



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

PREFERENCIA OVIPOSITORIA DE MOSCAS NECRÓFAGAS (DIPTERA:
CALLIPHORIDAE Y SARCOPHAGIDAE) EN CARNES DE CERDO (*SUS
SCROFA*) INFECTADAS POR DIFERENTES ESPECIES BACTERIANAS

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

POR:

MÓNICA APARICIO 4-793-1318

CONNY HERNÁNDEZ 4-787-1281

ASESORES:

DR. ROGELIO SANTANACH

M. Sc. OSIRIS MURCIA

M. Sc. GUSTAVO GUERRA

DAVID, CHIRIQUÍ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2021

Dedicatoria

Dedicado a mis padres, Yadira de Aparicio y Edwin Aparicio, y a mi hijo Ian Isaac, que me han apoyado a lo largo de toda mi carrera universitaria, y sé que están muy orgullosos de mí y de cada uno de mis logros.

Mónica Aparicio

Dedicatoria

A mi madre Yacqueline Otero y mi padre Gazner Hernández por ser los motores principales de mi vida e impulsarme a seguir adelante y lograr cada meta que me proponga.

Conny Hernández

Hoja de agradecimiento

Agradecida con Dios por permitirme realizar mi trabajo de tesis.

Con los profesores por toda la enseñanza que me han brindado y por cada uno de sus consejos.

Gracias a todas las personas que me han acompañado a lo largo de este camino, especialmente mis padres, mis hermanos y mi hijo.

Agradecida con mis coasesores de tesis por todo su tiempo y su dedicación.

Mónica Aparicio

Hoja de agradecimiento

A mi familia por el apoyo, en especial a mi madre (Yacqueline Otero) por creer en mis capacidades y otorgarme el privilegio de estudiar patrocinando toda mi carrera con mucho esfuerzo. A mi padre (Gazner Hernández) por motivarme desde pequeña a superarme académicamente. A mi tía (Hugueth Hernández) por su apoyo en el transporte durante la fase de campo de este proyecto.

A Michael Guerrero por su apoyo incondicional aportando palabras de aliento en momentos en los que los ánimos descendían.

A Percis Garcés por brindar información para la realización de este trabajo.

A Oscar Pinzón y Nelson Carrasco por brindarme motivación para culminar este largo camino.

A los asesores Rogelio Santanach, Osiris Murcia y Gustavo Guerra por otorgar su tiempo y conocimiento en la realización de esta investigación.

A Sara Miranda y Henry Corella por la ayuda en el proceso de colecta e identificación de las larvas.

A todas las larvas que fueron sacrificadas en pro de la ciencia.

Conny Hernández

Resumen

Los insectos son utilizados en la entomología forense principalmente para la estimación del intervalo *post-mortem* en fases tempranas de la descomposición. Los primeros organismos en colonizar estos microsistemas que se forman son los dípteros y es que luego de 72 horas es notable la presencia de larvas de estos insectos. El objetivo de este estudio fue determinar las especies de larvas de moscas de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae de importancia forense capturadas utilizando carne de cerdo inoculada con diferentes especies bacterianas, a fin de identificar la preferencia de las hembras de las moscas adultas para la oviposición. Para la colecta de las larvas se establecieron cuatro estaciones de muestreo ubicadas en los distritos de Boquerón, Dolega y Bugaba. Se realizaron pruebas de antibiograma para conocer la sensibilidad o resistencia de las bacterias frente a diversos antibióticos. Las bacterias identificadas fueron *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium violaceum*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus viridans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus* sp. De éstas, las tres últimas presentaron mayor resistencia a los antibióticos, mientras que, *E. coli* fue la que mayor sensibilidad presentó. Se determinó que la E2 ubicada en Los Algarrobos, Dolega, fue la estación con mayor cantidad de larvas recolectadas de Calliphoridae todas correspondientes a la especie *Phormia regina*. Cabe destacar que en Calliphoridae solo se obtuvieron larvas en cuatro de las ocho bacterias utilizadas en los cebos arrojando una preferencia de las hembras a la hora de ovipositar mientras que para Sarcophagidae se pudo determinar a través de una prueba de Chi² de Bondad de Ajuste que existe diferencia significativa en cuanto a la cantidad de larvas obtenidas en las trampas, entre las estaciones de muestreo y entre las especies bacterianas. Estas larvas se identificaron como *Sarcophaga* sp. y el mayor número se obtuvo del cebo correspondiente a *Streptococcus viridans* y en la E1 ubicada en una zona boscosa en Macano, Boquerón.

Abstract

Insects are used in forensic entomology mainly for the estimation of the post-mortem interval in the early stages of decomposition. The first organisms to colonize these microsistemas that are formed are the diptera, and after 72 hours the presence of larvae of these insects is notable. The objective of this study was to determine the species of fly larvae of the families Calliphoridae and Sarcophagidae of forensic importance captured using pig meat inoculated with different bacterial species, in order to identify the preference of female adult flies for oviposition. For the collection of the larvae, four sampling stations were established located in the districts of Boquerón, Dolega and Bugaba. Antibiogram tests were carried out to know the sensitivity or resistance of the bacteria against various antibiotics. The bacteria identified were *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium violaceum*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus viridans*,

Pseudomona aeruginosa and *Bacillus* sp. Of these, the last three presented the highest resistance to antibiotics, while *E. coli* was the one with the highest sensitivity. It was determined that E2 located in Los Algarrobos, Dolega, was the station with the highest number of collected larvae from Calliphoridae, all corresponding to the *Phormia regina* species. It should be noted that in Calliphoridae larvae were only obtained in four of the eight bacteria used in the baits, yielding a preference for females when ovipositing, while for Sarcophagidae it could be determined through a Chi2 Goodness of Fit test that exists. Significant difference in terms of the number of larvae obtained in the traps, between sampling stations and between bacterial species. These larvae were identified as *Sarcophaga* sp. and the highest number was obtained from the bait corresponding to *Streptococcus viridans* and on the E1 located in a wooded area in Macano, Boqueron.

Índice General

Dedicatoria.....	2
Agradecimiento.....	4
Resumen/Abstract.....	6
Índice General.....	8
Índice de cuadros.....	11
Índice de figuras.....	12

Capítulo I Marco introductorio

1. Antecedentes.....	15
1.1 Justificación del problema.....	18
1.2 Hipótesis.....	21
1.2.1 Nula.....	21
1.2.2 Alterna.....	21
1.3 Objetivos.....	22
1.3.1 General.....	22
1.3.2 Específicos.....	22

Capítulo II Marco Teórico

2. Revisión de literatura.....	24
2.1 Entomología Forense.....	24
2.2 Intervalo <i>post-mortem</i> (IPM).....	25
2.3 Factores que influyen en el desarrollo de los insectos.....	26
2.3.1 Efectos de la geografía.....	26

2.4 Diptera.....	26
2.4.1 Calliphoridae.....	27
2.4.2 Sarcophagidae.....	28
3. Identificación taxonómica.....	28
4. Características ovipositorias en Calliphoridae y Sarcophagidae.....	29

Capítulo III Materiales y Métodos

3. Área de estudio.....	31
3.1 Localización y descripción de las áreas de muestreo.....	31
3.2 Preparación de los medios de cultivos.....	32
3.2.1 Agar MacConkey.....	32
3.2.2 Agar sangre.....	32
3.2.3 Agar nutritivo.....	32
3.2.4 Agar TSI o agar hierro triple azúcar.....	32
3.2.5 EMB.....	32
3.2.6 Agar manitol.....	32
3.3 Captura de las muestras ambientales.....	32
3.4 Aislamiento de las colonias.....	33
3.5 Identificación bioquímica.....	33
3.6 Preparación del cepario.....	35
3.7 Colocación de trampas para moscas y larvas.....	36
3.7.1 Colecta de las larvas.....	36
3.8 Separación e identificación de los estadios inmaduros de Calliphoridae y Sarcophagidae.....	38
3.9 Análisis estadísticos y preparación de informes.....	39

Capítulo IV Resultados y Discusión

4. Resultados y discusión.....	41
4.1 Antibiograma.....	42
4.1.1 <i>Streptococcus viridans</i>	42
4.1.2 <i>Serratia marcescens</i>	44
4.1.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	46
4.1.4 <i>Escherichia coli</i>	48
4.1.5. <i>Chromobacterium violaceum</i>	50
4.1.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	52
4.1.7 <i>Bacillus</i> sp.....	54
4.1.8 <i>Pseudomona aeruginosa</i>	56
4.2 Calliphoridae.....	57
4.3. Afinidad de <i>Phormia regina</i> en función de la especie bacteriana.....	61
4.4 Afinidad de <i>Phormia regina</i> en función del sitio de muestreo.....	62
4.5 Sarcophagidae.....	63

Capítulo IV Consideraciones finales

5.1 Conclusiones.....	69
5.2 Bibliografía.....	71
5.3 Anexos.....	81

Índice de cuadros

Cuadro 1 Susceptibilidad de <i>Streptococcus viridans</i> a diferentes antibióticos.....	42
Cuadro 2 Susceptibilidad de <i>Serratia marcescens</i> a diferentes antibióticos.....	44
Cuadro 3 Susceptibilidad de <i>Klebsiella pneumoniae</i> a diferentes antibióticos.....	46
Cuadro 4 Susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> a diferentes antibióticos.....	48
Cuadro 5 Susceptibilidad de <i>Chromobacterium violaceum</i> a diferentes antibióticos.....	50
Cuadro 6 Susceptibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes antibióticos.....	52
Cuadro 7 Susceptibilidad de <i>Bacillus</i> sp. a diferentes antibióticos.....	54
Cuadro 8 Susceptibilidad de <i>Pseudomona aeruginosa</i> a diferentes antibióticos...	56
Cuadro 9 <i>Phormia regina</i>	58
Cuadro 10 Cantidad de larvas colectadas por especie bacteriana en las diferentes estaciones de muestreo identificadas como <i>Sarcophaga</i> sp.....	64

Índice de figuras

Figura 1. Mapa con la ubicación de las estaciones de muestreo.....	31
Figura 2. Frascos con 150 gramos de carne de cerdo rotulados con la especie bacteriana correspondiente a cada caldo.....	36
Figura 3. Trampa para la captura de larvas.....	37
Figura 4. Masa larval con diferentes estadios, sobre la carne de cerdo utilizada como cebo.....	37
Figura 5. Separación de las larvas colectadas en diferentes tubos con alcohol al 95 % y formalina al 10 % para su preservación.....	39
Figura 6. Identificación de los estadios larvales colectados.....	39
Figura 7. Susceptibilidad de <i>Streptococcus viridans</i> a diferentes antibióticos.....	43
Figura 8. Susceptibilidad de <i>Serratia marcescens</i> a diferentes antibiótico.....	45
Figura 9. Susceptibilidad de <i>Klebsiella pneumoniae</i> a diferentes antibióticos.....	47
Figura 10. Susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> a diferentes antibióticos.....	49
Figura 11. <i>Chromobacterium violaceum</i> . Se observa inhibición total del crecimiento bacteriano.....	51
Figura 12. Susceptibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> a diferentes antibióticos.....	53
Figura 13. Susceptibilidad de <i>Bacillus</i> sp. a diferentes antibióticos.....	55

Figura 14. A. Cuerpo vermiforme de Calliphoridae. B. Espiráculos posteriores de Calliphoridae.....	57
Figura 15. A. Espiráculo grande y redondeado en la parte posterior espinas intersegmentarias diminutas (flecha blanca). B. Peritrema incompleto (flecha negra) y tres ranuras alargadas que se dirigen hacia la abertura del peritrema (flecha blanca). C. Tamaño de la larva (1.5 mm) D. Espiráculos respiratorios.....	60
Figura 16. Afinidad de las larvas de <i>Phormia regina</i> por diferentes especies bacterianas.....	61
Figura 17. Afinidad de las larvas de <i>Phormia regina</i> en función de la estación de muestreo.....	62
Figura 18. A. Vista dorsal de la región anterior larva de III estadio. B. Esqueleto cefalofaríngeo, cuernos dorsales (CD) más largos que los ventrales (CV). C. Espiráculo posterior con 21 papilas. D. Espiráculos posteriores localizados en una foseta en el extremo posterior con hendiduras respiratorias rectas.....	81

CAPÍTULO I
MARCO INTRODUCTORIO

1. Antecedentes

El primer caso registrado de un esclarecimiento de crimen usando insectos fue en China en el Siglo XIII, cerca de un cultivo de arroz ocurrió un asesinato por apuñalamiento, el investigador pidió a todos los trabajadores que colocaran sus herramientas de trabajo en el suelo, luego de un tiempo se observó que moscas verdes y azules se dirigían a una sola herramienta, debido a que esta presentaba trazas de sangre que no eran visibles (Benecke, 2001).

Es por ello que la entomología forense como disciplina no es un área nueva de estudio pues Gleditsch en 1752 ya describe el rol de los escarabajos de las tumbas o burying beetles. De otro lado entre los años 1800 y 1900, durante exhumaciones en Francia y Alemania, médicos legistas observaron que los cuerpos enterrados son habitados por artrópodos (Bornemissza, 1957). En 1831, el médico francés Orfila observa un gran número de exhumaciones y entiende que las larvas de los insectos juegan un rol importante en la descomposición de los cuerpos. Bergeret en 1855, reporta el primer caso moderno de entomología forense que estima el Intervalo *post-mortem* (Carvalho *et al.*, 2002), en este trabajo da una breve descripción del ciclo vital de insectos y asume en forma empírica y equivocada que la metamorfosis requeriría generalmente un año completo. También plantea que las hembras de los insectos generalmente ovipositarían en verano y que las larvas se transformarían en la siguiente primavera a pupa, emergiendo en el verano siguiente (Aranda, 2007; Benecke, 2001).

