

Artículo Original

Biomonitorización de etanol: alcoholemia retrospectiva en función de dos muestras sanguíneas sucesivas

Biomonitoring of ethanol: retrospective alcoholemia analysis based on two successive blood samples

Luis A. Inostroza^{1,a}, Américo J. Castro^{1,b}, Amadeo Collado^{1,c}, Elder M. Reyes^{1,d}, Luis A. Velarde^{1,e}

Recibido: 17/11/2022 Aceptado: 25/03/2023 Publicado: 30/12/2023

Resumen

El uso y abuso de etanol es asociado frecuentemente con implicaciones y consecuencias medicolegales. El objetivo de este estudio fue evaluar la alcoholemia retrospectiva en función de dos muestras sanguíneas sucesivas de personas con posingestión de bebidas alcohólicas. El etanol como cerveza se administró en dosis única 0,8 g/kg a los sujetos del grupo I, se recogió cantidad suficiente de muestras de sangre diseñándose el perfil de concentración-tiempo del etanol y determinaron parámetros toxicocinéticos; los grupos II, y III libarón cerveza *ad libitum* y se extrajeron dos muestras de sangre a diferentes intervalos de tiempo. El etanol se cuantificó por cromatografía de gases. Las extrapolaciones retrógradas de alcoholemias se estimaron suponiendo cinética de orden cero y rango de tasas de eliminación 0,10 a 0,35 g/L/h. En el grupo I se determinó el volumen de distribución 0,70 L/kg, alcoholemia máxima 1,05 g/L a los 60 min y 0,148 g/L/h la tasa promedio de eliminación. Se demostró que solo en el grupo III los promedios de las concentraciones de etanol en la segunda muestra de sangre fueron menores que la primera, significando fase de eliminación y los datos de alcoholemia retrospectiva con límites superior e inferior fueron precisos, viables y válidos. En conclusión, los niveles de alcoholemia de una persona obtenidas en dos muestras de sangre con separación de 30 a 45 min, la primera extraída inmediatamente ocurrido el hecho punible y en fase de eliminación permiten la estimación de los límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva con precisión y alta fiabilidad frente al estudio tradicional de alcoholemia con solo una muestra de sangre.

Palabras clave: *alcoholemia retrospectiva; biomonitorización; cromatografía de gases con detector de ionización de llama; dos muestras sanguíneas; etanol.*

Abstract

Ethanol use and abuse is frequently associated with medical-legal implications and consequences. The objective of this study was to evaluate retrospective blood alcohol levels based on two successive blood samples from people who had post-ingestion of alcoholic beverages. Ethanol as beer was administered as a single dose 0.8 g/kg to subjects in group I, sufficient blood samples were collected and the concentration-time profile of ethanol was designed and toxicokinetic parameters were determined; groups II and III released beer *ad libitum* and two blood samples were drawn at different time intervals. The ethanol was quantified by gas chromatography. Backward extrapolations of blood alcohol levels were estimated assuming zero-order kinetics and elimination rate range 0.10 to 0.35 g/L/h. In group I, the volume of distribution 0.70 L/kg, maximum BAC 1.05 g/L at 60 min and average elimination rate 0.148 g/L/h were determined. It was shown that only in group III were the averages of ethanol concentrations in the second blood sample lower than the first, signifying

¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú.

^a Autor para correspondencia: linostrozar@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8038-0730>

^b E-mail: acastrol@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8012-967X>

^c E-mail: acolladop@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7148-4477>

^d E-mail: elder.reyes@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7260-2404>

^e E-mail: luis.velarde@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9198-8848>

Citar como:

Inostroza L., Castro A., Collado A., Reyes E., Velarde L. (2023). Biomonitorización de etanol: alcoholemia retrospectiva en función de dos muestras sanguíneas sucesivas *Ciencia e Investigación* 2023 26(1)11-19 doi: <https://doi.org/10.15381/ci.v26i1.27482>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.

elimination phase, and the retrospective BAC data with upper and lower limits were accurate, feasible and valid. In conclusion, the BAC levels of a person obtained in two blood samples 30 to 45 min apart, the first one taken immediately after the punishable event and the second one during the elimination phase, allow the estimation of the upper and lower limits of retrospective BAC with precision and high reliability compared to the traditional study of BAC with only one blood sample.

Keywords: retrospective blood alcohol; biomonitoring; gas chromatography; two blood samples; ethanol.

1. INTRODUCCIÓN

El etanol es probablemente la droga más usada y abusada en el mundo¹. Es la sustancia química involucrada con mayor frecuencia como factor contribuyente o causante en muertes violentas o naturales y también en muchos incidentes no fatales². La influencia del etanol sobre el sistema nervioso central humano durante o justo antes de accidentes de tránsito, homicidios, suicidios y sumisión de fármacos sedantes, son los eventos más comunes que pertenecen al ámbito de la toxicología forense conductual³

La biomonitorización se ha utilizado ampliamente para determinar si las personas han estado expuestas a sustancias químicas⁴. El consumo de bebidas alcohólicas puede monitorizarse mediante la detección de biomarcadores directos e indirectos del etanol, en la práctica forense se cuantifican los biomarcadores directos como el etanol y sus metabolitos⁵. El laboratorio de análisis toxicológico ayuda en el monitoreo de la concentración del agente tóxico que aún está disponible para distribución o que ya fue excretado. El etanol es el tóxico identificado casi siempre en los análisis toxicológicos forenses y de emergencia; su concentración en la sangre es importante, para evaluar el comportamiento y la función neurológica del individuo⁶.

