

## ENTOMOLOGIA FORENSE: INSETTI E INDAGINI TECNICHE

di *Teresa Bonacci*

Gli insetti hanno evoluto morfologie e comportamenti tali da assicurarsi un'ampia ripartizione in quasi tutti gli ambienti naturali e antropizzati. Svolgono ruoli importanti nella distribuzione dell'energia tra i diversi livelli trofici delle catene alimentari di quasi tutti gli ecosistemi e nel processo di turnover



FIG. 1 Larva di *Cucujus cinnaberinus* (Coleoptera, Cucujidae)



FIG. 2 *Clinidium canaliculatum* (Coleoptera, Rhysodidae)

del carbonio all'interno delle foreste. Molti sono predatori, altri parassiti e xilofagi (consumatori di biomassa legnosa), altri ancora sono prede ovvero ospiti di altri animali, compreso l'uomo.

Molte specie forniscono diversi benefici, basti pensare agli insetti impollinatori o predatori dei parassiti delle piante coltivate. Gli insetti hanno da sempre avuto un ruolo nell'alimentazione umana ed oggi integrano la dieta di circa 2miliardi di persone, si pensi al sistematico consumo praticato in Asia, Africa ed America Latina e recentemente anche in Europa. All'interno di questo vastissimo gruppo tassonomico di animali, ritroviamo però anche vettori di svariati agenti patogeni responsabili di malattie e zoonosi (solo per citarne alcune, Dengue, Chikungunya, malattia da West Nile e malaria trasmesse da *Aedes albopictus* e *Anopheles* spp); alcuni

infestano derrate alimentari e prodotti immagazzinati; altre ancora sono causa della perdita di interi raccolti e responsabili dell'alterazione delle qualità dei prodotti coltivati e loro derivati.

La relazione tra gli insetti e l'uomo è argomento di base dell'entomologia applicata, la disciplina che utilizza le conoscenze sulla biologia e sul comportamento degli insetti per risolvere questioni legate alle attività antropiche.

Esempi di entomologia applicata si possono osservare in campo agrario, per la lotta biologica ai fitoparassiti, in campo ambientale, per la valutazione della qualità degli habitat attraverso i bioindicatori, e in campo medico e veterinario, per lo studio delle malattie e parassitosi causate da agenti vettori. In ambito giuridico, l'entomologia forense (che comprende: l'entomologia urbana, l'entomologia dei prodotti immagazzinati e l'entomologia medico-legale) trova applicazione in controversie civili e penali legate ad insetti e/o artropodi che infestano l'ambiente umano. L'entomologia forense medico-legale si occupa di diversi gruppi tassonomici di insetti (in particolare Ditteri e Coleotteri) e tra questi le mosche rivestono un ruolo di primaria importanza.

### **Le mosche: insetti ignobili o sacri?**

Le mosche, creature che si accoppiano promiscuamente, irrequiete, disgustose perché calpestando il cibo per poi nutrirsene, sono sempre state odiate anche a causa di questi loro comportamenti. Lo stesso Aristotele pareva ritenesse lo “stile di vita” di questi insetti offensivo rispetto all'umana sensibilità, considerati irresponsabili se paragonati “agli insetti sociali” e simbolicamente associate al peccato, questi insetti sono stati spesso utilizzati come segno del Diavolo.

*Beelzebub*, il Signore delle mosche, è ritratto come una feroce mosca, con il simbolo del teschio e le ossa incrociate sulle ali.



FIG. 3 Diptera Sarcophagidae

Molte presunte streghe e figure demoniache con le sembianze di mosche entravano nelle case, per derubare, tormentare e sedurre gli uomini (Sturluson S. XIII secolo).

L'odio verso questi insetti diventa smisurato quando nel diciannovesimo secolo viene attribuito loro un ruolo attivo nella trasmissione di alcune malattie. Da questo momento molti autori di testi e opere d'arte, avviano una vera e propria “campagna di sterminio” delle mosche; quasi come un vero e proprio dovere morale (Keller, 2007).

Nel contempo, altri testi descrivono l'intima associazione tra l'uomo e le mosche e, in funzione del contesto storico, culturale e civile, questi insetti assumono "ruoli" culturali contraddittori: analogamente al motivo per cui sono state demonizzate, si arrivò ad elevare le mosche a simbolo di libertà: «*Each fly is king of his own country. He knows no laws or conventions [...] He has no work to do—no tyrannical instinct to obey [...] what freedom is like his?*» (in Keller, 2007).

Nel tempo, i dati sulla loro biologia ed ecologia hanno permesso non solo di dimostrare l'infondatezza di certe credenze ma di confutare la dottrina della generazione spontanea secondo la quale le mosche avrebbero la capacità di generarsi spontaneamente dal fango o altre sostanze. Con prove inoppugnabili Francesco Redi, nel 1668 inficiò la teoria Aristotelica che ebbe nel seicento ampio credito. Gli studi sulla morfologia e sull'apparato sensoriale delle mosche hanno inoltre fornito spiegazioni del perché le mosche si poggiano con le zampe sul cibo. Questi insetti mostrano tale comportamento perché sulle zampe possiedono sensilli gustativi con cui percepiscono il "gusto" del cibo. Le indagini genetiche su alcune specie di mosche, in particolare sul modello più studiato nella ricerca biologica - *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) hanno portato a considerare le mosche quali "rappresentanti di tutte le forme viventi" (Keller, 2007).