Por otra parte, la primera aplicación de la entomología forense en un palacio de justicia moderno tuvo lugar en Francia en el siglo XVIII, donde se admitieron datos

entomológicos como prueba para absolver a los ocupantes actuales de la residencia donde se encontraron restos esqueletizados de un niño. En ese mismo siglo la evaluación de Yovanovich (1988) y Megnin (1894) sobre la sucesión de insectos en cadáveres estableció finalmente a la entomología forense como ciencia (Amendt *et al.*, 2004).

Es por ello que desde el Siglo XVIII, hasta nuestra época, se ha trabajado en crear una herramienta más eficiente de auxilio en la criminología, el primer paso en la formalización de este recurso forense fue la búsqueda de los biomodelos adecuados para realizar la estandarización, destacando a *Sus scrofa domestica* (cerdo) con 20 kilos, dentro de una jaula con rejillas de maya que permitía la entrada y salida de los insectos, negando el acceso al cebo de mamíferos y aves carroñeras (Smith, 1986), desde entonces se estudia la composición y patrones de sucesiones para asociar la entomofauna con el proceso de descomposición de cadáveres que se hacen de relevancia para la entomología forense (Catts & Goff, 1992).

En la actualidad, existe un gran número de investigaciones que tratan directamente sobre Entomología Forense. Entre los trabajos más destacados se encuentra la obra de Jason Byrd y James Castner, titulada "Forensic Entomology. The Utility of Arthropods in Legal Investigations", publicado en el año 2001. Así mismo, Mark Benecke ha contribuido con una gran cantidad de aportes a la Entomología, entre los cuales destaca su libro que lleva el título de "Insects and Corpses", editado en el 2002. También destaca el texto escrito por Greenberg y Munich, publicado ese mismo año y titulado "Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators", donde

se describe la morfología de las moscas de importancia forense, abarcando diferentes países del continente americano.

Como resultado de estos esfuerzos, la Entomología Forense ha adquirido una gran importancia dentro del campo de la Medicina Legal en países como Estados Unidos, Canadá, Tailandia, Italia, España y Alemania, los cuales tienen en común su localización por encima de los 23° N. Estos trabajos han estado sujetos a las condiciones ambientales características de cada uno de esos países, donde hay cuatro estaciones anuales bien definidas, las cuales presentan especies y actividad artrópoda propias (VanLaerhoven & Anderson, 1999; Turchetto *et al.*, 2001; Arnaldos *et al.*, 2001).

En contraste, son pocos los estudios que describen la ecología de los artrópodos y el ciclo de descomposición de mamíferos en los ecosistemas de la región neotropical, los cuales son dinámicos y se encuentran sujetos a la influencia de un amplio espectro de procesos ambientales (Barreto *et al.*, 2002). Dicha escasez de información incrementa para Panamá siendo pocos los estudios realizados en entomología forense, dentro de los que se encuentran: Determinación de la entomofauna asociada a carcasas de cerdos domésticos vestidos (*Sus scrofa*), en el Puerto de Vacamonte (Garcés *et al.*, 2004), Calliphoridae (Insecta: Diptera) de Ciudad de Panamá, Panamá, con énfasis en la distribución actual del género *Chrysomya* (Miranda & Bermúdez, 2011), Informe de una muerte traumática ocurrida en “potrero seco”, provincia de Chiriquí, resuelto mediante el uso de la entomología forense (Garcés & Morales, 2017), Lista preliminar de la familia Calliphoridae (Diptera: Oestroidea) de Panamá (Bermúdez, 2018), Sarcophagidae

de interés forense en el parque nacional soberanía (Garcés *et al.*, 2020), Calliphoridae de interés forense asociadas a tres cebos de cerdos doméstico (*Sus scrofa*) en un área rural, corregimiento de la pintada, provincia de Coclé (Garcés & Molinar, 2020).

1.1. Justificación del problema

La descomposición de la materia orgánica muerta es un proceso ecológico clave de la función del ecosistema (Swift *et al.*, 1979), en la cual intervienen una gran variedad de especies microbianas además de invertebrados (Moore *et al.*, 2004).

Los insectos son considerados como uno de los organismos más diversos en la Tierra, pudiéndose encontrar en casi cualquier hábitat conocido, poseen un tegumento endurecido y con miembros articulados, su cuerpo está dividido en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen. Poseen grandes cualidades entre ellas podemos destacar: su habilidad de vuelo, su gran adaptabilidad, su resistencia a la desecación, su respiración traqueal, y algunos presentan metamorfosis (Zumbado & Azofeifa, 2018). Esta última es importante para que tanto como el estadio larval como el adulto no compitan por el mismo recurso alimenticio (Minelli *et al.*, 2013).

Entre los dípteros con importancia necrófaga tenemos dos familias que destacan por estar en la mayoría de las brigadas de descomposición, entre ellas tenemos a Calliphoridae y Sarcophagidae, dos familias que poseen ciclos de vida particulares y de gran importancia para la entomología forense (Pape, 1996).

La familia Calliphoridae a nivel ecológico, médico y sanitario es importante debido a su preferencia por heces, basura orgánica y carne en descomposición (Mariluis &

Mulieri, 2005), la cual es portadora de patógenos como virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos (Ferreira & Barbola, 1998). Sin embargo, algunas especies de esta familia causan miiasis en aves y mamíferos, afectando ocasionalmente al hombre (Stevens, 2003).

Cabe destacar que larvas de moscas en especial del género *Lucilia*, han sido utilizadas en tratamientos de heridas infectadas por bacterias, desde tiempos antiguos; de hecho, William Baer en 1931 fue el primero en descubrir los beneficios en el tratamiento de heridas necrosadas (Fonseca, 2011). Sin embargo, en el año 1930, el uso de larvas de moscas tuvo un crecimiento exponencial y fue muy utilizada en Estados Unidos, Canadá y Europa, pero debido a la aparición de los antibióticos este procedimiento se dejó de usar (Robinson, 1935).

La eficacia de estas larvas en la curación de heridas se basa principalmente en que remueven el tejido dañado, lo desinfectan y ayudan en su cicatrización, debido a que las larvas se mueven sobre la superficie de las heridas secretando una enzima que disuelven el tejido muerto, el cual es succionado y posteriormente ingerido, además la secreción de estas larvas posee un pH bajo que actúa sobre las bacterias eliminándolas (Angulo, 2007).

Sin embargo, algunos estudios recalcan que las secreciones de estas larvas son poco efectivas contra las bacterias Gram-negativas en particular *Pseudomona* spp. y *Proteus* spp., pero si efectivas contra *Escherichia coli* que es un bacilo Gram-negativo (Cazander *et al.*, 2009).

La familia Sarcophagidae presenta hábitos variados como necrófagas, coprófagas, depredadoras y parasitoides (Pape, 1996). Presenta importancia forense ya que cuentan con especies de lavas que son carroñeras alimentándose de materia en descomposición (Smith, 1986). Sin embargo, esta familia ha sido de poca utilidad en la estimación del intervalo *post mortem* (IPM) debido a la falta de trabajos taxonómicos y biológicos (Romera *et al.*, 2003), por lo que hace necesario realizar estudios de este grupo. En la mayoría de los estudios en los que se los menciona, los ejemplares de Sarcophagidae han sido identificados solamente hasta familia y sólo en algunos casos hasta género (Bourel *et al.*, 1999).

Estudios realizados en Argentina han registrado la presencia de larvas de Sarcophagidae durante el proceso de descomposición de diferentes sustratos cadavéricos en cadáveres humanos encerrados, pollos, cerdos, perros (Battán *et al.*, 2010), y en zorros, (Aballay *et al.*, 2008).

No obstante, debido a la dificultad en la determinación de adultos y a que, hasta el momento, es imposible determinar larvas a nivel de especie en esta familia (Oliva, 2007); el registro de estadios larvales de Sarcophagidae sobre cadáveres humanos no permite realizar peritaciones entomológico forense precisas. No obstante, en base a los adultos, sólo existe una publicación científica reciente que permite determinar los adultos de Sarcophagidae para la provincia de Buenos Aires (Mulieri *et al.*, 2010), aunque aún existen pocos estudios acerca de las especies de Sarcophagidae en gran parte del país.

Por otro punto los datos sobre la biología de esta familia, también son muy escasos (Martínez *et al.*, 2000) y sólo existe información de algunas especies del género *Sarcophaga meigen* (Romera *et al.*, 2003). Lamentablemente, estos estudios están frecuentemente restringidos a registros aislados, por lo que la biología de las especies es en gran medida desconocida.

Se espera que la información obtenida con esta investigación, además de contribuir a nuevos conocimientos en esta área, aporte nuevos datos sobre la preferencia ovipositoria de la familia Calliphoridae y Sarcophagidae.

1.2 Hipótesis

1.2.1 Hipótesis nula

H_0 = Si las características de putrefacción desarrolladas utilizadas en la captura por las especies bacterianas no tienen influencia en la atracción ovipositoria, no habrá diferencia significativa en el número de larvas de cada especie de moscas Calliphoridae y Sarcophagidae encontradas en las diferentes muestras de carne.

1.2.2 Hipótesis alterna

H_a = Si las características de putrefacción desarrolladas utilizadas en la captura por las especies bacterianas tienen influencia en la atracción ovipositoria, entonces habrá diferencia significativa en el número de larvas de cada especie de moscas Calliphoridae y Sarcophagidae encontradas en las diferentes muestras de carne.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general:

Determinar las especies de larvas de moscas de las familias Calliphoridae y Sarcophagidae de importancia forense capturadas utilizando carne de cerdo inoculadas con diferentes especies bacterianas, a fin de identificar la preferencia de las hembras de las moscas adultas para la ovoposición.

1.3.2 Objetivos específicos:

1. Identificar los especímenes inmaduros de Sarcophagidae y Calliphoridae, mediante claves taxonómicas, capturados utilizando inóculos de diferentes especies bacterianas.
2. Evaluar el nivel de afinidad ovopositoria de Calliphoridae y Sarcophagidae en distintas especies bacterianas de acuerdo con las características de descomposición de las diferentes muestras.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2. Revisión de literatura

2.1 Entomología Forense

La Entomología forense implica el uso de insectos, principalmente larvas de moscas, para estimar el intervalo *post-mortem* (IPM) en función de las tasas de desarrollo y ecología de sucesión de insectos específicos que se alimentan de cadáveres. Como los insectos son poiquilotérmicos, su desarrollo depende en gran medida de la temperatura ambiental (Parker *et al.*, 2019; Shang *et al.*, 2019). Este vínculo entre el desarrollo de insectos y la temperatura fue reportado por primera vez por un científico francés llamado Reaumur en el siglo XVIII (Mona *et al.*, 2019).

Sucesión faunística

Al producirse la muerte de un animal, su cuerpo experimenta el proceso de descomposición por el que la materia orgánica se vuelve a incorporar al ciclo de nutrientes a través de la acción de organismos desintegradores y descomponedores. Este fenómeno provee de un microhábitat temporal y de un recurso alimenticio a una gran variedad de organismos, entre los que los artrópodos son uno de los grupos implicados más importantes, dentro de éstos, los insectos destacan como los más numerosos (Goffy & Flynn, 1991). Los animales que se alimentan de un cadáver van variando en función del estado de descomposición de éste, en general, todos los organismos animales asociados a este tipo de ecosistemas se incluyen bajo la denominación de fauna sarcosaprófaga, cuya clasificación más aceptada separa los siguientes grupos ecológicos (Arnaldos *et al.*, 2001; Campobasso *et al.*, 2001; Johnson, 1975; Leclercq, 1996; Reed, 1958):

- **Especies necrófagas:** aquellas especies que se alimentan del cuerpo en descomposición (destacan los dípteros y los coleópteros).
- **Especies necrófilas:** aquellas especies que son depredadoras o parasitoides de las necrófagas (principalmente dípteros, coleópteros e himenópteros).
- **Especies omnívoras:** aquellas especies que son capaces de alimentarse tanto del cadáver como de los artrópodos asociados a él.
- **Especies oportunistas:** aquellas especies que utilizan el cuerpo como extensión de su hábitat natural (por ejemplo, arañas, ciempiés, ácaros, colémbolos).
- **Especies accidentales:** aquellas especies cuya presencia en cuerpos en descomposición se debe al azar.

2.2 Intervalo *post-mortem* (IPM)

El intervalo *post-mortem* hace referencia al tiempo transcurrido entre la muerte y el descubrimiento de un cadáver (Parker *et al.*, 2019). Hay varios procesos naturales asociados con la descomposición que pueden usarse para estimar el IPM (Viero *et al.*, 2019), pero muchas de estas son funciones recíprocas y se vuelven imprecisas en la aplicación muy rápidamente (Matuszewski, 2017). Además, se limitan a las primeras 72 horas después de la muerte (Gelderman *et al.*, 2018). Sin embargo, durante esas 72 horas y más allá, los insectos pueden ser una herramienta muy poderosa para estimar el tiempo mínimo desde la muerte. Dependiendo del nivel de

accesibilidad y las condiciones ambientales, los insectos necrófagos rápidamente pueden colonizar un cadáver fresco.

Por lo general, los primeros taxones que llegan en un cuerpo son las moscas (Diptera), principalmente las (Calliphoridae), que puede localizar una fuente de olor con gran precisión espacial y depositar sus huevos en un occiso en cuestión de minutos-horas de muerte.

2.3 Factores que influyen en el desarrollo de los insectos

Los factores externos en forma de condiciones climáticas, efectos de la luz solar, lluvia, todos afectan la identificación y determinación de insectos forenses relevantes. Siendo la temperatura y la humedad los factores climáticos más importantes (Schoenly *et al.*, 1996; Sharma *et al.*, 2015).

2.3.1 Efectos de la Geografía

La zona geográfica influye en la sucesión de especies en los cadáveres, definidos por tipos de suelo, tipo de vegetación, clima, por recursos alimenticios, provocando diferencias notables en la presencia de diversas especies (Anderson, 2001). Así como la descomposición de los cadáveres difiere según las condiciones biogeoclimáticas, orográficas, faunísticas y de flora (MacGregor, 1999a. 1999b).

