

Determinación del intervalo *post mortem* mínimo (IPM) basado en un modelo de acumulación térmica con una cepa de *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) de Costa Rica

Julio Iván Elizondo-Delgado¹, Adriana Troyo², Ólger Calderón-Arguedas².

¹ Laboratorio Clínico Hospital Dr. Tony Facio Castro, Caja Costarricense del Seguro Social (LCHTFC-CCSS), Limón, Costa Rica; ² Laboratorio de Investigación en Vectores (LIVE), Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

ABSTRACT

Lucilia eximia (Diptera: Calliphoridae) as forensic indicator for the calculation of the post mortem interval in Costa Rica.

Introduction. *L. eximia* is a species that shows a wide geographical distribution in Costa Rica, whose populations are stable throughout the year. The biological characteristics of *L. eximia* allow it to be considered as a potential forensic indicator for the calculation of the minimum *post mortem* interval (PMI).

Objective. To compare the PMI calculated by a thermal accumulation model with *L. eximia* (Diptera: Calliphoridae), with the PMI in corpses of pigs (*Sus scrofa*).

Methods. Two pig corpses were exposed in a tropical premontane moist forest. Larvae of *L. eximia* were collected from the pig carcasses at 78, 144 and 192 hours after the moment of death, and their development was promoted under controlled conditions. With the data generated, thermal back-projections were made to calculate the PMI.

Results. *L. eximia* required a total of 7 236.50 accumulated degree hours (ADH) to complete its life cycle. The IPMs calculated by the thermal accumulation model were 112.56, 153.60, and 104.64 hours, respectively. Only the intermediate value did not present statistically significant differences with the known time of death ($p>0.05$).

Conclusions. The thermal accumulation model using *L. eximia* as a forensic indicator provided accurate information about the PMI only when samples were collected at 144 hours, which indicates that this method may be accurate and useful during the first stages of cadaveric decomposition.

RESUMEN

Introducción. *L. eximia* es una especie de amplia distribución geográfica en Costa Rica, cuyas poblaciones son estables durante todo el año. Las características biológicas de ésta permiten concebirla como un potencial

Historial del artículo

Recibido: 14 may 2018

Aceptado: 15 ene 2019

Disponible online: 1 may 2019

Palabras clave

Entomología forense, *Lucilia eximia*, intervalo *post mortem* mínimo, grados-hora acumulados, Costa Rica.

Keywords

Forensic entomology, *Lucilia eximia*, minimal *post mortem* interval, accumulated degree hours, Costa Rica.

Copyright © 2019 por autores y Revista Biomédica.

Este trabajo está licenciado bajo las atribuciones de la Creative Commons (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*Autor para correspondencia:

Julio Iván Elizondo Delgado, Laboratorio Clínico, Hospital Dr. Tony Facio Castro, Caja Costarricense del Seguro Social (LCHTFC-CCSS), Limón, Costa Rica; correo electrónico: ivan.elizondo02@gmail.com <http://revistabiomedica.mx>.

indicador forense para el cálculo del intervalo *post mortem* mínimo (IPM).

Objetivo. Comparar el IPM calculado mediante un modelo de acumulación térmica con *L. eximia* (Diptera: Calliphoridae), con el IPM real en cadáveres de cerdos domésticos (*Sus scrofa*).

Material y Métodos. Dos cadáveres de cerdo fueron expuestos en un bosque premontano húmedo tropical. A partir de dichos cadáveres se colectaron larvas de *L. eximia* a las 78, 144 y 192 horas posteriores al momento de muerte y se propició su desarrollo en condiciones controladas. Con los datos generados, se realizaron retroproyecciones térmicas para efectuar el cálculo del IPM.

Resultados. *L. eximia* requirió en total 7 236,50 grados-hora acumulados (ADH) para culminar su desarrollo. Los IPM calculados mediante el modelo de acumulación térmica para los tres momentos de colecta fueron 112,56; 153,60 y 104,64 horas. Únicamente el valor intermedio no presentó diferencias estadísticamente significativas con el tiempo de muerte conocido ($p > 0.05$).

