

# Il Campionamento






È importante raccogliere campioni rappresentativi di tutti gli adulti e gli stadi immaturi che si trovano sopra, sotto ed attorno al cadavere.

Il campionamento deve proseguire anche durante l'autopsia, che è un'importante occasione per controllare accuratamente le pieghe dei vestiti, tipica zona d'annidamento delle pupe e per reperire materiale all'interno del corpo (ferite, pieghe cutanee, cavità cranica, canali digestivi e respiratori se colonizzati possono favorire lo sviluppo di una fauna diversa che nell'ambiente circostante).




## Una classificazione divide in 4 categorie la fauna necrofaga:







- Insetti necrofagi.** *Ditteri* e *Coleotteri* (in particolare Dermestidi e Silfidi). Ditteri necrofagi che si nutrono esclusivamente di tessuti organici in decomposizione;

				
Calliphora (mosca blu)	Lucilia (mosca verde)	Sarcophaga (mosca grigia)	Dermestidae	Silfidae
Ditteri				



- Insetti necrofili, predatori o parassiti dei necrofagi:** Alcune specie di Ditteri e Coleotteri acari, ragni e altri artropodi, diventano predatrici nelle ultime fasi del loro ciclo larvale (schizofaghe).

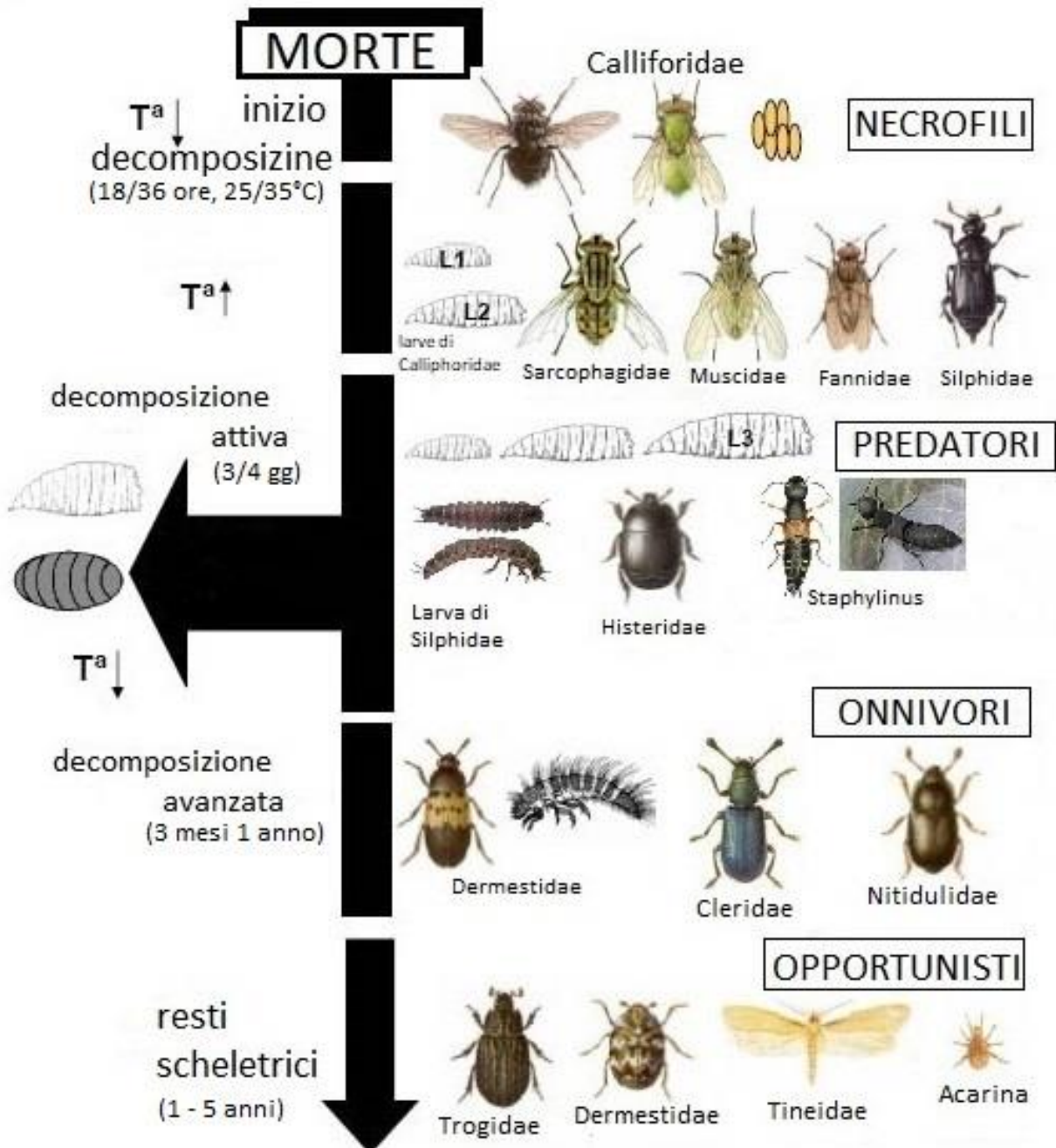
						
Eristalis	Hermetia	Coleotteri Stafilinidi	Larva Silfidae	brachonidae	nitidulidae	Histeridae
Ditteri						

3. **Insetti onnivori:** vespe, Calabroni, formiche e alcuni coleotteri, specie opportuniste che si nutrono indistintamente di resti in decomposizione e/o dei suoi colonizzatori;

					
Dermistidae e larva	Piophilidae casei	Attagenus	Dermestes	Cleridae	Nitidulidae

