Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Monitorización toxicológica de etanol, alcoholemia en función de dos muestras sanguíneas sucesivas y su aplicación forense en el Perú

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica

AUTOR

Mg. Luis Alberto INOSTROZA RUÍZ

ASESOR

Dr. Américo Jorge CASTRO LUNA

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Inostroza L. Monitorización toxicológica de etanol, alcoholemia en función de dos muestras sanguíneas sucesivas y su aplicación forense en el Perú [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica/Unidad de Posgrado; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Luis Alberto Inostroza Ruíz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	18089817
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-8038-0730
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Américo Jorge Castro Luna
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	25455526
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8012-967X
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	José Alfonso Apesteguia Infantes
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09359857
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Américo Jorge Castro Luna
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25455526
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Edgar Robert Tapia Manrique
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09440524
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Gloria Clotilde Gordillo Rocha

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10223170
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.3.5. Toxicología forense
Grupo de investigación	Recursos Naturales - RENATU
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de Promoción de Tesis de Posgrado para docentes de la UNMSM. A18040066 - PTPDOCTO
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Calle: Jr. Puno № 1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2019 - diciembre 2022
URL de disciplinas OCDE	Toxicología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07 Ciencia forense https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.05.01 Química analítica https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.04.07

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las **11:00 hrs. del 13 de julio de 2023** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado de tesis, presidido por el Dr. José Alfonso Apesteguia Infantes e integrado por los siguientes miembros: Dr. Américo Jorge Castro Luna (asesor), Dr. Edgar Robert Tapia Manrique y la Dra. Gloria Glotilde Gordillo Rocha; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"MONITORIZACIÓN TOXICOLÓGICA DE ETANOL, ALCOHOLEMIA EN FUNCIÓN DE DOS MUESTRAS SANGUÍNEAS SUCESIVAS Y SU APLICACIÓN FORENSE EN EL PERÚ"**, presentado por el Magíster en Toxicología **Luis Alberto Inostroza Ruíz.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica**, Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado de la tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Diecinueve (19) - Excelente

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Magíster en Toxicología **Luis Alberto Inostroza Ruíz**, el Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica**.

Siendo las 13:20 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 13:30 hrs. del 13 de julio de 2023

Dr. José Alfonso Apesteguia Infantes (P. P. T.C.)
Presidente

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P. D.E.)
Miembro - Asesor

Dr. Edgar Robert Tapia Manrique (P. Asoc. T.C.)
Miembro

Dra. Gloria Glotilde Gordillo Rocha (P.P. T.C.)
Miembro

Observaciones:

.....

.....

LA DIRECTORA DE LA UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS QUE SUSCRIBE DEJA,

CONSTANCIA

00014-FFB-UPG-2023

Que, mediante procedimiento de la evaluación de originalidad según Resolución Rectoral N° 043005-R-18, de la tesis intitulada: **MONITORIZACIÓN TOXICOLÓGICA DE ETANOL, ALCOHOLEMIA EN FUNCIÓN DE DOS MUESTRAS SANGUÍNEAS SUCESIVAS Y SU APLICACIÓN FORENSE EN EL PERÚ,** presentado por **Luis Alberto Inostroza Ruíz,** con fecha de recepción 08/06/2023, con fecha de aplicación al programa de similitud el 14/06/2023 con el software utilizado el TURNITIN, con la configuración de exclusión de textos entrecomillas, bibliografías y cadenas menores a 40 palabras, mediante el procedimiento de la evaluación de originalidad, el porcentaje de similitud según programa detector es **5%**, por lo que, cumple los criterios de originalidad sin observación, según informe adjunto.

Se expide la presente constancia para el trámite de expedito, según lo establecido en el Reglamento General de Estudios de Posgrado 2018, aprobado con RR. 04790-R-18.

Lima, 14 de junio del 2023

UNMSM
Firmado digitalmente por RAMOS CEVALLOS Norma Julia FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16.06.2023 13:33:15 -05:00

DRA. NORMA JULIA RAMOS CEVALLOS
DIRECTORA

NJRC/ecj

DEDICATORIA

A **Dios** por darme vida, salud, felicidad y por guiarme en el camino del bien.

En memoria a mis abuelitos don ***Juan Alberto Ruíz Gamboa*** por ser ejemplo de estudio, trabajo, … y doña ***María Elísea Briceño García*** por su ternura, generosidad, …

En memoria a mi querido "papá Ruíz" don ***Juan Gonzalo Ruíz Briceño***, por su amor, cariño, altruismo, …

En memoria a mi madrecita doña ***Maximina Ruíz Briceño***, por su espíritu de superación, sencillez, abnegación, perseverancia, solidaridad, …, siempre perdurará en mi mente, en mi corazón.

A mis hijos porque son los tesoros que el Señor Todopoderoso me brindó, por no estar junto a ellos en los momentos valiosos de su niñez y adolescencia, espero su comprensión, mi amor imperecedero.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Américo Jorge Castro Luna**, maestro y guía, por sus sabios consejos que permitieron la culminación del presente trabajo de investigación.

Al **Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, por el financiamiento de este trabajo de investigación que fue desarrollado en el marco del Programa de Promoción de Tesis de Posgrado para docentes de la UNMSM-2018, con código de proyecto A18040066 y aprobado por Resolución Rectoral № 00252-R-19.

A los docentes miembros del Jurado de tesis por sus valiosas sugerencias que permitieron mejorar la redacción de la presente investigación.

ÍNDICE

Dedicatoria…….. iii
Agradecimiento……... iv
Resumen…….. vii
Abstract……... viii
Resumo…… ix
Índice de tablas…… x
Índice de figuras…….. xi

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN…….. 1
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO…….. 3
2.1 Antecedentes……. 3
2.2 Aspectos teóricos…….. 4
2.2.1 Química de las bebidas alcohólicas……..... 4
2.2.2 Etanol……. 6
2.2.2.1 Generalidades…….. 6
2.2.2.2 Biomonitorización del etanol…….. 7
2.2.2.3 Toxicocinética del etanol……..... 8
2.2.2.4 La ecuación de Widmark……..... 12
2.2.2.5 Mecanismo de acción…….. 14
2.2.2.6 Mecanismo de toxicidad aguda de etanol……..... 14
2.2.2.7 Efectos clínicos agudos del etanol y correlación con la alcoholemia…… 14
2.2.2.8 Diagnóstico de intoxicación por etanol……... 17
2.2.3 Análisis toxicológicos forenses…….. 18
2.2.4 Determinaciones de alcoholemia por cromatografía de gases con detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza……..... 20
2.2.5 Extrapolación retrógrada de alcoholemia……..... 24
2.2.6 Embriaguez etílica…….. 26
2.2.6.1 Etanol y accidentes vehiculares…….. 26
2.2.6.2 Etanol y delitos…… 27
2.2.7 Aspectos legales y regulatorios sobre alcoholemia en Perú y otros países.... 27
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA……. 32
3.1 Tipo y diseño de investigación…….. 32
3.2 Consideraciones éticas……... 32
3.3 Unidad de análisis……. 32
3.4 Población de estudio…… 32
3.5 Tamaño de muestra…… 32
3.6 Criterios de selección……. 32
3.6.1 Criterios de inclusión…….. 32
3.6.2 Criterios de exclusión……. 33
3.7 Sujetos voluntarios…… 33
3.8 Instrumentación……. 33
3.9 Productos químicos……... 33
3.10 Exposición a etanol de los sujetos voluntarios……..... 33
3.11 Técnica de muestreo de sangre para cuantificación de etanol……..... 34
3.12 Determinación de etanol en muestras de sangre por cromatografía de gases… 34
3.13 Cálculos toxicocinéticos y curvas de etanol en sangre…… 34

3.14 Extrapolación retrospectiva de la alcoholemia……..... 36
3.15 Aplicaciones forenses…… 36
3.16 Análisis estadístico…….. 36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS……..... 37
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN…… 51
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES……..... 61
CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..... 62
CAPÍTULO VIII. ANEXOS……..... 67
8.1 Anexo 1. Formato de consentimiento informado……..... 68
8.2 Anexo 2. Cuestionario epidemiológico sobre la salud de las personas voluntarias que participaron en la investigación sobre alcoholemia……... 69
8.3 Anexo 3. Línea del tiempo de la determinación de alcoholemia de un sujeto desde el momento de la comisión del hecho punible hasta la emisión del informe pericial de alcoholemia……..... 70
8.4 Anexo 4. Propuesta de proyecto de Resolución Ministerial sobre procedimientos para la optimización y estandarización del examen de alcoholemia en personas y cadáveres involucrados en hechos punibles asociados al consumo de etanol en el Perú ……..... 71

RESUMEN

Introducción: El etanol es la sustancia psicoactiva cuyo consumo excesivo es el responsable o contribuyente de accidentes fatales, intoxicaciones y muchos crímenes violentos. **Objetivo**: monitorizar los niveles de etanol en sangre de personas con posingestión de bebidas alcohólicas y evaluar la aplicación forense en el Perú de la alcoholemia en función de dos muestras sanguíneas sucesivas en el cálculo de la alcoholemia retrospectiva. **Métodos**: los sujetos voluntarios fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos experimentales (Grupos I, II y III) y un grupo de control (Grupo IV) todos fueron evaluados bajo las mismas condiciones de consumo controlado de bebidas alcohólicas, los del grupo I recibieron por vía oral una dosis de etanol 0,8 g/kg como cerveza 5 % (v/v) y los sujetos de los grupos II y III ingirieron cerveza *ad libitum* sin sobrepasar 1,0 g/kg. Se utilizaron dos muestras de sangre recolectadas sucesivamente a diferentes intervalos de tiempo. El etanol en todas las muestras de sangre se cuantificó por cromatografía de gases con detector de ionización de llama. El volumen de distribución (V_d) y la tasa de eliminación del etanol de la sangre fueron determinados asumiendo una cinética de eliminación de orden cero. Mediante el coeficiente de etiloxidación y la ecuación de Widmark se estimaron los límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva retrotrayendo los resultados desde la alcoholemia de la primera muestra de sangre. **Resultados**: el perfil toxicocinético del etanol en los sujetos del grupo I exhibe un aumento de concentración de etanol en sangre (absorción) para alcanzar una concentración máxima promedio de 1,05 g/L a los 60 min seguida de una fase decreciente rectilínea (eliminación), el promedio del V_d y la tasa de eliminación del etanol fueron 0,70 L/kg y 0,148 g/L/h, respectivamente. Los promedios de alcoholemias en la segunda muestra de sangre (A_{2S}) de los sujetos del grupo III fueron menores que la primera (A_{1S}) indicando fase de eliminación del etanol ($A_{2S}<A_{1S}$) con esta condición los valores obtenidos de alcoholemia retrospectiva fueron fiables y válidos con fines forenses. **Conclusión**: se demostró la utilidad del monitoreo toxicológico para cuantificar etanol en dos muestras de sangre sucesivas de sujetos con posingestión de bebidas alcohólicas, estableciendo que la primera muestra de sangre sea extraída inmediatamente ocurrido el hecho punible, con 30 a 45 min de intervalo y el etanol en fase de eliminación permitieron estimar los límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva con exactitud y alta fiabilidad frente al estudio tradicional de alcoholemia con solo una muestra de sangre; su aplicación forense en Perú sería un valioso aporte en la investigación de delitos relacionados con el etanol.

Palabras clave: alcoholemia; alcoholemia retrospectiva; cromatografía de gases; dos muestras sanguíneas sucesivas; etanol; forense; monitoreo.

ABSTRACT

Introduction: Ethanol is the psychoactive substance whose excessive consumption is responsible for or contributes to fatal accidents, intoxications and many violent crimes. **Objective**: to monitor blood ethanol levels in persons with alcoholic beverages post-ingestion and to evaluate the forensic application in Peru of blood alcohol concentration based on two successive blood samples in the calculation of retrospective blood alcohol concentration. **Methods**: the volunteer subjects were randomly distributed into three experimental groups (Groups I, II and III) and a control group (Group IV) all were evaluated under the same conditions of controlled consumption of alcoholic beverages, those in group I received orally a dose of ethanol 0.8 g/kg as 5 % (v/v) beer and the subjects in groups II and III ingested beer *ad libitum* without exceeding 1.0 g/kg. Two blood samples collected successively at different time intervals were used. Ethanol in all blood samples was quantified by gas chromatography with flame ionization detector. The volume of distribution (V_d) and the rate of elimination of ethanol from the blood were determined assuming zero-order elimination kinetics. Using the ethyl oxidation coefficient and Widmark's equation, the upper and lower limits of retrospective BAC were estimated by regressing the results from the BAC of the first blood sample. **Results**: the toxicokinetic profile of ethanol in group I subjects exhibits an increase in blood ethanol concentration (absorption) to reach an average maximum concentration of 1.05 g/L at 60 min followed by a rectilinear decreasing phase (elimination), the average V_d and elimination rate of ethanol were 0.70 L/kg and 0.148 g/L/h, respectively. The average blood alcohol levels in the second blood sample (A_{2S}) of group III subjects were lower than the first (A_{1S}) indicating ethanol elimination phase ($A_{2S}<A_{1S}$) with this condition the retrospective blood alcohol values obtained were reliable and valid for forensic purposes. **Conclusion**: The usefulness of toxicological monitoring to quantify ethanol in two successive blood samples of subjects with post-ingestion of alcoholic beverages was demonstrated, establishing that the first blood sample is extracted immediately after the punishable event, with 30 to 45 min interval and the ethanol in elimination phase allowed estimating the upper and lower limits of retrospective blood alcohol content with accuracy and high reliability compared to the traditional study of blood alcohol content with only one blood sample; its forensic application in Peru would be a valuable contribution in the investigation of crimes related to ethanol.

Keywords: blood alcohol, retrospective blood alcohol; gas chromatography; two successive blood samples; ethanol; forensic; monitoring.

RESUMO

Introdução: O etanol é a substância psicoativa cujo consumo excessivo é responsável ou contribui para acidentes fatais, intoxicações e muitos crimes violentos. **Objetivo**: monitorar os níveis de etanol no sangue em pessoas que bebem após o consumo de álcool e avaliar a aplicação forense no Peru da concentração de álcool no sangue com base em duas amostras de sangue sucessivas no cálculo da concentração retrospectiva de álcool no sangue. **Métodos**: os voluntários foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais (Grupos I, II e III) e um grupo de controle (Grupo IV), todos foram testados sob as mesmas condições de consumo controlado de bebidas alcoólicas, os do Grupo I receberam uma dose oral de etanol de 0,8 g/kg como cerveja a 5% (v/v) e os dos Grupos II e III ingeriram cerveja *ad libitum* sem exceder 1,0 g/kg. Foram usadas duas amostras de sangue coletadas sucessivamente em intervalos de tempo diferentes. O etanol em todas as amostras de sangue foi quantificado por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. O volume de distribuição (V_d) e a taxa de eliminação do etanol do sangue foram determinados com base na cinética de eliminação de ordem zero. Usando o coeficiente de etil-oxidação e a equação de Widmark, os limites superior e inferior da alcoolemia retrospectiva foram estimados regredindo os resultados de volta à alcoolemia da primeira amostra de sangue. **Resultados**: O perfil toxicocinético do etanol nos indivíduos do grupo I apresenta um aumento na concentração de etanol no sangue (absorção) para atingir um pico médio de concentração de 1,05 g/L em 60 minutos, seguido por uma fase de redução retilínea (eliminação), a média do V_d e a taxa de eliminação do etanol foram de 0,70 L/kg e 0,148 g/L/h, respectivamente. Os valores médios de alcoolemia na segunda amostra de sangue (A_{2S}) dos indivíduos do grupo III foram menores do que na primeira (A_{1S}), indicando a fase de eliminação do etanol ($A_{2S}<A_{1S}$) com esta condição, os valores retrospectivos de alcoolemia obtidos foram confiáveis e válidos para fins forenses. **Conclusão**: Foi demonstrada a utilidade do monitoramento toxicológico para quantificar o etanol em duas amostras de sangue sucessivas de indivíduos com pós-ingestão de bebidas alcoólicas, estabelecendo que a primeira amostra de sangue deve ser coletada imediatamente após o evento punível, com 30 a 45 minutos de intervalo, e o etanol na fase de eliminação permitiu estimar os limites superior e inferior da alcoolemia retrospectiva com precisão e alta confiabilidade em comparação com o estudo tradicional da alcoolemia com apenas uma amostra de sangue; sua aplicação forense no Peru seria uma contribuição valiosa na investigação de crimes relacionados ao etanol.

Palavras-chave: álcool no sangue; álcool no sangue retrospectivo; cromatografia em fase gasosa; duas amostras de sangue sucessivas; etanol; forense; monitoramento.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rangos típicos del contenido de etanol en diferentes bebidas alcohólicas. 5
Tabla 2. Recipiente, capacidad, grado alcohólico de la bebida y cálculo de la ingesta de etanol……... 5
Tabla 3. Etapas de intoxicación o influencia alcohólica aguda en relación con la concentración de etanol en sangre…… 16
Tabla 4. Fármacos depresores del sistema nervioso central frecuentemente asociados con alteraciones en la conducción de vehículos automotores y hechos punibles……..... 17
Tabla 5. Criterios diagnósticos de intoxicación por etanol, según el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV) ……... 18
Tabla 6. Concentración de etanol en sangre permisible en diferentes países…..…. 28
Tabla 7. Pena privativa de la libertad, inhabilitación en casos de homicidio y lesiones culposas, conducción en estado ebriedad y otros casos; según Ley № 29439……... 30
Tabla 8. Pena privativa de libertad, inhabilitación y circunstancias agravantes en casos de feminicidio, lesiones graves por violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar, lesiones leves y maltrato; según ley № 30819…… 31
Tabla 9. Condiciones cromatográficas del equipo cromatógrafo de gases, detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza……..... 35
Tabla 10. Datos para la elaboración de la curva de calibración. Concentraciones de las soluciones estándar de etanol con sus relaciones de áreas (etanol/n-propanol) reportadas por el cromatógrafo de gases..... 37
Tabla 11. Concentraciones de alcoholemia en las primeras y segundas muestras de sangre extraídas en varios intervalos de tiempo a sujetos de los grupos II y III… 42
Tabla 12. Concentraciones de etanol en sangre de un sujeto del grupo III calculadas para el momento de la comisión del delito derivadas de una alcoholemia de 0,25 g/L obtenida en la primera muestra de sangre que fue extraída 2 a 8 h después del hecho punible. El cálculo supone una cinética de orden cero con rango de tasas de eliminación de etanol de 0,10 a 0,35 g/L/h …….. 43
Tabla 13. Datos del caso toxicológico forense sobre "conducción de vehículo automotor en estado de ebriedad", alcoholemias en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) con intervalo de 30 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark……... 45
Tabla 14. Datos del caso toxicológico forense sobre "delito contra la vida el cuerpo y la salud-homicidio en estado de ebriedad" alcoholemias en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) extraídas con intervalo de 45 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark…….. 47
Tabla 15. Datos del caso toxicológico forense sobre "lesiones graves por violencia contra la mujer en estado de ebriedad", alcoholemias en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) con intervalo de 60 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark……..... 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vía principal del metabolismo oxidativo del etanol…… 8
Figura 2. Curva teórica de etanol en sangre basada en la ecuación de Widmark... 13
Figura 3. Aparato para analitos volátiles: vial de espacio de cabeza para cromatógrafo de gases…… 22
Figura 4. Principios de la cromatografía de gases con muestreador de espacio de cabeza estático…… 22
Figura 5. Curva de calibración para cuantificación de alcoholemia en personas por cromatografía de gases con detector de ionización a la llama…… 38
Figura 6. Cromatograma obtenido del cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama, presentando al etanol (t_R = 1,452) y n-propanol (t_R = 2,397). 39
Figura 7. Expresión del nivel de etanol en sangre aplicando el truncamiento por las centésimas en un valor cuantificado de etanol en el límite legal (0,25 g/L) permitido en Perú para un sujeto del grupo II conductor de un vehículo automotor de transporte público de mercancías …….....……..…… 40
Figura 8. Perfil de la curva de concentración-tiempo de etanol en sangre resultante en los sujetos del grupo I con ayuno nocturno de 10 h que recibieron por vía oral una dosis moderada de etanol (0,8 g/kg) como cerveza 5 % Alc. Vol. en un tiempo de consumo de 10 min……... 41
Figura 9. Representación gráfica del límite inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de la alcoholemia de un sujeto del grupo III……... 44
Figura 10. Caso toxicológico forense sobre "conducción de vehículo motorizado en estado de ebriedad". **A).** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B).** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de la ocurrencia del hecho punible en función de la A_{1S}…… 46
Figura 11. Caso toxicológico forense sobre "delito contra la vida, el cuerpo y la salud-homicidio, en estado de ebriedad". **A).** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B).** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de ocurrencia del hecho punible en función de la A_{1S}…… 48
Figura 12. Caso toxicológico forense sobre "lesiones graves por violencia contra la mujer, en estado de ebriedad". **A).** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B).** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de ocurrencia del hecho en función de la A_{1S}……... 50

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El consumo de bebidas alcohólicas forma parte de las costumbres sociales de nuestro contexto, por lo cual muchas personas mayores de edad están habituadas y, a diferencia de otras drogas de abuso, se consiente y promociona su venta y consumo; por su naturaleza, es un problema de salud pública, asimismo se convierte en un problema social por las trascendentes repercusiones que tiene en diversos aspectos de la vida cotidiana: en el ámbito familiar, ocupacional y social. A partir del enfoque medicolegal se trata de un problema de alta frecuencia, porque el etanol suele estar asociado en múltiples sucesos vinculados con el ámbito judicial: accidentes de tránsito y laborales, riñas, peleas, homicidios, feminicidios, suicidios y lesiones graves por violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar; entonces, probablemente la alcoholemia, sea el examen químico más solicitado en laboratorios de toxicología forense[1].

El abuso de drogas y la influencia de sustancias como el etanol que actúan sobre el sistema nervioso central humano durante o justo antes de un evento determinado, son problemas más comunes que pertenecen al campo de la toxicología forense conductual[2]. Las cuantificaciones de etanol en sangre son obligatorias en las investigaciones toxicológicas clínicas y forenses[3].

En la mayoría de los casos ha transcurrido algún tiempo entre el momento en que se detiene a una persona por sospecha de la comisión de un delito o accidente y el momento en que se extraen las muestras de sangre para determinación de alcoholemia. Durante este tiempo el nivel de etanol en el organismo de una persona disminuirá debido a los procesos normales de distribución, metabolismo y excreción. Por lo tanto, el nivel de alcoholemia en el momento del muestreo probatorio no será el mismo que en el momento en que se cometió el delito. Entonces, existe la necesidad de proporcionar una estimación retrógrada de la concentración de etanol en sangre de una persona en el momento que ocurrió el hecho punible[4].

Actualmente en Perú, las personas que han participado en un hecho delictivo o accidente de tránsito, son conducidas por la autoridad policial a los laboratorios toxicológicos y dosaje etílico del Sistema Criminalístico Policial, Dirección de Sanidad Policial o Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Ministerio Público para que sean sometidas a exámenes de ley, entre ellos el de alcoholemia, este es realizado solo en una muestra de sangre del sujeto, y generalmente extraída varias horas después de ocurrido el hecho. La interpretación del único valor de alcoholemia obtenido presenta una serie de limitaciones, tales como: no aporta información sobre la toxicocinética del etanol, no representa a la alcoholemia en el momento en que ocurrió el suceso, no refiere si el etanol medido está en fase de absorción, distribución o eliminación; aún más, es utilizado con frecuencia por peritos químicos como valor referencial en estimaciones de alcoholemia retrospectiva; sin embargo, estos datos hallados no serían validos debido a que el etanol no siempre está en fase de eliminación.

A través de nuestro estudio proponemos que en Perú la determinación de alcoholemia en personas en casos de comisión de delitos, accidentes o infracciones a la ley penal se realice en función de dos muestras de sangre extraídas en dos momentos sucesivos, con la finalidad de obtener valores de alcoholemia en puntos diferentes que son necesarios para la confirmación de que el sujeto se encuentra en fase de eliminación del etanol, y en

base a esto, se realice la estimación de los probables límites inferior y superior de alcoholemia retrospectiva en el momento de la perpetración del hecho punible, esto sería un ejercicio forense legítimo, y a la vez presentando resultados de alcoholemia retrógrada fiables que permitan garantizar una interpretación precisa de los hallazgos de etanol para que los operadores de justicia, como responsables de tomar decisiones, dicten una sanción merecida al autor del delito; además, para prevenir cuestionamientos a los informes periciales de alcoholemia y con el propósito de sugerir a las autoridades pertinentes la estandarización de las acciones nacionales sobre detección oportuna de etanol en sangre y posible intoxicación alcohólica aguda.

Por lo expuesto, la presente investigación tuvo como finalidad biomonitorizar el etanol en sangre de personas con posingestión de bebidas alcohólicas y determinar la alcoholemia en función de dos muestras de sangre sucesivas como propuesta para su aplicación forense en Perú en el cálculo de la alcoholemia retrospectiva.

La presente investigación persigue los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la monitorización toxicológica del etanol y alcoholemia en función de dos muestras de sangre sucesivas en personas posconsumo de bebidas alcohólicas y su aplicación forense en el Perú.

Objetivos específicos

1. Monitorizar los niveles de etanol en sangre y determinar los parámetros toxicocinéticos del etanol en personas voluntarias con posadministración oral de una dosis moderada de etanol (0,8 g/kg) como cerveza.

2. Cuantificar la alcoholemia de sujetos con dosificación controlada de cerveza en dos muestras de sangre sucesivas extraídas a diferentes intervalos de tiempo; por cromatografía de gases con detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza.

3. Estimar los límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva en sujetos voluntarios consumidores de cerveza, considerando que el hecho punible ha transcurrido 2 a 8 h antes de la extracción de la primera muestra de sangre, asumiendo una cinética de orden cero y aplicando la ecuación de Widmark.

4. Evaluar la aplicabilidad de la alcoholemia retrospectiva obtenida en función de dos muestras sanguíneas sucesivas frente al estudio tradicional de alcoholemia con solo una muestra de sangre de personas en casos forenses relacionados con el etanol sucedidos en el Perú.

5. Proponer un proyecto de resolución ministerial sobre “procedimientos que permitan la optimización y estandarización de la alcoholemia en personas involucradas en hechos punibles asociados con el consumo de etanol en el Perú”; aplicando criterios técnico-científicos y químico-toxicológicos.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Jones[5] 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. Es importante tener en consideración que los cálculos en que está involucrado el coeficiente de etiloxidación, solamente tiene validez en la fase de eliminación, es decir, en la rama descendente de la curva absorción-eliminación del etanol".

Repetto[6] reportó que "debe tenerse presente que los cálculos con el coeficiente de etiloxidación (β) no son válidos en la primera fase de la curva de la alcoholemia, cuando todavía hay absorción, sino después del máximo, al menos una hora después de la ingestión. En caso de duda, por desconocer cuando dejó de beber el individuo, se pueden efectuar dos extracciones de sangre, con una hora de diferencia; los respectivos valores de alcoholemia nos indicarán la fase de la curva en que se hallaba la persona, ya que, si la segunda alcoholemia es mayor que la primera, el individuo se encontraba en fase de absorción" (p446). Por otra parte, también mencionó que "algunas jurisdicciones requieren duplicar las determinaciones a los pocos minutos de la primera, con el objeto de asegurar la repetibilidad del método, tanto en los aspectos biológicos (momento de la curva cinética) como analíticos (instrumento); se suele admitir una dispersión de ± 0,2 g/L" (p437).

Hernández et al.[1] afirmaron que "se puede obtener una mayor precisión al momento de determinar la concentración de alcoholemia en un instante específico; para ello se toman dos muestras de sangre a los 30 y 60 min. De esta manera se puede evaluar el ritmo de eliminación aparente del etanol y saber en qué fase de la curva se encuentra la persona; si la segunda determinación es menor indica que está en fase de eliminación y es entonces cuando puede hacerse el cálculo retrógrado" (p348).