Conclusiones. El modelo de acumulación térmica en que se utilizó *L. eximia* brindó información precisa sobre el IPM sólo cuando se tomaron las muestras en el campo a las 144 horas, lo que perfila su utilidad para las primeras etapas de la descomposición cadavérica.

INTRODUCCIÓN

Lucilia eximia (Diptera: Calliphoridae) es una especie común en los trópicos de América, y en Costa Rica es considerada un muscomorfo de amplia distribución a lo largo del territorio nacional (1). Un estudio sobre sucesión entomológica en el que se utilizaron cadáveres de conejos mostró que las poblaciones de *L. eximia* se mantuvieron estables durante todo el año en la zona del estudio. Dicho estudio fue efectuado en un bosque premontano húmedo tropical en el centro del país (2). En relación con lo anterior, es plausible considerar a *L. eximia* como una especie de utilidad para análisis entomológicos forenses en Costa Rica (2).

Uno de los mayores aportes de la entomología forense a las investigaciones periciales, es el cálculo del intervalo *post mortem* mínimo (IPM), el cual consiste en el período circunscrito por el momento de muerte y el hallazgo del cadáver respectivo (3,4). El cálculo del IPM basado en el conocimiento biológico de especies de insectos afines a cuerpos en

descomposición resulta útil cuando las estimaciones basadas en criterios patológicos son infructuosas (5). Esto ocurre especialmente cuando los cadáveres se encuentran en estado avanzado de descomposición, situación que dificulta al patólogo forense estimar las causas y el tiempo de muerte (5).

En el contexto de la investigación forense, los análisis entomológicos son considerados las opciones que brindan la mejor precisión en la estimación del tiempo de muerte después de 72 horas del deceso (4,6-10). De los distintos modelos a los que se puede recurrir para obtener esta información, el método basado en la acumulación térmica, mediante el cálculo de grados-hora acumulados (ADH, por sus siglas en inglés de *accumulated degree hours*), es uno de los más utilizados. Este representa una estimación de la inversión energética requerida en el ciclo de desarrollo por parte del insecto (7,9,11). Para aplicar este método, es necesario disponer de datos inherentes a la especie o especies halladas en el cadáver que constituyen indicadores forenses. Dentro de estos figuran la temperatura óptima para el desarrollo de los estadios, la duración de estos a dicha temperatura, la temperatura base, así como los datos de temperatura de la estación meteorológica más cercana a la ubicación del cadáver (9).

También, se han descrito modelos matemáticos que, en comparación con el modelo convencional de acumulación térmica, figuran como herramientas opcionales en el cálculo del IPM. Dentro de estos, cabe destacar el modelo propuesto por Reibe y colaboradores, que fue diseñado para incluir incertidumbres relativas a las temperaturas de la escena del crimen (12). También debe mencionarse el modelo matemático predictivo de Chua, basado en temperaturas tomadas cada media hora para calcular posteriormente un IPM basado en ellas (13).

En América Latina, este tipo de estudios se encuentra en fase incipiente y la mayoría de los trabajos provienen de países como Argentina, Colombia y Brasil (14). En Costa Rica, no se ha reportado información local actualizada sobre el ciclo de desarrollo de *L. eximia* desde 1999 (1), y la más reciente sobre su posible uso en los análisis de entomología forense se enmarca en un estudio

