

# DETERMINACIÓN DE ALCOHOL *POST MORTEM*: ASPECTOS A CONSIDERAR PARA UNA MEJOR INTERPRETACIÓN

*Dra. Ana Teresa Alvarado Guevara  
Dr. Ismael Raudales García  
Dr. Jean Paul Vega Ramírez \**

## **Resumen:**

El aumento de los accidentes (especialmente los automovilísticos) ligados al consumo de sustancias alcohólicas hace necesario el establecimiento de normas estandarizadas para la medición adecuada de los niveles alcohol en aquellos casos en que se sospecha el uso-abuso de dicha sustancia como mediador en el desenlace del accidente, esto por cuanto es de suma importancia a la hora de establecer las responsabilidades correspondientes por parte de la Autoridad Judicial. El avance en las diferentes técnicas de laboratorio hacen de la medición de alcohol un procedimiento sencillo, pero su confiabilidad queda supeditada al correcto manejo de las muestras: su toma, embalaje, transporte, conservación y procesamiento y el análisis de las variables del lugar y estado del cadáver del que fueron extraídas las mismas. La correlación de los diferentes resultados obtenidos y su correcta interpretación son necesarios para obtención de las mediciones mas cercanas a la realidad en el momento de ocurrido el suceso que se investiga.

## **Palabras clave:**

Accidentes de tránsito, medición de niveles de alcohol, alcoholemia, manejo de muestras, toxicología forense, patología forense.

## **Abstract:**

The increasing rate of accidents (especially car accidents) associated to alcohol substances abuse makes necessary to establish standard procedures for adequate measuring of alcohol levels in those cases suspicious of use-abuse of such substance as a troubleshooter in the accident; because of the great importance in the establishment of correspondent responsibilities by the Law Authorities. The improvement of the different laboratory techniques makes the alcohol measurement a simple procedure, but reliability is supported for the correct management of the samples: it's taking, packing, transporting, conservation and processing, also the analysis of the environment condition and corpse state where have been obtained. The correlation between the different results obtained and their correct interpretation are necessary for the most accurate measuring closer to the moment when the investigated incident took place.

## **Key words:**

Traffic accidents, measurement of alcohol levels in blood, samples management, forensic toxicology, forensic pathology.

\* Médicos residentes del Departamento de Medicina Legal, Poder Judicial, Costa Rica. [aalvarado@poder-judicial.go.cr](mailto:aalvarado@poder-judicial.go.cr)

Recibido para publicación 19 de junio de 2008. Aceptado: 17 de julio de 2008.

## **INTRODUCCIÓN**

El consumo de bebidas alcohólicas o más específicamente el abuso de las mismas, se ha tornado en un problema de crecientes proporciones en nuestro país tomando en cuenta las estadísticas de la Cruz Roja, la Fuerza Pública, el Poder Judicial y el Instituto Nacional de Seguros de hechos como accidentes de tránsito, muertes violentas y criminalidad en los que alguno de los actores se encontraba bajo los efectos del alcohol. Esto se ha vuelto de mayor importancia en el ámbito de los accidentes de tránsito, donde se ha observado un aumento increíble de víctimas en carretera las cuales ascienden a dos o más diarias según los últimos informes.<sup>1,2</sup>

De allí la importancia en nuestro medio de realizar el análisis toxicológico de sustancias psicoactivas en estas víctimas, dentro de este esquema el análisis y la interpretación de los niveles de alcohol en sujetos de autopsia se ha vuelto uno, por no decir el más frecuente de los exámenes toxicológicos enviados a los laboratorios de toxicología forense.<sup>2</sup> Por lo tanto es perentorio recalcar que la validez de esta prueba depende del proceso y manejo adecuado que se le dé a los especímenes de autopsia enviados a análisis, desde su obtención (estado del cuerpo, material de transporte, lugar de obtención de la muestra), cadena de custodia, hasta llevar el procesamiento final de la muestra.<sup>2,3</sup> De la validez de la prueba y sus resultados dependerá entre otras cosas, que un reclamo por seguro de accidentes sea válido o no y que las autoridades puedan sentar las responsabilidades del caso si la persona envuelta en un delito se encontraba con niveles por encima de lo estipulado como permitido para conducir, que en nuestra actual ley de tránsito asciende a cincuenta miligramos por cada 100 mililitros de sangre (0.05 %) donde es catalogado como estado de preebriedad (Artículo 107 inciso b de la Ley de Tránsito) y de ebriedad un nivel de cien miligramos por cada cien mililitros de sangre (0.1%).<sup>4</sup>

Aunque gracias a los avances tecnológicos la determinación cualitativa y cuantitativa del etanol en diversos tejidos postmortem se ha vuelto un proceso analítico simple y preciso, las interpretaciones y conclusiones con base en los

resultados obtenidos suelen estar condicionadas a una serie de hallazgos relacionados con los hechos que se investigan. Ejemplo de esto, es la posible formación de alcohol postmortem que puede suceder en determinadas circunstancias debido a la fermentación de la glucosa por acción microbiana en cadáveres que han sufrido descomposición y el fenómeno de difusión del alcohol en los tejidos tanto de manera exógena como endógena lo cual puede variar las diferentes concentraciones de alcohol en los tejidos.<sup>3,5,6</sup>

La presente revisión bibliográfica se ha enfocado en los aspectos de distribución del alcohol, los principales sitios de toma de muestra, sus concentraciones en las diversas fases de absorción y su idoneidad.<sup>3,7</sup> La correlación de estos niveles con el tiempo de muerte, recolección y transporte adecuado de la muestra son otros de los aspectos que desarrollaremos durante nuestra revisión.

