

POBLACIONES LARVALES DE CALIFÓRIDOS COMO ESTIMADORES DEL INTERVALO POST-MORTEM EN UN MODELO EXPERIMENTAL

Ólger Calderón-Arguedas, Adriana Troyo y Mayra E. Solano

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET). Departamento de Parasitología,
Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José Costa Rica.
olgerc@cariari.ucr.ac.cr

RESUMEN

Con el fin de estimar el intervalo post-mortem (IPM) basado en análisis poblacionales de larvas de califóridos, conejos de la cepa New Zealand (3,8 kg) fueron sometidos a eutanasia en abril, julio y octubre de 2002 y enero de 2003, tres animales por ciclo. Los cadáveres fueron expuestos en un ambiente selvático y a partir de cada uno de ellos fueron recolectadas, tres veces a la semana, muestras de larvas de muscoideos. Se identificaron cuatro especies de califóridos: *Hemilucilia segmentaria*, *Lucilia eximia*, *Chrysomya megacephala* y *C. rufifacies*. *H. segmentaria* y *L. eximia* fueron observadas en todos los ciclos. Las cantidades de larvas por especie obtenidas durante cada proceso de muestreo fueron muy variables y no se pudo evidenciar diferencias estadísticamente significativas que relacionaran el número de larvas por especie y el IPM ($p < 0,05$). Los resultados sugieren que, en circunstancias semejantes, los análisis larvales de califóridos pueden aportar pistas importantes en las investigaciones forenses, pero que por sí mismos no tienen la suficiente precisión para permitir conclusiones fidedignas.

Palabras clave: Calliphoridae, *Hemilucilia segmentaria*, *Lucilia eximia*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya rufifacies*

ABSTRACT

In order to estimate post-mortem interval (PMI) based on the analysis of larval Calliphoridae populations, New Zealand rabbits (3,8 kg) were euthanased during April, July and October of 2002, and January of 2003 (three animals per cycle). The corpses were exposed in a jungle environment and samples of muscoid larvae were collected three times a week from each corpse. Four species of Calliphoridae were identified: *Hemilucilia segmentaria*, *L. eximia*, *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies*. *H. segmentaria* and *L. eximia* were observed in all cycles. The number of larvae collected for each species during the sampling varied greatly, and there were no statistical differences that could relate the number of larvae per species and the PMI ($p < 0,05$). The results of this model suggest that, under these circumstances, calliphorid larvae can yield important clues in the forensic analysis but on their own do not provide enough precision for the establishment of reliable conclusions.

Key words: Calliphoridae, *Hemilucilia segmentaria*, *Lucilia eximia*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya rufifacies*.

El proceso de descomposición de un cadáver, humano o animal, supone la ocurrencia de una serie de cambios biológicos, químicos y físicos que resultan atractivos para grupos particulares de artrópodos⁽¹⁾. El análisis de las poblaciones de estos organismos ha sido utilizado como un criterio válido para el cálculo del intervalo *post-mortem* (IPM)^(1,2,3,4). El IPM consiste en la estimación de los tiempos

máximo y mínimo probables que tienen lugar entre el deceso de un cuerpo y el hallazgo de su respectivo cadáver⁽²⁾.

Las moscas califóridas son insectos comunes y abundantes a lo largo de todo el mundo. Adicional a su amplia distribución, tienen la característica de que colonizan rápidamente los cadáveres en descomposición en intervalos

que pueden ir desde minutos hasta unas cuantas horas a partir del momento de la muerte⁽⁵⁾. Por esta razón, la presencia o ausencia de huevos o formas larvales de estos dípteros constituyen hallazgos de mucha utilidad en los análisis forenses⁽⁴⁾.

En Costa Rica la presencia de diversos califóridos ha sido informada^(6,7). En relación con lo anterior y de acuerdo a modelos experimentales en que se han utilizado cuerpos de animales en descomposición y al análisis de muestras procedentes de cadáveres humanos no inhumados, se estima que *Lucilia eximia* Wiedemann, es probablemente la especie larval más común en este tipo de sustrato en el Valle Central del país⁽⁶⁾.

