



CDMX
CIUDAD DE MÉXICO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
MEDICINA LEGAL

**“SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE PRUEBA POR VIRAJE DE COLOR PARA
DISCRIMINAR ENTRE LESIONES VITALES Y POST-MORTEM. ESTUDIO PRELIMINAR.”**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLOGICA

PRESENTADO POR:
MÉDICO CIRUJANO, JOSÉ MANUEL GÓMEZ CASTRO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA LEGAL

DIRECTORES DE TESIS
MÉDICO LEGISTA. JUVENTINO IVÁN MIGUEL GONZÁLEZ.

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO, JOSÉ LUIS DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ.

MÉDICO ANATOMOPATÓLOGO, ROBERTO CUAUHTÉMOC MENDOZA MORALES.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE PRUEBA POR VIRAJE DE COLOR PARA
DISCRIMINAR ENTRE LESIONES VITALES Y POST-MORTEM. ESTUDIO PRELIMINAR.**

José Manuel Gómez Castro.

Vo. Bo.
Dr. Víctor Hugo Soto Flores



Profesor Titular del Curso de Especialización en Medicina Legal.

Vo. Bo.
Dr. Federico Miguel Lazcano Ramírez



Director de Educación e Investigación.



**SECRETARIA DE SALUD
SEDESA
CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN**

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE PRUEBA POR VIRAJE DE COLOR PARA DISCRIMINAR
ENTRE LESIONES VITALES Y POST-MORTEM. ESTUDIO PRELIMINAR.**

José Manuel Gómez Castro.

Vo. Bo.
Dr. Juventino Iván Miguel González



Perito Médico Forense del Instituto de Ciencias Forenses del Tribunal Superior de Justicia de la
Ciudad de México.
Director de Tesis.

Vo. Bo.
Q.F.B. José Luis Domínguez Rodríguez.



Perito Químico del Instituto de Ciencias Forenses del Tribunal Superior de Justicia de la Ciudad de
México.
Director de Tesis.

Vo. Bo.
Dr. Roberto Cuauhtémoc Mendoza Morales



Perito Médico Anatomopatólogo del Instituto de Ciencias Forenses del Tribunal Superior de Justicia
de la Ciudad de México.
Director de Tesis.

DEDICADO A:

JOSÉ LUIS Y BLANCA SONIA, MIS PADRES,
QUIENES SE HAN ESFORZADO TANTO POR MÍ,
Y A DAYNA, MI QUERIDA ESPOSA,
POR SU SABIDURIA Y COMPASIÓN QUE ME INSPIRAN.

AGRADECIMIENTOS.

QUIERO AGRADECER PROFUNDAMENTE A MIS ASESORES; DR. JUVENTINO IVÁN MIGUEL GONZÁLEZ, Q.F.B. JOSÉ LUIS DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ Y DR. ROBERTO CUAUHTÉMOC MENDOZA MORALES; QUIENES TAN DESINTERESADAMENTE ME HAN AYUDADO EN ESTE PROYECTO, SIN SUS CONOCIMIENTOS, DISPOSICIÓN Y COLABORACIÓN, NO HUBIESE SIDO POSIBLE LLEVARLO A CABO. PARA USTEDES MI GRATITUD, ADMIRACIÓN Y RESPETO.

Así mismo quiero agradecer de manera especial al Dr. Víctor Hugo Soto por la ayuda inmensa que me brindó. Es mi deseo agradecer también a la Dra. Lisset Castro Gómez, con su ayuda se dio el primer paso de esta investigación.

De igual manera, agradezco a todo el personal del INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES DEL TRIBUNAL SUPERIOR DE JUSTICIA DE LA CIUDAD DE MÉXICO, que de una u otra forma colaboraron para que este proyecto se llevara a cabo; en el Laboratorio de Química, al Ing. Q. Bernabé Hernández Santos, al Q.F.B. Adrián Waldo Capetillo; en el Laboratorio de Patología, al Dr. José Luis Raúl Dorantes Ramírez y en especial al Técnico histotecnólogo Francisco Javier Alvarado Martínez por su ardua labor; en el Anfiteatro, al Dr. Andrés Oriol Morales, Dra. Mónica Margarita Huerta Juárez, Dra. Erika Cedillo Ochoa, Dra. Ana María Leyva Sánchez, Dr. Iván Escartín Garrido, Dr. Rubén Cruz Jerónimo, Dra. Brenda Marín González, Dra. María del socorro Arceo Hughes, Dra. Thelma Zapotitla Jiménez, Dr. Eduardo Escamilla Mondragón y al Dr. Juan Carlos Ramírez Pérez; A los técnicos José Luis Vargas, Carlos González Domínguez, Julio Cesar Salazar González y Alberto Alba Mendoza; en el departamento de Investigación y enseñanza, al Maestro Carlos Enrique Díaz Otáñez y de manera destacada al Dr. Fernando García Dolores, por su exigencia, apoyo y comprensión; sin olvidar a los directivos del Instituto de Ciencias Forenses por haber apoyado este proyecto.

También quiero agradecer a la Dra. Raquel Gómez Guerrero y a la Dra. María Teresa Nápoles Guillén, del área de enseñanza de la SECRETARIA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO, por toda la atención y orientación, además de la Dra. María Eloisa Dickinson y la Dra. Consuelo González Salinas.

