

Sección Médica

Detección y cuantificación de Propoxur en la sucesión de insectos de importancia médico-legal

Detection and quantification of Propoxur in the succession of insects of medico-legal importance

MARTA WOLFF¹, YOVANNY ZAPATA², GLADIS MORALES³, MARK BENECKE⁴

Resumen. Con miras a la detección y cuantificación del Propoxur en insectos de importancia forense y a la búsqueda de indicadores entomotoxicológicos, se utilizó la técnica de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia) con ejemplares colectados durante la sucesión ecológica asociada a los cadáveres de conejos. Tres conejos fueron sacrificados con una sobredosis de Propoxur y contando con un cuarto conejo control fue sacrificado por dislocamiento cervical. Los conejos fueron monitoreados durante 28 días, tres veces al día (7, 13 y 18 horas). Durante este periodo se colectaron insectos inmaduros y adultos, y se midió la temperatura ambiental, la temperatura corporal y la pérdida de peso. Del material colectado, se seleccionaron 73 individuos entre inmaduros (larva I, II, III, pupas) y adultos de los órdenes Diptera y Coleoptera, en los que se evaluó el análisis de interés por HPLC. Hubo un resultado positivo en el 56% de las muestras desde larva I hasta adulto y en todos los estados sucesionales de la descomposición. Esta técnica permitió una alta sensibilidad a partir de 0,1g o menos por cada muestra, para la cuantificación de residuos de Propoxur en larvas y adultos. En Diptera se cuantificó a partir de muestras con un peso de 0,0029 g y para Coleoptera en muestras con un peso de 0,002 g. La concentración mínima detectada (0,671 ppm) se encontró en larvas en estadio II de dípteros Calliphoridae y Muscidae y la concentración máxima cuantificada (229,7121 ppm) se encontró en larvas en estadio III de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae), con porcentajes de 0,04 y 0,34 respectivamente.

Palabras clave: Entomotoxicología. Entomología Forense. Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

Abstract. To detect and quantify the amount of Propoxur in insects of forensic importance and search for entomotoxicologic indicators, the HPLC (High Performance Liquid Chromatography) technique was used on individuals collected during the ecological succession associated with the corpses of rabbits. Three rabbits were sacrificed with an overdose of Propoxur and a fourth control rabbit was sacrificed by cervical dislocation. The rabbits were checked over 28 days, three times a day (07:00, 13:00 and 18:00 hours). During this period, immature and adult insects were collected, and the ambient temperature, corporal temperature and weight loss were measured. From the collected material, 73 individuals from among the immatures (larvae I, II, III, pupae) and adults of the order Diptera and Coleoptera were selected and the component of interest was evaluated by HPLC. There was a positive result in 56% of the samples from larva I to adult in all the successional stages of decomposition. This technique allowed a high sensitivity from 0.1 g or less for each sample in the quantification of Propoxur residues in larvae and adults. Samples with a weight of 0.0029 g for Diptera and 0.029 g for Coleoptera were quantified. The minimum detected concentration (0,671 ppm) was found in stadium II larvae of Calliphoridae and Muscidae dipterans and the maximum quantified concentration (229,721 ppm) was found in stadium III larvae of *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae), with percentages of 0.04 and 0.34, respectively.

Key words: Entomotoxicology. Forensic Entomology. High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Introducción

La entomotoxicología es una herramienta que aplica análisis toxicológicos a insectos que se alimentan de carroña, con el fin de identificar drogas y toxinas tales como insecticidas, antidepresivos tricíclicos y estimulantes (barbitúricos, cocaína y anfetaminas)

presentes en tejidos. También investiga los efectos causados por dichas sustancias en el desarrollo de los artrópodos para determinar el intervalo postmortem (IPM) (Introna *et al.* 2001) ya que la confiabilidad de la evidencia entomológica para la estimación de IPM puede depender de la presencia de productos en los tejidos de las larvas pues algunas toxinas pueden afec-

tar la rata de crecimiento de las especies presentes en los cadáveres (Gagliano-Candela y Aventaggiato 2001; Goff and Lord 2001; Introna *et al.* 2001; Introna *et al.* 1990; Goff *et al.* 1993, 1991, 1989).