Cochliomyia macellaria Fabricius figura como una de las especies más frecuentes en ambientes de bosque tropical lluvioso^(6,7). Adicionalmente, otras especies que han sido descritas en Costa Rica son *C. hominivorax* Coquerel *Hemilucilia segmentaria* Fabricius, *Calliphora peruviana* Robineau-Desvoidy, *Phaenicia cuprina* Wied, *Chrysomya ruffifacies* Macq y *Ch. megacephala* Fabricius.

En el presente estudio, mediante un modelo en cadáveres de conejo, se pretende valorar cuantitativa y cualitativamente el tipo y cantidad de larvas de califóridos como eventuales indicadores del IPM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Como parte de un estudio en el que se han valorado diversos tópicos de entomología forense en modelos controlados, se evaluó la sucesión de larvas de califóridos en la degradación de cadáveres. En el presente modelo se realizaron observaciones a partir de carcasas de conejo durante cuatro ciclos de observación que tuvieron lugar en los meses de abril, julio y octubre del 2002 y enero del 2003.

Para cada ciclo, tres conejos de la cepa New Zealand (3,8 kg), fueron sometidos a eutanasia mediante dislocación cervical,

siguiendo los procedimientos éticos correspondientes y posteriormente fueron expuestos a un ambiente selvático representado por la reserva "Leonel Oviedo", Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", San José, Costa Rica. Los promedios de temperatura, humedad y precipitación para este sitio son 19,3 °C, 79,8% y 19,5 mm para la estación seca (diciembre-abril) y 20,2 °C, 85,1% y 245,4 mm para la lluviosa (mayo-noviembre).

Con el fin de evitar la acción de eventuales depredadores, cada conejo fue colocado en una jaula de cedazo cuyas dimensiones fueron de 80 x 30 x 25 cm las cuales fueron sujetadas al suelo circundante por medio de ganchos especializados.

Las carcasas se estudiaron trisemanalmente durante el mes de observación y a partir de cada cadáver se realizó una colecta indiscriminada de las larvas de muscoideos que se encontraban en los principales focos de desarrollo larval. El tiempo de colecta fue de cinco minutos en cada uno de los cadáveres. Las larvas obtenidas fueron colocadas en viales con alcohol al 70% y transportadas al laboratorio, donde fueron aclaradas en lactofenol y montadas en medio Hoyer para su posterior identificación. Los ejemplares que no pertenecieron a la familia Calliphoridae fueron separadas y conservadas en alcohol al 70% para estudios posteriores. La identificación de especies fue realizada mediante la utilización de claves dicotómicas especializadas^(7,8).

La variabilidad en los promedios larvales para cada especie en relación con tiempo post exposición fue evaluada mediante análisis de variancia (ANOVA)⁽⁹⁾, utilizando una hoja electrónica de Microsoft Excel® y un coeficiente de confiabilidad del 95%. Adicionalmente se tomaron datos relativos a las temperaturas del suelo, de la interfase cadáver/suelo, de la masa larval y del ambiente. El muestreo así como la toma de los datos ambientales fueron realizados entre las nueve y las diez horas en cada uno de los días de observación.

RESULTADOS

La presencia de larvas de califóridos fue evidente en los cuatro ciclos de observación. Las especies identificadas fueron *Hemilucilia segmentaria*, *Lucilia eximia*, *Chrysomya megacephala* y *C. rufifacies* (Cuadro 1). De estas especies *H. segmentaria* y *L. eximia* se presentaron en los cuatro ciclos de observación, sin embargo, la recuperación de larvas de *H. segmentaria* se prolongó durante mayor número de días respecto a *L. eximia* (Cuadro 1). *Ch. megacephala* se observó en tres ciclos de observación y *C. rufifacies* sólo en los dos que corresponden a la época seca (Cuadro 1). Los períodos de exposición máximos en que fue evidente la presencia de larvas de estas especies se prolongaron entre los 18 y los 25 días, siendo el primer ciclo el que permitió la recuperación más sostenida de las mismas (Cuadro 1). El análisis de las poblaciones larvales mostró una gran variabilidad por lo que no se pudieron evidenciar tendencias diferenciadas estadísticamente que relacionaran la magnitud de la población larval con el IPM ($p < 0,05$) (Figuras 1, 2, 3 y 4).