2.4 Diptera

El orden Diptera es uno de los predominantes durante los procesos de sucesión en carcasas de animales. De acuerdo a diversos estudios (Barreto *et al.*, 2002; Carvalho *et al.*, 2002; Iannacone 2003; Wolff *et al.*, 2001) se conoce que las familias más importantes que se alimentan de animales muertos son Calliphoridae,

Sarcophagidae, Muscidae y los escarabajos necrófagos Dermestidae y Silphidae. Para estas familias necrófagas las carcasas sirven como sustrato para la oviposición de adultos y fuente de alimento de los inmaduros (Carvalho *et al.*, 2002).

2.4.1 Calliphoridae

Las moscas califóridas (Diptera: Calliphoridae) son principalmente descomponedoras, sarcosaprófagas y/o coprófagas. Esta familia ha sido objeto de estudio dentro de diversas investigaciones a nivel mundial debido a que algunas de sus especies representan importancia médica y sanitaria, siendo agentes de dispersión de patógenos causantes de enfermedades en el ser humano (Mariluis & Schnack, 2002). Cada una de las especies presentan peculiaridades únicas en el crecimiento de sus ciclos larval, se caracterizan por un color verde metálico, presentan un ciclo de vida de alrededor de 21 a 35 días, sus hábitos alimenticios varían en la familia, pero varias son carroñeras lo que le hace de gran importancia para la estimación *postmortem* (Flores & Wolff, 2009).

Lehrer (1970) dividió esta familia en 9 subfamilias de las cuales 5 se encuentran distribuidas para América. Las subfamilias presentes en el Neotrópico son Mesembrinellinae (Centro y Suramérica), Calliphorinae, Chrysomyinae (Todo el continente), Toxotarsinae y Rhiniinae (James, 1970; Peris, 1992; Mello, 2003). Se estiman unas 1000 especies dentro de esta familia siendo la riqueza de especies de la fauna neotropical considerablemente baja en comparación con otras regiones; solamente se registran 126 especies (Amorim *et al.*, 2002), si se incluye la subfamilia Mesembrinellinae, considerada distintamente por algunos autores como Mesembrinellidae (Guimarães, 1977; Mariluis & Peris, 1984), además de las

especies invasoras del género *Chrysomya*, originarias de África y Asia. En Panamá se han reportado 26 especies (Bermúdez, 2007).

2.4.2 Sarcophagidae

Las moscas de esta familia pueden reconocerse por la presencia de tres bandas negras conspicuas sobre fondo gris en el tórax, así como por la combinación de características como la presencia de dos a cuatro setas notopleurales, la coxa posterior con setas sobre la superficie posterior y arista comúnmente plumosa. Las hembras son vivíparas u ovovivíparas, depositando larvas vivas de primer instar (Shewell, 1987).

Sus hábitos son variados, comportándose como necrófagas, coprófagas, depredadoras y parasitoides (Pape, 1996). En un importante número de especies las larvas son carroñeras, alimentándose de materia orgánica en descomposición, lo cual las ubica dentro de los insectos de importancia forense como uno de los primeros organismos que colonizan cadáveres (Smith, 1986).

3. Identificación taxonómica

La identificación de los Calliphoridae y los Sarcophagidae requiere una metodología particular para los estadios larvales, en donde basta con la observación de los espiráculos inferiores y superiores para la estimación del estadio larval en el que se encuentre existiendo 4 categorías, L1, L2, L3 y fase pupa, cada uno de los estadios posee características en su alimentación que le permiten a la mosca adquirir

nutrientes para poder pasar a la fase de pupa y poder realizar la metamorfosis con éxito (Amat & Wolff, 2008).

4. Características ovipositorias en Calliphoridae y Sarcophagidae

Algunos factores influyen en la preferencia ovipositoria de las moscas Calliphoridae, por ejemplo, la presencia de compuestos ricos en amoníaco y el sulfuro de hidrógeno son estimulantes importantes para la oviposición, así como la humedad, algunas feromonas (Ashworth & Wall, 1994; Fisher *et al.* 1998; Anderson, 2001).

Por otra parte, Sarcophagidae posee la característica de depositar larvas de primer estadio sobre los sustratos de cría (Barros *et al.*, 2008; Pape & Dahlem, 2010). Esta característica les confiere cierta ventaja en comparación con las especies ovíparas, en especial cuando se trata de sustratos efímeros, como son los casos de pequeños cadáveres o cadáveres en condiciones de rápida desecación (Barros *et al.*, 2008; Pape & Dahlem, 2010).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3. Área de estudio

3.1. Localización y descripción de las estaciones de muestreo

Se escogieron 4 estaciones de muestreo ubicadas en los distritos de: Boquerón ($8^{\circ}33'25,131''\text{N}$, $82^{\circ}34'33,884''\text{W}$) correspondiente a la E1 ubicada en "Macano" con altitud de 347 m s.n.m., seguida por la E2 situada en el corregimiento de "Los Algarrobos, Dolega ($8^{\circ}30'40,429''\text{N}$, $82^{\circ}25'28,719''\text{W}$) con una altitud de 156 m s.n.m. y Bugaba, la E3 ubicada en La Mata ($8^{\circ}29'53''\text{N}$, $82^{\circ}36'57''\text{W}$) altitud de 130 m s.n.m. y por último la E4 ubicada en "La Concepción" ($8^{\circ}31'8,098''\text{N}$, $82^{\circ}37'8,613''\text{W}$) altitud de 118 m s.n.m.

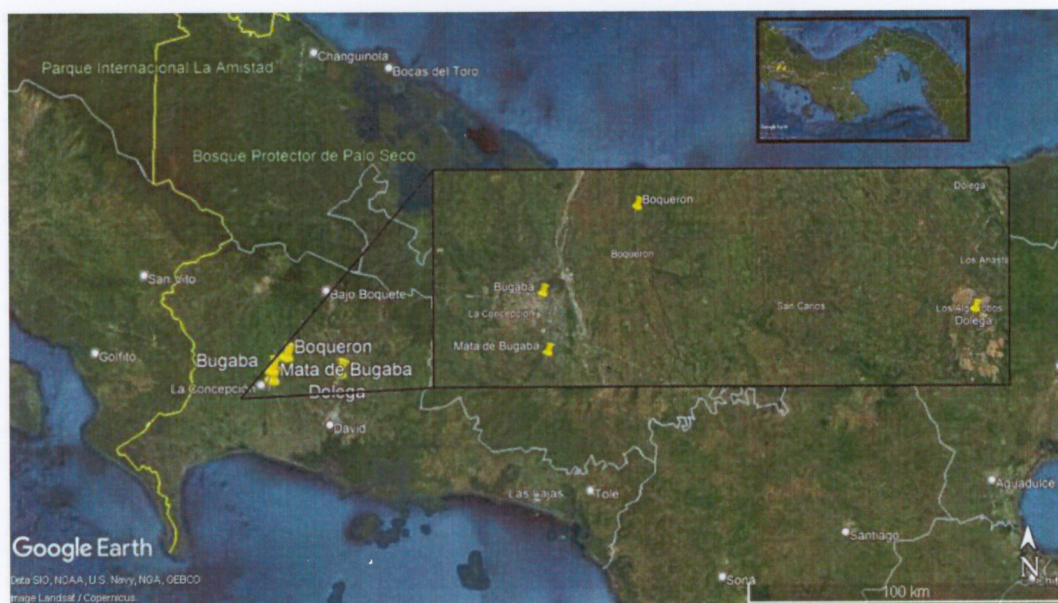


Figura 1. Mapa con la ubicación de las cuatro estaciones de muestreo.

3.2 Preparación de los medios de cultivos

3.2.1 Agar MacCONKEY

Se utilizó el agar macConkey de la marca HiMedia, deshidratado.

3.2.2 Agar Sangre

Se utilizó agar base deshidratado (en polvo), de la marca HiMedia en un litro de agua destilada; luego se agregó 50 mL de sangre por cada litro de agar, mezclando suavemente para homogeneizar.

3.2.3 Agar nutritivo

Se utilizó agar nutritivo de la marca HiMedia, deshidratado.

3.2.4 El agar TSI o agar hierro triple azúcar

Se utilizó agar hierro triple azúcar de la marca HiMedia, deshidratado.

3.2.5 Agar EMB

Se utilizó agar eosina azul de metileno de la marca HKM, deshidratado.

3.2.6 Agar manitol

Se utilizó el agar manitol de la marca HiMedia, deshidratado.

3.3 Captura de las muestras ambientales

Se obtuvieron muestras de diferentes superficies mediante el método del hisopo. Este método es el más antiguo de los utilizados en el análisis microbiológico de superficies, sobre todo de aparatos y utensilios. Está especialmente recomendado para estudiar superficies muy contaminadas, ya que permite realizar diluciones decimales de la muestra.

3.4 Aislamiento de las colonias

Se separaron diferentes microorganismos mediante el método de siembra por estría sobre un medio de cultivo sólido adecuado dispuesto en una placa Petri, con el objetivo de obtener un cultivo puro de cada uno de los tipos de bacterias presentes en la muestra original. Para comprobar la pureza de los mismos se les aplicó una tinción de Gram.

3.5 Identificación bioquímica

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias, en muchos casos la presencia de enzimas preformadas (Bou *et al.*, 2010). Agar TSI o agar triple azúcar es utilizado como prueba bioquímica para la identificación inicial de los bacilos Gram negativos ya que su objetivo es evidenciar la fermentación de los azúcares presentes, y la producción de sulfuro de hidrógeno y gas (Gill, 2019).

Está compuesto por tres carbohidratos principales glucosa, lactosa y sacarosa, además de cuatro derivados proteicos como extracto de levadura, extracto de carne, peptona y proteosa peptona. La mezcla de peptona y el extracto de carne proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento, y los carbohidratos son utilizados como fuentes de carbono y energía (Condalab, 2019).

El Agar Mac Conkey permite el aislamiento exclusivo de bacilos Gram negativos, por ende, es un medio selectivo ya que permite distinguir entre bacilos

fermentadores y no fermentadores de lactosa (Gill, 2018). Además, está compuesto por pectonas que aportan nutrientes necesarios a las bacterias, la lactosa que es la fuente de energía y las sales biliares junto con el cristal violeta actúan como agentes inhibidores del crecimiento de las bacterias Gram positivas y algunos bacilos Gram negativos exigentes.

El Agar Sangre es utilizado como medio diferencial, ya que permite distinguir tres tipos de bacterias como los beta-hemolíticos, los alfa-hemolíticos y los gamma-hemolíticos, es decir, si tienen capacidad para romper los glóbulos rojos presentes en el medio (Barrero, 2016).

El Agar EMB es un medio selectivo y diferencial ya que permite detectar bacterias Gram negativas en muestras mixtas principalmente de la familia Enterobacteriaceae, debido a que posee colorantes de anilina como eosina y azul de metileno que actúan inhibiendo el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas exigentes, además contiene lactosa que permite la diferenciación de fermentadores o no fermentadores de lactosa; también se combinan precipitando a pH ácido, que actúan como indicadores de producción de ácidos. Sin embargo, es necesario recalcar que los productores más débiles de ácidos, forman colonias de color violeta, a diferencia de los fermentadores de lactosa como *Escherichia coli* que produce colonias de color negro verdoso con brillo metálico, y los no fermentadores de lactosa que forman colonias transparentes (Britanialab, 2015).

El Agar nutritivo es un medio de cultivo no selectivo porque permite el crecimiento de todo tipo de bacterias, principalmente usado para el cultivo de microorganismos poco exigentes en sus requerimientos nutricionales (Andrade, 2014), está compuesto por pluripeptona y extracto de carne que actúan como fuente de carbono y nitrógeno, aportando nutrientes para el crecimiento de las bacterias (Britanialab, 2015).

El Agar manitol es utilizado para el aislamiento selectivo y la detección de estafilococos, está constituido de extracto de carne y la pluripeptona, que son fuentes de carbono, además de nitrógeno, vitaminas y minerales (Guzmán, 2019), por otro punto el manitol actúa como el hidrato de carbono fermentable, ya que contiene una alta concentración de sal (NaCl) que inhibe el desarrollo de otras bacterias.

Los estafilococos positivos a la coagulasa (por ejemplo, *Staphylococcus aureus*) producen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no producen cambio de color en el indicador de rojo fenol (Chapman, 1945).

3.6 Preparación del cepario

Después de aisladas las colonias de bacterias y posteriormente identificadas, se conservaron en agar Muller Hinton; el mismo estaba constituido por peptonas que proporcionan fuentes de nitrógeno orgánico, carbono, azufre, vitaminas, adecuado para el cultivo de una amplia variedad de tipos de organismos, además también se

conservaron en tubos de ensayo con caldo nutritivo principalmente usado para el cultivo de microorganismos poco exigentes en sus requerimientos nutricionales (Andrade, 2014).

3.7 Colocación de trampas para moscas y larvas

3.7.1 Colecta de las larvas

Se utilizaron 32 frascos de plástico de 10x8 cm, estos frascos fueron divididos en cuatro grupos de ocho, a cada uno de ellos se les colocó 2 mL de caldo con ocho especies bacterianas diferentes (cada una por separado), adicionalmente se añadió una porción de carne de cerdo de 150 gramos (Figura 2), la cual sirvió como cebo, la misma se dejó por un periodo de maduración de dos días en el laboratorio de microbiología de Universidad Autónoma de Chiriquí la (UNACHI). Posteriormente estos frascos fueron trasladados al campo, sustituyendo la tapa de plástico por un trozo de alambre cuadrículado (Figura 3) que permitió la entrada de las moscas para que realizarán la oviposición y al transcurrir el tiempo obtener las larvas de diferentes estadios.



Figura 2. Frascos con 150 gramos de carne de cerdo rotulados con la especie bacteriana correspondiente a cada caldo.



Figura 3. Trampa para la captura de larvas.