### **Storia e simbolismo**

Alcune civiltà consideravano, anticamente, le mosche creature demoniache perché associate alla degradazione dei corpi, altre ritenevano sacri tali esserini, tanto da riproporli, tutt'oggi, in alcune culture dell'Africa e delle isole del pacifico, quale simbolo di appartenenza ai diversi ranchi sociali (Riegel, 1979). Si parla di mosche nella Genesi, nell'Iliade, nel Libro dei Morti (Huchet, 1995), in papiri ritrovati sul o nel corpo di mummie. Anche Zeus ed Apollo hanno avuto il compito di allontanare le orde di mosche portatrici di piaghe (Noury, 1932) ed una vicenda ricordata come la "mitica forza delle mosche" vede coinvolti Hercules sopraffatto da questi insetti ed il padre Zeus, intervenuto per salvarlo.

Gli Egizi erano ossessionati dalle mosche; costruivano amuleti raffiguranti le stesse per allontanare il male e collane mortuarie per evitare la distruzione dei corpi.

Nell'antico Egitto le mosche simboleggiavano impudenza, persistenza e coraggio; collane d'oro riproducenti mosche venivano conferite ai soldati (in Greenberg e Kunich, 2002) che si distinguevano in battaglia. Nello stesso periodo, nelle aree rurali le mosche verdi che entravano nelle case venivano associate allo spirito dei defunti e come tali considerate sacre. Il demone Greco della morte *Eurynomos* è raffigurato sia come avvoltoio che come mosca. Nel libro persiano *Vendidad* si legge che, immediatamente dopo la morte di un uomo, il Demone della morte giunge sul cadavere assumendo le sembianze di una mosca. Durante il Rinascimento, la morte e Satana sono stati simbolicamente raffigurati come mosche, perché creature riconoscibili universalmente. In alcuni famosi dipinti di Carlo Crivelli, pittore veneziano, le mosche rappresentano una metafora della vita e della morte. Nella sua opera *Madonna con il Bambino*, presumibilmente del 1480, il bambino stringe tra le mani un uccello, simbolo della resurrezione e nel contempo sfugge da una mosca, simbolo di Satana. Anche Giorgio Schiavone nella *Madonna col Bambino e due angeli musicanti* del 1460, inserisce nel dipinto in basso a sinistra una mosca, simbolo della Tentazione.

### **Le mosche e non solo, testimoni dei crimini**

Il primo utilizzo delle mosche nella risoluzione di un crimine è datato tra il 907 ed il 960 (Cheng, 1984 in Greenberg e Kunick, 2002), «*un ufficiale di polizia del periodo, nel sentire una donna piangere chiese cosa fosse successo. La donna rispose che il marito era morto a causa di un incendio [...] lo stesso ufficiale, nel corso dell'esame esterno del cadavere, sulla testa del soggetto osservò raggruppate diverse mosche. Durante l'autopsia nel distretto laddove si concentrarono le mosche fu individuata una grossa ferita. Questa evidenza costrinse la donna a confessare l'omicidio del marito con la complicità di un altro uomo*» (in Greenberg e Kunick, 2002).

Nel 1247, Sung Tz'u, pubblicò un manuale relativo alle investigazioni sulla scena del crimine dal titolo "Washing Away of Wrongs" in cui lo stesso riporta un caso di omicidio commesso in piena estate in un'area rurale della Cina. L'uomo, ucciso con numerose ferite alla testa, fu ritrovato lungo una strada che conduceva ad un piccolo villaggio. L'investigatore dell'epoca, nel corso delle indagini, convocò tutti i contadini dell'area chiedendo loro di allineare le falci a terra. Percorrendo la linea definita da questi utensili, l'investigatore si fermò di fronte ad un uomo e lo accusò del delitto.

Le mosche percependo l'odore del sangue si posarono solo ed esclusivamente sulla falce del sospettato, il quale, di fronte a tale evidenza capitolò e confessò l'assassinio (McKnight, 1981 in Grenneberg e Kunich, 2002). D.V. Larrey, un chirurgo militare di Napoleone, durante la spedizione Egiziana in Siria del 1799, descrisse in maniera minuziosa un evento che lo colpì particolarmente e che interessò i militari feriti in battaglia. Il medico scrisse: *«Le ferite dei soldati furono invase rapidamente da mosche [...] giorno dopo giorno nelle lesioni si svilupparono masse di larve le cui dimensioni aumentavano con grande rapidità. Nonostante l'effetto sgradevole della situazione, questi insetti riuscirono non solo a rimuovere il tessuto necrotizzato, accelerarono la cicatrizzazione delle ferite e arrestarono le emorragie»*. In quell'epoca una tale osservazione scientifica servì a dimostrare l'infondatezza delle convinzioni dei chirurghi contemporanei che consideravano le larve delle mosche creature disgustose prive di qualsiasi qualità terapeutiche. Il primo utilizzo delle larve delle mosche a scopo curativo (metodo oggi definito *maggots therapy*) risale al periodo della Guerra Civile Americana. Un chirurgo delle forze armate degli Stati Confederati americani, il dr. J.E. Zacharias, utilizzò per la prima volta le larve di alcune specie di Calliphoridae nella rimozione del tessuto necrotico misto a pus dalle ferite dei pazienti ospedalizzati. Il chirurgo dichiarò che in un solo giorno le mosche ripulirono le ferite meglio di qualsiasi sostanza e procedura fino ad allora utilizzata. Oltre all'asportazione del tessuto necrotizzato, gli insetti evitarono l'insorgenza di qualsiasi forma di setticemia, all'epoca fatale per molti pazienti (in Greenberg e Zunich, 2002).