Las temperaturas del suelo, de la interfase cadáver/suelo y del ambiente no mostraron variaciones importantes a lo largo de cada período de observación. En el caso de la temperatura de la masa larval, se pudo advertir una discreta elevación de la misma durante los primeros 10 días de observación en los ciclos I y II (Fig. 5).

DISCUSIÓN

Las formas inmaduras de los califóridos constituyen algunos de los hallazgos más importantes en el contexto de las investigaciones forenses. En el presente trabajo la presencia de califóridos fue evidente en todos los ciclos de observación. Las especies observadas coinciden con las que se han informado para la zona geográfica en que se ubicó el modelo^(6,7).

El análisis de las poblaciones de los dípteros encontrados sitúan a *H. segmentaria* como la especie más constante, ya que se encontró

en los cuatro ciclos de muestreo. En un sentido *antagónico se ubica C. rufifacies*, cuyas larvas sólo se colectaron en los ciclos I y IV, lo que sugiere la ocurrencia de un comportamiento estacional relacionado con los meses de menor precipitación. El análisis cuantitativo mostró una gran variabilidad entre las poblaciones larvales por lo que no se pudo establecer ninguna tendencia en que se relacionara el tamaño poblacional con el IPM. En este sentido diversos investigadores han señalado dificultades en la interpretación de los análisis larvales^(2,4,5). Por un lado se tiene claro que los cadáveres representan ecosistemas complejos que condicionan una distribución heterogénea de las poblaciones larvales. Se sabe que las moscas califóridas, al igual que las sarcófágidas, suelen tener un tropismo marcado hacia aberturas naturales como boca, fosas nasales y ano⁽⁶⁾. También se ha evidenciado una importante preferencia por ojos, heridas y fluidos corporales⁽²⁾. Lo anterior implica un problema práctico en relación con el proceso de muestreo, generándose gran variabilidad en lo referente a donde y cómo muestrear, aunado a que quienes usualmente suelen realizar las colectas larvales en las investigaciones forenses tienen poca experiencia y conocimiento en la recolección y manejo de material entomológico⁽²⁾.

En el presente trabajo, en el cual la sistemática de muestreo se basó en la colecta por tiempo determinado, esta distribución heterogénea pudo haber incidido en los resultados.

Otros aspectos que complican los análisis larvales y por consecuencia el cálculo del IPM basado en ellos, tiene que ver directamente con la biología de los califóridos y las condiciones ambientales donde se encuentra el cadáver. Se ha visto que estas moscas, con pocas excepciones, tienen una actividad eminentemente diurna^(2,5), sin embargo la mayoría de los crímenes ocurren por la noche, por lo cual se suele dar un desfase de varias horas entre el momento de la muerte y las primeras oviposiciones⁽⁵⁾. Si el cadáver ha sido sujeto de inmersión en depósitos de agua, quemado o cubierto, el comportamiento de oviposición puede verse alterado y en algunos casos completamente

Cuadro 1

Sumario de los Análisis de Variancia (ANOVA) relativos a las larvas de califóridos colectadas en cada día de observación.

a post posición	Primer ciclo (abril/2002)															
	<i>H. segmentaria</i>				<i>L. eximia</i>				<i>C. rufifacies</i>				<i>Ch. megacephala</i>			
	x	σ^2	F*	LF**	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF
	16,6	212,3	1,8	2,5	19,6	1160,0	0,5	5,1	0,0	0	0,6	2,4				
	11,6	37,3			6,3	36,3			0,6	1,3						
	18,0	53,2			0,3	0,3			6,3	120,3						
	26,6	537,3							6,3	120,3						
	7,0	147,0							1,0	3,0						
	0,0	0,0							2,0	3,0						
	0,0	0,0							4,6	65,3						
	0,3	0,3							0,0	0,0						
	0,6	1,3							0,0	0,0						
									5,0	61						
	Segundo ciclo (julio/2002)															
	<i>H. segmentaria</i>				<i>L. eximia</i>				<i>C. rufifacies</i>				<i>Ch. megacephala</i>			
	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF
	28,3	2008,0	0,4	2,6	77,6	4764,0	3,45	7,7					0,0	0	0,8	3,5
	31,3	262,3			3,3	33,3							2,3	16,3		
	19,3	21,3											0,0	0		
	10,6	226,3											0,0	0		
	17,0	633,0											3,6	40,3		
	5,6	96,3														
	18,0	0,3														