### ***Muestreo adecuado para análisis de alcohol***

El énfasis dado a la adecuada forma de recolectar muestras para análisis de laboratorio es escaso, sin embargo esto puede ser solventado si nos volcamos a recabar la información correcta de las fuentes apropiadas a nuestra disposición.

Como se consigna en la mayoría de la literatura, la principal muestra a obtener la constituye la sanguínea, la cual debe ser preferentemente tomada de la vena femoral hecho que se explicará con más detalle al avanzar la lectura. Adicionalmente es preferible tomar muestras de otros sitios que servirán como control, tales como orina y humor vítreo.<sup>3,7,8</sup>

Los tubos utilizados para la recolección de estas muestras deben ser preparados con anterioridad y deben contener fluoruro de sodio o potasio al 1-2% en adecuada cantidad como preservante e inhibidor enzimático de la fermentación a alcohol.<sup>3,6</sup>

Cada uno de los tubos debe ser apropiadamente etiquetado con la siguiente información como mínimo:

- tipo de material,
- sitio anatómico de origen,
- hora y fecha de la recolección,
- identificación del fallecido si fuese posible y,
- número de autopsia médico legal

Debe enviarse con tapas herméticas y refrigeradas a 4° de temperatura y mantener una adecuada cadena de custodia para evitar la invalidación de la prueba en procesos judiciales.<sup>3,4,6,7</sup>

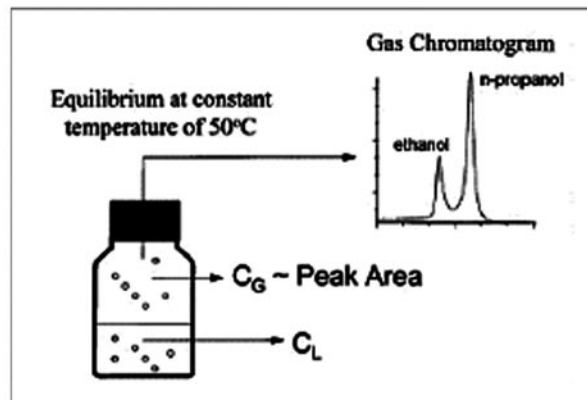
En la siguiente tabla se muestran en orden descendente los ejemplos de muestras a recolectar.

<b>Tabla 1</b>	
Ejemplos de tejidos y fluidos aptos para determinación de alcohol postmortem. <sup>3</sup>	
Sangre Femoral	
Sangre Cardíaca	
Coagulo Sanguíneo	
Orina Vesical	
Humor Vítreo	
Líquido Cefalorraquídeo	
Bilis	
Líquido Sinovial	
Cerebro, músculo esquelético, hígado.	

### **Determinación de niveles de alcohol**

El método analítico mundialmente aceptado y utilizado en nuestro país para la medición cualitativa y cuantitativa de alcohol en fluidos

corporales es la cromatografía de gas con detector de ionización de flama, ya sea utilizando una técnica de inyección directa o por muestreo al vacío (HEADSPACE).<sup>3,4,6.</sup>



**Figura No.1** Esquema del proceso de análisis cromatográfico al vacío.

La significancia de valores bajos de concentración de alcohol en sangre (CAS) (menor de 30 mg/100 ml o 0.3 mg/ml) proveniente de una autopsia es debatible, para confirmarlo se necesitaría del análisis del humor vítreo y de orina confirmatorios. En los estudios de toxicología *post mortem*, se ha determinado que un valor menor a 10 mg/100 ml

(0.1 mg/ml) debe ser reportado como negativo, ya que de todas formas representa el límite más bajo de detección de la mayoría de los sistemas cromatográficos.<sup>3,4,6</sup> Además una tasa de alcohol semejante, se puede encontrar en los abstemios, proveniente de la transformación metabólica de los hidratos de carbono ingeridos.<sup>2,6</sup>

## **Las muestras en sangre**

### **1. Intoxicación alcohólica aguda**

La prueba de CAS resulta básica en cientos de casos en que se sospecha que el fallecido consumió alcohol y se encontraba bajo los efectos de éste al momento de su muerte, por ende, a la hora de la recolección de la muestra se debe mantener exhaustivo cuidado en no omitir ciertas pautas de validez como lo son el anotar la siguiente información: sitio y método de recolección de la muestra, tiempo transcurrido después de la muerte y estado del cuerpo cuando se recolectó la muestra.<sup>3,4,9</sup>

Se han creado diferentes tablas en las cuales se han establecido los valores de CAS y los signos y síntomas que los bebedores ocasionales presentan, las cuales han sido mejoradas a través del tiempo. La clasificación propuesta por Bogen<sup>6</sup> menciona que al obtener una CAS entre 10–30 mg/dl, se pueden observar cambios leves en el comportamiento demostrables solo mediante test específicos de laboratorio. Con una concentración entre 30-60 mg/dl la mayoría de las personas presentan euforia, volviéndose más expresivos y sociables. Con concentraciones entre 60 a 100 mg/dl aumenta en mayor grado la euforia, hay pérdida completa de las inhibiciones y en algunos individuos el juicio y control están seriamente afectados. Cuando la concentración alcanza niveles entre 100-150 mg/dl, los cuales mediante estudios se han establecido como los límites generalmente alcanzados durante el consumo de bebidas sociales, la capacidad psicomotora está severamente deteriorada, así como la capacidad de comunicación. Entre 150-200 mg/dl el individuo presenta sensación de adormecimiento marcada, mientras que la ataxia y la confusión son evidentes. El resto de los valores obtenidos han emergido directamente de hallazgos a nivel de la medicina hospitalaria de emergencia debido al riesgo de toxicidad de exponer a individuos a concentraciones mayores de alcohol. La toxicidad directa del etanol en los centros respiratorios del cerebro ocurre generalmente en la mayoría de los individuos a un nivel de 400 mg/ml o más según la mayoría de los estudios.<sup>9</sup>