La trampa se dejó por cuatro días haciendo constante observación procurando la obtención de las larvas antes de que estas empezaran a desplazarse por las paredes del frasco intentando escapar. Se tomaron datos de estadio larval, cantidad de larvas por especie bacteriana, temperatura y altitud de las estaciones de colecta.



Figura 4. Masa larval con diferentes estadios, sobre la carne de cerdo utilizada como cebo.

3.8 Separación e identificación de los estadios inmaduros de Calliphoridae y Sarcophagidae

La identificación y separación de las larvas se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la UNACHI. Se separaron los especímenes por familia y a su vez por género, los cuales se colocaron en viales con alcohol al 95 % y formalina al 10 % (Figura 5). Se capturaron imágenes de cada uno de los especímenes identificados.

Para la clasificación de las familias e identificación de especies se utilizaron guías taxonómicas especializadas como: Descripción y Clave de los Estadios Inmaduros de las principales especies de Calliphoridae de importancia forense en Colombia (Zucchi, 2009). Identificación de terceros estadios de moscas azules europeas (Szpila, 2010). Dípteros de importancia forense en la Península Ibérica (Velásquez *et al.*, 2010). Claves para géneros y especies de moscas califóridas (Whitworth, 2006).

Y para Sarcophagidae las guías utilizadas fueron: Estudio morfológico de los estadios de la mosca de la carne, *Sarcophaga africa* (Faraj & Mawllod, 2018). Dípteros de importancia forense en la Península Ibérica (Velásquez *et al.*, 2010). Sarcophagidae de importancia en Colombia: claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. (Buenaventura *et al.*, 2009). El equipo utilizado para la observación de las larvas fue un estereoscopio Leica Zoom 2000 (Figura 6).



Figura 5. Separación de las larvas colectadas en diferentes tubos con alcohol al 95% y formalina al 10 % para su preservación.



Figura 6. Identificación de estadios larvales colectados.

3.9 Análisis estadístico y preparación de informes

Para determinar diferencias en la preferencia ovipositoria de moscas de la familia Sarcophagidae, entre las estaciones de muestreo y/o la especie bacteriana, se

utilizó la prueba χ^2 de Bondad de Ajuste. Respecto a los datos obtenidos en la familia Calliphoridae, estos presentaban características distintas, por lo tanto, no se pudo ejecutar una prueba inferencial; en lugar de ello se realizaron evaluaciones descriptivas. Los análisis estadísticos fueron ejecutados a través del paquete estadístico IBM SPSS v.19 (IBM Corp. 2010).

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Antibiograma

4.1.1 *Streptococcus viridans*.

Streptococcus viridans presentó sensibilidad a seis antibióticos, tuvo susceptibilidad intermedia a dos antibióticos y resistencia a 11 antibióticos. Cuadro 1 y figura 7.

Cuadro 1. Susceptibilidad de *Streptococcus viridans* a diferentes antibióticos.

<i>S. viridans</i>	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	S	S	S	S	S	S	I	I	R
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulanico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

La penicilina es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones por *S. viridans*, sin embargo, la eritromicina o alguno de los nuevos macrólidos es la elección de segunda línea y de preferencia en pacientes con hipersensibilidad a la penicilina. En los últimos años, en muchos países se ha incrementado el uso de eritromicina y aún más el de los nuevos macrólidos, promocionados para el tratamiento empírico de las infecciones respiratorias como la otitis media, la

faringoamigdalitis, la sinusitis y la neumonía. En consecuencia, ha habido un aumento alarmante en la resistencia del *Streptococcus* a los macrólidos. (Rodríguez *et al.*, 2000).

S. viridans presentó una alta resistencia a la gentamicina y esto se asocia a una pérdida del efecto sinérgico bactericida de la combinación con un betalactámico. (Villar & Jugo, 2013). También presenta resistencia a antibióticos betalactámicos, que incluyen a las cefalosporinas de tercera generación, como son cefotaxima y ceftriaxona (Villar & Jugo, 2013).

Streptococcus viridans es el causante de infecciones del tracto respiratorio superior e inferior, además de otras enfermedades invasivas mucho más severas, como son las infecciones del Sistema Nervioso Central, infecciones osteoarticulares, infecciones intraabdominales, la bacteriemia y la septicemia. (Valery *et al.*, 2005).



Figura 7. Susceptibilidad de *Streptococcus viridans* a diferentes antibióticos.

4.1.2. *Serratia marcescens*.

Serratia marcescens fue sensible a nueve antibióticos y resistente a 10 antibióticos, cuadro 2 y figura 8. Presentó sensibilidad a la noflorxacina, al ácido nalidíxico y el ácido clavulánico pertenecientes al grupo de las quinolonas, las cuales han sido utilizadas con mayor eficacia en tratamientos ya que inhiben la síntesis bacteriana de ADN, siendo su blanco la topoisomerasa II (Brugueras *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Susceptibilidad de *Serratia marcescens* a diferentes antibióticos.

	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
<i>S. marcescens</i>	S	S	S	S	R	R	R	S	R
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	R	R	R	R	S	R	S	S	R

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulánico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

El uso de la ampicilina y sulbactam-ampicilina no pueden ser utilizadas en infecciones ocasionadas por *Serratia marcescens*, debido a los altos porcentaje de resistencia presentados. *Serratia marcescens* mostró resistencia a la cefotaxima y cefepime, antibióticos dentro del grupo de las cefalosporinas de tercera generación

y esto se debe a la adquisición de betalactamasas de espectro expandido. (Pérez *et al.*, 2000).

Serratia marcescens es causante de infecciones nosocomiales, puede afectar el tracto respiratorio y el urinario, principalmente en pacientes inmunodeprimidos, debido a la resistencia a los antibióticos. (Govin *et al.*, 2020).



Figura 8. Susceptibilidad de *Serratia marcescens* a diferentes antibióticos.

4.1.3. *Klebsiella pneumoniae*.

Klebsiella pneumoniae fue sensible a 11 antibióticos y resistente a ocho, cuadro 3 y figura 9.

Cuadro 3. Susceptibilidad de *Klebsiella pneumoniae* a diferentes antibióticos.

<i>K. pneumoniae</i>	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	S	S	S	S	S	R	R	R	R
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	R	R	S	R	S	R	S	S	S

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulánico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

Existe una diseminación mundial de clones de bacterias y genes que le confieren resistencia a los antimicrobianos, entre ellos está el género *Klebsiella*, que ocupa un lugar primordial. (Cars *et al.*, 2008).

Presentó resistencia a la cefotaxima que pertenece al grupo de las cefalosporinas de tercera generación, debido a la producción de β - lactamasas de espectro extendido (Kliebe *et al.*, 1985).

Klebsiella pneumoniae fue sensible a amoxicilina y la ticarcilina ácido clavulánico, los cuales se consideran que tienen mejor actividad inhibitoria frente a las cepas productoras de β - lactamasas de espectro extendido. (Paterson & Bonomo, 2005).

Los carbapenémicos como el ertapenem son otros de los antibióticos de primera línea utilizados en el tratamiento de infecciones por *Klebsiella pneumoniae* (Santisteban *et al.*, 2014). Aunque *Klebsiella pneumoniae* en nuestro análisis presentó resistencia al antibiótico cefepime, se considera como antibiótico de primera línea para el tratamiento de infecciones graves por este patógeno (Pérez *et al.*, 2001).

Las quinolonas como la Norfloxacin y el Ácido Nalidíxico, presentaron sensibilidad frente a *Klebsiella*, por ende, son otra alternativa efectiva con las infecciones causadas por *Klebsiella*; sin embargo, se han reportado estudios que indican resistencia a estos antibióticos (Karas, Pillary & Muckart, 1996).

Klebsiella pneumoniae es causante de infecciones de difícil tratamiento, en el tracto urinario, pulmones, tejidos blandos, área quirúrgica y sepsis (Leal *et al.*, 2006).

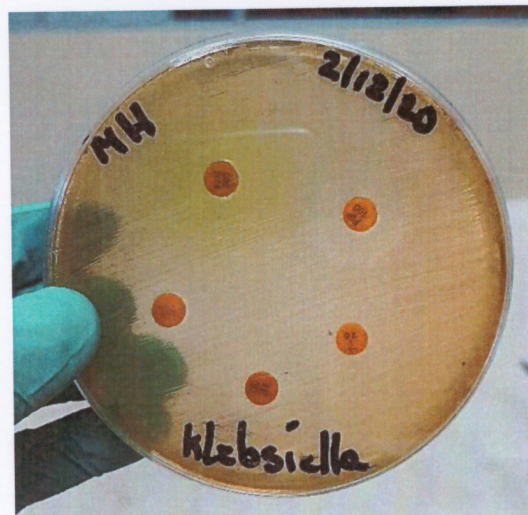


Figura 9. Susceptibilidad de *Klebsiella pneumoniae* a diferentes antibióticos.

4.1.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli presentó sensibilidad intermedia a cefuroxima, y sensibilidad a todos los demás antibióticos, cuadro 4 y figura 10.

Cuadro 4. Susceptibilidad de *Escherichia coli* a diferentes antibióticos.

<i>Escherichia coli</i>	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	S	S	S	S	I	S	S	S	S
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulanico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

Antibióticos como la Trimetoprima-sulfametoxazol, las quinolonas y las cefalosporinas de tercera generación son utilizadas para el tratamiento de infecciones causadas por *E. coli*. (Thielman & Gerrant, 1999).

En cuanto a nuestros resultados *E. coli* mostró una elevada sensibilidad a la ampicilina, pero también se ha evidenciado que presenta resistencia debido a la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) del tipo cefotaximasa. (García *et al.*, 2011).

También presentó sensibilidad a cefepime, pero se han mostrado evidencias que presenta resistencia intermedia. (Castañeda *et al.*, 2009). En base a nuestros resultados *E. coli* fue sensible al ácido nalidíxico dentro del grupo de las cefalosporinas de primera generación, pero se evidencia un aumento en la resistencia a estos antibióticos debido a que *E. coli* usa mecanismos como la conjugación con transferencia de ADN lo que permite obtener plásmidos, en los que el ADN que codifica para las enzimas es transferido de una bacteria a otra, lo que hace que el antibiótico no sea efectivo. (Abarzúa *et al.*, 2002).

Escherichia coli es causante de diferentes infecciones bacterianas comunes como el tracto urinario, bacteriemias y diarreas, también es un importante agente etiológico de meningitis neonatal y neumonías. (Smith, Fratamico & Gunther, 2007).

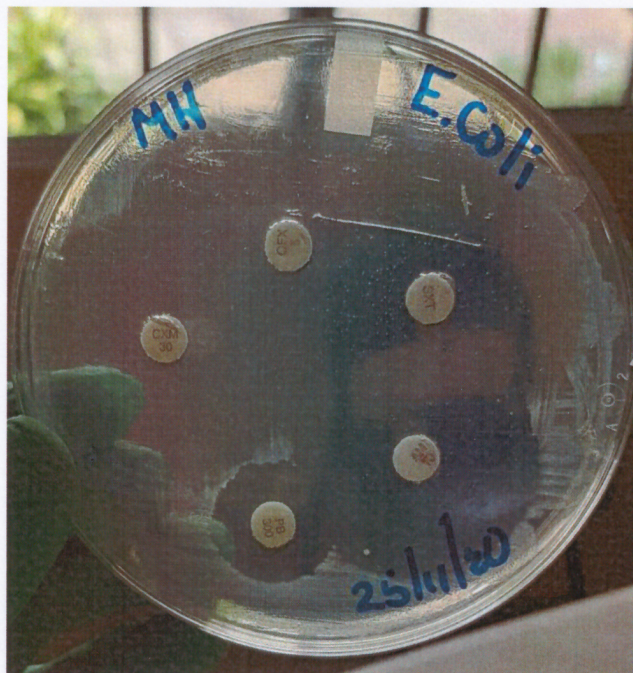


Figura 10. Susceptibilidad de *Escherichia coli* a diferentes antibióticos.

4.1.5 *Chromobacterium violaceum*

Chromobacterium violaceum fue sensible a 17 antibióticos y resistente a sólo dos antibióticos, cuadro 5 y figura 11.

Cuadro 5. Susceptibilidad de *Chromobacterium violaceum* a diferentes antibióticos

<i>Chromobacterium violaceum</i>	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacinna NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulanico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

Se ha comprobado en otros estudios resistencia a las cefalosporinas de tercera generación como ceftriaxone y cefotaxime. (Herrera *et al.*, 2005). Esta resistencia es debida a la presencia de genes que codifican mecanismos de resistencia como bombas de eflujo serino, β - lactamasas y metalo β - lactamasas. (Gómez *et al.*, 2016). Para el tratamiento de *C. violaceum* se recomiendan antibióticos como tetraciclina, trimetoprima-sulfametoxazol, gentamicina, meropenem, imipenem y cloranfenicol (Mutters *et al.*, 2000).

La infección en humanos por *Chromobacterium violaceum* tiene una baja incidencia, se considera un agente con baja virulencia, pero cuando logra producir una infección y establecer una septicemia adquiere una alta mortalidad, puede provocar neumonía y abscesos viscerales del hígado, bazo, pulmón, cerebro y necrosis de oreja. (Atapattu *et al.*, 2001).

El tratamiento antimicrobiano óptimo y la duración durante la infección son desconocidas, hay poca información acerca de la sensibilidad de este patógeno a los antibióticos, todavía se desconoce su papel fisiológico exacto; así como sus actividades bactericidas, citotoxicidad y su mecanismo de resistencia a los antibióticos.