de sucesión entomológica de 2005 (2). Tampoco existen publicaciones con información local sobre el ciclo de desarrollo de *L. eximia* en términos de grados-hora acumulados y grados-día acumulados (ADH y ADD) que permitan su aplicación en el cálculo del IPM (2). El propósito del presente estudio fue comparar el IPM calculado mediante un modelo de acumulación térmica con *L. eximia* (Diptera: Calliphoridae), con el IPM real en cadáveres de cerdos domésticos (*Sus scrofa*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudios de laboratorio para el cálculo de la inversión térmica. El presente estudio fue aprobado por el Comité Institucional del Cuido y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Costa Rica. Para generar la información base sobre la inversión térmica relativa a los cambios de fase, se trabajó de forma simultánea a partir de cinco oviposturas, cuyo promedio de huevos fue de 334 ± 114 (15). Los huevos correspondientes a cada ovipostura fueron obtenidos a partir de una colonia de *L. eximia* previamente establecida y mantenida en el laboratorio según procedimientos descritos por Belfort y fueron colocados sobre hígado de res para propiciar su eclosión (16). Los estadios inmaduros, obtenidos a partir de estos huevos, fueron criados hasta el estadio adulto. Se utilizó hígado de res como sustrato alimenticio. Las condiciones de crianza fueron preestablecidas en una cámara aclimatadora Darwin Chambers Company© modelo INO 34 e incluyeron una temperatura controlada de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa del 100% y fotoperiodo de 12 horas. Posteriormente, se registró el tiempo que tardó la mitad de los huevos, correspondiente a cada ovipostura, en eclosionar y la misma proporción de larvas en experimentar cada cambio de fase hasta el estadio adulto. Las observaciones se efectuaron entre las 6 y las 19 horas, en intervalos de 1 a 2 horas para los primeros tres estadios, a saber, huevo (H), larva de primer estadio (L1) y larva de segundo estadio (L2) y de 2 a 5 horas los estadios restantes: larva de tercer estadio (L3) y pupa (P). Para precisar los cambios morfológicos inherentes a cada estadio, se observaron las hendiduras respiratorias de los espiráculos

posteriores de las larvas y la formación del pupario en el caso de la pupa. El ciclo fue repetido hasta obtener los datos para cada cambio de fase, al menos por sextuplicado. Con esta información, se calculó la inversión de ADH requeridas para el correspondiente cambio de fase, según el procedimiento descrito por Gennard (9). Para el cálculo se utilizó una temperatura base de 8°C , determinada de forma previa, tras realizar ensayos de desarrollo a 4°C , 6°C y 8°C .

Cadáveres. Dos cadáveres de cerdo (*Sus scrofa*) de 9,8 y 5,9 kg, sacrificados mediante protocolos de inyección endovenosa con cloruro de potasio (2 mmol/Kg de peso) (17), fueron expuestos en un ambiente de bosque premontano húmedo tropical, representado por la Reserva Biológica Leonel Oviedo, en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Universidad de Costa Rica, San José Costa Rica ($9^{\circ}56'09''\text{N}$ y $84^{\circ}03'02''\text{O}$). El ambiente de dicha reserva corresponde a un bosque premontano húmedo tropical, cuya precipitación, humedad y temperatura promedio en la estación lluviosa (mayo-noviembre) son 245,5 mm, 85,1% y $20,2^{\circ}\text{C}$ respectivamente (18). El deceso de los animales ocurrió a las 9 horas y los cadáveres fueron protegidos de carroñeros mediante la colocación de una jaula de cedazo, cuyas dimensiones fueron de $80 \times 30 \times 25 \text{ cm}$ (Figura 1).



Figura 1. Cadáver de cerdo expuesto en bosque premontano húmedo tropical. San José, Costa Rica.

Procesamiento del material entomológico.

Considerando los procesos de toma de muestras en análisis forenses reales, a partir de cada cadáver, se realizaron colectas de masas larvales presentes en orificios naturales y otras localizaciones a las 78, 144 y 192 horas después de la muerte. Los especímenes larvales emergentes que correspondieron a *L. eximia* (19), fueron criados en el laboratorio, en hígado de res, bajo las mismas condiciones previamente descritas. Para cada larva se registró el tiempo requerido para que tuviese lugar el cambio de fase próximo. Las observaciones en el caso de las larvas se realizaron dos veces por día, aproximadamente cada 10 horas. Para las pupas, las observaciones se realizaron cada 24 horas. La identidad de especie del imago resultante se corroboró según claves dicotómicas especializadas (1,20). Los datos relativos a imagos cuya morfología fue diferente a la de *L. eximia* fueron descartados del estudio. Posteriormente, se calculó para las muestras de *L. eximia*, el número de ADH correspondiente para el cambio de fase. Se registró, además, la identificación a nivel de especie, de los califóridos que no correspondieron a *L. eximia*.