Powers et al.[7] reportaron que si bien dos muestras de sangre secuenciales permiten generalmente la determinación de la tasa real de eliminación de etanol para un individuo en particular en un momento determinado (y son el mejor medio para la determinación de la tasa de eliminación), un valor promedio razonable que se utiliza comúnmente para propósitos de estimación es ~0,20 g/L; asimismo, cualquier uso responsable de una tasa de eliminación estimada requiere la consideración de la incertidumbre asociada con el proceso. La base para la extrapolación inversa es simplemente que para cualquier concentración de etanol en sangre (CES) mayor que 0,20 g/L y menor que 3,5 g/L, la tasa de eliminación tiende a ser esencialmente lineal, en función de la saturación de alcohol deshidrogenasa. Si uno conoce o puede hacer una estimación razonable de la tasa de eliminación del individuo en cuestión (por ejemplo, se han determinado dos concentraciones de alcohol en sangre secuenciales, con tiempo conocido entre las muestras), la diferencia de tiempo entre el tiempo conocido y el objetivo se puede multiplicar por la tasa de eliminación, y la concentración de etanol en sangre resultante se suma al valor conocido para proporcionar una estimación de CES en el tiempo objetivo.

El Instituto Médico Forense del Poder Judicial de la Provincia del Chaco de la República de Argentina estableció que para los casos forenses en que "la muestra de sangre tenga como finalidad la investigación de alcoholemia, se debe realizar dos extracciones sucesivas de sangre por punción venosa, con una hora exacta de diferencia entre ellas. Esta disposición tiene por finalidad posibilitar el cálculo de alcoholemias retrógradas o retrospectivas al momento del hecho que se imputa"[8].

2.2 Aspectos teóricos

2.2.1 Química de las bebidas alcohólicas

Las bebidas alcohólicas son aquellos líquidos bebibles que, por diferentes procedimientos (adición, destilación, extracción, fermentación, etc.), incluyen en su composición más de 0,5 % (v/v) de etanol[9].

La Norma Técnica Peruana NTP 210.019 2018[10] define que la bebida alcohólica "es el producto apto para el consumo humano, obtenido por procesos de fermentación principalmente alcohólica de la materia prima agrícola que sirve como base utilizando levaduras del género *Saccharomyces*, sometida o no a destilación, rectificación, redestilación, infusión, maceración o cocción en presencia de productos naturales, susceptibles de ser añejadas, que pueden presentarse en mezclas de bebidas alcohólicas y pueden estar adicionadas de ingredientes y aditivos permitidos por el organismo de control correspondiente, y con una graduación alcohólica mayor de 0,5 % Alc. Vol. a 55 % Alc. Vol."

La concentración del etanol especificada en las etiquetas de la mayoría de los envases de bebidas alcohólicas es volumen de etanol por volumen de bebida (v/v)[11], pero los cálculos fisiológicos generalmente se realizan a través del peso del etanol en un volumen dado de fluido corporal (w/v)[12].

Las tres principales bebidas alcohólicas son las cervezas, los vinos y los licores, y se diferencian por la cantidad de etanol que contienen, que se refleja en su % v/v o % de alcohol por volumen (A/V). Esto difiere por un factor de aproximadamente 10, siendo las bebidas de licor 35 - 45 % A/V, los vinos de mesa 8 - 12 % A/V y las cervezas 3 - 9 % A/V[13].

En la tabla 1 se ilustra los rangos típicos de valores para el contenido de etanol de diferentes bebidas alcohólicas, lo que puede definir "una bebida" en términos de su porcentaje de contenido de etanol por volumen[6]; es curioso consignar que la costumbre ha establecido, para cada bebida alcohólica, el uso de vasos y copas cuyas capacidades son función de la concentración, para que las "dosis" de etanol sean similares[9] (ver Tabla 2).

El etanol para bebidas alcohólicas se produce por fermentación de un azúcar (procedente de cereales, verduras o frutas) con levadura; si se utiliza cereal como materia prima, primero debe maltearse para convertir el almidón en maltosa, ya que la levadura no puede fermentar el almidón[14]. Las enzimas de la levadura de cerveza convierten una molécula de glucosa o fructuosa en dos moléculas de etanol y se produce dióxido de carbono durante el proceso de fermentación alcohólica. Dependiendo de las condiciones, como la

cepa particular de levadura utilizada y la fuente de la materia prima de carbohidratos, se pueden obtener concentraciones de etanol de hasta 15 % v/v mediante fermentación. Al alcanzar concentraciones más altas, las células de levadura se inactivan y cesa la fermentación. Las bebidas alcohólicas más concentradas se producen por destilación del producto de fermentación inicial o añadiéndole soluciones de etanol más concentradas[15].

Tabla 1. Rangos típicos del contenido de etanol en diferentes bebidas alcohólicas

Bebida alcohólica	Contenido de etanol (% en volumen)
Cerveza de barril	2,5 - 3
Cerveza de botella	3,5 - 5
Cerveza inglesa	8
Sidra	5 - 6
Champán	10 - 13
Vinos	10 - 16
Anís	29 - 30
Cremas de licores	30
Vodka	35 - 50
Pisco	40 - 45
Coñac. Brandy	40 - 47
Ron	40 - 50
Ginebra	47
Kirsch	50
Tequila. Whisky	40 - 55

Fuente. Modificado de Repetto[6]. Toxicología del alcohol etílico; 1995. p.428.

Tabla 2. Recipiente, grado alcohólico de la bebida, capacidad y cálculo de la ingesta de etanol.

Vaso/copa/lata de bebida alcohólica	Pisco	Vino	Whisky	Ron	Cerveza
Graduación % (v/v)	42	11,5	40	40	5
Volumen consumición (mL)	50	100	50	50	355
Etanol (g)	16,56	9,07	15,78	17,78	14,00

Densidad de etanol = 0,789 g/mL

$$\textbf{Etanol (g)} = \frac{\textbf{[C (mL)] x [\% Alc. Vol.] x [0,789 g/mL]}}{\textbf{100}}$$

Fuente. Modificado de Olalla[9]. Bebidas alcohólicas; 2010. p. 305.

Las bebidas alcohólicas son principalmente una mezcla de etanol y agua con una pequeña cantidad de otras sustancias, que imparten sabores y olores característicos a las diversas bebidas. Estas sustancias se denominan congéneres, ya que se producen simultáneamente durante el proceso de fermentación y de destilación. El olor puede persistir en los tejidos durante varias horas después de que se haya metabolizado todo el etanol. Por lo tanto, la conclusión de la presencia de etanol basada en el olor puede ser errónea[12]. El síndrome de "resaca" se atribuye a los congéneres, sustancias volátiles naturales, los principales son los aldehídos, ésteres, alcoholes superiores, ácidos orgánicos, ente otros; contribuyen a las características especiales del gusto, sabor, aroma y color de una bebida[16].

Las bebidas alcohólicas son hiperosmolares; por lo tanto, estas bebidas retrasan el vaciado gástrico hasta que la osmolaridad del contenido gástrico se aproxima a la isotonicidad. En consecuencia, el tiempo para alcanzar la concentración máxima de etanol para la misma concentración de etanol es mayor para volúmenes más grandes en comparación con volúmenes más pequeños de etanol[17].

El consumo de bebidas alcohólicas es legal en muchas jurisdicciones donde generalmente se considera socialmente aceptable si se consume con moderación[4]. Tanto la dosis de etanol como el tipo de bebida alcohólica afectan la forma de la curva del etanol en la sangre. Existe una variación sustancial en las concentraciones de etanol en sangre entre las personas que beben la misma bebida, así como entre las personas que beben la misma cantidad de etanol de diferentes bebidas alcohólicas[17].

2.2.2 Etanol

2.2.2.1 Generalidades

Desde el enfoque químico, la palabra alcohol se refiere a un gran grupo de compuestos químicos orgánicos caracterizados por la posesión del grupo funcional hidroxilo (-OH). Sin embargo, en el uso común, el término alcohol ha sido aceptado como indicativo de un compuesto específico, es decir, etanol, que tiene la fórmula química C_2H_5OH[12].

El etanol es un líquido incoloro y transparente con ligero olor afrutado, sabor dulce y ardiente[14]. El peso molecular del etanol es 46,07 daltons, su densidad es 0,789 g/mL a 20 °C y punto de ebullición de 78,5 °C[17]. El etanol es una pequeña molécula polarizada con propiedades hidrofílicas y lipofílicas a la vez. Las propiedades anfipáticas facilitan la absorción a través de las membranas biológicas y volumen de distribución semejante al del agua corporal total. Estas propiedades permiten que el etanol llegue al sistema nervioso central, ejerciendo sus efectos físicos y conductuales de manera dependiente de la dosis[19].

El etanol es posiblemente la droga psicoactiva más antigua del hombre y se produce en la naturaleza mediante la fermentación microbiana de azúcares contenidos en frutas, miel u otra materia vegetal. El etanol es una droga legal y está disponible para su compra por adultos casi sin restricciones[18].

Asimismo, el etanol es seguramente la droga más utilizada y abusada en el mundo, su uso es común entre adolescentes y adultos y por todos los niveles socioeconómicos, simboliza un enorme costo financiero y social[16]. La toxicidad relativamente moderada y los efectos

euforogénicos son la base del uso extensivo del etanol por la humanidad en todo el mundo[7].

El etanol es tal vez la droga más significativa para el toxicólogo forense, como lo demuestra su condición de analito automático para casos *post mortem*, comisión de delitos, conducción de vehículo automotor bajo los efectos del etanol, agresión sexual facilitada por drogas, posaccidente, incluso la generalidad de los presuntos o sospechosos casos de intoxicación y otros casos de rutina en los que el etanol desempeña un rol importante o al menos contribuyente. El consumo de etanol sigue siendo un factor importante en la sociedad y, por tanto, en el mundo forense[7].

El etanol ha sido y sigue siendo la principal droga legal de nuestras sociedades, soporífera, analgésica y narcótica. El etanol desempeña un papel fundamental en innumerables rituales e interacciones sociales desde reunirse para tomar una cerveza, proponer un brindis, celebrar el año nuevo. La desventaja del consumo de etanol está relacionada, por supuesto, con su capacidad para intoxicar y deteriorar las funciones cognitivas y fisiológicas normales del cuerpo[7].

El consumo y abuso del etanol no solo es un grave problema de salud pública sino también uno de los mayores problemas sociales, especialmente en los países occidentales[20].

2.2.2.2 Biomonitorización del etanol

El etanol es el antídoto para casos de intoxicaciones por metanol y etilenglicol; por su acción competitiva con la enzima alcohol deshidrogenasa, inhibiendo la metabolización de estos tóxicos, este bloqueo metabólico se consigue con valores plasmáticos de etanol entre 1,00 a 1,20 g etanol/L sangre; sin embargo, este tratamiento necesita la monitorización de los valores plasmáticos de etanol, ya que existen variaciones interindividuales en su metabolismo y hay cierto inconveniente para conservar los valores adecuados[21]; por otra parte, el consumo excesivo de bebidas alcohólicas produce intoxicaciones, accidentes fatales y muchos crímenes violentos[3], en estos casos también es necesario la monitorización del etanol en sangre de personas con el fin de evaluar la alcoholemia y la estimación con alta fiabilidad de la alcoholemia retrospectiva en el momento de perpetración del hecho punible para que los Tribunales de Justicia establezcan la responsabilidad legal de actuación bajo los efectos del etanol.

La biomonitorización consiste en la medición de tóxicos, sus metabolitos o de señales moleculares de efecto en muestras provenientes de humanos o animales; estas mediciones pueden servir como biomarcadores de exposición, efecto o susceptibilidad; las tecnologías emergentes permiten la medición y la monitorización de agentes químicos en el organismo y la transmisión de datos desde biosensores internos[22]. El monitoreo de los efectos biológicos se utiliza en toxicología ambiental y ocupacional, y algunas veces, en toxicología forense para monitorear posibles problemas en una etapa temprana en humanos expuestos a sustancias químicas; en la mayoría, se lleva a cabo utilizando muestras fácilmente disponibles, como orina, sangre y heces[23].

Al monitorear el consumo de alcohol, la pregunta no es necesariamente si alguien es abstinente o no, sino que también puede implicar qué tipo de comportamiento o patrones

de consumo de alcohol se muestran. Para revelar la respuesta, se ha establecido una cartera de diferentes biomarcadores el abuso de alcohol[24]

La toxicología forense humana se centra en la determinación de los efectos toxicológicos del alcohol, drogas de abuso, fármacos u otros compuestos posiblemente tóxicos. En la mayoría de los casos, la policía o los fiscales dan la orden de una investigación científica en un caso forense. Los resultados analíticos del laboratorio y su experiencia científica en la mayoría de los casos se utilizarán en los tribunales. En consecuencia, todo el trabajo técnico, analítico y experto debe realizarse con la máxima atención profesional[2].

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 con mayor frecuencia en los análisis toxicológicos forenses y de emergencia; su concentración en la sangre es importante, por ejemplo, para evaluar el comportamiento y la función neurológica del paciente[25].

2.2.2.3 Toxicocinética del etanol

El etanol casi invariablemente ingresa al cuerpo por ingestión de una bebida alcohólica[12]. Las vías involucradas en los mecanismos toxicocinéticos del etanol se representan en la figura 1.

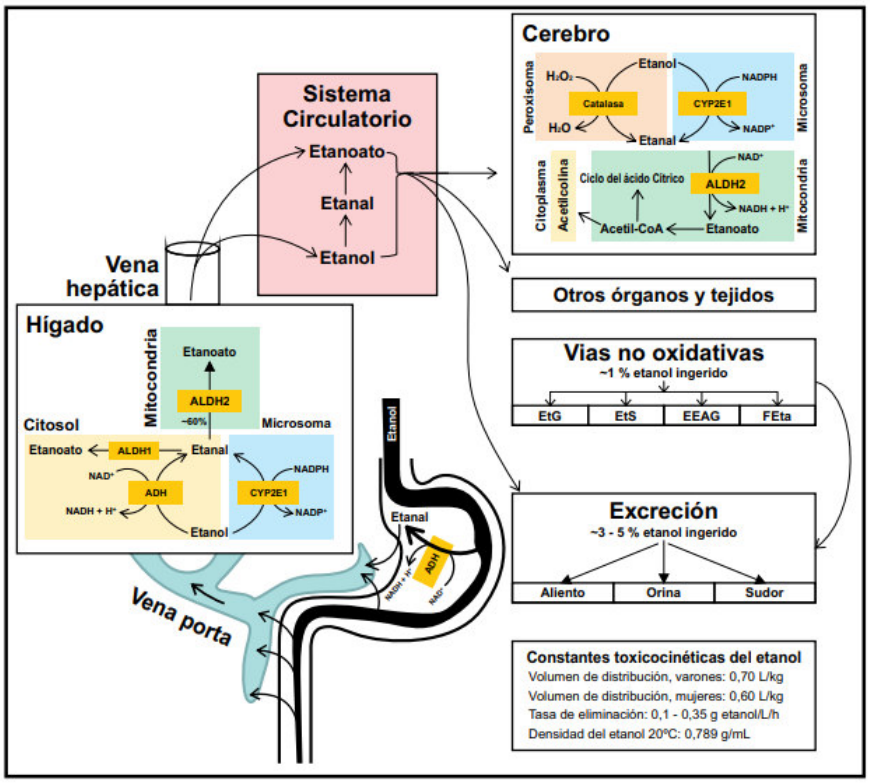


Figura 1. Vía principal del metabolismo oxidativo del etanol.
ADH, alcohol deshidrogenasa; **ALDH**, aldehído deshidrogenasa; **NAD⁺** y **NADH** son formas oxidadas y reducidas de la coenzima nicotinamida adenina dinucleótido; **CYP2E1**, enzima microsomal; **EtG**, Etil glucurónido; **EtS**, etilsulfato; **EEAG**, ésteres etílicos de ácidos grasos y **Feta**, fosfatidiletanol.
Fuente. Modificado de Johnson et al.[19]. Alcohol-medical drug interactions, 2014. p. 544.

A. Absorción

El etanol, ingrediente activo, de las bebidas alcohólicas se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal y la concentración máxima de etanolemia generalmente se alcanza entre 10 a 60 min después de la dosificación[13]. El etanol no requiere digestión preliminar y es capaz de ser absorbido por cualquier parte del tracto gastrointestinal[12]. Sin embargo, debido al escaso tiempo que el etanol permanece en contacto con la mucosa bucal y esofágica, la absorción por estas superficies es despreciable. El 75 - 80 % del etanol consumido es absorbido en el intestino delgado, principalmente en el duodeno; en el estómago se absorbe el 20 - 25 %. El intestino grueso también es capaz de absorber etanol, pero, debido a la gran eficacia del intestino delgado en esta función, las cantidades que llegan al colon son mínimas, siendo la absorción insignificante[1].

No hay un sistema de transporte activo para etanol; en consecuencia, el tracto gastrointestinal absorbe etanol por difusión pasiva a lo largo de un gradiente de concentración de acuerdo con la ley de Fick. Una variedad de factores fisiológicos afecta la tasa de absorción de etanol del tracto gastrointestinal, incluidos los siguientes[17]:

1) La concentración de etanol en contacto con las superficies mucosas
2) El tiempo de permanencia del etanol en contacto con las membranas mucosas
3) La cantidad de flujo sanguíneo al área de contacto, y
4) El área de superficie disponible para la absorción de etanol

La absorción del etanol transcurre según una curva que posee dos fases fundamentales; la primera ascendente y la segunda descendente. La primera parte de dicha curva corresponde al período de absorción, que finaliza en un punto máximo que se correspondería con el nivel de alcoholemia más elevado; mientras que la segunda fase, fase descendente, correspondería a la eliminación y excreción del etanol[1].

La tasa de aumento en la CES durante la fase de absorción depende del patrón de beber, el tipo de bebida (cerveza, vino, licor fuerte), el contenido gástrico (en ayunas versus alimentado), el tipo de alimento (líquido, sólido), la composición de los alimentos (grasas, carbohidratos, proteínas), fármacos procinéticos (cisaprida o metoclopramida) y factores que aumentan la motilidad gastrointestinal. Los factores que retrasan el vaciado gástrico y reducen las concentraciones máximas de etanol en relación con el estado de ayuno incluyen altos volúmenes de comida, dieta alta en proteínas, traumatismos, cirugía gástrica, vaciamiento gástrico retardado (gastroparesia), motilidad intestinal reducida y el consumo excesivo de cigarrillos[17,18].

La velocidad de absorción del etanol es más rápida cuando el contenido del estómago entra en el duodeno y el yeyuno, debido a la mayor superficie de absorción proporcionada por las vellosidades y las microvellosidades del intestino delgado. El vaciado de estómago está controlado por el esfínter pilórico, que normalmente está casi totalmente cerrado debido a la contracción tónica del músculo pilórico. Beber etanol junto con una comida o después de ella retrasa el vaciamiento gástrico y la absorción en la sangre es más lenta, lo que lleva a una menor concentración máxima (C_{max}) y una ocurrencia posterior tiempo máximo (t_{max}) en comparación con beber con el estómago vacío[13].

La ingestión de etanol produce concentraciones más bajas de etanol en sangre y áreas más pequeñas bajo las curvas de concentración-tiempo en comparación con la infusión intravenosa de una dosis equivalente de etanol. La diferencia entre estas 2 rutas de exposición es el resultado del metabolismo del primer paso. Dependiendo del flujo sanguíneo hepático, la CES y la velocidad de absorción de etanol, la cantidad promedio de etanol eliminado durante el metabolismo de primer paso es 20 % aproximadamente; el metabolismo del primer paso ocurre principalmente en el hígado y el metabolismo en la mucosa gástrica representa aproximadamente el 2 % de la dosis de etanol[17].

Pequeñas cantidades de etanol pueden ser absorbidas en la sangre a través de la vía dérmica (piel intacta) o por inhalación a través de los pulmones, aunque estos métodos son ineficaces para elevar la CES por encima de 0,10 g/L. La lenta absorción a través de la piel se equilibra con el metabolismo simultáneo en el hígado a una velocidad de 7 - 8 g/h. Si la piel está dañada con cortes o abrasiones y hay vasos sanguíneos abiertos, esto podría mejorar la absorción, pero todavía no es una forma efectiva de aumentar la CES. La absorción de etanol en el torrente sanguíneo por inhalación a través de los pulmones depende de la concentración en el aire ambiental respirado y del grado de ventilación pulmonar. Sin embargo, incluso en condiciones extremas cuando las concentraciones en el aire inhalado son altas, esta no es una forma práctica de aumentar la CES de una persona debido al metabolismo continuo de cualquier etanol absorbido[18].

B. Distribución

El etanol absorbido en la sangre se transporta a través de todos los fluidos y tejidos corporales en proporción a su contenido de agua. La velocidad de equilibrio de la relación entre el flujo sanguíneo y la masa del tejido en cuestión. El etanol no se liga a proteínas plasmáticas ni a otras biomoléculas y atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica para causar un deterioro del funcionamiento cerebral[13].

Muchas personas han notado la rapidez con la que se pueden sentir los efectos de una bebida alcohólica. El etanol es capaz de cruzar fácilmente las membranas celulares, siendo lo suficientemente pequeño como para atravesar las proteínas del canal de acuaporina (que permiten que las moléculas acuosas entren y salgan de las células). Como tal, el etanol se distribuye rápidamente esencialmente por toda el agua corporal de una persona, lo que significa que el etanol se equilibra rápidamente en todos los espacios acuosos del cuerpo, como en el interior de las células, el líquido cefalorraquídeo y humor vítreo. La rapidez con la que se puede distribuir el etanol puede ser un factor significativo en los casos forenses[7].

Durante el período de distribución, la concentración de etanol es más alta en sangre arterial que en sangre venosa, lo que favorece su difusión pasiva y la rápida llegada al cerebro, debido a la profusa irrigación sanguínea de este. El efecto fisiopatológico agudo del etanol será función directa del grado de impregnación del sistema nervioso central (SNC), y este, de la concentración de etanol en sangre[9].

Es importante desde una perspectiva forense tener en consideración que la amplia y rápida distribución del etanol no incluye la orina. El etanol llega a la orina como un filtrado de sangre más que como un producto de una difusión rápida de la circulación[7].

El volumen medio de distribución aparente del etanol es de aproximadamente 0,6 L/kg, casi equivalente al del agua. Por lo tanto, es capaz de distribuirse fácilmente a través de los compartimentos fisiológicos y particularmente capaz de penetrar la barrera hematoencefálica y la placenta[20]. El volumen de distribución de etanol depende de la edad, el género y el grado de adiposidad de la persona. Los estudios han demostrado que el promedio del V_d para hombres y mujeres saludables son ~0,70 y ~0,60 L/kg, respectivamente[13].

C. Metabolismo

Más del 90 % de la dosis de etanol consumida experimenta un metabolismo oxidativo en el hígado por diversas reacciones enzimáticas, como se ilustra en la figura 1. La primera etapa implica oxidación del etanol a etanal, y esta reacción es catalizada por la enzima citosólica alcohol deshidrogenasa (ADH) con el cofactor nicotinamida adenina dinucleótido oxidado (NAD^+) que actúa como aceptor de hidrógeno. La ADH es polimórfica y existen varias isoenzimas con secuencias de aminoácidos y propiedades cinéticas ligeramente diferentes, lo que podría explicar las diferencias individuales en las tasas de metabolismo del etanol[18].

La ADH es una enzima intracelular que está presente en el estómago y el hígado, es saturada a concentraciones de etanol relativamente bajas[16]. El zinc es el elemento químico esencial para la actividad enzimática de la ADH. Durante el metabolismo oxidativo del etanol, el cofactor NAD^+ se reduce simultáneamente a NADH y la reoxidación de NADH a NAD^+ es la etapa limitante en la reacción redox general[18].

La principal enzima metabolizadora del etanol es el alcohol deshidrogenasa (ADH de clase I), que se encuentra en la fracción del citosol de los hepatocitos y convierte el etanol en etanal, que es más tóxico que la molécula original. Afortunadamente, el etanal se oxida rápidamente a ácido etanoico por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) de baja constante de Michaelis (k_m), ubicado en la mitocondria. El acetato producido durante el metabolismo de etanol sale del hígado y entra en el ciclo de Krebs y se convierte en CO_2 y H_2O en los órganos y tejidos periféricos. Otra forma de enzima ADH (clase IV) se encuentra en la mucosa gástrica y se cree que contribuye al metabolismo de primer paso del etanol, lo que provoca una biodisponibilidad reducida de la dosis[13].

Las enzimas del sistema CYP 450 también participan en la oxidación del etanol a etanal. La principal enzima CYP 450 involucrada en la oxidación del etanol es CYP2E1. Algunos hallazgos recientes han indicado la participación de otras enzimas CYP como CYP1A2 y CYP3A4. La actividad de CYP2E1 depende del patrón de consumo de etanol. Cuando el etanol se consume ocasionalmente en pequeñas cantidades, la CYP2E1 sólo oxida una cantidad insignificante de etanol. Con el consumo excesivo de etanol crónico, la actividad de CYP2E1 se induce unas 10 veces. Esta capacidad de oxidar más etanol acelera la eliminación del etanol de la sangre, lo que conduce al desarrollo de tolerancia crónica[19].

La catalasa promueve la oxidación del etanol en los peroxisomas; en cualquier caso, el producto acetaldehído se convierte en acetato mediante la acción de la enzima aldehído deshidrogenasa presente en las mitocondrias hepáticas[20].

Una pequeña fracción de la dosis de etanol ingerida (0,1 a 0,2 %) sufre reacciones de conjugación de fase II con la uridina 5′-difosfo-ácido glucurónico y con el 3′-fosoadenosina-5′-fosofulfato para dar β-glucurónido de etilo (EtG) y el sulfato de etilo (EtS) como metabolitos a través de las enzimas uridina-5′-difosfo-glucuronosiltransferasa y sulfotransferasa, respectivamente. El β-glucurónido de etilo y sulfato de etilo son detectables en sangre y orina durante mucho más tiempo que el propio etanol y pueden servir como biomarcadores para revelar el consumo reciente de etanol después de que el etanol ha sido eliminado del cuerpo[18]. Debido a ese mayor tiempo de residencia en el cuerpo, ambos compuestos se están considerando por su especial significado forense como indicadores de ingestión de etanol o alcoholismo[7].

Los ésteres etílicos de ácidos grasos (EEAG) se producen a partir de la conjugación de etanol y ácidos grasos en órganos diana como el corazón, el cerebro, el páncreas y el hígado. Estas moléculas lipofílicas se acumulan en las membranas celulares y las mitocondrias, lo que da como resultado una función de orgánulos deteriorada[20].

El fosfatidiletanol (FEta) y el fosfato de dihidroxiacetona (FDHA), son especies únicas reactivas de fosfolípidos formadas intracelularmente en presencia de etanol. La formación de FEta es catalizada por la fosfolipasa D, una enzima que normalmente cataliza la hidrólisis de los fosfolípidos, lo que lleva a la formación de ácido fosfatídico[20].

D. Eliminación

Los procesos de eliminación del etanol juegan un rol relativamente menor, en comparación con el rápido metabolismo por oxidación[7]. La mayor parte de etanol que bebe una persona (95 - 98 %) se elimina del cuerpo por metabolismo oxidativo en el hígado y menos del 10 % se elimina sin cambios por excreción a través de los pulmones, los riñones y la piel[13]. El metabolismo no oxidativo del etanol representa solo alrededor del 1 % del etanol total ingerido y luego se excreta en la orina[26].

