

6

DETECCIÓN DE LEVAMISOL EN LARVAS DE MOSCAS NECRÓFAGAS DE IMPORTANCIA MÉDICO LEGAL

(Detection of levamisol in larvae of necrophagus flies of legal medical importance)

Percis A. Garcés¹, Edgardo Lasso² y Vera Varela²

¹ Universidad de Panamá, Departamento de Zoología. Email: perchysgs@gmail.com

² Ministerio Público, Instituto de Medicina Legal.

RESUMEN

El levamisol es un medicamento de uso veterinario que recientemente se ha mezclado con la cocaína para aumentar la cantidad de la droga con fines de comercialización y para aumentar los efectos de la droga. En Panamá se ha estado detectando esta combinación en fluidos corporales de cadáveres, por lo cual el presente estudio pretendió establecer una metodología para la detección de levamisol en cadáveres en estado de descomposición avanzado. El estudio se realizó en la Morgue Judicial de la ciudad de Panamá, con fragmentos de hígados de cadáveres humanos inoculados con levamisol, en los cuales se recolectaron larvas que se procesaron y analizaron a través de técnicas toxicológicas encaminadas a la detección de esta sustancia.

PALABRAS CLAVES

Entomotoxicología, levamisol, cadáveres, Diptera, *Chrysomya megacephala*.

ABSTRACT

Levamisol is a veterinary use medicine that has been recently mixed with cocaine to increase the drug amount with commercialization aims, and to increase the drug effects. In Panama, this combination has been detected in corpse biological fluids, thus the present study tried to establish a methodology for the detection of levamisol in corpses in advanced state of decomposition. The study was realized in Panama City Judicial Morgue, with fragments of human corpse livers inoculated with levamisol, in which larvae were collected, and then processed and analyzed through toxicological techniques directed to the detection of this substance.

KEYWORD

Entomotoxicology, levamisol, dead bodies, Diptera, *Chrysomya megacephala*.

INTRODUCCIÓN

Entomotoxicología es el análisis de toxinas principalmente recuperadas en moscas y escarabajos que se alimenta del cuerpo (Dayananda y Kiran, 2013). Esta es una herramienta que aplica análisis toxicológicos a insectos que se alimentan de carroña, con el fin de identificar drogas y toxinas tales como insecticidas, antidepresivos tricíclicos y estimulantes (barbitúricos, cocaína y anfetaminas) presentes en tejidos (Introna et al., 2001). El uso de insectos como una alternativa para detectar drogas ha sido documentado y recomendado como convencionalmente se ha hecho con los fluidos como sangre, orina u órganos internos, los cuales son los mayormente aprovechados. Sin embargo, es posible detectar varias toxinas y sustancias controladas por el análisis de la cutícula de las larvas de los insectos o por la de las pupas presentes o cerca del cuerpo (Dayananda y Kiran, 2013). De ahí, que los insectos puedan ser una alternativa en la determinación de la presencia de sustancias en un cuerpo, dado que el análisis cualitativo en las larvas es una evidencia de la presencia de un compuesto determinado (Goff et al., 1997; Bourel et al., 2001; Introna et al., 2001; Wolff et al., 2004).

El uso potencial de insectos necrófagos ha sido ampliamente demostrado en la detección de drogas y otras toxinas en cuerpos descompuestos (Nolte, 1992; Goff y Lord; 2001; Campobasso et al., 2001; Introna et al., 2001; Kharbouche et al., 2008; Lamia et al., 2011).

El análisis de las larvas encontradas en cadáveres puede contribuir a la identificación cualitativa de las drogas presentes en el cuerpo (Gunatilake y Goff, 1989; Kintz et al., 1990; Introna et al., 1990; Nolte, 1992). Se desconoce el comportamiento de las larvas frente a numerosas sustancias; consecuentemente, su uso en la identificación cualitativa y cuantitativa de drogas o toxinas es muy limitado (Sadler, 1997; Tracqui et al., 2004).

El Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Panamá (IMELCF) utiliza métodos toxicológicos para detectar sustancias tóxicas en fluidos corporales y en tejidos frescos de personas vivas y muertas. En el caso de cadáveres, la posibilidad de detectar estas sustancias disminuye a medida que transcurren los días a partir del momento de la muerte, por lo que, se hace necesario emplear otros métodos que contribuyan a detectar la presencia de sustancias tóxicas en cadáveres en estado de descomposición avanzado.

En la actualidad, el uso del levamisol (Figura 1), se limita a la Medicina Veterinaria, como desparasitante para el ganado, siendo discontinuado hace una década al descubrirse que producía inmunosupresión secundaria a agranulocitosis, lo cual dejaba vulnerables a los pacientes a desarrollar sepsis (Pellegrin et al., 2013).

Desde el año 2008 se descubrió que el mismo está siendo utilizado como adulterante de la cocaína, dando lugar a efectos secundarios graves: agranulocitosis, aumento de transaminasas y bilirrubina, proteinuria, disnea y diarrea (CDC, 2009). La toxicidad del levamisol asociado a

cocaína incluye lesiones cutáneas purpúricas o necróticas, que suelen comprometer los pabellones auriculares (Gross, 2011; Pellegrini et al., 2013). De allí, que sin un método para detectar el levamisol cuando el cadáver está en estado avanzado de descomposición, ocasiona que esta sustancia pase inadvertida y que no se pueda precisar la causa de la muerte del occiso.

Es conocido que los cargamentos decomisados de cocaína en la República de Panamá provienen de América del Sur (Pellegrini et al., 2013). Un hecho que confirma esta realidad, es que en las últimas fechas, se ha detectado en la Morgue Judicial de Panamá, un incremento notable en las defunciones de personas que emplearon cocaína con levamisol, como un aditivo para mejorar los efectos que la cocaína produce en el cerebro. Del mismo modo se detectado la presencia de esta droga en otras sustancias ilícitas, como la heroína (Lee et al., 2012). Los adulterantes son sustancias químicas que tienen alguna propiedad farmacológica que se asemeja a la droga de abuso, y que son agregados con el fin de potenciar su efecto. En algunos casos estos adulterantes pueden llegar a ser más peligrosos que la droga de abuso propiamente tal, entre los que destacan la cafeína, lidocaína y levamisol (Shannon, 1988).

Por lo que, este estudio tiene como propósito utilizar larvas de moscas necrófagas, en primer lugar, porque son las primeras que llegan a un cadáver en estado cromático o enfisematoso, y se alimentan de los restos, por esto se hace necesario investigar si la persona fallecida ha consumido cocaína y junto a ésta levamisol, que es un aditivo que puede ser determinado en las primeras 5 horas de ocurrido el deceso. En esta dirección, se decidió realizar la siguiente investigación que tuvo dentro de sus objetivos 1) determinar el levamisol y cocaína en las larvas de moscas necrófagas de de segundo instar (LII) y tercer instar (LIII) asociadas a un hígado humano en estado enfisematoso, y evaluar el efecto del levamisol en el crecimiento y desarrollo de las larvas de moscas.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en la Morgue Judicial de Panamá, ciudad de Panamá, la cual se encuentra a una altitud de 10 metros sobre el nivel del mar; el área posee un clima tropical de tipo sub-ecuatorial, precipitación anual promedio de 2000mm, humedad relativa promedio del 75% y temperatura promedio de 27°C, con máximas absolutas hasta los 39°C y mínimas de 20°C (ETESA, ww.hidromet.com.pa).

Para el estudio se cortaron trozos de hígados provenientes de cadáveres humanos que fallecieron de manera traumática, pero sin lesiones en el mismo. Para los bioensayos, se utilizó levamisol en su presentación comercial Levamin-fos® inyectable (Levamisol fosfato al 22.3%).