Nel 1848 in Europa, l'anatomo patologo Orfila, nel corso dei suoi accertamenti raccolse per la prima volta da un cadavere diverse specie di ditteri e coleotteri ma non utilizzò questi dati nella risoluzione del caso. Il medico Bergeret (1855) fu invece il primo ad aver applicato l'entomologia forense nella risoluzione di un infanticidio che avvenne in Francia nel 1850. In un appartamento, nel corso di alcuni lavori di ristrutturazione, murato, all'interno di un camino, fu recuperato il corpo mummificato di un neonato. In considerazione del fatto che nel corso degli ultimi tre anni quattro famiglie occuparono l'appartamento, per gli investigatori, riuscire ad individuare i responsabili dell'omicidio si rivelò immediatamente difficile. Bergeret durante l'autopsia rinvenne in diverse cavità del corpo del neonato, diversi pupari vuoti di *Musca* (= *Sarcophaga*) *caritaria* e resti di alcune falene. Ricostruendo il ciclo di sviluppo della mosca, il medico riuscì a stimare al 1848 l'epoca della morte del neonato.

La ricostruzione della scena utilizzando gli insetti come indicatori dell'Intervallo Post Mortem (IPM), permise a Bergeret di scagionare tre famiglie e di individuare i veri colpevoli dell'omicidio. A partire da questo evento l'entomologia forense venne sempre più frequentemente impiegata nel contesto medico-legale nei casi di omicidi o morti sospette, grazie non solo alla sua utilità nella stima dell'epoca della morte o Intervallo Post-Mortem (n.d.r. IPM) ma anche nella ricostruzione della *scena criminis*.

### L'entomologia forense medico-legale

L'entomologia forense trova applicazione nei casi di morti avvenute in circostanze sconosciute o



FIG. 4 Larve di Ditteri Calliphoridae su carcassa di maiale.

ritrovamenti di corpi in avanzato stato di decomposizione. Immediatamente dopo la morte, diverse specie di insetti colonizzano il corpo nutrendosi dei tessuti in decadimento, liquidi putrefattivi oppure di altre specie colonizzatrici. La relazione tra corpi in decomposizione e particolari gruppi di insetti offre all'entomologo elementi utili alla ricostruzione della *scena criminis*. La datazione dell'epoca della morte

tramite il metodo entomologico si basa spesso sull'età

larvale dei ditteri necrofagi sopraggiunti per primi sui corpi esposti (Schoenly et al., 1996; Castner, 2001). In alcune circostanze, nella stima dell'IPM e del tempo di colonizzazione (TC) da parte degli insetti, gli entomologi utilizzano la dimensione e l'età larvale dei ditteri. Il tasso di sviluppo di questi insetti è fortemente dipendente dalla temperatura al quale è stato esposto il cadavere prima del suo ritrovamento. Gli insetti possono essere utilizzati per valutare se un corpo è stato spostato dal luogo ove è avvenuta la morte o se abbia subito traumi o mutilazioni *ante mortem*; per la valutazione di casi di negligenza ed abbandono in soggetti anziani, bambini o incapaci di intendere; per la ricerca di sostanze (droghe e veleni) ingerite *ante mortem* dai soggetti e/o la ricerca e isolamento del DNA umano sia del cadavere ed in casi particolari anche dell'assassino. Alcuni studi confermano la possibilità di estrarre DNA dall'intestino di larve mature di ditteri Calliphoridae e fino ad alcune ore nello stadio di pupa (Carvalho et al., 2005).

Alcune specie possono fornire indicazioni sui tempi di immersione ed emersione dei corpi recuperati in acqua.

La possibilità di estrarre DNA dagli insetti necrofagi diviene un elemento importante per gli entomologi che devono verificare il substrato alimentare su cui essi si sono alimentati; non di meno



FIG. 5 Larve e membrane peritrofiche di Dermestidae su cadavere

in casi particolari, ai biologi molecolari per la ricerca del DNA umano ingerito dalle larve (DiZinno et al., 2002) qualora non sia possibile isolarlo direttamente dal corpo o dai resti. L'isolamento e la caratterizzazione del DNA umano da insetti ematofagi e necrofagi sta avendo sempre maggiore successo grazie alle nuove metodologie di sequenziamento

del DNA. Storicamente, le tecniche biomolecolari sono state utilizzate in maniera appropriata per identificare gli ospiti su cui alcuni artropodi ematofagi si sono alimentati. L'analisi del contenuto intestinale di insetti ematofagi ha contribuito ad ottenere importanti progressi nell'ambito dell'entomologia medica e delle malattie trasmesse da vettori. In ambito forense, l'applicazione di tecniche di sequenziamento simili, utilizzando insetti recuperati da resti o corpi estremamente decomposti, è stata migliorata attraverso l'avvento delle tecniche di DNA mitocondriale (mtDNA). Tali indagini sono state impiegate nella determinazione tassonomica delle specie e nella identificazione dei resti umani su cui le larve di mosche o altri insetti si sono alimentati (DiZinno et al., 2002). I risultati sinora ottenuti dimostrano che il DNA mitocondriale umano può essere recuperato dal contenuto stomacale di diversi stadi immaturi degli insetti (Ditteri e Coleotteri) che dal punto di vista trofico, risultano legati ai corpi in decadimento. Le prove rappresentate da insetti o parti di essi repertati su una scena del crimine possono essere utilizzati per identificare il corpo su cui le larve si sono alimentate ed in situazioni particolari, legare un sospettato all'evento delittuoso (Spitaleri et al, 2008).