La porción de etanol eliminado por unidad de tiempo depende de la cantidad inicial que se ingirió. Este patrón de eliminación corresponde a una cinética de orden cero. Por esta razón, la semivida del etanol será menor con cantidades pequeñas de consumo y mayor con consumo severo[19].

Los estudios que comparan diferentes dosis controladas de etanol han demostrado que la tasa promedio de eliminación de etanol es generalmente de alrededor de 0,10 a 0,35 g/L/h[27]. Varios factores pueden afectar esta tasa de eliminación. Debido a que la mayor parte del etanol consumido se elimina en el hígado, cualquier estado patológico en este órgano puede afectar potencialmente la eliminación del etanol[18].

2.2.2.4 La ecuación de Widmark

Las curvas de etanol en sangre se caracterizan por una fase ascendente que refleja principalmente el proceso de absorción que inicialmente ocurre más rápido que la eliminación a través del metabolismo y la excreción. A medida que pasa el tiempo y la cantidad de etanol que aún no se absorbe disminuye, la concentración de etanol en sangre finalmente alcanza un pico o concentración máxima, por lo general entre 30 y 90 min después de la ingestión. En ese momento, las tasas de absorción y metabolismo son casi

iguales. Durante la porción de declive posterior a la absorción de la curva de concentración de etanol en sangre, la absorción ya ha terminado y la eliminación es el proceso dominante[18] (ver figura 2).

La base de esta ecuación es un modelo de un compartimento con cinética de orden cero caracterizado porque la tasa de eliminación de etanol es constante por unidad de tiempo. La ecuación 1 describe la ecuación de Widmark.

$A = pr\ (C_t + ß_t)$ (Ecuación 1)

Donde **A** = dosis absorbida de etanol (g); **p** = peso corporal (kg); **r** = factor de Widmark que representa el volumen aparente de distribución como una fracción del peso corporal (kg/kg); **C_t** = concentración de etanol en sangre en el tiempo t (mg/g de sangre); **ß** = pendiente de la disminución lineal aparente de la concentración - perfil de tiempo de etanol [mg etanol/ (g sangre x minutos)]; y **t** = tiempo después de la dosificación oral (minutos)[17].

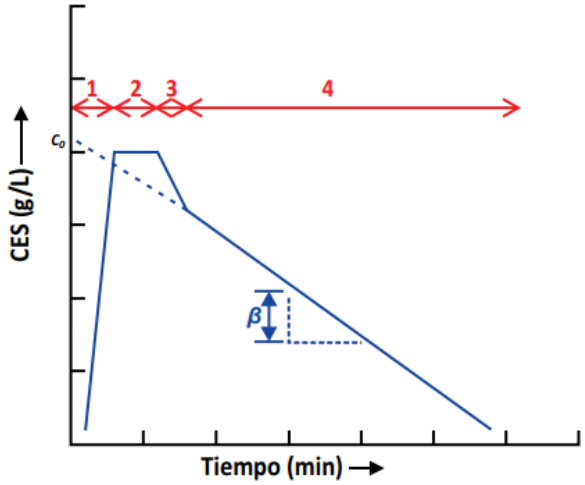


Figura 2. Curva teórica de etanol en sangre basada en la ecuación de Widmark.
CES: concentraciones de etanol en sangre; **1** = fase de absorción; **2** = meseta; **3** = difusión-equilibrio; **4** = fase de eliminación (posabsorción) con pendiente de β, C_0 = Concentración inicial.
Fuente. Barceloux[17]. Medical toxicology of drug abuse; 2012. p. 384.

Los experimentos pioneros de Widmark sobre la toxicocinética del etanol se realizaron bajo las siguientes condiciones de bebida estrictamente controladas[27].

- Bebida alcohólica rápida (dosis en bolo) en 5 - 15 min.
- Consumo de etanol en ayunas, normalmente tras un ayuno nocturno (10 h) y no 2 - 3 h después de la comida o con un bocadillo o merienda.
- Administración de una dosis moderada (0,5 - 1,0 g/kg) como bebidas espirituosas y no como cerveza o vino.
- Los sujetos voluntarios fueron 20 hombres y 10 mujeres, todos bebedores moderados.
- El etanol en sangre se determinó en sangre capilar (punta del dedo) y las concentraciones se informaron como unidades de masa/masa (mg/g). Actualmente, la masa/volumen (mg/mL o mg/ 100 mL o g/L) es la unidad preferida y la conexión entre las dos es la densidad de la sangre total, que tiene un promedio de 1,055 g/mL.

2.2.2.5 Mecanismo de acción

El etanol altera la función de varios canales iónicos activados por ligando, incluidos los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), serotonina ($5\text{-}HT_3$), glicina y ácido γ-aminobutírico tipo A ($GABA_A$). El etanol activa el flujo inhibitorio de cloruro mediado por los receptores $GABA_A$; esta propiedad contribuye a las propiedades ansiolíticas y sedantes; también al deterioro de la coordinación asociado con el uso de etanol. Además, el etanol aumenta la neurotransmisión GABAérgica a través de efectos indirectos que incluyen la liberación presináptica de GABA, la elevación de los esteroides neuroactivos GABAérgicos endógenos y la desfosforilación de los receptores $GABA_A$ que promueven aumentos en la sensibilidad. El etanol inhibe la función del receptor NMDA del glutamato, además de interactuar con los receptores de serotonina y dopamina para aumentar la dopamina en los centros de recompensa del cerebro[17].

2.2.2.6 Mecanismo de toxicidad aguda del etanol

El etanol es depresor del sistema nervioso central deprimiendo selectivamente el sistema de activación reticular. El mecanismo de acción probablemente implica interferencia con el transporte de iones (flujo de sodio) en la membrana celular en lugar de la sinapsis, similar a la acción de los agentes anestésicos generales. Los lóbulos frontales son sensibles a las bajas concentraciones de etanol, lo que resulta en la alteración del pensamiento y el estado de ánimo antes de los cambios en la visión (lóbulo occipital) y la coordinación (cerebelo). La supresión preferencial de las neuronas inhibidoras (GABA) probablemente causa la excitación observada a bajas concentraciones de etanol. El etanol es un vasodilatador que produce disminución de la precarga, poscarga y resistencia vascular sistémica en adultos sanos después de una ingestión aguda[17].

La exposición aguda al etanol incrementa la actividad del ácido γ- aminobutírico en los receptores de $GABA_A$ activados por ligando e inhibe la activación de los receptores de glutamato de NMDA implicados en la cognición[20].

2.2.2.7 Efectos clínicos agudos del etanol y correlación con la alcoholemia

El deterioro de las funciones corporales después de beber etanol depende de la cantidad consumida (la dosis), la velocidad con la que se bebe y la concentración de etanol que llega al cerebro e interfiere con la neurotransmisión. Tanto las funciones cognitivas como psicomotoras se ven afectadas por el consumo excesivo de etanol, que es la causa subyacente de muchos accidentes de tránsito, en el hogar, en el lugar de trabajo y en la comisión de diferentes hechos delictivos[15].

La CES depende de la cantidad de bebidas consumidas, su contenido alcohólico y el periodo en el que se consumieron, el momento de la primera bebida y el momento de la última bebida, el peso corporal, el género, la edad y la comida en el estómago. También depende del lapso de tiempo entre la última bebida y el momento en que fue medido la alcoholemia. Además, la concentración de etanol en la sangre está influenciada por la salud, el uso de medicamentos recetados o de venta libre y el coabuso de drogas. El nivel de etanol que llega al cerebro y su efecto sobre el SNC está muy bien correlacionado con el nivel de embriaguez. Por esta razón, la CES siempre está correlacionada con síntomas de embriaguez[28].

Una dosis creciente de etanol ocasiona un incremento de la depresión de la función neuronal dependiente de la dosis. Las consecuencias conductuales/fisiológicas de la ingestión de etanol son principalmente un reflejo de ese déficit funcional, y puede haber una correlación generalizada entre las consecuencias bien reconocidas del etanol y la concentración de etanol en sangre[7].

El etanol ejerce un amplio espectro de efectos bioquímicos y fisiológicos en el organismo en función de las cantidades consumidas en cada ocasión (la dosis), así como de la duración (años) de exposición a esta droga. El efecto embriagador agudo del etanol depende de la dosis, la velocidad a la que se bebe y el vaciado gástrico[18].

El etanol a dosis bajas es un depresor específico del SNC y a dosis altas es un depresor general. En un primer momento, deprime aquellas áreas del cerebro involucradas con funciones altamente integradas. La liberación cortical conduce a un comportamiento animado y a la pérdida de moderación. Se produce una estimulación paradógica del SNC debido a la deshinibición, lo que lo convierte en el efecto más significativo desde la perspectiva legal[16].

El etanol tiene un gran impacto en el sistema nervioso central, el cual es responsable de la conducta y el comportamiento humano, lo que lo convierte en el efecto más significativo desde la perspectiva legal[1].

Con una CES bastante bajo (0,30 a 0,50 g/L) las personas se sienten menos inhibidas; se vuelven más comunicativos y sociales, lo que a menudo se concibe incorrectamente como estimulación. Después de dosis más altas y un aumento de la CES, ocurre la depresión de funciones más simples y básicas. A concentraciones muy altas de etanol en sangre (> 4,00 g/L), el centro respiratorio del cerebro está deprimido y sobreviene el coma y la muerte. Los estudios científicos realizados durante muchos años han establecido relaciones generales entre la CES y los efectos en el cerebro, como se refleja en los signos y síntomas clínicos de la embriaguez y en la tabla 3 se presenta una recopilación ampliamente citada y actualizada recientemente, observándose una amplia superposición en los signos y síntomas de la influencia del etanol para diferentes rangos de CES[18].

El etanol actúa principalmente como un depresor del SNC; la estimulación aparente inicial durante la etapa temprana se debe a la depresión de los centros inhibitorios/evolutivos centrales (como centros que regulan la conducta, el juicio y la autocrítica), que normalmente controlan las actitudes del comportamiento desenfrenado seguidos de depresión de los centros vitales de la médula, produciendo insuficiencia cardiorrespiratoria, coma alcohólico e inclusive la muerte[11,29].

El consumo de etanol produce una depresión de la conciencia relacionada con la dosis, y la CES se correlaciona generalmente con signos clínicos, dependiendo de varios factores, se deben considerar la presencia de trauma, hipoglicemia, interacciones farmacológicas y enfermedades preexistentes. Los signos de intoxicación etílica son menos prominentes en los bebedores crónicos en comparación con los no bebedores o los bebedores ocasionales[17].

Tabla 3. Etapas de intoxicación o influencia alcohólica aguda en relación con la concentración de etanol en sangre.

Concentración etanol en sangre (g/L)	Etapa de influencia del etanol	Signos o síntomas clínicos
0,10 - 0,50	**Subclínico**	Comportamiento casi normal por observación ordinaria Influencia/efectos generalmente no aparentes u obvios Deterioro detectable mediante pruebas especiales
0,30 - 1,20	**Euforia**	Euforia leve, sociabilidad, locuacidad Aumentada autoconfianza, inhibiciones disminuidas Disminución de la atención, juicio y control Alguna discapacidad sensorial-motora Procesamiento de la información lento Pérdida de eficiencia en pruebas de desempeño críticas
0,90 - 2,50	**Emoción**	Inestabilidad emocional, pérdida del juicio crítico Deterioro de la percepción, la memoria y la comprensión Disminución de la respuesta sensorial, aumentado el tiempo de reacción Disminución de la agudeza visual y la visión periférica Recuperación lenta deslumbramiento Incoordinación motora sensorial, equilibrio deteriorado, mala pronunciación Vómitos, somnolencia
1,80 - 3,00	**Confusión**	Desorientación, confusión mental, vértigo, disforia Estados emocionales exagerados (miedo, ira, dolor, etc.) Alteraciones de la visión (diplopía, etc.) y de la percepción del color, la forma, el movimiento, las dimensiones Umbral del dolor aumentado Aumentada descoordinación muscular, marcha vacilante, ataxia Pérdida de memoria Apatía con letargo progresivo
2,50 - 4,00	**Estupor**	Inercia general, se acerca la pérdida de las funciones motoras Respuesta notablemente disminuida a los estímulos Incoordinación muscular marcada, incapacidad para pararse o caminar Vómitos, incontinencia de orina y heces Conciencia deteriorada, sueño o estupor, ronquidos profundos
3,50 - 5,0	**Coma**	Inconsciencia completa, coma, anestesia Reflejos deprimidos o abolidos Temperatura subnormal Deterioro/irregularidades de la circulación y la respiración Posible muerte
Media, mediana = 3,60 90 % = 2,10 - 5,00	**Muerte**	Muerte por paro cardiaco o respiratorio

Fuente. Levine et al.[18]. Alcohol. En: Levine BS, Kerrigan S, editores. Principles of Forensic Toxicology, 2020. p. 302.

El efecto principal del etanol es la depresión del SNC y la extensión de la depresión está correlacionada aproximadamente con la CES. La tolerancia, tanto disposicional como celular, ejerce un papel clave en las diferencias individuales a los efectos del etanol[18].

Es importante tener en cuenta las interacciones entre el etanol y una gran cantidad de fármacos, ya que los efectos depresores del etanol pueden aumentar cuando se combina con fármacos o drogas ilícitas que tienen una similar acción similar (ver Tabla 4)[4]. Con niveles sanguíneos de etanol bajos, se pueden experimentar los efectos de este tipo de intoxicación[1]. Las interacciones más frecuentes entre etanol y fármacos se producen como resultado de un aumento inducido por etanol en la actividad enzimática hepática de metabolización de fármacos. Por el contrario, el uso agudo de etanol puede inhibir el metabolismo de otras drogas, lo que puede ser el resultado de una disminución de la actividad enzimática hepática o del flujo sanguíneo. El etanol tiene efectos sedantes aditivos cuando se ingiere con antihistamínicos, antidepresivos, fenotiazinas, opioides y otros hipnóticos sedantes; el etanol también potencia los efectos farmacológicos de los vasodilatadores e hipoglucemiantes orales, y puede potenciar la acción antiplaquetaria del ácido acetilsalicílico[16].

Es de conocimiento común que las personas difieren en su respuesta a la misma dosis de una droga y que la droga legal etanol no es una excepción. Los efectos del etanol son bifásicos, siendo la estimulación más pronunciada durante la parte ascendente de la curva de CES y la sedante y depresión en la parte descendente de la curva de CES[18].

Tabla 4. Fármacos depresores del sistema nervioso central frecuentemente asociados con alteraciones en la conducción de vehículos automotores y hechos punibles.

Antidepresivos	Sedantes/hipnóticos	Analgésicos	Antipsicóticos
Alprazolam Amitriptilina Amoxapina Butalbital Butobarbital Clomipramina Ácido gama hidroxibutírico Clonazepam Desipramina Diazepam Dosulepina Doxepina Imipramina Meprobamato Nortriptilina Oxacepam Trazodona Triazolam Trimipramina	Flunitrazepam Lorazepam Zopiclona Zolpidem Zaleplon Hidromorfona Tolueno Xileno Cloruro de etilo Hidrato de cloral Amilobarbital Clomipramina	Tramadol Codeína Morfina Oxicodona Hidrocodona Amoxapina Dextropropoxifeno Pentazocina Fentanilo Metadona Petidina	Clorpromazina Mezoridazina Tioridazina Tiotixeno Loxapina
	Relajantes Musculares	**Antihistamínicos**	**Anticonvulsivantes**
	Carisoprodol Diazepam Ciclobenzaprina	Difenhidramina Clorfenamina Bromfeniramina	Fenobarbital Fenitoína Carbamazepina Clonazepam

Fuente. Logan et al.[18]. Alcohol, drugs and driving; 2013. p. 306.

2.2.2.8 Diagnóstico de intoxicación por etanol

Las concentraciones de etanol no predicen la intoxicación, a pesar del límite legal en Perú de 0,25 o 0,50 g etanol/L sangre para casos de conducción de vehículos motorizados profesional o particular, respectivamente[30]. La intoxicación es un diagnóstico clínico. Los

términos intoxicación por etanol o embriaguez a menudo se usan indistintamente. Las características de diagnóstico de la intoxicación etílica desarrolladas por la Asociación Americana de Psiquiatría incluyen el requisito de que debe haber habido una ingestión reciente de etanol[11]. El criterio de diagnóstico para la intoxicación por etanol según el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV) que se publica a través de la Asociación Estadounidense de Psiquiatría se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Criterios diagnósticos de intoxicación por etanol, según DSM-IV.

Ingestión reciente de bebidas alcohólicas
Cambios psicológicos o conductuales Cambios psicológicos o conductuales desadaptativos clínicamente significativos (conducta sexual agresiva o inapropiada, inestabilidad del estado de ánimo, juicio deteriorado, funcionamiento social u ocupacional deteriorado)
Uno o más de los siguientes signos, que se desarrollan durante o poco después del consumo de alcohol: Hablar con dificultad Marcha inestable Incoordinación Deterioro de la atención o la memoria Nistagmo Estupor o coma
Los síntomas no se deben a una condición médica general y no se explican mejor por otro trastorno mental

Fuente. Tomado de Biswas[11]. Review of Forensic Medicine and Toxicology; 2015. p. 552.

2.2.3 Análisis toxicológicos forenses

La toxicología forense generalmente se refiere a la detección e interpretación de casos de intoxicación y abuso. Las investigaciones típicas son, por ejemplo, la detección de envenenamientos o consumo de veneno en casos de muerte o el análisis de confirmación de drogas de abuso, alcohol y productos farmacéuticos en conductores de vehículos automotores, presuntos autores, cómplices o víctimas de delitos. De esta manera, la toxicología forense difiere, de la toxicología clínica, que generalmente se enfoca en el diagnóstico y el tratamiento del envenenamiento[31].

Las actividades de la toxicología forense incluyen la determinación de la presencia de etanol, otras drogas de abuso y tóxicos en la sangre, en el aire exhalado o en otros fluidos biológicos y la evaluación de su rol en la modificación del desempeño y del comportamiento humano[25].

Los incidentes no fatales en los que las investigaciones toxicológicas pueden ser útiles incluyen la caída mientras está bajo custodia, presuntos delitos bajo las leyes de tránsito que involucran etanol u otras drogas, acusaciones de envenenamiento de familiares o mascotas, dopaje en delitos sexuales y otros casos de agresión; también puede ser importante analizar muestras de un sospechoso para detectar presencia de drogas como el etanol, que pueden haber alterado su percepción o comportamiento durante el transcurso de un accidente o delito[32].

Las estrategias analíticas para el análisis forense se caracterizan por la necesidad de utilizar los resultados en los tribunales. Se debe prestar especial atención a los requisitos específicos con respecto a la determinación de sustancias y la consideración de valores umbral o límites de decisión similares. Para muchas investigaciones forenses existen regulaciones o recomendaciones específicas que pueden cubrir todo el proceso:

recolección de muestras, almacenamiento de muestras, análisis, validación de métodos y evaluación o interpretación final de resultados[31].

Antes de que el conductor o presunto autor de un delito con problemas de drogas o alcohol pueda ser sometido a pruebas químicas, debe ser detenido; una vez que la policía detiene al individuo, el policía debe conducirlo inmediatamente al laboratorio toxicológico o llame al examinador a la estación para extraer la muestra de sangre para el examen de alcoholemia; puede pasar algún tiempo antes de que lleguen al laboratorio o a la estación, tiempo durante el cual se producirá metabolismo y excreción del etanol[4]. El etanol en el cuerpo tiene una vida media corta, lo que significa que su eliminación del cuerpo es significativamente más rápida que la de otras drogas comúnmente abusadas (horas en lugar de días o semanas). Por lo tanto, el momento de la extracción de muestras para la prueba de etanol es más crítico y exigente[18].

Los tubos de vacío utilizados para muestreo de sangre destinada para el análisis de etanol deben contener conservantes químicos en forma de polvo. El uso de oxalato de potasio o heparina es adecuado como anticoagulante y se incluye el fluoruro de sodio (~1 % p/v) como inhibidor enzimático. Un tubo de vacío con tapón gris de 10 mL que se usa ampliamente para recolectar muestras de sangre para el análisis de etanol tiene oxalato de potasio (25 mg) como anticoagulante y fluoruro de sodio (100 mg) como inhibidor enzimático. Esto último es necesario para anular cualquier idea de que el etanol se produjo por la acción de levaduras o bacterias sobre la glucosa en sangre, lo que de todos modos no es muy probable porque los tubos y la aguja son estériles[18].

La determinación de compuestos orgánicos, por ejemplo, productos farmacéuticos, drogas de abuso y pesticidas, constituye la mayor parte de las investigaciones toxicológicas forenses. En principio, se puede detectar un número considerable de estas sustancias mediante métodos de cromatografía de gases, siempre que se evaporen sin descomposición y sean térmicamente estables[31].

El análisis forense del etanol es el más frecuente de todas las pruebas de laboratorio forenses. Es extremadamente importante que los análisis de etanol se realicen de manera precisa y correcta y que los resultados se interpreten adecuadamente. Los toxicólogos forenses y los químicos farmacéuticos con frecuencia son llamados a interpretar las concentraciones de etanol que se encuentran en las muestras. Comúnmente, los resultados se consideran sin sentido porque las muestras se manejan mal, el equipo está calibrado incorrectamente o los resultados se informan incorrectamente[33].

La CES es la medición más útil, ya que existe un rápido equilibrio a través de la barrera hematoencefálica, por lo tanto, la CES refleja la concentración de etanol que actualmente afecta el cerebro. La CES es un método directo para la determinación del nivel de etanol en sangre, mientras que el análisis de orina es un método indirecto[11].

El valor de las mediciones de sangre en el diagnóstico de abuso de etanol y en el monitoreo de la abstinencia es claro. La intoxicación por etanol por ingestión de bebidas alcohólicas es una de las pocas causas de intoxicación aguda y la medición de etanol en sangre es importante con el fin de diagnosticar, monitorear el progreso del tratamiento y presentar informes a los tribunales de justicia. Se necesita un análisis cuantitativo en sangre completa o plasma para confirmar la intoxicación de manera inequívoca, pero esto

puede no ser posible si las instalaciones de laboratorio son limitadas o si el compuesto es particularmente difícil de medir; así mismo, algunas sustancias desaparecen de las muestras biológicas muy rápidamente y dependiendo del tiempo entre la administración y la recolección de muestras, el compuesto original puede no ser detectable; a veces, la identificación de metabolitos se puede usar para demostrar que se ha tomado o consumido una sustancia química en particular[32].

En comparación con muchas otras drogas y sustancias tóxicas que se encuentran en la toxicología forense, las CES son notablemente estables durante el almacenamiento de muestras a corto y largo plazo. Se produce una pequeña disminución en la CES de aproximadamente 0,03 g/L por mes cuando las muestras se almacenan refrigeradas a 4 °C en tubos de vacío hasta su análisis. La pérdida de etanol es mayor si los tubos se abren periódicamente para extraer alícuotas para el análisis. La estabilidad mejora si las muestras se almacenan congeladas (-20 °C) evita la síntesis microbiana de etanol incluso cuando no hay fluoruro de sodio en los tubos[18].

Los toxicólogos forenses desempeñan un rol importante en muchos aspectos de hechos delictivos y conducción bajo la influencia del alcohol o drogas, particularmente en la medición de la relación toxicológica entre el consumo de drogas o alcohol y la incapacidad. Tienen un rol principal en el análisis de muestras de conductores o sospechosos de comisión de delito de estar incapacitados, interpretando los resultados y presentando información en los tribunales. Las consecuencias para el delincuente (arresto, detención, juicio, gastos legales, multas, pérdida de licencia, encarcelamiento) son graves, y los acusados merecen garantías de que los laboratorios que llevan a cabo las mediciones emplean salvaguardias y normas analíticas apropiadas, y que las personas que interpretan los resultados tienen la educación y calificaciones necesarias[4].

Cada técnica de identificación individualmente puede indicar la presencia o ausencia de un analito en particular. Sin embargo, para que una sustancia se notifique como positiva, se deben utilizar al menos dos técnicas analíticas diferentes. El uso de una segunda técnica o confirmatoria es un principio fundamental en la toxicología forense. Las técnicas de confirmación más definitivas proporcionan información estructural sobre la propia sustancia. La espectrometría de masas, combinada con una técnica de separación como cromatografía de gases o cromatografía líquida, es actualmente la técnica confirmatoria de referencia utilizada en este campo forense[18].

2.2.4 Determinación de alcoholemia por cromatografía de gases con detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza

Se utiliza la cromatografía de gases (CG) para separar los constituyentes de las mezclas (muestras) y obtener datos sobre sus composiciones y cantidades moleculares. La información obtenida de un análisis cromatográfico puede incluir un cromatograma, información sobre las alturas y las áreas de los picos resueltos en un cromatograma, su identidad molecular, etc.[34].

La CG es una técnica analítica utilizada para separar los compuestos orgánicos volátiles. En su forma más genérica, la cromatografía se fundamenta en la separación de compuestos que se encuentran en una matriz de muestra. Un sistema cromatográfico

moderno es un instrumento sofisticado que requiere experiencia técnica para su uso como un enfoque teórico y práctico combinado para utilizar y maximizar su rendimiento plenamente. El acoplamiento del cromatógrafo de gases con un sistema de detección adecuado lo convierte en una herramienta muy poderosa en el arsenal de técnicas analíticas de los científicos forenses[35].

La CG con detector de ionización de llama utilizando el muestreador de espacio de cabeza es la técnica de referencia de elección para las determinaciones de etanol en fluidos biológicos, particularmente para fines legales, posee especificidad buena y precisión alta para el etanol[17,31]; tiene las ventajas de ser semiautomática, extremadamente reproducible y compatible con múltiples tipos de muestras[4] ; estándar de oro para el análisis de etanol, debido a su facilidad, sensibilidad, precisión y especificidad[3].

Los niveles de etanol en sangre son determinados por cromatografía de gases, que se considera el estándar de oro porque los falsos positivos generalmente no ocurren. El método es preciso y fiable. Sin embargo, se necesita un analista experimentado para llevar a cabo el análisis cromatográfico. El equipo necesita un mantenimiento periódico, y ocasionalmente la columna debe ser reempacada o reemplazada por una nueva columna. En general, debido a su exactitud y a la ausencia de resultados falsos positivos, la cromatografía de gases es la técnica utilizada con fines forenses[28].

La determinación de etanol en fluidos corporales es sin duda uno de los procedimientos toxicológicos forenses más frecuentes que utilizan métodos de cromatografía de gases. Las revisiones relevantes describen el desarrollo metodológico hacia la determinación cromatográfica de gases del etanol con fines clínicos y forenses. En el análisis de rutina actual, el método más importante y ampliamente utilizado es la determinación cromatográfica de gases por espacio cabeza con detector de ionización de llama[31]. Éste se aplica normalmente porque el etanol es volátil y, por lo tanto, no se requiere un procedimiento complejo de purificación de muestras para extraer el etanol[4].

La cromatografía de gases utiliza el término “espacio de cabeza” para hacer referencia a la fase de vapor que se encuentra en un vial sellado herméticamente junto con líquido o sólido. Por lo general, el vapor está por encima del líquido o sólido, en la parte superior del recipiente, de ahí el término espacio cabeza. La extracción del espacio cabeza se refiere a la recolección y análisis de la fase de vapor [36].

Las ventajas del espacio de cabeza son: permite la evaluación directa de los compuestos volátiles en la fase de vapor y el análisis se puede realizar rápidamente a bajo costo; mientras que, la desventaja es su uso está restringido a muestras donde los compuestos volátiles a evaluar no se retienen en la matriz de la muestra[37].

Es esencial entender el principio que rige el análisis del espacio de cabeza de CG que en un vial sellado a temperatura constante se establece un equilibrio (normalmente 15 min más o menos) entre los componentes volátiles de una muestra líquida o sólida en el vial y la fase gaseosa por encima del “espacio de cabeza” (ver figura 3). Tras conceder el tiempo necesario para el equilibrio, se puede extraer una porción del espacio de cabeza mediante un tabique de goma utilizando una jeringa hermética a los gases e inyectarla en la columna del cromatógrafo de gases[38].