Por los métodos tradicionales de la toxicología, los productos de envenena-

1 Autor para correspondencia: Profesor, Dr. Laboratorio de Colecciones Entomológicas-GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia. E-mail: mwolff@matematicas.udea.edu.co

2 Biólogo. Laboratorio de Colecciones Entomológicas-GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia.

3 M. Sc. Química. GIEM. Universidad de Antioquia. A.A 1226 Medellín, Colombia.

4 Dr. Mark Benecke. Internacional Forensic Research and Consulting. Cologne-Germany.

miento se recuperan mediante muestras de órganos internos, orina y sangre; sin embargo, en estados avanzados de descomposición esta técnica no es posible (Introna *et al.* 2001). De ahí que los insectos puedan ser una alternativa en la determinación de la presencia de sustancias en un cuerpo, dado que el análisis cualitativo en las larvas es una evidencia de la presencia de un compuesto determinado (Wolff *et al.* 2004; Bourel *et al.* 2001; Hédoüin, *et al.* 2001; Introna *et al.*, 2001; Bourel *et al.* 1999; Goff *et al.* 1997, 1993). La entomotoxicología utiliza técnicas tales como Análisis Radio Inmunológico (RIA), Cromatografía de Gases (GC), Cromatografía de Capa Fina (TLC), Cromatografía Gaseosa Acoplada a Masas (GC-MS) y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Introna *et al.* 2001).

El Propoxur es un producto ampliamente comercializado que no tiene prescripción ni restricciones para su compra y es de bajo costo. Es un carbamato muy persistente, cuyo ingrediente activo presenta un DL 50 de 100 mg/kg de peso. Es un insecticida de ingestión y contacto (FAO 1985).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue detectar cuantitativa y cualitativamente Propoxur en insectos asociados al proceso de descomposición cadavérica, como una metodología de apoyo a la investigación médica y judicial.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la ciudad de Medellín, Colombia, situada a una altitud de 1.450 msnm, en un área designada según Holdridge como bosque húmedo premontano (bh-P), con temperatura ambiental entre 18-24°C y pluviosidad media anual de 1.409 mm (IGAC 1997; Espinal 1985).

Para el estudio se utilizaron cuatro conejos (*Sylvilagus brasiliensis* L.) de 3,1-3,2 Kg. Uno de ellos, que se utilizó como control, fue sacrificado por dislocamiento cervical. A los otros tres se les inyectó con una dosis letal de 10 ml de Propoxur vía intra-cardíaca y se les suministró 1 ml vía oral. Previo al sacrificio todos los conejos fueron anestesiados con 0,7 ml de Ketalar, siguiendo el protocolo aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Antioquia. Después del sacrificio se extrajeron 10 g de hígado de cada uno de los conejos para un posterior análisis toxicológico. Los conejos fueron colocados individualmente en

jaulas metálicas de 60 x 50 x 40 cm separadas entre sí a una distancia de 5 m.

Los insectos que se encontraban sobre los cadáveres fueron colectados diariamente durante 28 días entre los meses de junio y julio, tres veces al día: a las 7, 13 y 18 horas, y una vez al día se midió la temperatura ambiente, la temperatura corporal (rectal) y la pérdida de peso. Se recogieron tanto insectos inmaduros en todos los estadios (LI, LII, LIII, pupa), como adultos en orificios naturales (ojos, orejas, boca y ano); sobrevolando el cuerpo, bajo éste y en el suelo hasta una profundidad de 10 cm en un área de 40 x 60 cm. Una parte de los insectos colectados se fijó y almacenó en alcohol al 70% para la identificación taxonómica y otra parte, consistente en una muestra de individuos de todos los estadios provenientes de todos los sitios, se almacenó de forma individual en viales secos y se llevó a -20°C, al igual que una porción de 20 g de hígado proveniente de cada uno de los cuatro conejos a evaluar para la detección y cuantificación del Propoxur por HPLC.

Procesamiento de insectos en laboratorio. Previo al procesamiento para detección en el HPLC, las muestras entomológicas guardadas en frío se separaron por estadio de desarrollo, previa determinación taxonómica e identificación del estado sucesional correspondiente a la fase de descomposición de cada conejo (Castillo 2001; Shalaby *et al.*, 2000; Schoenly *et al.*, 1996; Timms 1994). De igual forma se procedió con los insectos fijados en alcohol.

Separación y cuantificación del Propoxur por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). El análisis se llevó a cabo en un cromatógrafo líquido (Gilson) con detector de arreglo de diodos

(DAD) a una longitud de onda de 263 nm. Columna: Water BondapackC18: 3,9 x 300 mm, Guarda columna: WAT044480, W10861. Fase móvil: Acetonitrilo: Agua (50:50). Gradiente isocrático: temperatura ambiente y flujo de 1,2 ml/min (Fig. 1). El tiempo de elución del Propoxur fue de 4,4 minutos.