## Decomposizione e fauna associata

Immediatamente dopo il decesso, un corpo va incontro a diversi cambiamenti fisici, biologici e chimici, definiti stadi di decomposizione (*fresco*, *gonfio*, *decomposto* e *secco*). Con il procedere del tempo e della decomposizione, la stima dell'IPM con le sole indagini medicolegali diviene gradualmente più difficile.



**FIG. 6** Stadi di decomposizione in un modello animale, **A**, fresco, **B**, gonfio, **C**, decomposto, **D**, secco (Bonacci et al., 2010).





**FIG. 7** Coleoptera, Silphidae su carcassa di maiale

Negli ambienti naturali, gli ecosistemi sono sottoposti a cambiamenti che determinano la modificazione della composizione specifica delle comunità animale e vegetale che vi abitano. Se lo si considera da un punto di vista ecologico, un corpo (umano ed animale) esposto all'ambiente dopo la morte, segue le stesse dinamiche di un ecosistema. Ogni stadio di decadimento attira determinate specie di insetti, sostituite da altre con il procedere della degradazione. Nelle fasi iniziali sopraggiungono le specie pioniere (Ditteri Calliphoridae e

Sarcophagidae), sostituite gradualmente da altre specie con esigenze trofiche ed ecologiche diverse.

La fase finale di questa successione viene raggiunta nell'ultimo stadio di decomposizione, quando ritroviamo elementi che si nutrono di resti secchi e ossa (Coleotteri Dermestidae). Tutte le "squadre" di insetti o categorie ecologiche che si susseguono sui corpi sono legate, da un punto di vista trofico, ad un preciso stadio di decomposizione. Dal punto di vista tanatologico, i tempi di degradazione dei corpi variano in funzione della massa corporea, della stagione e delle condizioni di esposizione degli stessi. I siti di infestazione degli agenti necrofagi che intervengono su un corpo possono inoltre fornire elementi relativi alla modalità della morte. Solitamente i pionieri, che sopraggiungono subito dopo la morte, colonizzano gli orifizi naturali del corpo, ma nel caso siano presenti traumi, mutilazioni, ferite inferte prima della morte o violenze sessuali, le infestazioni saranno concentrate intorno le parti lese.

### **Metodi entomologici per la stima dell'IPM e dell'Intervallo di Colonizzazione (IC)**

L'identità della vittima, la causa e l'epoca della morte (Intervallo *Post Mortem* o IPM), rappresentano i principali quesiti che il Pubblico Ministero pone agli esperti forensi coinvolti nelle investigazioni inerenti omicidi o morti sospette. L'IPM, o meglio il tempo intercorso tra la morte e il rinvenimento del cadavere, diventa più difficile da determinare in maniera accurata man mano che esso aumenta. Nel corso delle investigazioni giudiziarie, nella definizione dell'epoca della morte di un soggetto, laddove sia possibile, si fa riferimento alla data in cui il soggetto è stato visto vivo l'ultima volta.

Il medico legale, nelle prime 72 ore dal decesso, riesce a stimare il tempo di morte basandosi sui riferimenti tanatologici ma, trascorso questo lasso di tempo, i principali elementi di indagine (*algor mortis*, *livor mortis* e *rigor mortis*) non possono più essere utilizzati a causa dei drastici cambiamenti che il cadavere gradualmente subisce. Fattori estrinseci ed intrinseci al corpo, così come l'assunzione di determinati farmaci prima del decesso o una intensa attività fisica, possono modificare in maniera sostanziale l'attendibilità dei metodi tanato-cronologici.

Nei casi di ritrovamenti di corpi in avanzato stadio di decomposizione, risulta sempre più difficile stabilire il tempo di permanenza del cadavere nell'ambiente, così come verificare se il luogo del ritrovamento coincida con quello in cui è avvenuto il decesso. In tutte le situazioni in cui non siano applicabili i metodi medico-legali, i reperti entomologici rappresentano gli unici elementi disponibili per la datazione dell'epoca della morte. L'entomologo utilizzando gli insetti riesce a stimare l'Intervallo Post Mortem minimo (IPMm) cioè il tempo trascorso dalla deposizione delle prime uova (o larve) sul cadavere da parte della prima mosca ed il suo ritrovamento. Questo intervallo temporale spesso corrisponde con l'Intervallo di colonizzazione (IC) dei resti da parte della fauna necrofaga. Vi possono essere dei casi in cui il cadavere non è facilmente accessibile agli insetti, si pensi ai corpi occultati, cadaveri siti in ambienti privi di luce o comunque avvolti all'interno di involucri o autoveicoli oppure sepolti (Bonacci et al., 2016) l'Intervallo di Colonizzazione potrebbe non coincidere con l'Intervallo Post Mortem reale. È compito dell'entomologo valutare non solo la fauna rinvenuta sul cadavere e sulla scena del crimine ma anche il contesto ambientale e la condizione del corpo al momento del ritrovamento. Per la valutazione dell'epoca della morte tramite il metodo entomologico si adottano due approcci.