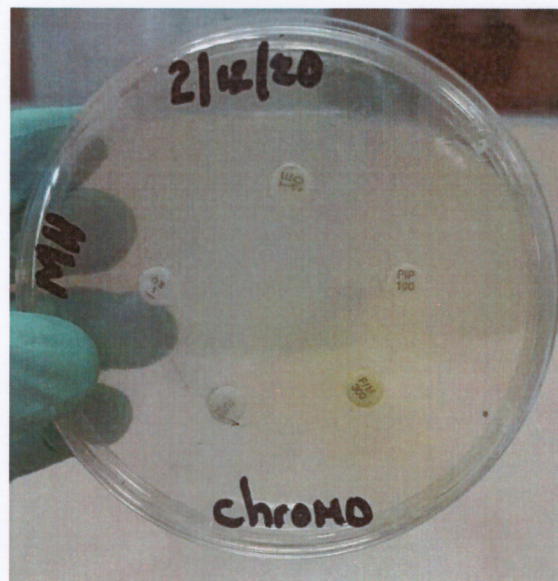


Figura 11. *Chromobacterium violaceum*. Se observa inhibición total del crecimiento bacteriano.

4.1.6 *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus fue sensible a 13 antibióticos y presentó resistencia a seis antibióticos, cuadro 6 y figura 12.

Cuadro 6. Susceptibilidad de *Staphylococcus* a diferentes antibióticos.

<i>Staphylococcus aureus</i> .	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	R	R	R	S	S	S	S	S	S
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	S	S	R	R	S	R	S	S	S

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepima
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulanico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

En el caso de la gentamicina se observó sensibilidad, pero en otros estudios se ha registrado resistencia a los aminoglucósidos debido a que estos antimicrobianos son modificados por medio de acetilación, adenilación o fosforilación y por lo tanto no puede unirse adecuadamente a los ribosomas e impedir la síntesis de proteínas (Ubukata *et al.*, 1984).

El tratamiento eficaz contra *Staphylococcus aureus* sigue siendo la vancomicina (VA), pero las fluoroquinolonas como la ofloxacina y la norfloxacina no se consideran antibióticos efectivos contra *Staphylococcus* debido a una modificación

en el codón 84 y 85 del ADN girasa bacteriana, alterando el sitio de acción del antimicrobiano (Hopper, 2002).

Staphylococcus aureus es responsable de una amplia gama de enfermedades desde cutáneas hasta virales como foliculitis, conjuntivitis, meningitis, sepsis, endocarditis hasta neumonía (Doménech *et al.*, 2013).



Figura 12. Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a diferentes antibióticos.

4.1.7 *Bacillus* sp.

Bacillus sp. fue sensible a un solo antibiótico y resistente a 18 antibióticos, cuadro 7 y figura 13, entre estos a la oxacilina, amoxicilina y ácido clavulánico, también registrados en otros estudios (Faria *et al.*, 2001).

Cuadro 7. Susceptibilidad de *Bacillus* a diferentes antibióticos.

<i>Bacillus</i> sp.	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	R	R	R	R	R	R	R	S	R
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacina NA: Ácido Nalidíxico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepime
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulánico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

Presentó resistencia a las cefalosporinas de tercera generación entre estos al cefepime y cefotaxima, esta resistencia es debida a la producción de un amplio espectro de lactamasas, que hidrolizan el anillo β láctamico presente en todas las penicilinas y cefalosporinas (Koneman *et al.*, 1997). Estas enzimas inactivadoras están codificadas por genes extrasomales localizados en los plásmidos (Gómez, 1977).

La resistencia de *Bacillus* sp. a la eritromicina es debida a una mutación en un dipéptido de la subunidad ribosomal 50S (Gómez, 1977), pero en otros resultados ha mostrado sensibilidad a este antibiótico, así como también a la ampicilina, gentamicina, clindamicina, y la tetraciclina (Nielsen *et al.*, 2013).

Bacillus sp. es responsable de causar conjuntivitis, úlceras, endoftalmitis traumática o metastásica, meningitis, neumonía entre otros (Faria *et al.*, 2001).



Figura 13. Susceptibilidad de *Bacillus* sp. a diferentes antibióticos.

4.1.8. *Pseudomona aeruginosa*.

Pseudomona aeruginosa fue sensible a sólo cinco antibióticos y resistente a catorce antibióticos, cuadro 8, la resistencia a los antimicrobianos es debida a la barrera de permeabilidad ofrecida por su membrana externa de lipoproteínas y a los plásmidos de resistencia (Brooks *et al.*, 1999).

Cuadro 8. Susceptibilidad de *Pseudomona* a diferentes antibióticos.

<i>Pseudomona aeruginosa</i>	OFX	NOR	NA	PIP	CXM	TE	E	PB	CTX
	S	R	R	R	R	S	R	R	R
GM	AMX	CF	FOS	ETP	TIM	OX	TIC	SXT	AM
S	R	S	R	R	S	R	R	R	R

S: Sensible I: Intermedio R: Resistente

OFX: Ofloxacina NOR: Norfloxacinna NA: Ácido Nalidixico PIP: Piperacilina
 CXM: Cefuroxima TE: Tetraciclina E: Eritromicina PB: Polimixina B
 CTX: Cefotaxima GM: Gentamicina AMX: Amoxicilina CF: Cefepime
 FOS: Fosfomicina ETP: Ertapenem TIM: Ticarcilina ácido clavulánico
 OX: Oxacilina TIC: Ticarcilina SXT: Trimetoprima-sulfametoxazol AM: Ampicilina

Otros mecanismos de resistencia se deben a mutaciones genéticas, que son codificados por el ADN cromosómico (Koneman *et al.*, 1996).

En base a nuestros resultados presentó sensibilidad a la gentamicina, ofloxacina y a la ticarcilina ácido clavulánico, pero se ha reportado en otros estudios resistencia

a los aminoglucósidos y a las fluoroquinolonas, debido a la capacidad de formar biopelículas a partir de la producción de alginato, además de la disminución de la permeabilidad de la membrana externa, bombas de eflujo y enzimas que modifican los antibacterianos (Nakajima *et al.*, 2002).

Antibióticos como aztreonam, imipenem, ciprofloxacina, y las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima y cefoperazona) son eficaces frente a cepas de *Pseudomonas* (Pérez, Rodríguez & Zuazo, 1991). Pero es necesario utilizar fármacos de forma combinada, para evitar resistencia cuando se usan de forma única (Oliver *et al.*, 2004).

Pseudomonas aeruginosa ocasiona enfermedades graves como bacteriemias, neumonía, infecciones del sistema nervioso central, infecciones urinarias, infecciones en úlceras y ectima gangrenosa, entre otras (Pollack & Ohi, 2002).

4.2 Calliphoridae

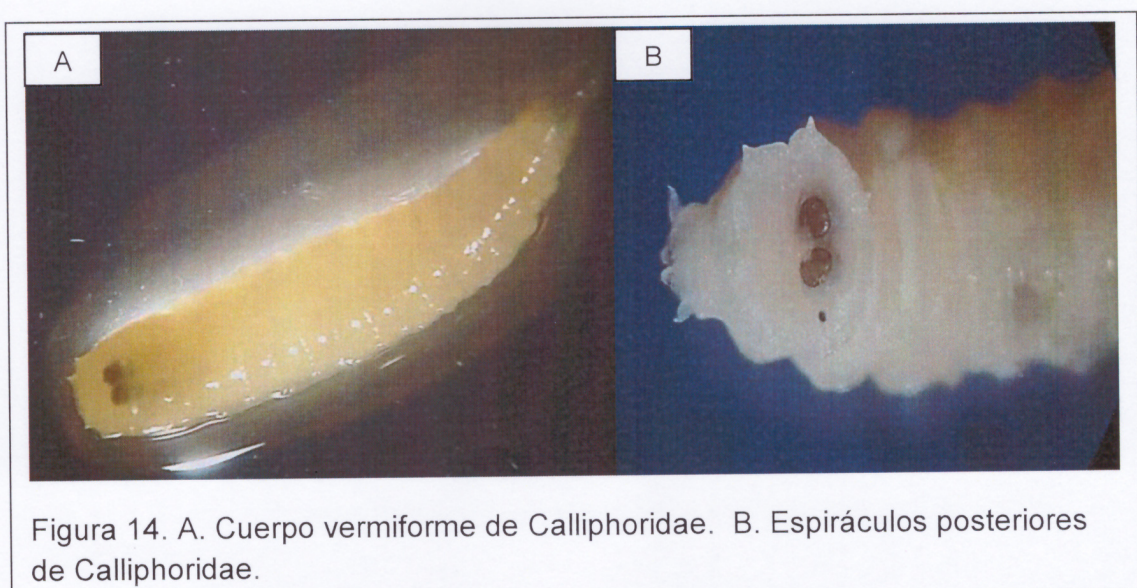


Figura 14. A. Cuerpo vermiforme de Calliphoridae. B. Espiráculos posteriores de Calliphoridae.

A continuación, se muestra la cantidad de larvas de *Phormia regina* colectadas en las diferentes estaciones de muestreo (cuadro 9).

Cuadro 9. Cantidad de larvas de *Phormia regina* colectadas en las diferentes estaciones de muestreo.

Especie bacteriana	E1	E2	E3	E4	Total
<i>Escherichia coli</i>	0	160	0	21	181
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	115	0	0	115
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	423	0	0	423
<i>Chromobacterium violaceum</i>	102	52	0	0	154

E1: Macano, E2: Algarrobos, E3: La Mata, E4: Concepción

La familia Calliphoridae tiene importancia ecológica, médica y sanitaria, debido a su preferencia por heces, basura orgánica y carne en descomposición (Mariluis & Mulieri, 2005), de donde adquieren gran cantidad de patógenos como virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos (Ferreira & Barbola, 1998).

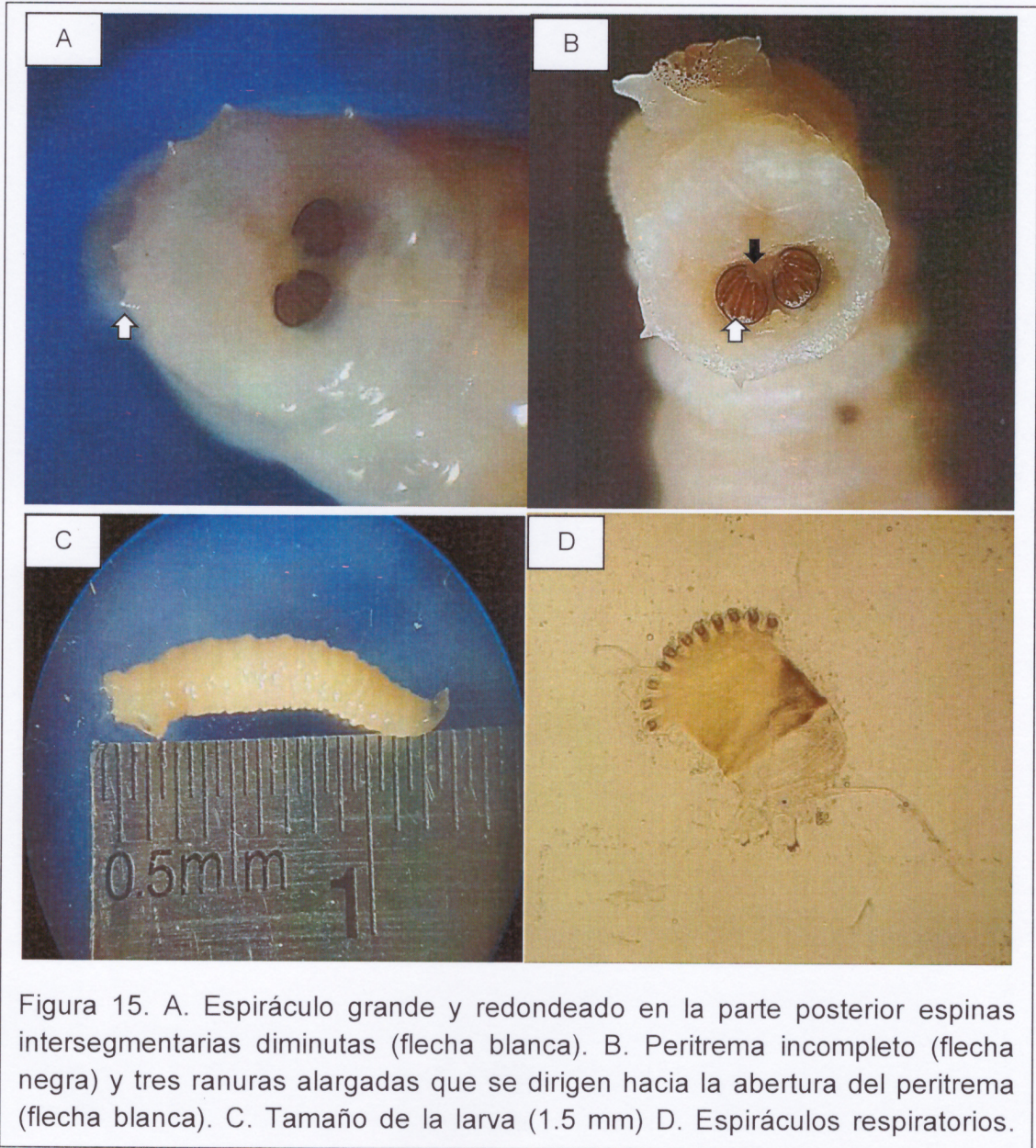
Las larvas de Calliphoridae son vermiformes, acéfalas, en su extremo anterior aguzado posee un esqueleto cefalofaríngeo, mientras que su extremo posterior es truncado, formado por un disco más o menos cóncavo y rodeado por cuatro a seis pares de tubérculos cónicos. En el centro de este disco se encuentran dos espiráculos posteriores, cada uno de ellos con aberturas espiraculares que suelen utilizarse como caracteres diagnósticos en las larvas maduras principalmente en el tercer estadio (Greenberg & Szyska, 1984).

El cuerpo se encuentra dividido en 12 segmentos, la mayoría con anillos de espinas pigmentadas paralelas o irregulares que pueden cubrir la totalidad del segmento o sólo una porción de éste (Stehr, 1991).