Un máximo de 0,2 g de muestra de insecto o hígado fue sometido a la técnica cromatográfica luego de maceración y tres extracciones; mezcla Agua: ACN (50:50) con 0,5 ml de solución por extracción para un volumen total de 1,5 ml. Cada extracción se acompañó con el sonicador durante 10 minutos. Se centrifugó para separar el sobrenadante en tubos Eppendorf, y se le agregó 0,1 ml de etanol con el fin de precipitar las proteínas para volver a centrifugar. La solución sobrenadante se inyectó directamente en el cromatógrafo líquido.

La cuantificación se realizó por curva de calibración, para ello se prepararon diferentes diluciones del estándar de Propoxur y se inyectaron en el cromatógrafo (Tabla 1). Como estándar interno se empleó el Carbofurano lote 234-101B a un 99% de pureza de CHEM SERVICE, con esos datos se buscó la linealidad del método, graficando la relación área (uA)/concentración (ppm) en función del logaritmo de la concentración (Fig. 2a), empleando el programa estadístico Statgraphics Plus 5.0. El factor de respuesta se encontró en el rango de 400 357,42 y 442 500,30, a un 95% de nivel de confianza. A partir de esos resultados, se determinaron los límites de cuantificación, siendo la concentración de 1,8 ppm el límite de donde se estimó que el Propoxur es cuantificable en un rango de linealidad de 1,8 a 58 ppm. Así mismo, se

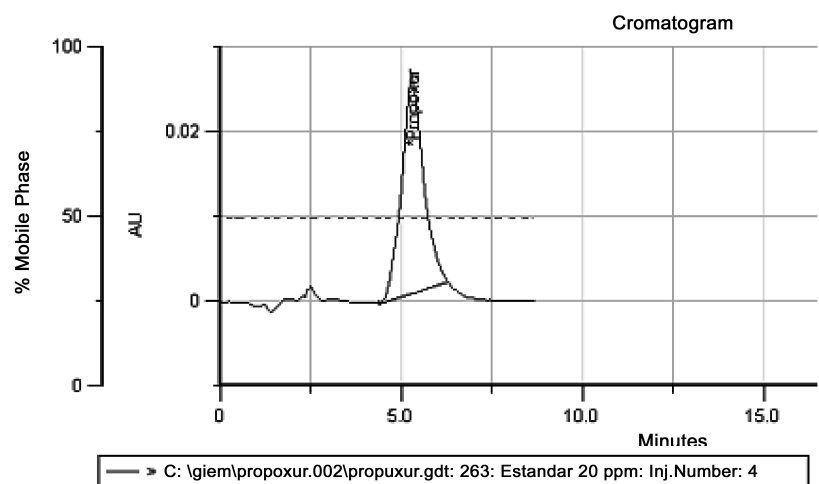


Figura 1. Cromatograma correspondiente al estándar de Propoxur (estándar primario).

Tabla 1. Lectura de las áreas para los estándares de Propoxur en la separación y cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Concentración (ppm)	Área	Relación (Área /Conc.)
1,74	693 622,31	398 633,51
3,46	1 396 695,12	403 669,11
3,46	1 269 687,62	366 961,74
8,54	3 607 951,25	422 674,7
8,36	3 623 713,00	433 458,49
16,60	7 330 403,00	441 590,54
16,60	7 227 574,00	435 396,02
31,82	13 914 855,00	437 299,03
31,82	13 340 988,00	419 264,24
41,65	17 822 600,00	427 913,57
41,65	17 450 574,00	418 981,37
58,33	24 134 596,00	413 759,57
58,33	24 116 156,00	413 443,44

ppm= partes por millón, Área= unidades de área, Conc = concentración.

graficó el área en función de la concentración (Fig. 2b) y se obtuvo una relación lineal entre las variables, con un coeficiente de correlación = 0,99951 y $R^2 = 99,902\%$.

Para validar el método de extracción y separación del Propoxur, se tomaron larvas limpias del conejo control y se doparon con una concentración conocida de Propoxur (estándar primario); lue-

go se procedió al proceso de extracción descrito anteriormente, con un porcentaje de recuperación del 82% (Fig. 3).