En individuos que han tenido manejo intrahospitalario, es necesario poner especial atención al tratamiento recibido, pues ciertos medicamentos pueden aumentar la formación de alcohol postmortem. Ejemplo de esto, lo tenemos en el manitol (diurético osmótico).<sup>3,9</sup> El alcohol de 70% usado como método de desinfección de heridas en pacientes con abrasión en la piel ha sido demostrado como contaminante frecuente de muestras femorales, por lo tanto, está totalmente contraindicado desinfectar los sitios de punción para muestra con éste tipo de solventes pues puede llegar a desacreditar la prueba.<sup>7,9</sup>

Internacionalmente se ha establecido que las muestras de sangre venosa femoral son el espécimen toxicológico recomendado para el análisis, muchos patólogos persisten enviando muestras de otros sitios, como de cámaras cardiacas o aún peor, de cavidades como la pleural o torácica en las cuales la contaminación por difusión de la cámara gástrica hacia los tejidos circundantes o por broncoaspiración como fenómeno agónico se pudo haber llevado a cabo, sin embargo, en casos excepcionales se debe tomar por carencia en otros sitios anatómicos.<sup>3,7,8,9</sup> La muestra femoral ha demostrado ser la menos susceptible a cambios postmortem, debido a su lejanía anatómica del estómago y del sistema venoso pulmonar, de ahí la recomendación de ésta como estándar.<sup>3,9,10,11</sup>

La correcta toma de la muestra debe obtenerse de al menos dos sitios periféricos distintos (ambas venas femorales), por medio de la incisión del vaso de forma proximal al ligamento inguinal, con posterior maniobra de vaciado para recolectar al menos 5 ml de sangre<sup>11</sup>.

La muestra de cámaras cardiacas intactas se considera como de tipo suplementario y puede ser comparativa con la prueba de CAS femoral cuando ésta ha sido insuficiente o del todo no pudo ser recolectada en el caso específico del etanol, ya que al ser ingerido pasa al sistema porta y de ahí al corazón, que además por efecto de la difusión pasiva desde el estómago en el cadáver, puede contener cantidades de sangre con una alta concentración de etanol, lo cual

no refleja la concentración real en los restantes fluidos corporales al momento de la muerte.<sup>3,6,10</sup>

A la hora de determinar una intoxicación aguda en algún individuo también se debe tomar en cuenta la edad del sujeto, historial de consumo de alcohol y grado de desarrollo de tolerancia para el consumo de alcohol, tomando en cuenta que muchos conductores han sido aprehendidos con niveles iguales y hasta mayores de 400 mg/100ml. La velocidad del consumo de la bebida así como el tipo de ésta debe ser tomada en cuenta a la hora del análisis de los resultados.<sup>3,9</sup>

Se debe asumir que la CAS al momento de la muerte probablemente es menor al pico máximo alcanzado por el individuo al momento del consumo del alcohol debido al tiempo transcurrido desde la última ingesta de alcohol y el tiempo de muerte, a lo cual se debe sumar el factor de eliminación de cada individuo: la tasa de eliminación en tomadores moderados se encuentra en un rango entre 10-20 mg/dl/h con un valor promedio de 15 mg/dl/h. Valores mayores son vistos en bebedores habituales y alcohólicos en terapia de desintoxicación, con una tasa media entre 19-22 mg/dl/h, esto debido probablemente a un aumento de las enzimas microsomales hepáticas (p450 II E1). Se ha establecido que desórdenes hepáticos como la hepatitis alcohólica y la cirrosis no parecen influenciar la tasa de eliminación de alcohol en individuos con hábito frecuente de consumo de alcohol.

Otros factores como las bajas temperaturas pueden favorecer la toxicidad del alcohol en ciertos individuos especialmente si el estado de estupor o inconciencia ocurre relacionado a asfixias posicionales o broncoaspiración del vómito, pues llegan a inducir la sofocación. Además se debe valorar la adicción del individuo a otras sustancias depresoras del sistema nervioso central como los son los opiáceos, el propoxifeno, antidepresivos y sedantes hipnóticos.<sup>3,8,11</sup>

## 2- Análisis de coágulos subdurales o epidurales.

Obtener este tipo de muestras es de gran utilidad especialmente en aquellos casos en que se ha establecido como probable causa de

muerte un trauma de cráneo. Esto por cuanto la sangre acumulada a nivel del coágulo no es metabolizada a nivel hepático y por ende la CAS de éste se mantendrá indemne por horas, esto es de importancia en individuos que sobreviven por tiempo prolongado después de recibido el trauma, lo cual dará una idea más exacta del estado del individuo al momento del accidente que aquella que proporcione la muestra de sangre periférica.<sup>3,7,9,11</sup> Sin embargo, en algunos casos se debe considerar que el individuo pudo haber sufrido el trauma y seguir consumiendo alcohol hasta entrar en el estado de inconciencia, lo cual podría explicar el hallazgo de CAS periférica mayores a las contenidas en el coágulo, así mismo si ocurrió pérdida de sustancia en el sitio del trauma y formación del coágulo se puede dar formación de alcohol in situ por acción microbiana.<sup>7,8,9,10</sup>