De forma paralela a la exposición de los cadáveres, se registró la temperatura ambiente durante cada hora por cinco días. Para esto, se colocó una miniestación meteorológica básica Davis Instruments Vantage Pro 6150C en el sitio de estudio. Los datos se exportaron a una hoja electrónica para su trabajo en Microsoft Excel. También, durante la ejecución del estudio se obtuvo la información generada por la estación meteorológica más cercana, ubicada a 1,3 km de la reserva, que pertenece al Centro de Investigaciones Geofísicas (CIGEFI) de la Universidad de Costa Rica.

Análisis de los datos. A partir de los datos de temperatura obtenidos se generó la ecuación de regresión lineal: $y = 0,7758x + 4,2426$; donde (x) fue la temperatura proporcionada por el CIGEFI y (y) la temperatura en la ubicación de los cadáveres. Se realizó un análisis retrospectivo según el procedimiento descrito por Gennard (9) y se estimó el IPM para cada grupo larval. El modelo de retroproyección consistió en calcular las ADH que debieron ser invertidas desde la ovipostura hasta el momento de la colecta de las muestras. Esto se

hizo de acuerdo con la información conocida de la inversión de ADH de las etapas del ciclo de vida de *L. eximia* y la información obtenida en el tercer apartado. Posteriormente se efectuó un análisis retrospectivo, en el que se descontaron los ADH considerando la temperatura de cada hora, hasta estimar el IPM que debió haber coincidido con el momento de la oviposición. Se hizo un análisis de distribución de las variables y se constató que se cumplía con las características de una distribución normal. El análisis comparativo de los IPM calculados con sus respectivos tiempos conocidos de muerte, se hizo mediante pruebas de t-Student con una confiabilidad del 95%, $\alpha: 0,05$. Se empleó el paquete estadístico SPSS versión 11.5.0 (21).

RESULTADOS

Bajo las condiciones experimentales del presente estudio, *L. eximia* requirió un promedio de 7.236,50 ADH para culminar su ciclo vital (cuadro 1). El consumo energético de los estadios de huevo ($225,50 \pm 4,10$ ADH), L1 ($235,75 \pm 37,10$ ADH) y L2 ($235,75 \pm 30,14$ ADH) fue similar entre ellos, e individualmente fueron menos de la décima parte del requerimiento energético de L3 ($3157,00 \pm 715,65$ ADH) y pupa ($3382,50 \pm 371,25$ ADH); este último estadio conllevó el mayor consumo energético (cuadro 1).

Cuadro 1. Inversión energética en unidades de acumulación térmica (horas grado acumulado, ADH), y duración en horas para los estadios del ciclo de vida de *L. eximia* (Diptera: Calliphoridae) a 28,5°C y 100% humedad relativa, temperatura base 8°C.

Estadio	n	ADH	Duración (horas)
Huevo	6 ^a	225,50±4,10	11,00±0,20
Larva 1	19	235,75±37,10	11,50±1,81
Larva 2	9	235,75±30,14	11,50±1,47
Larva 3	19	3157,00±715,65	154,00±34,91
Pupa	18	3382,50±371,25	165,00±18,11
Total	71	7236,50	353,00

^aMasas de huevos

En ambos cadáveres se colectaron masas larvales de *L. eximia*. En algunas de éstas se documentó la presencia de larvas de la subfamilia Mesembrinellinae coexistiendo junto con *L. eximia*. Otras especies de califóridos observadas sobre los cadáveres se presentan en el cuadro 2. Los especímenes de *L. eximia* colectados a las 78 horas *post mortem* fueron del estadio L2, mientras que a

las 144 y 192 horas *post mortem* fueron L3 (cuadro 3). Los IPM calculados mediante el sistema de análisis fueron 112,56; 153,60 y 104,64 horas *post mortem* respectivamente (cuadro 3). Únicamente el IPM calculado para las 144 horas *post mortem* no presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto al tiempo conocido de muerte ($t=0,675$; g.l= 4; $p=0,537$) (cuadro 3).