Resultados y Discusión

En la sucesión de artrópodos observada durante el proceso de la descomposición, se registraron cinco fases de descomposición: fresco, hinchado, descomposición activa, descomposición avanzada y

momificado, no observándose la fase de restos. Se colectaron organismos pertenecientes a 16 órdenes (Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Blattaria, Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Thysanura, Thysanoptera, Collembola, Acari, Araneae, Geophilomorpha, Isopoda, Oligochaeta) y a 36 familias distribuidos en todas las categorías ecológicas (Smith 1986): necrófagos (Calliphoridae, Muscidae -en parte-, Sarcophagidae, Phoridae, Sepsidae -en parte-, Cleridae, Trogidae, Acari); depredadores (Calliphoridae -en parte-, Muscidae -en parte-, Carabidae, Histeridae, Staphylinidae, Reduviidae -en parte-, Araneae, Geophilomorpha); omnívoros (Blattidae, Vespidae, Formicidae, Labiidae, Labiduridae, Isopoda) e incidentales (Apidae, Braconidae, Cydnidae, Gelastocoridae, Miridae, Reduviidae -en parte-, Chloropidae, Sphaeroceridae, Syrphidae, Tabanidae, Cicadellidae, Membracidae, Elateridae, Gryllidae, Lepismatidae, Thysanoptera, Hypogastruridae, Onychiuridae).

Del total de individuos colectados, se utilizó una muestra (N=73) para el análisis, obteniéndose un resultado positivo (detección y/o cuantificación del Propoxur) en 41 ejemplares entre larvas, pupas y adultos de Diptera y Coleoptera (Tabla 2), pertenecientes a los conejos uno y dos (Figs. 4a-c). En el conejo tres no hubo detección del producto, ni en el control. Las concentraciones de Propoxur que se pudieron cuantificar estuvieron entre 0,6771ppm en larva II de Muscidae y Calliphoridae y 229,712 ppm en larva III de *Lucilia eximia* Wiedemann, y con una área promedio de 284 104,25 y 96 391 120 respectivamente (Tabla 2).

En lo que respecta a las muestras de los hígados, no se encontró Propoxur en ninguno de los conejos sometidos al producto, ni en el control, lo que podría explicarse por el mecanismo de dispersión del Propoxur. Los carbamatos no se acumulan en el organismo; su biotransformación se realiza por hidrólisis, oxidación y conjugación y se eliminan rápidamente por vía urinaria. (Anónimo 2006).

En la sucesión se observó como grupos mayoritarios en estadio de larva individuos de Diptera y Coleoptera; del primer grupo se encontraron las familias Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae y Phoridae y del segundo, Trogidae, Staphylinidae, Dermestidae y Cleridae. La familia Calliphoridae fue la primera en llegar y depositar sus huevecillos en todos los conejos, *L.*

(X 100000)

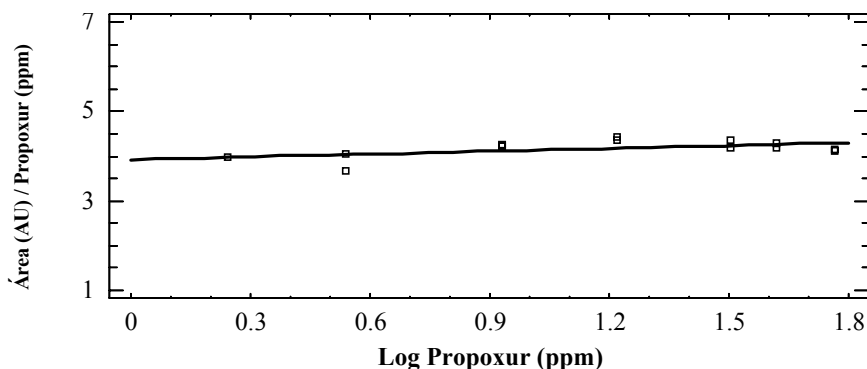


Figura 2a. Evaluación de la linealidad del Propoxur: Relación Área (uA) versus el Logaritmo de la concentración.

(X 1.E6)

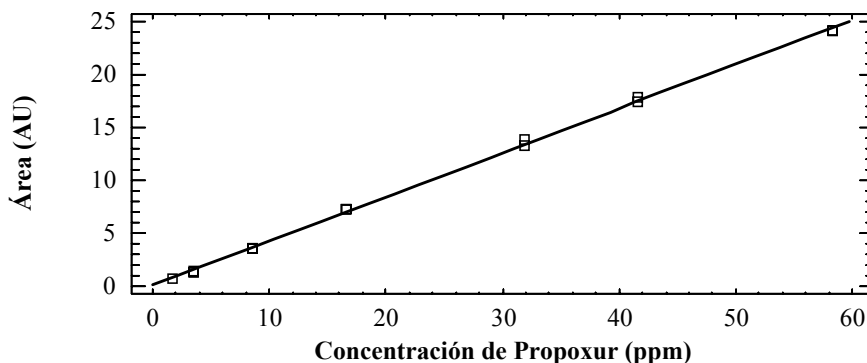


Figura 2b. Curva de calibración del área en función de la concentración.