4. **Insetti opportunisti:** Abitano il cadavere come estensione del proprio territorio in quanto rappresenta parte del loro ambiente, provenendo dalla circostante vegetazione o dal sottosuolo (Aracnidi acari, ragni, formiche, collemboli e chilopodi. Queste specie vivono nell'ambiente circostante e si nutrono normalmente d'altro, ma possono trovarsi occasionalmente sul cadavere.

					
Dermestidae	tineidae	trogidea	Tenebrionidi	Ptinidae	acari



I primi colonizzatori dei cadaveri sono Ditteri Calliforidi del genere Callifora (mosca blu) Lucilia (mosca verde) e Ditteri Sarcofagidi del genere Sarcophaga (mosca grigia), i cui adulti, attratti dall'odore del cadavere depongono le uova (Calliphora e Lucilia) o direttamente le giovani larve (Sarcophaga) solitamente in corrispondenza degli orifizi naturali, ma anche in corrispondenza di ferite e mutilazioni.

Dalla deposizione delle uova allo farfallamento dei nuovi adulti intercorre un tempo di 20-25 giorni, variabile in relazione ai fattori ambientali. Ne consegue che per stabilire l'I.P.M. occorre conoscere l'andamento climatico del periodo precedente il ritrovamento del cadavere.

Segue la colonizzazione da parte di Coleotteri Stafilinidi, predatori delle uova e delle larve delle mosche cartarie. Segue una nuova ondata di Ditteri che si nutrono specificatamente di gemizio liquido (Eristalis, Hermetia) o colonizzano il cadavere prima che subentri lo stato di disidratazione, durante la fermentazione butirrica (Piophilidae) o colonizzano il cadavere prima che subentri lo stato di disidratazione, durante la fermentazione butirrica (Piophilidae). L'avanzato stato di disidratazione richiama Coleotteri Dermestidi dei generi Attagenus e Dermestes, seguiti infine da Coleotteri Tenebrionidi e quindi da grandi invasioni di Acari.

Anche sotto il cadavere si rinvengono popolamenti particolari di insetti in relazione alla presenza del corpo.