Cuadro 2. Otras especies de califóridos colectados en masas larvales en el contexto del muestreo de *L. eximia* en dos cadáveres de cerdo.

Cerdo 1		Cerdo 2	
Días desde el deceso	Tribu/Género/Especie	Días desde el deceso	Tribu/Género/Especie
0-3	<i>Hemilucilia segmentaria</i> Lucilini	0-2	-
4-6	<i>Hemilucilia semidiaphana</i> <i>Hemilucilia segmentaria</i> <i>Chrysomya megacephala</i> Lucilini	3-7	<i>Lucilia purpurescens</i> <i>Hemilucilia semidiaphana</i> <i>Hemilucilia segmentaria</i> <i>Chrysomya megacephala</i>
7-17	<i>Lucilia cuprina</i> <i>Lucilia purpurescens</i> <i>Hemilucilia semidiaphana</i> <i>Hemilucilia segmentaria</i> <i>Chrysomya rufifacies</i> <i>Chrysomya megacephala</i>	8-26*	<i>Lucilia purpurescens</i> <i>Hemilucilia semidiaphana</i> <i>Hemilucilia segmentaria</i> <i>Chrysomya megacephala</i> <i>Chrysomya rufifacies</i>

*Se considera número total de días en que se colectaron califóridos

Cuadro 3. Datos correspondientes al análisis de la precisión del cálculo del IPM basado en unidades térmicas (horas grado acumulado, ADH) utilizando *L. eximia* como indicador forense.

Horas <i>Post-mortem</i>	n	Estadio colectado	ADH requerido para cambio de estadio	Diferencia con el acumulado de ADH	IPM calculado (horas)
78	3	Larva 2	1332±0,00	-635,5	112,56 ($t=24,94$ g.l.=2; $p=0,002$)
144	5	Larva 3	2053,07±369,35	1800,92	153,60 ($t=0,675$ g.l.=4; $p=0,537$)
192	17	Larva 3	2604,10±297,66	1249,90	104,64 ($t=14,220$ g.l.=16; $p=0,000$)

DISCUSIÓN

En Costa Rica la riqueza de especies de califóridos es manifiesta (2), por lo que el hallazgo de diferentes especies de esta familia en el presente estudio era esperable (Cuadro 2). No obstante, la abundancia y distribución territorial de *L. eximia*, permiten visualizar a esta especie como indicador para diferentes tipos de análisis entomológico-forenses. En el cálculo del IPM utilizando a *L. eximia*, se pudo observar que hubo diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo conocido de muerte y el IPM calculado cuando se tomaron muestras a las 78 y 192 horas *post mortem* ($p=0,002$ y $p=0,000$ respectivamente). No obstante, cuando las muestras fueron colectadas a las 144 horas, el IPM no tuvo diferencias significativas con el tiempo de muerte real. La inexactitud observada en dicho cálculo en muestras colectadas a las 78 y 192 horas *post mortem* pudo tener varios orígenes. Para algunos autores, la medición de la temperatura representa el principal factor limitante en la estimación del IPM bajo la metodología ejecutada, ya que los valores corregidos de las mismas aún contienen incertidumbres que no pueden ser explicadas por los modelos que actualmente se utilizan para la determinación del IPM (12,22). Además, las fuentes de error pueden provenir de la variabilidad inherente de los individuos de la muestra larval, de los instrumentos utilizados para la medición y del tamaño de la muestra (11).