Las cuantificaciones de etanol en sangre son obligatorias en las investigaciones toxicológicas clínicas y forenses⁷. Es necesario precisar que el etanol en el cuerpo humano tiene una semivida corta, lo que significa que su eliminación del organismo es significativamente más rápida que la de otras drogas de consumo habitual (horas en lugar de días o semanas), por esta razón el momento de la extracción de muestras para las pruebas de alcoholemia es más crítico y exigente⁸.

Es probable que haya transcurrido algún tiempo entre el momento en que se detiene a una persona por sospecha de la comisión de un delito y el momento en que se extraen muestras de sangre para pruebas de alcoholemia. Durante este tiempo el nivel de etanol en el organismo de una persona cambiará debido a los procesos de distribución, metabolismo y excreción. Por lo tanto, el nivel de etanol en el momento del muestreo probatorio no será el mismo que el momento en que se cuestionó inicialmente al presunto delincuente⁹. Entonces, existe la necesidad de proporcionar a los tribunales una estimación retrospectiva de la concentración de etanol hasta el momento de interés¹⁰.

Actualmente, en Perú una persona que ha participado en un hecho punible es detenida, y posteriormente conducida por la autoridad policial al Laboratorio Oficial de Toxicología y Dosaje Etílico para que se le practique los exámenes de ley, como el de alcoholemia, este es realizado solamente con una muestra de sangre, la interpretación del único valor de alcoholemia presenta una serie de limitaciones para el cálculo de la alcoholemia retrospectiva.

Por lo expuesto, el objetivo del estudio fue evaluar la alcoholemia de personas con posingestión de bebidas alcohólicas en función de dos muestras de sangre sucesivas como propuesta para su aplicación forense en Perú en la estimación de la alcoholemia retrospectiva.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos voluntarios

Se seleccionaron 36 varones adultos sanos, con hábitos de consumo moderado de bebidas alcohólicas, con función hepática normal, no fumadores de tabaco, con edades de 28 ± 10 años, con peso corporal de 64 ± 6 kg. Los sujetos voluntarios dieron su consentimiento informado para participar en este estudio, además respondieron un breve cuestionario sobre su salud. Durante el período de estudio, los individuos recibieron instrucciones de no consumir bebidas alcohólicas 48 h antes de las sesiones de exposición al etanol¹¹.

Los criterios de exclusión fueron la edad < 18 años o > 38 años, antecedentes personales o familiares (parientes de primer grado) de hábito alcohólico, fumadores de tabaco, el uso de medicamentos que pueden interferir con el etanol, enfermedad hepática, cirrosis o hepatitis (análisis de función hepática), uso de drogas ilícitas en los últimos 2 meses y consumo de drogas ilícitas durante el estudio. Realizamos pruebas de drogas en orina en la selección y antes de cada sesión de prueba, y no se detectaron estas sustancias. Los individuos no se automedicaron y tampoco recibieron tratamiento con medicamentos que potencialmente pudieran interactuar con el etanol.

Instrumentación

Para la determinación de etanol se utilizó el muestreador de espacio cabeza estático DANI Master SHS conectado a un cromatógrafo de gases DANI Master GC equipado con un inyector Split/splitless (SL/IN) y un detector de ionización a la llama.

Productos químicos

El etanol GC (Merck®) fue utilizado de estándar primario para elaborar la curva de calibración para el análisis de alcoholemia. Se usó propan-1-ol GC (Merck®) como estándar interno. Saponina en polvo (Sigma-Aldrich®). Cloruro de sodio grado ACS (J.T. Baker®). Agua ultrapura. Aire sintético zero (20,9 % O₂ ± 0,1 %). Gas helio ultra puro 5,2 (99,9992 %). Gas hidrógeno ultra puro 5,5 (99,9995 %). El tipo de bebida alcohólica consumida fue cerveza (Pilsen Callao®, Unión de Cervecerías Peruanas Backus S.S.A., Lima) conteniendo 5% de etanol, envase aluminio de 355 mL, código del registro sanitario P5802109N/NAUIDE, lote LAT080804, fecha de vencimiento vigente y anilla *stay-on tab* intacta.

Exposición a etanol de sujetos voluntarios

Los sujetos fueron distribuidos de forma aleatoria en cuatro grupos (n = 9) siendo tres grupos experimentales (I, II y III) y un grupo de control (IV) evaluados bajo las mismas condiciones de bebida alcohólica estrictamente controlada. A los individuos del grupo I, a tiempo cero, se administraron por vía oral una dosis de 0,8 g etanol/kg de peso corporal como cerveza 5 % Alc. Vol., después de un ayuno nocturno de 10 h y consumido en 15 min; mientras que los sujetos de los grupos II y III ingirieron cerveza *ad libitum*¹². Los sujetos del grupo IV no ingirieron bebidas alcohólicas. Luego simulaban participación en accidentes de tránsito o hechos delictivos.