Tabla 2. Insectos en los cuales se detectó y cuantificó el Propoxur por el método de HPLC.

Modelo	Taxón	Estadio	Masa	Área promedio	Propoxur (ppm)	%p/p
Conejo 1 y 2	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,008	5550017,25	132264	0,248
	<i>Cochliomyia macellaria</i>		0,0501	2275558,125	54229	0,0162
				NC		
	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,0377	2 256 035,12	5,3764	0,0214
	<i>Lucilia eximia</i>		0,1843	3 066 764,25	7,3085	0,0059
			0,1792	6 199 327,25	14,7738	0,0124
			0,1756	14 827 210,50	35,3351	0,0302
			0,1875	17 305 451,50	41,2411	0,033
			0,0474	599 992,40	1,4299**	0,0045
			0,0138	1 278 926,25	3,0478	0,0331
			0,1298	4 438 546,25	10,5776	0,0122
			0,1011	96 391 120,00	229,7121	0,3408
				NC		
	Diptera Calliphoridae	Larva III	0,0702	1 223 009,31	2,9146	0,0062
	<i>Chrysomya albiceps</i>		0,0275	1 350 823,00	3,2192	0,0176
		Pupa	0,0381	5 454 918,00	12,9998	0,0512
	Diptera Calliphoridae	Larva I	0,0485	11 187 264,00	26,6607	0,0825
	(Indeterminada)	Larva II	0,0029	284 104,25	0,6771**	0,035
			0,104	1 087 884,81	2,5926	0,0037
		Pupa	0,1994	1 443 873,44	3,4409	0,0026
			0,0762	3 300 641,25	7,8658	0,0155
			0,1456	8 833 997,50	21,0525	0,0217
			0,0757	14 774 477,50	35,2094	0,0698
	Diptera Muscidae	Larva I	0,0485	11 187 264,00	26,6607	0,0825
	(Indeterminada)			NC		
		Larva II	0,0029	284 104,25	0,6771**	0,035
	Coleoptera Cleridae	Adulto	0,002	915 317,78	2,1813	0,1636
	<i>Necrobia rufipes</i>		0,033	16 991 544,00	40,493	0,1841
	Coleoptera Dermestidae	Larva	0,0193	12 059 589,00	28,7395	0,2234
	<i>Dermestes</i> sp.			NC		
		Adulto	0,0054	589 851,54	1,4057**	0,039
	Coleoptera Trogidae	Larva	0,0513	1 103 567,66	2,6299	0,0077
	<i>Trox</i> sp.		0,0466	4 812 618,00	11,4691	0,0369
				NC		
		Adulto	0,002	1 651 170,32	3,9349	0,2951
			0,0502	3 015 271,26	7,1858	0,0215
			0,0924	3 649 679,12	8,6976	0,0141
			0,014	9 336 103,00	22,2491	0,2384
			0,0105	12 317 623,50	29,3544	0,4193
			0,0149	23 275 856,00	55,4693	0,5584
				NC		
				NC		
	Coleoptera Staphylinidae	Adulto	0,1084	1 491 650,18	3,5548	0,0049

NC = no se cuantificó, aunque se detectó.

eximia, se recolectó en todas las fases de descomposición, disminuyendo en el periodo momificado. *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) estuvo presente en mayor cantidad en el periodo de hinchado al igual que la *Chrysomya albiceps* (Wiedemann), la cual fue encontrada hasta momificado.

Chrysomya megacephala (Fabricius) estuvo presente sólo en el conejo dos desde activo a momificado. Larvas de Sarcophagidae fueron colectadas en todos los modelos desde el periodo hinchado hasta el momificado.