* Valor F calculado

** Limite de F

Cuadro 1. Continuación

a post posición	Tercer ciclo (octubre/ 2002)															
	<i>H. segmentaria</i>				<i>L. eximia</i>				<i>C. rufifacies</i>				<i>Ch. megacephala</i>			
	x	σ^2	F*	LF**	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF
	32,3	1577,3	1,1	2,5	0,6	1,3	0,8	5,1					0,0	0,0	0,8	2,5
	3,7	1008,0			20,0	1200,0							0,3	0,3		
	16,6	258,3			3,0	27,0							1,3	1,3		
	23,3	614,3											2,3	6,3		
	16,3	465,3											7,0	147,0		
	4,6	65,3											0,3	0,3		
	4,3	56,3											0,3	0,3		
	3,0	19,0											0,3	0,3		
	2,3	16,3											1,0	1,0		
	Cuarto ciclo (enero/2003)															
	<i>H. segmentaria</i>				<i>L. eximia</i>				<i>C. rufifacies</i>				<i>Ch. megacephala</i>			
	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF	x	σ^2	F	LF

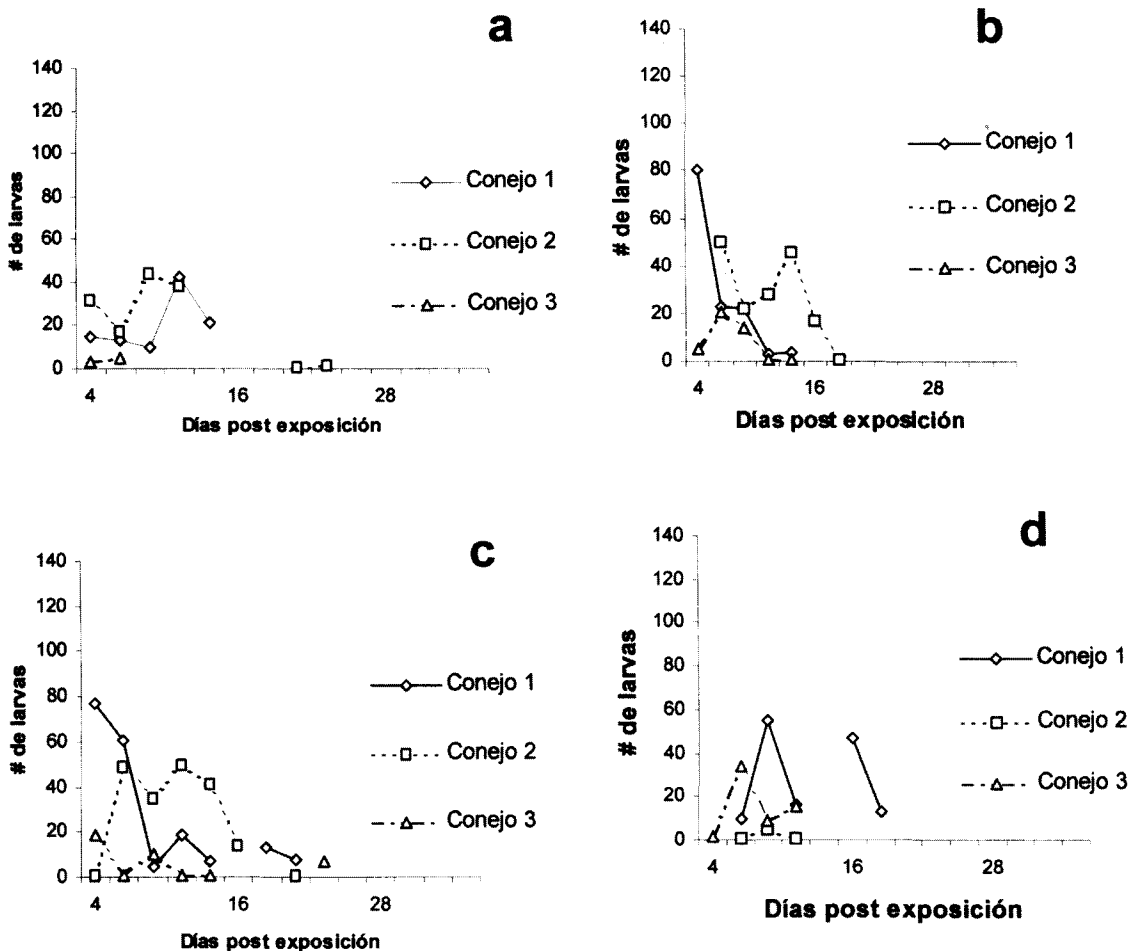


Figura 1

Curvas de abundancia larval para *Hemilucia segmentaria* durante los cuatro ciclos de observación, a: primer ciclo (abril/2002), b: segundo ciclo (julio/2002), c: tercer ciclo (octubre/2002), d: cuarto ciclo (enero/2003).

disminuido^(2,4,5). Otro factor que puede alterar la puesta de huevos está relacionado con las condiciones climáticas incrementales⁽⁴⁾. En el presente experimento se pudo observar que en el primer ciclo de observación, el cual tuvo lugar en uno de los meses con menor precipitación, la obtención de larvas de califóridos se dio durante un mayor número de días con respecto a los otros ciclos. Adicionalmente, la alta humedad ambiental prevalente en los ciclos II y III pudieron generar una aceleración en la

fase de descomposición activa por lo que las oviposiciones por califóridos pudieron verse disminuidas (Cuadro 1, Figs 1 a 4).

La temperatura ambiente puede repercutir sobre la biología de estas moscas y de alguna manera influir sobre los resultados. Se sabe que a temperaturas inferiores a los 10°C, la actividad de los califóridos se ve disminuida y a menos de 4°C, su actividad es nula⁽⁵⁾. En este sentido se pudo precisar que las condiciones