Técnica de muestreo de sangre para análisis de etanol

Todas las muestras de sangre fueron extraídas según Anderson¹³, antes del inicio de cada sesión de exposición al etanol (tiempo 0) a cada sujeto de los grupos experimentales y control se les extrajo por punción venosa una muestra de sangre. Posingestión de la bebida alcohólica se extrajeron muestras de sangre de la vena cubital, considerando lo siguiente: A) Grupo I (biomonitorización): se tomó una cantidad suficiente de muestras de sangre que permitieron construir el perfil de concentración-tiempo del etanol para la identificación de las características sobresalientes de la curva, especialmente la porción declinante posabsorción; cada 15 min hasta 480 min, utilizando un catéter Insyte Autoguard 20 GA, que fue instalado por una enfermera. B) Grupos II y III (alcoholemias): dos muestras de sangre sucesivas, los momentos de extracción de la primera fueron entre 5 - 190 min y la segunda fue recogida a los 30, 40 y 45 min después de la primera. C) Grupo IV (control): en momentos idénticos a los grupos experimentales. La sangre se recogió en tubos de 5 mL [tubos BD Vacutainer® con fluoruro de sodio (2,5 mg/mL)/oxalato de potasio (2,0 mg/mL)]¹¹. La hora y fecha de la extracción de las muestras de sangre y el código de cada examinado fueron registrados en las muestras y también en una hoja de registro separada; la codificación se realizó con I, II, III o IV que representaron al número

del grupo experimental o control; 1S o 2S simbolizaron a la primera o segunda muestra de sangre y 0, 5, 10, 15, o 480 correspondieron a los minutos del momento de la extracción de las muestras de sangre (ej.: II1S15). Las muestras de sangre fueron conservadas a 4 °C hasta que se realizaron los análisis de etanol¹⁴.

Determinación de etanol en muestras de sangre por cromatografía de gases-FID

El etanol en sangre se cuantificó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama y muestreo de espacio de cabeza (GC-FID/HS, por sus siglas en inglés)¹⁵ los análisis se realizaron por duplicado, el resultado final se reportó la media aritmética de las determinaciones efectuadas, con truncamiento por las centésimas¹⁶ y expresado en g etanol/L sangre¹⁷.

Configuración y control del sistema: las principales condiciones analíticas se describen en la tabla 1.

Cálculos toxicocinéticos y curvas de etanol en sangre

Se determinaron los dos parámetros toxicocinéticos más importantes del etanol como son (1) la tasa de eliminación de la sangre (pendiente β) y (2) el volumen de distribución en el cuerpo. El destino del etanol en el cuerpo se representó mediante un gráfico que traza la concentración de etanol en sangre (CES) en el eje y, y el tiempo de muestreo de sangre en el eje x. El punto de partida fue seleccionar muestras de sangre en la parte descendente de la curva después de la absorción y luego dibujar la línea recta que mejor ajuste a través de estos puntos. Luego, esta línea fue extrapolada hacia atrás para intersectarse al eje y, y hacia adelante para intersectarse al eje x. La intersección y correspondió al parámetro concentración inicial (C_0) que es la CES teóricamente esperado si la dosis de etanol se hubiera absorbido y distribuido en todos los fluidos y tejidos corporales sin que ocurriera ningún metabolismo. La intersección con el eje x es el tiempo necesario para eliminar el etanol del torrente sanguíneo (Min_0), ignorando la parte curvilínea de la curva que comienza con una CES muy bajo (<0,05 a 0,1 g/L). La pendiente de la fase decreciente rectilínea se calculó como C_0/Min_0 o mediante un análisis de regresión lineal de los puntos de datos de concentración-tiempo obteniéndose la tasa de eliminación de etanol de la sangre, que se multiplicó por 60 para expresar esta tasa de disminución de la CES por hora. Considerando también que el etanol se elimina del cuerpo a una velocidad constante por unidad de tiempo, independientemente de la CES predominante, como se esperaba para la cinética de orden cero ($-\delta C/\delta t = k_0$) donde k_0 es la constante de velocidad de orden cero. El volumen de distribución de etanol (L/kg) se calculó como la relación de la dosis (g/kg) dividida por la intersección con el eje y (C_0)¹⁸.

Extrapolación retrospectiva de la alcoholemia

Antes de la estimación de la alcoholemia retrospectiva, primero se tuvo que confirmar que el etanol en la

Tabla 1. Condiciones analíticas del cromatógrafo de gases y muestreador de espacio de cabeza

Columna	30 m; 0,32 mm; 1,20 µm DB-Alc2
Horno GC	
Temperatura	35 °C isotérmico
Inyector Split/ Splitless	
Temperatura	150 °C
Flujo	5 mL.min ⁻¹
Split (División)	1:30
Purga	1 mL.min ⁻¹
Detector FID	
Temperatura	300 °C
Muestreador de espacio de cabeza	
Temperatura del horno	70 °C
Colector	90 °C
Línea de transferencia	90 °C
Tiempo equilibrio vial	15 min
Sacudida	Alta
Modo de inyección	Estándar; 0,5 min