La familia Muscidae (*Polietes* sp.) predominó en todas las fases de descomposición. La familia Phoridae (*Trophodeinus* sp.) se colectó en el suelo a partir del periodo hinchado hasta el final del muestreo. En el segundo grupo, los coleópteros

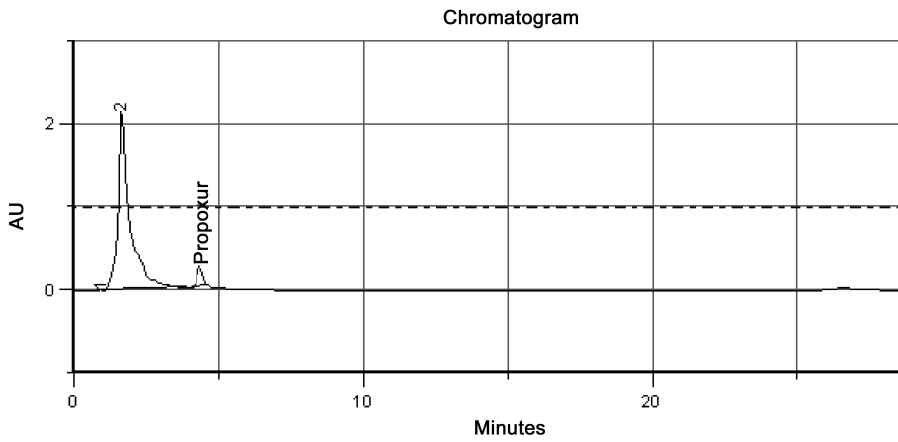


Figura 3. Cromatograma correspondiente a larvas control de *Lucilia eximia*, dopadas con Propoxur (estándar primario).

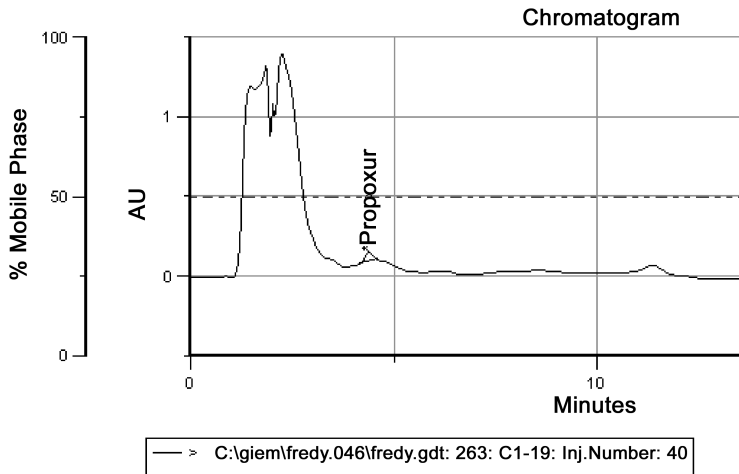


Figura 4a. Cromatograma de detección del Propoxur en una muestra de *Trox* sp. (Coleoptera, Trogidae).

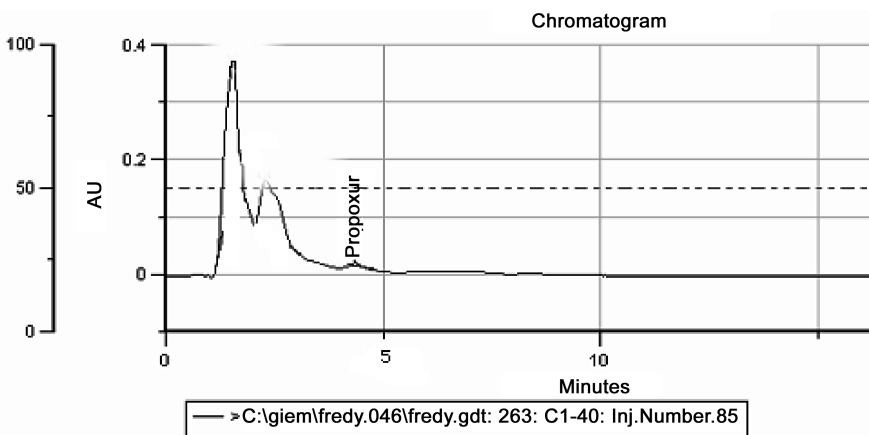


Figura 4b. Cromatograma de detección del Propoxur en una muestra de *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae).

adultos de Trogidae (*Trox* sp.) predominaron desde hinchado hasta momificado. En este grupo se cuantificaron los mayores residuos del veneno; igualmente se obtuvo Staphylinidae (*Aleocharinae*), Dermestidae (*Dermestes* sp.) y Cleridae (*Necrobia rufipes* (DeGeer)); estos últimos de gran importancia en la entomología forense ya que predominan desde la fase de activo hasta la de momificado.

Los himenópteros, presentes en todas las fases de descomposición y que forman parte de la fauna local con carácter de oportunistas, fueron observados devorando larvas, en especial de Diptera. Los demás grupos, que fueron minoritarios (Hemiptera -Gelastocoridae-, Lepidoptera, Anthicidae, Collembola, algunos Formicidae y otros artrópodos -Isópodos y otros-) fueron considerados como incidentales ya que hacen parte de la fauna local.