## 3- Determinación del contenido acuoso de las muestras sanguíneas.

Al ingerir bebidas alcohólicas estas se absorben principalmente a nivel de la primera parte del duodeno ingresando a la circulación venosa a través de la vena porta y de allí a la circulación hepática, pasando luego a las cámaras cardíacas distribuyéndose rápidamente en los diferentes compartimentos corporales de contenido acuoso y uniéndose a las proteínas plasmáticas y tejidos.<sup>9,11</sup> La concentración del etanol en equilibrio y la velocidad de distribución a los diferentes tejidos depende de la perfusión de los mismos. Un porcentaje de contenido acuoso en sangre aceptado como estándar sin tomar en cuenta el sexo del individuo es el de 84 %, el cual puede variar según el hematocrito del individuo, lo cual explica el hecho que las mujeres presenten un porcentaje mayor debido a su hematocrito menor. La concentración de etanol es mayor a nivel del plasma que de la sangre entera ya que éste estará en su mayoría en la fase acuosa, es por ello importante especificar en que sustrato se llevó a cabo la prueba ya que en sangre entera los valores tienden a ser menores que en plasma, aunque los laboratorios toman esta muestra como estándar en su mayoría.<sup>9</sup>

Tanto el contenido de agua como la concentración de alcohol en sangre tienden a disminuir conforme

se prolonga el tiempo de muerte del sujeto, es así como se pueden dar hallazgos de porcentajes de agua en sangre que van desde el 65% al 71%, debido a este fenómeno se recomienda que se realice la corrección del contenido de alcohol cuando se de una disminución mayor del 80 %. Sin embargo si el estado de descomposición del cuerpo es avanzado hay otros factores de mayor importancia que influyen en la concentración de alcohol, como los fenómenos de putrefacción y difusión pasiva del etanol, que se detallarán en apartados siguientes.<sup>3,9,10,11</sup>

### ***Determinación de alcohol en muestras de orina obtenidas en la autopsia***

La muestra más comúnmente utilizada para la determinación de alcohol después de la sangre es la orina. La segunda muestra debe ser recogida por punción directa de la vejiga y ser preservada adecuadamente con fluoruro de sodio. Esta sustancia inhibe la formación de polisacáridos por parte de los microorganismos, previniendo así el crecimiento bacteriano,<sup>10,12</sup> sin embargo, el agregar dicho preservante no excluye u oculta la posibilidad de que haya ocurrido producción de etanol previamente<sup>3</sup>. Si no se preserva correctamente, las concentraciones de etanol mostrarán un incremento considerable.

La ventaja que presenta la orina es su gran contenido de agua y la menor posibilidad de contaminación por bacterias u hongos, además que la orina de individuos sanos no contienen cantidades significativas de glucosa, sustrato principal para la producción de etanol postmortem<sup>3</sup>. Por ejemplo, muy diferente sería encontrar niveles altos de alcohol en orina (CAO) y negativo en sangre (CAS) (esperable en pacientes diabéticos, donde el contenido de glucosa en orina puede haber dado origen a la formación de etanol).

La concentración de alcohol que se alcanza en sangre y otros fluidos depende de varios factores mencionados anteriormente, como la cantidad de alcohol ingerido, el estado de hidratación del cuerpo y el tiempo transcurrido hasta la toma de la muestra. Específicamente en la orina, la concentración de alcohol máxima llega en 30 a

60 minutos después de que se alcanza la máxima concentración en sangre<sup>13</sup>.

Es común y recomendable la medición de la relación CAO:CAS, lo cual suele proveer de información valiosa respecto a la absorción de alcohol al momento de la muerte. Una relación menor o cercana a la unidad sugiere una absorción incompleta de alcohol en todos los fluidos del cuerpo en el momento de la muerte (fase absorptiva), lo cual a su vez indica ingestión reciente o presencia de remanentes de alcohol en el estómago. Relaciones iguales o mayores a 1.25 sugieren una absorción y distribución completa (fase postabsortiva).<sup>3,9,14</sup>

No es conveniente estimar la concentración de CAS con base en la CAO, ya que hay que tomar en consideración el hecho de que la muestra en orina es tomada de una cantidad que ha estado acumulada por un tiempo desconocido, entre la última micción y la muerte, consecuentemente, la CAO no necesariamente reflejará la CAS existente al momento de la muerte. Esto es, que la orina previamente acumulada en la vejiga puede diluir la orina de neo formación, que si refleja la CAS. En cambio, la CAS prevalece durante el periodo de acumulación de orina desde la última micción.<sup>3,9,13,15</sup>

De la mano de lo anterior, se recomienda la toma de muestras de estómago para correlacionar lo encontrado. Concentraciones en el contenido gástrico menores a 500 mg/dL han sido consideradas como indicador de un estado post absorción<sup>9</sup>.

Por otro lado, si el tiempo transcurrido entre el fin de la ingesta y el momento de la muerte ha sido lo suficientemente largo, existe la posibilidad de que la CAS sea cero, debido al metabolismo hepático, pero si debe haber una alta CAO. No existe metabolismo de etanol en la vejiga y la difusión desde la sangre es aparentemente baja e insignificante, de ahí dicha conclusión<sup>3</sup>.

### ***Utilización y análisis del humor vítreo***

Esta muestra es muy usada para la determinación de etanol. El análisis de dicho elemento permite corroborar la producción postmortem de etanol así como distinguir la intoxicación antemortem

de dicha producción<sup>9,12</sup>. Ofrece la posibilidad de determinar otra serie de drogas y no presenta mayores diferencias en cuanto a las concentraciones en sangre<sup>3</sup>. En ocasiones es el único elemento disponible para la interpretación cuantitativa de sustancias.<sup>15,16</sup>

Ventajas del uso del humor vítreo (HV) son: su naturaleza acuosa, que es relativamente limpio, su lejanía anatómica del colon (lo que lo hace menos propenso a la contaminación por la propagación de bacterias), además por su localización se minimiza el riesgo de difusión pasiva de etanol, otras ventajas son ser una buena fuente de líquido y su fácil obtención<sup>9,14,17,18</sup>. Es la prueba ideal en cadáveres con grados de descomposición y severos traumas. Su inconveniente: puede tener sustratos de glucosa<sup>3</sup>.

