

ACTUALIZACIONES EN LA TAFONOMÍA Y SU RELACIÓN CON LA MICOLOGÍA FORENSE: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Iván Arnaldo Rossi , Patricia Aramí Benitez Rodas, Fabiana Itatí Silva, Natalia Torres, Rosanna María del Rosario Gerometta.

Correo electrónico de contacto: ivan.rossi95@hotmail.com

Lugar de trabajo: Facultad de Medicina, UNNE

RESUMEN

La micología forense proporciona evidencia del tiempo estimado de muerte, tiempo de deposición, causa de la muerte y localizar cuerpos enterrados. Esta revisión pretende exponer las actualizaciones disponibles respecto a la micología forense en relación con el intervalo postmortem (IPM). Se realizó una búsqueda sistematizada en PubMed Central, Google Scholar y ScieniceResearch con 10 años de antigüedad, obteniéndose 9 artículos. Se encontró que técnicas basadas en ADN permiten responder cuestiones legales además del intervalo post-mortem. Los microorganismos tienen un papel importante en la dispersión de restos fúngicos. El suelo impactado por la descomposición produce cambios en la comunidad microbiana, que resulta afectado por el clima, humedad, etc. El empleo de los hongos para establecer el IPM, necesita ser profundizado para tener datos más firmes, sabiendo que el estudio de la sucesión fúngica puede convertirse en una herramienta forense fiable en el futuro.

Palabra clave: Micología, Tanatología, Intervalo post mortem

SUMMARY

Forensic mycology provides evidence of estimated time of death, time of stool, cause of death, and locating buried bodies. This review aims to present the available updates regarding forensic mycology in relation to the postmortem interval (MPI). A systematic search was carried out in PubMed Central, Google Scholar and ScieniceResearch with 10 years old, obtaining 9 articles. DNA-based techniques were found to allow answering legal questions in addition to the post-mortem interval. Microorganisms play an important role in the dispersal of fungal remains. The soil impacted by decomposition produces changes in the microbial community, which is affected by climate, humidity, etc. The use of fungi to establish the IPM needs to be deepened to have more firm data, knowing that the study of fungal succession can become a reliable forensic tool in the future.

Keyword: Mycology, Thanatology, Postmortem interval

INTRODUCCIÓN

La tafonomía es una rama de las ciencias forenses que se encarga de estudiar los cambios que se producen durante la descomposición de los restos biológicos, así como de los factores que intervienen en el proceso. El tiempo requerido para su degradación se denomina intervalo postmortem (IPM) ⁽¹⁾.

Los primeros descomponedores de organismos muertos son los insectos, y tras ellos los únicos que son capaces de proseguir con la degradación de la materia orgánica son las bacterias y los hongos ⁽²⁾.

Estos últimos son unos de los mayores degradadores de la tierra, tanto de materia vegetal muerta, cómo de restos humanos y de animales. Los factores ambientales pueden acelerar o retrasar este proceso de deterioro ⁽³⁾.

En investigaciones criminales, los patólogos forenses pueden encontrar colonias de hongos que crecen sobre cadáveres en descomposición. Estudiando el crecimiento de los hongos sobre su superficie se pueden obtener indicios para estimar el IPM. La micología forense es un término relativamente nuevo, con el cual se describe las especies de hongos presentes en el entorno de cadáveres humanos, así como aquellos grupos de hongos potencialmente útiles en el esclarecimiento del tiempo de muerte ⁽¹⁾.

La poca información existente sobre hongos en cadáveres, queda comprobada en la Investigación realizada por Marcela Alves Barbosa y colaboradores ⁽³⁾, quienes revisaron la base de datos de acceso abierto como SciELO, PubMed y BIREME entre los periodos 1991-2011, encontrando solo 13 artículos relacionados con el tema. Sin embargo, se cree que el número de estudios sobre la relevancia del papel de los hongos que intervienen en la descomposición de cadáveres, ha ido en aumento en los últimos años.