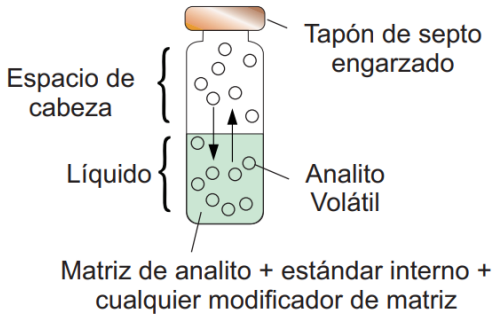


Figura 3. Aparato para analitos volátiles: vial de espacio de cabeza para cromatógrafo de gases.
Fuente. Flanagan et al.[38] Fundamentals of analytical toxicology; 2020. p. 211.

El análisis del espacio cabeza mide la CES en la fase de vapor equilibrada sobre la muestra de líquido dentro de un recipiente cerrado mantenido a temperatura constante (50 °C o 60 °C); este procedimiento tiene especificidad relativamente buena para el etanol, la presencia de otros alcoholes o acetona no suelen interferir con la determinación cuantitativa de etanol; tiene precisión alta con coeficientes de variación interlaboratorios que van desde 3 - 5 % aproximadamente y dentro de laboratorio <1 %; la incertidumbre total (errores aleatorios más sistemáticos) oscila entre ~4 - 6 %[17].

El análisis de CG de espacio de cabeza consta de dos pasos: primero, la muestra, un líquido o un sólido, se coloca en un recipiente que tiene un volumen de gas por encima, y el recipiente, generalmente un vial, es cerrado. Se termostatiza el vial a una temperatura constante hasta que se llega al equilibrio entre las dos fases. Luego, se introduce una alícuota de la fase gaseosa del vial (el espacio de cabeza) en la corriente de gas portador que la lleva a la columna, donde se analiza de la manera habitual. La transferencia de muestras se puede realizar de varias maneras; automáticamente, mediante la presurización del vial de la muestra y una transferencia controlada por tiempo o volumen de una alícuota del espacio de cabeza hacia el interior de la columna[39] (ver figura 4).

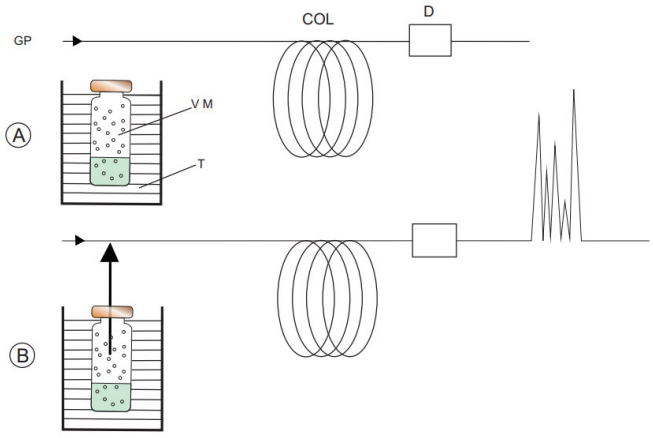


Figura 4. Principios de la cromatografía de gases de espacio de cabeza estático.
(A) Equilibrio y (B) transferencia de muestra. GP = gas portador, VM = vial de muestra, T = termostato, COL = columna CG, D = detector.
Fuente. Kolb et al.[39] Static Headspace-Gas Chromatography; 2006. p.4.

La cromatografía de gases es la técnica analítica preferida para análisis de etanol en sangre. Se pueden analizar las muestras directamente tras su dilución con estándar interno acuoso o calentando la muestra diluida a 60 °C en un recipiente sellado y tomando muestras del vapor. El análisis de este espacio de cabeza permite la cuantificación sin interferencia de la matriz biológica. Tiene la sensibilidad y precisión para cuantificar concentraciones de etanol tan bajas como 0,10 g/L. Múltiples compuestos volátiles, incluidos otros alcoholes, acetona o hidrocarburos, pueden separarse, identificarse y cuantificarse mediante métodos basados en cromatografía de gases, a menudo en combinación un detector de ionización de llama[18].

Normalmente se analiza alguna forma de estándar con un valor conocido para la concentración de etanol junto con las muestras de prueba para permitir que se verifique la precisión del resultado analítico, si el resultado está dentro de la tolerancia permitida, entonces los resultados para las muestras de prueba pueden aceptarse como precisos. Esto es sumamente importante para propósitos legislativos, particularmente en vista del hecho de que un enjuiciamiento exitoso puede resultar en que un conductor o delincuente pierda sus medios de ganarse la vida, o en el caso de cargos de manejo peligroso o autor de un delito puede resultar en una prisión larga[4].

La cromatografía de gases de espacio cabeza consta en una larga columna empaquetada de material inerte. Una alícuota de la muestra sanguínea es colocada en un vial que es sellado con un septo o tapón de goma y es calentado. Los vapores desde el vial son inyectados automáticamente en la columna. Los compuestos vaporizados son movidos a través de la columna de gases inertes. Los compuestos son separados mientras se mueven a través de la columna. Al final de la columna, un detector detecta los compuestos mediante una señal generada y emite un pico en un gráfico que se desplaza a una velocidad específica. Los compuestos son identificados por los tiempos de retención. Un compuesto estándar conocido de cantidad conocida mezclado con una muestra genera un pico. Esta área del pico estándar se compara con el área del compuesto en cuestión. Las áreas de los picos del estándar son comparadas con el área del pico del compuesto en cuestión y son utilizados para la cuantificación[28]

Un detector de ionización de llama está clasificado como un detector universal ya que responde a todos los compuestos orgánicos, tiene un excelente rango dinámico lineal y tiene poca o ninguna respuesta a las impurezas del gas portador, como el CO_2 y el agua; siendo su gas portador típico el nitrógeno. Por estas razones, el detector de ionización de llama es el detector más popular para cromatografía de gases. El gas portador típico es el nitrógeno[35].

El análisis cuantitativo por detector de ionización a la llama da una respuesta lineal en un amplio rango de concentraciones de etanol en sangre de 0,10 a 5,00 g/L, y el límite de cuantificación en el trabajo de casos de rutina es generalmente de 0,10 g/L. El detector de ionización a la llama tiene la ventaja de que es insensible al vapor de agua, pero sensible a sustancias que contienen átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. La sensibilidad analítica se puede aumentar saturando la muestra de sangre con una sal inorgánica, como cloruro de sodio o carbonato de potasio, que podría ser necesario si las concentraciones endógenas de etanol son de interés[18].

El análisis de etanol, ya sea como componente de un líquido consumible o en fluidos biológicos es relativamente sencillo. Sin embargo, comprender qué interferencias pueden extraerse correctamente en los casos que involucran etanol es una responsabilidad importante para el toxicólogo forense, y para ello es necesario comprender los matices de las técnicas analíticas empleadas y los procesos metabólicos que experimenta el etanol en el cuerpo[7].

El proceso de medición de alcoholemia no se completa hasta que los resultados de la prueba se hayan interpretado adecuadamente y se hayan presentado claramente a los responsables de tomar una decisión basada en ellos. Con demasiada frecuencia, el mayor esfuerzo se dirige a garantizar la más alta integridad del proceso de medición con menos consideración a la comunicación clara de los resultados y sus posibles limitaciones. La interpretación apropiada de los resultados de etanol en sangre comienza con una comprensión profunda del propósito de la medición y el proceso que los produjo. Al igual que cualquier evidencia forense, los resultados de etanol deben presentarse ante el tribunal junto con una breve explicación del proceso de medición. Esto le permite al tribunal poner los resultados de la medición en su contexto apropiado y asignar el peso relevante[4].

La interpretación de las CES en muestras *post mortem* es similar la interpretación que en individuos vivos. El etanol es un depresor del SNC dependiente de la dosis que puede afectar las funciones físicas y mentales. Este impedimento puede manifestarse en reducciones en el juicio, la atención, la percepción y las habilidades multitarea. A medida que se eleva la CES, pueden notarse síntomas más evidentes de alcoholismo. Una CES igual o superior a 4,00 g/L puede ser consistente con causar la muerte en ausencia de otros hallazgos patológicos por intoxicación por alcohol[18].

2.2.5 Extrapolación retrógrada de alcoholemia

La estimación de las concentraciones sanguíneas de etanol en una persona proporciona información útil sobre la gravedad de su intoxicación[20].

La extrapolación retrógrada, cálculo inverso o extrapolación inversa de la concentración de alcohol en sangre, se refieren al proceso de aplicar los principios básicos de la toxicocinética para llegar a una estimación del resultado del etanol en la sangre de una persona en un momento anterior en función de una concentración medida en un momento posterior[4].

En ocasiones, la investigación del etanol se lleva a cabo tras un accidente, una agresión, un homicidio, entre otros sucesos. El juez está interesado en saber el nivel de etanol que tenía el individuo al momento de cometer el delito y no la que tenía una o dos horas después, cuando pudo realizarse la extracción de sangre para el análisis de alcoholemia[40].

La estimación de las CES en un momento previo al análisis requiere una evaluación cuidadosa de varios factores que afectan la curva de etanol en sangre. Estos factores incluyen la fase de la curva de etanol en sangre durante el tiempo en cuestión, la tasa de eliminación del tiempo en cuestión, el tiempo de la última bebida, el tipo de muestra (suero, sangre total), variación interindividual en la tasa de eliminación, el tiempo de

alcanzar la concentración de alcohol en sangre pico y cualquier fluctuación a corto plazo en la tasa de eliminación[17].

Uno de los aspectos más controvertidos de la toxicología forense, en lo que respecta a la ingestión de etanol, es el proceso de extrapolación inversa. Básicamente, esto consiste en trabajar desde una concentración de alcohol en sangre conocido hasta una estimación de CES en algún momento anterior. Dichos cálculos pueden ser de gran importancia en casi todos los tipos de casos relacionados con el etanol, desde casos de conducción bajo la influencia del alcohol hasta suicidios, homicidios[7].

La estimación precisa de la CES en un momento previo a la recolección de una muestra de sangre requiere la presencia de varias de las siguientes condiciones[17]:

1) el tiempo de la CES estimado y la muestra de sangre debe ocurrir durante la fase posabsorción de la curva de etanol en sangre,

2) la tasa de eliminación de etanol debe conocerse o estimarse como un rango de valores probables, y

3) el tiempo de la muestra y la CES estimado deben ocurrir durante la fase de disminución lineal de la curva de eliminación.

"La curva toxicocinética del etanol puede variar en función de las circunstancias de cada caso. Sin embargo, y a pesar de todas estas consideraciones, se han propuesto algunas fórmulas basadas en dicha curva para realizar cálculos sobre alcoholemias retrospectivas, de gran interés y aplicación en la valoración médico forense. Así, utilizando el denominado coeficiente de etiloxidación puede calcularse la alcoholemia en un momento anterior al instante de la extracción de la muestra de sangre"[1,27]:

$$\mathbf{C_0 = C_t + \beta t}$$

C_0 : Concentración de etanol en sangre en el momento de los hechos.
C_t : Concentración de etanol en sangre en el momento de la extracción.
t : Tiempo (h) transcurrido entre C_0 y C_t.
β : Coeficiente de etiloxidación. Expresa la cantidad de etanol oxidado; desde 0,10 a 0,35 g/L/h.

"Cuanto mayor es el tiempo transcurrido entre el momento de la extracción de la sangre y el momento que interesa conocer el grado de afectación alcohólica, mayor es el error"[1].

La validez de la fórmula se aplica siempre y cuando se demuestre que el etanol en el sujeto examinado está en fase de eliminación, por tanto, se encuentre etanol en la primera muestra de sangre extraída para la determinación de alcoholemia. No es factible la extrapolación de alcoholemia a un momento anterior al instante de la extracción de la primera muestra de sangre cuando esta tiene 0,00 g etanol/L de sangre.

Como era de esperar, la calidad y la utilidad de tal estimación dependen de los supuestos subyacentes que se hagan para facilitar el proceso. Con buena información y una cuidadosa consideración de las limitaciones importantes del proceso, la extrapolación hacia atrás puede producir estimaciones altamente confiables de la CES. La limitación clave es que la extrapolación inversa no se puede extender a la fase de distribución y,

como tal, se debe conocer el patrón de ingestión de alcohol (o supuestos claramente identificados con respecto a ese patrón de ingestión). Incumbe a cualquier individuo que realice cálculos de extrapolación inversa identificar y considerar cuidadosamente las variables subyacentes y los supuestos del caso, y asegurarse de que las estimaciones resultantes sean insesgadas, válidas y razonables. Naturalmente, cualquier individuo que realice dichos cálculos y haga tales estimaciones debe estar preparado para discutir las limitaciones e incertidumbres del proceso en general y con respecto al caso específico[7].

2.2.6 Embriaguez etílica

2.2.6.1 Etanol y accidentes vehiculares

Es evidente que el consumo de etanol y la consiguiente embriaguez tienen efectos adversos para el piloto de un vehículo automotor en forma de "desenfoque visual, reducción de la agudeza visual, disminución de la conciencia y la reacción a los estímulos, falta de coordinación motora, deterioro del juicio y aumento del tiempo de reacción". Esto ha dado lugar al refrán: "Beber y conducir no se mezclan". Conducir un vehículo en una vía pública bajo la influencia del alcohol o cualquier otra droga es un delito en casi todos los países del mundo[12].

Muchos países permiten grados leves de ebriedad, pero más allá de una determinada tasa de alcoholemia legal, se convierte en un delito culposo[14].

El criterio de alcoholemia por conducción bajo los efectos del alcohol es actualmente de 0,25 g/L (para el caso de conductores del transporte público de pasajeros, mercancías o carga en general) y 0,50 g/L (para el caso de conductores de transporte particular) en todo el territorio peruano[41]. Una idea equivocada común es que un individuo con una concentración de etanol en sangre menor a los guarismos citados anteriormente no está significativamente afectado. Esta es con frecuencia una cuestión legal grave en casos de conducción de vehículos motorizados bajo los efectos del etanol, cuando se puede presentar la implicación de que, si de hecho el conductor en cuestión tenía una concentración de etanol inferior a 0,25 o 0,50 g/L en el momento del arresto o del accidente, estaba menos o nada afectado por el etanol. No obstante, los efectos del etanol en el cuerpo en concentraciones inferiores a 0,50 g/L pueden afectar la capacidad de un individuo para conducir un vehículo de motor de manera segura[7].

El impacto del etanol en la función del SNC no tiene un umbral y, por lo tanto, cualquier etanol afecta la función neuronal. En concentraciones bajas (~ 0,10 g/L), ese efecto puede ser efectivamente inconmensurable, y en un sentido práctico, sin impacto en la capacidad de un individuo para controlar un vehículo motorizado. Sin embargo, gran parte de la actividad de conducción implica las tareas intelectuales de procesamiento de información y toma de decisiones, tales como la identificación y la reacción apropiada ante riesgos o situaciones peligrosas en el entorno de la conducción. El impacto de los niveles bajos de etanol puede estar relacionado con la capacidad para conducir de la manera sugerida por la tabla de Dubowski tal como se describió en la Tabla 3, con respecto a los efectos sobre la capacidad para realizar múltiples tareas, la función y reacción visual, la coordinación, el juicio, etc.[7]

2.2.6.2 Etanol y delitos

Las peleas, agresiones (sexuales y no sexuales), homicidios, feminicidios, suicidios y otros delitos están por lo común asociados con la embriaguez. La misma inmunidad a una persona ebria involuntariamente se le otorga a una persona con problemas de salud mental, siempre que la persona estuviera ebria hasta tal punto que fuera incapaz de conocer la naturaleza y las consecuencias del acto. La embriaguez voluntaria, imputa el mismo conocimiento a un hombre que él habría tenido, si no hubiera estado ebrio. A nadie se le puede permitir ponerse el manto de la inmunidad emborrachándose, por lo que la embriaguez voluntaria nunca es una respuesta a la acusación penal[12].

Las peleas, las agresiones, los homicidios y los suicidios suelen estar asociados a la ebriedad. Incluso si el agresor estaba tan ebrio que había perdido el control total sobre sus facultades mentales y, por lo tanto, no estaba en condiciones de juzgar si sus acciones fueron correctas o incorrectas, sigue siendo sancionable por cualquier acto delictivo cometido por él, a menos que se le haya administrado el alcohol sin su conocimiento o en contra de su voluntad[14].

Desde el punto de vista médico legal, las etapas 3 y 4 de la intoxicación alcohólica (etapas de excitación y confusión son las más importantes, ya que la mayoría de los delitos asociados con el consumo de alcohol son cometidos durante estas dos etapas[14].

En la mayoría de los casos, los actos ilegales se llevan a cabo durante la etapa de euforia o excitación, cuando la actividad cerebral alcanza su punto máximo. En este lapso, la persona suele ser consciente de las consecuencias del acto, aunque el poder de resistir el impulso hacia la ejecución del acto puede no ser equitativa a la de un hombre sobrio[12].

La ocurrencia de delitos cometidos por persona bajo la influencia del etanol no son resultado de la falta de comprensión de la naturaleza y las consecuencias de los actos, sino a la represión de esas influencias inhibitorias que en personas sobrias impiden la comisión de tales actos punibles. Los ebrios suelen cometer con mayor frecuencia delitos motivados por pasiones. La mayoría de las actuaciones activadas por la pasión no son naturalmente repugnantes para el hombre, pero son preeminentemente aquellas que el hombre normal ha aprendido a contener. La supresión de las fuerzas de control incrementa la posibilidad de su perpetración[12].

2.2.7 Aspectos legales y regulatorios sobre alcoholemia en Perú y otros países

La concentración de etanol en sangre de una persona es la evidencia más importante en los casos de conducción bajo los efectos del etanol, porque existen límites de concentración legales en la mayoría de los países[15].

En todo el Perú, el mero consumo de etanol y el consiguiente comportamiento de ebriedad en sí mismos no constituyen ningún delito. Solo cuando el individuo ebrio se comporte de tal manera que se convierta en una molestia pública, o represente una amenaza, o realmente cometa un acto que ponga en peligro la vida o propiedad de otra persona o incluso la suya propia, la justicia tomará conocimiento del hecho[14].

Las encuestas epidemiológicas han demostrado que el consumo excesivo de etanol y la embriaguez son causas frecuentes de accidentes en el hogar, el trabajo y las carreteras.

Por lo tanto, el análisis de etanol en sangre y otros fluidos corporales constituye un componente crítico en cualquier investigación criminal o civil de accidentes relacionados con el etanol. Para abordar este problema, las legislaturas estatales han establecido límites permitidos de CES y concentración de etanol en el aliento cuando una persona opera un vehículo motorizado[18].

El alcoholismo es un problema importante en la mayoría de los países del mundo. Los accidentes de tránsito inducidos por el etanol son abundantes y, a veces, tienen consecuencias fatales. La pérdida de productividad en el lugar de trabajo es considerable. Los delitos relacionados con el alcohol ocupan una cantidad considerable de tiempo tanto para la aplicación de la ley como para los tribunales. Por esta razón, varios países promulgaron leyes relativas a los límites legales de CES al operar vehículos motorizados. Las leyes relativas a la edad mínima para operar un vehículo de motor difieren de un país a otro[28].

Aunque la relación entre el consumo de etanol y el deterioro de las funciones corporales está bien establecida, es mucho más fácil determinar con precisión la CES que medir la disminución del rendimiento. Por lo tanto, medir la CES de una persona proporciona evidencia importante en la medicina, toxicología forense y legal cuando se investigan delitos relacionados con el etanol, como conducir ebrio, porque se aplican los límites legales *per se* de la CES[15], como 0,25 y 0,50 g/L en Perú[30].

La mayoría de las jurisdicciones han adoptado límites al nivel de etanol que se considera aceptable o inaceptable para que una persona tenga en su organismo mientras conduce un vehículo motorizado o en el momento de la comisión de un delito[4].

Las autoridades de todo el mundo han establecido sus propios estándares para concentración de alcohol en sangre máximo permitido[11] (ver Tabla 6).

Tabla 6. Concentración de etanol en sangre permisible en diferentes países.

Concentración de etanol en sangre (g/L)	Países
0,00	Hungría, Pakistán, Arabia Saudita, Emiratos Árabes Unidos
0,20	Noruega, Polonia, Suecia
0,25	Perú (casos de transporte público de pasajeros, mercancías o carga en general, inobservancia de reglas de tránsito)
0,30	India, China , Japón
0,50	Australia, Francia, Alemania, Italia, España, Países Bajos, Rusia, Dinamarca, Perú (casos de transporte particular)
0,80	Canadá, Reino Unido, Estados Unidos de América (1,00 g/L en algunos Estados)

Fuente. Modificado de Biswas[11]. Review of Forensic Medicine and Toxicology; 2015. p. 552.

En Perú, la ley № 29439[41] refiere que los tiempos y la severidad de las penas privativas de la libertad varía en relación a la concentración de etanol en la sangre del agente, describe que para los casos de "homicidios y lesiones culposas y conducción en estado de ebriedad, si la muerte o lesión se comete utilizando vehículo motorizado o arma de fuego, estando el agente con presencia de alcohol en la sangre en proporción mayor de 0,50 g/L en el caso de transporte particular, o superior de 0,25 g/L, en el caso de trasporte

público de pasajeros, mercancías o carga en general, o cuando el delito resulte de la inobservancia de reglas de tránsito". Sanciona la manipulación y uso de arma de fuego cuando al agente está en estado de ebriedad presentando alcohol en sangre superior a 0,50 g/L; es decir, cuando "opera o maniobra instrumento, herramienta, maquina u otro análogo que represente riesgo o peligro". Además, cuando en "lugar público o poniendo en riesgo bienes jurídicos de terceros y teniendo licencia para portar arma de fuego, hace uso, maniobra o de cualquier forma manipula la misma". Inclusive es privado de la libertad el agente que "desobedezca a la autoridad la orden de realizarse un análisis de sangre o de otros fluidos corporales que tenga la finalidad determinar el nivel, porcentaje o ingesta de alcohol" (ver Tabla 7).

La ley № 30819[42], de 13 de julio de 2018, modifica algunos artículos del Código Penal peruano con la finalidad de ampliar la protección penal para los casos de violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar; considera que el agente que actúa en estado de ebriedad con presencia de etanol en la sangre en proporción mayor de 0,25 g/L es una circunstancia agravante por lo que se incrementa o es más severa la pena privativa de la libertad en casos de feminicidio y lesiones graves por violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar, también incluye los casos por lesiones leves, entre otros (ver tabla 8).

El artículo 307 del Decreto Supremo № 003-2014-MTC[43], refiere que "el grado alcohólico máximo permitido a los conductores y peatones que son intervenidos por la autoridad, es el previsto en el Código Penal", es decir de 0,50 g etanol/L sangre y 0,25 g etanol/L sangre, según lo detallado en el párrafo anterior.

El artículo 4° de la ley № 27753[44] se refiere a la tabla de alcoholemia cuyos valores son referenciales, constituido por cinco períodos y describiendo los principales signos o síntomas característicos; así tenemos: "primer período de 0,1 a 0,5 g etanol/L sangre (subclínico); segundo período de 0,5 a 1,5 g etanol/L sangre (ebriedad); tercer período de 1,5 a 2,5 g etanol/L sangre (ebriedad absoluta); cuarto período de 2,5 a 3,5 g etanol/L sangre (grave alteración de la conciencia) y quinto período niveles mayores de 3,5 g etanol/L sangre (coma)"; esta tabla de alcoholemia deberá ser expuesta obligatoriamente en lugar visible donde se expendan bebidas alcohólicas; sin embargo a la fecha la mayoría de estos establecimiento hacen caso omiso a esta disposición.

Nada es un delito cometido por una persona que, al momento de hacerlo, debido a la intoxicación, es incapaz de conocer la naturaleza del acto, o lo que está haciendo es incorrecto o contrario a la ley; siempre que la sustancia que lo intoxicaba se le administró sin su consentimiento o en contra de su voluntad. La embriaguez voluntaria no es excusa para cometer un delito[11].

Legislar contra la conducción bajo la influencia del etanol presenta una mayor facilidad, debido a que hay más información disponible sobre como el etanol perjudica la conducción, o cómo la discapacidad puede asociarse a una medición cuantitativa del etanol en el organismo de una persona. Es relativamente sencillo llevar a cabo estudios sobre discapacidad del etanol porque el consumo de etanol es legal en la mayoría de los países y, por lo tanto, puede administrarse para estudios sin plantear consideraciones éticas indebidas[4].

Tabla 7. Pena privativa de la libertad, inhabilitación en casos de homicidio y lesiones culposas, conducción en estado de ebriedad y otros casos; según la Ley № 29439.

Descripción	Homicidio culposo	Lesiones culposas	Conducción en estado de ebriedad	Resistencia o desobediencia a la autoridad	Manipulación en estado de ebriedad	Uso de armas en estado de ebriedad
Artículos modificados/ incorporados al Código Penal	111°	128°	274°	368°	274°-A	279°-F
Pena privativa de la libertad	(…) 4≤ años ≤ 8	4≤ años ≤6	a) 6 ≤ meses ≤ 24 b) 1 ≤ años ≤ 3	6≤ meses ≤ 24	6 ≤ meses ≤ 12	1 ≤ años ≤ 3
Inhabilitación	Conforme al artículo 36° Código Penal, incisos 4), 6) y 7).	Conforme al artículo 36° Código Penal, incisos 4), 6) y 7).	a) y b) Conforme al artículo 36° Código Penal, inciso 7).	No especifica	Conforme al artículo 36°, inciso 4).	Conforme al artículo 36°, inciso 6).
Casos	Si la muerte se comete utilizando vehículo motorizado o arma de fuego estando el agente con presencia de alcohol en sangre en proporción >0,5 g/L (transporte particular). >0,25 g/L (transporte público de pasajeros, mercancías o carga en general), o cuando el delito resulte de la inobservancia de reglas técnicas de tránsito.	Si la lesión se comete utilizando vehículo motorizado o arma de fuego estando el agente con presencia de alcohol en sangre en proporción >0,5 g/L (en el caso de transporte particular). >0,25 g/L (en el caso de transporte público de pasajeros, mercancías o carga en general, o cuando el delito resulte de la inobservancia de reglas técnicas de tránsito.	a) El agente que presenta alcohol en sangre en proporción > 0,5 g/L y conduce, opera o maniobra vehículo motorizado	El agente que desobedece o resiste la orden legalmente impartida por un funcionario público en el ejercicio de sus atribuciones de realizarse un análisis de sangre o de otros fluidos corporales que tenga por finalidad determinar el nivel, porcentaje o ingesta de alcohol.	El agente que presenta alcohol en sangre en proporción > 0,5 g/L, opera o maniobra instrumento, herramienta, maquina u otro análogo que represente riesgo o peligro	El agente que presenta alcohol en sangre en proporción > 0,5 g/L, y en lugar público o poniendo en riesgo bienes jurídicos de terceros y teniendo licencia para portar arma de fuego, hace uso, maniobra o de cualquier forma manipula la misma.

Fuente. Tomado y adaptado de la Ley № 29439[41]. Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 19-11-2009.

Tabla 8. Pena privativa de libertad, inhabilitación y circunstancias agravantes en casos de feminicidio, lesiones graves por violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar, lesiones leves y maltrato; según la ley № 30819.