La relación media encontrada entre HV: sangre ronda 1.15-1.20:1. Pero debido a las variaciones individuales, tampoco se recomienda determinar la concentración de etanol en sangre a partir del HV<sup>3</sup>. Por otro lado, otros estudios encontraron que en comparación con 5 sitios distintos de muestras de sangre, la concentración de alcohol se reflejó de forma más certera en HV<sup>7,18</sup>.

Sin embargo, relaciones HV: sangre bajas pueden indicar que la muerte sobrevino poco tiempo después de la ingesta alcohólica y no necesariamente que ha ocurrido una síntesis postmortem de etanol<sup>15,17</sup>. Por otro lado, la menor cantidad de agua en la sangre comparativamente con el HV permiten suponer que la relación sangre: HV tienda a ser menor que la unidad, cuando dicha relación excede la unidad, la mejor explicación es que la muerte sobrevino antes de que el equilibrio de la difusión se hubiera conseguido, lo cual tiene relevancia forense<sup>9</sup>. Además, el encontrar cantidades de etanol en HV y nada en la muestra femoral probablemente refleje que la muerte sobrevino en la etapa de eliminación del metabolismo del etanol o que justo antes de la muerte se consumieron cantidades muy pequeñas de licor<sup>18</sup>.

Algunos autores refieren que una única muestra de sangre para la determinación de etanol no es adecuadamente interpretable, si no hay

correspondencia con niveles en HV y orina, muy de la mano de los datos arrojados por la valoración del escenario de muerte<sup>15</sup>.

La determinación de alcohol en HV es muy recomendable en los casos donde se tienen cadáveres embalsamados (ya que la sustancia utilizada para embalsamar no contiene etanol, pero si puede tener otros alcoholes), cuando existe apreciable deshidratación, o cuando el cadáver está carbonizado o gravemente descompuesto<sup>3,9,14,19</sup>. Puede ser inadecuado cuando coexisten enfermedades y/o cirugías oftalmológicas que alteren la viscosidad o composición celular del HV, contaminación con sangre o vómito, o que al momento de la toma de la muestra se haya limpiado el ojo con alcohol o cuando el cuerpo haya estado sumergido por tiempo prolongado, lo cual puede resultar en la difusión del alcohol fuera del globo ocular<sup>3,9,18</sup>.

### **Uso de otro tipo de muestras**

Las muestras tradicionales y recomendadas como se ha visto son: sangre femoral, orina vesical y humor vítreo (excluyendo lo mostrado en la tabla N° 1 respecto al análisis de casos especiales como lo son los coágulos y la muestra de cámaras cardíacas). En caso de que los primeramente mencionados no estén disponibles o que estén contaminados por traumatismos o putrefacción, se debe considerar la conveniencia de utilizar muestras de tejidos tales como: hígado, cerebro, músculo esquelético, bazo, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial o bilis<sup>3,17</sup>.

Para una mejor interpretación de la presencia de etanol en esas muestras es necesario conocer sus contenidos de agua y lípidos y otras variables. Por ejemplo, el hígado y riñón mantienen actividad enzimática después de la muerte, lo cual depende de la temperatura ambiental y de la presencia del cofactor NAD<sup>+</sup>, en cuyo caso el etanol se metabolizará.

Existe el riesgo de la difusión pasiva de etanol desde el estómago hacia el hígado, como se detallará más adelante, por la cercanía de ambos órganos. Para disminuir dicho riesgo se debe

tomar una muestra profunda de tejido hepático del lóbulo derecho. Un inconveniente de este órgano es su alto contenido de glicógeno, sustrato para la síntesis de etanol <sup>8</sup>.

En cadáveres descompuestos o exhumados, el tejido ideal es el músculo esquelético <sup>3</sup>. Se debe tomar de un músculo largo y al menos 1 gramo, cortado en pequeñas piezas, homogenizado y mezclado con agua libre de etanol. En este caso, esta muestra tiene el mismo inconveniente que el anterior: su alto contenido de glicógeno. <sup>8</sup>

A pesar de los inconvenientes señalados para el hígado y músculo, la producción endógena de etanol postmortem no ocurre en ningún tejido por lo menos a los 8 días de tomada la muestra, incluso los mencionados con anterioridad, siempre y cuando la muestra sea almacenada bajo refrigeración en un rango entre los -20° C y los 4° C, todo lo contrario ocurrirá a temperatura ambiente (entre 20 y 30° C) <sup>8</sup>.

La figura N° 2 resume los tipos de muestras con importancia toxicológica a considerar \*:

### **Contaminación y descomposición de origen microbiano**

La producción microbiana de etanol en especímenes postmortem es la complicación más frecuentemente encontrada al examinar resultados de etanol <sup>10,19</sup>. Luego de la muerte ocurre la autólisis de tejidos por procesos enzimáticos, esto produce reblandecimiento y licuefacción de tejidos. Durante ese proceso las bacterias del colon invaden tejidos adyacentes y el sistema vascular, primeramente se propagan por el sistema linfático y el sistema venoso portal, unas pocas horas luego de la muerte. La velocidad de la infiltración bacteriana depende de factores aceleradores del proceso de putrefacción, como: la temperatura ambiental, lesiones intestinales, enfermedades neoplásicas o gangrenas y si la muerte fue causada por una infección, o por la posición del cuerpo o la presencia de traumas extensos del cuerpo <sup>3,9,17</sup>. A temperatura ambiente, la contaminación bacteriana del sistema circulatorio ocurre después de alrededor de 6 horas y luego de

24 horas hay una penetración directa de la pared intestinal. Generalmente los tejidos permanecen relativamente libres de bacterias viables durante las primeras 24 horas <sup>9</sup>.

