

Roma
2016



Il Incontro Nazionale
di Entomologia
Forense

**Il Incontro
Nazionale di
Entomologia
Forense**

GIEF
2016

17 Dicembre 2016, Casa dell'Aviatore, Viale dell'Università 20
Roma

Roma
2016



Il Incontro Nazionale
di Entomologia
Forense

Comitato Scientifico

Stefano Vanin
Elisa Arena
Sara Bortolini
Valentina Bugelli
Carlo Campobasso
Luigi Mastrogiuseppe

Comitato Organizzatore

Elisa Arena
Stefano Vanin
Valentina Bugelli
Giorgia Giordani
Fabiola Tuccia

Programma

9:00	Registrazione
9.30-9.45	S. Vanin Inizio dei lavori e saluti
9.45	Presentazioni Orali I
9.45-10.15	C. Campobasso Advanced in PMI estimation
10.30-11.00	L. Mastrogiuseppe La Fotografia Forense nell'Entomologia: dal sopralluogo all'autopsia
11.00-11.20	Caffè e Poster
11.25	Presentazioni Orali II
11.30-11.45	F. Tuccia Protocollo per le identificazioni morfologiche e molecolari di esemplari immaturti di Diptera
11.45-12.00	G. Giordani Protocollo per l'identificazione molecolare di esemplari adulti di Sarcophagidae senza alterare l'aspetto morfologico
12.00-12.15	S. Lo Pinto Effetti del congelamento sulle larve di specie del genere <i>Calliphora</i> e <i>Lucilia</i> (Diptera: Calliphoridae)
12.15-12.30	V. Bugelli Come possono essere conservati campioni entomologici viventi?
12.30-12.50	C. Sollami Il laboratorio di Entomologia Forense della Sicilia: casistica e ricerca
12.50-13.00	DISCUSSIONE
13.00-14.00	Pranzo
14.00-14.45	Poster
14.45-15.30	S. Vanin Protocollo Nazionale di raccolta e preparazione del materiale entomologico
15.30-16.30	Assemblea annuale GIEF "L'associazione che sta crescendo"

Roma
2016



Il Incontro Nazionale
di Entomologia
Forense

PRESENTAZIONI ORALI E POSTER

ADVANCED IN PMI ESTIMATION

C. Campobasso

Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute, Università degli Studi del Molise, Via Francesco De Sanctis,
1, 86100 Campobasso; GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
carlo.campobasso@unimol.it

Nessun problema in medicina legale è stato oggetto di indagini sperimentali e studi quanto quello sulla stima dell'epoca della morte ovvero dell'intervallo post-mortale (PMI). Nonostante gli innumerevoli sforzi, i risultati ottenuti non sono stati mai così soddisfacenti e non hanno ottenuto quella naturale ricaduta nella pratica forense mondiale quanto quelli realizzati nel campo della entomologia cadaverica. Prova evidente di ciò è l'esplosione bibliografica che ha caratterizzato questa disciplina a partire dagli anni '80 con oltre 1.000 contributi scientifici su riviste indicizzate, pubblicate da ricercatori provenienti da oltre 50 Paesi e innumerevoli testi di riferimento. Da questo punto di vista la stima del PMI attraverso il metodo entomologico consente una affidabilità nettamente superiore a quella che utilizza le classiche modificazioni cadaveriche (specie nel tardo periodo post-mortale), in quanto ne supera il carattere empirico e la forte soggettività attraverso l'uso di parametri oggetti e facilmente riproducibili quali, ad esempio, la replicazione dei tempi di crescita di alcune specie (Ditteri e Coleotteri in particolare) di maggiore interesse forense. Attualmente gli entomologi forensi usano stimare i tempi di sviluppo dei Ditteri cadaverici attraverso diversi modelli di calcolo, integrati poi dalle innumerevoli variabili in grado di interferire su questi. Nonostante tali premesse e la redazione di protocolli e linee guida da parte di autorevoli Società Scientifiche, persistono alcune criticità di metodo. La relazione avrà modo di riassumere, in particolare, le criticità provenienti da alcuni modelli di calcolo (tra cui in particolare quello che utilizza gli ADD (Accumulated Degree Days) e/o gli ADH (Accumulated Degree Hours) alla luce anche di alcune recenti discussioni sorte nella comunità scientifica relativamente alla definizione stessa di PMI (Post-Mortem Interval) e alle potenzialità della entomologia forense nelle indagini cadaveriche.

LA FOTOGRAFIA FORENSE NELL'ENTOMOLOGIA: DAL SOPRALLUOGO ALL'AUTOPSIA

L. Mastrogiuseppe

Servizio Veterinario ASRM, Campobasso
mastrogiuseppe1962@gmail.com

Una corretta e precisa documentazione della scena del crimine e delle successive analisi dei campioni prelevati da essa e del corpo stesso sono fondamentali nel processo forense che si sviluppa dal momento del sopralluogo (...se non prima nella preparazione del materiale e formazione del personale) fino all'eventuale dibattimento.

Tra le varie tecniche di documentazione, la fotografia gioca un ruolo fondamentale e anche grazie alle nuove tecnologie informatiche permette di fissare lo status quo in maniera precisa ed accurata.

Sebbene tutti possiedano una macchina fotografica e al giorno d'oggi uno smartphone con fotocamera inclusa, la fotografia forense richiede delle competenze e delle attenzioni specifiche e non improvvisate.

La possibilità di verificare l'esatta posizione degli insetti in un corpo o nell'intorno di esso grazie a delle fotografie "ben fatte" è di gran aiuto nelle valutazioni entomologiche sebbene sia da ribadire che l'identificazione di specie, soprattutto per gli stadi immaturi, e la stima dello stadio di sviluppo devono essere fatte attraverso lo studio degli esemplari.

Durante la presentazione, grazie all'aiuto di esempi concreti, principalmente derivanti dal campo della veterinaria forense verranno illustrati gli errori da evitare e il corretto approccio da applicare nella fotografia in generale forense, e in caso di presenza di insetti in maggior dettaglio.