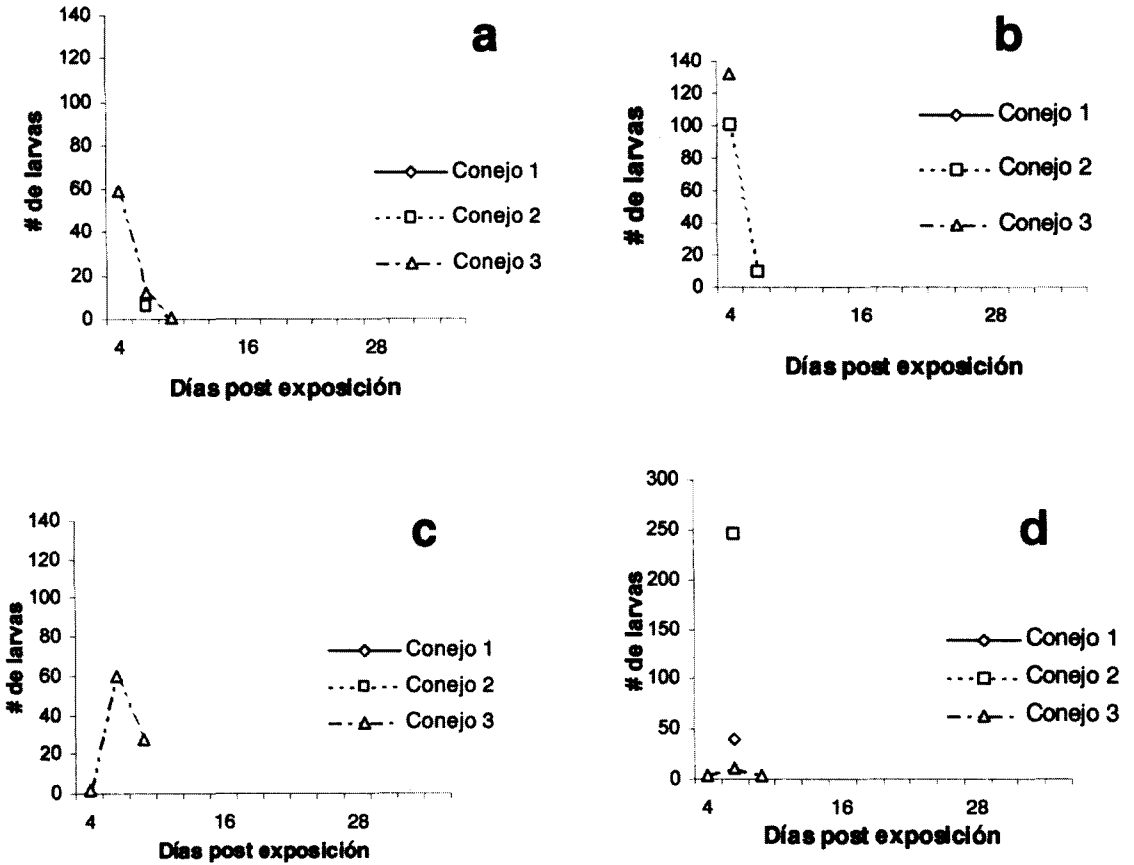


Figura 2

Curvas de abundancia larval para *Lucilia eximia* durante los cuatro ciclos de observación), a: primer ciclo (abril/2002), b: segundo ciclo (julio/2002), c: tercer ciclo (octubre/2002), d: cuarto ciclo (enero/2003).

de temperatura de la zona de estudio fueron permisivas durante todo el año para la biología de estos dípteros.

Por otro lado, la actividad larval implica un aumento de la temperatura ambiente que podría incidir sobre su velocidad de desarrollo^(2,4,5). En algunos estudios se ha visto que esta temperatura podría llegar hasta los 50°C^(3,4). Sin embargo en el presente trabajo, solo se advirtió un ligero aumento de la temperatura en la masa larval durante los dos primeros ciclos de observación (Fig. 5).

Este aumento podría estar ligado a una tardía iniciación de la etapa de descomposición activa del cadáver, lo que facilita la ocurrencia de micro ambientes que facilitan la concentración del calor generado por la actividad metabólica de las larvas. En relación con las otras temperaturas, no se pudieron observar variaciones marcadas en las temperaturas evaluadas. Lo anterior podría deberse al tipo de carcasa utilizada. Algunos autores sostienen que las carcasas de animales grandes, como las de los cerdos, son las que mejor emulan lo que ocurre en los cadáveres humanos⁽¹⁾, aunque