FIG. 8 *Calliphora vicina* (Diptera, Calliphoridae)



FIG. 9 Larve di Ditteri Calliphoridae su

Il primo metodo si basa sull'età larvale e lunghezza dei ditteri necrofagi raccolti sul corpo al momento del sopralluogo tecnico. I primi colonizzatori, rappresentati dai ditteri delle famiglie Calliphoridae e Sarcophagidae, intervengono quasi immediatamente dopo la morte o nella fase di agonia, deponendo la loro prole (uova o larve) negli orifizi naturali o nelle ferite. Il loro precoce arrivo sui corpi (TC) è un elemento importantissimo che lega l'età di sviluppo e la lunghezza del campione, accertate al momento del ritrovamento del cadavere, al momento della morte del soggetto.

I ditteri immaturi si nutrono dei tessuti ed organi del cadavere per tutta la durata del loro ciclo larvale, per cui la loro dimensione, fortemente condizionata dalla temperatura ambientale, è indicativa del tempo di esposizione del corpo all'ambiente. Tenendo conto della temperatura ambientale e della temperatura generata dalla massa larvale (di qualche grado superiore a quella ambientale), la stima dell'età del campione più vecchio rinvenuto sul o nei pressi del corpo viene considerata per la valutazione dell'epoca della morte o IPMm. Le mosche necrofaghe non presentano gli stessi tempi di sviluppo; ciascuna specie presenta temperature di crescita ottimali e temperature soglia dettate dalle proprie esigenze ecologiche. Esistono infatti temperature limite (min e max) al disotto o al di sopra delle quali lo sviluppo delle specie si arresta.



FIG. 10 Spiracoli posteriori della larva di *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae).

Una corretta identificazione delle specie rinvenute, così come la valutazione delle temperature antecedenti il ritrovamento di un corpo, rappresentano elementi cruciali per l'applicazione del metodo entomologico nella stima dell'IPMm.

Gli elementi principali che l'entomologo deve verificare nel corso delle sue indagini riguardano l'accertamento della specie o specie che hanno colonizzato il corpo, l'età delle larve, valutabile attraverso l'esame di alcuni caratteri morfologici (spiracoli posteriori, scheletro cefalofaringeo, lunghezza tratto gastrico) e la temperatura ambientale antecedente il ritrovamento del cadavere.

Secondo alcuni Autori lo sviluppo delle larve è un processo fortemente influenzato dalla storia termica, definita come «la quantità di calore accumulata da ciascuna specie e necessaria per poter completare il proprio ciclo di sviluppo». La quantità di calore viene identificata con la sigla ADH (Accumulated Degree Hours) o ADD (Accumulated Degree Days) rispettivamente se vengono prese in considerazione le temperature in termini di ore o di giorni (Wells and Lamotte, 2010 in Byrd and Castner, 2010; Joseph et. al., 2011). In generale, alte e tollerabili temperature contribuiscono alla diminuzione del tempo di sviluppo delle mosche mentre le temperature più basse lo aumentano.



Un secondo metodo entomologico per la stima dell'IPM applica le conoscenze sulla successione con cui diverse specie di insetti colonizzano il corpo. Tale metodo viene utilizzato soprattutto nei casi di ritrovamenti tardivi di corpi in avanzato stato di decomposizione e tiene conto del susseguirsi delle categorie ecologiche di insetti in relazione ad un preciso stadio di decadimento, identificato al

momento del ritrovamento. La stagione, l'esposizione del corpo o meno alla luce del sole, la condizione stessa del cadavere e la sua ubicazione in un dato ambiente sono ulteriori fattori che determinano la composizione specifica della fauna, i tempi di arrivo e permanenza delle specie sui resti.

Ogni stadio di decadimento è attrattivo per diverse specie di insetti che colonizzano il corpo in base alla "condizione" della risorsa trofica.

A partire dalle osservazioni di J.P. Mégnin in seguito a riesumazioni di massa nella Francia dell'Ottocento, è stato osservato come alcuni insetti siano in grado di colonizzare anche i corpi in



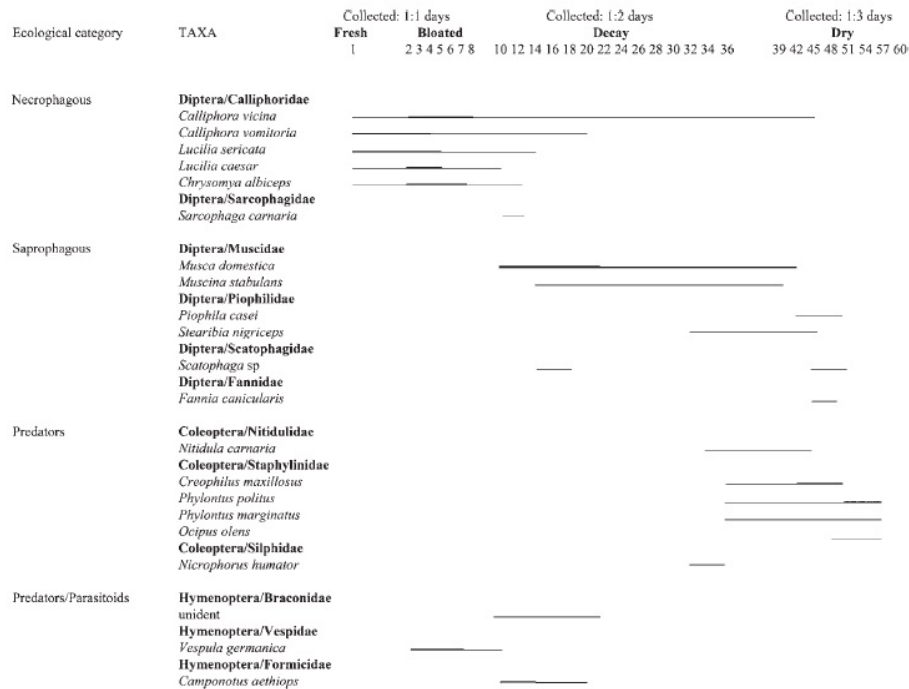
FIG. 12 Diptera Calliphoridae rappresentano i pionieri delle successioni entomologiche sui corpi esposti.