PROTOCOLLO PER LE IDENTIFICAZIONI MORFOLOGICHE E MOLECOLARI DI ESEMPLARI IMMATURI DI DIPTERA

F. Tuccia

FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK;
GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
Fabiola.Tuccia2@hud.ac.uk

Nell'entomologia forense la corretta identificazione di specie è di cruciale importanza ai fini di un'accurata stima del mPMI (*minimum Post Mortem Interval*).

Fino ad ora l'identificazione degli esemplari si è basata su un approccio morfologico con l'analisi dei caratteri fenotipici diagnostici per la specie. Negli ultimi anni, specialmente per l'identificazione di esemplari immaturi, per i quali non esistono chiavi identificative, si è ricorso con sempre maggior frequenza all'analisi molecolare. Tale indagine si basa sull'amplificazione ed il sequenziamento di regioni geniche specie-identificative quali ad esempio il gene mitocondriale COI (Citocromo Ossidasi complesso I), comunemente utilizzato negli studi di filogenesi molecolare degli invertebrati.

Nella pratica comune al fine di ottenere il DNA gli esemplari vengono omogeneizzati con la conseguente perdita dei caratteri morfologici. Rispetto a questa metodologia di estrazione del DNA, che prevede la distruzione del campione in esame, in questo lavoro si dimostra che è possibile ripetere l'identificazione molecolare nonché preservare i caratteri morfologici dell'esoscheletro di larve di mosche.

La tecnica è stata testata su larve di *Calliphora vomitoria*, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) e *Megaselia scalaris* (Diptera: Phoridae). Da ciascuna larva è stata rimossa la cuticola, preparata mediante diafanizzazione e conservata in etanolo; i tessuti molli sono quindi stati progressivamente frazionati sino ad ottenere frazioni di larva corrispondenti a 1/1024 (*C.vomitoria*), 1/512 (*L.sericata*), 1/128 (*M.domestica*) e 1/64 (*M.scalaris*).

La quantità di DNA estratta da tutte le frazioni di ciascun campione è stata sufficiente per l'identificazione molecolare di specie tramite amplificazione e sequenziamento di una porzione di circa 650pb del gene COI. L'identificazione molecolare è risultata in accordo con la precedente identificazione morfologica.

Il protocollo qui suggerito garantisce la possibilità di rianalizzare il campione sia da un punto di vista morfologico che da un punto di vista molecolare, almeno per gli stadi immaturi delle specie dell'ordine Diptera. L'applicabilità di tale metodo è volta a evitare la perdita totale della fonte di prova garantendo un riesame della stessa qualora venga richiesto dalle autorità competenti in sede di processo legale.

PROTOCOLLO PER L'IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE DI ESEMPLARI ADULTI DI SARCOPHAGIDAE SENZA ALTERARE L'ASPETTO MORFOLOGICO

G. Giordani

FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense

Giorgia.Giordani@hud.ac.uk

La corretta identificazione delle specie è il punto chiave per tutti i campi che si occupano di studi che coinvolgono gli insetti. Per questo motivo negli ultimi anni, accanto all'identificazione morfologica comune, l'approccio molecolare, basato sulla caratterizzazione e l'analisi di specifiche regioni mitocondriali o nucleari, sta diventando sempre più frequente. Nonostante i buoni risultati raggiungibili, la caratterizzazione molecolare è frequentemente identificata come una tecnica invasiva che porta spesso alla distruzione del campione. Una buona conservazione dell'integrità di un campione entomologico è fondamentale indipendentemente dal campo di lavoro.

In questa presentazione vogliamo proporre un metodo non invasivo che consenta l'estrazione del DNA senza danneggiare il campione. Questa tecnica è stata testata su addomi di mosche di Sarcophagidae raccolte in luoghi diversi e su diversi anni (dal 2004 al 2015).

Il DNA è stato estratto utilizzando il kit QIAamp® DNA Mini (Qiagen) o un il buffer proposto da Gilbert et al (2007) in unione al kit QiAquick PCR purification (Qiagen). Alcune modifiche sono state apportate alla quantità di proteinasi K usata (40ul) e al tempo di incubazione (24 ore) in quanto entrambi questi parametri aumentato il rendimento totale del DNA estratto.

I geni codificanti per la subunità 1 della citocromo c ossidasi (COI) e per la subunità 5 della NADH ossidoreduttasi (ND5) sono stati poi amplificati via PCR prima di essere visualizzati su gel di agarosio.

I campioni positivi, banda del peso molecolare atteso, sono stati purificati e sequenziati. Il DNA è stato amplificato con maggior successo usando primers per il gene ND5 rispetto a primers per COI. Questo è correlato con la diversa lunghezza delle due sequenze amplificate, 445 bp del gene ND5 e 658 bp del COI.

PCR effettuate usando primers disegnati per regioni più brevi (~200 basi) interne al gene COI hanno fornito risultati positivi.

Sia per un interesse forense che per la prospettiva di una collezione museale, la possibilità di preservare le caratteristiche fisiche dei campioni entomologici è imprescindibile in quanto consente la ripetizione di analisi e la conservazione della morfologia.

EFFETTI DEL CONGELAMENTO SULLE LARVE DI SPECIE DEL GENERE CALLIPHORA E LUCILIA (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

S. Lo Pinto^{1,2}, S. Vanin^{2,3}

¹Dipartimento di Medicina Legale, Università degli Studi di Genova; ²GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense; ³FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK
zialopy@gmail.com

Compito fondamentale del medico legale in corso di sopralluogo è quello di ispezionare e repertare in modo accurato e meticoloso il luogo della scena del rinvenimento di un cadavere, cercando di focalizzare l'attenzione su ogni piccolo dettaglio. In assenza dell'entomologo forense, detentore di grande esperienza, specie in campo di repertazione, il medico legale deve necessariamente essere a conoscenza delle linee guida in campo entomologico forense, da utilizzare in sede di sopralluogo.

La conservazione dei campioni entomologici dopo il prelievo costituisce il primo passo per una corretta stima del tempo della colonizzazione, specialmente quando si considerano le dimensioni delle larve.

In questo lavoro è stato valutato l'effetto del congelamento sulle dimensioni (lunghezza) di larve di *Calliphora vomitoria* e *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), al terzo stadio di sviluppo. Lo scopo del lavoro è stato quello di ottimizzare le condizioni di conservazione prima e di scongelamento poi, per ottenere delle misure accurate e precise, utilizzabili per la stima del mPMI.