Descripción	Feminicidio	Lesiones graves por violencia contra las mujeres e integrantes del grupo familiar	Lesiones leves	Maltrato
Artículos modificados del Código Penal	**108-B**	**121-B**	**122**	**442**
Pena privativa de libertad	**(…)** **≥ 30 años**	**6≤ años ≤ 12**	**3 ≤ años ≤ 6**	**No aplica** **(…)** **La pena será de prestación de servicio comunitario 80 a 100 jornadas o de 100 a 200 días-multa.**
Circunstancias agravantes	**(…)** **Si el agente actúa en estado de ebriedad, con presencia de alcohol en la sangre en proporción > 0,25 g/L, o bajo efecto de drogas tóxicas, estupefacientes, sustancias psicotrópicas o sintéticas**			
Pena privativa de libertad será más severa cuando concurran 2 o más circunstancias agravantes	**Cadena perpetua**	**12 ≤ años ≤ 15**	**No aplica**	**No aplica**
Cuando la víctima muere a consecuencia de cualquiera de las circunstancia agravantes o de la lesión y el agente pudo prever ese resultado	**No aplica**	**15≤ años ≤ 20**	**8 ≤ años ≤ 14**	**No aplica**
Inhabilitación	**Conforme a los numerales 5 y 11 del artículo 36 del Código Penal y los artículos 75 y 77 del Código de los Niños y Adolescentes, según corresponda.**			**No aplica**

Fuente. Tomado y adaptado de la Ley № 30819[42]. Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 13-07-2018.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Estudio experimental, analítico, comparativo y prospectivo[45].

3.2 Consideraciones éticas

En este estudio se recabó consentimiento informado[46] y la información difundida y obtenida es considerada confidencial y fue tratada como tal en cada momento.

Se les explicó a los sujetos voluntarios de manera clara en qué consistió el estudio.

Se precisó que la sustancia de experimentación era cerveza al 5 % etanol (v/v) y se administró una dosis moderada (0,5 - 1,0 g etanol/kg peso corporal) a cada sujeto voluntario mayor de 18 años de edad, con hábito de consumo moderado de bebidas alcohólicas[27].

La venta, distribución, expendio y consumo de bebidas alcohólicas a personas mayores de 18 años de edad es legal en nuestro país[47].

Los experimentos sobre toxicocinética del etanol se realizaron bajo condiciones de bebida estrictamente controladas[27].

Se garantizó a los sujetos de estudio que no sufrirán daños.

No hubo pago a los participantes. El dosaje de etanol fue gratuito.

3.3 Unidad de análisis

Sujetos varones sanos, mayores de 18 años de edad, con hábito de consumo moderado de bebidas alcohólicas que voluntariamente recibieron una dosis moderada de etanol (0,5 - 1,0 g/L) en forma de cerveza y donaron muestras de sangre venosa.

3.4 Población en estudio

Sujetos varones sanos, voluntarios, de 18 años de edad a más, con hábito de consumo moderado de bebidas alcohólicas.

3.5 Tamaño de la muestra

La muestra lo conformaron 36 sujetos varones voluntarios, mayores de edad, tenían hábito de consumo moderado de bebidas alcohólicas quienes fueron seleccionados al azar para conformar tres grupos experimentales y uno de control, de nueve personas cada uno que donaron muestras de sangre para cuantificación de etanol.

3.6 Criterios de selección

3.6.1 Criterios de inclusión

Varones voluntarios sanos, mayores de 18 años de edad, con hábito de consumo moderado de bebidas alcohólicas, con función hepática normal, no fumadores de tabaco ni consumidores de drogas ilícitas o medicamentos que interactúen con el etanol.

3.6.2 Criterios de exclusión

- Varones menores de 18 años de edad.
- Mujeres.
- Varones mayores de edad fumadores de tabaco, consumidores de drogas ilícitas o con tratamiento con medicamentos que interactúen con el etanol.
- Varones no voluntarios.
- Varones voluntarios mayores de edad con enfermedad hepática.
- Varones abstemios.
- Varones con costumbre de consumo excesivo de bebidas alcohólicas.

3.7 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 (ver anexo 1), además respondieron un breve cuestionario sobre su salud (ver anexo 2). Durante el período de estudio, los individuos recibieron instrucciones de no consumir bebidas alcohólicas 48 h antes de las sesiones de exposición al etanol[48].

3.8 Instrumentación

Para la determinación de etanol se utilizó el sistema conformado por un equipo muestreador de espacio cabeza estático marca DANI modelo Master SHS acoplado a un cromatógrafo de gases marca DANI modelo Master GC equipado con un inyector Split/splitless y un detector de ionización de llama.

3.9 Productos químicos

El etanol HPLC 99,8 % (Merck®) fue utilizado como estándar primario para elaborar la curva de calibración para el análisis de alcoholemia. Se utilizó propan-1-ol (Merck®) al 0,1 % como estándar interno. Saponina en polvo (Sigma-Aldrich®). Cloruro de sodio ACS (J.T. Baker®). Agua ultrapura. Aire sintético zero (20,9 % O_2 ± 0,1 %). Gas helio ultra puro 5,2 (99,9992 %). Gas hidrógeno ultra puro 5,5 (99,9995 %). La bebida alcohólica consumida fue cerveza (Pilsen Callao, Unión de Cervecerías Peruanas Backus S.S.A., Lima), contenido de etanol 5 % vol., envase de aluminio de 355 mL, código del registro sanitario: P5802109N/NAUIDE, número de lote: AT080804, fecha de vencimiento: 06NOV19 y anilla *stay-on tab* intacta.

3.10 Exposición a etanol de los sujetos voluntarios

Los sujetos fueron distribuidos de forma aleatoria en cuatro grupos de nueve individuos cada uno, siendo tres grupos experimentales (I, II, III) y un grupo de control (IV) evaluados bajo las mismas condiciones de bebida alcohólica estrictamente controlada. A los individuos del grupo I con ayuno nocturno de 10 h, a tiempo cero, se les administró por vía oral una dosis de 0,8 g etanol/kg de peso corporal como cerveza 5 % Alc. Vol. y fue consumida en 10 min; mientras que los sujetos de los grupos II y III ingirieron cerveza *ad libitum* sin sobrepasar 1,0 g/kg[5]. Los sujetos del grupo IV no ingirieron bebidas alcohólicas. Luego simularon participación en accidentes de tránsito y hechos punibles.

3.11Técnica de muestreo de sangre para cuantificación de etanol

Todas las muestras de sangre fueron extraídas según Anderson[49], 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 de 5 mL. Posingestión de la bebida alcohólica se recolectaron muestras de sangre preferentemente de la vena cubital, considerando lo siguiente:

A) Grupo I (biomonitorización): se extrajeron cantidad suficiente de muestras de sangre que permitieron construir el perfil de concentración-tiempo del etanol para la identificación de las principales características 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 (evaluación de alcoholemias): en ambos grupos a cada participante se le extrajo 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.

Las muestras de sangre se recogieron en tubos BD Vacutainer® de 5 mL que contenían fluoruro de sodio (2,5 mg/mL) /oxalato de potasio (2,0 mg/mL)[11].

Se registraron la hora y fecha de la extracción de las muestras de sangre y el código de cada examinado en los tubos que contenían las muestras sanguíneas 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 realizó la cuantificación de etanol[38].

3.12 Determinación de etanol en muestras de sangre por cromatografía de gases

El etanol en sangre se cuantificó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza (GC-FID/HS, por sus siglas en inglés)[50], los análisis de alcoholemia se efectuaron por duplicado, el resultado final se reportó como la media aritmética de las determinaciones efectuadas, con truncamiento por las centésimas[31] y expresado en g etanol/L sangre[6].

Las principales condiciones cromatográficas se describen en la tabla 9.

3.13 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 (coeficiente de etiloxidación, 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 CES en el eje de ordenadas, y el tiempo de muestreo de sangre en el eje de abscisas. El punto de partida fue seleccionar muestras de sangre en la

parte descendente de la curva después de la absorción y luego se dibujó la línea recta que mejor se ajustó a través de estos puntos. Luego, esta línea fue extrapolada hacia atrás para intersecarse al eje de ordenadas, y hacia adelante para intersecarse al eje de abscisas. La intersección en el eje de ordenadas correspondió al parámetro concentración inicial (C_0) que es la CES teórica esperada 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 de las abscisas es el tiempo necesario para eliminar el etanol del torrente sanguíneo (Min_0), ignorando la parte curvilínea de la curva que comienza con un CES muy bajo (< 0,05 a 0,10 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 eliminación de orden cero. El V_d de etanol (L/kg) se calculó como la relación de la dosis (g/kg) dividida por la intersección con el eje de las ordenadas (C_0)[13].

Tabla 9. Condiciones cromatográficas del equipo cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama y muestreador de espacio de cabeza.

Cromatógrafo de gases	
Horno GC	
Columna	DB-Alc2 (30 m; 0,32 mm; 1,20 µm)
Temperatura	35 °C (isotérmico)
Gas trasportador	Helio
Flujo	5 mL.min^{-1}
Inyector Split/Splitless	
Temperatura	150 °C
Split (División)	1:30
Purga	1 mL.min^{-1}
Detector de ionización de llama	
Temperatura	300 °C
Flujo de hidrógeno	30 mL.min^{-1}
Flujo de aire	300 mL.min^{-1}
Make up	20 mL.min^{-1}
Muestreador de espacio de cabeza	
Temperatura del horno	70 °C
Colector	90 °C
Línea de transferencia	90 °C
Tiempo de equilibrio vial	15 min
Sacudida	Alta
Modo de inyección	Estándar; 0,5 min
Volumen de inyección	1 mL

Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2022.

3.14 Extrapolación retrospectiva de la alcoholemia

Antes de la estimación de la alcoholemia retrospectiva, primero se tuvo que confirmar que el etanol en la 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 retrógrada[4] se realizó en función del resultado promedio de la concentración de etanol de la primera muestra de sangre analizada y luego determinamos los límites probables superior e inferior de alcoholemia extrapolada al momento en que ocurrió el hecho punible, aplicando la ecuación:

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

Dónde: β_1 (g/L) es la estimación de la alcoholemia a un momento determinado **t**, β_2 (g/L) es la alcoholemia medida durante la prueba analítica, β es la tasa de eliminación del etanol (g/L/h) y t es el tiempo transcurrido en horas entre el suceso y la prueba analítica. Los límites inferior y superior para β fueron 0,10 y 0,35 g/L/h, respectivamente[27]. Se consideraron que los accidentes o hechos delictivos fueron cometidos entre 2 a 8 h antes del momento de extracción de la primera muestra de sangre obtenida para cuantificación de etanol[13].

3.15 Aplicaciones forenses

Se evaluaron e interpretaron casos forenses reales sobre investigación de delitos relacionados con el etanol como conducción de vehículos motorizados en estado de ebriedad, homicidios, suicidios, intoxicaciones agudas por etanol los que ameritaban la extrapolación de alcoholemia retrospectiva precisando los límites superior e inferior aplicando el coeficiente etiloxidación calculado, la ecuación de Widmark y su correlación con las posibles manifestaciones clínicas que presentaba el sujeto durante la comisión del hecho punible[28,51].

3.16 Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos se utilizó el software Microsoft Excel versión 2019. Los valores medio, máximo y mínimo se utilizaron como estadísticos descriptivos. Los datos cuantitativos de alcoholemia fueron expresados como promedios y rango. Los resultados de alcoholemia se evaluaron retrospectivamente y no se realizaron nuevas determinaciones de etanol u otras drogas. 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 $p<0,05$[52].

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Tabla 10. Datos para la elaboración de la curva de calibración. Concentraciones de las soluciones estándar de etanol con sus relaciones de áreas (etanol/n-propanol) reportadas por el cromatógrafo de gases.

Concentración del estándar etanol (g/L)	Áreas reportadas por el cromatógrafo de gases (pA/min)		Relación de áreas (Etanol/ n-propanol)
	Etanol	n-propanol	
0,10	0,199	4,076	0,049
0,10	0,262	4,670	0,056
0,10	0,215	3,923	0,055
0,50	1,039	4,258	0,244
0,50	1,038	4,200	0,247
0,50	1,053	4,226	0,249
1,00	1,944	4,087	0,476
1,00	1,66	3.441	0,482
1,00	2,013	4,186	0,481
2,00	4,309	4,456	0,967
2,00	3,87	4,081	0,948
2,00	4,044	4,267	0,948
3,00	6,198	4,236	1,463
3,00	6,377	4,398	1,450
3,00	6,422	4,363	1,472
4,00	7,614	3,989	1,909
4,00	8,824	4,536	1,945
4,00	8,764	4,646	1,886

Fuente. Elaboración propia, octubre de 2022.

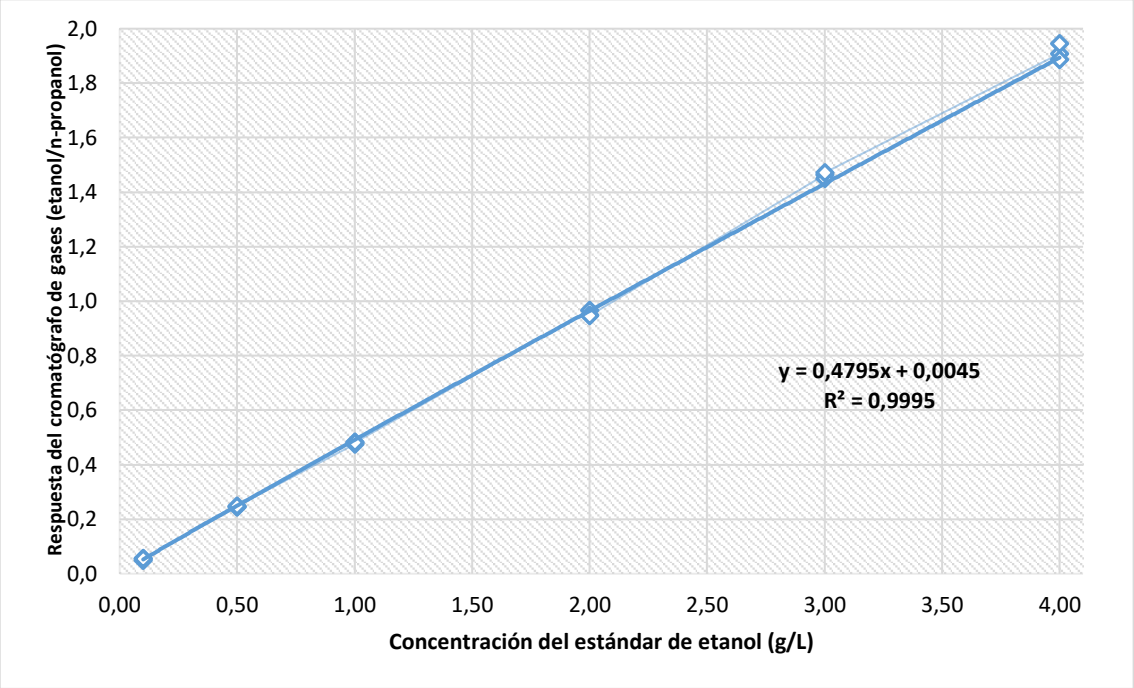


Figura 5. Curva de calibración para cuantificación de alcoholemia en personas por cromatografía de gases con detector de ionización de llama. Señalando la ecuación de la recta: y= 0,4795x + 0,0045 y con coeficiente de determinación $R^2 = 0,9995$.
Fuente. Elaboración propia, octubre de 2022.

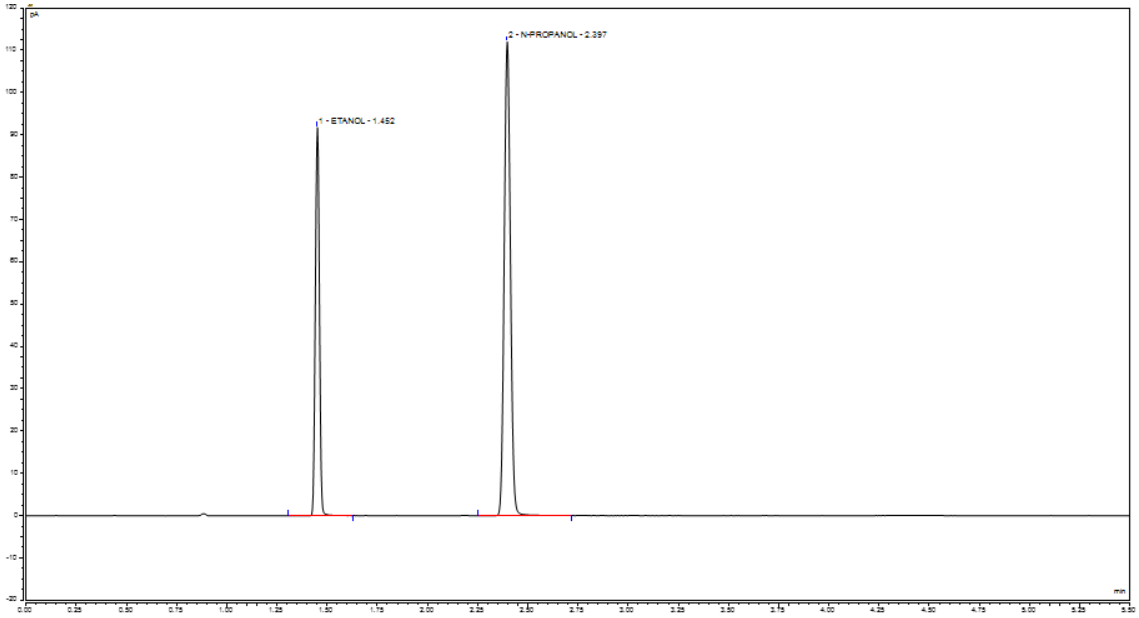


Figura 6. Cromatograma obtenido del cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama, presentando al etanol (t_R = 1,452) y n-propanol (t_R = 2,397).
t_R: tiempo de retención.
Fuente. Elaboración propia, octubre de 2022.

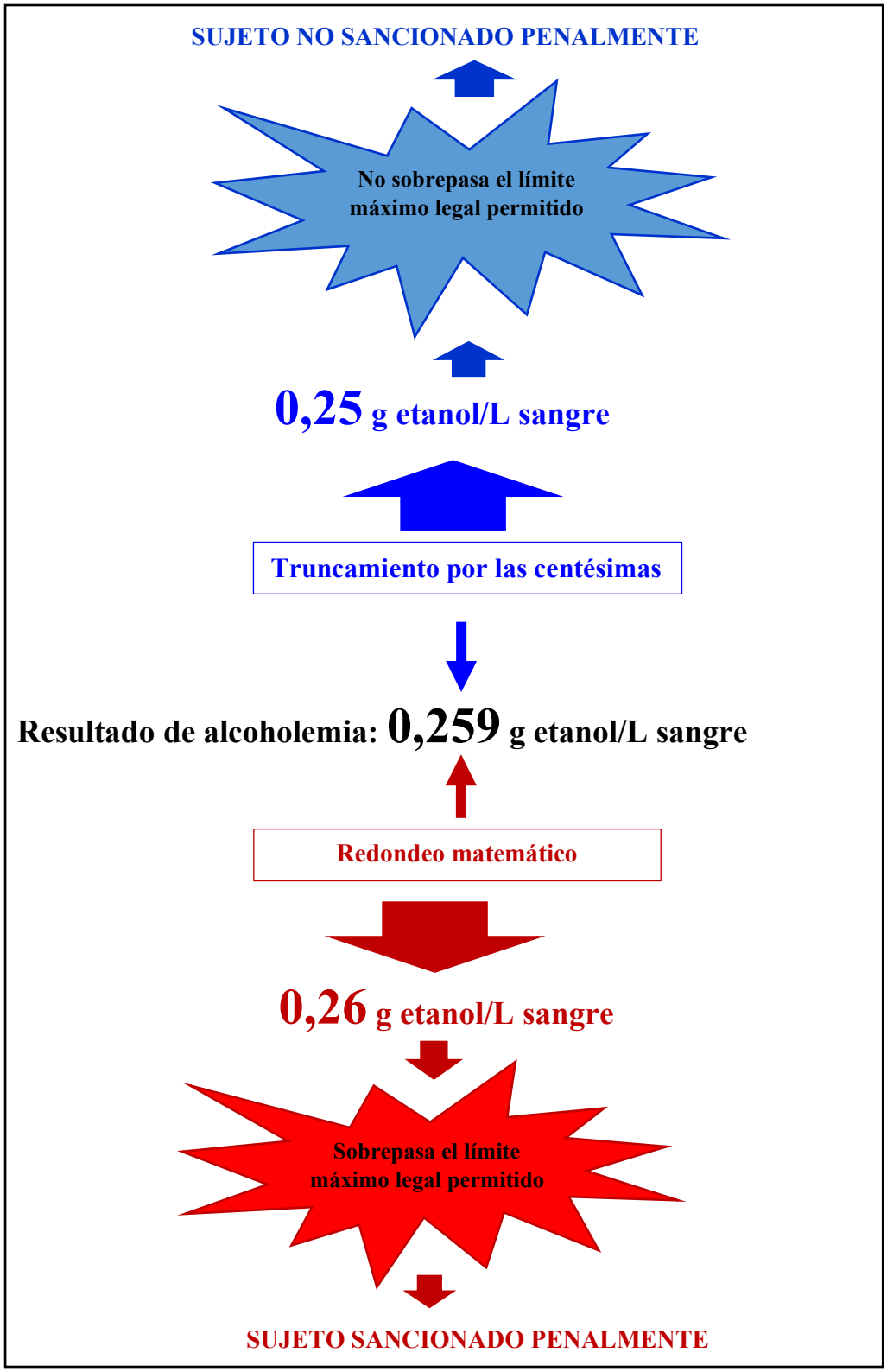


Figura 7. Expresión del nivel de etanol en sangre aplicando el truncamiento por las centésimas en un valor cuantificado de etanol en el límite legal (0,25 g/L) permitido en Perú para un sujeto del grupo II conductor de un vehículo automotor de transporte público de mercancías.
Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2022.

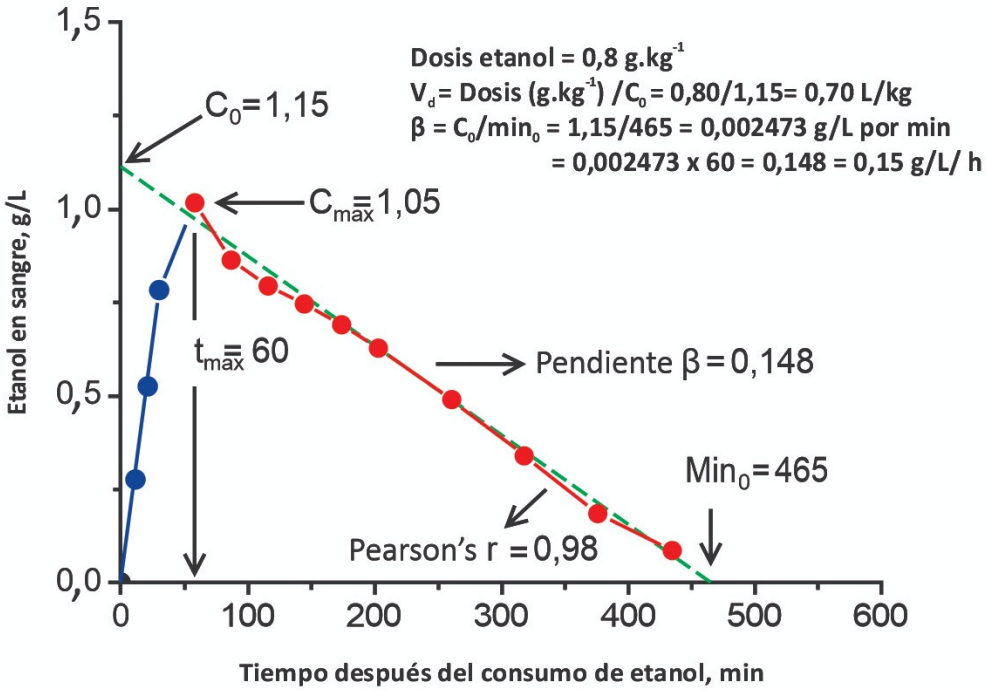


Figura 8. Perfil de la curva de concentración-tiempo de etanol en sangre resultante en los sujetos del grupo I con ayuno nocturno de 10 h que recibieron por vía oral una dosis de etanol 0,8 g/kg como cerveza 5 % (v/v) en un tiempo de consumo de 10 min. Se observan los promedios de la constante de tasa de eliminación de orden cero (pendiente β), el volumen de distribución (V_d). (-●-) fase de absorción y (-●-) fase de eliminación del etanol.
Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2022.

Tabla 11. Concentraciones de alcoholemias en las primeras y segundas muestras 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 es 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.
Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2022.

Tabla 12. Concentraciones de etanol en sangre de un sujeto del grupo III calculadas para el momento de la comisión del delito derivadas de una alcoholemia de 0,25 g/L obtenida en la primera muestra que fue extraída 2 a 8 h después del hecho punible. El cálculo supone una cinética de orden cero con rango de tasas de eliminación de etanol de 0,10 a 0,35 g/L/h con una media de 0,15 g/L/h.

Horas transcurridas después del delito[a]	Tasa de alcoholemia estimada en el momento del delito (g/L) (Valor medio)[b]	Dispersión de alcoholemia estimada (g/L)		Tasa de alcoholemia máxima menos la mínima (g/L)
		Mínima	Máxima	
2	0,55	0,45	0,95	0,50
3	0,70	0,55	1,30	0,75
4	0,85	0,65	1,65	1,00
5	1,00	0,75	2,00	1,25
6	1,15	0,85	2,35	1,50
7	1,30	0,95	2,70	1,75
8	1,45	1,05	3,05	2,00

[a]Supone un resultado analítico de 0,25 g etanol/L de sangre después de hacer una deducción por incertidumbre.
[b]El cálculo supone que el sospechoso había alcanzado la fase posterior al pico máximo de la curva CES en el momento del delito y que no consumió más etanol antes de que se le extrajera sangre para los análisis.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2022.

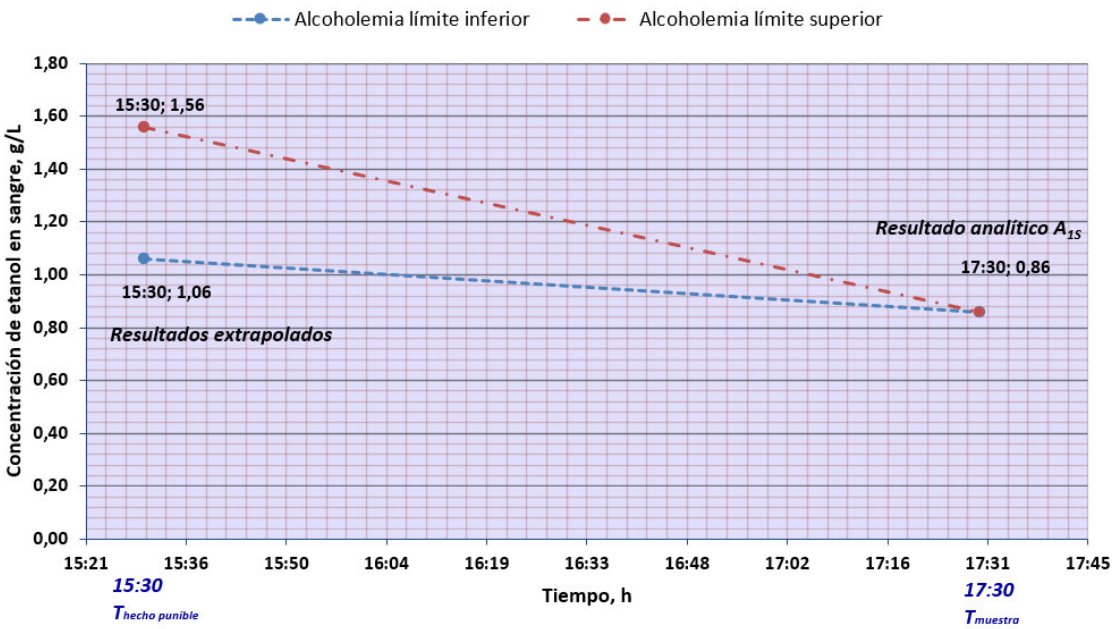


Figura 9. Representación gráfica de la alcoholemia retrospectiva al momento de ocurrencia del hecho punible especificando el límite inferior y superior de la alcoholemia obtenidos a partir del resultado analítico de A_{1S} de un sujeto del grupo III. El amplio rango de los resultados extrapolados se observa claramente (R = 0,50). **Fuente**. Elaboración propia, diciembre de 2022.

