

# Protocolo de recolección y conservación entomológica forense en experiencias con *Sus Scrofa* (Linnaeus)

*Protocol for the collection and preservation of forensic entomological samples in experiences with *Sus Scrofa* (Linnaeus)*

Denise A. Thomas, Mario Bordi y María P. Campos Soldini\*



Fecha de recepción: 29/09/2025

Fecha de aceptación: 01/11/2025

## Introducción

La importancia de los protocolos entomológicos forenses radica en su lineamiento de estandarizar y asegurar la calidad de recolectar, preservar y analizar insectos para la determinación del tiempo transcurrido desde la muerte (intervalo post-mortem) y el lugar de deceso, siendo crucial para obtener evidencia científica confiable y generar conocimientos sobre la biodiversidad y las dinámicas poblacionales de insectos. Un protocolo efectivo garantiza la recolección correcta de muestras vivas y muertas, la documentación detallada de la escena y los hallazgos, a la vez que permite al profesional reconstruir los hechos de forma precisa. El uso de evidencias entomológicas es cada vez más frecuente; más concretamente, la utilización de insectos y artrópodos en general como elementos de investigación se encuentra justificada por diversas razones (Catts y Goff, 1992; Byrd y Castner, 2001). Entre ellas podemos destacar que son estos organismos los primeros en descubrir un cadáver, incluso si se lo ha intentado esconder. Por ejemplo, los dípteros son capaces de localizar un cadáver tan solo unos minutos después del descenso, o incluso antes (Amendt et al., 2004; Greenberg y Kunich, 2002) y, por otro lado, los artrópodos aparecen en el cuerpo en descomposición en una secuencia temporal determinada y por lo tanto predecible,

\* Laboratorio de Entomología. CICYTTP (CONICET-Prov. ER-UADER) Entre Ríos, Argentina. Cátedra de Sistematica Animal I, Licenciatura en Biología (FCyT-UADER). Contacto: mariapaulacampos@gmail.com

aunque es variable en función de la región geográfica y la época del año. De esta manera, se puede obtener conclusiones significativas desde el punto de vista forense, a partir de datos relativos de colonización sucesiva de un cadáver, o identificando el estado de desarrollo de los insectos colectados en un cadáver o en relación a él (Arnaldos et al., 2001). Para que pueda ser utilizada con todo el rigor necesario, la entomología forense debe recurrir a los procedimientos de toma de muestras y su tratamiento lo más riguroso posible. Se han descrito diversos protocolos de actuación: Catts y Haskell (1991), Catts y Goff (1992), Arnaldos et al. (2001), Byrd y Castner (2001), Greenberg y Kunich (2002), Amendt et al. (2004). Se estima aconsejable unificar, de modo sencillo, completo y adecuado, el conjunto de procedimientos a seguir en el orden más conveniente para la adecuada recolección y conservación de muestras entomológicas, de modo que se convierta en un protocolo a seguir en la rutina forense. Es por ello que proponemos un protocolo de colecta y conservación de muestras entomológicas para biomodelos colocados en dos ambientes diferentes: (1) en la tierra, (2) a orillas de un curso de agua.

### **Protocolo de recolección y conservación de muestras entomológicas**

Materiales necesarios para la recolección, manipulación y conservación del material entomológico (véase la Figura 1).