Los microorganismos que mayormente se ven envueltos en este proceso son: *Escherichia coli* y especies de *Candida*, *Clostridium* y *Klebsiella*, entre otros <sup>3,10,12</sup>, siendo *Candida albicans* el principal agente productor; sin embargo existen al menos 58 especies de bacterias, 17 de levaduras y 24 de esporas capaces de esta producción <sup>8,9</sup>.

Cuando las concentraciones de etanol son menores de 30 mg/100 mL, es muy probable que su origen sea la producción postmortem <sup>3</sup>, por otro lado, niveles muy altos de CAS sugieren incorrecto almacenaje de la muestra, lo cual promueve la putrefacción y producción de etanol por las bacterias <sup>12</sup>, de ahí la importancia de correlacionar la CAS con muestras tales como CAO y HV.

### **Cinética postmortem del alcohol**

*Variaciones postmortem del alcohol:*

1. Alteración postmortem: pérdida y ganancia
2. Difusión pasiva
3. Preservación de la muestra

*Alteración postmortem: pérdida y ganancia*

La alcoholemia real del individuo, puede sufrir diversos procesos que conducen a una alteración de la concentración, y por tanto a un error en el análisis.

Pueden darse dos situaciones: pérdida de alcohol y ganancia del alcohol.

- a) La pérdida tiene un mecanismo físico el cual es la evaporación. Esto se da cuando al momento de almacenar la sangre se deja abierto el tapón del tubo de ensayo donde es recolectada la muestra de sangre. También puede disminuirse por oxidación microbiana, tanto aerobia como anaerobia, por lo que debe añadirse un inhibidor microbiano.



b) La ganancia del alcohol. Producido postmortem, denominado endógeno, es alcohol etílico idéntico al alcohol exógeno. No hay ningún método analítico para diferenciarlos <sup>21</sup>.

La presencia de cantidades moderadas (menos de 0.8g/1000ml) en la sangre cardiaca y la ausencia en el humor vítreo y la orina indican el carácter endógeno del alcohol, siempre que no haya alcohol en el estómago, pues también podría ser que el sujeto hubiera fallecido en la primera fase absorptiva. La presencia de alcohol en todas las muestras indica un carácter exógeno <sup>21</sup>.

Cuando solo se dispone de una muestra para el análisis, es difícil sacar conclusiones en los casos en que haya indicios de putrefacción en el cadáver. Podría determinarse el alcohol propano en el músculo, cuyos resultados positivos se inclinan a favor del carácter endógeno en un 10% mayor que la del etanol.

#### *Difusión Pasiva del alcohol*

Está ampliamente demostrado que el alcohol puede difundirse pasivamente en la etapa postmortem desde el estómago y el intestino a los órganos y tejidos circundantes <sup>21</sup>. El problema de la redistribución postmortem de drogas lícitas e ilícitas ha sido referido actualmente como una pesadilla para la toxicología.

Al existir altas concentraciones de alcohol en el estómago al momento de la muerte, ello implicará un alto gradiente de concentración local con el consecuente riesgo de difusión y contaminación del pericardio y de fluidos de la pleura y probablemente de la bilis. Si durante la muerte hay ruptura del estómago, esto naturalmente aumenta el riesgo de que el alcohol gástrico tienda a rodear los tejidos y cause un problema de contaminación.

La difusión del alcohol postmortem va a depender del tiempo transcurrido entre la última toma o ingestión de éste antes de la muerte. El tiempo necesario para una absorción completa del alcohol es aproximadamente de 1 – 2 horas <sup>21, 22</sup>. El tiempo para la absorción completa decrece si

el alcohol es consumido junto con o después de comer. Se absorbe más rápidamente cuando se ingiere alcohol junto con comidas ricas en proteínas y se retarda la absorción de éste al consumirlo con alimentos con alto contenido de grasa.

La toma de muestras y análisis de residuos gástricos no es un procedimiento de rutina pero esto es admisible si hay evidencia de sobredosis de drogas o de que hubo consumo reciente. Si se encuentran concentraciones gástricas arriba de 500mg/100ml (5mg/ml o 0.5gr%) conviene pensar y corroborar que la persona ingirió recientemente. Otras situaciones pueden hacer disminuir los niveles de alcohol, como las personas en estados agónicos o que presentan vómitos, dado que puede existir contaminación del tracto pulmonar y producir muerte por broncoaspiración, ante lo cual se requiere de un cuidadoso examen histopatológico del tejido pulmonar.

Las muertes en individuos ahogados presentan un problema especial para el forense dado la existencia de los fenómenos de difusión y redistribución que se ven favorecidos al encontrarse el cuerpo en un medio acuático. Concentraciones bajas o altas en los fluidos corporales pueden ocurrir cuando un cuerpo ha estado sumergido en agua durante un periodo determinado de tiempo. Decrece la concentración del alcohol así como la dilución de los fluidos del cuerpo con el agua a medida que pasa el tiempo. Factores ambientales particularmente la temperatura del agua durante los meses de verano, el grado de trauma del cuerpo así como el proceso de putrefacción deben ser considerados para la interpretación de las concentraciones de alcohol postmortem. En un estudio reciente (562 muertes por asfixia por sumersión), los autores concluyen que la producción del etanol podría iniciarse después de 12-24 horas postmortem. Sumersiones con bastante tiempo transcurrido fueron asociadas con una proporción grande de elevada CAS <sup>24</sup>.