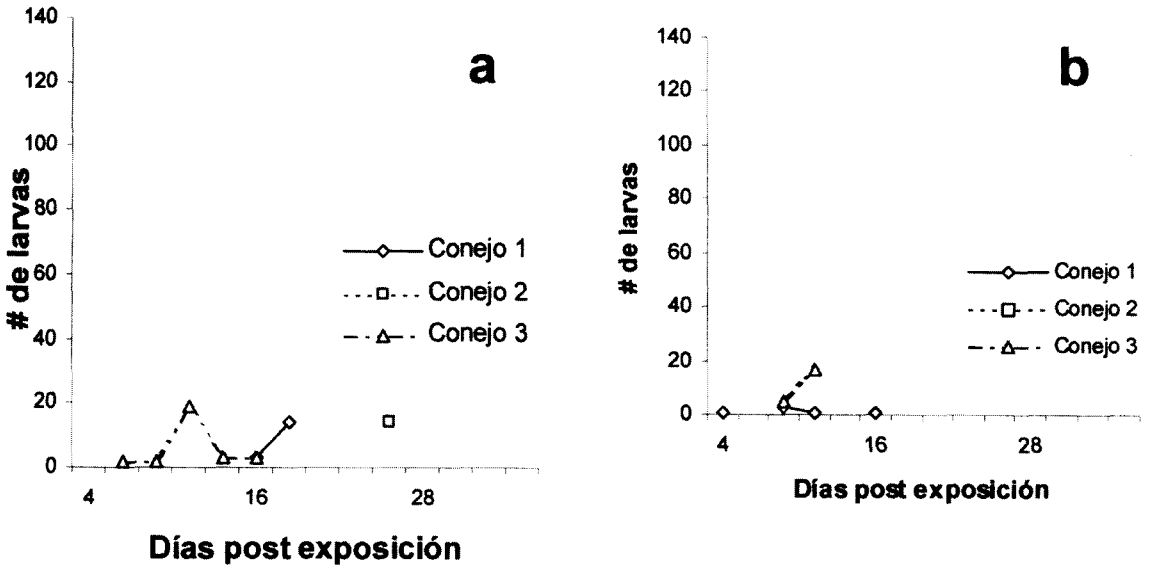


Figura 3

Curvas de abundancia larval para *Chrysomya ruffiacis* observadas durante dos ciclos de observación, a: primer ciclo (abril/2002), b: cuarto ciclo (enero/2003).

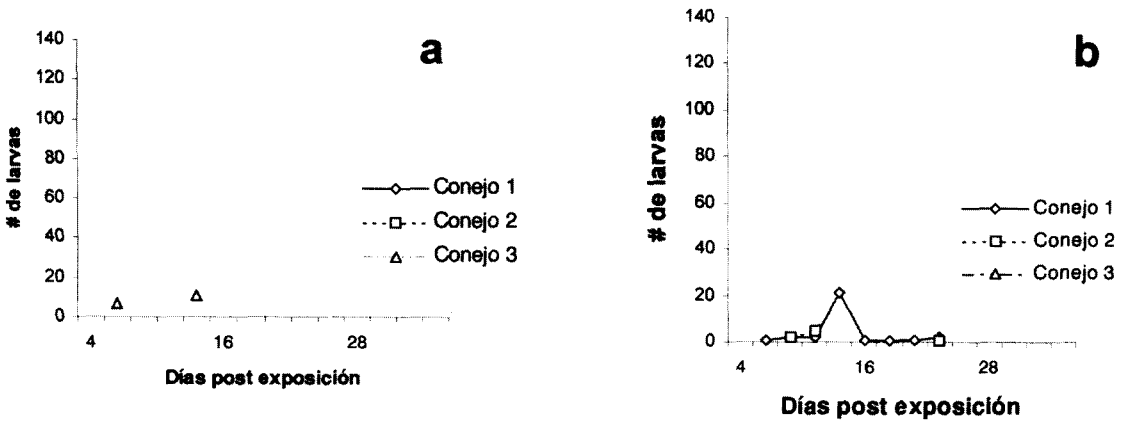


Figura 4

Curvas de abundancia larval para *Chrysomya megacephala* durante tres ciclos de observación, a: segundo ciclo (julio/2002), c: tercer ciclo (octubre/2002), d: cuarto ciclo (enero/2003).