En el cuadro 9 se muestra la totalidad de larvas por especie bacteriana, para *Escherichia coli* se obtuvieron 181 larvas, solo en E1 y E2 (Algarrobos y Concepción) sin embargo, para *Pseudomona aeruginosa* solo se encontraron larvas en las muestras obtenidas en E2 (Algarrobos, 115), cabe mencionar que *Staphylococcus aureus* obtuvo la mayor cantidad de larvas (423) en las muestras obtenidas en la E2 (Algarrobos), y en *Chromobacterium violaceum* se recolectaron 154 larvas entre la E1 y E2 (Macano y Algarrobos).

Phormia regina pertenece a la familia Calliphoridae, subfamilia Chrysomyinae, las larvas se caracterizan por tener un espiráculo en la parte posterior, grande y redondeado, ubicado en una invaginación superficial, y espinas intersegmentarias diminutas y afiladas dispuestas en hileras cortas (Vanin, 2009). Se caracteriza por ser una mosca de importancia forense, por ocasionar miasis en animales (Hall & Wall, 1995).

Los espiráculos respiratorios anteriores de las larvas de *Phormia regina* son estructuras en forma de abanico que llevan 11 ramas, además el extremo posterior de la larva presenta una placa espiracular ubicada en un hoyo profundo formado por los márgenes del segmento, por otro punto los espiráculos respiratorios posteriores se caracterizan porque presentan un peritrema incompleto y tres ranuras alargadas que se dirigen hacia la abertura del peritrema. (Vanin *et al.*, 2009).



4.3 Afinidad de las larvas de *Phormia regina* en función de la especie bacteriana

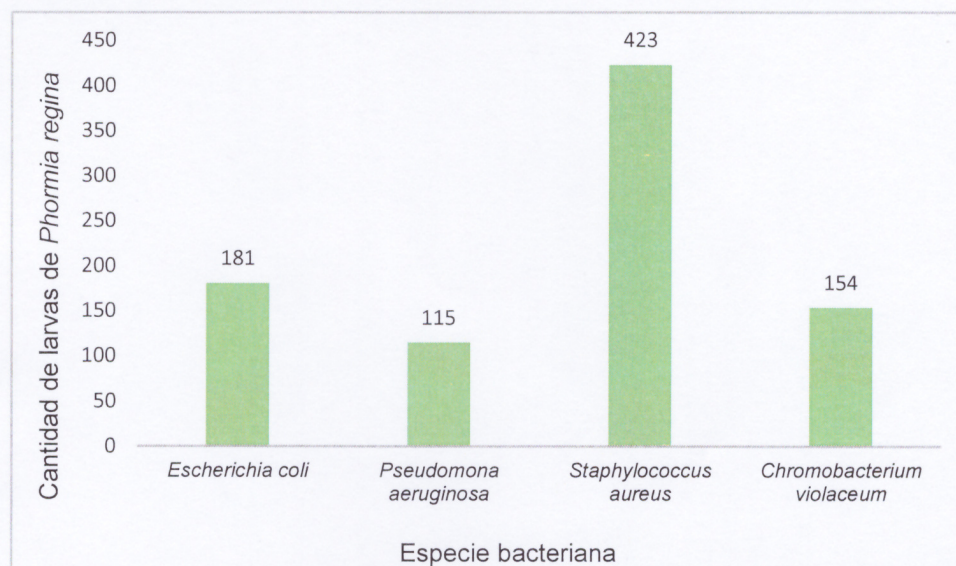


Figura 16. Afinidad de las larvas de *Phormia regina* por diferentes especies bacterianas

En la figura 16 se observa que las larvas de *Phormia regina* tuvieron mayor preferencia por la especie bacteriana *Staphylococcus aureus* (423), y menor preferencia ovipositoria por la especie *Pseudomona aeruginosa* (115). Para estos datos se omitió la prueba inferencial debido a que no todas las categorías correspondientes a la estación de muestreo y/o especie bacteria, presentaban frecuencias.

4.4. Afinidad de larvas de *Phormia regina* en función del sector de muestreo

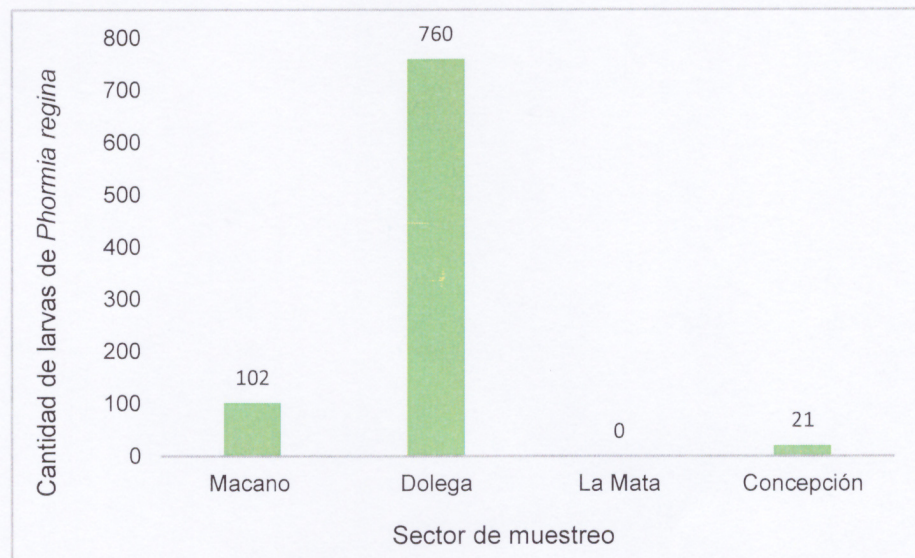


Figura 17. Afinidad de las larvas de *Phormia regina* en función de la estación de muestreo

En la figura 17 se observa que en la E2 (Algarrobos) se recolectó la mayor cantidad de larvas de *Phormia regina* con un total de 760 larvas, seguido de E1 (Macano) con 102 larvas, E4 (Concepción) con 21 larvas y en E3 (La Mata) no se recolectó ninguna larva. *Phormia regina* se caracteriza por ser una mosca que solo coloca sus huevos en carroña. (Byrd & Allen, 2001).

En base a nuestros resultados se comprobó que esta especie obtuvo una mayor preferencia por la E2, donde se colectó la mayor cantidad de larvas. Cabe destacar que la E2 se encontraba ubicada en una zona urbana, pero según estudios estas moscas prefieren las áreas rurales, especialmente cerca de fuentes de agua

(Brundage *et al.*, 2011), características que presentaba la E1, que está ubicada en una zona rural, rodeada de árboles y con una fuente de agua cercana (Río Chico).

Por otro punto, se recolectó solo un espécimen de *Lucilia cuprina* correspondiente a la E2 (Algarrobos), en el cebo que fue tratado con *Serratia marcescens*, esta estación está ubicada en una zona urbanizada, lo cual concuerda con estudios realizados por Wolff & Vélez (2007) donde esta especie está particularmente asociada con ambientes urbanos.

Lucilia cuprina pertenece a la familia Calliphoridae, sus larvas se caracterizan por presentar un espiráculo con peritrema completo, además de un accesorio anal y ausencia de esclerito, el cuerpo está compuesto por 12 segmentos uno cefálico, tres torácicos y ocho abdominales, el espiráculo anterior está compuesto por una hilera de 6 a 7 ramificaciones espiraculares, el espiráculo posterior se encuentra en la parte posterior de una elevación y la abertura única espiracular o peritrema está sostenida por músculos espiraculares (Martins, 2014).

A diferencia de nuestros resultados, las larvas de *Lucilia cuprina* presentan preferencia ovipositoria por los géneros bacterianos *Providencia*, *Ignatzschineria*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Morganella* y *Myroides* (Singh *et al.*, 2015). *Lucilia cuprina* es considerada una especie de importancia forense ya que se ha encontrado frecuentemente asociada a cadáveres humanos y animales (Byrd & Castner, 2001), también presenta importancia médica y veterinaria ya que causante de miasis (Stevens & Wall, 1996).

5 Sarcophagidae

A continuación, se presenta la cantidad de larvas colectadas por especie bacteriana en las diferentes estaciones de muestreo identificadas para *Sarcophaga* sp.

Cuadro 10. Cantidad de larvas colectadas por especie bacteriana en las diferentes estaciones de muestreo identificadas como *Sarcophaga* sp.

Espece bacteriana	Estaciones de colecta	Cantidad de larvas	Total
<i>Streptococcus viridans</i>	E1	58	309
	E2	13	
	E3	0	
	E4	238	
<i>Bacillus</i> sp.	E1	175	286
	E2	2	
	E3	25	
	E4	84	
<i>Serratia marcescens</i>	E1	232	243
	E2	0	
	E3	9	
	E4	2	
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	E1	77	231
	E2	27	
	E3	30	
	E4	97	
<i>Staphylococcus aureus</i>	E1	83	220
	E2	9	
	E3	38	
	E4	90	
<i>Escherichia coli</i>	E1	54	176
	E2	0	
	E3	8	
	E4	114	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	E1	44	151
	E2	67	
	E3	40	
	E4	0	
<i>Chromobacterium violaceum</i>	E1	15	136
	E2	19	
	E3	0	

Continuación del cuadro 10.

E4

102

Leyenda: E1 (Macano), E2 (Algarrobos), E3 (La Mata), E4 (Concepción).

Sarcophagidae fue la primera en colonizar los cebos, esta familia es considerada por Pape (1996) como la más importante, debido a que en ella encontramos el larviparismo, característica propia de esta familia, que hace que las hembras coloquen larvas y no huevos, siendo beneficiosos para las larvas de Sarcophagidae, ya que estas no tienen que esperar la maduración del huevo, que por lo general es de 1 a 2 días, y así aprovechan más el recurso en el que se desenvuelven.

Esto les permite a estas larvas crecer muchísimo más que a las otras larvas necrófagas, siendo de un tamaño de alrededor de 21 mm. Esta característica les confiere cierta ventaja en comparación con las especies ovíparas, en especial cuando se trata de sustratos efímeros, como son los casos de pequeños cadáveres o cadáveres en condiciones de rápida desecación (Barros *et al.*, 2008; Pape & Dahlem, 2010).

En este estudio se colectaron en total 1,752 especímenes larvales en diferentes estadios inmaduros (cuadro 10) teniendo presencia en todas las estaciones de muestreo y de igual manera en las ocho especies bacterianas, todas pertenecientes al género *Sarcophaga* presentando las siguientes características: cuerpo liso con discretas espinas cuticulares y sin procesos laterales o posteriores; esqueleto cefalofaríngeo con brazos dorsales más largos que los ventrales; espiráculos anteriores con 21 papilas (figura 18), espiráculos posteriores localizados en una

foseta en el extremo posterior con hendiduras respiratorias rectas, peritrema incompleto y botón indiferenciado (Stojanovich *et al.*, 1969).

Estos datos fueron sometidos a una prueba de Chi² de Bondad de Ajuste considerando la estación de muestreo y la especie bacteriana. Al contrastar ambas variantes por separado tomando en cuenta la cantidad de larvas colectadas como frecuencia, se determinó que existe diferencia significativa en el número de larvas, en función de la estación de muestreo ($X^2= 792.39$, g.l.=3, $P= 0.0001$), así como en función de la especie bacteriana ($X^2= 121.79$, g.l.=7, $P= 0.0001$); siendo la E1 ubicada en el distrito de Boquerón (Macano) la estación con mayor cantidad de larvas con 738. Mientras que, para la especie bacteriana, la mayor cantidad se obtuvo a partir del cebo correspondiente a *Streptococcus viridans* con 309 especímenes. Cabe destacar que la E1 se encontraba ubicada en una zona rural, rodeada de árboles a diferencia de las otras estaciones que se encontraban situadas en áreas más urbanizadas. Estos resultados concuerdan con el estudio de Garcés *et al.*, (2020) realizado en el Parque Soberanía en el cual las moscas también presentaron una preferencia en cuanto a zonas boscosas. Por otra parte, la humedad, la etapa de descomposición del cebo, y la liberación de gases como sulfuro, amoníaco y nitrógeno durante la fermentación de la carne al transcurrir el tiempo de exposición, son factores importantes capaces de afectar el número de individuos atraídos.

Es oportuno señalar que a pesar de que no eran objeto de estudio de esta investigación, también fueron observadas moscas adultas de la familia Muscidae concretamente la especie *Musca domestica* alimentándose de los cebos dentro de

las trampas; sin embargo, no se obtuvo ningún estadio inmaduro de las mismas debido a que estas no ovipositaron, y probablemente solo hayan visitado los cebos para aprovechar los fluidos ricos en proteínas resultándoles útiles a las hembras saprófagas para la maduración ovárica.

CAPÍTULO V

CONSIDERACIONES FINALES

5.1 Conclusiones

En la prueba de antibiograma *Bacillus* sp., *Streptococcus viridans* y *Pseudomona aeruginosa* fueron las especies que presentaron mayor resistencia a los antibióticos, mientras que *Escherichia coli* fue la bacteria que presentó mayor sensibilidad.

Phormia regina fue la especie de la familia Calliphoridae con mayor cantidad de larvas recolectadas.

Phormia regina presentó mayor afinidad ovipositoria por la especie bacteriana *Staphylococcus aureus*.

La E2 ubicada en Los Algarrobos, Dolega fue la estación con mayor cantidad de larvas recolectadas de Calliphoridae todas correspondientes a la especie *Phormia regina*.

Se obtuvo un total de 1752 larvas de *Sarcophaga* sp., estando presente en las cuatro estaciones de muestreo y en las ocho especies bacterianas; se evidenció una preferencia ovipositoria en función de la estación de muestreo (χ^2 de Bondad de Ajuste: $X^2= 792.39$, g.l.=3, $P= 0.0001$), así como en función de la especie bacteriana (χ^2 de Bondad de Ajuste: $X^2= 121.79$, g.l.=7, $P= 0.0001$).

La mayor cantidad de larvas de *Sarcophaga* sp. se obtuvo del cebo correspondiente a *Streptococcus viridans* con 309 especímenes; en cuanto a la estación de muestreo con mayor cantidad de larvas, esta fue la E1 ubicada en Macano, Boquerón con un total de 738.

