorpiones) y establecer si son venenosos. Como resultado del estudio entomológico se establece que estos corresponden a la especie *Pandinus imperator* (Koch 1841), conocida como "escorpión emperador" que tiene distribución restringida al Continente africano, y es ampliamente comercializada como mascota exótica en diversos países, incluido México, indicando que es inofensiva para la salud humana. Sin embargo, al igual que todos los escorpiones posee un veneno potencialmente peligroso, que llega a paralizar y causar la muerte de otros artrópodos y pequeños mamíferos.

En estudios donde se ha empleado el veneno de esta especie, se registra la presencia de un grupo de sustancias toxicas, entre las que se encuentran unas denominadas como "Imperatotoxinas i" o lpTx<sub>i</sub> y la "Imperatotoxina a" o lpTx<sub>a</sub>, las cuales contienen una enzima llamada fosfolipasa 2 o PLA<sub>2</sub>, que forman un complejo toxico que se asocia con la alteración del transporte celular por el bloqueo de receptores neuronales de la rianodina en los canales de calcio en el musculo esquelético, provoca lisis de lípidos, sobre todo en concentraciones elevadas, constituyéndose como un tipo de neurotóxicas que inhiben la liberación de neurotransmisores como la acetilcolina, además de que las fosfolipasas degradan los fosofolípidos, sobreviniendo la muerte celular por bloqueo de la respiración. También se ha podido establecer que durante la administración crónica de este complejo tóxico, es decir la administración recurrente de pequeñas dosis, aun cuando no se aprecian síntomas tóxicos o bien desaparecen gradualmente, el nivel de inhibición de colinesterasa persiste con valores elevados. Los síntomas provocados por la acción de neurotóxinas, incluyen a todos aquellos relacionados con la hiperactividad del sistema nervioso parasimpático junto con contracciones involuntarias del musculo esquelético, pudiéndose presentar la muerte por edema pulmonar o bien por depresión del centro respiratorio (bulbo raquídeo).

Lo anterior llevó a establecer que, aunque los ejemplares de la especie *Pandinus imperator* se consideran inofensivos para el humano, el contacto frecuente con las toxinas del escorpión emperador puede llevar a la alteración de la respiración debido a la presencia de neurotóxinas fosolipasas, involucradas en el bloqueo de receptores neuronales que regulan el proceso de respiración celular.

# 3.3.3 Estructuras de insectos en productos de consumo humano.

Otra problemática de trabajo que se planteó, consistió en la clasificación e identificación de insectos o sus partes en productos alimenticios, y el riesgo para la salud por el consumo que puede presentar la presencia de éstos.

Un consumidor realizó una denuncia a partir de la presencia de estructuras obscuras en una fritura de maíz de una marca de prestigio, por lo que en atención a lo anterior se planteó al Laboratorio de Entomología Forense, identificar dichas estructuras y el riesgo a la salud que éstas presentan. Durante el desarrollo se pudo establecer que estas estructuras correspondían a exoesqueletos de regiones abdominales, torácicas y cefálicas de dípteros, se pudo inferir que se adicionaron a las frituras durante el proceso de cocción, dado que se incrustaron en la golosina y se impregnaron de grasa en su totalidad.

Dado el daño que presentaban por la exposición al calor, únicamente se pudo establecer que los especímenes encontrados corresponden a la familia Muscidae, además se informó que no presentaban riesgos para salud por el consumo. Sin embargo la indagatoria ministerial siguió su curso en el sentido del incumplimiento de la calidad y las normas que deben presentar este tipo de productos.

# 4. EVALUACION CRÍTICA.

En México, la Entomología Forense, entendiéndola como una rama del quehacer de la Biología, se encuentra en sus inicios, a pesar de que en otros países ya es parte del desarrollo científico, generándose múltiples trabajos que demuestran la utilidad, tanto en la generación de nuevo conocimiento como en la parte de aplicación. De ahí que se puede considerar como una disciplina emergente tanto en la investigación científica en Biología, como en el campo pericial o forense. Son escasos los lugares y grupos de investigación que han abordado algunos aspectos, centrándose en faunística, sucesiones y desarrollo de dípteros.

Se debe destacar el apoyo decidido que se le ha brindado a la conformación del Laboratorio de Entomología Forense en la CGSP de la PGJDF, que debe valorarse en su justa medida, ya que se constituye como uno de los primeros de su tipo en las instituciones de procuración de justicia en México, y conforme transcurre el tiempo, se valora más la utilidad de los estudios y conclusiones que formula, de tal manera que el número de dictámenes que emite se han acrecentado exponencialmente desde el momento del inicio de labores, sobre todo trabajando en conjunto con especialidades como criminalística, antropología, genética y química, que han dado pauta a la mayor credibilidad tanto a nivel directivo como ante la Institución del Ministerio Público. A la par, se han desarrollado aspectos fundamentales en el conocimiento de las especies que se asocian a la degradación de cadáveres en la Ciudad de México y su utilidad durante una investigación criminalística, datos que se han podido llevar a foros científicos y de intercambio de opiniones con el fin de acrecentar el acervo documental y de referencia. Uno de los logros que permite establecer los alcances de esta disciplina, debe ser la participación en el Simposio Latinoamérica de Entomología Forense auspiciado por la Sociedad Mexicana de Entomología, y donde la PGJDF fue la única institución representada por peritos de esta especialidad.

Al establecer un parámetro de comparación, se debe destacar que se han empleado materiales y equipos de reciclaje, rehúso y reutilizados, que en determinado momento se consideraban como desechos en otras áreas o bien ya eran basura por ser material desechable. Sin embargo, esto no demerita el quehacer de la disciplina, en todo caso establece que se puede desarrollar sin que generen gastos onerosos para las instituciones y si constituye una alternativa de análisis criminalístico con un sólido sustento científico.

Además de las tres líneas básicas en las que se centran los proyectos de investigación llevados a cabo en nuestro país, existen otras de gran utilidad durante las investigaciones policiales y/o judiciales, que ya se desarrollan en otros países, tales como toxicología, aislamiento de ADN humano, comportamiento, efecto de diversas variables, etc., de las que todavía no se han realizado estudios en profundidad. Por lo que, falta mucho por realizar, tanto de los temas ya tratados, como de las zonas geográficas para contar con el acervo propio con datos que se acerquen a nuestras propias condiciones y no se tenga que recurrir a datos de otros países para la resolución de casos, con las implicaciones negativas que ello conlleva. Es necesario promover trabajos de ecología, biología, estudios faunísticos y taxonomía de los grupos de insectos de interés forense de nuestra región, sobre todo para la adecuada aplicación de esta disciplina.

Respecto a la formación en Entomología Forense, ésta es prácticamente nula, ya que son escasos los programas de estudio que la incluyen en su temario, y los que sí lo hacen profundizan poco y no se vinculan de manera directa con los programas de Biología. Cabe destacar el reciente Taller Internacional de Entomología Forense, fruto de un convenio entre la

Procuraduría General de Justicia del Estado de Coahuila y la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro del mismo Estado, desarrollado en octubre del 2008. En este sentido, una institución como la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Autónoma de México, que cuenta con programas bien definidos en el desarrollo e innovación de los múltiples campos de la Biología, podría incluir a la disciplina en su plan curricular.

Por otro lado, en fechas recientes ha aumentado el interés popular por la Entomología Forense, quizá en gran medida por la aparición de series televisivas, lo cual tiene el aspecto positivo al dar a conocer la importancia y utilidad de ésta y otras disciplinas en las investigaciones criminalísticas. Sin embargo, esto ha generado la intrusión de personas sin la formación biológica necesaria y, aún más, sin escrúpulos, que se han encargado de difundir de manera errónea el campo de estudio de la Entomología Forense y además han generado protocolos de trabajo sin fundamentos que terminan en la publicación de datos de dudosa fiabilidad.

En todo caso, como es una disciplina reciente, existen diversos planteamientos que se deben contemplar en las áreas de investigación que se incluyen en esta disciplina, desde aspectos propios de la formación y educación hasta la consolidación de grupos de trabajo en las diferentes entidades académicas y de investigación científica de nuestro país.

# 5. BIBLIOGRAFÍA.

- Anderson G. S. y V. J. Servenka. 2002. Insects associated with the Body: Their Use And Analysis. En: Advances In Forensic Taphonomy: Method Theory And Archaeological Perspectives. Haglund W. D. Y Sorg N. H., Edit. Crc Press. U.S.A. 115-135 pp.
- Anguiano S. M. E. y G. A. Quiroz R. 2006. Sucesión de insectos en lechón (Artiodactyla: Suidae) en bosque de pino-encino de Mascota, Jalisco. <u>Entomología Mexicana</u> 5(2): 1158-1162.
- Arnet, H.R. y L.R. Jacques 1981. Guide to insects. Simon and Shuster. New York 512 pp.
- Baumgartner, D.L. y B. Greenberg. 1985. Distribution and medical ecology of the Blow flies (Diptera: Calliphoridae) of Peru. Ann. Entomol. Soc. Am. 78: 565-587 (1985).
- Benecke M. 2001. A brief history of forensic entomology. <u>Forensic Science International</u> 120: 2-14.
- Benecke M. 2004. Forensic entomology: Arthropods and corpses. En: Forensic pathology Reviews Vol. II, Tsokos M Edit. Humana Press, U.S.A. 207-240 pp.
- Bland, R.G. y H.E. Jacques. 1978. How to know the insects. W.C. Brown Company Publishers, Iowa. 409 pp.
- Boletín Mensual de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal 2009. Enero a Septiembre.
- Bonnet E. F. P. 1967. Medicina legal. López Libreros Editores. Argentina.
- Bornemissza, G.F. 1957. An analysis of arthropods succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. Australian Journal of Zoology 5:1-12.
- Borror, D.J.; C.A. Triplehorn y N.F. Johnson. 1989. An introduction to the study of insects. Broks Cole. United States- 875 pp.
- Brindle, A y K.G. Smith. 1978. The immature Stages of Flies. En: A dipterist's handbook. The Amateur Entomologist's Society. Stubbs, A. y P. Chandler Ed. Londres
- Brues, C.H.; A. L Melander y F.M. Carpenter. 1954. Classification of Insects. Bulletin of the Museum Comparative Zoology at Harvard College. Cambridge, Mass., USA. Vol. 108 913 pp.
- Byrd, J.H. y J.L. Castner. 2001. Insects of forensic importance. En: Forensic entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd J. H., Castner J. L (Eds) CRC Press. 43-79 pp.