#### Trabajo a campo y laboratorio

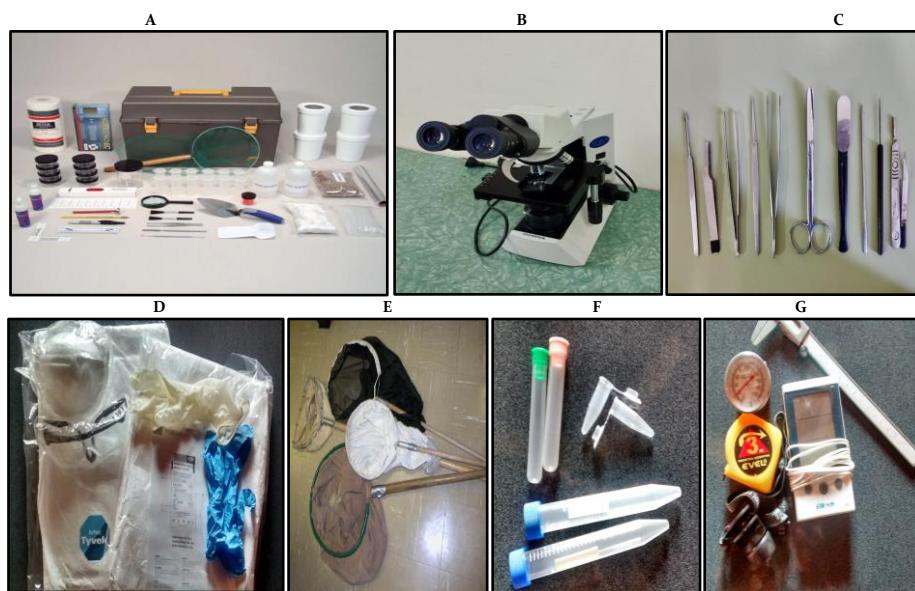
- 1) Guantes de cuero/lona y nitrilo.
- 2) Pinzas de punta fina.
- 3) Pincel (número 2 o similar).
- 4) Trampas adhesivas o, en su defecto, tiras adhesivas para insectos.
- 5) Red entomológica.
- 6) Trampas Pit-fall.
- 7) Anticongelante al 10% o mezcla detergente.
- 8) Jaulas de madera y alambre romboidal.
- 9) Estacas para fijar las trampas al suelo.
- 10) Pinzas y alicates para el alambre.
- 11) Recipientes tipo frasco para análisis, 15 de 60 ml. en plástico, 20 de 25 ml. en vidrio, tubos de plástico de 5 ml.
- 12) Tubos eppendorf.
- 13) Bolsas herméticas de un litro de capacidad.

## Notas

Denise A. Thomas, et al., Protocolo de recolección y conservación entomológica forense...

- 14) Recipiente con alcohol etílico 70%.
- 15) Recipientes con tapas adaptadas de 125 ml para las crías de larvas.
- 16) Recipiente térmico con agua caliente entre 80ºC- 90ºC.
- 17) Pala o azada para recogida de muestras de suelo y hojarasca.
- 18) Papel blanco para etiquetas.
- 19) Lápiz de grafito.
- 20) Espátulas.
- 21) Termómetros de punción y ambiental.
- 22) Cajas entomológicas.
- 23) Camas entomológicas.
- 24) Elementos de bioseguridad personal.
- 25) Calibre vernier.
- 26) Papel tissue para limpieza del equipo.
- 27) Trozos de tela tipo voile de 15x15 cm para cultivos.

**Figura 1.** A) Equipo comercial para la recolección de evidencia entomológica, marca Evident. B) Lupa estereoscópica. C) Kit de pinzas para entomología. D) Elementos de bioseguridad personal: overol Tyvek, guantes de nitrilo (celeste), látex (blanco), antiparras y barbijo. E) Redes de uso entomológico. F) Frascos tapa rosca para preservar material. G) Termohigrómetro ambiental digital. Dial analógico del termómetro de punción. Linterna de vincha (mantiene la mano libre para la manipulación de los elementos de recogida durante la noche) y elementos de medición estándar (cinta métrica y calibre tipo Vernier).



### 1. Toma de muestras

En la Tabla 1 se resumen las diferentes etapas, frecuencias, duraciones, métodos de colecta, preservación y cría de los ejemplares observados.