I risultati dimostrano un effetto statisticamente significativo sulle dimensioni delle larve dopo scongelamento in tutti i tempi considerati, rappresentato dalla riduzione della lunghezza, rispetto al controllo. E' quindi fondamentale, al fine di stimare un corretto mPMI, aggiungere alla misura ottenuta un coefficiente, che vada a normalizzare il risultato.

COME POSSONO ESSERE CONSERVATI CAMPIONI ENTOMOLOGICI VIVENTI?

V. Bugelli^{1,2,3,5}, C.P. Campobasso^{4,5}, J. Amendt¹

¹Institute of Forensic Medicine, Goethe-University, Frankfurt/Main, Germany; ² Istituto di Medicina Legale, Università di Firenze, Italia; ³Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute, Università del Molise, Campobasso, Italia; ⁴ Dipartimento di Medicina sperimentale, Seconda Università di Napoli (SUN), via Santa Maria di Costantinopoli 80138 - Napoli, Italia; ⁵ GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
vale.buge@gmail.com

L'Entomologia Forense è uno degli strumenti più importanti per la stima dell'intervallo post-mortale, in particolar modo quando il tempo trascorso dalla morte renda inservibile l'utilizzo della triade classica. Questo perchè analizza la composizione delle specie e l'età della fauna necrofaga sul cadavere. Il prelievo, il trasferimento e l'uccisione/conservazione dei campioni entomologici è un passaggio molto importante in entomologia forense, perché metodi diversi possono influenzare la sopravvivenza ed il seguente allevamento dei campioni viventi in laboratorio o pregiudicare l'esame morfologico. La maggior parte delle "Best Practices" suggerisce di mantenere le larve in condizioni controllate o almeno note, alla temperatura di 2-6°C. Si suggerisce, inoltre, che debbano essere conservate in provette con un coperchio permeabile all'aria e che tali flaconi dovrebbero essere dotati di segatura o carta assorbente per accogliere i liquidi di escrezione. Questo per permettere il trasporto dei campioni viventi ad un esperto entro 24h. D'altronde, tralasciare o non rispettare le linee guida, potrebbe portare ad un indebolimento della prova entomologica durante il processo, se non addirittura alla sua esclusione. Tuttavia, finora non è stato sempre chiaro se e quali di queste raccomandazioni siano basate su esperienze, opinioni od evidenze scientifiche.

Sono state studiate tutte le fasi di sviluppo (L1, L2 e L3) delle larve viventi appartenenti alle specie *Lucilia sericata* e *Calliphora vicina*. Tali larve sono state poste in contenitori senza l'apporto di cibo e di aria, sia a temperatura ambiente (~20°C) sia in frigorifero (5°C) per 16 ore. Trascorso questo lasso di tempo sono state trasferite in un contenitore di polistirolo (al fine di simulare un trasporto verso un esperto), con all'interno elementi refrigeranti, di modo da creare un ambiente interno alla temperatura di 2-6°C, per le successive 8h. Trascorse le 24 ore, è stato calcolato il tasso di mortalità ed il 25% delle larve sono state uccise in acqua calda ma non bollente, misurate ed i rimanenti campioni viventi, trasferite in contenitori con cibo, segatura e supporto d'aria ed allevate in condizioni costanti di T°(25°C), sino allo sfarfallamento, annotando ogni 24h, la mortalità.

I risultati hanno mostrato un tasso di mortalità più alto nei gruppi conservati a temperatura ambiente vs gruppi conservati in frigo e negli stadi L2-L3 vs L1. Ciò potrebbe suggerire che qualora fosse fortemente necessario mantenere i campioni viventi senza condizioni di aria o cibo, la conservazione in frigorifero è preferibile vs quella a temperatura ambiente. Quest'ultima modalità può essere presa in considerazione solo per larve allo stadio L1-L2 (quindi circa <1cm).

**IL LABORATORIO DI ENTOMOLOGIA FORENSE DELLA SICILIA:
CASISTICA E RICERCA**

C. Sollami

PROTOCOLLO NAZIONALE DI RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL MATERIALE ENTOMOLOGICO

S. Vanin^{1,2}

¹FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ²GIEF, Gruppo Italiano per
l'Entomologia Forense
stefano.vanin@gmail.com; stefano.vanin@hud.ac.uk

Nel contesto delle scienze forensi un aspetto fondamentale da cui dipendono tutte le potenzialità di utilizzo delle prove e quello dell'utilizzo di protocolli di repertamento, studio ed interpretazione accettati e validati. A questo non si sottrae l'Entomologia forense. In particolare, dal questionario compilato dai partecipanti al I Incontro Nazionale di Entomologia Forense, organizzato dal GIEF nel 2016 era stata sottolineato il bisogno di un protocollo operativo che sia utilizzato in tutto il territorio nazionale, logicamente dopo una attenta discussione e verifica di compatibilità con tutte le altre operazioni che si svolgono sulla scena del crimine o in fase di autopsia. Il protocollo deve permettere la corretta raccolta e preparazione dei campioni al fine di poter effettuare su di essi le analisi morfologiche, molecolari e tossicologiche necessarie a rispondere ai quesiti specifici del caso.

Il consiglio direttivo dell'Associazione ha colto di buon grado la discussione assembleare del 2016 e dopo una fruttuosa collaborazione ha prodotto il seguente documento che prima di essere ufficialmente presentato a tutti gli attori del processo investigativo e legale verrà presentato e discusso in questa sede. Una copia è già stata distribuita a tutti gli iscritti al convegno per avere il tempo di pensare ad eventuali aggiustamenti e modifiche.

Il documento iniziale è frutto del lavoro comune del direttivo del GIEF e del supporto di alcuni membri del passato a cui va il nostro grazie.