- Calderón-Arguedas, O.; A. Troyo y M.E. Solano. 2005. Cuantificación de formas larvales de *Synthesiomyia nudiseta* (Diptera: Muscidae) como un criterio en el análisis del intervalo postmortem. <u>Parasitología Latinoamericana</u> 60: 138-143.
- Castilla G., 1994. Procesos conservadores del cadáver. En Medicina Legal y Toxicología Ed. Gisbert C., J.A. Masson-Salvat España, 172-180 pp.
- Castillo M., M. 2002. Estudio de la entomofauna asociada a cadáveres en el Alto Aragón (España). Monografía de la Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA) vol. 6, 94 pp.
- Castner J.L. 2001. General Entomology and Arthropod Biology. En: Forensic Entomology. The utility of Arthropods in legal investigations. Editado por Byrd JH, Castner JL. CRC Press. LLC. Estados Unidos de Norteamérica. 2001. pp. 1-17
- Catts E.P. 1992. Problems in estimating the postmortem interval in death investigations. Journal of Agricultural Entomology 4: 245-255.
- Centeno, N. 2000. La Entomología Forense: aplicaciones, fundamentos y algunos datos sobre la Argentina. Boletín de la Sociedad Entomológica Argentina 16(2): 9-11.
- Centeno, N.; M. Maldonado y A. Oliva. 2002. Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires province (Argentina). <u>Forensic Science International</u> 126: 63-70.
- Corbella C., J. 1994. Historia de la medicina legal. EN: Medicina Legal y Toxicología. Editor Gisbert C. J. A. Masson-Salvat España 8-12 pp.
- Cortes C., A.G. 2005. Determinación de metabólitos de cocaína y diacepam en larvas de dípteros, alimentadas con cadáveres de ratas a las cuales se les suministró la droga. Entomología Mexicana 4: 825-828.
- Day, D.M. y J. F. Wallman. 2006. Width as an alternative measurement to length for post-mortem interval estimations using *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. Forensic Science International 159: 158-167.
- Daza, M. y S. Z. Yusseff. 2003. Caracterización de la entomofauna asociada a la descomposición cadavérica empleando como biomodelo el cerdo (Sus scrofa) en el municipio de Tunja. Tesis Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Colombia.
- De la Barrera-Escamilla, D. 1999. Insectos degradadores importantes para el establecimiento del tiempo de muerte en vertebrados. Resúmenes XXXIV Congreso Nacional de Entomología, SME, pp. 613-619.

- Flores P., L.R.; H. Sánchez A.; S. Ibáñez-B. y M.D. García-G. 2008. Insectos sarcosaprofagos asociados a la descomposición cadavérica de *Sus scrofa*. En Texcoco, México. Entomología Mexicana 7: 764-768.
- Flores P., L.R.; H. Sánchez A.; S. Ibáñez-B. y M.D. García-G. 2008. Lucilia eximia (Wiedemann) (DIPTERA:CALLIPHORIDAE) en *Sus scrofa* en Texcoco, México. Entomología Mexicana 7: 769-774.
- Garduño S., V.; J.A. Luy Q; M. Nava H. y H.A. Molina Ch. 2007. Testigos silenciosos: Los insectos en la investigación criminalística. <u>Policía Internacional</u> 129: 8-11.
- Gisbert C., J. A. y C. E. Villanueva. 1994. Procesos destructores del cadáver. EN: Medicina Legal y Toxicología. Editor Gisbert C. J. A. Masson-Salvat España 159-171 pp.
- Gomes, L. y C. J. Von Zuben. 2006. Forensic entomology and main challenges in Brazil. Neotropical Entomology 35(1): 1-11.
- Gómez G, A; D. Martín V.; C. Botías T.; A. Baz R. y L.M. Díaz A. 2007. La Entomología Forense en España: pasado, presente y perspectivas de futuro. <u>Cuadernos de Medicina</u> Forense 13(47): 21-32.
- González E., D. y G. Labrador Ch. 2003. Insectos relacionados con cadáveres humanos. Revista Jalisciense de Ciencias Forenses 1(4): 40-46
- González G, I.; C. Rodríguez A., H. Quiroz M. 2006. Observaciones sobre el crecimiento de *Sarcophaga haemorroidialis* (Fallen) (Diptera Sarcophagidae), insecto de importancia forense. Entomología Mexicana 5(1): 387-390.
- Greenberg B. y J. C. Kunich. 2002. Entomology and the law: flies as forensic indicators. Cambridge University Press. 306 pp.
- Guarín, E. G. 2005. Insectos de Importancia Forense Asociados a la Descomposición Cadavérica del Cerdo *Sus domesticus*, Expuesto a sol, sombra total y sombra parcial, en Mayagüez, Puerto Rico. Tesis M. S. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, P.R.
- Hall R. D. 2001. Perceptions and status of Forensic Entomology. In. Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd J. H., Castner J. L (Eds) CRC Press. 1-15 pp.
- Hernández C., R.; J.R. Delgado Ch.; M de L. Chávez B.; P. Díaz T. y M. Garza y G. 2007. Tipificación de ADN humano de larvas de moscas en un cuerpo en descomposición en Nuevo León, México. Entomología Mexicana 6(2): 851-855.

- James, M.T. 1947. The flies that cause myiasis in man. United States Department of Agriculture. Miscelaneus Publication. 631: 1-175
- Jirón, L.F.; L.G. Vargas y E. Vargas A. 1983. Four muscoid flies (Sarcophagidae and Muscidae) associated with human cadavers in Costa Rica. Brenesia 21: 3-5.
- Leclercq, J y Leclercq, M. 1948. Données bionomiques pour Calliphora erythrocephala Meigen et cas d'application á la medicine legale. <u>Bulletin de la Société Entomologique</u> de France 53: 101-103.
- Leclercq, M. 1975. Entomologie et médecine légale. Etude des insectes et acariens nécrophages pour determiner la date de la mort. Spectrum 17(6): 1-7.
- Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. 1999.
- Luy Q., J. A. y M. Ramírez G. 1997. Cuerpo y mente ante la muerte violenta. En: El cuerpo humano y su tratamiento mortuorio (Eds.) Malvido E., Gregory-Pereyra y Tiesler V. Instituto Nacional de Antropología e Historia/Centro Francés de Estudios Mexicanos y Centroamericanos. pp.67-76.
- Magaña, C. 2001. Entomología Forense y su aplicación a la Medicina Legal. Data de la muerte. Boletín de la S. E. A. Volumen 28: 49 Zaragoza España.
- Manual de Organización Específico de la Coordinación General de Servicios periciales. 2002.
- Manual de Organización General de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. 2006.
- Marín E. R. 1978. La Fauna y la Flora de los Cadáveres. Editorial Costa Amic. México.
- Martínez, R. H.; R.J. Escoto y F. Tafoya. 2007. Sucesión de insectos necrófagos en *Sus scrofa*, durante el periodo estacional de primavera en la ciudad de Aguascalientes. Entomología Mexicana 6(2): 880-884.
- Mavárez-Cardozo C., M.G.; A.I. Espina de F.; F.A. Barrios F. y J.L. Ferreira P. 2005. La Entomología Forense y el neotrópico. <u>Cuadernos de Medicina Forense</u> 11(39): 23-33.
- McKnight, B.E. 1981. The washing away of wrongs: Forensic Medicine in Thirteenth-Century China. Press University of Michigan 181 pp
- Molina Ch., H.; J.A. Luy Q.; L. M. Nava H. y N.E. Galindo M. 2006. Datos preliminares de la captura de dípteros relacionados con el proceso de descomposición cadavérica en la Cd. de México. Entomología Mexicana 5(2): 925-930.

- Molina Ch., H.A.; L. M. Nava H.; S.I. Gutiérrez R.; J.A. Luy Q.; y N.E. Galindo M. 2006. Contribución a la identificación de *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (DIPTERA:CALLIPHORIDAE), díptero de interés forense. Entomología Mexicana 7: 779-783.
- Nava H., M.; A. Basurto P.; H.A. Molina Ch.; J.A. Luy Q.; S.I. Gutiérrez R y N.E. Galindo M. 2008. Determinación de ADN humano en larvas de dípteros colectadas en distintos tejidos. Entomología Mexicana 7: 798-802.
- Oliva A. 2001. Insects of forensic significance in Argentina. <u>Forensic Science International</u> 120: 145-154
- Oliveira J. C. y P. C. Mello 2004. Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. <u>Indian Journals of Forensic Medicine and Toxicology</u> 5(1): 40-44.
- Payne, J. 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus. <u>Ecology</u> 46: 592-602.
- Peterson, A. 1960. Larvae of Insects. An introduction to neartic species, Vol. II. Eduard Roders, Inc., and Harvor Columbus Ohio.
- Quintero M., M. T., A. Eleno V.; G. Juárez V.; S. Marmolejo y J. Flores. 2006. Comunicación de algunos casos que competen a la Entomología Forense. Entomología Mexicana. 5(2): 904-907.
- Quiroz M., H.; A. Rodríguez C.; E. Meléndez L. y E. Alanís R. 2008. Insectos necrófagos en el bosque del Parque Ecológico Chipinque. <u>Entomología Mexicana</u> 7: 735-738.
- Reglamento de la Ley Orgánica de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. 1999.
- Rodríguez W.C. y W.M. Bass. 1983. Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in East Tennessee. <u>Journal Forensic Science</u> 28: 423-432.
- Smith, K. G. V. 1986. A manual of forensic entomology. Cornell University Press. New York, U.S.A., 205 pp.
- Stephano V., D. I; R. Vázquez S.; H. Quiroz M., A. Rodríguez C.; A. Flores M.; M.C. Hernández. 2006 Entomología Forense y su relación con la criminalística en un estudio de sucesión de insectos necrófagos en el área metropolitana de Monterrey. Entomología Mexicana 5(1): 381-386.