**Tabla 1.** Toma de muestras de insectos (modificado de Armani et al., 2015)

Etapa del muestreo	Frecuencia de colecta	Duración	Método de colecta	Preservación/cría		
Días 1-4	2 veces por día	4 días	De forma manual, utilizando cucharas, pinzas, red entomológica, trampas de caída	Huevos: parte en alcohol 70%, parte vivos		
				Larvas, prepupas y pupas: parte criadas hasta adultos, parte fijadas en agua caliente (80-90°C) y luego en alcohol 70%		
				Voladores: red entomológica		
				No voladores: trampas de caída, frascos mortíferos		
Días 5-11	1 vez por día	7 días	De forma manual, utilizando cucharas, pinzas, red entomológica, trampas de caída	Huevos: parte en alcohol 70%, parte vivo		
				Larvas, prepupas y pupas: parte criadas hasta adultos, parte fijadas en agua caliente (80-90 °C) y luego en alcohol 70%		
				Voladores: red entomológica		
				No voladores: trampas de caída, frascos mortíferos		
Días 12-18	día por medio	7 días	De forma manual, utilizando cucharas, pinzas, red entomológica, trampas de caída	Huevos: parte en alcohol 70%, parte vivos		
				Larvas, prepupas y pupas: parte criadas hasta adultos, parte fijadas en agua caliente (70-80 °C) y luego en alcohol 70%		
				Voladores: red entomológica		
				No voladores: trampas de caída, frascos mortíferos		
Días 19-33	2 veces por semana	15 días	De forma manual, utilizando cucharas, pinzas, red entomológica, trampas de caída	Huevos: parte en alcohol 70%, parte vivos		
				Larvas, prepupas y pupas: parte criadas hasta adultos, parte fijadas en agua caliente (70-80 °C) y luego en alcohol 70%		
				Voladores: red entomológica		
				No voladores: trampas de caída, frascos mortíferos		
Hasta la esqueletización	1 vez por mes	según duración del proceso (puede superar un mes)	de forma manual, utilizando cucharas, pinzas, red entomológica, trampas de caída	Huevos: parte en alcohol 70%, parte vivos.		
				Larvas, prepupas y pupas: parte criadas hasta adultos, parte fijadas en agua caliente (70-80 °C) y luego en alcohol 70%		
				Voladores: red entomológica		
				No voladores: trampas de caída, frascos mortíferos		
Observaciones	Períodos de colecta de 15 minutos.					
	Cada muestra debe rotularse con fecha, hora de recolección y fase de descomposición antes de ser trasladada al laboratorio.					

## 2. Registros de parámetros ambientales

### Cuerpo sobre el suelo:

- 1) Temperatura del suelo en la superficie.

## Notas

Denise A. Thomas, et al., Protocolo de recolección y conservación entomológica forense...

- 2) Temperatura bajo el cadáver: introducir el termómetro entre el cadáver y la superficie del suelo.
- 3) Temperatura rectal del biomodelo.
- 4) Temperatura de la masa de larvas: insertar un termómetro de punción en la región donde se visualicen la mayor cantidad de larvas.
- 5) Humedad y temperatura de la escena: se registrará la temperatura y la humedad relativa proporcionadas por la estación meteorológica del INTA.

### **Cuerpo a orilla del curso de agua:**

- 1) La temperatura ambiente hasta 1 metro sobre la superficie, siempre en las proximidades del cuerpo.
- 2) Temperatura del agua y la superficie de tierra.
- 3) Temperatura bajo el cadáver: introducir el termómetro entre el cadáver y la superficie del agua y la tierra.
- 4) Temperatura de la zona de contacto cuerpo-superficie, deslizando la sonda entre el cuerpo y la superficie del sustrato.
- 5) Temperatura de la masa de larvas: insertar un termómetro de punción en la región donde se visualicen la mayor cantidad de larvas.

Una vez realizada las anotaciones ambientales necesarias del escenario forense, si es posible, se debe fotografiar su entorno. Es recomendable estimar la duración de la exposición del cadáver a la luz solar directa en ambos ambientes. Para ello se debe observar el entorno vegetal (si lo hay).

### **3. Muestras de insectos sobre la superficie terrestre y a orillas de curso de agua: pasos a seguir**

**Tabla 2.** Pasos para la toma de muestra de insectos alrededor del cuerpo

Etapa	Acción a realizar	Observaciones
1	Observar y registrar la actividad de insectos	Presencia en restos y alrededores inmediatos
2	Localizar zonas de mayor actividad	Regiones del cuerpo y áreas circundantes (3 a 6 cm)
3	Reconocer y registrar estados de desarrollo	Huevos, larvas (gusanos), pupas (marrón oscuro), puparios/adultos o restos
4	Registrar insectos predadores	Ejemplo: himenópteros (avispas)
5	Señalar posición exacta del cuerpo	Orientación, extremidades, cabeza, rostro.
6	Registrar contacto del cuerpo con el suelo y exposición	Identificar partes en contacto con el suelo, expuestas al sol o a la sombra
7	Documentar visualmente	Fotografías y videos.

#### 4. Muestras de insectos recolectadas sobre y dentro del cuerpo, tanto en ambiente terrestre como en las orillas de un curso de agua

Se recolectarán huevos, larvas, prepupas, pupas, exuvias y adultos localizados sobre el cadáver en un área perimetral de 50 cm (Aballay et al., 2011). Se debe colectar solo los ejemplares que se vean con facilidad y ser cuidadosos con la manipulación para evitar cualquier lesión que, inadvertidamente, pueda causarse al cuerpo. Hay que hacer mención a ciertas regiones del cuerpo en que los insectos tienden a concentrarse o mostrar mayor actividad, por ejemplo, orificios nasales, orejas, ojos, zonas de traumatismo, entre otros. Básicamente podemos encontrar tres tipos de evidencias entomológicas: insectos voladores, insectos no voladores, estados preimaginarios (huevos, larvas, pupas) y otros artrópodos. En la tabla 3 se lista una serie de pasos para el muestreo de insectos sobre el cuerpo.