Otras variables a ser consideradas que pueden incidir en la difusión del etanol son el uso de tratamientos en emergencias, incluyendo drogas y fluidos intravenosos o masaje cardiaco vigoroso. Además, la posición de los cuerpos en el escenario

de la muerte, la inspección inicial, y transporte del cuerpo a la morgue no es trivial. Descuidos del manejo pueden promover la redistribución del alcohol por reflujo o residuos gástricos.

#### *Preservación de la muestra*

La sangre debe ser recogida en un envase de vidrio, con agujas y material estéril, se agrega fluoruro de sodio y un anticoagulante (oxalato), debe preservarse en refrigeración en un rango entre -20 °C y 4 °C <sup>8,21</sup>, siendo a esta última temperatura la que se utiliza en la Morgue Judicial de nuestro país. Es importante llenar en su totalidad el recipiente contenedor de la muestra, comúnmente conocido como Vacutainer, con el fin de que no quede ningún espacio de aire dentro del mismo, ya que el alcohol al ser un elemento volátil puede difundir del fluido hacia dicho espacio y se perderá al momento de abrir el envase en el laboratorio.

#### **CONCLUSIONES:**

- La determinación de las concentraciones de alcohol postmortem debe ser siempre un análisis solicitado como parte de toda investigación policial y forense en casos de muerte violenta y en aquellos casos de muerte no violenta en que se sospeche su relación con el consumo de alcohol.
- Se debe tener mucha precaución en la interpretación de CAS postmortem. En casos necesarios debe asociarse con muestras de humor vítreo y orina para ayudar a determinar el origen del etanol encontrado. Dichos resultados deben correlacionarse con la información obtenida del escenario de la muerte y del manejo de las muestras para una mejor interpretación.
- La muestra ideal a utilizar para determinar la presencia de alcohol en sangre es la proveniente de la vena femoral, debido a ser la menos propensa a cambios postmortem. Los resultados de la misma deben correlacionarse con el análisis de otras muestras obtenidas de otros sitios tales como: orina y humor vítreo.
- La utilidad real de la muestra de orina en el

cadáver radica en la afirmación o negación, del consumo de alcohol en un lapso antes de que aconteciera el fallecimiento, pero no sirve para determinar cuándo ni la cantidad de alcohol ingerida.

- La contaminación de la muestra puede deberse a efectos meramente físicos como limpieza de la zona de la toma con alcohol, la posición del cuerpo o hasta la producción de etanol por microorganismos.
- Debe determinarse de ser posible la etiología del alcohol (exógena o endógena).
- El reconocimiento de la producción endógena de etanol puede ser hecha con base en el hallazgo de una distribución inconsistente de etanol en varios tejidos y/o fluidos, al detectar otros alcoholes alifáticos, acetaldehído u otros compuestos volátiles y con el cultivo y determinación de la capacidad de producción de etanol de microorganismos encontrados.
- Las concentraciones del etanol en fluidos de cuerpos putrefactos puede ser muy alta debido a la producción de etanol por microorganismos endógenos y exógenos.
- Hay que tener extrema precaución en la interpretación de los resultados de alcohol sanguíneo obtenida de cuerpos en putrefacción debido a las variaciones causadas por la difusión pasiva de etanol y por la síntesis del mismo por parte de los microorganismos.
- Comparar CAS con otras muestras como orina, HV, LCR, debe ser un procedimiento de rutina, para evaluar el origen del etanol en los cadáveres. Muy importante no olvidar el uso de preservantes, llenar el vacutainer hasta su máxima capacidad con tapas de cierre hermético y refrigerar la muestra a un máximo de 4 °C, debido a que algunos órganos y tejidos son más proclives a producir etanol postmortem, lo cual depende de su concentración de glucosa, localización anatómica y proximidad con el abdomen, entre otros.

- El humor vítreo es fundamentalmente importante en la determinación de alcohol en putrefactos.
- Concentraciones de etanol menores de 30 mg/100 mL, deben hacer suponer la probable producción postmortem.