Se observó que a pocas horas de colocadas las trampas con los diferentes cebos ya los mismos contaban con larvas, esto evidencia el comportamiento característico de Sarcophagidae al realizar larviparismo por parte de las hembras siendo las primeras en colonizar el sustrato.

5.2 Referencias

- Aballay, F. H., A. F. Murúa, J. C. Acosta & N. D. Centeno. 2008. Primer registro de artropodofauna cadavérica en sustratos humanos y animales en San Juan, Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67 (3-4): 157-163.
- Abarzúa f, Zajer C, Donoso B, Belmar C, Riveros J, González P. 2002. Reevaluación de la sensibilidad antimicrobiana de patógenos urinarios en el embarazo. *Rev Chil Obstet Ginecol* 67 (3): 226-23.
- Amendt, J. Krettek, R. & Zehner, R. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften*. 91: 51-65.
- Anderson G. 2001. Insect succession on carrion and its relationship to determining time of death. *Florida*. 5: 143–175 pp.
- Anderson GS. 2001. Succession on carrion and its relationship to determining time of death. In: Byrd JH, Castner JL (eds) *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC, Boca Raton, Fla., 143–175
- Andrade, D. 2014. Agar nutritivo. Obtenido de: <https://es.slideshare.net/danielaandradesalazar12/agar-nutritivo-38346028>. Consultado el 08-9-2020
- Angulo, C. 2007. Larvas sanadoras. *Nova et vetera* 8 (1) 1-8. <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/3502/Edici%F3n08-2007.pdf?sequence=1>. Consultado el 7-7-2020
- Arnaldos I, Romera E, García MD, Luna A. 2001. An initial study on the succession of sarcosaprophagous Diptera (Insecta) on carrion in the southeastern Iberian Peninsula. *Int J Legal Med*. 114:156-162.
- Arnaldos M I., García M. D., Presa J. J. 2010. Sucesión faunística sarcosaprófaga. Universidad de Murcia. Murcia. 38p.
- Ashworth JR & Wall R. 1994. Responses of the sheep blowflies *Lucilia sericata* and *L. cuprina* to odour and the development of semiochemical baits. *Med Vet Entomol* 8:303–309
- Atapattu D., Jayawickrama, D. & Thevanesam V. 2001. An unusual bacterium causing brain abscess. *Emer Inf. Dis*. 7: letter.
- Barrero, L. 2016. Microbiología clínica. Obtenido de: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
- Barreto, M.; Burbano, M.; Barreto, P. 2002. Flies (Calliphoridae, Muscidae) and Beetles (Silphidae) from human cadavers in Cali, Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97: 137-138.

- Barros, R.M., C.A. Mello-Patiu & J.R. Pujol-Luz. 2008. Sarcophagidae (Insecta, Diptera) asociados à decomposição de carcaças de *Sus scrofa* Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil. *Revista Brasileira de Entomología*. 52: 606–609.
- Battán Horenstein, M., A. X. Linhares, B. Rosso de ferradas & D. García. 2010. Decomposition and dipteran succession on pig carrion in central en Argentina: Ecological aspects and their importance to forensic science. *Med. Vet. Entomol.* 24: 16-25.
- Benecke M. 2001. A brief history forensic entomology. *Forensic Science International*. 120:2-14.
- Bourel, B., I. M. Bouyer, V. Hedouin, J. C. Cailliez, D. Derout & D. Gosset. 1999. Necrophilous insect succession on rabbit carrion in sand dune habitats in northern France. *J. Med. Entomol.* 36: 420-425.
- Bourel, B., I. M. Bouyer, V. Hedouin, J. C. Cailliez, D. Derout & D. Gosset. 1999. Necrophilous insect succession on rabbit carrion in sand dune habitats in northern France. *J. Med. Entomol.* 36: 420-425.
- Britanialab. 2015. Agar nutritivo. Obtenido de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a28446b169d8.pdf. Consultado el 08-9-2020
- Britanialab. 2015. E.M.B. Agar (con eosina y azul de metileno). Obtenido de: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a28240e1c004.pdf. Consultado el 08-9-2020.
- Bou G., Fernández O., García C, Sáez J., Valdezate S. (2010). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 29 (8): 601 – 608.
- Brooks G, Morse S, Butel J. 1999. *Pseudomonas*. En: Jawetz, Melnick y Adelberg *Microbiología Médica*. 16ª ed. México D.F., El Manual Moderno 699-701 pp.
- Brugueras M., Morejón M., Salup R. (2005). Actualidad de las quinolonas. *Rev Cubana Farm* vol. 39 (1).
- Brundage, Adrienne; Bros, Shannon; Honda, Jeffrey Y. (octubre de 2011). "Abundancia y distribución estacional y de hábitat de algunas moscas de mosca (Diptera: Calliphoridae) de importancia forense en California Central". *Internacional de Ciencias Forenses*. 212 (1-3)
- Buenaventura E. Camacho G. García E. Wolff M. 2009. Sarcophagidae (Díptera) de importancia en Colombia: claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. *Revista Colombiana de Entomología. Sección Médica*. 35 (2): 189-196.

- Byrd, Jason H. ; Allen, Jon C. (agosto de 2001). "El desarrollo de la mosca negra, *Phormia regina* (Meigen)". *Internacional de Ciencias Forenses*. 120(1-2): 79-88.
- Campobasso, C.P., Divella, G., Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*, 120: 18-27.
- Cars O, Hober LD, Murria M, Norberg O, Sivaraman S. 2008. Meeting the challenge of antibiotic resistance. *Br Med J*. 337:726-28.
- Carvalho, L.; Thyssen, P.; Linhares, A.; Palhares, F. (2002). A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 95: 135-38.
- Castañeda Y., López P., Figueroa Y., Fuentes J. (2009). Susceptibilidad a antibióticos de bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas de aguas y sedimentos marinos de playas de la isla de Margarita, Venezuela. *Saber, Universidad del Oriente, Venezuela*. Vol. 21 (1).
- Catts E. P. & Goff M. L. 1992. Forensic entomology in Criminal Investigations. *Acta medicinae legalis et socialis Lisboa*. Vol. 38. 253-273.
- Cazander, G. van Veen, K. E. Bernards, A. T. & Jukema, G. N. (2009a). Do maggots have an influence on bacterial growth? A study on the susceptibility of strains of six different bacterial species to maggots of *Lucilia sericata* and their excretions/secretions. *J. Tissue Viability*. 18: 80-87. Chapman, G. 1945. The Significance of Sodium Chloride in Studies of Staphylococci. *Lab. Clin. Med*. 20: 201-203.
- Condalab. 2019. Agar Hierro y Triple de Azucar (TSI). Obtenido de: https://www.condalab.com/int/en/index.php?controller=attachment&id_attachment=7685. Consultado el 08-9-2020.
- Doménech A, Ardanuy C, Pallares R, Grau I, Santos S, Adela G, et al. 2013. Some pneumococcal serotypes are more frequently associated with relapses of acute exacerbations in COPD patients. *PloS One*. During winter. 51st American Academy of Forensic Sciences Annual Meeting. Orlando, FL.
- Faraj, A. & Mawllod, N. 2018. Estudio morfológico de los estadios de la mosca de la carne, *Sarcophaga africa*. *Journal of Education and Science*. Vol. 27 (2), 28 - 38.
- Faría J., Allara M., Izquierdo P., D'Á'Pool G., García A., Valero K. (1). Resistencia a los antimicrobianos de especies de bacillus aislados de leche cruda. *Revista Científica De La Facultad De Ciencias Veterinarias De La Universidad Del Zulia*, 11(6). Ferreira M.J.M. e I.F. Barbola. 1998. Sinantropía de Califorídeos (Insecta, Díptera) de Curitiba, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biología* 58: 203-209.

- Ferreira MJM, IF Barbola. 1998. Sinantropía de Califorídeos (Insecta, Diptera) de Curitiba, Paraná, Brasil. *Rev. Bras Biol* 58 (2): 203-209.
- Fisher P, Wall R, Ashworth JR (1998) Attraction of the sheep blowfly, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) to carrion bait in the field. *Bull Entomol Res* 88:611-616
- Fonseca, A. 2011. *Esterilización de huevos y efecto de larvas Lucilia sp (Diptera: Calliphoridae) en biofilms de Pseudomona aeruginosa*. Tesis de maestría. Instituto politécnico nacional. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, Mexico.
- Galante, E. & M. A. Marcos-García. 1997. Detritívoros, Coprófagos y Necrófagos. Los artrópodos y el hombre. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*. 20: 57-64.
- Gárces, P. Arias, L. & Medina, M. (2020). Sarcophagidae de interés forense en el Parque Nacional Soberanía, Provincia de Panamá. 2: 102-121.
- García-Hernández AM, García-Vázquez E, Hernán-dez-Torres A, Ruiz J, Yagüe G, Herrero JA, et al. 2011. Bacteraemia due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL): clinical relevance and today's insights. *Rev Esp Quimioter* 24(2):57-66.
- Gelderman HT, Boer L, Naujocks T, IJzermans ACM, Duijst WLJM. 2018. The development of a post-mortem interval estimation for human remains found on land in the Netherlands. *Int J Legal Med*.
- Gill, M. 2018. Agar MacConkey: fundamento, preparación y usos. Obtenido de: <https://www.lifeder.com/agar-macconkey/>. Consultado el 08-9-2020
- Gill, M. 2019. Agar TSI: fundamento, preparación y usos. Obtenido de: <https://www.lifeder.com/agar-tsi/>. Consultado el 08-9-2020
- Gómez M., Santos A., Guevara A., Rodríguez C. (2016). Reporte de dos casos de inusual infección no letal por *Chromobacterium violaceum*. *Revisión literaria*. 2016.
- Gómez, E. (1977). Resistencia bacteriana a los antibióticos. La Universidad de Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo. Venezuela. (Trabajo de ascenso) 145 pp.
- Govin A; Reyes M; Guerra M; Sánchez M. (2020). Caracterización de cepas de *Serratia marcescens* resistente a metales pesados aislados del yacimiento leterítico de Moa, Cuba. *Rev. CENIC Cienc. Biol*, vol 51 (3).
- Greenberg B. and M.L. Szyska. 1984. Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America* 77: 488-517.

- Guzmán, F. 2019. Agar manitol salado. Obtenido de: <https://es.slideshare.net/FridaGuzman2/agar-manitol-salado>. Consultado el 08-9-2020
- Hall & Wall, 1995. Miasis de humanos y animales domésticos. Avances en parasitología 35: 258 – 334.
- Herrera M., Catarinella G., Mora D, Obando C., Moya T. (2005). *Chromobacterium violaceum* sensibilidad antimicrobiana. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños 40 (1).
- Hooper D. Fluoroquinolone resistance among gram-positive cocci. Lancet. 2002; 2:530-538 pp.
- Iannacone, J. (2003). Artopofauna de importancia forense en un cadáver de cerdo en el Callao. Perú. Rev. Bras Zool. 20: 85-90.
- IBM Corp. Released 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- J. Stevens, R. Wall. 1996. Clasificación del género *Lucilia* (Díptera: Calliphoridae): un análisis preliminar de parsimonia. J. Nat. Hist., 1087 – 1094.
- JH Byrd, JL Castner. 2001. Entomología forense: la utilidad de los artrópodos en las investigaciones legales. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Johnson, M.D. 1975. Seasonal and Microseral Variation in the Insect Population on Carrion. The American Midland Naturalist, 93: 79-90.
- Karas JA, Pillay DG, Muckart D. Treatment failure due to extended-spectrum β -lactamase. J Antimicrob Chemother 1996; 37:203-204. Thielman & Gerrant. (1999).
- Kliebe C, Nies B, Meyer J, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. 1985. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 28:302-7.
- Koneman A, Dowell J, Sommers W. 1996. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en Diagnóstico Microbiológico. 3er ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana 566-568 pp.
- Koneman E., Winn C. (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Chapter 13. The aerobic Gram positive Bacilli. Fifth edition. Lippincott Philadelphia. USA: 651-708 pp.
- Leal A, Schmalbach J, Álvarez C, Buitrago G, Méndez M, Grebo. 2006. Canales endémicos y marcadores de re-sistencia bacteriana, en instituciones de tercer nivel de Bogotá, Colombia. Rev Salud Pública 8: 59-70 pp.

- Leclercq, M. 1996. À propos de l'Entomofaune d'un cadavre de sanglier. Bulletin et Annales de la Société Royale Belge d'Entomologie, 132: 417-442.
- MacGregor D. M. 1999a. Decomposition of pig carrion in Southeast Queensland, Australia, during summer. 51st American Academy of Forensic Sciences Annual Meeting. Orlando, FL.
- MacGregor D. M. 1999b. Decomposition of pig carrion in Southeast Queensland, Australia,
- Mariluis J, PR Mulieri. 2005. Artrópodos de interés médico en Argentina. Calliphoridae, Califóridos. 95-100.
- Mariluis J.C. y P.R. Mulieri. 2005. Calliphoridae, califóridos, p. 95-100. En: Salomón O.D. (ed). Actualizaciones en artropología sanitaria Argentina, Fundación Mundo Sano, 302 p.
- Martínez-Sánchez, A., S. Rojo & M. García. 2000. Sarcófagos necrófagos y coprófagos asociados a un agrosistema de dehesa (Diptera, Sarcophagidae). Bol. Asoc. Esp. Entomol. 24: 171-185.
- Martins C. (2014). Ultraestructura de las etapas inmaduras de *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) mediante microscopía electrónica de barrido. Acta trópica 136, 123- 128.
- Matuszewski S. 2017. A general approach for postmortem interval based on uniformly distributed and interconnected qualitative indicators. Int J Legal Med 131(3):877-84.
- Minelli A. Boxshall G. Fusco G. 2013. Arthropod Biology and Evolution. Molecules, Development, Morphology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 530 pag.
- Mona S, Jawad M, Noreen S, Ali S, Rakha A. 2019. Forensic Entomology: A Comprehensive Review 6(2):12.
- Moore JC, EL Berlow, DC Coleman, PC de Ruitter, Q Dong, A Hastings. 2004. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. Ecol Letters 7: 584-600.
- Mulieri, P. R, J. C. Mariluis & I. D. Patitucci. 2010. Review of the Sarcophaginae (Diptera: Sarcophagidae) of Buenos Aires province (Argentina), with a key and description of a new species. Zootaxa 2575: 1-37.
- Mutters R. Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella and Others. Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. En: Manual of Clinical Microbiology. 7a ed. Ed in chief, Murray P, Eds Baron E., Pfaller M., Tenover F. and Tenover R. American Society of Microbiology, Washington D.C.