En todas las muestras colectadas se deben indicar: número de muestra, nombre colector, lugar del cuerpo donde fue colectada, fecha, hora, lugar o localidad, provincia, número de causa, expediente o actuación policial.

**Tabla 3.** Pasos para la toma de muestra de insectos sobre el cuerpo

Toma de muestra (campo/ sobre el cuerpo)			
Tipo de muestra	Recolección	Procedimiento	Embalaje
<b>Insectos adultos (moscas)</b>	Sobre el cadáver, con red entomológica o bolsa plástica	Introducir el frasco denominado matador con acetato de etilo o acetona (quitaesmalte). Mantener aprox. 15 minutos hasta la muerte.	Trasladar a sobres de papel o frascos tapados libres de humedad y rotular.
<b>Insectos adultos (coleópteros)</b>	Con pinzas entomológicas o a mano con guantes de látex	Colocar en frascos de vidrio o plástico herméticos con alcohol al 70%	Doble rótulo (interno y externo), escrito con lápiz o fibra indeleble que se introduce en el frasco; y otro tipo adhesivo que se pega al exterior del recipiente.
<b>Huevos</b>	Con pincel o cuchara.	Colocar en tubo eppendorf o vial pequeño con papel húmedo para evitar deshidratación durante el traslado	Rotular.
<b>Insectos inmaduros (larvas, prepupas y pupas)</b>	Con pinzas, espátula o cuchara con guantes de látex, evitando la ruptura de las muestras.	Colocar en agua caliente (80-90 °C) por 5 min, luego pasar a frascos con alcohol 70%. Y parte criadas hasta adultos. (Ver procedimiento de cría).	Doble rótulo (interno y externo), escrito con lápiz o fibra indeleble que se introduce en el frasco; y otro tipo adhesivo que se pega al exterior del recipiente.

#### 5. Metodología de levantamiento, conservación y cría de muestras

La metodología se resume en la Tabla 4.

## Notas

Denise A. Thomas, et al., Protocolo de recolección y conservación entomológica forense...

**Tabla 4.** Metodología de levantamiento, conservación y cría de muestras

Estadios		Recolección		Conservación
HUEVOS	_____	Con pinzas. Colocar en un trozo de carne (5 x 5 x 1 cm aprox.). Envolver el trozo en sobres de papel metali-zado dejando entreabierta una de las caras. Colocar en un recipiente plástico con 5 cm de tierra. Cubrir con tela voile y sujetar al recipiente con doble banda elástica.		Posteriormente llevar a cámara de cría hasta la emergencia del adulto.
PUPAS Y LARVAS	_____	Con pinza entomológica o espátula usando guantes de látex y evitando la ruptura de la muestra. Colocar en un recipiente y verter agua caliente. Dejar la muestra en el recipiente por 10 minutos.		Trasladar la muestra a frascos de vidrio o plástico herméticos con alcohol 70%. Realizar doble rótulo, uno con papel vegetal escrito con lápiz que se introduce en el frasco y otro (tipo adhesivo) que se pega al exterior del recipiente.
	<b>Dípteros</b>	<u>Larvas</u>	Colocar en un trozo de carne (5 x 5 x 1 cm aprox.). Envolver el trozo en sobres de papel metalizado dejando entreabierta una de las caras. Colocar en un recipiente plástico con 5 cm de tierra. Cubrir con tela voile y sujetar al recipiente con doble banda elástica.	Posteriormente llevar a cámara de cría hasta la emergencia del adulto.
		<u>Pupas</u>	Colocar en un recipiente plástico con 5 cm de tierra. Cubrir con tela voile y sujetar al recipiente con doble banda elástica.	
	<b>Coleópteros</b>	<u>Larvas y pupas</u>	Colocar larvas y pupas destinadas a la cría en laboratorio dentro de un recipiente plástico con tierra húmeda o sustrato del sitio. Sobre este se dispondrá una capa de pequeños trozos de gasa, seguida de carne de pollo y una capa de hojarasca del entorno, cubriendo finalmente con voile. La manipulación de las muestras se realizará con pinzas entomológicas o manualmente, utilizando guantes de látex y procurando no dañarlas.	Trasladar la muestra a frascos herméticos de vidrio o plástico con alcohol 70%.
ADULTOS	<b>Dípteros</b>	Sobre el cadáver con red entomológica. Introducir los especímenes en frasco matador con acetato de etilo y tapar. Dejar la muestra en el frasco por el lapso aproximado de 15 minutos hasta la muerte de los especímenes.		Trasladar a sobres de papel.
	<b>Coleópteros</b>	Con pinzas entomológicas o a mano utilizando guantes de látex y evitando la ruptura de la muestra.		Colocar en frascos herméticos de vidrio o plástico con alcohol 70%. Realizar doble rótulo, uno con papel vegetal escrito con lápiz que se introduce en el frasco y otro (tipo adhesivo) que se pega al exterior del recipiente.