- Stojanovich, C.J.; H.D. Pratt y E.E. Bennington. 1969. Fly larvae: keys to some species of public health importance. IN Pictorials keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance. Public Health Service Publication No. 1955. Washington D.C. U.S.A. 192 pp.
- Valdés P., M.T.; F.J. Sánchez R.; S. Rodríguez H. y G. S. Anderson. 2008. Artrópodos de importancia forense sobre carroña de cerdo en el semidesierto de Coahuila, México. Entomología Mexicana 7: 692-697.
- Varatharajan R y A. Sen. 2000. Role of entomology in forensic sciences. <u>Current Science</u> 78(5): 544-546.
- Vázquez S., R.; D. Stephano V.; C.H. Marín H.; H. Quiroz M.; A. Rodríguez C; J.A. Flores M. y P. Díaz T. 2007. Dipteros necrófagos del estado de Nuevo León, México Entomología Mexicana 6(2): 885-888.
- Wells, J.D.,. Byrd, J.H y Tantawi, T.I. 1999. Key to third-instar Chrysominae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. Journal of Medical Entomology 36(5): 638-641pp.
- Villanueva C. E. y L. Concheiro C. 1994. Problemas tanatológicos medico-legales. EN Medicina Legal y toxicología. Editor Gisbert C. J. A. Masson-Salvat España 181-197 pp.
- Villamil R., E.D.; N.E. Galindo M. y J.L. Navarrete H. 2007. Caracterización de la coleopterofauna asociada a cadáveres de *Mus musculus* L. en la reserva ecológica del pedregal de San Ángel, México. Entomología Mexicana 6(2): 860-865.
- Whitworth T. 2006. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of America North of México. Proceedings of the Entomological Society of Washington. 108 (3): 689-725pp.
- Wolff, M.; A. Uribe; A. Ortiz y P. Duque. 2001. A preliminary study of forensic entomology in Medellin, Colombia. <u>Forensic Science International</u> 120: 53-59.
- Yusseff, V. S. Z. 2007. Efectos de la temperatura sobre el desarrollo de *Chrysomya rufifacies* y *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae), dos especies importantes para la Entomología Forense en Puerto Rico. Tesis Maestría. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez.

## ANEXO A-1

## TRABAJO PRESENTADO EN EL XLI CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA.

## DATOS PRELIMINARES DE LA CAPTURA DE DIPTEROS RELACIONADOS CON EL PROCESO DE DESCOMPOSICIÓN CADAVÉRICA EN LA CD. DE MÉXICO

Preliminary data of Dipterae related with decomposition corpse, colecting in Mexico City.

Humberto A. Molina-Chávez <sup>1</sup>, Jesús Agustín Luy-Quijada <sup>1</sup>, Manuel Nava-Hernández <sup>1</sup> y Nora E. Galindo-Miranda <sup>2</sup>. <sup>1</sup> Laboratorio de Antropología Forense, Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal. Av. Coyoacan 1635, Colonia Del Valle, Ciudad de México, D.F., México C.P. 03100, moytz@podernet.com.mx <sup>2</sup> Laboratorio de Morfofisiología Animal, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior s/n, Cd. Universitaria, C.P. 04510, noragalindom@yahoo.com

Palabras clave: Descomposición cadavérica, Dípteros, Entomología Forense, Intervalo Postmortem (IPM).

#### Introducción

Los Dípteros, tienen gran importancia ecológica, ya que pueden explotar diferentes fuentes nutricionales, dependiendo de la fase de desarrollo. En la naturaleza, es común encontrar que ejemplares de la misma especie, en distintos estados de desarrollo, tengan también diferentes hábitos nutricionales, de tal manera que mientras los adultos son omnívoros, durante la fase larvaria presentan una conducta necrófaga, por lo cual se consideran recicladores de materia orgánica en estado de descomposición, al realizar la remoción de los restos de plantas y animales del ambiente (Anderson y Servenka, 2001).

A través de estudios de observación directa y experimentales, de manera general se ha establecido, que el arribo de los insectos a un cadáver, no es al azar, si no que se da en una secuencia predecible. Cualquier cadáver, incluido el del hombre, constituye un microhábitat muy atractivo para diversos organismos, formándose verdaderas cadenas tróficas, que dependerán de los recursos existentes, el estado de descomposición cadavérica, la manera y causa de muerte, así como las características geográficas y ecológicos del sitio en donde se encuentra el cadáver, entre otros (Anderson y Servenka, 2001; Villanueva y Concheiro, 1994).

Considerando los factores mencionados y bajo modelos integrales, las investigaciones en el campo de la disciplina denominada Entomología Forense, en la actualidad se dirigen principalmente a estimar el tiempo que ha transcurrido desde ocurrida la muerte hasta el momento en que se efectúa el hallazgo de un cadáver o Intervalo Postmortem (IPM). Aunque la aplicación de esta se extiende a lo largo de muchas aristas para dar solución a diversas interrogantes en la investigación criminalística y médico-legal (Deloya, 1997; Bass, 1997; Magaña, 2001).

Se conoce que los dípteros se encuentran entre los primeros insectos que arriban a un cadáver, desde los inicios de la descomposición de éste, identificándose especimenes de por lo menos 10 familias, entre las que se encuentran las siguientes: Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, Piophilidae, Scathophagidae, Sepsidae, Sphaeroceridae, Stratiomydae, Phoridae, y Psychodidae (Anderson, 2001; Byrd y Castner, 2001; Deloya, 1997).

Por ello, el presente trabajo tiene como propósito conocer la distribución de las familias y especies de dipteros relacionados con las fases tempranas de la degradación cadavérica en la Ciudad de México, con la finalidad de sentar bases para establecer algunos parámetros de utilidad forense.

#### Materiales v Métodos

Considerando la ubicación geográfica, la Ciudad de México se divide en cinco conas, de la siguiente manera: Norte (Delegaciones Azcapotzalco y Gustavo A. Madero); Sur (Delegaciones Coyoacán, Magdalena Contreras, Milpa Alta, Tlalpan y Xochimilco), Oriente (Delegaciones Iztacalco, Iztapalapa y Tláhuac), Poniente (Delegaciones Álvaro Obregón, Cuajimalpa y Miguel Hidalgo) y Central (Delegaciones Benito Juárez, Cuauhtémoc y Venustiano Carranza).

En este trabajo, se presentan los datos preliminares obtenidos a partir de cinco trampeos llevados a cabo a lo largo de un año en seis sitios de las delegaciones: Azcapotzalco, Gustavo A. Madero, Milpa Alta, Iztapalapa, Álvaro Obregón y Benito Juárez

En cada sitio de colecta, se instaló una trampa aérea elaborada con contenedores de polietileno transparentes de 30 X 15 X 12 cm, previamente lavados con detergente comercial. En su diseño se considera una abertura lateral de entrada/salida de 10 cm de largo por 9 cm de ancho, orificios de 2 mm para drenado ubicados en la parte inferior y una asa de sujeción en la parte superior. A manera de sustrato, se depositó previa esterilización, primero una capa de arena de 2 cm y sobre ella una capa de tierra de 5 cm en promedio. Como cebo, se emplean fragmentos de carne de cerdo (Sus scrofa) con etigido graso de 150-200 g, para que sirva de atrayente y proporcione un medio de depósito de huevos y/o larvas, ya que la intención es inducir la oviposición y/o la viviposición de los dipteros adultos y no su captura. Estas trampas, permanecen en el sitio durante cinco días a una distancia colocados mayor o igual a 5 m sobre el nivel del piso, con la finalidad de limitar el acceso a personas y animales domésticos.

Después del periodo de permanencia en el sitio, las trampas se trasladan al laboratorio, en donde los especimenes capturados completan su ciclo metamórfico hasta que alcanzan la madurez sexual. Para ello, las trampas se depositan en un gabinete de reproducción, fabricado con poliuretano de alta densidad (unicel) y una puerta frontal de plástico transparente, sin control de temperatura, humedad ni foto-período. Durante toda esta fase, se lleva a cabo un monitoreo, a fin de llevar el registro diario de la temperatura y humedad relativa que se presenta en el interior del gabinete, así como de cada uno de las fases desarrollo en función de los días transcurridos. Asimismo, se efectúan observaciones relacionadas con ciclos de vida, como lo es la cuantificación cronológica por días, para las fases de larva, pupa y la emergencia de adultos.

Se practica una clasificación preliminar, con el fin de establecer morfoespecies. Para ello se consideran la morfología en las fases de larva, pupa y adulto, junto con los días de emergencia y el comportamiento. Posteriormente se efectúa la identificación taxonómica de individuos en distintas fases de desarrollo, empleando claves generales y específicas para familias de dipteros en las fases de larva y adulto principalmente (Brues y cols., 1954; Peterson, 1960; Bland y Jacques, 1978; U.S. D.H.E.W., 1969; Brindle y Smith, 1978). En cada una de las trampas, primero de manera aleatoria se seleccionan larvas y posteriormente otros individuos en fase adulta y los resultados obtenidos en ambos casos se correlacionan entre sí y se cuantifica la cantidad de individuos por morfoespecie en cada trampa.