En cuanto a la detección del Propoxur (Tabla 2), los resultados fueron positivos a partir del periodo en fresco para larvas I de Calliphoridae colectadas directamente del cuerpo, pero no fue posible la cuantificación. Para la fase de *hinchado*, se detectaron nueve larvas III de *L. eximia*, provenientes del suelo y del cuerpo. La detección en pupas se efectuó en ejemplares hallados enterrados a partir de la fase de descomposición *avanzada*, pertenecientes a Calliphoridae (una de *C. albiceps* y cuatro indeterminadas).

Para el caso de los *Dermestes* sp. y *Trox* sp., se detectó el Propoxur tanto en larvas como adultos y en *N. rufipes*, en adultos; estas especies fueron colectadas al interior del cuerpo de los conejos y aunque aparecen en periodos de descomposición desde hinchado hasta momificado (*Trox* sp.) o desde activo a momificado (*Dermestes* sp. y *N. rufipes*), son consideradas propias de las últimas fases de descomposición o, como ocurrió en este trabajo, de partes del cuerpo que sufren un proceso de esqueletización mucho antes que el resto del cuerpo como las patas o miembros inferiores al tener menor cantidad de tejido blando.

Con respecto al consumo de los cadáveres, la presencia del veneno no alteró las etapas sucesionales en los insectos, pero sí las fases de descomposición. Esto fue debido quizás al mecanismo de dispersión del veneno.

La técnica del HPLC mostró ser una herramienta muy eficaz para la Entomotoxicología a partir de muestras con un

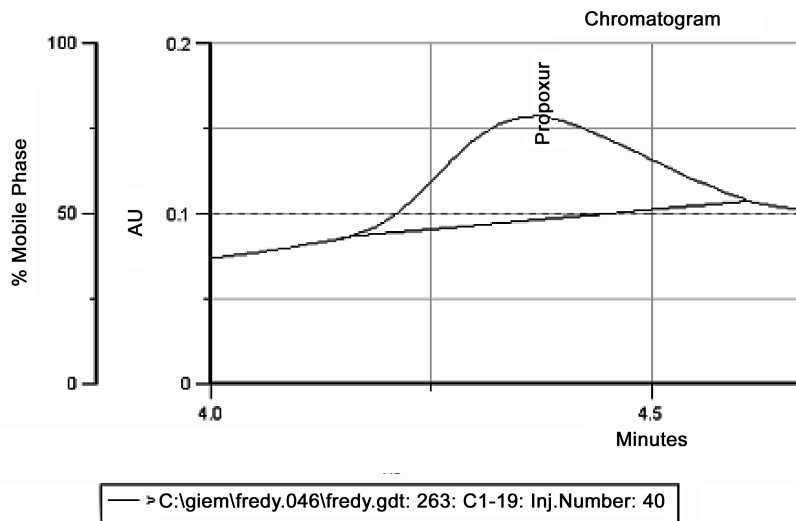


Figura 4c. Ampliación del pico correspondiente al Propoxur, detectado en larva III de *Cochliomyia macellaria* (Diptera, Calliphoridae) luego de ser sometida al proceso de extracción, a una longitud de 263 nm.

peso desde 0,0029 g. Se detectó y cuantificó el Propoxur en larvas LI, II, III, pupa y adultos de Diptera; larvas y adultos de Coleoptera; en las etapas de sucesión de fresco, hinchado, avanzado y momificado. La concentración más alta detectada (0,5584 %) se presentó para los coleópteros (*Trox* sp.) en momificación.

Los estudios en entomotoxicología con fines forenses aunque han sido numerosos son muy escasos en lo que respecta a pesticidas; tan solo se tienen reportes de detección en el organofosforado malation, en el cual se realizaron extracciones por cromatografía gaseosa (GC) en larvas de Diptera (Gunatilake y Goff, 1989) y por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en donde se obtuvieron resultados positivos larvas de Diptera y adultos de Coleoptera (Wolff *et al.* 2004).

Este es el primer estudio que se efectúa con Propoxur, con el cual, se pudo estandarizar un protocolo para cuantificar y detectar el carbamato en insectos de importancia médico-legal. Este trabajo demuestra la importancia de considerar la Entomotoxicología en Colombia como una herramienta eficaz de apoyo a las ciencias forenses.

Literatura citada

ANÓNIMO 2006. Manejo ecológico de plagas: Los plaguicidas y la salud. Sitio web: <http://es.geocities.com/pirineosjuan/plaguicidasalud.html>. Fecha último acceso: 21 febrero 2006.