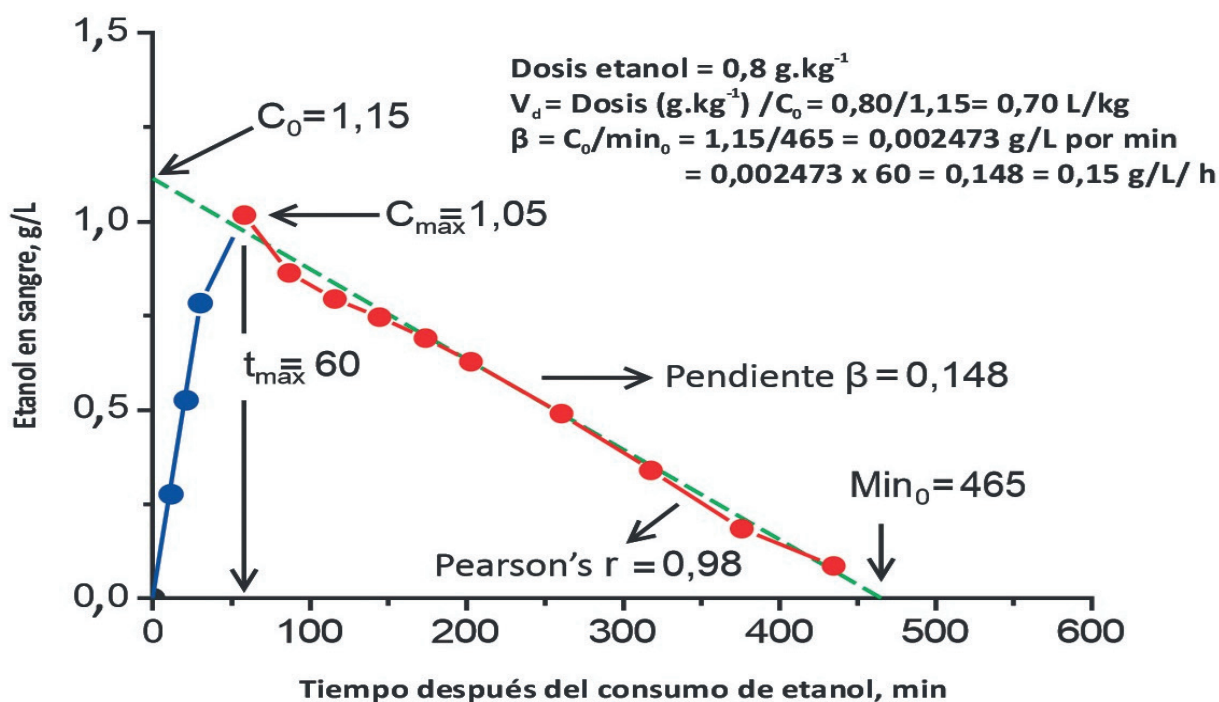


Figura 1. Curva de concentración -tiempo de etanol en sangre de un sujeto (grupo I) que bebió una dosis de etanol (0,8 g/kg) como cerveza, junto con parámetros toxicocinéticos del etanol. (-•-) Fase de absorción y (-•-) fase de eliminación.

Tabla 2. Niveles de alcoholemias en la primera y segunda muestra de sangre extraídas en varios intervalos de tiempo a sujetos de los grupos experimentales II y III.

Grupos experimentales/ tiempos de extracción (min)		Alcoholemia en primera muestra de sangre* (A _{1S} g/L)		Alcoholemia en segunda muestra de sangre* (A _{2S} g/L)		Nivel de significancia	Fases del etanol
Primera muestra de sangre (1S)	Segunda muestra de sangre (2S)	Media	Rango	Media	Rango	A _{1S} y A _{2S}	
II1S5	II2S35	0,12 a	0,10 - 0,14	0,72 c	0,70 - 0,74	Presentan variación significativa (p<0,05)	Absorción A _{1S} <A _{2S}
II1S10	II2S50	0,33 a	0,31 - 0,35	0,91 c	0,89 - 0,93		
II1S15	II2S60	0,44 a	0,42 - 0,46	1,00 c	0,99 - 1,01		
III1S70	III2S100	0,99 b	0,97 - 1,01	0,92 d	0,90 - 0,94	Presentan variación significativa (p< 0,05)	Eliminación A _{2S} <A _{1S}
III1S120	III2S160	0,86 b	0,84 - 0,88	0,76 d	0,74 - 0,78		
III1S190	III2S235	0,66 b	0,65 - 0,67	0,53 d	0,52 - 0,54		

*Valores promedio, n=3 y α=0,05. Medias seguidas de una misma letra, para cada grupo experimental, tiempo de extracción y primera o segunda muestra de sangre, no difieren entre sí por el test de Tukey.

Tabla 3. Alcoholemias de un sujeto del grupo III calculadas en el momento del delito derivadas de una CES de 0,65 g/L en el momento de la primera toma de muestra, que se supuso que era de 2 a 8 h después.

Horas transcurridas después del delito	Tasa de alcoholemia estimada en el momento del delito (Valor medio, g/L)	Dispersión de alcoholemia estimada (g/L)		Tasa de alcoholemia máxima menos la mínima (g/L)
		Mínima	Máxima	
2	0,95	0,85	1,35	0,50
3	1,10	0,95	1,70	0,75
4	1,25	1,05	2,05	1,00
5	1,40	1,15	2,40	1,25
6	1,55	1,25	2,75	1,50
7	1,70	1,35	3,10	1,75
8	1,85	1,45	3,45	2,00