L'IMPORTANZA DELLA STAGIONALITÀ NELLA DETERMINAZIONE DEL PMI CON APPROCCIO ENTOMOLOGICO

A. Angelino¹, S. Vanin^{2,3}, M. Focardi¹, A. Bosco¹, GA. Norelli¹

¹Istituto di Medicina Legale Università di Firenze, Largo Brambilla 3, 50134, Firenze; ²FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ³GIEF, Gruppo Italiano per l' Entomologia Forense
lia.angelino@yahoo.it

Lo studio degli insetti rinvenuti sul cadavere e/o sul luogo del ritrovamento si rende utile nella stima dell'epoca della morte (PMI) specialmente nei casi in cui la triade tanatocronologica classica si renda inservibile, nonché nella risposta a quesiti relativi allo spostamento o occultamento del cadavere. Gli insetti presentano distribuzioni biogeografiche specifiche e, alle nostre latitudini, un'attività legata ad una forte stagionalità, la cui individuazione, seppur di complessa determinazione per alcune specie, può contribuire alla stima della stagione della morte.

Il 28 marzo 2011 nel parco della villa comunale di Sesto Fiorentino (FI) fu rinvenuto un cadavere di sesso maschile, di anni 46. Il cadavere, trovato in posizione supina, braccia distese e arti inferiori leggermente divaricati, si presentava in un avanzato stato di putrefazione e con la testa avvolta all'interno di un sacchetto di nylon. La temperatura ambientale al momento del sopralluogo era 12°C. Il cadavere si presentava vastamente colonizzato da larve a livello degli orifici naturali che venivano prelevate (sia in sede di sopralluogo, sia in sede di esame autoptico). Dai dati circostanziali si evinceva che il *de cuius* fu visto in data 10.01.2011 dalla moglie, la quale solo il 14.01.2011 ne denunciava la scomparsa. All'ispezione esterna il cadavere si presentava in avanzato stato di putrefazione, con parziale scheletrizzazione degli arti e del 1/3 superiore del torace con esposizione degli organi del collo, delle clavicole e delle coste, colorazione marrone verdastria delle mani e delle zone esposte, assenza di lesioni traumatiche. La causa della morte veniva ascritta ad arresto cardio-respiratorio secondario ad asfissia acuta indotta dal sacchetto di plastica attorno alla testa e legato a livello del collo.

Gli esemplari rinvenuti appartenevano, per la maggior parte alla specie *Calliphora vomitoria* e *Lucilia ampullacea*, oltre a 3 esemplari appartenenti alla famiglia *Psychodidae*, un unico esemplare della famiglia *Trichoceridae*, ed alcuni esemplari appartenenti alla famiglia *Stratiomyidae*. Inoltre furono rinvenuti insetti appartenenti all'ordine *Coleoptera*, famiglie *Silphidae* e *Staphylinidae*, frammenti di corpo di un dittero *Muscidae* ed un puparo della stessa famiglia. Il mPMI è stato stimato in un range di 1-2 mesi. Le specie raccolte sono compatibili con il luogo del ritrovamento.

Il caso qui descritto è particolarmente importante per l'elevato numero di specie riscontrate in stagione invernale. Come si evince dalla lista delle specie qui elencata ci sono degli elementi con fenologia chiaramente invernale, come ad esempio *C. vomitoria* e la specie della famiglia *Trichoceridae* ed altre specie con fenologia più ampia.

COLLEZIONE SCHELETRICA DEI BANTU MERIDIONALI: INDAGINE ENTOMOLOGICA

M. Azzoni¹, M.G. Belcastro^{1,2}, S. Vanin^{3,4}

¹Laboratorio di Bioarcheologia e Osteologia Forense – Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali - Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Italia; Museo di Antropologia dell'Università di Bologna; ²Centro di Studi e Ricerche "Enrico Fermi", Roma; ³FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ⁴GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
morgan.az@virgilio.it

I Bantu sono una vasta popolazione dell'Africa subsahariana, ripartiti attualmente in oltre 400 etnie, tra cui spiccano i Nguni (Zulu) e i Basotho (Basuti), appartenenti ai Bantu Meridionali. I reperti esaminati sono 6 scheletri (cinque Zulu e un Basuto), i quali appartengono ad una piccola collezione osteologica identificata (per età, sesso e causa di morte) custodita presso il Museo di Antropologia dell'Università di Bologna e donata nei primi anni del '900 al Professore Fabio Frassetto, allora Direttore del Museo di Antropologia. I resti scheletrici analizzati, che si presentano in ottimo stato di conservazione, si riferiscono a individui deceduti tra il 1924 e il 1925 all'ospedale di Johannesburg (Repubblica Sudafricana) e ripuliti dai tessuti molli dopo la morte (verosimilmente a scopo didattico) senza subire il processo d'inumazione. Lo scopo del seguente lavoro è di determinare lo stato di conservazione di questi reperti attraverso l'entomofauna cadaverica reperita sui distretti scheletrici, contribuendo così ad aggiungere informazioni, non solo antropologiche, a una collezione così importante e unica in Italia. L'indagine entomologica si è svolta principalmente nelle cavità del cranio (forame e fossa giugulare, canale carotideo, cavità orbitali, fossa lacrimale e fossa nasale) e nei forami vertebrali. L'entomofauna rinvenuta, documentata e classificata attraverso l'osservazione microscopica (nikon smz745t- nikon digital sight ds-vi1), è ben conservata ed è composta complessivamente da 58 exuvie appartenenti alla famiglia *Dermestidae* di cui 33 riferibili alla specie *Attagenus pelli* e 25 al genere *Anthrenus* e da 15 pupari (11 interi e 4 frammentari), di cui 6 identificati e attribuibili alle famiglie *Muscidae* (genere *Hydrotaea* e *Muscina*), *Fanniidae* (genere *Fannia*) e *Calliphoridae*; i restanti 9 sono ancora in fase di studio. L'entomofauna cadaverica assume un ruolo importante nel decadimento della materia organica, poiché contribuisce a stimare il PMI, a risalire al luogo del decesso ed eventuali spostamenti e a stabilire l'assunzione di sostanze stupefacenti. Risulta importante anche in casi archeologici, come nel caso succitato, per ottenere informazioni sullo stato di conservazione dei reperti stessi e sulle pratiche funerarie del passato. Una cospicua presenza di exuvie di Dermestidi, generalmente, è sinonimo di una contaminazione secondaria, poiché sono insetti biodeteriogeni mentre i pupari, risalgono al primo periodo post-mortale o nei momenti successivi alla scarnificazione. La presenza di esemplari di *Calliphoridae* indica una potenziale esposizione delle ossa durante il processo di rimozione dei tessuti molli. Le specie appartenenti alle famiglie *Muscidae* e *Fanniidae* sembrano indicare che il processo sia avvenuto in un contesto sinantropico.