El **Objetivos** del presente trabajo fue exponer las actualizaciones disponibles hasta la fecha respecto a la micología forense en relación con el intervalo postmortem.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda sistematizada de la literatura de artículos en las bases de datos PubMed Central, Google Scholar y ScieceResearch utilizando las siguientes palabras claves y operadores booleanos: (mycology) OR (thanatology) OR (postmortem interval). Se filtró el material publicado con 10 años de antigüedad para todas las búsquedas. Obteniéndose respectivamente 1, 4 y 265 artículos y fueron seleccionados aquellos que responden a la pregunta de investigación: ¿Cuáles son las actualizaciones disponibles hasta la fecha respecto a la micología forense en relación con el intervalo postmortem? Se obtuvieron en total 9 artículos. En base a la escasa bibliografía encontrada se decidió complementar la información a partir de la literatura científica en libros de medicina forense y micología, además de monografías y tesis. Se seleccionaron artículos que contenían expresiones de búsqueda mencionadas anteriormente en sus títulos o resúmenes. El análisis de los datos ha sido de características cualitativas, buscando paralelismos teóricos y narrativos entre las situaciones expuestas en los artículos revisados tanto en inglés como español y portugués.

RESULTADOS

La revisión bibliográfica aquí presentada contempla estudios realizados bajo diversas metodologías de investigación que exploran el rol de la comunidad micótica en la determinación del IPM; No incluimos artículos que no hayan considerado la relación de los hongos con la determinación del IPM, aunque sí tuvimos en cuenta la interacción de las comunidades micóticas con otros agentes y/o factores externos.

Los resultados hallados pueden categorizarse en: tecnologías aplicadas a la estimación del intervalo de muerte y su relación con la microbiología; insectos y otros microorganismos y relación con la micología forense; el suelo impactado por la descomposición. Características; factores influyentes (clima, humedad, vegetación).

Tecnologías aplicadas a la estimación del intervalo de muerte y su relación con la microbiología: Antes del advenimiento de las técnicas basadas en el ADN, las herramientas disponibles para la detección e identificación de microorganismos estaban restringidas a métodos fenotípicos que solo permitían la resolución a nivel de género y/o especie. Estos métodos tradicionales fueron reemplazados por métodos moleculares, que al no estar sujetos a los cambios en las características fenotípicas disminuyeron el tiempo de respuesta entre la recolección de muestras y los resultados. A principios del año 2000, se destaca la introducción de la tecnología de secuenciación paralela masiva (MPS). Este método cumple con diferentes enfoques, como secuenciar el genoma completo de un determinado microorganismo o secuenciar todas las especies microbianas presentes en una muestra compleja recolectada de un determinado individuo o medio ambiente. Las limitaciones fundamentales para la aplicación generalizada de esta tecnología a la micología forense (MF) son la inexistencia de normas y directrices y la deficiencia de bases de datos de referencia, secuencias de genomas de referencia y metadatos. Según una revisión realizada por M. Oliveira y A. Amorim (2018), la MF analiza cómo las técnicas de MPS ya están implementadas, así como sus posibles aplicaciones para responder a cuestiones penales y legales tales como: determinación de la causa de muerte; la hora de la muerte; el lugar de la muerte e identificación de sospechosos (1). Por otro lado, un artículo realizado por Mohammad Asif Iqbal et al. (2018) menciona que Megyesi fue de los primeros en demostrar una técnica accesoria de estimación de IPM en casos de descomposición en la superficie utilizando un sistema de puntos basado en la puntuación corporal total (TBS). La descomposición se dividió en cuatro etapas (descomposición fresca, temprana, avanzada y esqueletización). Los valores en puntos para cada región se utilizaron para determinar el TBS. La puntuación más baja que podía recibir un caso era 3 (fresco en todas las regiones corporales) y la más alta fue de 35 (hueso seco en todas las regiones corporales). Se calculó una ecuación de regresión para predecir grados-día acumulados (ADD por sus siglas en inglés). Los hallazgos de este estudio mostraron que ADD representa aproximadamente el 80% de la variable en la descomposición y el patrón de descomposición se modela mejor como dependiente de acumulación de temperatura, no solo tiempo. Otro factor importante que contribuye a la tasa de descomposición fue el tamaño corporal, siendo la menor masa corporal una variable que acelera la descomposición cadavérica (4). Otro estudio realizado por A Sutherland et al. 2013 del mismo grupo de investigación estableció la importancia del tamaño corporal en la tasa de

descomposición (5). En dicho estudio, un total de 30 cerdos confirman la teoría propuesta por Mohammad Asif Iqbal et al. 2018. respecto a la variable de masa corporal en relación con el tiempo de descomposición.