Tabla 13. Datos del caso toxicológico forense sobre "conducción de vehículo automotor en estado de ebriedad", alcoholemia en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) extraídas con intervalo de 30 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark.

Datos	Hora	Tiempo transcurrido después del hecho punible		Alcoholemias medidas A_{1S} y A_{2S} (g/L)	Alcoholemia retrospectiva según fórmula de Widmark		
		min	h		Aplicando β calculado	Límite inferior (β = 0,10 g/L/h)	Límite superior (β = 0,35 g/L/h)
Momento del incidente	12:00	0	0	-.-	1,76	1,73	2,11
Extracción de la primera muestra de sangre (1S)	13:30	90	1,5	1,58	-.-	-.-	-.-
Extracción de la segunda muestra de sangre (2S)	14:00	120	2	1,52	-.-	-.-	-.-

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2022.

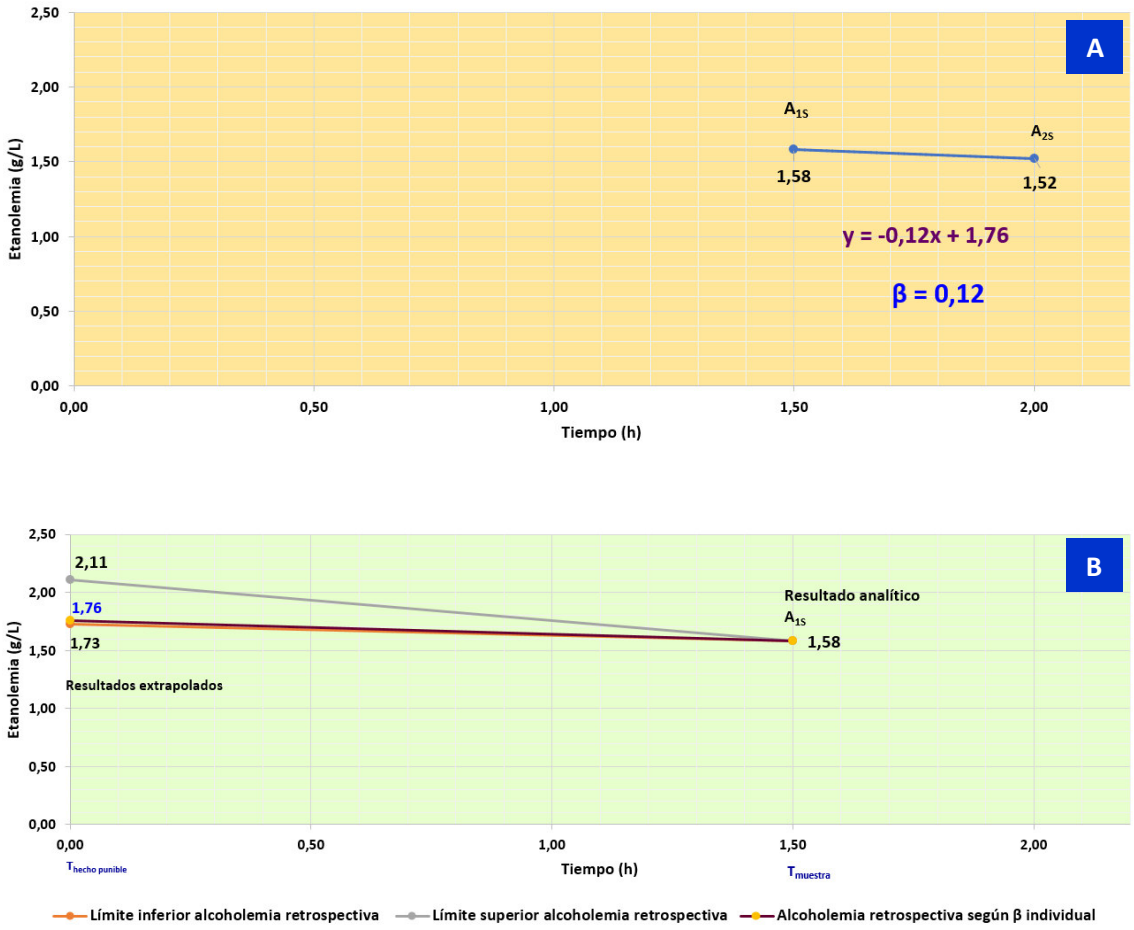


Figura 10. Caso toxicológico forense sobre "conducción de vehículo automotor en estado de ebriedad". **A)** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B)** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de ocurrencia del hecho punible en función de la A_{1S}.
Fuente. Datos de tabla 13.

Tabla 14. Datos del caso toxicológico forense sobre "delito contra la vida, el cuerpo y la salud-homicidio en estado de ebriedad", alcoholemias en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) extraídas con intervalo de 45 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark.

Datos	Hora	Tiempo transcurrido después del hecho punible		Alcoholemias medidas A_{1S} y A_{2S} (g/L)	Alcoholemia retrospectiva según fórmula de Widmark		
		min	h		Aplicando β calculado	Límite inferior (β = 0,10 g/L/h)	Límite superior (β = 0,35 g/L/h)
Momento del incidente	02:00	0	0	-.-	1,26	1,12	1,71
Extracción de la primera muestra de sangre (1S)	04:20	140	2,33	0,89	-.-	-.-	-.-
Extracción de la segunda muestra de sangre (2S)	05:05	185	3,08	0,77	-.-	-.-	-.-

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2022.

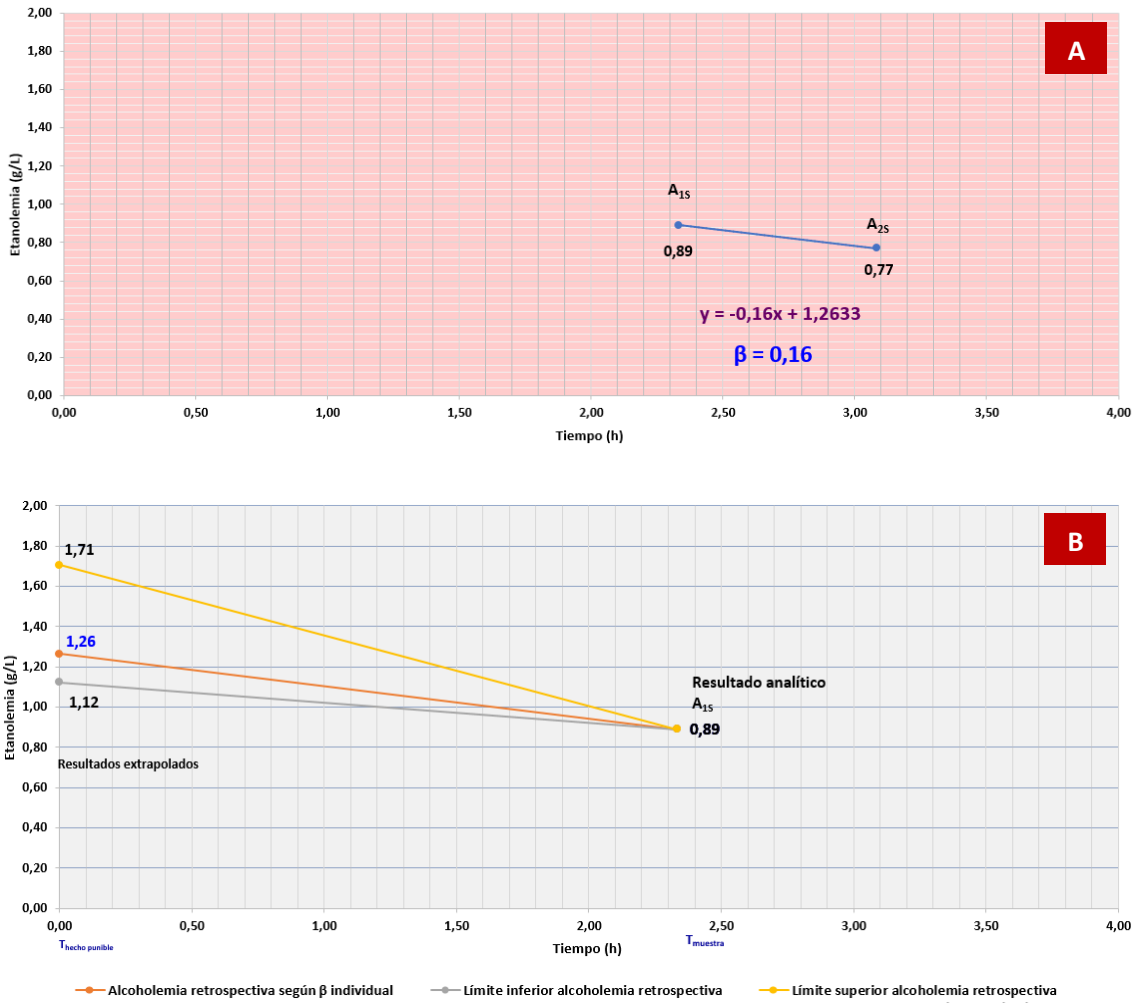


Figura 11. Caso toxicológico forense sobre "delito contra la vida, el cuerpo y la salud - homicidio en estado de ebriedad". **A).** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B).** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de ocurrencia del hecho punible en función de la A_{1S}.
Fuente. Datos de tabla 14.

.

Tabla 15. Datos del caso toxicológico forense sobre "lesiones graves por violencia contra la mujer, en estado de ebriedad", alcoholemias en dos muestras de sangre (A_{1S} y A_{2S}) extraídas con intervalo de 60 min y alcoholemia retrospectiva aplicando la fórmula de Widmark.

Datos	Hora	Tiempo transcurrido después del hecho punible		Alcoholemias medidas A_{1S} y A_{2S} (g/L)	Alcoholemia retrospectiva según fórmula de Widmark		
		min	h		Aplicando β calculado	Límite inferior (β = 0,10 g/L/h)	Límite superior (β = 0,35 g/L/h)
Momento del incidente	17:20	0	0	-.-	1,31	1,06	2,31
Extracción de la primera muestra de sangre (1S)	22:20	300	5	0,56	-.-	-.-	-.-
Extracción de la segunda muestra de sangre (2S)	23:20	360	6	0,41	-.-	-.-	-.-

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2022.

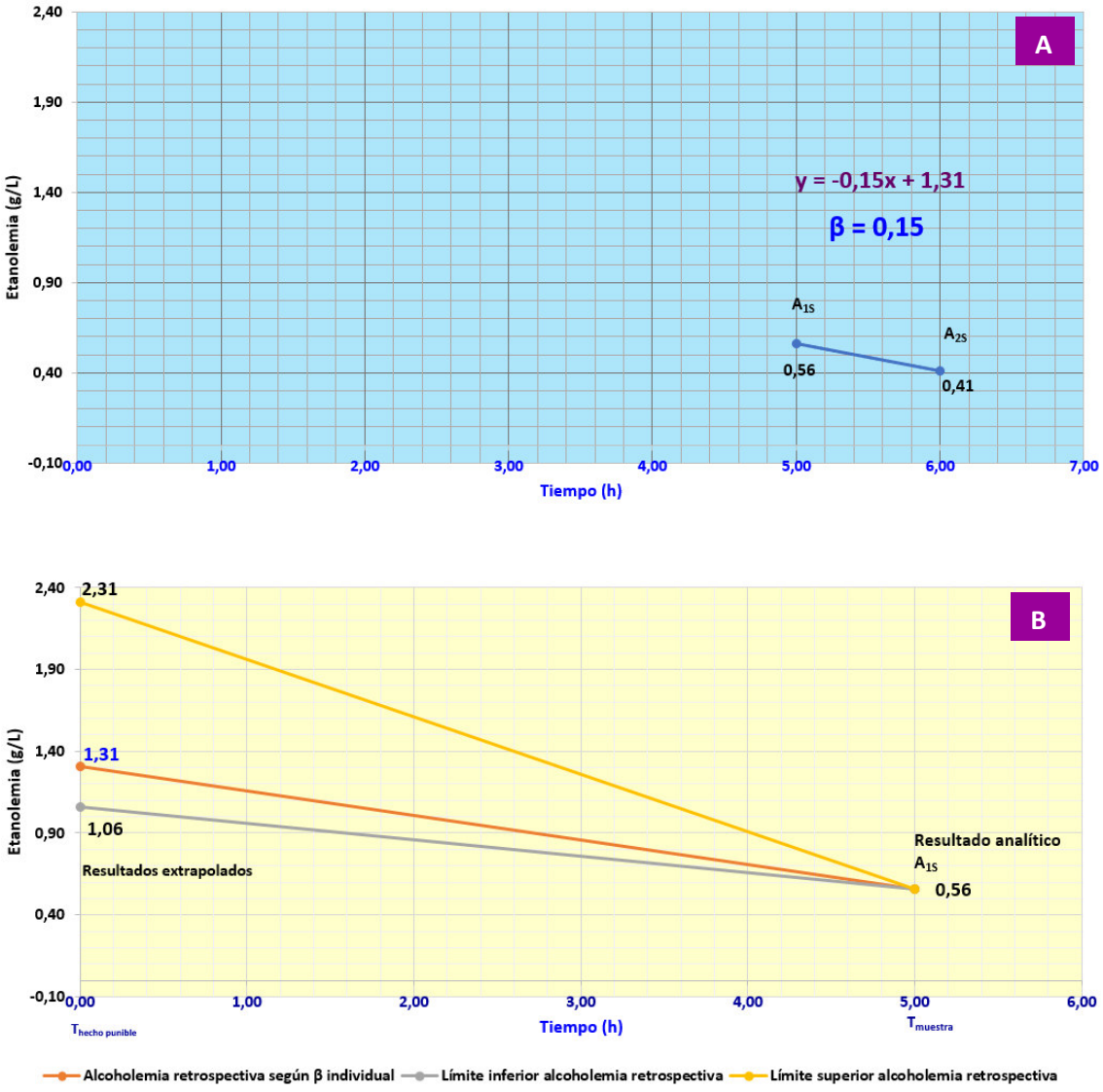


Figura 12. Caso toxicológico forense sobre "lesiones graves por violencia contra la mujer en estado de ebriedad". **A).** Alcoholemias sucesivas (A_{1S} y A_{2S}) de un sujeto, en fase de eliminación del etanol y el coeficiente de etiloxidación (β) individual calculado. **B).** La alcoholemia retrospectiva obtenida aplicando el coeficiente de etiloxidación individual está ubicada entre los límites inferior y superior de la extrapolación retrospectiva de alcoholemia al momento de ocurrencia del hecho punible en función de la A_{1S}.
Fuente. Datos de tabla 15.

CAPÍTUVO V. DISCUSIÓN

La selección, recolección, preservación, custodia y remisión adecuadas de muestras biológicas para análisis toxicológicos es de suma importancia para que los resultados analíticos sean exactos y su interpretación posterior sea científicamente sólida y, por lo tanto, útil en la resolución de casos forenses[53]. Las interpretaciones que se fundamentan en los análisis obtenidos de las muestras de sangre son superiores a las de otros tipos de muestras y, de modo que, la sangre es posiblemente la muestra analítica más importante utilizada en toxicología forense; siendo su principal ventaja ser la gran base para la correlación con los efectos[54].

Los cálculos de etanol en sangre se solicitan comúnmente cuando se investigan delitos relacionados con el etanol, como conducir bajo los efectos del etanol, homicidios, suicidios y otros hechos punibles[18].

La alcoholemia es la medición más útil, ya que existe un rápido equilibrio a través de la barrera hematoencefálica, por lo que, la CES refleja la cantidad de etanol que actualmente afecta al cerebro[11]. El impacto en la función del SNC no tiene un umbral y, por lo tanto, cualquier cantidad de etanol afecta la función neuronal[7]; la estimación de la CES proporciona información valiosa sobre la severidad de la intoxicación etílica[20].

Debido a las consecuencias legales de la concentración de etanol en la sangre de una persona se procedió a cuantificarlo empleando como método analítico la cromatografía de gases con detector de ionización de llama y con la técnica de muestreo de espacio de cabeza, considerado que es el método estándar de oro por ser exacto, preciso y adecuado para el propósito. El análisis cuantitativo se realizó mediante un detector de ionización de llama y midiendo el área del pico eluído en el cromatograma. La identificación de los analitos se realizó comparando el tiempo de retención de las muestras analizadas con el estándar de etanol (t_R: 1,452) y del n-propanol (t_R: 2,397) como se puede observar en la figura 6. Para el análisis cuantitativo se realizó una curva de calibración de concentración de etanol desde 0,10 hasta 4,00 g/L empleando como estándar interno n-propanol, analizando las relaciones de áreas (etanol/n-propanol), las que fueron comparados con las muestras inyectadas en el equipo para obtener un valor numérico que corresponde a la concentración de etanol en sangre.

Es necesario precisar que obtener un resultado cuantitativo de etanol en muestras de sangre con fines legales es solo el primer paso en el proceso analítico, porque la CES también debe interpretarse en relación con los efectos en el individuo, como el grado de deterioro de las funciones corporales y el riesgo de toxicidad y posible muerte por depresión de los centros respiratorios en el tronco encefálico[15].

En la figura 5 se observa la curva de calibración que se utilizó para la cuantificación del etanol contenido en las muestras de sangre de los sujetos voluntarios de los grupos experimentales y control; donde se destaca que el coeficiente de determinación fue 0,9995; siendo la ecuación de la recta y = 04795x + 0,0045; donde la pendiente de la recta fue 0,4795 y el intercepto al eje y fue 0,0045.

Las cantidades de alcoholemia en todas las tablas y figuras se expresaron con dos dígitos sin redondear, aunque con truncamiento de valores por las centésimas (figura 7), este enfoque no permite el redondeo matemáticamente correcto como resultado de los límites legales de CES de la persona[31]. En este contexto según la tabla 11 el caso de un sujeto del grupo II que estaba conduciendo un vehículo motorizado de transporte público de mercancías en una vía pública fue intervenido por la policía y según la prueba de alcoholemia tuvo 0,26 g etanol/L sangre, es un delito en casi todos los países del mundo, en Perú es un delito punible por conducción en estado de ebriedad[41]. Es necesario precisar que, desde una perspectiva legal, no se ha cometido un delito con una concentración de etanol de 0,259 g etanol/L sangre, en cuyo caso el valor medido debe comunicarse y tratarse con dos dígitos fraccionarios como 0,25 g etanol/L sangre, que para este caso es el valor límite máximo permisible de alcoholemia en la conducción profesional de vehículos motorizados. Es necesario señalar que se aplicó el truncamiento por las centésimas con la finalidad de que las cantidades de alcoholemia halladas en los sujetos solo se dejen con dos cifras decimales para que estas sean coherentes con las cantidades de etanol especificadas en leyes y Código Penal[30] peruano en los casos que el agente comete hechos punibles en estado de ebriedad donde señalan como máximo dos cifras decimales así por ejemplo 0,25 g/L y así mismo, para que todos los analistas de alcoholemia reporten sus resultados bajo este mismo criterio.

Para investigar las propiedades toxicocinéticas del etanol, el método ideal utilizado consistió en administrar una dosis en bolo en condiciones controladas y analizar muestras de sangre para determinar un perfil de concentración-tiempo. Las muestras de sangre posteriores al pico se utilizaron para determinar la tasa de eliminación constante con y sin hacer una transformación logarítmica de las concentraciones de tóxico en sangre. En la ciencia forense, obviamente es un desafío ético y práctico estudiar la toxicocinética de las drogas como el etanol mediante estudios de dosificación humana controlada. En cambio, se puede obtener información útil del trabajo de casos de la práctica forense cuando se dispone de dos o más muestras de sangre a intervalos de tiempo separados, como de los casos forenses estudiados[52].

La figura 8 ilustra una curva típica de Widmark de concentración de etanol en sangre y tiempo obtenida después de que los individuos del grupo I, con ayuno nocturno de 10 h recibieron por vía oral una dosis moderada de etanol (0,8 g/kg) como cerveza 5 % Alc. Vol., en 10 min de consumo, junto con los parámetros toxicocinéticos de etanol, distinguiéndose las fases de absorción y eliminación del etanol, concentración inicial, 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. 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[27]. 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 compulsivos[19]. El V_d fue 0,70 L/kg y representa un buen promedio para los sujetos masculinos. A los 60 min se alcanzó 1,05 g etanol/L sangre siendo la concentración máxima del etanol, la CES disminuye a una tasa constante por unidad de tiempo de acuerdo con la cinética de saturación de orden cero. Los resultados de muchos

experimentos de consumo controlado muestran que la concentración máxima por lo general ocurre entre 10 y 60 min después del final de la bebida[13].

De la figura 8 se puede apreciar que el promedio de la concentración pico de etanol en sangre ocurrió a los 60 min, esto coincide con lo reportado por Barceloux[17]; es necesario aclarar que los escenarios de consumo de etanol durante los entornos experimentales con frecuencia difieren de los encontrados en situaciones sociales del mundo real.

El resultado analítico obtenido del programa de monitoreo biológico del etanol (figura 8) 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 exposición[55]. 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 disponible[4].

El consumo de etanol en entornos sociales generalmente implica el consumo de dosis divididas, y las CES durante este tipo de consumo produce aumentos más lentos y escalonados en las concentraciones de etanol en sangre en comparación con la ingestión de una dosis única de bolo en entornos experimentales[17]

Según la figura 8, 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 retenida[28]; es decir, otorgando prioridad a este análisis forense antes que 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 alcohólicas[18]; con el transcurrir del tiempo, la continua y exclusiva biotransformación hepática destruye las moléculas de etanol absorbido[27]; 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”[56].

En la tabla 11 se reportan 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 el promedio de las alcoholemias de la segunda muestra de sangre (A_{2S}) fueron mayores que el promedio de la primera (A_{1S}) demostrando fase de absorción del etanol ($A_{2S}>A_{1S}$); mientras que en el grupo III en todos los casos el promedio de las alcoholemias de la segunda muestra de sangre fueron menores que el promedio de la primera indicando fase de eliminación del etanol ($A_{2S}<A_{1S}$) esta es condición imprescindible para que los valores estimados de alcoholemia retrospectiva sean exactos y válidos, considerando además la separación de extracción entre ambas muestras sanguíneas de media a una hora. 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)[11].

En la práctica forense, la magnitud de la relación A_{2S} y A_{1S} es un parámetro útil para evaluar antes de intentar una extrapolación retrospectiva[12].

Jones[5] 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.[1] 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 12 se reportan ejemplos de cálculos retrospectivos de la alcoholemia a partir de 0,25 g etanol/L de sangre a tiempos de 2 a 8 h antes de la recolección de la primera muestra de sangre. La media y los límites de intervalo de las tasas de eliminación de etanol fueron 0,15 g/L/h y 0,10 a 35 g/L/h, respectivamente, que son apropiados para la mayoría de las personas sanas con una función hepática normal[13].

El modelo de cinética de orden cero para el etanol es apropiado para la mayoría de las preguntas que surgen en la ciencia forense y la medicina legal, aunque por debajo de una CES de 0,05 a 0,10 g etanol/L de sangre, las enzimas metabolizadoras ya no están saturadas con sustrato y se aplican cinéticas de primer orden. En el trabajo de casos forenses, rara vez es necesario considerar CES por debajo de 0,20 g/L cuando se interpretan los resultados analíticos, por lo que es seguro asumir una cinética de orden cero[13,57].

La figura 9 es una representación gráfica de los datos extrapolados de la CES a la hora que ocurrió el hecho punible 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, 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 0,79 g etanol/L sangre en la segunda muestra de sangre extraída 30 min después de la primera, demostrando fase de eliminación del etanol; con la cantidad de alcoholemia obtenida en la primera muestra de sangre determinamos los límites superior e inferior de alcoholemia retrospectiva 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 CES, ambas estimaciones excedieron el límite legal *per se* de 0,50 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 incidente[41]. Este enfoque proporciona los probables límites superior e inferior del resultado extrapolado de alcoholemia en el momento de cometido el hecho punible, con un intervalo de confianza del 95 %, basado en las tasas normales de eliminación de etanol en la población[4].

En la figura 9 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 problemas[58] que se utilizaron para estimar los probables límites

superior e inferior de la alcoholemia en un momento particular antes del muestreo, junto con un valor de eliminación "más probable"[4].

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)[27]que probablemente incluya la tasa de eliminación del individuo, así como una tasa media de eliminación (0,13 - 0,17 g/L/h)[17].

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 CES. La limitación clave es que la extrapolación inversa no se puede extender a la fase de distribución y, como tal, debe conocerse el patrón de ingestión de etanol o supuestos claramente identificados con respecto a ese patrón de ingestión[7].

En fase de eliminación el etanol alcanza una cinética decreciente de orden cero con una pendiente de eliminación o coeficiente de etiloxidación que según los autores[27] que va desde 0,10 a 0,35 g/L/h dependiendo de diversos factores como edad, sexo, cultura etílica, estado nutricional, capacidad hepática, enfermedad hepática, renal, entre otros; por lo que, cuando se realiza el cálculo retrospectivo con una sola muestra, nos genera un rango de valores posibles de alcoholemia, que va aumentando a medida que aumenta el tiempo.

El realizar el análisis de alcoholemia con dos muestras sucesivas mejoraría el cálculo retrospectivo de un rango a un único valor, siempre que el examinado se encuentre en fase de eliminación del etanol y el incidente se haya dado en un lapso superior a una hora del último consumo de etanol.

Se realizó la biomonitorización de etanol en tres casos toxicológicos forenses reales de personas involucradas en hechos punibles:

El caso toxicológico forense 1 correspondió a una persona de sexo femenino de 46 años de edad, 61 kg de peso, raza mestiza, aparentemente sana; según refiere la examinada, que fue trasladada al laboratorio toxicológico para ser sometida al examen de alcoholemia por motivo de presunta conductora ebria de un vehículo motorizado, a los 90 min de transcurrido el hecho se le realizó la extracción de la primera muestra de sangre obteniéndose una concentración de etanol de 1,58 g/L y la segunda extracción fue a los 30 min posteriores, se obtuvo una alcoholemia de 1,52 g/L; según datos reportados en la tabla 13. Tal como se aprecia en la figura 10A, se observa un gráfico con los dos valores de alcoholemia obtenidos, considerando que el etanol en la examinada se encontraba en fase de eliminación desde la hora del incidente, se calculó la pendiente de la curva de eliminación o el coeficiente de etiloxidación individual para esta persona ($\beta = 0,12$ g/L/h). La figura 10B, ilustra las extrapolaciones de alcoholemia retrospectiva para la hora del incidente, empleando el coeficiente de etiloxidación individual calculado y realizando los cálculos matemáticos correspondientes presentó una alcoholemia de 1,76 g/L; mientras que empleando la tasa promedio de eliminación del etanol de la sangre de 0,10 a 0,35

g/L/h sugerido por Jones[27], los valores extremos estimados de alcoholemia retrospectiva fueron el límite inferior de 1,73 g/L y límite superior de 2,10 g/L.