## 6. Cría de material colectado, realización de cultivos

- El procedimiento para el cultivo de larvas se realizará tomando el recipiente (frasco) con la muestra a cultivar, observando el tamaño y número de individuos presentes. En caso de que en una misma muestra existan diferentes tamaños o morfoespecies de larvas, se deberán realizar cultivos separados de acuerdo a la edad o el tipo.
- Posteriormente, se cortará un trozo de papel aluminio acorde a la cantidad de carne que se vaya a utilizar. El trozo de carne deberá ser proporcional al número y tamaño de las larvas: por ejemplo, un corte de 5 x 5 x 1 cm resultaba adecuado para unas 20

o 30 larvas grandes. En caso de contar con mayor cantidad de individuos, incluso si son pequeños, se debe considerar que necesitarán suficiente alimento hasta alcanzar el estadio III, por lo que será necesario proporcionales más carne.

- Una vez definida la porción, ésta se envuelve con papel aluminio, dejando una de las caras abiertas para introducir las larvas. Luego, se colocará perlita u otro tipo de sustrato en el recipiente hasta completar aproximadamente un cuarto de su volumen y, sobre éste, se apoyará el paquete con carne en posición lateral.
- A continuación, se retirará el voile del recipiente que contiene las larvas y, con ayuda de pinzas, se trasladaron al interior del paquete. Durante este proceso es importante contar o, al menos, estimar el número real de ejemplares. Posteriormente, el paquete se cierra dejando una cara entreabierta y se cubre con voile, asegurándose con una bandita elástica.
- El rótulo original del frasco del que fueron tomadas las larvas debe transcribirse al nuevo recipiente con el cultivo. En caso de preparar más de un cultivo con la misma muestra, se repetirá la operación y se enumeran los recipientes de manera consecutiva para su identificación.
- Finalmente, todos los recipientes preparados se colocarán en los cuartos de cría, donde las larvas continuarán su desarrollo bajo condiciones controladas, manteniendo la temperatura lo más estable posible y evitando la exposición a temperaturas extremas o a la luz solar directa.

## 7. Registro de datos

### A. Volcado de datos a las planillas

- El volcado de datos a las planillas comenzará con la apertura de un archivo en el que se registrarán, para cada fecha de muestreo, las temperaturas obtenidas, la humedad relativa y las observaciones correspondientes. En ese mismo registro se incluirán las anotaciones relacionadas con las condiciones del cuerpo y de la fauna observada, prestando especial atención a los momentos en que se produzcan los cambios de estadio.

## Notas

Denise A. Thomas, et al., Protocolo de recolección y conservación entomológica forense...

- De manera complementaria, en una carpeta rotulada con la fecha del muestreo se almacenarán las fotografías tomadas durante la jornada, de modo que queden organizadas y vinculadas con los datos de campo.
- Una vez determinados los ejemplares colectados, se procederá a completar una plantilla específica para cada uno de ellos. En esta se consignarán fecha y hora de captura, los datos sistemáticos correspondientes (orden, familia, género o especie), el estadio, el número de individuos, el rótulo del sobre, frasco o recipiente en que fueron conservados, así como cualquier observación relevante.
- En los casos en que en una misma muestra se presenten varios tamaños o morfoespecies de larvas, se realizarán cultivos separados de acuerdo con la edad y tipo, dejando constancia de ello en las planillas.