Con respecto a la temperatura de la masa larval, se sabe que ésta añade una subestimación importante al cálculo del IPM (3); sin embargo, no se han definido criterios estandarizados sobre cómo abordar esta variable en los modelos de cálculo, por lo que se recomienda registrar las temperaturas larvales incluso en ambientes controlados y de esta forma mejorar la precisión de la medición del modelo de acumulación térmica (3,11,23). Es posible que la principal razón de la disparidad mostrada por el cálculo del IPM correspondiente a las 192 horas *post mortem*, fuera la presencia de progenies escalonadas de estadios inmaduros en los cadáveres (3). Esta idea se refuerza al considerar los datos del desarrollo de *L. eximia* (cuadro 1) y las

temperaturas registradas, de modo que se colectaron especímenes del tercer estadio, pero de distintas progenies. De ser cierta, esta posibilidad implica un mayor requerimiento energético en la incubación por parte de las progenies más nuevas y con ello una imprecisión con tendencia a la disminución en el IPM calculado. Adicionalmente, es posible que a falta de un sustrato adecuado de oviposición, las hembras silvestres retengan los huevos y estos experimenten su desarrollo embrionario en cierto grado (24). Este fenómeno se ha observado en algunos califóridos como *Lucilia sericata*, pudiendo darse un período de retención tan prolongado como el total de la duración del desarrollo embrionario, lo que implicaría una subestimación en el IPM calculado (11).

El cálculo del IPM correspondiente a las 144 horas *post mortem* fue el menos afectado. La ubicación temporal de la colecta de estas larvas aminoró el error inducido por la variabilidad asociada con los tiempos de ovipostura. Aunque las larvas provinieran de distintas progenies, la diferencia entre sus tiempos de ovipostura pudo ser mínima. De esta forma no se afectó significativamente el cálculo del IPM. Con respecto a la confiabilidad del cálculo del IPM mediante el modelo de acumulación térmica, Reibe y colaboradores plantean que para ninguno de los modelos utilizados en el cálculo del IPM existe información sobre la calidad del método o los intervalos de error del IPM calculado (12). Estos autores proponen un método basado en el desarrollo real no lineal de *L. sericata*, diseñado para incluir incertidumbres, tales como las temperaturas de la escena del crimen. En un ejercicio en el que compararon su modelo con el de acumulación térmica obtuvieron resultados muy similares; sin embargo, concluyen que el IPM basado en promedios de temperaturas puede llevar a desviaciones severas respecto al tiempo de muerte real. Recientemente, Chua realizó un análisis similar con seis casos en Malasia, en donde comparó el IPM obtenido utilizando un modelo matemático predictivo de temperaturas de cada media hora, contra el IPM obtenido por retroproyección térmica utilizando temperaturas del aire (13). Este autor encontró

sólo diferencias mínimas y expone que el cálculo del IPM por este método es aceptable, aunque se utilice un promedio diario de temperaturas para realizar el cálculo de los ADD (13). Ambos estudios parecen ser congruentes en cuanto al análisis de los factores que influyen en la precisión del cálculo del IPM, especialmente la temperatura; no obstante, los resultados de Chua apuntan hacia una mayor confiabilidad en el cálculo del IPM por acumulación térmica, minimizando la severidad con que Reibe y colaboradores cuestionan las limitaciones de dicho método (12,13). Es importante destacar que esta metodología ha sido empleada en el peritaje de casos forenses en diferentes lugares y cada vez es más aceptada en el ámbito judicial (25-27).