De cada trozo de hígado se hicieron tres réplicas de 10g, que fueron inoculados con cocaína y levamisol a diferentes concentraciones de solución (Cuadro 1) y colocados dentro de envases plásticos transparentes de poliuretano de 100cc, en grupos, identificados como A, B, C, con su grupo control, sin tapas, para permitir que las mosca acudieran a ovipositar en los trozos de hígados, los cuales fueron rotulados según su concentración (Figura 1).

Cuadro 1. Concentración de levamisol en las muestras de tejidos inoculadas

Porción de hígado (10 g)	Volumen de Levamisol (μ L)	Concentración de Levamisol (ppm)
A	5	100
B	10	200
C	15	300

Fuente: Datos propios



Fuente: Datos propios

Figura 1. Fragmentos de hígado humano cortados para alimentar a las larvas

Las larvas de cada réplica fueron maceradas en el laboratorio de Toxicología Forense. En total se analizaron nueve fragmentos de hígado inoculados con cocaína y levamisol, con sus respectivos controles.

Cada grupo de envases se colocó abierto dentro de cajas de 6x3x3 pulgadas, fabricadas con malla metálica de 1x1 pulgadas. Las muestras fueron colocadas en la parte posterior de la Morgue Judicial de Panamá (corregimiento de Ancón), en un área abierta (techada, pero sin paredes) para permitir la ovipostura de las moscas necrófagas.

Al día siguiente, se colectaron las moscas que estaban sobre los trozos de hígado, mediante el empleo de una red entomológica, para su posterior identificación por medio de una clave ilustrada (Amat et al., 2008; Florez y Wolff, 2009) (Figura 2).



Fuente: Datos propios

Figura 2. Ejemplares de moscas adultas de *Chrysomya megacephala* alimentándose del hígado

Entre el cuarto y el sexto día de haber colocado las muestras a la intemperie, se recolectaron 5g de larvas de segundo y tercer instar (LII y LIII), con la ayuda de una pinza metálica. Seguidamente, cada grupo de larvas se colocó en tubos de ensayo plásticos de 50cc con tapón. Estas larvas fueron sacrificadas con en agua caliente durante 5 minutos.

Para el proceso de extracción del levamisol, se pesó 0.5g de K₂HPO₄, y se colocó en tubos de ensayo de 10ml, posteriormente se le agregó 25μL de ciclizina a 100ppm (estándar interno) y se agitó por 10 minutos. Seguidamente, se agregó 75μL de NH₄OH (pH 9.2), se agitó por 10 minutos y se le agregó 2.5ml de clorobutano. Nuevamente, se agitó por 10 minutos y se colocó en una centrifugadora por 20 minutos. La fase orgánica del sobrenadante se pasó a otro tubo de ensayo de 10ml, se evaporó y secó. Finalmente, se reconstituyó en 200μL de metanol.

Las larvas fueron maceradas, para lo cual, se extrajo una muestra representativa de cada grupo de larvas de segundo instar (LII) y tercer instar (LIII) para la extracción y limpieza, análisis presuntivo y confirmatorio de la presencia de cocaína y levamisol. Posteriormente, los extractos de las larvas fueron conservados en tubos de ensayo de 10ml, con 5ml de alcohol al 75 %. (Figura 3).



Fuente: Datos propios

Figura 3. Larvas de LII y LIII de *Chrysomya megacephala*

Una vez terminada la extracción, se colocó en viales con insertos y se inyectó en el cromatógrafo de gases masa para determinar la presencia de levamisol (Rousseau et al., 1981; Marriner, 1980). Luego de lo cual se tomó 2.5ml de cada macerado para iniciar el proceso de determinación de cocaína y levamisol

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los días en que las muestras estuvieron expuestas al medio, la Gerencia de Hidrometeorología de la Empresa de Transmisión Eléctrica S.A. (ETESA) registró una temperatura promedio de 26.5°C, resultado la temperatura máxima 28.1°C y la mínima, 25.5°C mientras la humedad relativa promedio durante el estudio fue de 91%.