IMPLICAZIONE DELLE MIASI SULLA STIMA DEL mPMI

**G. Cannella¹, S. Vanin^{2,3}, M. Focardi¹, M. Bonizzoli⁴, M. Migliaccio⁴, L. Tadini
Boninsegni⁴, M. Mangini⁴, V. Pinchi¹, GA. Norelli¹**

¹Istituto di Medicina Legale Università di Firenze, Largo Brambilla 3, 50134, Firenze; ²FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ³GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense; ⁴Dipartimento Neuromuscoloscheletrico e degli Organi di Senso, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
cannellagiacomol@gmail.com

Per miasi si intende l'infestazione di vertebrati viventi da parte di larve di ditteri che, per un certo lasso di tempo, si nutrono sui tessuti viventi o necrotici dell'ospite. La comparsa delle larve prima della morte influisce sulla corretta stima dell'mPMI (minimum Post Mortem Interval) se basato solo sull'approccio entomologico. Le femmine possono deporre le uova su soggetti viventi con scarsa igiene personale (*homeless*), in presenza di ferite aperte e gangrena (pazienti diabetici), e nei casi di incoscienza o non autosufficienza (abbandono di minori o anziani trascurati). In queste circostanze, la stima del tempo di colonizzazione potrebbe fornire utili informazioni sull'instaurarsi della condizione di "trascuratezza" che ha consentito alle mosche di deporre le uova. Tale informazione risulta particolarmente d'aiuto per non collocare in maniera errata l'epoca della morte con eventuali conseguenze investigative.

Nel luglio 2015 una donna di 84 anni affetta da ipertensione arteriosa, e ipertiroidismo, fu trovata dagli operatori del 118 nel suo giardino in stato di incoscienza, indossando solo biancheria intima. Dai dati circostanziali, emerse che i vicini avevano incontrato la donna 5 giorni prima del suo ritrovamento. All'ingresso in Pronto Soccorso fu riscontrata una forte colonizzazione di larve soprattutto a livello del viso, a livello delle congiuntive, coane nasali, bocca e condotti auricolari esterni. La donna non presentava lesioni traumatiche. Furono evidenziate un'ulcera sacrale da decubito ed ustioni di 1 e 2 grado sulle parti esposte di addome e torace. Ulteriori esami dimostrarono la presenza di larve anche nei bronchi, retto, vagina. La donna morì dopo due mesi di degenza per tetano. Le larve al primo e secondo stadio furono identificate in membri della famiglia Calliphoridae e alla specie *Lucilia sericata*. In base ai dati meteorologici, l'età larvale fu stimata tra 1.5 e 2.5 giorni.

Supponendo un ritardo nell'arrivo dei soccorsi con il ritrovamento della donna deceduta piuttosto che in *limine vitae*, la stima dell'epoca della morte basata su approcci entomologici e tanato-cronologici avrebbe mostrato risultati differenti: nel primo caso la stima sarebbe stata di 1.5-2.5 giorni dal ritrovamento, mentre applicando metodi tanato-cronologici la stima sarebbe stata di alcune ore. Infatti questo caso dimostra chiaramente che nei cadaveri, il tempo di colonizzazione da parte degli insetti potrebbe non corrispondere all'intervallo minimo post-mortale. Per questo motivo, e non solo, è necessaria una stretta collaborazione tra patologi forensi ed entomologi forensi ed un'accurata analisi di tutte le possibili variabili per rispondere ai quesiti investigativi circa il tempo dalla morte. In particolare, in condizioni sospette, specialmente nei casi in cui l'intervallo post-mortale non supera le 24 h, l'analisi istologica dei tessuti colonizzati potrebbe essere d'aiuto nel valutare se la colonizzazione è iniziata prima o dopo la morte della vittima e per valutare il tempo di una possibile agonia. Un approccio multidisciplinare deve essere considerato fondamentale per una ricostruzione fedele degli eventi peri-mortali e per la stima dell'mPMI.

**CARATTERIZZAZIONE ED IDENTIFICAZIONE DI PUPARI DEL GENERE
HYDROTAEA ROBINEAU-DESVOIDY, 1830 (DIPTERA: MUSCIDAE) IN
CONTESTO FORENSE E ARCHEOLOGICO**

G. Giordani, S. Vanin

FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense

Giorgia.Giordani@hud.ac.uk

Le mosche e i coleotteri rappresentano la componente principale dell'entomofauna che colonizza un corpo dopo la morte.

Lo sviluppo temperatura dipendente proprio degli insetti e la scoperta di modelli di colonizzazione costanti e prevedibili hanno permesso all'Entomologia Forense di svilupparsi rapidamente e di fornire informazioni utili al fine della ricostruzione degli eventi criminali. L'archeontomologia funeraria applica la stessa logica in contesti archeologici.

I pupari sono la frazione più rappresentata dei resti degli insetti che si trovano in associazione ad un cadavere, in particolare in corpi in avanzato stato di decomposizione e mummificati. L'identificazione a partire dal pupario è ancora un argomento problematico a causa della mancanza di chiavi di identificazione e in molti casi a causa della mancanza di descrizioni delle caratteristiche diagnostiche. In questo lavoro focalizziamo l'attenzione su alcuni pupari del genere *Hydrotaea* trovati sia in contesti forensi che archeologici.

I pupari di *Hydrotaea capensis*, *Hydrotaea ignava*, *Hydrotaea aenescens* e *Hydrotaea dentipes* sono stati qui illustrati in dettaglio. Gli spiracoli posteriori, il piastrone anale e le spine intersegmentale sono stati considerati come buoni caratteri diagnostici per l'identificazione di questi pupari.

COSA FARE QUANDO IL CAMPIONAMENTO E' POSTUMO ALL'AUTOPSIA

D.M. Guglielmini¹, R. Chiarugi¹, S. Vanin^{2,3}

¹Istituto di Medicina Legale di Firenze, AOU Careggi; ²FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ³GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
davideguglielmini1@gmail.com

Nei casi in cui la triade tanatologica classica non risulti d'aiuto, l'approccio entomologico costituisce un importante ausilio per la stima del minimum Post-Mortem Interval (mPMI) e per la valutazione di un possibile (eventuale) spostamento del corpo dal luogo del decesso. Il presente case report riporta uno studio effettuato su campioni entomologici prelevati dagli indumenti del cadavere a distanza di tempo dall'esame autoptico.