avanzato stato di decomposizione. In alcune aree geografiche, studi sulle successioni entomologiche utilizzando modelli, hanno contribuito alla conoscenza della fauna sarco-saprofaga associata ai diversi stadi di decomposizione (Nuorteva, 1977; Catts and Goff, 1992; Bonacci et al., 2010; Bonacci, 2016).

I dati ottenuti sono di fondamentale importanza nelle investigazioni entomologiche in campo forense poiché costituiscono i *data base* a supporto delle indagini su casi reali. Le specie di insetti che sopraggiungono sui corpi esposti vengono distinti in riferimenti alle loro preferenze trofiche/ecologiche in: necrofagi, predatori, parassiti, onnivori e

accidentali. I primi colonizzatori sono rappresentati da ditteri Calliphoridae e Sarcophagidae le cui larve si nutrono dei tessuti in decomposizione.

Con il procedere della degradazione, altre famiglie di ditteri intervengono sul corpo, tra cui Muscidae, Fanniidae, Piophilidae, Phoridae, attratte da stadi di decomposizione avanzati. Gli stadi finali sono attrattivi per i coleotteri Dermestidae e Cleridae che si nutrono dei resti secchi di pelle e tendini. I predatori (Staphylinidae, Silphidae, Nitidulidae, Histeridae) ed i parassiti (Brachonidae) si nutrono di altre specie di insetti o artropodi che intervengono sul cadavere (immag. seguente tratta da Bonacci et al., 2010).



Appearance and relative abundance of taxa in November-December 2006 on a pig carcass (1:1, collected every day; 1:2, collected every other day; etc.).

Tra i predatori troviamo le specie schizofaghe, che inizialmente si nutrono dei resti del corpo mentre negli stadi larvali maturi diventano predatori di altre specie. Le specie onnivore, di cui fanno parte



FIG. 14 Coleoptera, Silphidae su carcassa di maiale.

imenotteri Formicidae, Vespidae e alcune specie di coleotteri, si nutrono sia del corpo che degli altri colonizzatori (alcuni Silphidae). Infine le specie accidentali, utilizzano il corpo come supplemento di risorse o come riparo occasionale negli stadi finali della decomposizione. Nei casi di ritrovamenti tardivi di cadaveri, le categorie ecologiche rinvenute, confrontate con i dati ottenuti dalle indagini sui modelli animali, forniscono una indicazione del tempo di

permanenza dei resti in un dato ambiente.

Sebbene le modalità di sostituzione delle categorie ecologiche siano piuttosto prevedibili, ciò che varia è la composizione in specie, strettamente relazionata all'area geografica ed all'ambiente in cui si è stato ritrovato il corpo.

La zona biogeoclimatica che definisce un particolare habitat, la vegetazione, il tipo di suolo e le



FIG. 15 Deposizioni di *Lucilia* spp su carcassa di maiale esposta direttamente alla luce solare.

condizioni climatiche di un'area, incide fortemente sulla composizione della successione e sui ritmi fenologici delle componenti. La stagione influenzando i ritmi di attività e la fenologia delle specie caratteristiche di una data area, determina differenze importanti nella composizione delle categorie ecologiche. Alcune specie sono tipicamente estive poiché legate alle alte temperature (*Chrysomya albiceps*), altre al contrario

sono attive nei mesi più freddi (*Calliphora vicina* e *C. vomitoria*).

La posizione del corpo è un elemento importante nel processo di colonizzazione dei resti; l'effetto principale è la differenza di calore tra i corpi esposti direttamente alla luce solare e quelli in ombra. L'esposizione del corpo al sole determina un incremento del processo di decomposizione con una rapida riduzione della biomassa. Le specie eliofile (*Lucilia sericata*, *C. albiceps*) sono attratte dai corpi in tali condizioni contrariamente alle specie sciafile (*C. vicina* e *C. vomitoria*) che risultano attratte dai corpi in ombra. Le specie che intervengono sui corpi una volta abbandonati, lasciano tracce della loro attività, quali esuvie larvali, pupari vuoti, membrane peritrofiche, soprattutto nei casi di ritrovamenti tardivi dei resti (Bonacci et al., 2017). In definitiva, l'ambiente in cui viene rinvenuto un corpo (città, campagna, interno o esterno di edifici, in acqua), le condizioni in cui si trova (sepolto, al buio, bruciato, vestito, svestito, occultato in sacchi di plastica), le condizioni microclimatiche (temperatura, umidità, ventilazione) rappresentano importanti variabili da tenere in considerazione per lo svolgimento delle indagini forensi tramite metodo entomologico.

## Artefatti *post mortem*



FIG. 16 Lesioni post mortali causate da *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera Formicidae) [Bonacci e Vercillo, 2015].