Los especímenes de las moscas colectadas sobre los envases con los trozos de hígados correspondieron a *Chrysomya megacephala* (Diptera: *Calliphoridae*) (Figura 4) Las larvas colectadas en los envases con los fragmentos de hígados, también fueron identificadas como larvas de *Chrysomya megacephala* (Amat et al., 2008; Florez y Wolff, 2009).



Fuente: Datos propios

Figura 4. Ejemplar adulto de la especie *Chrysomya megacephala* ♀

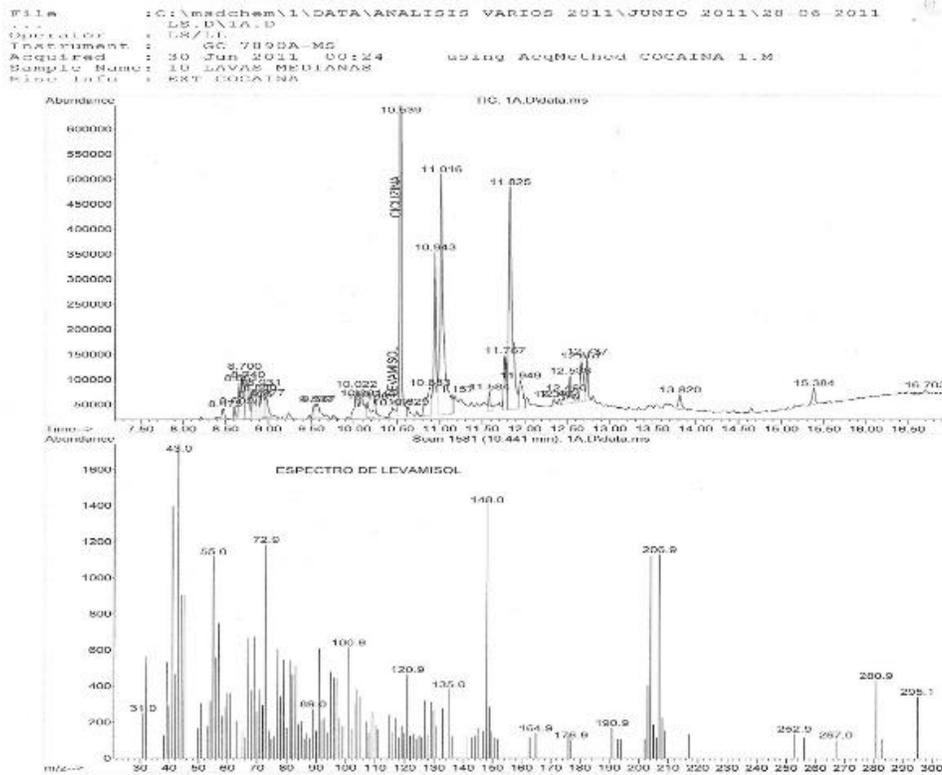
Sobre uno de los fragmentos de hígados del grupo de control se pudo observar una mosca de la familia Sarcophagidae. Sin embargo, estos especímenes no se colectaron ni experimentaron en las muestras inoculadas con cocaína y levamisol. Durante el experimento se procedió a la hidratación de los fragmentos de hígados, tanto para los grupos controles como para los tres grupos inoculados con levamisol y cocaína, por lo que, fue necesario humedecerlos con 1ml de agua destilada a diario.

El crecimiento y desarrollo de las larvas necrófagas fue similar entre las tres muestras del grupo A (hígados inoculados con 5 μ L de levamisol y cocaína), entre las tres muestras del grupo B (hígados inoculados con 10 μ L de levamisol y cocaína); y entre las tres muestras del grupo C (hígados inoculados con 15 μ L de levamisol y cocaína), llegando a obtener larva de primer estadio (LI) al segundo día de colocadas las muestras; larvas LII al cuarto día y larvas LIII al sexto día.