Aunque los humanos sanos pueden tener infecciones fúngicas, los hongos involucrados suelen ser especies especializadas tolerantes a las altas temperaturas corporales y al sistema inmunológico. Según David L Hawksworth et al. 2011, en individuos inmunodeprimidos, sin embargo, una variedad de hongos menos especializados pueden parasitar de manera oportunista los tejidos humanos. Según los autores, los hongos que se encuentran creciendo sobre los cadáveres son aquellos que normalmente no pueden colonizar tejido vivo. Sorprendentemente, casi no hay información sobre el papel de hongos particulares en la descomposición de cadáveres humanos (3). En concordancia con Diniz Pereira Leite Júnior et al. 2019, los hongos pueden ser oportunistas, colonizando cavidades preexistentes agregando que las especies halladas son de la familia Aspergillaceae en todas las fases de descomposición y especialmente en la fase de hinchazón aparecen *Aspergillus*, *Penicillium* y *Talaromyces* (2). Por su parte, David L Hawksworth et al. 2011 agregan que una especie de *Candida* no identificada había sido aislada de una etapa temprana de descomposición. Así como también, menciona dos especies de *Penicillium* creciendo en etapas tempranas de la descomposición cadavérica (3). Sin embargo B. Madea 2016, afirma que, a pesar de todos los métodos disponibles, el IPM solo se puede determinar dentro de ciertos límites de probabilidad (6).

Insectos y otros microorganismos y relación con la micología forense. Un estudio realizado en Mato Grosso-Brasil, en un modelo experimental el cadáver de *S. scrofa domesticus*, se observaron cinco períodos: fresco, gaseoso; putrefacción oscura; putrefacción avanzada (fermentación) y esquelización. En dicho estudio se observó que los dípteros, seguido del orden Coleoptera (escarabajos) son los de insectos de mayor interés forense, debido a su gran número de especies. En términos de sucesión faunística, los himenópteros son el tercer grupo de insectos más numerosos presentes en los cadáveres y los fórmicos (hormigas) la familia más representativa, quienes tienen un papel importante en la dispersión de materiales cadavéricos, insectos y restos fúngicos. Así también se halló, en *Paratrechina longicornis*, especies fúngicas de Ascomycota y Zygomycota *phylla* formando parte de la microbiota de estas hormigas (2). En otra área se encontraron varios hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Neurospora*, *Niger* y *Rhizopus* asociados con varias hormigas (5). Coincidiendo con los resultados obtenidos, Mohammad Asif Iqbal et al. 2018, obtuvieron en el cultivo de las muestras hongos de la especie *Aspergillus* agregando además crecimiento fúngico de la especie *Penicillium*, quienes habitan ampliamente en materia orgánica y generalmente colonizan de 3 a 7 días después haberse adherido al suelo (4).

El suelo impactado por la descomposición. Características. Según N. Procopio et al. 2020, la introducción de un cadáver en un medio terrestre tiene un fuerte efecto en el ecosistema, proporcionando una fuente rica en nutrientes de alimentos consumidos por plantas y carroñeros, y generando un impacto en la dinámica microbiana general del suelo. Los cambios en la comunidad microbiana se pueden utilizar como indicador del tiempo transcurrido desde la muerte (7). Por su parte Jennifer et al. 2021, afirma que los parámetros químicos de suelos debajo de los cerdos en descomposición y los humanos se vieron afectados. A diferencia de los controles, que no estuvieron expuestos a la descomposición, se observaron cambios significativos en el pH, nutrientes, actividad microbiana y metabolitos. El cambio de pH fue variable en respuesta y difirió entre estaciones, viéndose más afectado durante el verano. También fue notable que el cambio de pH fuera opuesto para cerdos y humanos; el pH aumentó en los cerdos, pero disminuyó en los humanos. Es importante señalar esta variabilidad en el pH del suelo porque se ha determinado que el pH del suelo es un predictor de la estructura de la comunidad bacteriana y fúngica, por lo tanto, influiría en última instancia en la composición de las comunidades de descomposición (8). Esto se relaciona con lo mencionado por N. Procopio et al. 2020, quien afirma que la respuesta del pH del suelo a la descomposición de los mamíferos no es predecible y parece depender de las especies y las condiciones ambientales y edáficas locales (7). En los suelos impactados por la descomposición, se observó un aumento esperado en la respiración del suelo como un indicador del aumento del metabolismo microbiano, también evidencia de descomposición y amonificación de proteínas (8). Tranchida et al 2017 complementa esta información refiriendo que las especies *Dichotomomyces cejpaii*, *T. trachyspermus*, *T. flavus* y *T. uda-*