#### --- Itados

Utilizando trampas aéreas se capturaron especimenes de dípteros, de los cuales han diferenciado seis morfoespecies de Géneros pertenecientes a cuatro Familias las cuales se reportan en la Tabla 1.

Tabla 1. Morfoespecies de dípteros capturadas mediante trampas aéreas ubicadas en seis diferentes sitios de la Cd. de México. Los símbolos indican los sitios de colecta.

Morfoespecie	Familia	Género	Centro	Norte 1 (GAM)	Norte 2 (AZC)	Sur	Oriente	Poniente
122	Muscidae	Musca	0	0	0	0	0	0
2		Synthesiomya	Ó	Ó	Ó	Ó	Ó	Ó
3	Calliphoridae	Phaenicia	0	0	0	0	0	Ó
4		Calliphora	0	0	0	0	Ó	0
5	Sarcophagidae	Sarcophaga	0	O	Ó	Ó	O	Ó
6	Phoridae	Megacelia	Ó	1000	100		Ó	Ó

Considerando los cinco muestreos, se efectuaron conteos de los especimenes colectados en cada trampa y así se obtuvo una densidad poblacional promedio, para cada una de las seis morfoespecies establecidas (Figura 1).

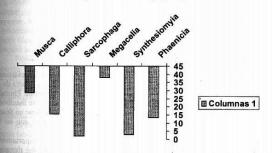


Figura 1. Densidad poblacional promedio de las morfoespecies colectadas en seis sitios de la Cd. de México.

Durante la etapa de trampeo, se observó que la descomposición del cebo, está determinada por las condiciones ambientales prevalecientes alrededor de la trampa, y por las circunstancias climáticas de los días en que ésta permaneció en el sitio de colecta. Esta a su vez impacta sobre el comportamiento de los dípteros que se acercan al dispositivo para depositar huevos o larvas. Así, en aquellos sitios en donde la incidencia de la luz solar era mayor sobre la carne, no se presentaron puestas de huevos ni larvas. Por otro lado, en aquellos sitios con poca incidencia de luz y calor por el sol, se detectó mayor concentración de huevos y larvas.

Entre los adultos que arribaron a la trampa, algunos de ellos depositaron larvas vivas en vez de huevos, las cuales inmediatamente buscaron un lugar alejado de la luz para proseguir su desarrollo. Estos especimenes fueron clasificados como la morfoespecie Sarcophaga.

926

De acuerdo a las características organolépticas (olor, color y consistencia) valoradas en De actato a la catacteristica organicamento de su colocación en campo, hasta su depósito en el gabinete de reproducción en el laboratorio, presentan similitud con las fases de en el gabinete de reproducción en el laboratorio, presentan similitud con las fases de cambios cadavéricos que va del estado fresco al hinchado, también conocida como periodo enfisematoso, donde predomina la actividad microbiana en la degradación de

Para las morfoespecies mencionadas, con respecto al tiempo de emergencia de los adultos, bajo las condiciones mencionadas, en el laboratorio se ha determinado que la aparición de los adultos es diferencial, lo cual sigue una secuencia repetible en cada una de las trampas y en las distintas temporadas de muestreo (Tabla 2).

Tabla 2. Rango de emergencia de los adultos en días, para cada una de las morfoespecies de dípteros. Se considera como día 1 al día en que es colocada la trampa en las distintas estaciones de muestreo.

Morfoespecie	Rango de emergencia de adultos (en días)	Promedio (en días)	
Phoridae	10-16	$13.28 \pm 2.05$	
Musca	14-15	14.4± 1.09	
Phaenicia	14-18	17±1.54	
Calliphora	14-19	17.4±1.85	
Synthesiomya	19-22	20.4±1.01	
Sarcophaga	23-28	25±1.67	

Además de lo anteriormente reseñado, también en laboratorio se efectuaron observaciones en el comportamiento durante las fases de larva, pupa y adulto de las morfoespecies identificadas. De esta manera, los especimenes de la familia Phoridae, durante las últimas etapas de larva tienden a migrar, entrando en periodo de inactividad pre-pupa tanto en espacios iluminados como de sombra, pudiendo completar su fase de pupa sin ningún problema de selectividad de espacio, comportamiento que no fue observado en el resto de las Familias.

Las larvas de las cinco restantes morfoespecies, tienen un comportamiento fotófobo; ya que durante los periodos de alimentación, la mayor parte del tiempo se localizaron en sitios no expuestos a la luz, buscando para el periodo pre-pupa incrustarse en el sustrato o bien hasta en los restos del cebo, sitios en donde cumplen con su periodo de pupa.

En el caso de la morfoespecie Sinthesyomya, al entrar en fase de inactividad, se agrupan, formando agregados con apariencia de "panal", en los cuales se aprecian partículas de tierra mezcladas con una sustancia adherente que crean una capa externa a la pared de la pupa.

### Conclusiones

Ha sido posible establecer la presencia de morfoespecies representantes de seis géneros de cuatro familias de dípteros, las cuales diferentes autores han reportado como asociadas a las etapas tempranas de la descomposición cadavérica como organismos necrófagos. Los rangos de tiempo de emergencia a su estado adulto, podrán servir como indicadores para estimar entre otros datos el denominado Intervalo Postmortem y ser aplicables en la solución de casos de investigaciones de muertes violentas o sospechosas

928

n la Ciudad de México. Además se han obtenido datos a cerca del comportamiento en diferentes etapas de desarrollo, días de aparición de adultos, que permiten visualizar el nómeno de sucesión que ocurre en la carne en descomposición.

El método de captura empleado, incluidos el cebo y el sustrato, ofrecen ultados satisfactorios, ya que sirven como medio de soporte de las larvas y/o pupas, ra que estas puedan desarrollarse en el interior de la trampa. Permite indistintamente oviposición o la viviposición de los dípteros en el cebo empleado, ya que de las ofoespecies clasificadas cinco (Musca, Callíphora, Phaenicia, Synthesyomia y Megacelia) se dispersan mediante la puesta de huevos, en tanto que una deposita larvas vivas que se encuentran en la primera etapa de desarrollo directamente en la carroña (Sarcophaga).

Por otro lado, aun cuando no se registran en los resultados, fue posible la captura de otros artrópodos que se han identificado como asociados a los fenómenos tempranos y tardíos dentro de la descomposición cadavérica, de tal forma se observó la presencia de coleópteros de las Familias Dermestidae y Staphylinidae, otros dípteros que se entran en fase de identificación, así como individuos del Orden Hymenoptera, que ubicaron de manera específica en los muestreos de las regiones geográficas del Sur de la Ciudad de México y que pueden ser clasificados como organismos necrófilos.

En el presente estudio se han podido efectuar observaciones que junto con los datos obtenidos del trampeo, se pueden constituir como los datos preliminares de la presencia, comportamiento y distribución de dipteros que se asocian a la degradación de cadáveres. Se concluye que las morfoespecies capturadas son indicadoras y de utilidad en los análisis para determinar el tiempo de ocurrida una muerte pues se presentaron de manera recurrente en cada uno de los muestreos efectuados y han sido reportados por diferentes autores como relacionados con la descomposición cadavérica.

Finalmente, es pertinente acotar que estos datos se pueden agregar a otros perzos que se han desarrollado y se siguen efectuando en torno de este campo donde interrelacionan la Entomología como disciplina biológica y la Criminalística como la disciplina de las pesquisas en el ámbito legal, las cuales se concatenan en la Entomología Forense.

#### Agradecimientos

El Dr. Alejandro Cruz-Reyes quien amablemente ha asesorado y proporcionado soporte bibliográfico para llevar a cabo esta investigación

#### iteratura Citada

- Anderson, G.S. 2001. Insects Succession on Carrion and Its Relationship to Determining Time of Death. In: Forensic Entomology . The utility of arthropods in legal investigations. Byrd J. H., Castner J. L (Eds.) CRC Press. pp 143-175
- Anderson, G.S. y V.J. Cervenka, 2001. Insects associated with the body: Their use and analyses. In Advances in Forensic Taphonomy. Methods, Theory and Archeological Perspectives. Haglund, W and Sorg, M (Eds.) CRC Press. pp 174-
- Bass W. M. 1997. Outdoor Decomposition rates in Tennessee. EN: Forensic Taphonomy. The postmortem fate of human remains. Haglund W. D; y Sorg M. H. CRC-Press.Florida.
- Bland R.G. y H.E. Jaques, 1978. How to Know the Insects. The pictured key Nature
- Series, 3a ed. Dubuque, Iowa.

  Brindle, A. Y K.G.V Smith, 1978. The Inmature Stages of flyes. En Adipterist's Handbook. The Amateur Entomologist Vol. 15: 38-64.

- Brues, C.T., A.L. Melander y F.M. Frank, 1954. Classification of Insects. Bulletin of Museum of Comparative Zoology. Vol. 108: 305-413.
  Byrd J. H., J. L. Castner, 2001. Insects of Forensic importance. In. Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd J. H., Castner J. L (Eds) CRC Press. pp: 43-79.
  Deloya L.A.C. 1997 Importancia económica, agrícola, médica, veterinaria, pecuaria y forestal de los escarabajos y su uso potencial en medicina legal. EN: Sociedad Mexicana de Entomología Universidad Autónoma de Puebla (eds) Manual sobre Entomología y Acarología aplicadas. Puebla.
  Magaña, C. 2001. La Entomología Forense y su Aplicación a la Medicina Legal. Data de Muerte. Boletín de la S.E.A.
  Peterson, A. 1960. Larvae of Insects. An Introduction to Neartic Species. Parte II. Columbus Ohio.
  U.S. D.H.E.W. 1969. The Pictorial Keys to Artropods, Reptiles, Birds and Mammals of Public Healt Significance. Public Health Service Publication No. 1955. pp192.
  Villanueva C. E. y Concheiro C. L. Problemas tanatológicos medico-legales. In: Medicina legal y toxicología. Editor Gisbert C. J. A. Masson-Salvat España 1994.