Por último, el departamento de policía de Rio de Janeiro, durante el desarrollo de algunas investigaciones de homicidios donde se utilizó un modelo de retroproyección térmica para estimar el IPM, consideró el periodo entre la muerte y la colonización del cadáver por dípteros igual a 12 horas (26). Partiendo de esta premisa, la diferencia entre el IPM calculado para las 78 horas *post mortem* en el presente estudio y el valor verdadero sería menor a un día (22,56 horas) (cuadro 3). Por lo tanto, la evidencia indica que el modelo de acumulación térmica planteado y el indicador forense utilizado, son confiables para estimar el IPM durante las primeras etapas de descomposición cadavérica. En estas fases, la escasa presencia de progenies escalonadas no alteraría de forma significativa el resultado del cálculo. Además, del análisis multifactorial enfocado en las fuentes de error que se han descrito para este tipo de estudios, se desprende la conclusión de que el análisis entomológico-forense debe realizarse de una manera muy cuidadosa y detallista, con base en el conocimiento acumulado sobre dicha disciplina, con el fin de validar su utilidad pericial en cada caso. Con el fin de optimizar la calidad de los análisis es conveniente prever las mejores condiciones de trabajo, tanto de equipamiento del laboratorio como en la capacitación de especialistas y metodologías utilizadas (27); y de esta forma procurar la disminución de errores en el cálculo del IPM.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean externar su agradecimiento al Lic. John Vargas Fonseca por su labor de revisión del documento; a la Granja Ochomogo de Turrúcares, Alajuela, por la donación de los cerdos utilizados; al Dr. José Francisco Di Stefáno, coordinador de la Reserva Leonel Oviedo, por sus sugerencias respecto al estudio; a José Luis Vargas del Centro de Investigaciones Geofísicas (CIGEFI) por su capacitación en la utilización de la mini estación meteorológica; a Katherine Salazar Zeledón e Iván Coronado del Laboratorio de Investigación en Vectores (LIVE) por su apoyo en el procesamiento de muestras y a la Vicerrectoría de Acción Social, Universidad de Costa Rica, por apoyo al proyecto ED-548.

REFERENCIAS

1. Vargas-Fonseca J. Distribución y morfología de adultos e inmaduros de moscas califóridas (Diptera) de importancia forense en Costa Rica. Tesis para obtener al título de Licenciado en Biología con énfasis en Zoología. Facultad de Ciencias Básicas. Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. II Semestre 1999.
2. Calderón-Arguedas O, Troyo A, Solano M. Sucesión de larvas de muscoides durante la degradación cadavérica en un bosque premontano húmedo tropical. *Rev Biomed*. 2005 Abr; 16(2): 79-85.
3. Catts E. Problems in estimating the *post mortem* interval in death investigations. *J Agric Entomol*. 1992 Oct; 9(4): 245-55.
4. Amendt J, Richards C, Campobasso C, Zehner R, Hall R. Forensic entomology: applications and limitations. *Forensic Sci Med Pathol*. 2011 Dec; 7(4): 379-92. DOI 10.1007/s12024-010-9209-2
5. González-Herrera L, González-Medina A, Jiménez G, Valenzuela-Garach A. Estudio necrópsico de la muerte súbita cardíaca de origen isquémico, en un cuerpo en avanzado estado de descomposición. *Gac Int Cienc Forense*. 2012 Abr; 3: 3-30. <http://hdl.handle.net/10550/37790>
6. Anderson G, Van Laerhoven S. Initial studies on insect succession on carrion in southwestern British Columbia. *J of Forensic Sci*. 1996 Jul; 41(4): 617-25.
7. Wells J, Lamotte L. Estimating the postmortem interval. In: Byrd J, Castner J, Editores. *Forensic entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. Florida: CRC Press; 2001. P. 263-86.