La cromatografía de gases tradicionalmente es el método más empleado para análisis de drogas de control y sus metabolitos; típicamente se usan detectores convencionales, ejemplos, FID (detector de ionización en llama), NPD (detector de nitrógeno y fósforo). La preparación de especímenes para determinar la presencia de sustancias controladas, sobre todo, cuando estos compuestos o sus metabolitos se encuentran a nivel de trazas, implica la preparación de la muestra, por ejemplo, el muestreo, la extracción y limpieza, el análisis presuntivo y confirmatorio (Stashenko y Martínez, 2012).

Con la cromatografía de gases masas se detectó la presencia de cocaína en las larvas LIII, con una absorbancia de 10.530 a 12.730, mientras que la cocaína y el levamisol se detectó en larvas LII, que fueron recuperadas del hígado inoculado con 15 μ L de levamisol, con una absorbancia de

10.530 a 11.026 para la cocaína y de 43.0 a 140.0 para el levamisol (muestras 1C, 2C y 3C) (Figura 5).



Fuente: Datos propios

Figura 5. Cromatografía de detección de cocaína y del levamisol obtenido de las larvas de moscas

No se detectó levamisol en las muestras de los grupos A ni en la B. Tampoco se detectó levamisol en las muestras del grupo de control. En las larvas LIII, las que se alimentaron del hígado inoculado con cocaína, estas si mostraron espectro positivo para la cocaína. También se detectó el espectro de ciclizina, el cual fue el producto comercial utilizado como kit para cocaína (Figura 6). Wolff et al., (2006) detectó y cuantificó el propoxur en larvas LI, II, III, pupa y adultos de Diptera; larvas y adultos de Coleoptera.

levamisol (Lee et al., 2012). Las autopsias médico legales en estos casos constituyen la única fuente documentada de muertes donde existe una asociación entre el levamisol y cocaína. La cocaína altera el comportamiento, provocando estimulación y excitación mediante la inhibición de la recaptación de dopamina, desarrollando tolerancia en dosis repetidas.

En nuestro estudio posible detectar levamisol en los fragmentos de hígados humanos, mediante el estudio entomotológico de larvas de moscas, tal como ocurrió con las larvas de *Chrysomya megacephala* empleadas para estos fines (Figura 8).

Uno de los aspectos que resulta de interés en este tipo de investigaciones, es establecer la fecha de *postmortem*, razón por la cual se emplean las larvas de las moscas verdes-azules (*Calliphoridae*), debido a que son buenas indicadores forenses. La estimación está basada principalmente en el tiempo en que ocurre la primera ovipostura y en el tamaño de alcanzan las larvas. En esta situación (la edad de las larvas) la estimación está basada en la longitud de los especímenes más viejos (Amendt et al., 2007). Por lo que, estas sustancias pueden alterar significativamente el tiempo de desarrollo y la longitud de las mismas. Pero, gracias a otros estudios sabemos que la cocaína incrementa y/o estimula el apetito de las larvas, acelerando así su ritmo de desarrollo. Otras drogas como la heroína y las metanfetaminas, también influyen en el desarrollo de las larvas o hacen que aumente muchísimo la tasa de mortalidad de las pupas (Santos Vásquez, 2016)

A partir de esos resultados, se determinaron los límites de cuantificación del levamisol, siendo la concentración de 15 μ L el límite de donde se estimó la presencia de cocaína en las larvas LIII, en una absorbancia de 10.530 a 12.730. En tanto que el levamisol, el cual es cuantificable en un rango de 72.0 a 140.0. Más no ha si su cuantificación.

En nuestro estudio, la posibilidad de detectar levamisol, en larvas medianas y grandes de *Chrysomya megacephala* fue más revelador cuanto la concentración de levamisol fue más alta, no así en las réplicas con concentraciones de 5 μ L y 10 μ L de levamisol. Se puede interpretar que las larvas de mayor tamaño retienen el mayor aditivo, debido al mayor crecimiento de sus órganos internos, tal como quedo registrado en las Figura 5 y 6. Lo que confirma el uso de esta técnica para cuando se desee determinar si un individuo ha consumido algún tipo de droga, mediante el empleo de las larvas de más de cinco días, se puede llegar a conocer la droga que ha consumido.