## **ANEXO A-2**

### TRABAJO PRESENTADO EN EL XLIII CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA.

CONTRIBUCIÓN A LA IDENTIFICACIÓN DE Lucilia sericata (Meigen, 1826) (DIPTERA, CALLIPHORIDAE), DÍPTERO DE INTERÉS FORENSE

Contribution on identification of *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera:Calliphoridae), dipter of forensic importance

Humberto A. Molina-Chávez<sup>1</sup>, Manuel Nava-Hernández<sup>1</sup>, Samuel Gutiérrez-Rodríguez<sup>2</sup>, Jesús A. Luy-Quijada<sup>1</sup>, Nora Galindo-Miranda<sup>3</sup>. Laboratorio de Antropología y Entomología Forense, Coordinación General de Servicios Periciales PGJDF. Av. Coyoacan 1655, Colonia Del Valle, C.P. 03100, México, D.F.. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Licenciatura en Biología UAM-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina. Iztapalapa. C.P. 09340, México, D.F. Laboratorio de Morfofisiología animal, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior s/n, Cd. Universitara, C.P. 04510, México, D.F.

Palabras Clave: Entomología Forense, Lucilia sericata, Microscopia Electrónica de Barrido.

#### Introducción

Lucilia Robineau-Desvoidy, es el único género de la subfamilia Lucilinae, 1830, tiene como sinonimias a *Phaenicia, Bufolicilia y Francilia*, según Rognes, 1991, se caracteriza por que en estado adulto presentan un color brillante en tonalidades azulverdoso o bronce, con longitud variable de 6 a 9 mm, con hábitos omnívoros. Sin embargo durante la etapa larval muestran hábitos necrófagos, con rangos de crecimiento de 10 a 18 mm de longitud, son de forma muscoidea con tonalidades blanca a beige claro, presentan bandas completas de microespinas en las regiones del metatórax, mesotórax y en la mayoría de los segmentos abdominales, la cabeza retráctil no está esclerotizada y muestra el área pefalolateral un par de papilas, así como un par de ganchos bucales pigmentados de color degro, retráctiles de acuerdo al desarrollo del esqueleto cefalofaríngeo. El tórax se divide en tres regiones, en la región del protórax, en los costados se ubican los espiráculos protorácicos, donde cada uno presenta de 8 a 12 lóbulos. Los espiráculos caudales se localizan en la porción dorsal en el último segmento, rodeados por seis o más papilas, cada espiráculo posee un peritrema completo el cual incluye tres aberturas longitudinales dirigidas hacia el botón (Peterson, 1960, Byrd & Castner, 2001, Whitworth, 2006).

Lucilia sericata, en cualquiera de sus estadios se ha asociado a la transformación cadavérica en humanos y es considerada como una especie pionera durante la sucesión que se presenta en ios cuerpos, constituyéndose como especie de importancia forense; por tanto, la identificación correcta, constituye uno de los pasos básicos en los estudios forenses, por elle el empleo de la microscopía electrónica de barrido es una herramienta que permite observar con mayor resolución características morfológicas en sus distintas fases de desarrollo (Yacamán, M. & Reyes J, 1995; Watt, I., 1997).

En el presente trabajo se describen características de larvas L-III de L. sericata, aprovechando las ventajas que brinda el empleo de las condiciones de bajo vacio en la cámara del microscopio electrónico de barrido, optimizando el tiempo ya que se evita el pre tratamiento de las muestras. Este trabajo contribuye en la identificación de L. sericata, al presentar la descripción anatómica del estadio larval L-III.

## Materiales y Método

iales y Método
Se analizaron larvas de dípteros colectadas de cadáveres humanos examinados en la Se analizaron larvas de dipieros conculadas de tratales en la Ciudad de México, estas fueron trasladadas al laboratorio de Entomología Forense de la PGJDF y de acuerdo la metodología propuesta por Molina et al. 2006, se desarrollaron bajo condiciones de laboratorio. Se tomaron muestras aleatorias de larvas L-III, para fijarlas mediante la colocación de estas en agua a una temperatura de 90°C durante diez segundos, depositándolas inmediatamente en una solución de alcohol etílico al 70% para su preservación y posterior identificación mediante claves taxonómicas específicas para esta fase larval (Peterson, 1960, Chester et al. 1969). Para el análisis en el microscopio electrónico de barrido, se empleo un equipo (JEOL-JSM6360LV), efectuándose barridos en las larvas, estas sin tratamiento previo, se colocaron en la cámara del microscopio en condiciones de bajo vacío a una presión de 25pa, empleando porta muestras de aluminio y cinta de grafito para realizar las observaciones, se efectuaron con especial atención en las estructuras que permiten la identificación empleando claves taxonómicas especificas para el estadio L-III (Chester et al. 1969).

Se presentan la serie de microfotografías, siguiendo el mismo sentido de la descripción, donde es posible observar que los ejemplares analizados no se colapsaron y mantuvieron su aspecto natural. Es necesario señalar que el único proceso de digitalización de imagen, corresponde a la adecuación de tamaño para la presentación con las acotaciones necesarias para la señalización de las estructuras. De las regiones anatómicas visualizadas, se describen las siguientes estructuras:

En general las larvas analizadas presentan cabeza no esclerosada y los espiráculos anteriores, cada uno con nueve papilas en promedio, se localizan en la parte posterior de las hendiduras protorácicas, en una banda irregular y cada una con dos estructuras globulares juntas en la base de dicha banda, muestra palpos maxilares y el labro bifurcado (Figuras 1 y 2); las papilas cefálicas están lateralmente situadas junto con un par de ganchos bucales dirigidos hacia la parte ventral y protuberancias antenales de dos segmentos (Figuras 3 y 4); las bandas de espinas situadas al término de cada segmento con proyección hacia un solo punto (región cefálica), así como base lisa y de forma triangular (Figura 5); el segmento caudal está compuesto por la cavidad estigmal y seis pares de papilas, un par de espiráculos posteriores situados en una ligera depresión (Figura 6); en los espiráculos posteriores, cada disco espiracular contiene tres aberturas rodeadas por un peritrema completo con presencia de botón, en cada abertura encontramos estructuras radiales en cada una de las aberturas, cercano a la pared, característico de esta especie y de la familia Calliphoridae (Figuras 7 y

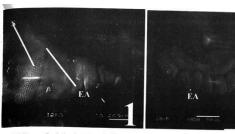


Figura 1. Micrografía de la vista lateral del segmento cefálico, espiráculo anterior (E) y banda de espinas (S). Figura 2. Micrografía del espiráculo anterior (EA).

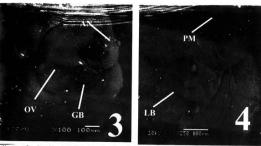


Figura 3. Micrografia, Región cefálica, ganchos bucales (GB), protuberancia antenai (AN) y órgano ventral (OV); y 4. Micrografia, Gran acercamiento de la región bucal, palpos maxilares (PM) y labro (LB).

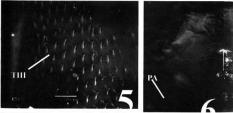


Figura 5. Micrografía de una gran magnificación de las espinas del segmento T III; Figur 6. Micrografía de la vista lateral del último segmento, papila anal (PA)



Figura 7. Micrografia 7 del segmento caudal que muestra la corona de papilas (scis) y el par de espiraculos posteriores. P1 = Papila dorsal, P2 = Papila subdorsal, P3 = Papila supralateral, P4 = Papila infralateral, P5 = Papila subventral, P6 = Papila ventral, P7 = Papila supraventral.



Figura 8. Micrografía de la gran magnificación de los espiráculos posteriores (EP), con tres abenuras y peritrema completo con botón (b).

Discusión y Conclusiones

En Norte América se han descrito 11 especies del género Lucilia, incluyendo a L sericata, la cual se ha reconocido como una especie holártica y en la actualidad se le considera como una especie cosmopolita con distribución neotropical, de importancia médica, veterinaria y forense ( Byrd & Castner 2001; Whitworth 2006y Sukontason et a

La morfología estructural de las larvas de dipteros se emplea en la caracterización taxonómica para la diferenciación entre especies (Freitas, et al. 2004; Sukontason, et al. 2003; Szpila y Pape 2005; Wells, et al. 1999). En este trabajo la microscopia electrónica de la contra del contra de la contra del la cont barrido bajo condiciones de bajo vacío, permitió que los ejemplares mantuvi inalteradas sus características durante el análisis, disminuyendo con esto los cost tratamiento por muestra. Este procedimiento fue de utilidad ya que las observa hechas durante los barridos efectuados a las larvas de L. sericata, permitieron es con mayor resolución la morfología de las estructuras anatómicas (ultraestrucprincipalmente las que se ubican en los primeros segmentos donde fue posible observentes esqueleto refaloraringe y los carrietados. esqueleto cefalofaringeo y los espiráculos protorácicos; así como la corona de papilas )

niráculos de la región caudal, importantes para la identificación taxonómica de esta

Ala M en C. Dolores Gálvez M. del Laboratorio de Química Forense de la CGSP-PGJDF, or las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo; al Ing. Martín Palacios D.

LEJEL México por la asistencia técnica, al M en C Fernando Vite González por la soría y el soporte bibliográfico para llevar acabo esta investigación.

iteratura Citada

yrd, J. H. y Castern, J. L., 2001. Insects of forensic importance. En: Forensic entomology. The utility legal investigations. Byrd, J.H. y Castner, J.L. CRC Press LLC. 43-79

Chester, J. S., Pratt, H. D. y Bennington, E.E., 1969. Fly Larvae: Key to some species of public health importance. En U.S.D.H.E.W. Pictorial keys to arthopods, reptiles, birds and mammals of public health significance. Public Health Service Publication #1955 Wash. D.C. Columbia. 125-137 pp.