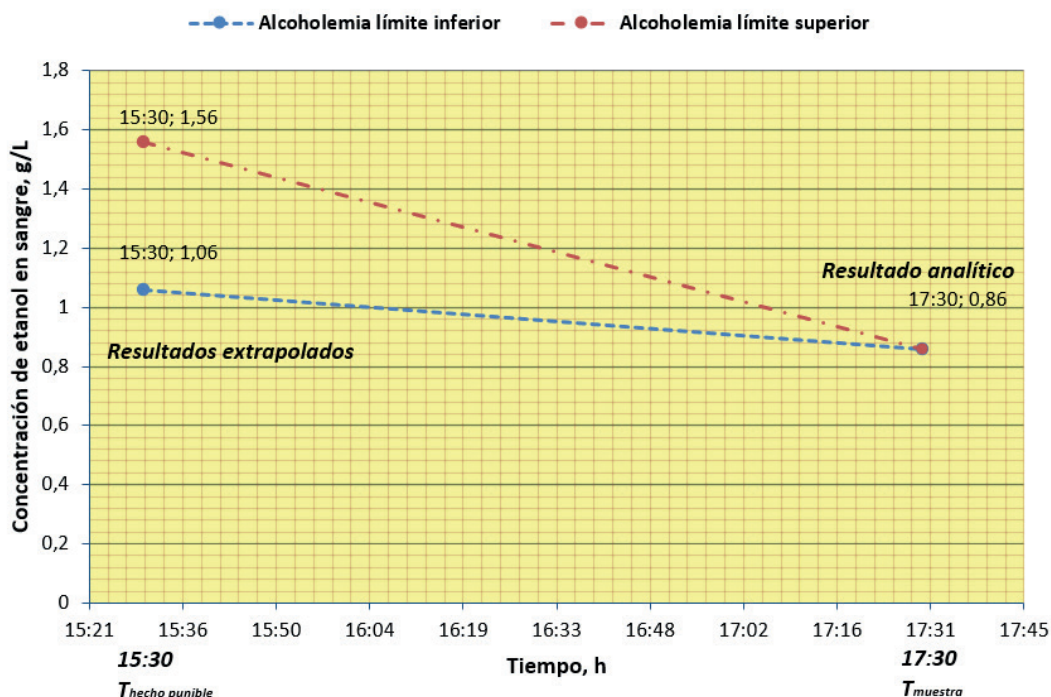


Figura 2. Representación gráfica del límite inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de la alcoholemia de un sujeto del grupo III.

sangre de cada persona examinada se hallaba en fase de eliminación, es decir, la segunda muestra de sangre del sujeto contenía menos cantidad de etanol que la primera.

El cálculo de extrapolación retrógrada⁹ se realizó en función del resultado promedio de la concentración de etanol de la primera muestra de sangre analizada y determinamos los límites probables superior e inferior de la estimación extrapolada aplicando la ecuación:

$$\beta_1 = \beta_2 + \beta t$$

Dónde: β_1 (g/L) es la estimación de la concentración de etanol previa basada en β_2 (g/L), la concentración de etanol medida durante la prueba analítica, β es la tasa de eliminación del etanol (g/L/h) y t es el tiempo transcurrido entre el suceso y la prueba analítica. Los límites inferior y superior para β fueron 0,10 y 0,35 g/L/h, respectivamente¹⁹. Se consideró que el accidente o hecho delictivo fueron cometidos entre 2 a 8 h antes del momento de extracción de la primera muestra de sangre para el análisis cuantitativo de etanol¹⁸.

Aplicaciones forenses

Se analizaron e interpretaron casos forenses sobre investigación de delitos relacionados con el etanol, como conducción en estado de ebriedad, homicidios, suicidios, intoxicaciones agudas por etanol que ameritaban la extrapolación retrospectiva de la alcoholemia precisando los límites probables superior e inferior aplicando la ecuación de Widmark²⁰.

Análisis estadístico

Los datos cuantitativos de alcoholemia fueron expresados como promedios y rango. Para evaluar las diferencias entre las medias de alcoholemias de la primera y segunda muestra de sangre en los diferentes grupos experimentales se utilizó el test de Tukey con $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Los resultados de las cuantificaciones de etanol en muestras de sangre sucesivas de los sujetos examinados se presentan en las Tablas 2 y 3, y Figuras 1 y 2.

DISCUSIÓN

La selección, recolección, preservación, cadena de custodia y remisión adecuadas de muestras biológicas para análisis toxicológicos es de suma importancia para que los resultados analíticos sean precisos y su interpretación posterior sea científicamente sólida y, por lo tanto, útil en la resolución de casos forenses²¹.

La figura 1 ilustra una curva típica de Widmark de concentración-tiempo de etanol en sangre obtenida después de que un individuo del grupo I bebió una dosis moderada de etanol (0,8 g/kg) como cerveza 5 % Alc. Vol., en 15 min, después de un ayuno nocturno de 10 h, junto con los parámetros toxicocinéticos de etanol determinados asumiendo una cinética de eliminación de orden cero, distinguiéndose las fases de absorción y

eliminación del etanol, el valor promedio de la tasa de eliminación del etanol de la sangre que comúnmente se conoce como pendiente β fue de 0,148 g/L/h. Esta tasa se obtuvo a partir de experimentos de consumo controlado y del seguimiento de los perfiles de concentración-tiempo del etanol, con una variación considerable entre individuos. Jones¹⁹ reportó que en experimentos basados en la evidencia sugieren que el rango fisiológico de las tasas de eliminación de etanol de la sangre es de 0,10 a 0,35 g/L/h. En bebedores moderados 0,15 g/L/h sigue siendo un buen valor promedio para la población, mientras que en conductores detenidos 0,19 g/L/h es más apropiado, ya que muchos de estos individuos son alcohólicos o bebedores compulsivos¹⁹. El volumen de distribución se calculó en 0,70 L/kg y representa un buen promedio para los sujetos masculinos. A los 60 min se alcanzó la concentración máxima de 1,05 g etanol/L sangre, la concentración de etanol en sangre disminuye a una tasa constante por unidad de tiempo de acuerdo con la cinética de saturación de orden cero. El etanol contenido en las bebidas alcohólicas se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal y la concentración máxima de etanol en sangre generalmente se alcanza entre 10 y 60 min después de la dosificación¹⁸.