L'attività di alcuni animali sui cadaveri può alterarne le condizioni tanatologiche, causando particolari lesioni definite artefatti *post mortem*. In ambienti aperti o incontrollati ma anche in situazioni *indoor*, sui corpi esposti possono intervenire roditori, carnivori, animali domestici (macrofauna) che, in seguito alla loro attività trofica, consumano o asportano porzioni importanti del corpo.

La macrofauna può inoltre interferire con le eventuali ferite inferte *ante-mortem* modificandone la morfologia. In tali situazioni il lavoro del patologo forense che



FIG. 17 Tramiti circolari causate da larve di Ditteri Calliphoridae su corpo umano

avrà il compito di stabilire la dinamica del fatto delittuoso (modalità e causa della morte), risulterà più difficile. Nella creazione di queste alterazioni post-mortali, un ruolo importante rivestono gli insetti tipici dell'ambiente in cui viene ritrovato un corpo. Molti taxa quali scarafaggi e formiche creano a livello cutaneo particolari lesioni facilmente confondibili con lesioni e/o bruciature inferte *ante-mortem*. L'intervento dei Formicidae sui corpi è immediato e la

loro attività spesso impedisce o ostacola l'attività dei primi colonizzatori (ditteri) depredando le loro uova e i primi stadi larvali. Nel corso della loro seppur breve permanenza sul corpo, le formiche causano delle lesioni sulla cute simili ad escoriazioni o bruciature inferte *ante mortem*. Le lesioni causate dalle formiche su un corpo sono indice della loro interferenza con le mosche, le quali spesso ritardano la deposizione delle uova sui corpi anche di 24h. Nel corso dell'esame esterno del cadavere e durante l'autopsia, l'identificazione degli artefatti *post mortem* causati dalle formiche contribuisce ad una esatta valutazione dell'IPM (Bonacci and Vercillo, 2015).



Le larve di Calliphoridae e altri ditteri necrofagi, nel corso della loro attività trofica creano dei tramezzi circolari facilmente confondibili con i fori di entrata ed uscita dei proiettili.

In particolari situazioni alcune specie di ditteri possono infestare soggetti ancora in vita causando



FIG. 18 Ditteri Sarcophagidae



parassitosi (o miasi) delle cavità naturali, ferite aperte o piaghe da decubito, liquidi e cibi ingeriti (Zumpt, 1965). I parassiti possono completare o, almeno per un certo periodo, continuare il loro normale sviluppo sul corpo o all'interno dell'ospite ancora in vita. Le miasi sono comuni negli animali da allevamento, negli animali

domestici ma anche nell'uomo. Soggetti deboli quali bambini ed anziani trascurati nelle condizioni igienico-sanitarie, sono spesso il *target* preferenziale di numerosi agenti miasigeni. I ditteri coinvolti possono causare miasi *facoltative* quando non necessitano di un ospite in vita per completare il loro sviluppo (Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae, Piophilidae, *Calliphora* spp, *Lucilia* spp); *obbligate* se le specie che intervengono necessitano di un ospite in vita per ultimare il proprio ciclo vitale (Sarcophagidae, Oestridae, ecc.).

Dal punto di vista medico, le miasi vengono identificate come *gastrointestinali*, *urogenitali*, *nasofaringee*, *auricolari*, *cutanee*, ecc. quando si identificano i distretti corporei infestati.

In ambito forense, queste parassitosi possono essere utilizzate per verificare lo stile di vita ante-mortem del soggetto o per accertare casi di negligenza e/o abbandono di persone incapaci. È altresì vero che le miasi rappresentano un elemento da non sottovalutare quando erroneamente si utilizzano gli agenti miasigeni per la stima dell'IPM (Bonacci et al., 2017 in press). In queste situazioni risulta opportuno esaminare scrupolosamente la scena del crimine verificando la condizione di vita del soggetto prima del decesso e la situazione ambientale ove è stato rinvenuto il cadavere.

## Conclusioni

Nei casi di morti avvenute in circostanze sconosciute, l'entomologo forense riveste un ruolo fondamentale nella ricostruzione della *scena criminis* affiancando il medico legale durante il sopralluogo ed il patologo forense nel corso dell'esame autoptico. Nel corso del sopralluogo giudiziario, l'entomologo deve, in cooperazione con la scientifica dei carabinieri e della polizia, esaminare la scena del crimine, il contesto ambientale, la posizione e lo stato di conservazione del corpo, la presenza della fauna sia prima che dopo la rimozione del cadavere e la misurazione della temperatura ambientale al momento del sopralluogo. I reperti entomologici devono essere raccolti seguendo le linee guida internazionali (Amendt et al., 2007) sia sul corpo che intorno ad esso fino ad una certa distanza, senza tralasciare nessun elemento.

I reperti entomologici (larve, pupe, pupari vuoti di ditteri, predatori degli immaturi e tutta la fauna associata al corpo) rinvenuti durante il sopralluogo sul corpo ed intorno ad esso, rappresentano gli indizi principali per l'interpretazione della scena del crimine. In conseguenza del fatto che le specie colonizzatrici variano in base all'ambiente in cui è esposto il corpo (bosco, campagna, città), le conoscenze sulla biologia, fenologia e preferenze ecologiche delle specie repertate sui cadaveri risultano importanti nella stima dell'epoca della morte ma altrettanto importanti nella definizione di ulteriori elementi utili alla ricostruzione delle scene del crimine primaria e secondaria.