Freitas, A.D., Belo, M.y Maia, J. 2004. Microscopia electrônica de varredura de duas espécies de Fannia Robieneau-Desvoidy (Diptera, Fannidae). Revista Brasileira de Entomologia 48(2): 169-180pp.

Jolina, C.H., Luy, Q.J., Nava, H.M. y Galindo, M.N., 2006. Datos preliminares de la captura de Dipteros relacionados con el proceso de descomposición cadavérica en la Cd. de México. Entomología Mexicana 5(2): 925-930pp.

m, A. 1960. Larvae of Insects. An introduction to neartic species, Vol. II. Edurad Roders, Inc., and Harvor Columbus Ohio.

kontason, K.L., Bunchu, N., Chaiwong, T., Kuntalue, B. y Sokontason, K. 2007. Fine structure of the eggshell of the blow fly, *Lulicilia cuprina*. Journal of Insect Science 7:09, aviable online:insectscience.or/7.09

Avadue online.insectscience.or/i.os tason, K., Sukontason, K.L. y Piangjai, S. 2003. Scanning electron microscopy of thrid-instar sarcophagid (Diptera: Sarcophagidae) recovered from a Mummiffed human corpose in Thailand. Instituto Medicina. Tropical. Sao Paulo 45(2): 95-

K. y Pape, T. 2005. The first instar larva of Apodacra pulchra (Diptera:

Sarcophagidae, Miltogramminae). Insect Systematic & Evolution 36:293-300pp.

1997. The principles and practice of electron microscopy. Cambridge University

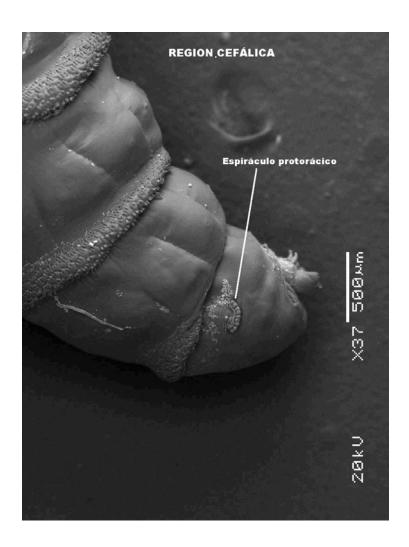
Press, Gran Britain, Cambridge.

J.D., Byrd, J.H y Tantawi, T.I. 1999. Key to third-instar Chrysominae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United States. Journal of Medical omology 36(5): 638-641pp.

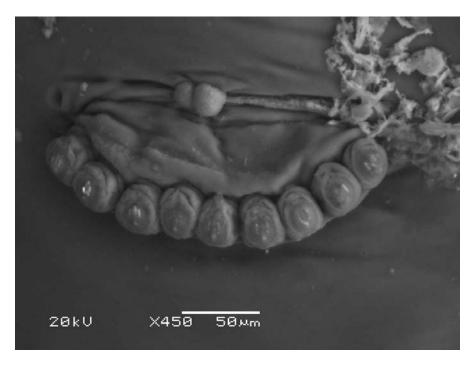
th T. 2006. Keys to the genera and species of blow flies (Dipetra: Callipnoridae) of America North of México. Proc. Entomol. Soc. Wash. 108 (3): 689-725pp.

nan, M. y J. Reyes. 1995. Microscopia electrónica una visión del microcosmos., Ed. Fondo de Cultura Económica.; México.

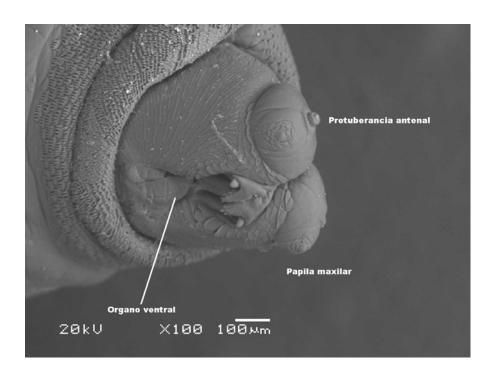
## SERIE DE MICROFOTOGRAFIAS ORIGINALES PRESENTADAS EN EL TRABAJO INCLUIDO EN EL ANEXO 2.



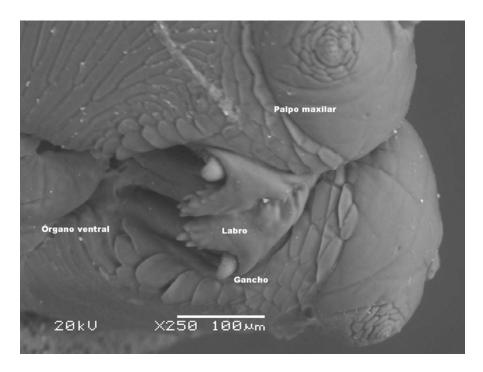
Microfotografía 1. Vista lateral de la región cefálica, se aprecian los palpos maxilares en la región de la cabeza; los dos primeros segmentos torácicos, tres bandas de espinas y el opérculo pro-torácico en el primer segmento torácico.



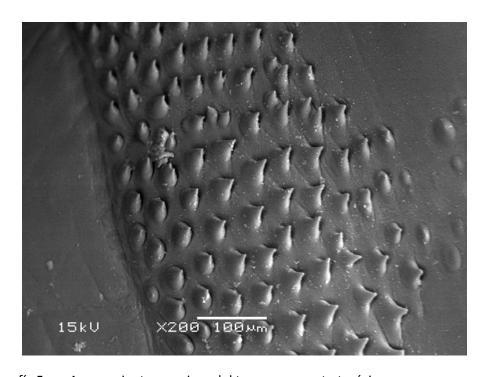
Microfotografía 2. Acercamiento al espiráculo protorácico anterior derecho, donde se observan nueve papilas.



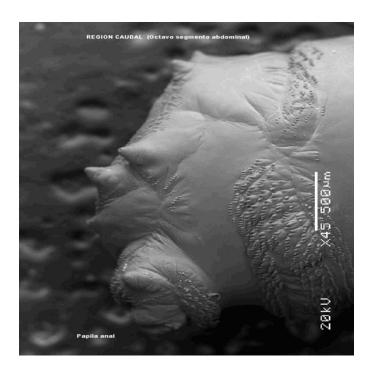
Microfotografía 3. Acercamiento a la región cefálica, se observa la boca con los ganchos o dientes orales y el órgano ventral; así mismo se aprecian las protuberancias antenales y palpos maxilares.



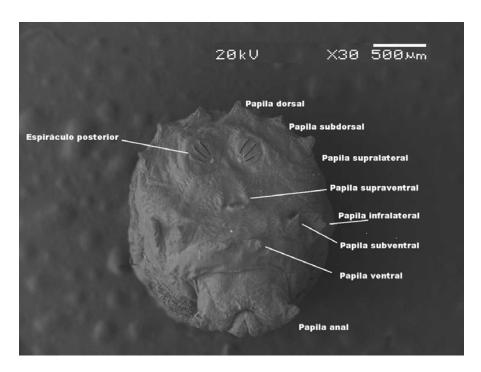
Microfotografía 4. Mayor acercamiento a la región oral, se observa el labrum , el par de ganchos, el órgano ventral y palpos maxilares.



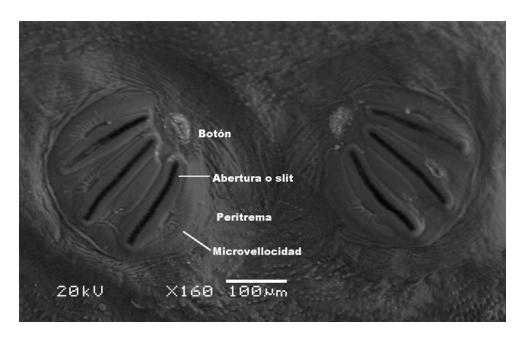
Microfotografía 5. Acercamiento a espinas del tercer segmento torácico .



Microfotografía 6. Vista lateral de la región caudal, se observan papilas de la corona de espina



Microfotografía 7. Vista frontal de la región caudal, se observa la corona de espinas con siete pares de papilas, la papila anal y el par de espiracúlos posteriores o caudales



Microfotografía 8. Vista frontal de la la placa de espiraculos posteriores en la región caudal, se observa el peritrema completo, la presencia de botón y microvellocidades de la pared de la abertura.

## **ANEXO A-3**

### TRABAJO PRESENTADO EN EL XLIII CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA.

DETERMINACIÓN DE ADN HUMANO EN LÂRVAS DE DIPTEROS COLECTADAS EN DISTINTOS TEJIDOS.

Human DNA determination on dipters larvae collected on different tissues.

Manuel Nava-Hernández <sup>1</sup>, Arturo Basurto-Pineda<sup>2</sup>, Humberto A. Molina-Chávez <sup>1</sup>, Jesús Agustín Luy-Quijada <sup>1</sup> Samuel I. Gutiérrez-R<sup>3</sup>, Nora E. Galindo-Miranda<sup>4</sup>, <sup>1</sup> Laboratorio de Agustín Luy-Quijada 'Samuel I. Gutiérrez-R', Nora E. Galindo-Miranda". 'Laboratorio de Antropología Forense, Laboratorio de Genética Forense<sup>2</sup> Coordinación General de Servicios Periciales de la Procuraduria General de Justicia del Distrito Federal. Av. Coyoacan 1635, Colonia Del Valle, Ciudad de México, D.F., México C.P. 03100. <sup>3</sup>División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa. C.P. 09340, México, D.F. <sup>4</sup>Laboratorio de Morfofisiología animal, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior s'n, Cd. Universitara, C.P. 04510, México, D.F.