Nel luglio 2012, sottostante un cavalcavia, si rinveniva un cadavere di sesso maschile in avanzato stato di decomposizione e con intensa attività larvale. In assenza di disposizioni al sopralluogo medico legale, il cadavere veniva trasportato presso l'Istituto di Medicina Legale di Firenze e dopo 48 ore, previo stazionamento in cella refrigerata, sottoposto ad esame autoptico. L'indagine evidenziava un quadro plurifratturativo ed una contusione cardiaca, pertanto la causa della morte si ascriveva a shock emorragico conseguente a politraumatismo. I dati circostanziali non permettevano di comprendere l'esatto svilupparsi della vicenda, quindi si rese necessaria una consulenza entomologica. Si procedeva quindi, nell'ottobre 2012, a due successivi campionamenti di esemplari entomologici, l'uno a distanza di 77 giorni dal rinvenimento, l'altro a distanza di 85 giorni, rispettivamente dal contenitore dei vestiti e dagli indumenti stessi.

Per la stima dello stadio di sviluppo è stato utilizzato materiale fotografico acquisito in occasione del sopralluogo dei Carabinieri e in sede di autopsia. Si è proceduto alla misurazione delle larve utilizzando come sistema di riferimento il bordo della tasca del pantalone considerata come valore medio di 13.5 cm.

Lo studio del materiale raccolto e delle immagini fotografiche scattate al momento del rinvenimento del cadavere e dell'autopsia, hanno messo in evidenza una comunità entomologica semplice costituita da ditteri Calliphoridae appartenenti alla specie *Lucilia illustris/caesar* al terzo stadio di sviluppo e la ricostruzione metrica ha permesso di stabilire dimensioni di 1.1 ± 0.1 cm per le larve vive, non fissate. I dati meteo sono stati ricavati dalla Stazione Meteo più vicina al luogo del ritrovamento. Il mPMI poté quindi essere stimato in un range di 4.5-7.5 giorni prima rispetto al giorno del ritrovamento. Tale range risultava compatibile con il giorno della scomparsa. Non sono inoltre state evidenziate specie estranee all'ambiente del ritrovamento. L'assenza di segni riconducibili ad azione lesiva e violenta da parte di terzi e il dato entomologico, hanno permesso di escludere l'ipotesi di uno spostamento del corpo dopo il decesso rendendo la dinamica compatibile con una precipitazione a scopo suicidario.

PRIMA SEGNALAZIONE DELL'UTILIZZO DELL'ENTOMOLOGIA FORENSE COME VALIDO AIUTO NELLA DETERMINAZIONE DEL PMI NELLA CASISTICA SENESE

G. Landi^{1,3}, M. Gabrielli¹, S. Vanin^{2,3}

¹Sezione di Medicina Legale, Università degli Studi di Siena, Siena; ²FLEA, School of Applied Sciences, University of Huddersfield, UK; ³GIEF, Gruppo Italiano per l'Entomologia Forense
landi.gl@libero.it

L'entomologia forense rappresenta un valido aiuto nella stima del PMI (Post Mortem Interval) specialmente quando il cadavere si trova in avanzato stato di decomposizione o il tempo trascorso dalla morte supera le 24-36 ore ed i comuni metodi (algor, rigor e livor) diventano inservibili. In questo case report si segnala per la prima volta l'utilizzo dell'entomologia forense per la stima del PMI nella provincia senese.

Il giorno 8 settembre 2015 un cacciatore rinvenne nel bosco di Radicofani (SI) la presenza di un cadavere di sesso maschile, in avanzato stato di decomposizione, nudo (ad eccezione della biancheria), vastamente colonizzato.

Si trovava in avanzato stato di decomposizione, con mummificazione dei tessuti molli in corrispondenza della fronte e dell'emivolto di sinistra, con distruzione completa del bulbo oculare di sinistra, parziale di quello di destra e della piramide nasale, colliquazione dei tegumenti in corrispondenza della guancia di destra, del torace e all'addome. Gli arti apparivano parzialmente scheletrizzati con saponificazione al dorso e in corrispondenza delle regioni posteriori. L'autopsia permetteva di escludere la presenza di lesività riconducibili a terzi.

L'analisi del luogo di ritrovamento del corpo e le temperature ambientali sono le informazioni base per la corretta interpretazione dei dati tanatologici; i dati meteo sono stati acquisiti mediante la stazione meteorologica più vicina (TOS11000061- Radicofani (SI), 618m slm).

Gli insetti, prelevati al momento dell'indagine autoptica sono stati identificati in: numerose specie di larve al terzo stadio di sviluppo ascrivibili a ditteri calliforidi, potenzialmente alla specie *Lucilia ampullacea* (Diptera: Calliphoridae). Unitamente ai calliforidi sono stati rinvenuti anche numerosi coleotteri appartenenti alle specie *Necrodes littoralis* (Coleoptera: Silphidae) (adulti e larve), *Necrobia violacea* (Coleoptera: Cleridae), *Dermestes frishii* (Coleoptera, Dermestidae) (adulti e larve).

Le specie di interesse entomologico raccolte sul cadavere sono tipiche della stagione e dei luoghi in cui il corpo è stato rinvenuto.

L'esame entomologico unito alla ricostruzione termica ha permesso di identificare un PMI > 30 giorni, dato per altro compatibile con le indagini dei Carabinieri; l'identificazione del soggetto ha successivamente permesso di risalire al giorno della denuncia di scomparsa (risalente al 31.07.2015).

Protocollo nazionale per il prelievo di campioni entomologici a fini forensi

Premessa

Lo studio degli insetti a fini forensi è l'oggetto dell'Entomologia Forense.