**La colonizzazione avviene :** (dall'inizio della putrefazione, entro le 18-36 ore, subito se in presenza di ferite con fuoriuscita di sangue)

- **Prima squadra** - 18/36 ore - **cadavere fresco**, periodo cromatico: Ditteri delle famiglie Calliforidae, Muscidae e Sarcophagidae e la curtoneura.
- **Seconda squadra** - 3-4 giorni d'estate, 7 giorni d'inverno - **cadavere che emana odore intenso** periodo enfisematoso (così definito per la formazione dei gas putrefattivi ad opera dei germi anaerobi: Ditteri delle famiglie Calliforidae e Sarcophagidae, Lucilia, Sarcophaga e Cynomya;
- **Terza squadra** - 3-6 mesi - **fermentazione acida dei grassi**: Coleotteri delle famiglie Dermestidae e Lepidotteri.
- **Quarta squadra** - **1 anno** - **fermentazione caseinica del cadavere**: Ditteri delle famiglie Pyophilidae e Anthomyiidae; Coleotteri del genere Corynetes.
- **Quinta squadra** – **fermentazione ammoniacale**, periodo colliquativo (la fusione putrida dei tessuti, già imbibite rammolliti dai precedenti stadi della putrefazione) : Ditteri delle famiglie Muscidae, Phoridae e coleotteri di altre specie. Inoltre i generi Tyreophora, Ophyra. (Tale processo inizia assai precocemente ma si rende evidente col passare del tempo, cioè dopo 2-3 settimane dalla morte in estate e dopo alcuni mesi in inverno)
- **Sesta squadra** - 3 mesi 1 anno - : Acari prosciugatori che assorbono la maggior parte dei liquami cadaverici, delle specie Tyroglyphus, Glycyphagus, Coepophagus, Serrator ed Uropoda.
- **Settima squadra** - 1-3 anni – **cadavere asciutto**: Coleotteri della famiglia Dermestidae e Lepidotteri della famiglia Tineidae.
- **Ottava squadra** - 3-5 anni - periodo della scheletrizzazione: Coleotteri delle famiglie Ptinidae e Tenebrionidae.

### **La Raccolta degli insetti:**

- 1) La raccolta degli insetti adulti può avvenire con diversi sistemi (rete aerea, trappole appiccicose etc.,)
- 2) per ciò che attiene le larve e le uova, l'uso rispettivamente di cucchiaino e pennellino è strettamente necessario per non danneggiare le microstrutture altamente identificative.
- 3) Sulla scena del ritrovamento dopo la rimozione del corpo è indispensabile inoltre prelevare campioni di foglie e terreno in quanto questi luoghi sono il posto ideale in cui gli insetti si lasciano cadere o si nascondono per ripararsi e "impuparsi".

Generalmente i campioni sono suddivisi in due sottocampioni: un gruppo è ucciso per fermare l'orologio biologico ed un gruppo è mantenuto in vita ed allevato per confermare l'identificazione della specie con l'analisi dell'insetto adulto.

## La Conservazione:

La conservazione e la collezione degli insetti segue procedimenti diversi in base al tipo di campione da mantenere:

### 1. Spillatura degli insetti adulti:

- Procurarsi degli spilli per insetti e dei pannelli in polistirolo, infilzare il corpo dell'insetto (sul torace, la sezione che si trova a metà del suo corpo) con lo spillo e posizionarlo sul pannello in polistirolo, creare un'etichetta con la descrizione della data l'ora e il luogo della raccolta e la posizione in cui si trovava l'insetto, ad esempio: "recuperato mentre si trovava in bocca al cadavere, oppure trovato sotto il cadavere" ecc..
- Proteggi gli insetti spillati conservandoli in una scatola o un barattolo.

### 2. Utilizzo di Alcool etilico:

- Gli stadi giovanili degli insetti devono essere messi e lasciati sotto alcool all'interno di provette sigillate. Solitamente l'alcol etilico è una soluzione al 70% – dovrebbe essere sufficiente per la conservazione. Anche un alcol meno diluito – ad esempio all' 80% o all' 85% – può essere un'ottima opzione visto che alcuni insetti si conservano meglio in alcol più forte.
- Il punto essenziale rimane però il trattamento immediato delle uova e delle larve al fine di conservarne lo stato di ritrovamento. Tale accorgimento preclude la possibilità per gli insetti di crescere (o decrescere) ed eventualmente di andare incontro al successivo stadio del ciclo vitale, fenomeni che falserebbero in modo notevole la stima del P.M.I.
- E' fondamentale che le larve campionate vengano poste in acqua bollente per pochi secondi e in seguito conservate in alcool etilico al 70%: il processo di bollitura permette di mantenere quasi totalmente inalterate le dimensioni dei campioni, che possono essere così misurati senza incorrere in errori grossolani, dovuti all'effetto disidratante delle soluzioni conservanti (le soluzioni disidratanti causano un accorciamento "meccanico").