En ciertas condiciones la detección de levamisol va a depender del momento que se hace el análisis al fallecido, por lo se sabe que la vida media del levamisol es de 5 horas, por lo que no es posible detectarlo luego de las 48 horas de la última exposición. Máxime cuando el cadáver puede ser ocultado con la finalidad de que transcurra un tiempo más prolongado antes de encontrarlo (Lee et al., 2012).

Lo pertinente de este estudio es que permitió la recuperación de los tóxicos de las larvas que estuvieron más de cinco días de expuestas al consumo de los tejidos. Por otro lado, se requieren kits especiales de cromatografía gaseosa/espectrometría de masa, que son técnicas costosas y poco disponibles (CDC 2009; Lee et al., 2012).

La detección de la estándar interna en todas las muestras analizadas indica similitud el procesamiento de las mismas y que la metodología utilizada fue la adecuada. Los espectros del gráfico del levamisol denota la ocurrencia de varios picos de la droga, lo que fue confirmado con la utilización de kit que usado para este propósito (Figura 6).

Al comparar el crecimiento y desarrollo de las larvas en el presente estudio, se comparó el grupo de larvas expuestas al levamisol, con las larvas del grupo control, se observó que las que estuvieron exposición a levamisol no presentaron alteraciones del crecimiento ni en el desarrollo de los estadios larvales. Es decir, esta sustancia no afectó el crecimiento ni altero el desarrollo normal de las larvas. Aunque es posible que por tratarse de una droga, la misma tenga algún efecto sobre el comportamiento de las larvas, haciéndolas más agresivas al momento de consumir el alimento.

Se conocen que existen diferentes tipos de drogas que podemos encontrar como lo son la cocaína, heroína, cannabis, anfetaminas, cabe señalar que no se ha podido determinar la cantidad de sustancia absorbida por el cuerpo, de las larvas al alimentarse de los tejidos blandos, estas actuaran de manera diferente estimulando su ciclo de vida ya que han consumido la droga.

Al comparar los resultados de nuestro estudio con la tabla de vida de la *Chrysomya megacephala* descrita en la literatura (Gabre et al., 2005; Barros- Reigada y Godoy, 2006; Cordeiro y Pujol, 2010;), observamos que, bajo condiciones ambientales similares, hubo concordancia entre ambos estudios con respecto al ciclo evolutivo larval.

Con esta publicación pretendemos dar a conocer el primer hallazgo de esta metodología, para que la misma lleguen a la comunidad científica y los profesionales en toxicología en torno a un método alternativo que se puede emplear cuando se encuentre un cadáver en estado en descomposición, y no se puedan emplear los fluidos convencionales.

Este estudio ha sido el primer intento realizado para detectar el levamisol asociado con cocaína en Panamá, con el cual se pudo establecer una metodología para conocer el número mínimo de larvas que se requieren para el análisis así como también ensayar los procedimientos para limpiar las impurezas y hacer que la cromatografía sea más efectiva. Este estudio demuestra la importancia del trabajo interdisciplinario a través de los toxicólogos en el manejo de las muestras entomológicas para lograr un resultado eficaz en desarrollo de las Ciencias Forenses.