L'analisi degli insetti che colonizzano i cadaveri può infatti fornire utili informazioni circa l'epoca e la stagione della morte, lo spostamento del corpo e la presenza di droghe e veleni. Il rilievo di elementi dimostrativi di un processo di colonizzazione avvenuto in vita (miasi) può inoltre contribuire a delineare situazioni che configurano reati di maltrattamento o abbandono. Oltre a ciò, l'entomofauna cadaverica residua in caso di spostamento di un corpo può permettere di risalire all'identità della vittima. Tuttavia, la qualità del campionamento e della conservazione degli insetti condizionano l'accuratezza delle analisi e conseguentemente delle valutazioni ottenibili attraverso l'approccio entomologico. Analogamente anche la registrazione delle temperature del luogo di repertamento e del cadavere stesso è un requisito fondamentale per ogni tipo di valutazione circa l'epoca della morte.

Sebbene sia sempre auspicabile la presenza di un entomologo forense in sede di sopralluogo o durante l'autopsia, la raccolta e la preparazione iniziale dei campioni deve essere comunque svolta in maniera precisa e corretta da chiunque sia chiamato ad operare sul cadavere o sulla scena del crimine. In ogni caso è auspicabile la piena collaborazione tra i vari esperti in modo tale che l'attività di prelievo di uno non infici la qualità del prelievo degli altri. A tal fine vanno applicate le norme generali per l'accesso alla scena del crimine ed alla sala autoptica (personale autorizzato, apposito abbigliamento, materiale di raccolta e conservazione monouso e sterile, corretta documentazione, non contaminazione dei luoghi, oggetti, corpi, etc.) e la definizione di una strategia di azione coordinata e condivisa.

Il presente protocollo costituisce una linea guida per la corretta raccolta e fissazione degli insetti associati ad un cadavere, sia in sede di sopralluogo che in sala autoptica. Il protocollo è applicabile con le stesse modalità e intenti anche al contesto veterinario.

Protocollo di Raccolta

Materiali e strumenti necessari sul campo e in sala autoptica:

- Materiale per la documentazione (schede di prelievo e matita) e per l'etichettatura dei campioni
- termometro
- macchina fotografica
- scala metrica
- contenitori a chiusura ermetica ma con fori di aereazione per esemplari vivi
- contenitori contenenti etanolo (EtOH) 80% (non etanolo/alcool denaturato, no formalina)
- pinzette
- pennellini
- cucchiaini di plastica usa e getta
- bollitore o fornellino elettrico o a gas (acqua e pentolino)
- colino a maglia sottile
- sacchi di plastica
- paletta da giardinaggio o vanghetto

1) Documentazione

Le seguenti informazioni devono essere raccolte e quindi comunicate a chi analizzerà i campioni:

Informazioni generali: Luogo, data, ora, nome di chi interviene e raccoglie il materiale, informazioni relative alla modalità e tempi di rinvenimento del cadavere. Se possibile segnalare quando visto in vita l'ultima volta.

Caratteristiche del cadavere: Sesso, età, presenza/assenza vestiti, posizione (esposto, sepolto, impiccato, in acqua, etc), grado di decomposizione, presenza di ferite, presenza di segni di lesioni da animali. Ove possibile specificare la presenza o meno di caratteri di vitalità delle lesioni e l'ultima volta in cui il deceduto è stato visto o segnalato vivo.

Caratteristiche dell'ambiente: Tipologia dell'ambiente a) ambiente esterno (campo aperto, bosco, siepe, fiume, lago, canale, pozzo, etc), esposizione al sole o all'ombra, b) ambiente chiuso (casa abbandonata, casa abitata, garage, etc), finestre e porte aperte/chiusure, c) altre condizioni (macchina, vagone del treno, container, etc).

Per cadaveri sepolti la profondità e la tipologia del terreno

Temperature: ambiente ad altezza uomo, cadavere, interfaccia cadavere/suolo; temperatura interna ad eventuali masse larvali; presenza di sistemi di riscaldamento o di condizionamento funzionanti e loro distanza dal cadavere.

(vedi scheda allegata)

Documentazione fotografica della scena, del cadavere, di eventuali dettagli (masse larvali, segni del passaggio di insetti sulla scena, etc). Fotografie, ad eccezione delle panoramiche, fatte con e senza scala metrica e in posizione ortogonale rispetto all'elemento da fotografare.

Lista del materiale raccolto e distretto del corpo dal quale è stato raccolto (da compilarsi sia in fase di sopralluogo che dopo l'autopsia)

2) Raccolta

Procedere alla raccolta degli esemplari dal corpo e dall'ambiente tenendo separati i campioni provenienti da diversi distretti corporei e da diverse aree della scena del crimine.

Non soffermarsi solo sulla raccolta delle larve ma prestare attenzione a tutti gli stadi di sviluppo ed in particolare a pupe e pupari. La taglia del campione da raccogliere va da tutti gli esemplari quando meno di cento al 10% dell'intero popolamento quando in numero di migliaia. Vale comunque la regola di raccogliere quanti più esemplari possibile.

Raccolta sul corpo

Uova: si presentano come ammassi bianchi corpuscolati agli orifizi facciali, nelle ferite, nella regione pubica ed anale, nell'interfaccia corpo/terreno. Negli animali particolare attenzione deve essere posta agli spazi interdigitali, alla base della coda, al prepuzio e alle ghiandole perianali. Possono essere raccolte con pennellino o pinzette.

Larve: si presentano con diverse fatture e colorazioni e possono essere presenti, oltre che nelle aree citate per le uova, in tutti i distretti del corpo e tra i vestiti. Larve scure di solito sono predatrici di altre larve. Tutte le larve, indipendentemente dalle dimensioni vanno raccolte in gran numero tramite pinzette o meglio cucchiaini usa e getta.

Pupe: si tratta dello stadio in cui avviene la metamorfosi ma l'insetto è immobile e non si nutre. La loro ricerca non deve essere limitata solo al cadavere ma anche a distanza da esso e nel suolo. Si tratta di elementi entomologici che rivestono un ruolo chiave per le valutazioni forensi e, pertanto, andrebbero ricercati con cura. Spesso non sono riconosciute e talvolta scambiate per escrementi di roditori. Possono essere raccolte con pinzette, cucchiaini di plastica, o isolando parti dei vestiti, capelli o terreno sottostante o intorno al cadavere.