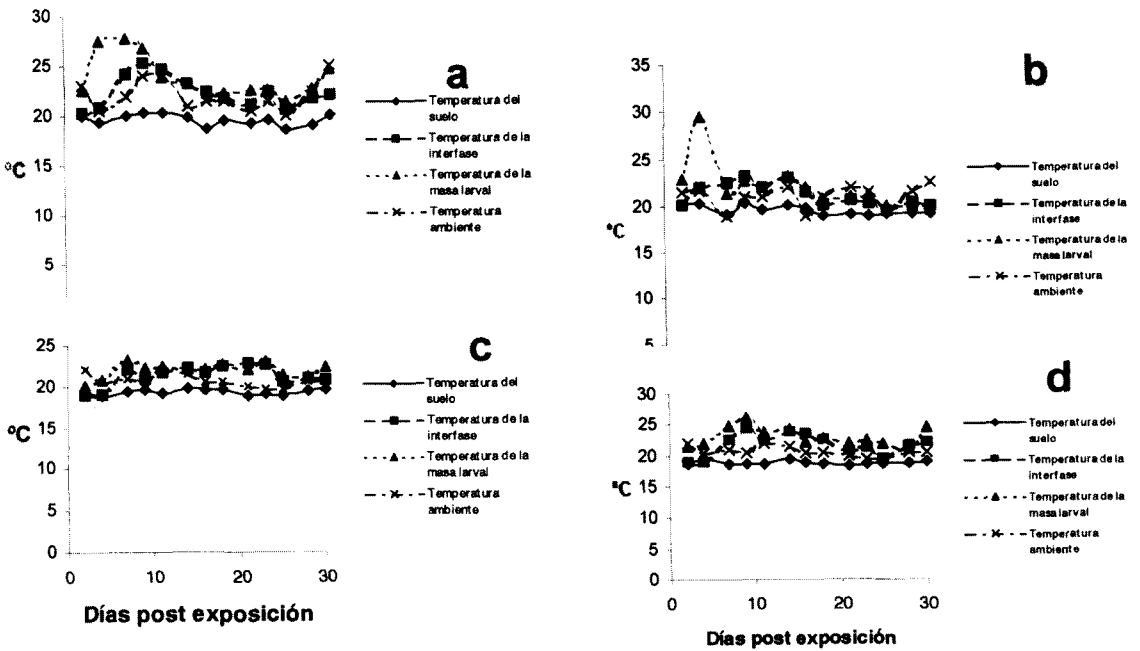


Figura 5

Promedios de temperatura observados en los cuatro ciclos de muestreo, a: primer ciclo (abril/2002), b: segundo ciclo (julio/2002), c: tercer ciclo (octubre/2002), d: cuarto ciclo (enero/2003).

esto podría no ser válido cuando la aplicación de las observaciones entomológicas se refieren a cadáveres de infantes.

El efecto de la luminosidad y la sombra ha sido mencionado como una de las variables que puede modular la oviposición de estos dípteros^(2,4). En el presente estudio, a pesar que se procuró que el sitio de estudio tuviese un aspecto boscoso y sombreado homogéneamente, no se encontró exento de presentar variaciones en los aspectos señalados anteriormente, por lo cual estas diferencias en la luz y la sombra podrían ser un factor adicional en la heterogeneidad de los resultados obtenidos.

En conclusión, se puede decir que los análisis larvales en el contexto de la sucesión entomológica en un cadáver orienta en cuanto a la estimación del IPM, pero no garantiza la suficiente precisión para ser fiable. La comparación de las especies identificadas y

su estado de desarrollo con tablas de vida tampoco son fidedignos ya que estas últimas son elaboradas con observaciones hechas en el laboratorio en condiciones controladas⁽⁴⁾. Por otro lado es importante poder sustentar los análisis de diversidad con otras pruebas de carácter cuantitativo que se aplican a muestras larvales como las determinaciones de “accumulated degree-hours” (ADH)^(3,5) y la longitud larval⁽⁵⁾. Con estas se pueden reunir más elementos de interpretación, que junto con otros análisis forenses, permitan generar una visión más precisa de la historia de exposición de un cadáver.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Iván Coronado, Ronald Mora y Adrián Bonilla por su labor operativa en el trabajo de campo; a Francisco Di Stefano, Escuela de Biología en la Universidad de Costa Rica (UCR), por su anuencia en la

utilización de la Reserva "Leonel Oviedo" y a la Vicerrectoría de Investigación (UCR) por su apoyo financiero al proyecto 803-A2-041.

LITERATURA CITADA

1. Anderson GS, VanLaerhoven SL. *Initial studies on Insect Succession on Carrion in Sothwestern British Columbia*. J Forensic Sci 1996; 41: 617-625.
2. Catts, EP. *Problems in estimating the post-mortem interval in death investigations*. J Agric Entomol 1992; 4: 245-255.
3. Greenberg B. *Flies as forensic indicators*. J Med Entomol 1991; 28: 565-577.
4. Catts EP. *Forensic entomology in criminal investigations*. Ann. Rev. Entomol 1992; 37: 253-272.
5. Hall M, Donovan S. *Forensic entomology: what can maggots tell us about murders?* Biologist 2001; 48: 249-253.
6. Jirón LF. *Sobre moscas califóridas de Costa Rica*. Brenesia 1979; 16: 221-223.
7. Vargas-Fonseca J. *Distribución y morfología de adultos e inmaduros de moscas califóridas (Diptera) de importancia forense en Costa Rica*. Tesis. Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica. 1999; p. 55-104.
8. James MT. (1948) *The flies that cause myiasis in man*, USDA, Pub 631: Washington D. C.
9. Daniel W. (1988) *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*, Editorial Limusa: México.