El resultado analítico obtenido del programa de monitoreo biológico del etanol (figura 1) indicó el nivel de alcoholemia en los medios biológicos recolectados al momento del muestreo. Es necesario comprender a fondo la respuesta biológica del cuerpo humano al agente en este caso el etanol para extrapolar estos datos para comprender la exposición²². Los gráficos experimentales como este son útiles para evaluar la validez de los métodos de estimación de Widmark, pero normalmente no se pueden aplicar en casos de comisión de delitos bajo los efectos del etanol porque los valores de concentración de etanol en sangre generalmente son tomados en un único momento y, por lo tanto, el conjunto completo de datos toxicocinéticos requerido no está disponible⁹.

Según la figura 1, de la fase de eliminación del etanol se infiere que esta molécula se elimina rápidamente del organismo humano; por tal motivo, desde el enfoque toxicológico proponemos que una persona inmersa en un presunto hecho punible o accidente debe someterse al examen de alcoholemia obligatorio tan pronto como sea posible inmediatamente después de la agresión o accidente, intervenida, detenida o retenida²³; es decir, otorgando prioridad a este análisis forense con respecto a diligencias fiscales, policiales u otras que cada caso amerita; esto se justifica debido a que el etanol posee vida media corta en el cuerpo de la persona que ingirió bebidas alcohólicas⁸; con el transcurrir del tiempo, la continua y exclusiva biotransformación hepática destruye las moléculas de etanol absorbido¹⁹; por consiguiente, mientras más se retrasa en extraer las muestras de sangre para el análisis de alcoholemia disminuye las probabilidades de hallar etanol en sangre; por esta razón para la obtención de óptimos resultados de alcoholemia se debería actuar con celeridad y teniendo

en consideración el aforismo criminalístico “el tiempo que pasa es la verdad que huye”²⁴.

La alcoholemia es la medición más útil, ya que existe un rápido equilibrio a través de la barrera hematoencefálica, por lo que, la concentración de etanol en la sangre refleja la concentración de etanol que actualmente afecta el cerebro²⁵. El impacto en la función del SNC no tiene un umbral y, por lo tanto, cualquier cantidad de etanol afecta la función neuronal²⁶; la estimación de las concentraciones de etanol en la sangre proporciona información valiosa sobre la severidad de la intoxicación²⁷.

En la tabla 2 están reportados los niveles de alcoholemia en función de dos muestras de sangre extraídas en diferentes momentos a sujetos de los grupos experimentales II y III. En el grupo II los promedios de concentraciones de etanol obtenidos en la segunda muestra de sangre (A2S) fueron mayores que en la primera (A1S), demostrando fase de absorción del etanol (A2S>A1S); mientras que en el grupo III en todos los casos los promedios de concentraciones de etanol obtenidos en la segunda muestra de sangre fueron menores que en la primera, indicando fase de eliminación del etanol (A2S<A1S) esta es la condición indispensable previa a los cálculos de la alcoholemia retrospectiva; además, considerando 30 a 45 min la separación de extracción entre ambas muestras sanguíneas, para que los valores estimados sean precisos, válidos y fiables en todo momento. Por tanto, Biswas²⁵ señaló que la diferencia en los valores de concentración de etanol en sangre proporciona información sobre el estado de la curva de etanol en sangre (ascendente o descendente) y Vij² afirmó que, en la práctica forense, la magnitud de la relación A2S y A1S es un parámetro útil para evaluar antes de intentar una extrapolación retrospectiva. Jones¹² apoyó la validez del cálculo de alcoholemia retrospectiva, pero advierte la necesidad de efectuar dos determinaciones de alcoholemia, sucesivas, para asegurar que se está en la etapa neta de eliminación. Hernández et al.²⁸ afirmaron que se puede obtener una mayor precisión a la hora de determinar la alcoholemia en algún momento anterior; para ello se extraen dos muestras de sangre a los 30 y 60 min; de esta forma se puede medir el ritmo de eliminación aparente del etanol y saber en qué fase de la curva de etanol en sangre está en la persona; si la segunda determinación es menor significa que está en fase de eliminación y es entonces cuando puede estimarse el cálculo retrospectivo.

En la tabla 3 se exhiben los cálculos retrospectivos de la alcoholemia de un sujeto del grupo III a partir del resultado analítico de 0,65 g/L a tiempos de 2 a 8 h antes de la recolección de la primera muestra de sangre. El cálculo supone una cinética de orden cero y un promedio (rango) de las tasas de eliminación de etanol fue 0,15 g/L/h (0,10 a 0,35 g/L/h), que son apropiados para la mayoría de las personas sanas con una función hepática normal. El cálculo supone que el sospechoso había alcanzado la fase posterior al pico de la curva CES en el momento del delito y que no consumió más etanol antes de que se le extrajera sangre para los análisis¹⁸.