gawae, son pioneras en la colonización de suelos donde la micobiótica había sido modificada debido a la descomposición de cadáveres contribuyendo al crecimiento de hongos del grupo amoniaco (9). Es importante destacar que las temperaturas ambientales más bajas y la poca o ninguna actividad de los insectos dieron como resultado una liberación más lenta de los productos de descomposición con el tiempo. Esto habría dado a las poblaciones fúngicas del suelo más tiempo para asimilar y oxidar el amonio disponible (8). Además, Tranchida et al 2017 suma que las diferencias en la microbiota del suelo se relacionan con la cantidad de materia orgánica del suelo (MOS), en su capa superior. Lo que resultó en un ligero aumento en el pH y la actividad de la leucina aminopeptidasa (LAP), mientras que la descomposición en el subsuelo perturbado por la actividad del hombre, pobre en MOS, resultó en una ligera disminución del pH y la actividad de LAP. La actividad de la proteasa y los perfiles de metabolitos eran diferentes en sitios ricos y pobres en MOS, lo que indicó que las comunidades biológicas también se vieron afectadas de manera diferencial (9).

Factores influyentes (clima, humedad, vegetación). Se observan diferentes respuestas en la fisicoquímica del suelo en verano e invierno. Según Jennifer M. DeBruyn et al. 2021. el pH y las concentraciones de nutrientes se vieron más afectados en verano: las concentraciones de amonio fueron más altas y las concentraciones de nitratos fueron el doble en el verano en comparación con el invierno. Las temperaturas internas y del suelo durante el estudio de verano se elevaron durante las primeras etapas de descomposición. En contraste con el invierno, curiosamente, a pesar de las diferencias en la temperatura ambiente y las tasas de descomposición entre el verano y el invierno, los niveles de actividad microbiana fueron comparables entre las dos estaciones (8). Así, es como David L Hawksworth et al remarcan la importancia de conocer estos factores influyentes (clima, humedad, vegetación e incluso el método de almacenamiento del cuerpo) para poder determinar el IPM y su relación con el crecimiento de colonias fúngicas en la superficie corporal y del suelo (3).

DISCUSIÓN

La incógnita en común que los diferentes autores han tratado de valorar es la identificación de especies fúngicas relevantes involucradas en el proceso de descomposición cadavérica, ya que la misma desde el punto de vista forense adquiere importancia para la estimación del IPM, evidencia residual, tiempo de deposición, causa de la muerte y localización de cuerpos enterrados.

De los trabajos obtenidos, dos de ellos ^(1, 4) han definido la evolución de las tecnologías aplicadas a la estimación del IPM. Antes de las técnicas basadas en el ADN, las herramientas disponibles para la detección e identificación de microorganismos estaban restringidas a métodos fenotípicos, métodos tradicionales que fueron reemplazados por métodos moleculares que permitieron disminuir el tiempo de respuesta entre la recolección de muestras y los resultados cumpliendo objetivos con mayor sensibilidad y rapidez. M. Oliveira y A. Amorim ⁽¹⁾ hablan de cómo la tecnología de secuenciación paralela masiva (MPS), a pesar de presentar limitaciones por la carencia de normas, directrices y la deficiencia de bases de datos sobre las secuencias de genomas, mejorando estas cuestiones representando una herramienta de gran utilidad para la medicina forense, ya que permite secuenciar el genoma completo de un determinado microorganismo o secuenciar todas las especies microbianas presentes en una muestra compleja. Mohammad Asif Iqbal et al. ⁽⁴⁾ también han aportado información sobre otro método, la puntuación corporal total (TBS). A éste último método lo definen como un sistema de puntos accesorio para estimar el IPM, la cual divide a la descomposición en cuatro etapas sucesivas en cadáveres expuestos en la superficie y cuyo valor permite predecir los grados-días acumulados, teniendo este valor una sensibilidad del 80% para estimar el IPM.

Con respecto al rol de las comunidades fúngicas y las especies de relevancia para la interpretación del IPM, existe controversia entre los diferentes autores ya que es difícil de establecer un orden cronológico específico debido a la interferencia de múltiples factores externos y la falta de estudios que aporten más luz en esta área. Diniz Pereira Leite Júnior et al. (2) por ejemplo, refieren como en términos de sucesión faunística relacionados con los diferentes tiempos de composición cadavérica, los himenópteros, especialmente los fórmicos (hormigas) son el tercer grupo de insectos más numerosos presentes en los cadáveres, tienen un papel importante en la dispersión de materiales cadavéricos, insectos y entre ellos restos fúngicos, encontrándose así que las especies fúngicas de As-

comycota, Zygomycota phylla, Aspergillus, Epicoccum, Fusarium, Neurospora, Niger y Rhizopus asociados con varias hormigas. Resultado que también fue apoyado por Mohammad Asif Iqbal et al. ⁽⁴⁾.