El caso toxicológico forense 2 correspondió a un sujeto de sexo masculino de 38 años de edad, 80 kg de peso, de raza mestiza fue conducida al laboratorio para ser sometido al examen de alcoholemia por motivo de estar involucrado en un presunto "delito contra la vida, el cuerpo y la salud en la modalidad de homicidio", a los 140 min de transcurrido el hecho se le practicó la extracción de la primera muestra de sangre obteniéndose una concentración de etanol de 0,89 g/L y la segunda extracción sanguínea fue realizada después de 45 min de la primera, donde se obtuvo la alcoholemia de 0,77 g/L; según datos reportados en la tabla 14. Se correlacionó los valores graficándolos en un plano cartesiano en la figura 11A corroborando que el etanol se encontraba en fase de eliminación, desde la primera extracción de muestra y se calculó el coeficiente de etiloxidación individual para este sujeto (β = 0,16 g/L/h). En la figura 11B, se observan las extrapolaciones de alcoholemia retrospectiva para el momento en que ocurrió el incidente, empleando el coeficiente de etiloxidación calculado para este individuo resultó que tenía una alcoholemia de 1,26 g/L, y empleando los valores de 0,10 a 0,35 g/L/h siendo esta la tasa promedio de eliminación del etanol de la sangre[27]; los límites de intervalo de la estimación de alcoholemia retrospectiva fueron 1,12 a 1,71 g/L, respectivamente.

El caso toxicológico forense 3 se refiere a un sujeto de 29 años de edad, sexo masculino, de 73 kg de peso y raza mestiza fue conducido al laboratorio para ser sometido al examen de alcoholemia por presunta comisión de "delito de lesiones graves por violencia contra la mujer", a los 300 min de transcurrido el hecho, se le realizó la extracción de la primera muestra de sangre obteniéndose una concentración de etanol de 0,56 g/L y la segunda extracción fue a los 60 min posteriores, se obtuvo una alcoholemia de 0,41 g/L; según se detalla en la tabla 15. Considerando que el etanol se encontraba en fase de eliminación, se correlacionó los valores de las dos alcoholemias en el tiempo conforme la figura 12A calculándose el coeficiente de etiloxidación individual para esta persona (β = 0,15 g/L/h). La figura 12B ilustra las extrapolaciones de alcoholemia retrospectiva para el momento de la comisión del hecho punible, empleando el coeficiente de etiloxidación calculado para el examinado, dio una alcoholemia de 1,31 g/L, y empleando la tasa promedio de eliminación de etanol de la sangre de 0,10 a 0,35 g/L/h recomendado por Jones[27], las estimaciones de los valores extremos de alcoholemia retrospectiva fueron el límite inferior de 1,06 g/L y el límite superior de 2,31 g/L.

La importancia del coeficiente de etiloxidación o coeficiente β radica en que permite efectuar cálculos retrospectivos de alcoholemia y determinar el alcohol ingerido por un sujeto. Para asegurarse que un sujeto se encuentra en la fase de eliminación del etanol al momento de la primera extracción de muestra, debería realizarse una segunda extracción sanguínea luego de 30 a 60 min aproximadamente[59].

Es necesario precisar que el denominado coeficiente beta de etiloxidación representa la pendiente de la curva de eliminación del etanol, o cociente entre el decremento de la concentración en sangre y el incremento del tiempo (β = delta c/ delta t)[6]; para ello es necesario disponer de dos puntos (alcoholemias) de la recta de eliminación del etanol, como se ilustra en las figuras 10A, 11A y 12A.

Asimismo, según los casos analizados, debido a que la muestra de sangre con frecuencia suele tomarse varias horas después de conducir un vehículo automotor o de haber cometido un delito, es necesario realizar cálculos retroactivos de la concentración de etanol hasta el momento de interés, que generalmente es el momento en que ocurrió el hecho punible motivo de investigandon[60].

Los niveles de etanol en sangre se correlacionan bastante con los síntomas en casos agudos, aunque las variaciones son comunes[12]. Para las concentraciones de etanol en sangre halladas de las extrapolaciones retrógradas de alcoholemia de los sujetos examinados, los signos y síntomas que presentaron en el momento del incidente se sugiere que deben reportarse las descritas en una tabla que refleja esas relaciones publicada por el Dr. Kurt Dubowski en 1970, y aunque se actualizó ligeramente con el tiempo, la "Tabla Dubowski" sigue siendo una herramienta valiosa para comprender la relación entre la concentración de etanol y los síntomas y comportamientos manifestados[7]. Asimismo, también se puede obtener esa información de la tabla de alcoholemia señalada en el artículo 4° de la ley № 27753[44].

A través de nuestro trabajo de investigación nos permite demostrar la importancia de los dos valores de alcoholemia (A_{1S} y A_{2S}) obtenidos en dos muestras sanguíneas sucesivas de un sujeto involucrado en un hecho punible; desde el punto de vista forense permiten estimar la alcoholemia retrospectiva al establecer por la diferencia de los dos valores de alcoholemia si se encuentra en fase de eliminación ($A_{2S} < A_{1S}$) y a partir de dicha confirmación, especificando fase de eliminación, deben realizarse los cálculos aproximados de alcoholemia retrospectiva incluyendo las variables del tiempo transcurrido entre la hora del incidente y la hora de extracción de la muestra de sangre para el análisis de alcoholemia. Esta determinación es el punto de quiebre para la estimación legítima de la extrapolación hacia atrás de la alcoholemia al momento de perpetración del hecho punible materia de investigación; por ello es necesario su aplicación en Perú, en situaciones diferentes a este no es factible esta estimación; es decir, previamente y obligatoriamente tenemos que corroborar estos valores, sin ello todo cálculo retrospectivo de alcoholemia será erróneo e ilegítimo.

Con bebidas alcohólicas diluidas, como la cerveza, la subida es más lenta y el pico máximo del etanol es más bajo con una curva de concentración de etanol en sangre más plana; mientras que, con el estómago vacío, hay una subida rápida y un descenso lento. Este tipo de bebidas alcohólicas pueden tomar el doble de tiempo para absorberse, en comparación con las bebidas alcohólicas que contienen mayor concentración de etanol[11]. El etanol contenido en la cerveza se absorbe lentamente, probablemente el gran volumen dificulta el acceso de las moléculas de etanol al revestimiento del estómago[12]. En ayunas, el nivel máximo de etanol en sangre se alcanza a los 30 - 60 min de la ingesta. Así, la cerveza tiene una absorción lenta por su bajo contenido en etanol[1]. Debido a la tolerancia, las concentraciones de alcohol en sangre deben interpretarse junto con la historia y presentación clínica[11].

La alcoholemia es el biomarcador de exposición al consumo de bebidas alcohólicas en los presuntos autores de un accidente o delito, es necesario precisar que no indican el grado de intoxicación etílica el olor a etanol en el aliento, el color de la cara, la afirmación

de reciente o antigua libación, esta última información obtenida momentos previos a la extracción de las muestras de sangre y/o durante la manifestación en el interrogatorio policial de esclarecimiento del hecho punible, momento donde generalmente el presunto autor del hecho delictivo por conveniencia tergiversa la información, por otro lado durante los casos de visualización de vídeos de la cámaras de videovigilancia públicas, donde es posible apreciar, según sea el caso, que la persona involucrada presenta incoordinación de los movimientos corporales infiriendo que podría presentar embriaguez etílica o puede presentar postura aparentemente normal (la persona podría no tener embriaguez etílica) en estas manifestaciones hay la posibilidad que puede estar o no asociadas al coabuso del etanol con fármacos o drogas ilícitas sinergistas o antagonistas de los efectos del etanol, respectivamente; además es necesario precisar que la embriaguez no es propia del etanol, sino que hay un grupo de fármacos que producen embriaguez[4]; por lo tanto, la monitorización biológica de la exposición al etanol demuestra la cantidad real de etanol que efectivamente fue absorbido en el organismo de la persona y guarda una relación directa con las manifestaciones clínicas y consecuencias sanitarias adversas, complementándose el estudio con el análisis toxicológico[28].

Dos muestras de sangre sucesivas con media hora de diferencia se deberían utilizar para determinar el etanol en sangre para evaluar a las personas sospechosas de conducir, manipular maquinarias, lesiones, homicidios, uso de arma de fuego, negación a pasar examen toxicológicos y alcoholemia, entre otros; considerando que el etanol en el organismo de la persona se metaboliza progresivamente y por tanto con el tiempo desaparece por acción enzimática siendo prioridad la extracción de la muestra sanguínea, las otras diligencias administrativas relacionadas a la investigación de esclarecimiento de los hechos se pueden realizar después de obtenidas las muestras biológicas.

En los procesos judiciales no basta la cantidad de alcoholemia reportada en el informe pericial de determinación de alcoholemia del presunto autor o víctima sobreviviente de un hecho criminal o accidente; es necesario demostrar a los operadores de justicia si la persona en aquel instante de la ocurrencia del hecho punible demostrar que se hallaba en estado de ebriedad y como consecuencia de ello las posibles manifestaciones clínicas que presentaba el sujeto, las que pudieron haber influenciado para la comisión del hecho delictivo materia de investigación. Para Jones[27] esto implica "calcular la concentración de alcohol en sangre de un sospechoso en el momento de la comisión del hecho delictivo desde la concentración de alcohol en sangre determinado en el momento de muestreo que frecuentemente es unas horas más tarde".

Desde una perspectiva toxicológica como legal, el estado de intoxicación etílica aguda en un momento específico tiene inmenso interés en la investigación del delito; debido a que entre los problemas físicos y conductuales asociados al etanol se incluye la contribución causal de este en homicidios, suicidios, intoxicaciones, reacciones de agresividad, depresión y otros trastornos mentales, accidentes (de tránsito, laborales, quemaduras, ahogamientos, caídas) y absentismo laboral[6]. "La frecuencia de los delitos cometidos por personas bajo la influencia del etanol no se debe a la falta de comprensión de la naturaleza y las consecuencias de los actos, sino a la represión de esas influencias inhibitorias que en personas sobrias impiden la comisión de tales actos"[12].

En los diferentes casos forenses en el momento de la comisión del accidente de tránsito u otro delito, los presuntos autores y las víctimas podrían estar bajo la influencia del etanol y otras drogas que producen embriaguez; el personal policial y las autoridades a cargo de la investigación tienen que comprender que el etanol, otras drogas licitas e ilícitas posadministración el organismo humano los metaboliza y elimina del cuerpo; es decir se transforman en metabolitos o destruyen por procesos enzimáticos y finalmente son excretados del cuerpo humano[7]; por lo tanto para el caso específico del etanol es indispensable que los exámenes de alcoholemia sean realizados inmediatamente luego que se han intervenido o detenido a las personas sospechosas por la presunta comisión de un hecho punible, ya que pueden haber actuado bajo la influencia del etanol y/o drogas ilícitas; con la finalidad de que en el laboratorio toxicológico tenga la mayor probabilidad de identificar la sustancia original o sus metabolitos, está el factor tiempo transcurrido desde la comisión del delito hasta el momento de la extracción o recolección de la muestra, entre otros factores[18].

Las estrategias analíticas para el análisis forense de alcoholemia se caracterizan por la necesidad de utilizar los resultados en los tribunales de justicia[31]. La cuantificación de etanol en los fluidos corporales tiene trascendentales implicaciones a nivel médico forense, penal y social, debido a que este compuesto presenta efectos muy significativos sobre la experiencia subjetiva y conducta. Entonces, es evidente que la determinación de la cantidad de etanol en fluidos biológicos se convierte en determinantes esenciales para deslindar la responsabilidad del individuo ante una diversidad de escenarios[61].

Además, a consecuencia de nuestro estudio sugerimos que para mayor objetividad e interpretación del resultado de las concentraciones de alcoholemia por parte de los operadores de justicia en Perú, el perito químico farmacéutico responsable del análisis de alcoholemia debería anexar al informe pericial de alcoholemia un esquema de la línea del tiempo, distinguiendo los cinco momentos relacionados al análisis de alcoholemia realizado y la comisión del hecho punible: a) el momento del incidente, corresponde a la hora y fecha en que ocurrió el hecho criminal o accidente motivo de investigación; b) momento de detención del agente, se refiere a la hora y fecha en que fue detenida la persona involucrada en un hecho punible por la autoridad policial y está también relacionado con el momento de traslado del agente desde el lugar de los hechos o de la dependencia policial al laboratorio toxicológico para ser sometido entre otros exámenes de ley al de alcoholemia; c) el momento de extracción de las muestras biológicas, corresponde a la hora y fecha de extracción de las muestras de sangre para el examen de alcoholemia; mientras que, d) el momento de análisis de la muestra biológica, corresponde a la hora y fecha del momento en el cual se analizan las muestras de sangre u otros fluidos biológicos y se reportan los resultados de alcoholemia, y finalmente, e) el momento de interpretación de resultados y redacción del informe pericial, corresponde a la hora y fecha de la emisión del informe pericial de alcoholemia, previamente fueron discutidos e interpretados los resultados obtenidos (ver anexo 3).

Los cálculos de la CES se están realizando de formas ligeramente diferentes en función de la formación académica y científica del perito, del médico o químico forense, y se podría ganar mucho si estos procedimientos estuvieran estandarizados[15].

Actualmente en el Perú no existen normas legales exclusivas y estandarizadas en las instituciones donde se realizan análisis de alcoholemia desde el enfoque legal y sobre la estimación de la alcoholemia retrospectiva en casos criminales o accidentes de tránsito; por lo que es necesario implementar con la normatividad respectiva sobre los protocolos, técnicas analíticas y procedimientos óptimos para que los peritos químicos encargados de este tipo de análisis aporten claramente en los informes periciales de alcoholemia, contribuyendo con mejores pruebas para una mejor administración de justicia en casos forenses relacionados al consumo de etanol y delitos.

Ante la ausencia de normatividad peruana específica sobre el análisis alcoholemia en personas participantes de un hecho punible relacionado al consumo de etanol, nuestro aporte producto de los resultados de nuestra investigación presentamos a las autoridades una propuesta desde el punto de vista técnico científico de un proyecto de Resolución Ministerial relacionado exclusivamente sobre la alcoholemia abarcando los procedimientos, protocolos de análisis, métodos analíticos, validación de métodos, interpretación, presentación de los resultados ante los Tribunales de Justicia, entre otros, que permitan la optimización y estandarización de los procesos de alcoholemia en personas y cadáveres (ver anexo 4).

El análisis de alcoholemia es un análisis químico toxicológico y el experto en este tipo de análisis es el profesional químico farmacéutico por su formación profesional y por las facultades legales que le otorga la ley № 28173[62], Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú y el Decreto Supremo № 008-2006-SA[63], Decreto que aprueba el Reglamento de la Ley del Trabajo del Profesional Químico Farmacéutico del Perú. Asimismo, para que las autoridades peruanas pertinentes lo puedan adoptar, mejorar, incrementar, discutir, aprobar y publicar en el diario oficial; mejorando el reporte de resultados de alcoholemia y alcoholemia retrospectiva para una mejor administración de justicia en Perú en casos de sospecha de comisión de hechos punibles en estado de ebriedad.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

1. Los niveles de etanol hallados en los sujetos del grupo I permitieron el diseño del perfil de la curva de alcoholemia-tiempo y se determinaron los promedios de la tasa de eliminación de etanol de la sangre (0,148 g/L/h), el volumen de distribución (0,70 L/kg) y la concentración máxima fue 1,05 g etanol/L sangre a los 60 min.

2. Los promedios de las alcoholemias de la segunda muestra de sangre (A_{2S}) en sujetos del grupo II fueron mayores que el promedio de la primera (A_{1S}) demostrando que el etanol estaba en fase de absorción ($A_{2S}>A_{1S}$); mientras que en el grupo III en todos los casos el promedio de las alcoholemias de la segunda muestra de sangre fueron menores que el promedio de la primera indicando fase de eliminación del etanol ($A_{2S}<A_{1S}$) con esta condición los valores obtenidos de alcoholemia retrospectiva fueron fiables y válidos para fines forenses.

3. Los valores del límite inferior y superior de alcoholemia retrospectiva de un sujeto del grupo III suponiendo que cometió el hecho punible dos y ocho horas antes de la extracción de la primera muestra de sangre con alcoholemia de 0,25 g/L fueron (0,45 - 0,95 g/L) y (1,05 - 3,05 g/L), respectivamente; mostrando un amplio rango los datos extrapolados de alcoholemia hasta el momento de interés.

4. Se demostró con casos forenses reales que la alcoholemia en función de dos muestras de sangre sucesivas en fase de eliminación permitieron la determinación del coeficiente de etiloxidación (β) en un sujeto participante de un hecho punible y el cálculo de la alcoholemia retrospectiva con exactitud y alta fiabilidad frente al estudio tradicional de alcoholemia con solo una muestra de sangre; su aplicación en Perú sería un valioso aporte para los Tribunales de Justicia en la investigación de delitos relacionados con el etanol.

5. Se propuso un proyecto de Resolución Ministerial sobre procedimientos que permitan la optimización y estandarización de la alcoholemia en personas involucradas en hechos punibles asociados con el consumo de etanol en el Perú.

CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández E, Bravo B, Mencías E. Alcoholes, cetonas y glicoles. En: Mencías E, Mayero Franco L, Eds. Manual de Toxicología Básica. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 2000. p. 335-85.
2. 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.
3. 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
4. Logan BK, Gullberg RG, Negrusz A, Jickells S. Alcohol, drugs and driving. En: Negrusz A, Cooper GAA, editores. 2nd ed. Clarke´s Analytical Forensic Toxicology. London: Pharmaceutical Press; 2013. p. 303-24.
5. Jones AW. Forensic science aspect of ethanol metabolism. En: Maehly A, Williams RL, editores. Forensic Science Progress. Vol 5. New Delhi: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1991. p. 31-90.
6. Repetto M. Toxicología del alcohol etílico. En: Repetto M, editor. Toxicología Avanzada. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S. A.; 1995. p. 425-75.
7. Powers RH, Dean DE. Forensic Toxicology Mechanisms Pathology. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, LLC; 2016.
8. Instituto Médico Forense del Poder Judicial de la Provincia del Chaco, Argentina; 2016.
9. Olalla M. Bebidas alcohólicas. En: Gil Á, Ed. Tratado de Nutrición. Tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2 ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010. p. 281-312.
10. INACAL. Dirección de Normalización. Norma Técnica Peruana. NTP 210.019 2018. Bebidas alcohólicas. Definiciones. 4 ed. Lima: INACAL; 2018. Disponible en: https://www.inacal.gob.pe/cid/categoria/catalogo-bibliografico
11. Biswas G. Review of Forensic Medicine and Toxicology Including Clinical and Pathological Aspects. 3rd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2015.
12. Vij K. Textbook of Forensic Medicine and Toxicology Principles and Practice. 5th. ed. New Delhi: Elsevier; 2011.
13. Jones AW. Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations. WIREs Forencic Sci [Internet]. 2019 [citado el 28 de octubre de 2022]; 1:e1340. Disponible en: https://doi.org/10.1002/wfs2.1340
14. Pillay VV. Modern Medical Toxicology. 4th ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2013.
15. Jones AW. Alcohol, its analysis in blood and breath for forensic purposes, impairment effects, and acute toxicity. WIREs Forensic Sci [Internet]. 2019 [citado el 18 de diciembre de 2022];1:e1353. Disponible en: https://doi.org/10.1002/wfs2.1353
16. Hoffman RS, Nelson LS, Howland MA, Lewin N, Flomenbaum NE, Goldfrank LR. Goldfrank´s Manual of Toxicology Emergencies. New York: McGraw-Hill; 2007.

17. Barceloux DG. Medical toxicology of drug abuse: synthesized chemicals and psychoactive plants. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc; 2012.
18. Levine BS, Caplan YH, Jones AW. Alcohol. En: Levine BS, Kerrigan S, editors. Principles of Forensic Toxicology. 5th ed. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. p. 287-316.
19. Johnson BA, Seneviratne C. Alcohol-medical drug interactions. Handb Clin Neurol. [Internet]. 2014 [citado el 29 de agosto de 2022];125:543-59. Disponible en: http://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00031-8
20. Barile FA. Clinical Toxicology Principles and Mechanisms. 2nd. ed. Boca Ratón: CRC Press Taylor & Francis Group; 2010.
21. Marruecos-Sant L. Tratamiento de las intoxicaciones por metanol y por etilenglicol. Med. Intensiva. [Internet]. 2002. [citado el 02 de setiembre de 2022]; 26(5):248:50. Disponible en: https://www.medintensiva.org/es-tratamiento-intoxicaciones-por-metanol-por-articulo-13033582
22. Thorne PS. Occupational Toxicology. En: Klaassen CD, Watkins JB, editores. Casarett & Daoull´s Essential of Toxicology. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Education; 2015. p. 481-9.
23. Herber RFM. Introduction to Toxicodynamics. En: Duffus JH, Worth HGJ, editores. Fundamental Toxicology. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2006. p. 17-23.
24. Van Uytfanghe K, De Boosere E, Stove CP. Monitoring the use of alcohol- Acritical overview of the state-of-the-art biomarkers.WIREs Forensic Science. [Internet]. 2022 [citado el 15 de diciembre de 2022];4(5):e1457. Disponible en: https://doi.org/10.1002/wfs2.1457
25. Poklis A. Toxicologia Analítica e Forense. Em: Klaassen CD, Watkins JB, Eds. Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull. São Paulo: McGraw-Hill. AMGH Editora Ltda.; 2012. p. 411-6.
26. Vonghia, L, Leggio L, Ferrulli A, Bertini M, Gasbarrini G, Addolorato G, Alcoholism Treatment Study Group. Acute alcohol intoxication. Eur J Intern Med. [Internet].2008 [citado el 23 de noviembre 2022]; 19(8): 561-7. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.ejim.2007.06.033
27. Jones AW. Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. Forensic Sci Int. [Internet]. 2010 [citado el 18 de diciembre 2022];200(1-3):1-20. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.02.021
28. Rao KN. Forensic Toxicology Medico-Legal Case Studies. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2012.
29. Gupta PK. Fundamentals of Toxicology. Essential Concepts and Applications. London: Elsevier; 2016. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805426-0.00001-9.
30. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos. Decreto Legislativo № 635 Código Penal. [Internet]. 12 ed. Lima: Dosmasuno S.A.C.; 2016 [Actualizado 31mayo 2016; citado el 14 de octubre de 2021]. 259 p. Disponible en: http://spijlibre.minjus.gob.pe/content/publicaciones_oficiales/img/CODIGOPENAL.pdf

31. Teske J, Albrecht U-V. GC in Forensic Toxicology. En: Dettmer-Wilde K, Engewald W, editores. Practical Gas Chromatography. Berlin: Springer; 2014. p. 767-82.
32. Flanagan RJ, Taylor A, Watson ID, Whelpton R. Fundamentals of analytical toxicology. Hoboken: John Wiley & Sons Inc.; 2007.
33. Caplan YH, Goldberger BA. Garriott´s Medicolegal Aspects of Alcohol. 6th ed. Tucson: Lawyers and Judges Publishing Company; 2014.
34. Blumberg LM. Theory of Gas Chromatography. En: Poole CF, editor. Gas Cromatography. New York: Elsevier; 2012. p. 19-78.
35. Carlin MG, Dean JR. Forensic Applications of Gas Chromatography. Boca Raton: CRC Press. Taylor & Francis Group; 2013.
36. Sithersingh MJ, Snow NH. Headspace Gas Chromatography. En: Poole CF, editor. Gas Chromatography. New York: Elsevier; 2012. p. 221-33.
37. Arellano M, Gschaedler A, Alcazar M. Major volatile compounds analysis produced from mezcal fermentation using gas chromatography equipped headspace (GC-HS). En: Salih B, Çelikbiçak Ö, editores. Gas chromatography in plant science, wine technology, toxicology and some specific applications. Rijeka: InTech; 2012. p. 73-88.
38. Flanagan RJ, Cuypers E, Maurer HH, Whelpton R. Fundamentals of Analytical Toxicology. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd; 2020.
39. Kolb B, Ettre LS. Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2006.
40. Villanueva E. Estudio toxicológico y médico-legal del alcohol etílico. En: Calabuig G, Villanueva E, editores. Medicina Legal y Toxicología. 6 ed. Barcelona: Masson S.A. 2004. p. 878-95.
41. Ley № 29439. Ley que modifica e incorpora artículos al Código Penal y modifica los Códigos Procesales Penales, referidos a la conducción en estado de ebriedad o drogadicción [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2009 [citado el 21 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
42. Ley № 30819. Ley que modifica el Código Penal y el Código de los niños y adolescentes [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2018 [citado el 22 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
43. Decreto Supremo № 003-2014-MTC. Decreto supremo que modifica e incorpora disposiciones al Texto Único Ordenado del Reglamento Nacional de Tránsito - Código de Tránsito, aprobado por Decreto Supremo № 016-2009-MTC [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2014 [citado el 18 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
44. Ley № 27753. Ley que modifica los artículos 111°, 124° y 274° del Código Penal referidos al homicidio culposo, lesiones culposas y conducción en estado de ebriedad o drogadicción y el artículo 135° del Código Procesal Penal, sobre mandato de detención [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2002 [citado el 18 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
45. García JA, Jiménez F, Arnaud MR, Ramírez Y, Lino L. Introducción a la Metodología de la Investigación en Ciencias de la Salud. México: McGrawHill; 2011.

46. Tipacti C, Flores N. Metodología de la Investigación en Ciencias Neurológicas. Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas. Oficina Ejecutiva de Apoyo a la Investigación y Docencia Especializada. Lima: Centro de Aplicación Editorial Imprenta Unión de la Universidad Peruana Unión; 2012.
47. Decreto Supremo № 012-2009-SA. Reglamento de la Ley № 28681. Ley que regula la Comercialización, Consumo y Publicidad de Bebidas Alcohólicas [en línea]. Lima; Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2009 [citado el 18 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
48. Dumas-Campagna J, Tardif R, Charest-Tardif G, Haddad S. Ethanol toxicocinetics resulting from inhalation exposure in human volunteers and toxicokinetic modeling. Inhal Toxicol [Internet]. 2014 [citado el 12 de diciembre de 2022];26(2):59-69. Disponible en: https://doig.org/10.3109/08958378.2013.853714
49. Anderson WH. Collection and Storage of Specimens for Alcohol Analysis. En: Garriott JC, editor. Garriott´s Medicolegal Aspects of Alcohol. 5th ed. Tucson: Lawyers & Judges Publishing Company, Inc.; 2017. p.275-83.
50. Tiscione NB, Alford I, Yeatman DT, Shan X. Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneus Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection. J. Anal Toxicol [Internet]. 2011 Sep [citado el 28 de octubre de 2022];35(7):501-11. Disponible en: https://doi.org/10.1093/anatox/35.7.501
51. Gullberg RG. Estimating the uncertainty associated with Widmark´sequation as commonly applied in forensic toxicology. For Sci Int [Internet]. 2007 [citado el 27 de diciembre de 2022];172(1):33-9. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.11.010
52. Arnes M, Bachs L, Al Sammaral M, Jones AW, Hϕiseth G. Rate of elimination of γ-hydroxybutyrate from blood determined by analysis of two consecutive samples from apprehended drivers in Norway. Forensic Sci Int. [Internet]. 2020 Sep [citado el 21 de setiembre de 2022];314:110374. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110374
53. Molina DK, Hargrove VM. Handbook of forensic toxicology for medical examiners. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2019.
54. Lappas NT, Lappas CM. Forensic Toxicology Principles and Concepts. San Diego: Academic Press Elsevier; 2016.
55. Jones AW. Alcohol: Acute and Chronic Use and Postmortem Findings. En: Payne-James J, Byard RW, editores. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine. 2nd ed. London: Elsevier; 2016. p.84-107. Disponible en: https://doig.org/10.1016/B978-0-12-800034-2.00013-6
56. 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.
57. Zhang Y, Wu C, Wan J. Development and validation of a model to predict blood alcohol concentrations: Updating the NHTSA equation. Addictive Behaviors. 2017: 71: 46-53. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2017.02.022
58. 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 13 de octubre de 2022]; 41:922-6. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8914281/

59. Ferrari LA. Alcohol etílico. Aspectos toxicológico-forenses, cálculos retrospectivos y modificaciones postmortem. Boletín de la Asociación Toxicológica Argentina. [Internet].2004 [citado el 17 de setiembre de 2022];17(63):11-16. Disponble en: https://www.toxicologia.org.ar/wp-content/uploads/2016/05/boletin63.pdf
60. 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 5 de octubre de 2022];266:191-196. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.05.039
61. Aragón C, Miquel M, Correa M, Sanchis-Segura C. Alcohol y metabolismo humano. Adicciones. 2002;14(1):23-42. Disponible en: https://search.proquest.com/docview/1609162610?accountid=12268
62. Ley № 28173 Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2004 [citado el 25 de agosto de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
63. Decreto Supremo № 008-2006-SA. Decreto que aprueba el Reglamento de la Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2006 [citado el 27 de agosto de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
64. Decreto Legislativo № 1219. Decreto Legislativo de Fortalecimiento de la Función Criminalística Policial [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2015 [citado el 8 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
65. Decreto Supremo № 026-2017-IN, Decreto que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo № 1267, Ley de la Policía Nacional del Perú [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales. Separata Especial; 2017 [citado el 13 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
66. Decreto Supremo № 001-2021-IN. Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo № 1219, Decreto Legislativo de Fortalecimiento de la Función Criminalística Policial [en línea]. Lima: Diario Oficial El Peruano. Normas Legales; 2021 [citado el 14 de setiembre de 2022]. Disponible en: https://diariooficial.elperuano.pe/normas
67. Repetto M. Repetto G. Toxicología Fundamental. 4 ed. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2009.
68. Molina DK. Handbook of Forensic Toxicology for Medical Examiners. Boca Raton: CRC Press. Taylor and Francis Group, LLC; 2010.
69. 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 12 de octubre de 2022]. Disponible en: http://hdl.handle.net/10803/669713

CAPÍTULO VIII. ANEXOS

Anexo 1

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado
Doctorado en Farmacia y Bioquímica

Formato de Consentimiento Informado №____/2022

Yo, _____, dejo constancia que me han explicado en qué consiste el estudio y he comprendido toda la información que me brindó el equipo de investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM sobre el trabajo de investigación intitulado: **"MONITORIZACIÓN TOXICOLÓGICA DE ETANOL, ALCOHOLEMIA EN FUNCIÓN DE DOS MUESTRAS SANGUÍNEAS SUCESIVAS Y SU APLICACIÓN FORENSE EN EL PERÚ",** siendo el responsable del estudio el Mg. Luis Alberto Inostroza Ruiz.