- Nakajima A, Sugimoto Y, Yoneyama H, Nakae T. 2002. High level fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* due to interplay of the MexAB-OprM efflux pump and the DNA gyrase mutation. *Microbiol Immunol* 46: 391-5.
- Nielsen B., Dines M., Stuer-Lauridsen B., Derkx P., Johansen E. (2013). Cepas de *Bacillus* sensibles a antibióticos que tienen efecto antimicrobiano contra *E. coli* y *Clostridium perfringens* y que tienen alta capacidad de esporulación.
- Oliva, A. 2007. Frecuencia y distribución temporal de moscas cadavéricas (Díptera) en la ciudad de Buenos Aires. *Rev Mus Argnt Cien Nat. (n.s.)* 9: 5-14.
- Oliver A, Levin BR, Juan C, Baquero F, Blázquez H. 2004. Hypermutation and the preexistence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants: implications for susceptibility testing and treatment of chronic infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:4226-33 pp.
- Pape, T. & G.A. Dahlem. 2010. Sarcophagidae (Flesh flies). In: B. V Brown, A. Borkent, J. M. Cumming, D.M. Wood, N. E. Woodley & M. A. Zumbado [Eds], *Manual of Central American Diptera Vol. 2.* NRC Research Press, Ottawa, Canada. 1297–1335.
- Pape. T. 1996. Catalogue of the Sarcophagidae of the world (Insecta: Diptera). *Memoirs of Entomology, International* 8: 555 p.
- Parker C, Bernaola L, Lee BW, Elmquist D, Cohen A, Marshall A. 2019. Entomology in the 21st Century: Tackling Insect Invasions, Promoting Advancements in Technology, and Using Effective Science Communication—2018 Student Debates. *J Insect Sci* 19(4).
- Paterson DL, Bonomo RB. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18:657-86 pp.
- Pérez J., Brito A.; Andrade E.; Cerrada O.; Tovar L.; Guzmán, M.; Carmona O. (2000). Resistencia de *Serratia marcescens* a los antimicrobianos en Venezuela. *Microbiol vol. 20 (1)* Caracas.
- Pérez M., Brito A.; Guzmán M.; Carmona O. (2001). Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. *Análisis de una década. Microbiol. v. 21 (2)*.
- Pérez MF, Rodríguez D, Zuazo JL. 1991. Marcadores epidemiológicos en el estudio de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de una unidad de cuidados intensivos pediátricos. *Rev Cubana Med Trop* 43(2):132-5.
- Piero A, Montisci M, Pelletti G, Vanin S. 2019. Crime scene and body alterations caused by arthropods: implications in death investigation. *Int J Legal Med.* 133(1):307-16.

- Pollack M & Ohi C. 2002. Infections due to *Pseudomonas* species and related microorganisms. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th ed. Mc Graw-Hill, U.S.A. 1138-45 pp.
- Reed, H.B.A. 1958. Study of dog carcass communities in Tennessee, with special reference to the insects. *The American Midland Naturalist*, 59: 213-245.
- Robinson, W. 1935. Progress in maggot therapy in the United States and Canada in the treatment of suppurative diseases. *Am J Surg*. 29: 67-71
- Rodríguez S., Calderón E., Gómez D., Espinosa de los Monteros L. (2000). Características de la resistencia antimicrobiana de una colección clínica de *Streptococcus pyogenes*. *Salud pública de México* vol.42 (3).
- Romera, E., M. I. Arnaldos, M. D. García & D. González-Mora. 2003. Los Sarcophagidae (Insecta, Díptera) de un ecosistema cadavérico en el sureste de la Península Ibérica. *Anal. Biol*. 25: 49-63.
- Santiesteban Y., Dra. Carmona Y., Dra. Pérez Y., Novoa L., García S., Dra. Kobayashi N., Quiñones D. (2014). Infecciones por los géneros *Klebsiella* y *Acinobacter* en hospitales pediátricos cubanos y resistencia antibiótica. *Rev Cubana Med Trop* vol. 66 (3).
- Schoenly K, Goff ML, Wells JD & Lord WD. 1996. Cuantificación de la incertidumbre estadística en estimaciones entomológicas basadas en la sucesión del intervalo post mortem en las investigaciones de la escena de la muerte: un estudio de simulación 42 (2): 106-112.
- Shang Y, Lv J, Wang S, Ren L, Chen W, Guo Y. 2019. *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae): A flesh fly species of medical and forensic importance. *Tropical Biomedicine* ;36(1):131-42.
- Sharma R, Garg RK, Gaur J. 2015. Varios métodos para la estimación del intervalo post mortem de Calliphoridae: una revisión. *Revista Egipcia de Ciencias Forenses* 5 (1): 1-12.
- Sharma R, Kumar Garg R, Gaur JR. 2015. Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 5(1):1-12.
- Shewell, G. 1987. Sarcophagidae, En: McAlpine, J.; Peterson, B.; Shewell, G.; Teskey, H.; Vockeroth, J.; 1159-1186 p.
- Singh, B., Crippen, T.L., Zheng, L. *et al.* 2015. A metagenomic assessment of the bacteria associated with *Lucilia sericata* and *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). *Appl Microbiol Biotechnol* 99, 869 – 883 p.
- Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW. 2007. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Food Pathog Dis*. 4(2):134-63.

- Smith K. 1986. A Manual Entomology Forensic. I edition. Department of entomology. London. 102 pág.
- Smith, K. 1986. A manual of forensic entomology. The Trustees of the British Museum (Natural History), Londres. 205 p.
- Stehr F. 1991. Immature Insects. Vol. 2, Kendall/Aunt Publishing Company, Iowa, 975 p.
- Stevens JR. 2003. The evolution of myiasis in blowflies (Calliphoridae). Int. J. Parasitol. 33: 1105-1113.
- Stojanovich CJ, Pratt HD, Bennington EE. 1969. Fly larvae: Key to some species of Public Health Importance. En: US Department of Health, Education and Welfare. Pictorial keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance. Whashington D. C: Public health pub N° 1955, 125-133.
- Swift MJ, OW Heal, JM Anderson. 1979. Decomposition in Terrestrial Ecosystems. Blackwell Scientific Public. Oxford, U.K.
- Szpila, K. 2010. Clave para la identificación de terceros instar de moscas azules europeas (Diptera: Calliphoridae de importancia forense. Conceptos actuales en entomología forense, 43 – 56 pp.
- Thielman NM, Guerrant RL. 1999. Escherichia coli. In: Yu VL, Merigan Jr TC, Barriere SL (eds). Antimicrobial therapy and vaccines. Baltimore, USA: Williams y Wilkins. 188-200 pp.
- Turchetto M, Lafisca S, Costantini G. 2001. Postmortem interval (PMI) determined by study sarcophagous biocenoses: three cases from the province of Venice (Italy). Forensic Sci Int. 120:28-31.
- Ubukata K, Yamashita N, Gotoh A, Cono M. 1984. Purification and characterization of aminoglycoside-modifying enzymes from Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis. Antimicrob Agents Chemother 25:754-759 pp.
- Valery F.; Miranda M.; Espósito A.; Maggi G.; Spadola E. (2005). Resistencia a penicilina y cefalosporinas de tercera generación en cepas de *Streptococcus pneumoniae*. Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría, vol. 68 (4), pp. 177-185.
- Vanin C. (2009). Entomología forense y Arqueología de la guerra. Revista de arqueología de conflictos 5:127-139.
- VanLaerhoven SL & Anderson GS. 1999. Insect succession on buried carrion in two biogeoclimatic zones of British Columbia. J Forensic Sci. 44(1):32-43.
- Velásquez Y., Gobbi P., Martínez A., Santos R. (2010). Dípteros de importancia forense en la Península Ibérica: clave de identificación de lavas. *Medical and Veterinary Entomology* 24:293 – 308.

- Villar H. & Jugo M. 2013. Emergencia de *Streptococcus agalactiae* con resistencia de alto nivel a la gentamicina y estreptomocina en Buenos Aires, Argentina. Rev. Esp. Quimioter 2013, 26 (2) 112-115.
- Whitworth, T. 2006. Claves para géneros y especies de moscas califóridas (Díptera: Calliphoridae) de América al norte de México. Proc. Entomol. Soc. Wash. 108 (3), 689 – 725.
- Wolff, M., Uribe, A., Ortiz, A. & Duque, P. 2001. A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. Forensic Sci Int. 120: 53-59.
- WOLFF, M.; VÉLEZ, M. 2007. Calliphoridae (Diptera): de importancia forense en Colombia, anotaciones sobre su comportamiento y distribución. Memorias XXXIV Congreso Sociedad Colombiana de Entomología 88-98 p.
- Wood, D. (Eds.). Manual of Nearctic Diptera. Volumen II. Research Branch, Agriculture Canada, Monograph 28. Ottawa, Canada. 1332 p
- Zucchi, R. 2009. Descripción y Clave de los Estadios Inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Díptera) de importancia forense en Colombia. *Neotropical Entomology* 38 (3); 418 – 429.
- Zumbado, M., Azofeifa D. 2018. Insectos de Importancia Agrícola. Guía Básica de Entomología. Heredia, Costa Rica. Programa Nacional de Agricultura Orgánica (PNAO). 204 pp

5.3 Anexos

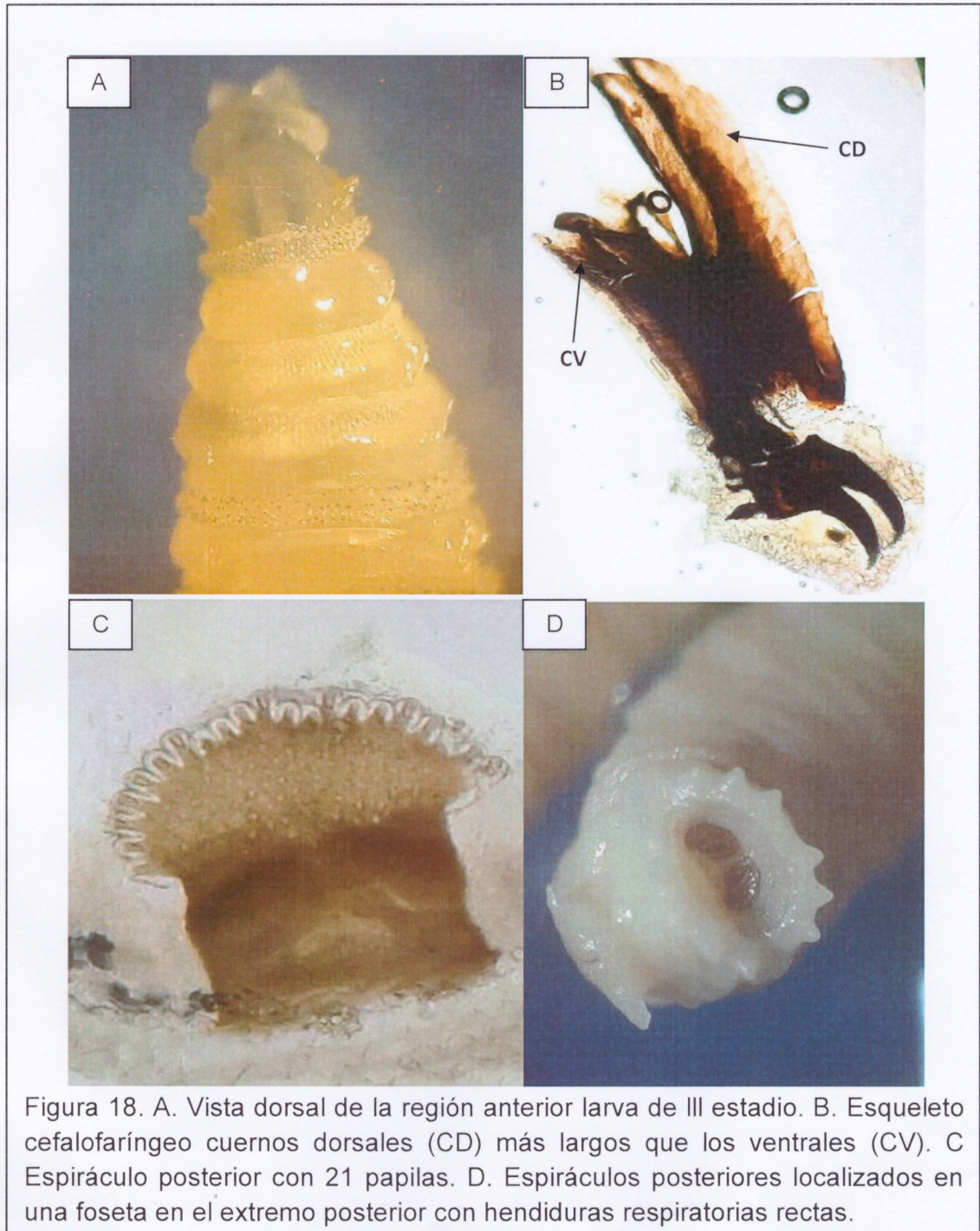


Figura 18. A. Vista dorsal de la región anterior larva de III estadio. B. Esqueleto cefalofaríngeo cuernos dorsales (CD) más largos que los ventrales (CV). C. Espiráculo posterior con 21 papilas. D. Espiráculos posteriores localizados en una fosea en el extremo posterior con hendiduras respiratorias rectas.