Pupari: rappresentano l'involucro residuo allo sfarfallamento dell'adulto. Hanno la stessa distribuzione delle pupe e pertanto devono essere ricercate a distanza dal cadavere e nel suolo. Come per le pupe anche i pupari sono estremamente importanti nell'ambito delle valutazioni entomologiche ed è indispensabile che vengano ricercati con molta attenzione. Spesso non sono riconosciuti e talvolta scambiati per escrementi di roditori. Possono essere raccolte tramite pinzette, cucchiaini di plastica, o isolando parti dei vestiti, capelli o terreno sottostante o intorno al cadavere.

Adulti: spesso difficili da raccogliere perché tendono a scappare se il cadavere è disturbato, la loro raccolta fornisce comunque importanti informazioni. In questo caso è utile ricorrere all'impiego di retini entomologici. Utile anche la raccolta effettuata con pinzette, cucchiaini di plastica e pennelli.

Altri artropodi: tutti gli altri organismi sia terrestri che acquatici che possono essere presenti sul corpo devono essere campionati con pinzette, cucchiaini usa e getta, colini, etc.

Raccolta dal suolo

Effettuare un prelievo di suolo o lettiera al di sotto del corpo e un campione dalle immediate vicinanze. I prelievi possono essere fatti con l'ausilio di una paletta da giardinaggio o altro strumento idoneo e conservati in contenitori di plastica di grandi dimensioni e sigillabili o in sacchi di plastica. I campioni così raccolti devono essere vagliati per isolare gli insetti nel minor tempo possibile (24 ore). Qualora non fosse possibile, mantenere i campioni a 4°C.

Fissazione degli esemplari

Gli adulti possono essere fissati in etanolo direttamente in loco.

Uova, larve, pupe e pupari possono essere fissati in loco o in laboratorio se in tempi brevi (1-2 ore) e meglio se nel trasporto conservati a basse temperature (borsa termica).

Tutti i campioni devono essere opportunamente etichettati in loco. Per l'etichettatura si consiglia di utilizzare una matita poiché la fuoriuscita di etanolo e di liquami putrefattivi può rendere non più intellegibile le scritte tracciate con penna o pennarelli indelebili.

In caso vi sia la necessità di dover differire la valutazione entomologica, conservare i campioni in congelatore a **-20°C**.

Congelare i campioni a -20°C. Questa metodica è considerata ideale per le analisi tossicologiche, ma, avendo carattere conservativo, non preclude l'utilizzo di altre metodiche di conservazione e di altri metodi di analisi.

Inserire i campioni entomologici all'interno di una provetta, adeguatamente etichettati e trasferirli in congelatore a -20°C mantenendo tutti i campioni prelevati dallo stesso caso insieme (contenitore di cartone, scatola di plastica, sacchetto di plastica resistente, etc).

In alternativa, ad eccezione dei pupari che si possono mantenere a secco, suddividere i campioni di uova, larve e pupe in due. Un campione va fissato in etanolo dopo passaggio in acqua bollente, l'altro verrà mantenuto in allevamento.

Fissazione del campione in etanolo. Questa metodica è indicata per le analisi di natura genetica, per le analisi morfologiche e di identificazione di specie. Strumenti necessari: bollitore, acqua, etanolo 80%, colino, provette con tappo ermetico. È una procedura indicata per: uova, larve e pupe.

Portare ad ebollizione l'acqua e attendere che la temperatura scenda di qualche grado (ottimale 80°C).

Mettere gli esemplari in un apposito contenitore (becher) quindi aggiungere l'acqua bollente, dopo 30-60 secondi rimuovere l'acqua utilizzando un colino, raffreddare gli esemplari con acqua fredda e trasferirli in un contenitore/provetta a chiusura ermetica con etanolo 80%.

Allevamento del campione. Questa procedura si riferisce al campione prelevato vivo nel luogo di ritrovamento del cadavere o dal cadavere stesso. Strumentazione necessaria: contenitori a chiusura ermetica (sono ottimi i contenitori utilizzati per il trasporto di larve per la pesca) carta assorbente, patè per gatti. Inserire all'interno del contenitore il cibo per gatti trasferendo quindi le uova o le larve vive chiudendo il contenitore con della carta da laboratorio fissata con un elastico. Evitare di mettere troppi esemplari nel contenitore di allevamento.

Trasferire i contenitori all'interno dell'incubatore a temperatura costante (25°C, LD 12:12), altrimenti lasciare a temperatura ambiente registrando la temperatura ogni 24 ore.

Verificare che il cibo sia sempre disponibile e controllare che gli esemplari non fuoriescano dai contenitori.

Le pupe non necessitano di cibo, quindi possono essere mantenute in contenitori chiusi con carta da laboratorio trattenuta da un elastico fino allo sfarfallamento degli adulti.

A sfarfallamento avvenuto gli adulti possono essere uccisi per congelamento a -20°C e conservati a secco o in etanolo. I pupari possono essere conservati a secco.

Le temperature di allevamento e le date di schiusa delle uova, impupamento e sfarfallamento devono essere puntualmente annotate in apposito registro.

3) Raccolta in sala autoptica

Effettuare un secondo prelievo di materiale seguendo le indicazioni precedenti.

Particolare attenzione va posta all'interno delle cavità, degli organi e di eventuali ferite del corpo e tra i vestiti e le scarpe. Non deve essere tralasciata una raccolta dalla body bag o da altro contenitore utilizzato per il trasporto del corpo. Mantenere un registro con le temperature alle quali il cadavere è stato mantenuto dal suo ritrovamento fino all'autopsia, verificando le temperature delle celle.

4) Casi Particolari

In caso di cadavere in acqua registrare la temperatura del cadavere, dell'aria e dell'acqua. Prestare attenzione a esemplari che possono allontanarsi dal corpo una volta che questo viene trasferito sulla terra.

In caso di cadaveri impiccati campionare il terreno sotto il punto di impiccamento e nelle immediate vicinanze. Indicare l'altezza del corpo e il suo eventuale contatto con il terreno o con altre strutture.

In caso di cadaveri sepolti, garantire che il recupero del corpo avvenga secondo le modalità dell'archeologia forense. Gli insetti devono essere prelevati non solo dal corpo ma anche dal materiale di scavo tramite setacciatura. I campioni devono essere suddivisi per unità stratigrafiche e per posizione rispetto al corpo o in base ad altri elementi caratterizzanti lo scavo.