### 3. Conservazione degli insetti nel gel disinfettante per le mani:

- Come nel caso dell'alcol etilico, il disinfettante aiuterà a conservare il corpo dell'insetto e ad evitare che si rompa o che si decomponga. Tuttavia, a differenza dell'alcol, la densità del gel disinfettante farà sì che l'insetto rimanga sospeso a metà, rendendo il barattolo più piacevole alla vista e facilitando la visione del contenuto.

### 4. Conservazione degli insetti mediante congelamento:

- Se si ha la disponibilità di un freezer, il congelamento è un ottimo sistema per conservare gli insetti, in vasetti di vetro, preventivamente uccisi col vapore di etere.

## Etichettatura dei contenitori:

per tutti i contenitori utilizzati per conservare gli insetti è d'obbligo creare un'etichetta con la descrizione della data l'ora e il luogo della raccolta e la posizione in cui si trovava l'insetto, ad esempio: "recuperato mentre si trovava in bocca al cadavere, oppure trovato sotto il cadavere" ecc..

## **Strumenti e tecniche di raccolta :**

- Imbuto rete (rete a farfalla) - Lo strumento più comune e utile, che può essere facilmente realizzato o acquistato a buon mercato in molti negozi.
- Una rete di spazzata: simile a una rete a farfalla, tranne che ha un panno più duro al posto della rete. È usato per spazzare le erbacce senza essere strappato.
- Rete acquatica: utilizzata per raccogliere insetti che vivono nell'acqua.
- L'aspiratore: usato per attirare piccoli insetti in un piccolo bicchiere o in una bottiglia di plastica trasparente. L'aspiratore è semplicemente una piccola bottiglia con due tubi inseriti attraverso il tappo nella parte superiore. Quando l'aria viene estratta dalla bottiglia con la bocca attraverso uno dei tubi, l'insetto viene aspirato attraverso l'altro tubo nella bottiglia.
- Trappola: interrata a filo con la superficie del terreno e l'insetto cadrà nella trappola e non sarà in grado di fuggire. La trappola può essere usata con o senza esca. Alcune esche comprendono frutta fermentata, carogne (carne), letame, lievito, funghi e molti alimenti domestici come cibo per cani e cereali.
- Trappole di luce - Utilizzate di notte, utilizzate più efficacemente per attirare le falene ma possono attrarre anche altri insetti. Alcune luci comunemente usate per attirare gli insetti sono le luci nere, i vapori di mercurio e gli ultravioletti. La trappola più semplice da fare è semplicemente un lenzuolo incordato tra due poli o alberi con una delle luci sopra elencate che riflette su di essa.
- Gli esemplari di *Ditteri* (mosche) sono per lo più ottenuti con la rete a farfalla, mentre sono in volo o a riposo.

## **Metodi di uccisione degli insetti:**

Il metodo principale per uccidere i campioni di insetti è il metodo di fumigazione. Si usa un barattolo con un coperchio ben chiuso che ha nel fondo intonaco o segatura, che è imbevuto di una sostanza chimica come, ma non limitata a, acetato di etile, acetone (solvente per unghie), cianuro di sodio, o cianuro di potassio. Inserire un pezzo di cartone con fori a circa un pollice dalla superficie del fumigante (questo manterrà il fumigante liquido lontano dai campioni). Quando un insetto viene posto nel vaso, i vapori fumiganti salgono nella parte superiore del vaso e uccidono l'insetto.

L'alcol è il miglior agente di uccisione per gli insetti più piccoli e corposi (es. Coleotteri). Basta posizionare l'insetto vivo all'interno di un contenitore di alcool isopropilico o alcool etilico. Questo è il metodo più rapido e semplice di uccidere.

Infine il metodo di congelamento. Mettere gli insetti in un sacchetto o barattolo e congelarli. Tenere presente che se si utilizza un barattolo di vetro si forma della condensa, probabilmente danneggiando i campioni con le squame.