Gli immaturi dei Ditteri Calliphoridae alimentandosi sui corpi, forniscono informazioni sul DNA della vittima e dell'eventuale assassino (entomo-genetica) ad altri utili elementi utilizzabili dagli esperti biologi molecolari. Nei casi in cui non sia possibile indagare liquidi corporei perché decomposti, la ricerca di eventuali sostanze tossiche, droghe e veleni ingerite dai soggetti ante-mortem (entomotossicologia) possono essere effettuata nel contenuto stomacale delle larve o dalle membrane peritrofiche dei Coleotteri Dermestidae.

I reperti entomologici e le informazioni ottenute dall'entomofauna cadaverica possono essere utilizzati come prove in tribunale nei processi giudiziari e aiutare la medicina legale nell'interpretazione di una scena del crimine.

La corretta identificazione delle specie colonizzatrici è fondamentale per un'accurata elaborazione dei dati, tenendo presente che specie diverse si sviluppano in tempi diversi in dipendenza della temperatura ambientale. Laddove non sia possibile stimare adeguatamente l'età dei campioni raccolti o identificarne la specie a partire dallo stadio larvale, è opportuno allevare i campioni in laboratorio per ottenere gli adulti. Dopo una corretta identificazione, si può ricreare la condizione della scena allevando gli immaturi alle stesse condizioni di temperatura e umidità ricalcolandone i tempi di sviluppo.

## Bibliografia

- Benecke M. (2001), *A brief history of forensic entomology*, Forensic Science International 120: 2-14.
- Bonacci T., Brandmayr P., Greco S., Tersaruolo C., Vercillo V., Zetto T. (2010), *A preliminary investigation of insect succession on carrion in Calabria (southern Italy)*. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 3: 97-110. DOI 10. 1163/187498310x517123. ISSN: 1874-9828.
- Bonacci T. (2016), *The Contribution of the Insect Succession in the Medico-Criminal Entomology Context*, *Entomol Ornithol Herpetol* 5: e119. doi:10.4172/2161-0983. 1000 e119.
- Bonacci T. and Vercillo V. (2015), *Outdoor post-mortem bite injuries by Tapinoma nigerrimum (Hymenoptera, Formicidae) on a human corpse: Case report*, *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 33:5-8. DOI: 10.1016/j.jflm.2015.03.005.
- Bonacci T., Zetto Brandmayr T., Brandmayr P., Vercillo V., and Porcelli F. (2011), *Successional patterns of the insect fauna on a pig carcass in southern Italy and the role of Crematogaster scutellaris (Hymenoptera, Formicidae) as a carrion invader*, *Entomological Science*, 2011, n. 14, pp. 125-132. DOI:10.1111/j.1479-8298.2010.00423.x. ISSN: 1343-8786.

Bonacci T., Storino P., Scalercio S., Brandmayr P. (2016), *Darkness as factor influencing the oviposition delay in Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae), *Journal of Forensic and Legal Medicine* 44:98-102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2016.09.009>.

Bonacci T., Vercillo V., Benecke M. (2017), *Dermestes frischii* and *D. undulatus* (Coleoptera: Dermestidae) on a Human Corpse in Southern Italy, First Report. *Rom J Leg Med* 25: 180-184. [SEP]

Carvalho F., Dadour IR, Groth DM, Harvey ML (2005), *Isolation and detection of ingested DNA from the immature stages of Calliphora dubia* (Diptera: Calliphoridae). *A Forensically important blowfly*, *Forensic Sci. Med. Pathol.*:1:4:261.

Catts E. P., and Goff M. L. (1992), *Forensic entomology in criminal investigations*, *Annual Review of Entomology*, 37: 253-272.

Nuorteva P. (1977), *Sarcosaprophagous insects as forensic indicators. In forensic medicine: a study of trauma and environmental hazards*, Vol. 11. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 1072-1095.

DiZinno JA, Wilson MR, Lord D., Badoule B. (2002), *Mitochondrial DNA sequencing of beetle larvae (Nitidulidae: Omosita) attached to human bone*, *J Forensic Sci*: 47;1337–1339.

Goff M. L. (1997), *Estimation of Postmortem Interval Based on Colony Development Time for Anoplolepis longipes* (Hymenoptera: Formicidae), *J Forensic Sci* 42(6): 1176-1179.

Joseph I., Mathew D. G., Sathyan P., Vargheese G. (2011), *The use of insects in forensic investigations: An overview on the scope of forensic entomology*, *J Forensic Dent Sci*. 3(2): 89–91.

Keller A. (2007), *A cultural and natural history of the fly*, *PLoS Biol* 5(5): e135. doi:10.1371/journal.pbio.0050135.

Schoenly K., Goff M. L., Wells JD, Lord WD (1996), *Quantifying statistical uncertainty in succession-based entomological estimates of the postmortem interval in death scene investigations: a simulation study*, *Am Entomol*; 42:106 –112.

Spitaleri S., Romano C., Di Luise E., Ginestra E., Saravo L. (2006), *Genotyping of human DNA recovered from mosquitoes found on a crime scene*, International Congress Series 1288: 574–576.

Wells J.D. and Lamotte L.R., (2010), *Estimating the Postmortem Interval*. In Byrd J.H. and Castner J.L (eds), Forensic entomology. The utility of Arthropods in legal investigations. Boca Rotan, CRC press. p.367.

Zumpt F. (1965), *Myiasis in man and animals in the Old World. A textbook for physicians, veterinarians and zoologists*, Butter- worth, London, UK. 20.