8. Gomes L, Zuben C. Forensic entomology and main challenges in Brazil. *Neotrop Entomol.* 2006 Jan; 35(1): 1-11.
9. Gennard D. *Forensic Entomology: An Introduction*, 1ª ed. West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd; 2007.
10. Martínez E, Duque P, Wolff M. Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. *Forensic Sci Int.* 2007 Mar; 166(2-3): 182-9. DOI: 10.1016/j.forsciint.2006.05.027
11. Villet M, Richards C, Midgley J. Contemporary precision, bias and accuracy of minimum *post mortem* intervals estimated using development of Carrion-Feeding insects. In: Amendt J, Goff L, Campobasso C, Grassberger M, Editores. *Current Concepts in Forensic Entomology*. USA: Springer science business media B.V; 2010. P. 109-37.
12. Reibe S, Doetinchem P, Madea B. A new simulation-based model for calculating post mortem intervals using developmental data for *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Parasitol Res.* 2010 Jun; 107(1): 9-16. DOI 10.1007/s00436-010-1879-x
13. Chua K. Use of temperature model in estimating post mortem interval in forensic entomology. *J Entomol Res.* 2013 Dec; 1(1): 11-5. <http://escijournals.net/index.php/IJER/article/view/191/205>
14. Magaña C, Andara C, Contreras M, Coronado A, Guerrero E, Hernández D, et al. Estudio preliminar de la fauna de insectos asociada a cadáveres en Maracay, Venezuela. *Entomotropica.* 2006 Abr; 20(1): 53-9.
15. Retana-Moreira L, Belfort-Arguedas K, Calderón-Arguedas O, Troyo-Rodríguez A y Gamboa-Coronado M. Desarrollo y evaluación de un método de obtención de larvas estériles de *Lucilia eximia* para su uso en terapia larval. *Rev Cub Invest Biom.* 2014 Ene; 33(1): 44-51.
16. Belfort K. Aplicación de formas larvales de *Lucilia eximia* (Diptera:Calliphoridae) en el tratamiento de úlceras dérmicas en un modelo animal. Trabajo final de graduación para obtener al título de Licenciado en Microbiología. Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. Sede Rodrigo Facio. II Semestre 2012.
17. Zimmers T, Sheldon J, Lubarsky D, López-Muñoz F, Waterman L, Weisman R, et al. Lethal injection for execution: Chemical Asphyxiation?. *PLoS Med.* 2007 Apr; 4(4), e 156. DOI: 10.1371/journal.mpd.0040156
18. Di Stéfano J, Nielsen-Muñoz V, Hommans J, Fournier L. Regeneración de la vegetación arbórea en una pequeña reserva forestal urbana del nivel premontano húmedo, Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 1996 Ago; 44(2): 575-80.
19. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/21647/21887>
20. Florez E, Wolff M. Descripción y clave de los estadios inmaduros de las principales especies de Calliphoridae (Diptera) de importancia forense en Colombia. *Neotrop Entomol.* 2009 Mar; 38(3): 418-29. <http://dx.DOI.org/10.590/S1519-566X2009000300019>
21. Carvalho C, Mello-Patiu C. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Rev Bras Entomol.* 2008 Sep; 52(3): 390-406. <http://dx.DOI.org/10.1590/S0085-56262008000300012>
22. Daniel W. *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4ª ed. México: Editorial Limusa Wiley; 2005.
23. Murray M. Using degree days to time treatments for insects pests. *Utah Pests Fact Sheet.* 2008 Apr; IPM-05-08: 1-5.
24. Charabidze D, Benoit B, Gosset D. Larval-mass effect: Characterization of heat emission by necrophagous blowflies (Diptera: Calliphoridae) larval aggregates. *Forensic Sci Int.* 2011 Sep; 211(1-3): 61-6. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.04.016
25. Smith K. *A Manual of Forensic Entomology*. Ithaca, New York: British Museum of Natural History and Cornell University Press; 1986.
26. Dirección General de Policía, Ministerio del Interior del Gobierno de España. Policía Nacional. Trabajo realizado por los expertos en Entomología Forense de la Sección de Antropología Forense de la Comisaría General de Policía Científica, Descripción de un caso. [En línea] 2002. [Consultado 16-07-2013]. Disponible en: http://www.policia.es/org_central/cientifica/actuaciones/actuaciones_entomologia.html.
27. Oliveira-Costa J, Mello-Patiu C. Application of Forensic Entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in homicide investigations by the Rio de Janeiro Police Department in Brazil. *Internet. J. Forensic Med. Toxicol.* 2004 Jan; 5(1): 40-4.
28. Gómez-Gómez A, Martín-Vega D, Botías-Talamantes C, Baz-Ramos A, Díaz-Aranda L. La entomología forense en España: pasado, presente y perspectivas del futuro. *Cuad Med Forense.* 2007 Ene; 13(47): 21-31.