### **Referencias bibliográficas:**

- (1) Dirección General de la Policía de Tránsito de Costa Rica. Estadísticas. [www.transito.go.cr](http://www.transito.go.cr)
- (2) Carvajal, E. (2007, 21 de febrero). Lamentable: Vamos a dos muertos por día. Periódico Al Día. San José, Costa Rica
- (3) Kugelberg, F. C. and Jones, A. W. (2007). Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature, *Forensic Sci. Int.* 165, pp. 10-29.
- (4) Costa Rica. Leyes, Decretos, etc. (1993). Ley de Tránsito por Vías Públicas y Terrestres, No. 7331. Aprobada el 13 de abril, 1993.
- (5) Winek, C. L., Wahba, W. W., Windisch, R. M. and Winek, C. L. Jr. (2004). Serum alcohol concentrations in trauma patients determined by immunoassay versus gas chromatography, *Forensic Sci. Int.* 139, pp. 1-3
- (6) Jones, A. W. (1998). Measuring Blood-Alcohol Concentration for Clinical and Forensic Purposes. In S. B. Karch, Editor, *Drug Abuse Handbook*. CRC Press, Boca Raton. pp. 340-360 (chapter 5.2)
- (7) Sylvester, P. A., Wong, N. A., Warren, B. F. and Ranson, D. L. (1998). Unacceptably high site variability in postmortem blood alcohol analysis, *J Clin Pathol*, 51, pp. 250-252.
- (8) Petković, S. M., Simić, M. A. and Vujić, D. N. (2005). Postmortem production of ethanol in different tissues under controlled experimental conditions, *J Forensic Sci.* 50, pp. 204-208.
- (9) Pounder, D. J. and Jones, A. W. (1998). Measuring Alcohol Postmortem. In S. B. Karch, Editor, *Drug Abuse Handbook*. CRC Press, Boca Raton, pp. 369-387 (chapter 5.3)
- (10) Lewis, R. J., Johnson, R. D., Angier, M. K. and Vu, N. T. (2004). Ethanol formation in unadulterated postmortem tissues, *Forensic Sci. Int.* 146, pp. 17-24.
- (11) Cook, D. S., Braithwaite, R. A. and Hale, K. A. (2000). Estimating antemortem drug concentrations from postmortem blood samples: the influence of postmortem redistribution, *J Clin Pathol*, 53, pp. 282-285.
- (12) Anderson, W. H. and Prouty, R. W. (1996). Collection and storage of specimens for alcohol analysis. In J. C. Garriot, Editor, *Medicolegal Aspects of Alcohol*. Lawyers and Judges Publishing Company, Co, United States of America, pp. 253-264 (chapter 11).
- (13) Del Valle, L. Alcohol y muerte violenta. Tesis de grado de especialista. pp. 95-100.
- (14) Caplan, Y. H. (1996). Blood, urine and other fluid and tissue specimens for alcohol analyses. In J. C. Garriot, Editor, *Medicolegal Aspects of Alcohol*. Lawyers and Judges Publishing Company, Co, United States of America, pp. 137-144 (chapter 5).
- (15) Brautbar, N. Principles and pitfalls in alcohol toxicity: Intoxication defense. Recuperado el 01 de Marzo de 2007 de <http://www.environmentaldiseases.com/article-alcohol-toxicity.html>
- (16) Leikin, J. B. and Warson, W. A. (2003). Post-mortem Toxicology: What the dead can and cannot tell us, *J Toxicol Clin Toxicol.* 41, pp. 47-56.
- (17) I. De Lima, V. and Midio, A. F. (1999). Origin of blood ethanol in decomposed bodies, *Forensic Sci. Int.* 106. pp.157-162.

(18) Jones, A. W. and Holmgren, P. (2001). Uncertainty in estimating blood ethanol concentrations by analysis of vitreous humour, *J Clin Pathol*, 54, pp. 699-702.

(19) Garito, J. C. (1996). Analysis for alcohol in postmortem specimens. In J. C. Garriot, Editor, *Medicolegal Aspects of Alcohol*. Lawyers and Judges Publishing Company, Co, United States of America, pp. 151-165 (chapter 6)

(20) Hepler, B. R. and Isenschmid, D. S. (1998). Specimen selection, collection, preservation, and security. In S. B. Karch, Editor, *Drug Abuse Handbook*. CRC Press, Boca Raton (1998), pp. 884-900 (chapter 12.2)

(21) Gisbert Calabuig, J. A. y Villanueva, E. (1999). *Medicina Legal y Toxicología*. (5ª ed.). Barcelona, España: Masson. pp. 778-779 (capítulo 65).

(22) Kugelberg, F. C. (2007). Results of ethanol analysis in postmortem specimens. *Forensic Science international*, U.S.A. 165, pp. 10-29.

(23) Li, G., Baker, S. P., Lamb, M. W., Qiang, Y. y McCarthy, M. L. (2005). Characteristics of alcohol-related fatal general aviation crashes, *Accident anal.* 37, pp. 143-148.

(24) Hadley, J. A. and Smith, G. S. (2003). Evidence for an early onset of endogenous alcohol productions in bodies recovered from the water, *Accident Anal. Prev.* 35, pp. 763-769.

(25) Kupfer, D. M., Chaturvedi, A. K. et al. (1999). *Identification of postmortem microbial contaminants*, *J. forensic Sci.* 44, pp. 592-596.

(26) Córdoba, D. (2000). *Toxicología*. (4ª ed.). Barcelona, España: Editorial Manual Moderno, pp. 379-386.

Table 12.2 Guide to the Collection of Routine Toxicology Specimens

Specimen	Amount	When to obtain	Comments
Blood, Heart	50-100 mL	Always	Identify source. Preserve with 2% sodium fluoride and potassium oxalate. Reserve an aliquot without preservative, if possible.
Blood, peripheral	10-25mL	For complete toxicology testing	Identify source. Use femoral or subclavian blood if possible.
Blood, clot	Whole clot	Trauma cases	
Urine	All	Always	Submit any quantity, even if < 1 mL, for immunoassay screening.
Bile	All	Always	Tie off gall-bladder to reduce contamination. Collect prior to liver.
Vitreous humor	All	Always	Combine fluid from both eyes into a single tube.
Gastric contents	All	For complete toxicology testing	Tie off stomach to reduce contamination of other viscera. Note total volume.
Liver	50 g	Always	Identify source. Deep right lobe preferred.
Kidney	50 g	Metals, ethylene glycol	
Spleen	50 g	CO, CN	Very useful when blood not available in fire deaths.
Brain, fat	50 g	Lipophilic drugs	Brain may be especially useful in infant drug deaths.
Lung	50 g	Volatile poisons	Collect in sealed container. Collect tracheal air as well.
Hair	Pen-sized bundle	Drug history, metals	Identify distal and proximal ends.

*Biological specimens should be kept at refrigerated temperatures (4°C) for short term storage (up to two weeks) and at frozen temperatures (-20°C) for long term storage. An aliquot of preserved blood should be frozen immediately for analysis and preservation of less stable compounds.*

**Figura N° 2.** \* Tomada de B. R. Hepler and d. S. Isenschmid, Specimen selection, collection, preservation, and security <sup>20</sup>.