BOUREL, B.; HÉDOUVER, L.M.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; GOSSET, D. 1999. Effects of morphine in decomposing bodies on the development

of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal Forensic Science* 44 (2): 354-358.

BOUREL, B.; TOURNEL, G.; HÉDOUIN, V.; DEVEAUX, M.; BÉCART, A.; DEVEAUX, M.; GOFF, M. L.; GOSSET, D. 2001. Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication". *Forensic Sciences International* 120 (1-2): 127-131.

CASTILLO MIRALBES, M. 2001. Artrópodos presentes en carroña de cerdos en la comarca de La Litera (Huesca). *Boletín S.E.A* 28: 133-140.

ESPINAL, L.S. 1985. Geografía ecológica del Departamento de Antioquia: zonas de vida, formaciones vegetales. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, Universidad Nacional de Colombia* 38: 1-104.

FAO. 1985. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha. Manual de Capacitación. Roma. Italia. 250 p. Sitio web: <http://www.fao.org/docrep/X5037S/x5037S07.html>. Fecha último acceso: 19 octubre 2006.

GAGLIANO-CANDELA, R; AVENTAGGIATO, L. 2001. The detection of toxic substances in entomological specimens. *International Journal of Legal Medicine* 114: 197-203.

GOFF, M. L.; OMORI, A. I.; GOODBROD, J. R. 1989. Effect of cocaine in tissues on the rate of development of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Medical Entomology* 26: 91-93.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; HEWADIKARAM, K. A.; AMORI, A. I. 1991. Effects of heroin in decomposing tissues on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect on estimations of postmortem intervals using arthropod development patterns. *Journal of Forensic Science* 36: 537-542.

GOFF, M. L.; BROWN, W. A.; AMORI, A. I.; LA POINTE, D. A. 1993. Preliminary observations of the effects of amitriptyline

in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval. *Journal of Forensic Science* 38: 316-322.

GOFF, M. L.; MILLER, M. L.; PAULSON, J. D.; LORD, W. D.; OMARI, A. I. 1997. Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver, and puparia. *Journal of Forensic Science* 42 (2): 276-280.

GOFF, M. L.; LORD, W. L. 2001. Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and impact of drugs and toxins on insect development. p. 331-340. In: Byrd, J.H.; Castner, J.H. (eds.). *Forensic entomology*. CRC Press, Boca Raton.

HÉDOUIN, V.; BOUREL, B.; BÉCART, A.; TOURNEL, G.; DEVEAUX, M.; PHARM, D.; GOFF, M. L.; GOSSET, D. 2001. Determination of drug levels in larvae of *Protophormia terranova* and *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) reared on rabbit carcasses containing morphine. *Journal of Forensic Science* 46 (1): 12-14.

INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTIN CODAZZI. 1997. Zonas de vida o formación vegetal de Colombia, explicativo sobre el mapa ecológico, Bogotá. 235 p.

INTRONA, F.; LODICO, C.; CAPLAN, Y. H.; SMIALEK, J. E. 1990. Opiate analysis in cadaveric blowfly larvae as an indicator of narcotic intoxication. *Journal of Forensic Science* 35: 118-122.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L. 2001. Entomotoxicology. *Forensic Sciences International* 120 (1-2): 42-47.

SCHOENLY, K.; GOFF, M. L.; WELL, J. D.; LORD, W. D. 1996. Quantifying statistical uncertainty in succession - based entomological estimates of the postmortem. *Interval in death scene investigation: a simulation study*. *American Entomologist* 42: 106-112.

SHALABY, O. A.; CARVALHO D. L. M.; GOFF, M. L. 2000. Comparison of Patterns of Decomposition in a Hangin Carcass and a Carcass in Contact with Soil in a Xerophytic Habitat on the Island of Oahu, Hawaii. *Journal of Forensic Science* 45 (6): 1267-1273.

SMITH, K. G. 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. Department of Entomology, British Museum. London. 205 p.

TIMMS, R. F. 1994. Determinación del Tiempo de Muerte en Cadáveres Putrefactos, Momificados y Saponificados. *Medicina Legal de Costa Rica* 10 (2): 17-21.

WOLFF, M.; BUILES, A.; ZAPATA, G.; MORALES, G.; BENECKE, M. 2004. Detection of Parathion (0,0-diethyl 0 (4-nitrophenyl) phosphorothioate) by HPLC in insects of forensic importance in Medellín, Colombia. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology* 5 (1): 6-11.