La figura 2 es una representación gráfica de los datos extrapolados de la concentración de etanol en sangre a la hora que ocurrió el hecho punible (15:30 h) que involucró a un integrante del grupo III como presunto autor de homicidio culposo cometido con un arma de fuego fue sometido al examen de alcoholemia (17:30 h), los resultados fueron 0,86 g etanol/L sangre en la primera muestra de sangre extraída después de 2 h de ocurrido el hecho punible y 0,74 g etanol/L sangre en la segunda muestra de sangre extraída 40 min después de la primera, demostrando fase de eliminación del etanol; con el primer resultado analítico determinamos los límites probables superior e inferior de la estimación extrapolada siendo 1,56 y 1,06 g etanol/L sangre, respectivamente; en este caso se observa claramente 0,50 el amplio rango de los resultados extrapolados de la concentración de etanol en sangre, ambas estimaciones excedieron el límite legal *per se* de 0,5 g etanol/L sangre y, por lo tanto, se deduce que la concentración de etanol en sangre del sospechoso habría excedido el límite legal en el momento del incidente²⁹. Este enfoque proporciona los límites superior e inferior del probable resultado extrapolado, con un intervalo de confianza del 95 %, basado en las tasas normales de eliminación de etanol en la población⁹.

En la figura 2 para la extrapolación retrógrada de la alcoholemia se aplicaron principios básicos de la toxicocinética para llegar a la estimación del resultado de etanol en la sangre de una persona en un momento anterior en función de una concentración medida en un momento posterior, asumimos dos extremos de las tasas probables de eliminación de etanol en conductores con problemas³⁰ que se utilizaron para estimar los límites probables superior e inferior de la concentración de etanol en un momento particular antes del muestreo, junto con un valor de eliminación “más probable”. La precisión y exactitud de las extrapolaciones retrógradas dependen de la tasa supuesta de eliminación de etanol de la sangre. Los cálculos que involucran extrapolación retrospectiva deben incluir un rango suficiente amplio de tasas de eliminación de etanol de la sangre (0,10 - 0,35 g/L/h) que probablemente incluya la tasa de eliminación del individuo, así como una tasa media de eliminación (0,13 - 0,17 g/L/h)^{19,31}.

Cuanto mayor es el tiempo transcurrido entre el momento de la extracción de la sangre y el momento que interesa conocer el estado de afectación alcohólica, mayor es el error²⁸. Si un sujeto en prueba tenía una tasa de alcoholemia detectada de 0,00 g etanol/L sangre en la primera o ambas muestras sucesivas de sangre analizadas, no es posible realizar el cálculo retroactivo de la alcoholemia a un momento anterior al instante de la extracción¹⁸.

La calidad y la utilidad de la estimación retrospectiva del etanol dependen de los supuestos subyacentes que se hagan para facilitar el proceso y asegurarse de que las estimaciones resultantes sean insesgadas, válidas y razonables. Con buena información y una cuidadosa consideración de las limitaciones importantes del

proceso, la extrapolación hacia atrás puede producir estimaciones altamente confiables de la concentración de etanol en sangre. La limitación clave es que la extrapolación inversa no se puede extender a la fase de absorción o distribución y, como tal, debe conocerse el patrón de ingestión de etanol o supuestos claramente identificados con respecto a ese patrón de ingestión²⁶.