David L Hawksworth y Patricia E J Wiltshire ⁽³⁾, Jennifer M. DeBruyn et al. ⁽⁸⁾, y Tranchida et al. ⁽⁹⁾ mencionaron también la influencia de otros factores tales como el clima, la humedad, la vegetación y la actividad humana, relacionando cómo impactan de forma directa e indirecta alterando las propiedades edáficas y químicas del suelo produciendo una variación del crecimiento de las colonias de hongos. Sumando a esto lo determinado por el Instituto Botánico C. Spegazzini ⁽⁵⁾ en la ciudad de la Plata (Argentina), especies de hongos recolectadas del suelo en contacto con un cuerpo humano en descomposición; puede contribuir a obtener datos importantes útiles para estimar el IPM. En este estudio en particular la *Talaromyces udagawae* (teleomórfico, Ascomycota) es la especie más relevante, marcando una diferencia clara de las micobiotas asociadas en la muestra de control y de las especies descritas anteriormente en la provincia de Buenos Aires (Argentina), por lo que se podría decir que la determinación de especies fúngicas específicas relevantes para la estimación del IPM podría diferir de una localidad a otra incluso dentro de una misma región, lo cual consideramos que debería ser tema de estudio para investigaciones posteriores.

CONCLUSIÓN

Es innegable la existencia de problemas legales y éticos para realizar estudios experimentales de descomposición por hongos en cadáveres humanos. Las colonias fúngicas en cadáveres humanos o asociadas a ellos, pueden dar indicaciones de tiempo de muerte, ya que hay información sobre las tasas de crecimiento de muchas especies. Pero la confiabilidad de cualquier estimación depende de la precisión de la identificación del hongo, el método de almacenamiento del cuerpo y la disponibilidad de datos como temperatura y humedad en el sitio. Todavía hay pocos datos precisos sobre tasas reales de crecimiento en tejidos humanos muertos, especialmente bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad. El empleo de los hongos para establecer el IPM aunque ha sido cuestionado por algunos autores, necesita ser profundizado para tener datos más firmes, sabiendo que el estudio de la sucesión fúngica puede convertirse en una herramienta forense fiable en el futuro.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- Oliveira M.; Amorim A. Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2018; 102:10377–10391. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7080133/>
- Pereira Leite Júnior D.; Santana de Oliveira Dantas E. Action of fauna and flora on the cadaveric phenomena observed in the carcass of sus scrofa (Linnaeus-Suidae) in the wild area Brazilian savannah of the central region-Brazil. *Forensic Res Criminol Int J.* 2019;7(4):185–199. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Diniz-Leite-Junior/publication/335094933_Action_of_fauna_and_flora_on_the_cadaveric_phenomena
- Hawksworth D. L., Wiltshire P. E.J. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Sci Int.* 2011 Mar 20;206(1-3):1-11. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20634009/>
- Asif Iqbal M.; Ueland M.. Recent advances in the estimation of post-mortem interval in forensic taphonomy. *Australian Journal of Forensic Sciences* 2018 Vol. 52, 2020.:107-123. [en línea] Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00450618.2018.1459840>
- Un Sutherland, J Myburgh. The effect of body size on the rate of decomposition in a temperate region of South Africa. *Forensic Sci Int.* 2013 Sep 10;231(1-3):257-62. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23890647/>
- Madea B. Métodos para determinar el momento de la muerte. *Forensic Sci Med Pathol* 2016,12451-485. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12024-016-9776-y>
- Procopio N.; Ghignone S. Soil Fungal Communities Investigated by Metabarcoding Within Simulated Forensic Burial Contexts. *Journal Frontiers in Microbiology.* Julio 2020, vol. 11: 1686. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01686/full>
- DeBruyn J. M.; Hoeland K. M. Comparative Decomposition of Humans and Pigs: Soil Biogeochemistry, Microbial Activity and Metabolomic Profiles. *Frontiers in Microbiology,* v11. 2021. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.608856/full>
- Tranchida MC; Cabello MN. The Mycology as Forensics Tool. *Advanced Techniques in Biology & Medicina,* v05 n02 (2017). Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/the-mycology-as-forensics-tool/oclc/7378873536&referer>