Palabras Clave: Larvas, Dipteros, ADN-Humano, Entomologia Forense.

La investigación en Entomología Forense se ha concentrado en mayor medida en establecer La investigación en Entomología Forense se ha concentrado en mayor medida en establecer métodos para estimar el intervalo postmortem, en la determinación de tóxicos durante una investigación criminalística, en el estudio del contenido gástrico de los insectos y en la caracterización de la estructura genética de las especies de importancia forense (Wells y Lamotte, 2001; Goff y Lord, 2001; Benecke y Wells, 2001; Anderson y Cervenka, 2002; Zehner et al., 2004<sup>3</sup>). La capacidad para identificar a un hospedero a través del contenido gástrico y adm de las excretas de su huésped se han practicado aplicando técnicas de extracción y amplificación específicas utilizando fragmentos amplificados de longitud polimórfica (AMP-FLP) como un método de caracterización de ADN humano en distintos tiempos de colecta y preservación de muestras de insectos. (Replogle et al., 1994; Carvahlo et al., 2005; Kai et al., 2007). En una investigación forense donde se cuenta con indicios entomológicos, además de establecer el intervalo muestras de insectos. (Replogle et al., 1994; Carvahlo et al., 2005; Kai et al., 2007). En una investigación forense donde se cuenta con indicios entomológicos, además de establecer el intervalo Postmortem, es necesario identificar los restos cadavéricos utilizando todos los métodos posibles, incluidos los moleculares. Bajo estas circunstancias el análisis del tejido humano ingerido por las larvas de insectos colonizadores de un cadáver provee una alternativa para obtener perfiles genéticos humanos susceptibles de con.paración en un estudio criminalistico. Durante el proceso alimenticio que presentan las larvas de dipteros, el tejido parcialmente digerido es almacenado en la roma enterior el intestino (humbo) con base en esto ha sido posible utilizar métodos de extracción y alimenticio que presentan las larvas de dipteros, el tejido parcialmente digerido es almacenado en la zona anterior al intestino (buche), con base en esto, ha sido posible utilizar métodos de extracción y análisis de ADN humano que involucra el estudio y secuencia de ADN mitocondrial y el empleo de marcadores STR's que permiten establecer la identificación de un individuo a través del estudio de las larvas, cuando el cuerpo se encuentra en etapas avanzadas de la putrefacción cadavérica. (Lord et al., 1998; Wells et al., 2001; Zehner et al., 2004¹). Actualmente el análisis de ADN humano e constituye como una prueba pericial de alto valor jurídico en donde la posibilidad de repetición dicho análisis en diferentes momentos y circunstancias le da conflabilidad a esta prueba (Wells et al., 2001). Es ha determinada que muestras biológicas imprepandas en tarietas de panel filtro con al., 2008). Se ha determinado que muestras biológicas impregnadas en tarjetas de papel filtro odi polímeros y agentes químicos, las cuales fueron almacenadas durante años y analizadas con marcadores STR, exhibieron picos altos y determinantes para la tipificación de loci amplificados.

En este trabajo se presentan los perfiles genéticos humanos aislados del contenido gástrico de larvas L-III de dipteros colectados de diferentes órganos de cadáveres y preservadas en dos medios de soporte utilizados de manera rutinaria durante la investigación criminalística, comparando la eficiencia de amplificación y genotipificación así como los medios de soporte ilizados para cada tipo de muestras.

utilizados para cada tipo de muestras.

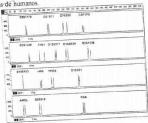
Materiales y Método.

Se colectaron larvas de dipteros en tercer estadio en ocho cadáveres humanos relacionados con investigaciones criminalisticas en los anfiteatros de las agencias investigadoras en la Ciudad de de putrefacción avanzada de los cuales se seleccionaron 10 larvas en fase L-III para la extracción de ADN, las cuales se alimentaron de higado, músculo estriado y encéfalo, el resto del material colectado se trasladó al Bioterio del laboratorio de Entomología Forense de la PGIDF, para su identificación, desarrollo y análisis. Los grupos de estudio fueron colocados bajo condiciones estándar de laboratorio a una temperatura de 24° C y humedad relativa 45 ± 10 % durante el desarrollo de las larvas hasta su fase adulta. Para la extracción de ADN se utilizaron diez larvas en fase L-III para cada uno de los casos, procediendo de la siguiente manera, las larvas se sacrificaron fase L-III para cada uno de los casos, procediendo de la siguiente manera, las larvas se sacrificaron mediante congelación para posteriormente practicar una disección bajo el microscopio estereoscópico (LOMO No 30423) con la finalidad de obtener el contenido gástrico (región anterior), previamente las larvas fueron lavadas con agua desionizada libre de nucleasas, para colectar el contenido gástrico se emplearon cinco larvas para hispopos estériles y cinco larvas para debidados de control de la contenido gástrico se emplearon cinco larvas para debidados de control de la control de collectar el contentio gastito se empiration cinco las vas para misopos esternos y cinco las vas para tarjetas Whatman FTA\* para muestras sanguíneas; posteriormente fueron deshidratadas y almacenadas por periodos de dos semanas. Transcurridas las dos semanas, se cortaron framentos de los hisopos y de las tarjetas utilizando bisturí y microcortadores respectivamente, colocando los de los hisopos y de las tarjetas utilizando bisturi y microcortadores respectivamente, colocando los fragmentos por separado en microtubos estériles, para ser sometidos a la técnica de extracción. Para la extracción de ADN humano se utilizó el kit de extracción Tissue and Hair extraction [O<sup>™</sup> System y purificado se molizon de milizón el kit de extracción Tissue and Hair extraction [O<sup>™</sup> System y purificado se molizon de muestras de 1 ng/µl del ADN para ser amplificados con el kit de amplificación forense Identifiler, con la finalidad de obtener la información alélica de los 16 loci que incluye este kit. Los protocolos de amplificación se aplicaron de acuerdo con las especificaciones del manual del usuario utilizando el termociclador PCR system 9600° (Applied Biosystem). Posterior a la amplificación, las muestras fuero analizadas mediante un escaneo génico de los productos de amplificación con un analizador genético Genetic Analyzer ABI PRISM 3100° (Applied Biosystem). Para el análisis de los corrimientos electroforéticos, se utilizó el programa Genescan 3.7 y Genotyper 3.7 para determinar los perfiles genéticos de cada una de las muestras utilizando controles positivos y negativos de amplificación.

Las larvas de dipteros, de las cuales fue posible separar el contenido gástrico fueron dentificadás como pertenecientes a las especies Chrysomya rufifacies (Macquart. 1843). Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794). Cochliomyia macellaria (Fabricius, 1775). Lucília sericata (Meigen, 1820). Lucília cuprina (Wiedemann, 1826) y Sarcophaga sp., confirmando la especie cuando se analizaron los estados de pupa y adultos (Witworth, 2006; Peterson, 1960) Se observá com mayor frecuencia las larvas de la especie C. rufifacies y L. sericata, al ser dentificadas en todos los cadáveres analizados, en tanto que C. macellaria solo pudo observarse en un solo cadáver. El embalaje, almacenaje, tratamiento así como el análisis de las muestras se practicó con mayor facilidad cuando se emplearon las tarjetas FTA\*, como medio de soporte, a emás presentan la conveniencia de ocupar espacios reducidos y adicionar los datos de colecta en ella misma sin acosidad de utilizar etiquetas ajenas a las mismas. La figura 1 muestra los marcadores genéticos Las larvas de dipteros, de las cuales fue posible separar el contenido gástrico fueron necesidad de utilizar etiquetas ajenas a las mismas. La figura 1 muestra los marcadores genéticos que incluye el sistema de amplificación Identifiler con 16 marcadores genéticos cuya información ideltica de la constanta de amplificación Identifiler con 16 marcadores genéticos cuya información delicios de la constanta de amplificación Identifiler con 16 marcadores genéticos cuya información delicios de la constanta de amplificación Identifiler con 16 marcadores genéticos que la constanta de ea determina especificamente información proveniente de ADN-Humano. Los resultados nidos para las muestras analizadas indican que el marcador sexual (Amelogenina) se identificó

en todos los casos. También se pudo comparar el rendimiento durante la extracción del material genético de muestras biológicas de higado, encéfalo y músculo estriado, obteniéndose para muestras genético de muestras biológicas de higado, encéfalo y músculo estriado, obteniéndose para muestras de de músculo concentraciones máximas de 30 ng/µl en muestras fijadas en tarjetas FTA\* Estas de músculo concentraciones fueron determinantes para obtener resultados distintos al momento de practicar los concentraciones electroforéticos. Una vez efectuado la electroforesis, fue posible obtener 15 de los 16 corrimientos electroforéticos. Una vez efectuado la electroforesis, fue posible obtener 15 de los 16 corrimientos electroforéticos. Una vez efectuado la electroforesis, fue posible obtener 15 de los 16 corrimientos electroforesis de los nue consta el sistema emético de prueba en las muestras contenidas sobre tod. corrimientos electroforeticos. Una vez etectuado la electroforesis, fue posible obtener 15 de los 16 marcadores de los que consta el sistema genético de prueba en las muestras contenidas sobre todo en las tarjetas FTA<sup>K</sup> y colectadas de las regiones de músculo en la mayoría de los cadáveres; los datos obtenidos arrojan una eficiencia de identificación de ADN-Humano del 84.37%, (Cuadro 1),

Figura 1. Sistema de identificación forense Identifiler, mostrando los loci específicos que se analizan para uestras biológicas obtenidas de humanos



Los datos acerca del número de marcadores genéticos obtenidos para los tipos de muestra Los datos acerca del número de marcadores genéticos obtenidos para los tipos de muestra analizadas, así como los soportes utilizados se presentan en la tabla 1. Los resultados indican que al analizar el contenido gástrico fijado en los hisopos, se presenta un porcentaje de amplificación y genotipificación del 39.84% para las muestras de las larvas que se colectaron alimentándose de músculo al obtener resultados de amplificación de 11 de los 16 marcadore genéticos del sistema de prueba empleado. Sin embargo, este porcentaje es bajo comparado con las muestras del mismo tipo fijadas en tarjetas FTA\*, de las cuales fue posible amplificar por muestra hasta 15 de los 16 marcadores de los que consta este sistema genético con una eficacia total de genotipificación del agracadores de los que consta este sistema genético de las larvas de dipteros, indican que 13 de los 15 marcadores genéticos brindan información suficiente y compatible con bancos de datos nacionales e internacionales. nacionales e internacionales.