4. CONCLUSIONES

Los niveles de alcoholemia de una persona obtenidas en dos muestras de sangre con separación de 30 a 45 min, la primera extraída inmediatamente ocurrido el hecho punible y en fase de eliminación permiten la estimación de los probables límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva con precisión y alta fiabilidad frente al estudio tradicional de alcoholemia con solo una muestra de sangre; su aplicación en Perú sería un valioso aporte en la investigación de delitos relacionados con el etanol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hoffman RS, Nelson LS, Howland MA, Lewin N, Flomenbaum NE, Goldfrank LR. *Goldfrank's Manual of Toxicology Emergencies*. New York: McGraw-Hill; 2007. 1126 p.
- Vij K. *Textbook of Forensic Medicine and Toxicology Principles and Practice*. 5th ed. New Delhi: Elsevier; 2011. 593 p.
- Aebi B, Bernahard W. *Modern Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Human Forensic Toxicology*. En: Riviere JE, editor. *Biological Concepts and Techniques in Toxicology*. New York: Taylor & Francis Group, LLC; 2006. p. 365-85.
- Fortmann R, Tulve NS, Clifton MS. *Sampling and Analysis for Nonoccupational Pesticide Exposure Assessments*. En: Krieger R, editor. *Hayes's Handbook of Pesticide Toxicology*. 3th ed. San Diego: Elsevier Inc; 2010. p. 977-94.2
- Mateus JA. *Biomarcadores del consumo de alcohol y su relación con la dosis*. [tesis doctoral en Internet]. [Barcelona]: Universidad Autónoma de Barcelona; 2019. [citado el 21 de diciembre de 2021]. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/10803/669713>
- Poklis A. *Toxicología Analítica e Forense*. Em: Klaassen CD, Watkins JB, editores. *Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull*. 2a ed. São Paulo: McGraw-Hill AMGH Editora Ltda.; 2012. p. 411-6.
- Iwai M, Kondo F, Susuki T, Ogawa T, Seno H. Quantification of ethanol in whole blood by extraction using NeedlEx® and gas chromatography/mass spectrometry. *Medical Mass Spectrometry* [Internet]. 2019 [citado el 12 de noviembre de 2021];3(1):1-5. Disponible en: <https://doi.org/10.24508/mms.2019.06.003>
- Levine BS, Caplan YH, Jones AW. Alcohol. In: Levine BS, Kerrigan S, editores. *Principles of Forensic Toxicology*. 5th ed. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. p. 287-316.
- Logan BK, Gullberg RG, Negrusz A, Jickells S. Alcohol, drugs and driving. In: Negrusz A, Cooper GAA, editores. *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. 2nd ed. London: Pharmaceutical Press; 2013. p. 303-24.
- Høiseth G, Wiik E, Kristoffersen L, Mørland J. Ethanol elimination rates at low concentrations based on two consecutive blood samples. *Forensic Sci Int* [Internet]. 2016 [Citado el 12 noviembre de 2021];266:191-6. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.05.039>.
- Dumas-Campagna J, Tardif R, Charest-Tardif G, Haddad S. Ethanol toxicokinetics resulting from inhalation exposure in human volunteers and toxicokinetic modeling. *Inhal Toxicol* [Internet]. 2014 [citado el 6 de diciembre de 2021];26(2):59-69. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/08958378.2013.853714>
- Jones AW. *Forensic Science Aspects of Ethanol Metabolism*. In: Maehly A, Williams RL, editors. *Forensic Science Progress*. Vol. 5. New Delhi: Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH; 1991. p. 31-79.
- Anderson WH. *Collection and Storage of Specimens for Alcohol Analysis*. In: Garriott JC, editor. *Garriott's Medicolegal Aspects of Alcohol*. 5th ed. Tucson: Lawyers & Judges Publishing Company, Inc.; 2017. p.275-83.
- Flanagan RJ, Cuypers E, Maurer HH, Whelpton R. *Fundamentals of Analytical Toxicology*. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd.; 2020. 599 p.
- Tiscione NB, Alford I, Yeatman DT, Shan X. Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. *J. Anal Toxicol* [Internet]. 2011 Sep [citado el 28 de octubre de 2021];35(7):501-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/anatox/35.7.501>
- Teske J, Albrecht U-V. *GC in Forensic Toxicology*. In: Dettmer-Wilde K, Engewald W, editors. *Practical Gas Chromatography*. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2014. p.767-82.
- Repetto M. *Toxicología del alcohol etílico*. En: Repetto M, editor. *Toxicología Avanzada*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 1995. p. 425-75.
- Jones AW. Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations. *WIREs Forensic Sci* [Internet]. 2019 [citado el 28 de diciembre de 2021]; 1:e1340. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/wfs2.1340>
- Jones AW. Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. *For Sci Int* [Internet]. 2010 [citado el 25 de octubre de 2021];200(1-3):1-20. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.021>.
- Gullberg RG. Estimating the uncertainty associated with Widmark's equation as commonly applied in forensic toxicology. *For Sci Int* [Internet]. 2007 [citado el 31 de diciembre de 2021];172(1):33-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.11.010>
- Molina DK. *Handbook of forensic toxicology for medical examiners*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2010. 370 p.
- Jones AW. Alcohol: Acute and Chronic Use and Postmortem Findings. In: Payne-James J, Byard RW, editors. *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*. 2nd ed. London: Elsevier; 2016. p.84-107. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800034-2.00013-6>
- Rao KN. *Forensic Toxicology. Medico - Legal Case Studies*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2012. 246 p.
- Santiago A. Levantamiento del cadáver. En: Anadón MJ, Robledo MM, editores. *Manual de Criminalística y Ciencias*

forenses. Técnicas forenses aplicadas a la investigación criminal. 2 ed. Madrid: Editorial Tévar Flores; 2017. p. 385-97.

24. Biswas G. Review of Forensic Medicine and Toxicology Including Clinical and Pathological Aspects. 3rd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.; 2015. 657 p.
25. Powers RH, Dean DE. Forensic Toxicology Mechanism Pathology. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, LLC; 2016. 252 p.
26. Barile FA. Clinical Toxicology Principles and Mechanisms. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2010. 467 p.
27. Hernández E, Bravo B, Mencías E. Alcoholes, cetonas y glicoles. En: Mencías E, Mayero L, editores. Manual de Toxicología Básica. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 2000. p. 335-85.
28. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos. Decreto Legislativo N° 635 Código Penal. [Internet]. 12 ed. Lima: Dosmasuno S.A.C.; 2016 [Actualizado 31 may 2016; citado el 14 de octubre de 2021]. 259 p. Disponible en: http://spijlibre.minjus.gob.pe/content/publicaciones_oficiales/img/CODIGOPENAL.pdf
29. Jones AW, Andersson L. Influence of age, gender, and blood-alcohol concentration on the disappearance rate of alcohol from blood in drinking drivers. J Forensic Sci [Internet]. 1996 Nov [citado el 12 de setiembre de 2021]; 41:922-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8914281/>
30. Barceloux DG. Medical toxicology of drug abuse: synthesised chemicals and psychoactive plants. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2012; 1041 p.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

Fuente de financiamiento

Este trabajo de investigación ha sido desarrollado en el marco del Programa de Promoción de Tesis de Posgrado para docentes de la UNMSM-2018, financiado por el Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con código de proyecto A18040066 y Resolución Rectoral N° 00252-R-19