### B. Identificación de la entomofauna cadavérica

- La determinación taxonómica de lejemplares recolectados se realizará mediante el uso de claves dicotómicas para los distintos niveles taxonómicos o se remitirá a la colaboración de especialistas en los diferentes grupos.
- Para la identificación de los coleópteros se usarán las siguientes claves:
  - Para Subórdenes: Ross (1968).
  - Para Familias: Ross (1968); Bousquet (1990); Ocampo y Ruiz Manzanos (2008); Almeida y Mise (2009).
  - Para subfamilias: Solervicens (2008); Brunke et al. (2011); Vaz-De-Mello et al. (2011).
  - Para las Tribus: Roig-Juñent y Domínguez (2001); Brunke et al. (2011).
  - Para Género y Especie: Vaz-De-Mello y Edmonds (2006); Díaz Martin y Saloña-Bordas (2015); Almeida y Mise (2009); Aballay et al. (2016).

## Bibliografía citada

- ❖ Aballay, F. H.; Chanirosse, M. R.; Ayón, M. R. y M. B. Maldonado, 2011. “An illustrated key to and diagnoses of the species of Staphylinidae (Coleoptera) associated with decaying carcasses in Argentina” (pp. 101-124), *Zootaxa*, 3860(2). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3860.2.1>

- ❖ Aballay, F. H.; Flores, G. E.; Silvestro, V. A.; Zanetti, N. I. y N. D. Centeno, 2016. “An illustrated key to, and diagnoses of, the species of Tenebrionidae (Coleoptera) associated with decaying carcasses in Argentina” (pp. 703–726). *Annales Zoologici*, 66(4). <https://doi.org/10.3161/00034541ANZ2016.66.4.021>
- ❖ Almeida, L. M. y K. M. Mise, 2009. “Diagnosis and key of the main families and species of South American Coleoptera of forensic importance” (pp. 227–244), *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(2).
- ❖ Amendt, J.; Krettek, R. y R. Zehner, 2004. “Forensic entomology” (pp. 51–65). *Naturwissenschaften*, 91(2).
- ❖ Arnaldos, M. I.; García, M. D.; Romera, E.; Presa, J. J. y A. Luna, 2001. “Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence” (pp. 32–38). *Forensic Science International*, 120(1–2).
- ❖ Bousquet, Y., 1990. *Beetles associated with stored products in Canada: An identification guide*. Research Branch, Agriculture Canada.
- ❖ Brunke, A., Newton, A., Klimaszewski, K., Majka, C. y S. Marshall, 2011. “Staphylinidae of Eastern Canada and adjacent United States: Key to subfamilies; Staphylininae: Tribes and Subtribes and species of Staphylinina” (pp. 1–110). *Canadian Journal of Arthropod Identification*, 12.
- ❖ Byrd, J. H. y J. L. Castner, 2001. *Forensic entomology: The utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press.
- ❖ Catts, E. P. y N. H. Haskell (Eds.), 1991. *Entomology and death: A procedural guide*. Joyce’s Print Shop.
- ❖ Catts, E. P. y M. L. Goff, 1992. “Forensic entomology in criminal investigations” (pp. 253–272). *Annual Review of Entomology*, 37.
- ❖ Díaz-Martín, B. y M. I. Saloña-Bordas, 2015. Arthropods of forensic interest associated to pig carcasses in Aiako Harria Natural Park (Basque Country, Northern Spain) (pp. 207–228). *Ciencia Forense* (12).
- ❖ Greenberg, B. y J. C. Kunich, 2002. *Entomology and the law: Flies as forensic indicators*. Cambridge University Press.

### Notas

Denise A. Thomas, et al., Protocolo de recolección y conservación entomológica forense...

- ❖ Ocampo, F. C. y E. Ruiz-Manzanos, 2008. “Scarabaeidae” (pp. 535–557). En: G. O. Debandi; Claps, L. E. y S. A. Roig-Juñent (Eds.), *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos* (Vol. 2), Sociedad Entomológica Argentina ediciones.
- ❖ Roig-Juñent, S. y M. C. Domínguez, 2001. “Diversidad de la familia Carabidae (Coleoptera) en Chile” (pp. 549–571). *Revista Chilena de Historia Natural*, 74(3). <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2001000300006>
- ❖ Ross, C. A.; Ross, J. R. P. y H. H. Ross, 1982. *Un libro de texto de entomología*. Wiley.

**Cita:** Thomas, D. A.; Bordi, M. y M. P. Campos-Soldini, 2025. “Protocolo de recolección y conservación entomológica forense en experiencias con *Sus Scrofa* (Linnaeus)” (pp. 140-150), @rchivos de Ciencia y Tecnología Nº 7, FCyT-UADER, Oro Verde.