Cuadro 1. Resultados de los marcadores STR's obtenidos de las muestras de contenido gástrico de las larvas MUESTRA DE

Luduro 1. Resultados de los litaleadas para cada uno de los marcadores.

idicalido el man	MUESTRA DE HIGADO		MUESTRA DE ENCÉFALO		MÚSCULO HISOPO FTA	
LOCI	HISOPO	FTA	HISOPO	FTA	HISOPO	6
D2S1338	-	-		-	2	8
D18S51		-	-	-	2	6
D21S11		1.50	(2)	2	2	8
TH01	2	4		2	6	7
D3S1358	4	4	2 -	2	3	8
FGA	_	3	-	2.50	4	8
TPOX	-	4	5	-	5	8
D8S1179	-		-		4	8
VWA	-	3				

AMEL.	♀=3♂=5	9=3♂=5	Q=3♂=5	9=3♂=5	9=3♂=5	9=3♂=
0198433	-			-		6
CSFIPO	- :			-	4	7
D16S539	2	2	-	-	3	8
D7S820	2 2		1			8
D13S317		2				
D5S818					2	8
Porcentaje de amplificación.	14.06	23.43	7.80	9.37	39.84	93.75

## Discusión y Conclusiones.

Desde el descubrimiento de las huellas digitales, sólo el estudio del ADN a partir de Desde el descubrimiento de las nuclas digitales, sob el estudio del ADA parti de indicios biológicos para identificar personas, ha tenido un fuerte impacto en las Ciencias Forenses. Su aplicación y aceptación ha pasado por distintas etapas en las cuales se ha cuestionado desde la veracidad de sus resultados hasta la acreditación de los procesos involucrados en este tipo de pruebas periciales. Actualmente es considerada un medio de prueba en el que es posible verificar los resultados con la repetición de los procedimientos de extracción, amplificación y genotipificación, por ello es importante utilizar medios de soporte que permitan preservar muestras biológicas que se utilizan con este fin. En este estudio se comparó la eficacia de los medios de mongras del se initiali con ini ampieros de las espectes de Argueros de la Sarcophaga sp., determinando que cuando las muestras se fijaron en tarjetas Whatman FTA\* se obuvo rendimiento máximo en la fase de extracción de 30 ng/µl, asegurando la amplificación de 15 marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores genéticos en 8 muestras estudiadas. El uso de las tarjetas FTA\* como medio de suporte marcadores de la como evita la degradación del ADN humano, al ser capturada la muestra en la matriz de la tarjeta para protegér del daño y degradación que sufre el ADN cuando es almacenado por periodos prolongados (Escario, 1999). Con respecto al origen de las muestras, cuando las larvas se asociaron al tejido muscular, fue posible obtener mejores rendimientos de amplificación para determinar con mayor eficacia los perfiles genéticos, caso contrario a los resultados obtenidos con las larvas que fueron colectadas en regiones del encéfalo e higado, tal es el caso de las muestras de encéfalo que fueron fijadas en papel Whatman FTA\*, donde fue posible obtener únicamente resultados de amplificación de los marcadores THOI, DSS1358 y Amelogenina. Una dificultad técnica que se presentó cuando se emplearon hisopos como medio de soporte, fue el desprendimiento de fibras de algodón lo cual se empiearon hisopos como medio de soporte, tue el desprendimiento de libras de aigodon lo cual complicó los procesos de purificación de ADN. Los perfiles genéticos determinados a partir de muestras de contenido gástrico de larvas de dipteros colectados de tejido muscular y fijadas en larjetas Whatman FTA\* como medio de soporte, se constituye como una alternativa de análisis cuando no es posible trabajar de manera inmediata una muestra biológica con características de putrefacción avanzada. Sus resultados son compatibles con los cálculos estadísticos, pues de los marcadores genéticos determinados, trece de ellos son la base de comparación de los bancos de datos de los laboratorios forenses que aplican la tecnología de ADN para la identificación de humanos (Budowle et al., 1999). En la actualidad se continúa con este tipo de estudios en los laboratorios de Entomología y Genética Forenses de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal y se proyecta realizar este tipo de análisis empleando el sistema genético Power Plex \*Y System, cuyos resultados serán útiles en diversos estudios comparativos

### gradecimientos.

A Jorge Zogbi Velazquez Director General de ANIGEN por el apoyo técnico y material para el desarrollo de este estudio. Al personal del Área de Criminalistica de Campo de la PGJDF por la colaboración durante las colectas de dipteros.

#### Literatura Citada.

- Literatura Citada.
   Anderson G. S. y Cervenka, V. J. 2002. Insects associated with the body: Their use and analyses.
   En: Advances in Forensic Taphonomy. Methods, Theory and Archaeological Perspectives,
   Haglund, W. y Sorg, M. (eds.). CRC Press, pp. 174-200.

   Benecke, M. y Wells, J. D. 2001. DNA technology for forensic entomology. En: Forensic
   Entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd. J. H. y Castner, J. L. (eds) CRC Press pp. 341-352
- (eds) CRC Press, p. 341-352.

  Budowle, E., T.R. Moretti, F.J. Niezgoda, B.L. Browne. 1999. CODIS marcadores polimorficos de
- Budowle, E., L.R. Moretti, F.J. Niezgoda, B.L. Browne. 1999. CODIS marcadores polimorficos de tipo STR. Dos instrumentos al servicio de la Ley. en: La Prueba del ADN en Medicina Forense Martínez Jarreta M.B. (Ed). Masson. Barcelona pp 227-131.
  Carvalho, F., Dadour, I. A., McGroth, D., Harvey, M. L. 2005. Isolation and detection of ingested DNA from inmature stages of Calliphora dubia (Diptera: Calliphoridae). Forensic Science Medicine and Pathern. 1(4), 261-265.
- DNA from immature stages of Calliphora dubia (Diptera: Calliphoridae). Forensic Science Medicine and Pathology 1(4): 261-265.

  Escario J.A. 1999. Semiologia de los indicios en el cadáver orientado a la recogida de muestras para el Laboratorio de Biología en la prueba del ADN en Medicina Forense. en: La Prueba del ADN en Medicina Forense Martínez Jarreta M.B. (Ed). Masson. Barcelona pp 173-187.

  Goff, L. M. y Lord, W. D. 2001. Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and the impact of drugs and toxins on insect development. En: Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd, J. H. Y Castner, J. L. (eds) CRC Press, pp 331-340

  Kai, L., Gong-Yin, Y., Jia-Yinz, Z. y Cui, H. 2007. Detection of food source by PCR analysis of the gut contents of Aldrichina grahami (Aldrich) (Diptera: Calliphoridae) during post feeding period. Insect Science 14(1): 47-52.

  Lord, W. D., Dizimo, J. A. Wilson, M. R. Budowle, B. Tapiin, D. y Maiking, T. L.
- Lord, W. D., DiZimo, J. A., Wilson, M.R., Budowle, B., Taplin, D. y Meiking, T. L. 1998. Isolation, amplification and sequencing of human mitochondrial DNA obtained from human crab louse, *Phinus pubis (1.)* blood meals. Journal Forensic Science 43(5): 97-100.
  Peterson, A. 1960. Larvae of insects. An introduction to Neartic species, Vol. II. Edwards
- Brothers, Inc., Ann Arbor.

  Replogle, J., Lord, W. D., Budowle, B., Meiking, T. L. y Taplin D. 1994. Identification of host
  DNA by amplified fragment lenght polymoriphism analysis: preliminary analysis of human
  crab louse (Anoplura: Pediculidae) excreta. Journal Medical Entomology 31 (5):686-699.
- Wells, J. D. y. Lamotte, L. R. 2001. Estimating the postmortem interval. En: Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigations. Byrd, J. H. Y Castner, J. L. (eds) CRC Press, pp 263-285.
   Wells, J. D., Introna, F. Jr., DiVella, G., Campobasso, C. P., Hayes, J. y Sperling, F. A. 2001. Human and insect mitochondrial DNA analysis from maggots. Journal Forensic Science 46 (3): 685-687. Science 46 (3): 685-687.
- Wells, J. D. y Stevens, J. R. 2008. Application of DNA-Based methods in Forensic Entomology.

  Annual Review of Entomology 53: 103-120.
- Witworth, T. 2006. Keys to the genera and species of blow flies (Diptera: Calliphoridae) of America north of Mexico. Proceedings of the Entomological Society of Washington 108 (3): 689-725.
- Zehner, R., Amendt, J. y Krettek, R. 2004. STR Typing of human DNA from fly
- larvae Feed on decomposing bodies. Journal Forensic Science, 49 (2): 207-210.

  Zehner, R., Amendt, J., Schutt, S., Sauer, J., Krettek, R. y Povolny D. 2004.Genetic identifically important flesh flies (Diptera:Sarcophagidae). International Journal of Legal Medicine 118(4): 245-247.

802