CONCLUSION

En nuestro estudio fue posible detectar cocaína y el levamisol en los fragmentos de hígado humano, mediante el estudio Entomotoxicológico de larvas de moscas maceradas. Al comparar el crecimiento y el desarrollo de las larvas de moscas expuestas al levamisol y cocaína, con los grupos controles encontramos que ambos grupos tuvieron un ciclo evolutivo similar. Se puede interpretar que las larvas retuvieron mayor el tóxico cuando su tamaño fue mayor fueron las larvas LII y LIII.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo desinteresado de Anabelis Gómez y Librada López, así como de Noriel Santamaría, del Laboratorio de Toxicología Forense. De igual manera, reconocemos la valiosa ayuda brindada por Lizbeth González, del Laboratorio de Biología Forense. Agradecemos también a Hildaura Acosta de Patiño, del Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos de la Universidad de Panamá; a Guillermo Arrocha, de la Morgue Judicial; a Ambrosio Morales y a Iván Jaramillo, de la Gerencia de Hidrometeorología de ETESA, S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amat, E.; M.C. Vélez y M. Wolff. (2008). Clave ilustrada para la identificación de los géneros y las especies de Califóridos (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Caldasia* 30:231-244.

Barros-Cordeiro, K.B y J.R Pujol-Luz. (2010). Morfologia e duração do desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) em condições de laboratório. *Pap. Avulsos Zool.* 50. 709-717.

Bourel, B., G. Tournel, V. Hédouin, M. Deveaux, A. Bécart, M. Deveaux, M.L. Goff y D. Gosset. (2001). Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication". *Forensic Sciences International* 120: 127-131.

Campobasso, C., P; G. Di Vella y F. Introna.(2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci. Int.*, 120: 18-27.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2009). Agranulocytosis associated with cocaine use. Four States.. *MMWR Morb Mortal* 58: 1381-1385.

Dayananda, R.y J. Kiran. (2013). Entomotoxicology. International J. Med. Toxicol. Forensic Med.3: 71-74.

Florez, E y M. Wolff. (2009). Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. Neot. Entomol. 38:418-429.

Gabre, R.M., F.K. Adham y H. Chi. (2005). Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). Acta Oecologica 27 pp 179–183. Disponible en <http://140.120.197.173/Ecology/Papers/Gabre-paper.pdf>

Gerencia de Hidrometeorología de la Empresa de Transmisión Eléctrica S.A. (ETESA). Disponible en <http://www.hidromet.com.pa>

Goff M.L., W.A Brown, A.I Amori y D.A La Pointe. (1993). Preliminary observations of the effects of amitriptyline in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and implications of this effect to estimation of postmortem interval. Journal of Forensic Science 38: 316-322.

Goff, M.L., M.L. Meller, J.D. Paulson, W.D. Lord y A.I. Omari. (1997). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver, and puparia. J. Forensic Sci. 42: 276-280.

Goff, M.L y Lord, W.L. (2001). Entomotoxicology: insects as toxicological indicators and impact of drugs and toxins on insect development. In: Byrd J.H; Castner, J.H (eds) Forensic entomology. CRC Press, Boca Raton 331-340.

Gunatilake, K y L. Goff. (1989). Detection of organophosphate poisoning in a putrefying body by analyzing arthropod larvae (Abstract). J. Forensic Sci. 34.3:1. Disponible en http://www.astm.org/DIGITAL_LIBRARY/JOURNALS/FORENSIC/PAGES/JFS12698J.htm

Gross, R.L., J. Brucker y A. Bahce-Altuntas. (2011). A novel cutaneous vasculitis syndrome induced by levamisole-contaminated cocaine. Clin. Rheumatol. 30: 1385-92.

Introna, F., C.P. Campobasso y M.L. Goff. (2001). Entomotoxicology. Forensic Sciences International 120: 42-47.

Introna, F., D.C. Lo, C, Y.H. Capla y J.E. Smialek. (1990). Opiate analysis in cadaveric blowfly larvae as an indicator of narcotic intoxication. J. Forensi Sci., 35: 118-122.

Introna, F., C. Lodico, Y.H. Caplan y J.E. Smialek. (1990). Opiate análisis in cadaveric blowfly larvae as an indicador of narcotic intoxication. Journal of Forensic Science 35: 118-122.



Introna, F., C. Campobasso y M.L. Goff. (2001). Entomotoxicology. *Forensic Sci. Int.*, 120: 42-47.