Para poder formar parte del estudio, deberá completar un cuestionario de forma anónima sobre el tema mencionado anteriormente, lo cual tomará un promedio de 8 min.

Su participación será voluntaria y será primero tomando una dosis única de etanol (0,5 - 1,0 g/kg peso corporal) en forma de cerveza y después consentiré la recolección de muestras de sangre de la vena cubital o radial, de 5 mL cada una, durante el desarrollo del estudio, las mismas que serán utilizadas para el análisis cuantitativo de etanol y la estimación de la alcoholemia retrospectiva en personas.

Por participar del estudio, no recibiré ningún beneficio, salvo la satisfacción de contribuir con esta importante investigación.

Tuve la oportunidad de hacer las preguntas pertinentes sobre el tema, las cuales fueron respondidas de manera clara.

Comprendo que mi participación es voluntaria, que se manejarán los datos con discreción y que puedo abandonar el estudio en cualquier instante.

Por lo expuesto anteriormente, doy mi aceptación para participar en el estudio actual.

_____	_____
Nombres y apellidos del participante	Firma del participante
DNI №_____	Fecha: _____

Índice derecho

_____	_____
Persona responsable de la investigación	Firma del responsable de la investigación
DNI №_____	Fecha: _____

Fuente. Modificado de Tipacti et al.[46]. Metodología de la Investigación en Ciencias Neurológicas; 2012. p. 123-4.

Anexo 2

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado
Doctorado en Farmacia y Bioquímica

Cuestionario epidemiológico sobre la salud de las personas voluntarias que participaron en la investigación sobre alcoholemia № ___/2022

Datos preliminares:
Nombres y apellidos: _____
Edad : _____años **Peso**: _____ kg
Ocupación : _____

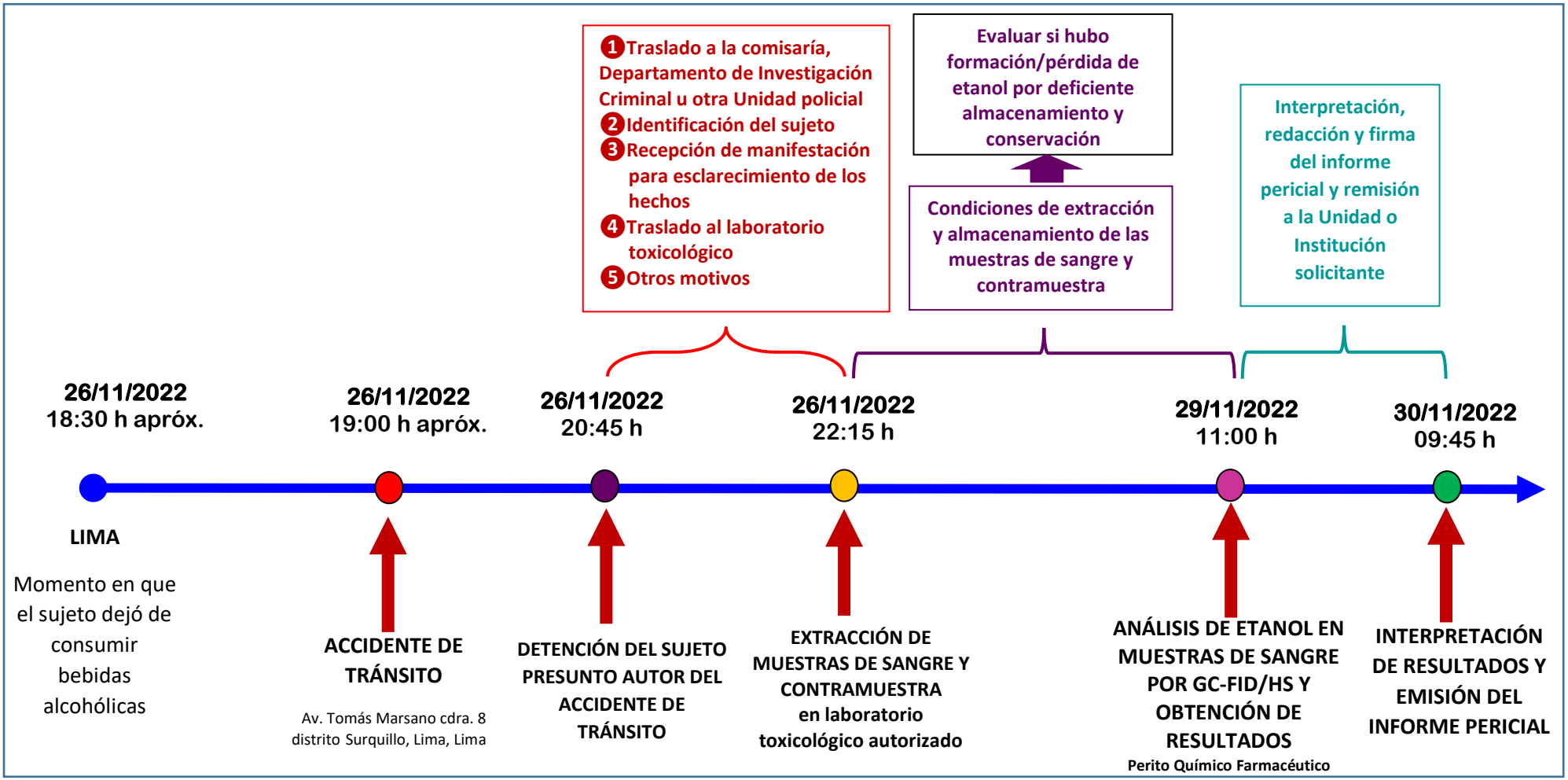
Historial :

1. ¿Ha consumido bebidas alcohólicas? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo:
2. ¿Tiene el hábito de consumir alcohol regularmente? ☐ No ☐
   En caso afirmativo:
3. ¿Desde cuándo? (meses)
   un ☐ dos ☐ tres ☐ cuatro ☐ otros: ☐ _____
4. ¿Con qué frecuencia?
   Todos los días ☐ una vez por semana ☐ dos veces por semana ☐
   Tres veces por semana ☐ cada 15 días ☐ Una vez por mes ☐
   Otros: ☐ _____
5. ¿Padece de alguna enfermedad o discapacidad? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo:
   ¿Cuál es la enfermedad o discapacidad? _____
6. ¿Padece de una enfermedad hepática? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo:
   ☐ Hepatitis A ☐ Hepatitis B ☐ Hepatitis C ☐ Hemocromatosis
   ☐ Hepatitis alcohólica ☐ Cirrosis hepática ☐ Otra: _____
7. ¿Toma algún medicamento? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo: ¿Cuál es el principio activo? _____
   ¿Cuál es la dosis? _____
8. ¿Toma o consume alguna droga ilícita? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo: ¿Cuál es la naturaleza? _____
   ¿Cuál es la dosis? _____
9. ¿Consume cigarrillos de tabaco? Sí ☐ No ☐
   En caso afirmativo: ¿Cuál es la cantidad de cigarrillos por día? _____
10. Está medicado o se autoadministra medicamentos con fines:
    Ansiolíticos ☐ tranquilizantes ☐ miorrelajantes ☐
    Hipnóticos ☐ Otros: ☐ _____

Fuente. Adaptado y ampliado de Pillay[14]. Modern Medical Toxicology; 2013. p. 191.

Anexo 3

Línea del tiempo de la determinación de la alcoholemia de una persona desde el momento de la comisión del hecho punible hasta la emisión del informe pericial de alcoholemia



Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2022

Anexo 4

Propuesta de proyecto de Resolución Ministerial sobre procedimientos para la optimización y estandarización del examen de alcoholemia en personas y cadáveres involucrados en hechos punibles asociados al consumo de etanol en el Perú

Propuesta de Proyecto de Resolución Ministerial № nnnn-aaaa/MMMM

Lima, dd de mm de aaaa

CONSIDERANDO:

Que, la determinación de alcoholemia o dosaje etílico en personas es el examen químico más frecuente realizado a consecuencia de hechos delictivos, accidentes de tránsito y laborales y/o infracciones a la ley, que requiere la adecuada extracción y/o recolección de muestras biológicas, técnicas analíticas validadas, equipos e instrumentos adecuados, personal profesional idóneo, acreditación de laboratorios toxicológicos, interpretación coherente de los resultados, conclusiones, redacción y emisión oportuna del informe pericial, es necesario que estos procesos estén estandarizados en todos los laboratorios toxicológicos del país.

Que, es necesario dictar normas específicas sobre el examen de alcoholemia en personas y cadáveres para una mejor administración de justicia en casos de hechos cometidos en estado de ebriedad o drogadicción, prevenir cuestionamientos a este tipo de análisis por las autoridades administradoras de justicia o la defensa técnica de los imputados, brindar resultados exactos, insesgados, válidos y altamente fiables que reflejen la cantidad real de etanol contenido en las muestras biológicas analizadas; asimismo, a partir de estos datos, si el caso amerita, permita disponer de información necesaria para realizar cálculos retrospectivos de alcoholemia hacia al momento en que ocurrió el hecho punible.

Que, el artículo 3 del Decreto Legislativo № 1219, Decreto Legislativo de Fortalecimiento de la Función Criminalística Policial especifica que la "Competencia y alcance. La Dirección Ejecutiva de Criminalística y sus órganos desconcentrados integran el Sistema Criminalístico Policial. El Sistema Criminalístico Policial practica los peritajes oficiales y emite los informes periciales de criminalística para efectos de la investigación que dirige el Ministerio Público y los derivados del cumplimiento de sus funciones"[64].

Que, el numeral 6) del artículo 29 del Decreto Supremo № 026-2017-IN, Decreto que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo № 1267, Ley de la Policía Nacional del Perú señala que es una función de la División de Laboratorio Criminalístico "formular peritajes químico toxicológicos y dosaje etílico, bromatológicos, análisis de drogas e insumos químicos fiscalizados, bebidas alcohólicas, medicamentos, cosméticos, productos e uso agrícola y otros, tanto en muestras biológicas como no biológicas, dentro de la especialidad de Farmacia y Bioquímica"[65].

Que, el numeral 21 del artículo 9 del Decreto Supremo № 001-2021-IN, Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Decreto Legislativo № 1219, Decreto Legislativo de Fortalecimiento de la Función Criminalística Policial, establece que la especialidad forense de "Química y Toxicología Forense.- Realiza exámenes toxicológicos, dosaje etílico, pesaje y análisis de drogas, bromatológico, así como análisis de elementos orgánicos e inorgánicos recogidos de diferentes escenarios, entre otros de la especialidad"[66].

Que, el artículo 3° de la Ley № 28173, Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú dispone que "los Químico Farmacéuticos podrán ejercer sus actividades profesionales, entre otras, en la docencia, regencia de establecimientos farmacéuticos públicos y privados, laboratorio de análisis clínicos y bioquímicos, bromatológicos, toxicológicos, laboratorios de radiofármacos, dirección técnica de laboratorios farmacéuticos y productos naturales, cosméticos, laboratorios de control de calidad, y en la sanidad de la Fuerza Armada y Policía Nacional"[62].

Que, en el literal f del artículo 6° del Decreto Supremo № 008-2006-SA, Decreto que aprueba el Reglamento de la Ley del Trabajo del Químico Farmacéutico del Perú señala "que de acuerdo a su perfil profesional los químicos farmacéuticos ejercen sus actividades en laboratorios de análisis: está referido a los análisis químicos,

fisicoquímicos, bromatológicos, bioquímicos y clínicos, microbiológicos, farmacológicos, toxicológicos, forenses, químico legal y de armas químicas, así como al control de calidad de los productos farmacéuticos y afines". Asimismo, en el literal v del artículo 7° del Decreto Supremo citado anteriormente señala que "son funciones del químico farmacéutico dirigir y realizar los análisis fisicoquímicos, químicos, bioquímicos, microbiológicos, farmacológicos, clínicos, toxicológicos (toxicología legal, forense y ambiental), bromatológicos y otros inherentes a su formación profesional"[63].

Artículo 1.- Definición de alcoholemia
Se trata de un examen químico que determina la concentración de etanol en sangre de una persona o cadáver en el momento de extracción de las muestras de sangre[7].

Artículo 2.- Obligatoriedad del examen de alcoholemia
El examen de alcoholemia es obligatorio para toda persona involucrada en un hecho punible, accidentes de tránsito y laborales, infracciones al reglamento general de tránsito y otras circunstancias que establece la ley o su reglamento. El agente que desobedece o resiste al análisis de sangre o de otros fluidos corporales para determinar etanol es sancionado de acuerdo a ley[30,41].

Artículo 3.- Método analítico oficial para alcoholemia
El método analítico oficial para la determinación de alcoholemia es el de Cromatografía de gases con detector de ionización de llama y con muestreador de espacio de cabeza[7,33,60].

Artículo 4.- Instituciones responsables del examen de alcoholemia
A nivel nacional los laboratorios de Química y Toxicología Forense del Sistema Criminalístico Policial practican los exámenes de alcoholemia y emiten los informes periciales para efectos de la investigación que dirige el Ministerio Público[64-66]. Los laboratorios de Toxicología y Química Legal del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Ministerio Público realizan determinaciones de etanol en fluidos biológicos para cumplir con los fines que persigue esta institución.

Artículo 5.- Profesional responsable del examen de alcoholemia
El químico farmacéutico por su formación académica, es el profesional responsable de practicar el examen de alcoholemia en personas y cadáveres; cumpliendo eficientemente las fases preanalíticas, analíticas y posanalíticas[32], incluyendo: extracción o recolección de muestras biológicas, transporte, conservación, almacenamiento, cadena de custodia, análisis, interpretación de resultados y reporte de estos en el informe pericial de alcoholemia; debe estar colegiado y habilitado por el Colegio Químico Farmacéutico del Perú[62,63].

Que, según el Código Penal peruano en varios artículos señala que la pena privativa de la libertad del agente varía si este presenta alcohol en sangre en proporción mayor a 0,25 g/L o 0,5 g/L según el tipo de delito cometido; asimismo en algunos delitos es considerado una circunstancia agravante cuando el agente actúa en estado de ebriedad, con presencia de alcohol en la sangre en proporción mayor a 0,25 g/L[30]; por lo que amerita determinar el etanol en sangre de sujetos involucrados en hechos punibles.

Artículo 6.- Tipo de muestra para cuantificación de etanol en personas
La sangre es la muestra ideal para cuantificar el etanol en un sujeto[49,60]. El uso de otro tipo de muestra biológica debe justificase y reportase en el informe pericial de alcoholemia.

Artículo 7.- Momento de la extracción de muestras para determinación de alcoholemia en personas
Debe ser lo más pronto posible de ocurrido el accidente o hecho punible materia de investigación o inmediatamente después de la detención del sujeto involucrado[33,67]; en circunstancias excepcionales la demora para la extracción de las muestras biológicas en el laboratorio toxicológico, se debe justificar el motivo.

Artículo 8.- Traslado de personas al laboratorio para examen de alcoholemia, responsabilidad de la autoridad policial
La autoridad policial interviniente, a cargo de la investigación, que haya realizado la detención o retención a los sujetos intervinientes según sea el caso como en accidentes de tránsito, hechos delictivos u otros, bajo responsabilidad, deberá conducir inmediatamente a las personas intervenidas, detenidas, retenidas, víctimas, testigos u otros al laboratorio toxicológico del Sistema Criminalístico Policial para que sean sometidas al examen de alcoholemia y otros exámenes complementarios, según correspondan. El personal policial que no cumpla con esta disposición sin causa justificada constituye una infracción grave.

Artículo 9.- Alcoholemia en personas
La determinación de alcoholemia en personas se realiza utilizando dos muestras de sangre sucesivas[59], con intervalos de tiempo de 30 a 45 min, extraídas de una de las venas cubitales del antebrazo[49]. En casos especiales de optará por otro vaso sanguíneo. El sitio del muestreo siempre debe ser registrado[38].

Artículo 10.- Alcoholemia en cadáveres
La determinación de los niveles de etanol en cadáveres se realiza fundamentalmente en muestras de sangre, humor vítreo y orina[49]; a falta de una de estas muestras cuando las condiciones de conservación del cadáver no permita extraerlos o recolectarlos, se informará el motivo de no realización en la muestra respectiva; si el caso amerite se puede utilizar muestra de líquido cefalorraquídeo u otro fluido biológico, siendo estos últimos resultados referenciales.

Artículo 11.- Cantidad de sangre a extraer de personas
La cantidad de 5 mL de sangre venosa periférica para análisis de etanol en personas o cadáveres y 5 mL de sangre como contramuestra[14,68]. Para el caso de otro tipo de muestras biológicas, la cantidad necesaria según criterio del profesional químico farmacéutico.

Artículo 12.-Desinfección de la piel de personas para extracción muestras de sangre
Se efectúa con agua y jabón o agua destilada, nunca se emplea alcohol, tintura de yodo u otros disolventes con fracciones volátiles[49]. Después de la extracción de la segunda muestra de sangre se puede realizar la desinfección.

Artículo 13.- Sangre de cadáveres
Extraer muestra de sangre periférica durante la necropsia de ley, preferentemente obtener sangre de la vena femoral seguida de la subclavia y por último sangre de la cavidad cardiaca[12,68]. Si se extrae sangre de otro vaso sanguíneo es necesario indicar el lugar de extracción y motivo.

Artículo 14.- Casos especiales, muestras biológicas de personas para cuantificación de etanol
En casos especiales para la determinación de etanol se utilizan muestras de orina[7], solo en aquellas personas que, por razones de religión, quemaduras, hemofilia, enfermedades de la piel, etc., no es factible practicar extracciones de sangre, estos casos estarán debidamente justificados, los resultados de los niveles de etanol son referenciales.

Artículo 15.- Frascos para recolectar y/o remitir la muestra
Un frasco de vidrio de 5 mL de capacidad con tapa plástica tipo rosca forrada con teflón, se debe adicionar a cada frasco la cantidad de 50 mg de fluoruro de sodio como conservador y 50 mg de oxalato de potasio como anticoagulante, la sangre es llenada completamente, sin dejar cámara de aire y perfectamente ocluido y el tapón asegurado; se mezcla bien después de tapar[60]. Mantener en todo momento y circunstancia las muestras de sangre en refrigeración a 4 °C hasta el análisis[38,67].

Artículo 16.- Etiquetado
Cada frasco será provisto de una etiqueta en la cual debe consignarse: nombre de la persona o cadáver a quien se extrajo la muestra de sangre u otro fluido biológico, lugar, fecha y hora de extracción, nombres y apellidos del profesional que realizó la extracción, toda muestra biológica debe llevar un código que lo identifique[38,67].

Artículo 17.- Almacenamiento, conservación, cadena de frio
Todas las muestras de sangre u otros fluidos biológicos deben almacenarse a 4 °C o -20 °C, hasta su procesamiento, conservando en todo momento la cadena de frio[38,49].

Artículo 18.- Reporte de resultados de alcoholemia
Los resultados de alcoholemia se reportan con dos dígitos fraccionarios, con truncamiento por las centésimas[31] y expresado en gramos de etanol/ litro de sangre (g/L)[6].

Artículo 19. Presentación de resultados
La cantidad de etanol hallado en muestras de sangre u otros fluidos biológicos analizados se consignan en el informe pericial de alcoholemia; asimismo se adjunta un esquema de la línea del tiempo de la determinación de alcoholemia realizada, desde el momento de la comisión del hecho punible hasta la emisión del informe pericial de alcoholemia.

Artículo 20.- Cadena de custodia de la(s) muestra(s) biológica(s) para alcoholemia
La cadena de custodia se inicia en el instante de la extracción o recolección de la(s) muestra(s) de fluido(s) biológico(s) que será(n) utilizado(s) para la determinación de la concentración de etanol anotándose la hora y fecha, tipo de muestra, lugar de la recolección, condiciones y circunstancias de la recolección, del envasado, acondicionamiento (aditivos añadidos, etc.) y los medios por los que se remite al laboratorio si fuere el caso. Todas las personas por las que, en

cualquier momento, hayan pasado las muestras, así como las que se hacen cargo de ellas para su transporte deben dejar constancia de su identidad, firmar y colocar la impresión de su sello posfirma en este documento[7,67].

Artículo 21.- Verificación de la cadena de custodia y destino final de la(s) muestra(s) para alcoholemia

"Antes de iniciar los análisis deberá comprobarse la concordancia de todos los datos que aseguran la identidad de la muestra biológica, así como sus condiciones de conservación, se debe hacer constar en el informe pericial. Finalmente, en la documentación de la cadena de custodia se consignará el destino que se da a la muestra biológica: pasó a otro laboratorio, conservación, devolución, destrucción, etc., y cualquier otra eventualidad que pudiera sobrevenir, con la identificación y firma de las personas que intervengan"[67].

Artículo 22.- Alcoholemia contramuestra y contraanálisis

En todo examen de alcoholemia debe prepararse una contramuestra para su posterior análisis cuando sea necesario a solicitud de la autoridad competente o de alguna de las partes, cuando estén en desacuerdo con los resultados iniciales[67]; las contramuestras deben almacenarse a 4 °C o -20 °C[38] hasta quince días naturales después de haber emitido el informe pericial de alcoholemia, garantizando los analices realizados.

Artículo 23.- Personas a quienes se debe practicar examen de alcoholemia

La persona que participe de un accidente de tránsito, infracción al reglamento de tránsito, operativos de alcoholemia, por asuntos laborales, infractores a la ley y reglamentos, sospechosos de la comisión de un delito, víctimas, testigos, personal policial interviniente, entre otros; según sea el caso, se les practicará el examen de alcoholemia[30].

Artículo 24.- Personal policial encargado de conducir a las personas al laboratorio toxicológico para ser sometidas al examen de alcoholemia

El personal policial a cargo de la investigación del presunto hecho delictivo o accidente es el responsable de la conducción o traslado al laboratorio toxicológico de los sujetos presuntos autores o coautores del delito, víctimas, testigos o personal policial interviniente para que sean sometidas al examen de alcoholemia y toxicológico; realizándolo inmediatamente después del incidente, intervención o detención, según sea el caso; salvo motivos debidamente justificadas que deben informarse.

Artículo 25.- Sanciones al personal policial encargado del traslado de las personas al laboratorio toxicológico para examen de alcoholemia por retraso injustificado en el traslado

El personal policial responsable del traslado de los sujetos para ser sometidos al examen de alcoholemia que no cumplan con el traslado en forma inmediata y oportuna incurren en una infracción grave. Se le apertura proceso disciplinario al personal policial, autoridades o personas que impidan o dificulten el inmediato traslado para los exámenes de ley como el de alcoholemia. Salvo casos excepcionales debidamente justificados.

Artículo 26.- Estimación de alcoholemia retrospectiva

La autoridad judicial o representante del Ministerio Público en caso que requiera de información sobre alcoholemia retrospectiva relacionado a un informe pericial de alcoholemia de una persona, durante la investigación de algún caso forense, solicita a la institución que emitió el informe pericial de alcoholemia, que disponga a quien corresponda realice el informe sobre el cálculo de alcoholemia retrospectiva, aplicando el coeficiente de etiloxidación (β) de cada individuo y al mismo tiempo realiza la extrapolación retrospectiva empleando la tasa promedio de eliminación de etanol de la sangre de 0,10 a 0,35 g/L/h, informando en el lapso de 24 h de recibida la solicitud, bajo responsabilidad.

Disposiciones complementarias finales

Primera. - **Vigencia**

La presente resolución ministerial entrará en vigencia a partir de los 30 días de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

Segunda. - Equipamiento de laboratorios toxicológicos con cromatógrafo de gases

A partir de su publicación de la presente Resolución Ministerial los laboratorios del Sistema Criminalístico Policial e Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses a nivel nacional que no estén implementados con el equipo cromatógrafo de gases acoplado al detector de ionización de llama y con muestreador de espacio de cabeza, tendrán el plazo máximo de veinticuatro (24) meses para la adquisición, instalación, mantenimiento preventivo y correctivo; con cargo del presupuesto institucional del Ministerio del

Interior o del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Ministerio Público, según corresponda; sin demandar recursos adicionales al Tesoro Público y conforme a las disposiciones legales vigentes.

Tercera. - Actualización de protocolos de análisis de alcoholemia

Las instituciones a cargo de las determinaciones de alcoholemia en personas y cadáveres actualizarán como máximo cada tres años sus protocolos de determinación de etanol en fluidos biológicos, considerando lo dispuesto en la presente resolución ministerial.

Cuarta. - Dos métodos analíticos para alcoholemia

En un plazo máximo de tres años a partir de aprobación de la presente resolución ministerial los laboratorios toxicológicos del Sistema Criminalístico Policial y del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Perú, para la determinación de etanol en fluidos biológicos de personas y cadáveres, deben emplearse un mínimo de dos métodos analíticos confirmatorios de etanol[67], uno de ellos aplicando la cromatografía de gases con detector de ionización de llama y con el muestreador de espacio de cabeza[7], y el segundo método el de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas[3,50].

Quinta. -Determinación de glucurónido de etilo y sulfato de etilo

En un plazo máximo de cinco años a partir de aprobación de la presente Resolución Ministerial los laboratorios toxicológicos del Sistema Criminalístico Policial y del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses del Perú, además de la determinación de alcoholemia en personas o cadáveres deberán realizar la cuantificación del glucurónido de etilo y/o sulfato de etilo en orina y/o sangre[7,18,24,69]. Se exceptúa en los casos que durante la necropsia de ley el cadáver no tenga estos fluidos biológicos, para lo cual se deberán informar los motivos.