Kharbouche, H., M. Augsburg, D. Cherix, F. Sporkert y C. Giroud. (2008). Codeine accumulation and elimination in larvae, pupae and imago of the blowfly *Lucilia sericata* and effects on its development. *Int. J. Legal Med.*, 122: 205-211.

Kintz, P., A. Tracqui y P. Mangin. (1990). Toxicology and fly larvae on a putrefied cadaver. *J. Forensic Sci. Soc.*, 30: 243-246.

Lamia, M., E.-Samad, A. Zeinab, E. Moaty, H. Hassan y M. Makemer. (2011). Effects of Tramadol on the development of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) and detection of the drug concentration in postmortem rabbit tissues and larvae. *Journal of Entomology*, 8: 353-364. Disponible en <http://scialert.net/fulltext/?doi=je.2011.353.364&org=10>

Lee, K.C., B. Ladizinski y D.G. Federman. (2012). Complications associated with use of levamisole-contaminated cocaine: an emerging public health challenge. *Clin Proc.* 19: 78-82 581.

Marriner, S., E.A. Galbraith y J.A. Bogan. (1980). Determination of the anthelmintic levamisole in plasma and gastro-intestinal fluids by high-performance liquid chromatography. *Analyst* 105: 993-996.

MicroMedex Drug Database. Disponible en <http://www.micromedex.com>

Nolte, K.B., R.D Pinder y W.D. Lord. (1992). Insect larvae used to detect cocaine poisoning in a decomposed body. *J. Forensi Sci.*, 37: 1179-1185.

Pellegrini, D., P. Young, V. Grosso, M. Massa y J.E. Bruetman. (2013). Agranulocitosis por Levamisol Asociado a Cocaína. *Medicina (Buenos Aires)* 73: 464-466.

Reigada, C y W.A Godoy. (2006). Larval density, temperature and biological aspects of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 58:562-566. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v58n4/a18v58n4.pdf>

Rousseau, F., J.M. Haquenoer, D. Lesieur y A.P. Gamot. (1981). Gas-chromatographic determination of levamisole in human plasma-normalization and reliability of the method. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.* 6: 281-288.

Sadler, D.W., C. Seneviratne y D.J. Pounder. (1997). Effects of 3,4-methelenedioxymethamphetamine in decomposing tissues on the development of *Parasarcophaga ruficornis* (Diptera: Sarcophagidae) and detection of the drug in postmortem blood, liver tissue, larvae and pupae. *J. Forensic Sci.*, 42: 1212-1213.

- Shannon, M.(1988). Clinical toxicity of cocaine adulterants. *Ann Emerg Med.*17:1243.
- Santos Vásquez, Z. (2016). Identificación de tóxicos en larvas de insectos degradadores en cadáveres en descomposición. Disponible en: <http://www.calera.gob.mx/web/images/forense2016.pdf>
- Stashenko, E. y J. R. Martínez. (2012). GC-MS: herramienta fundamental para el análisis de drogas de uso ilícito. *Scientia Chromatographica*; 4:21-33.
- Tracqui, A.; C. Keyser-Tracqui, P. Kintz y B. Ludes. (2004). Entomotoxicology for the forensic toxicologist: Much ado about nothing. *Int. J. Legal Med.*, 118: 194-196.
- Woff, M., A. Builes, G. Zapata, G. Morales y M. Benecke. (2004). Detection of Parathion (0,0-diethyl 0 (4-nitrophenyl) phosphorothioate) by HPLC in insects of forensic importance in Medellín, Colombia. *Aggrawal's Internet J. Forensic Med. Toxicol.* 5: 6-11.
- Wolff, M., Y. Zapata, G. Morales y M. Benecke. (2006). Detección y Cuantificación de Propoxur en la Sucesión de Insectos de Importancia Médico-Legal. *Revista Colombiana de Entomología.*32:159-164.
- Woolverton, W.L y K.M. Johnson. (2012). Neurobiology of cocaine abuse. *Trends Pharmacol Sci.*; 13: 193-200.