A todos los profesionales que han sido parte de la Especialidad al transmitir sus conocimientos a los residentes. A mis compañeros Residentes de Medicina Legal, de quienes no he recibido más que apoyo en todo este tiempo. Si a alguien he omitido por error o falta de espacio, le pido una disculpa.
¡GRACIAS!

INDICE.

RESUMEN.

INTRODUCCIÓN. 01

MATERIAL Y METODOS. 15

RESULTADOS. 25

DISCUSIÓN. 36

CONCLUSIONES. 44

RECOMENDACIONES. 46

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. 47

ANEXO 1. Resultados por caso.

RESUMEN.

Se llevó a cabo un estudio preliminar de una nueva prueba diagnóstica para discriminación de lesiones vitales (pre-mortem) y lesiones post-mortem, cuyo objetivo fue saber si la nueva prueba **diagnóstica ("prueba de viraje de color") posee índices de validez iguales o superiores al estudio histológico**. Esta nueva prueba se vale de la diferencia en la concentración de histamina que existe entre la piel que sufrió una lesión vital y la que fue traumatizada posterior a la muerte, y de la reacción química de la histamina y el orto-ftalaldehído, que provocan un cambio de coloración y fluorescencia al entrar en contacto. En las instalaciones del Instituto de Ciencias forenses del Tribunal Superior de Justicia de la Ciudad de México, entre el 02 y el 25 de mayo de 2017, se recolectaron y procesaron un total de 60 muestras de piel (todas de origen cadavérico), 30 provenientes de las lesiones con características macroscópicas de vitalidad y 30 de piel indemne contralateral, mediante extracción ácida para histamina y posterior reacción con una solución de orto-ftalaldehído, se les calificó como lesión pre-mortem o post-mortem con la Prueba de Viraje de Color; los resultados se compararon con el análisis histopatológico de las muestras. La prueba de Viraje de Color obtuvo los siguientes índices de validez; sensibilidad 73% y especificidad 76%, cifras menores a las del examen histológico de las muestras.

PALABRAS CLAVE: lesión vital, lesión post-mortem, histamina, prueba diagnóstica, viraje de color, sensibilidad, especificidad.

I. INTRODUCCIÓN.

Lesión vital y post-mortem.

Lesión es toda aquella alteración de la estructura anatómica o funcional de los tejidos, producida por la acción vulnerante de agentes físicos, químicos o biológicos.¹ En general se acepta que la definición de lesión es aplicable a un ser vivo, sin embargo, los cadáveres son susceptibles de sufrir una amplia gama de traumatismos, cuando así ocurre se constituye una lesión post-mortem.²

Ante la existencia de dichos fenómenos, es común que existan requerimientos jurídicos para determinar el diagnóstico diferencial acerca de la vitalidad o no de una o más lesiones.³ Sin embargo, confirmar que una lesión sucedió durante la vida o se trata de una lesión post-mortem puede ser extremadamente difícil, debido a que las lesiones infringidas en los últimos minutos de vida y aquellas que suceden poco después de la muerte pueden tener la misma apariencia.² A este **espacio de tiempo se le ha llamado “zona gris” o “periodo de incertidumbre”, el cual es debido a** que la muerte es un proceso, más no un suceso. En un extremo de este intervalo temporal se encuentra la lesión vital y al otro la lesión post-mortem.³

La presencia o ausencia de reacción vital determina el carácter ante-mortem o post-mortem de una lesión, entendiéndose por dicha reacción vital, la respuesta del tejido vivo ante cualquier agresión, dicha respuesta consiste en la reacción inflamatoria aguda inespecífica, que se constituye por fenómenos vasculares, hemostáticos, celulares y bioquímicas, procesos que ocurren de manera concomitante.³

Diferenciación de lesiones vitales y post-mortem.

Existen cuatro tipos de exámenes básicos para el diagnóstico diferencial entre lesiones vitales y post-mortem, que evalúan mediante diferentes técnicas la existencia de los fenómenos de la

reacción inflamatoria aguda inespecífica. Cada uno con capacidad diferente de certeza para limitar la duración del periodo de incertidumbre (figura 1).³

El examen macroscópico: consiste en la observación mediante inspección simple, o con lupa, de las expresiones del proceso inflamatorio inespecífico como el rubor y el tumor, además de otras características que dependen del tipo de tejido y mecanismo productor de la lesión.³

En el caso de las heridas cutáneas se incluyen las siguientes características:

- Labios o bordes de la herida engrosados, infiltrados de sangre y separados por la retracción de la dermis o de los tejidos subyacentes, posteriormente con exudación de linfa o supuración.
- Hemorragia abundante con infiltración de sangre en los tejidos circundantes.
- Sangre coagulada en el fondo de la herida.⁴

Estos elementos de vitalidad pueden ocurrir en conjunto o de forma aislada o con carácter incompleto en las lesiones sucedidas en el periodo de incertidumbre.

En general se requiere de aproximadamente 60 minutos desde el momento de que se produce la lesión, para que las características macroscópicas de la reacción vital se tornen por completo manifiestas.³

El examen histológico: consiste en el estudio al microscopio de los tejidos y requiere la observación de infiltrado hemático tisular y movilización leucocitaria, de forma aislada o en conjunto, para obtener un grado de certeza suficiente.³ se puede requerir hasta 30 minutos para que los hallazgos característicos puedan ser observados de manera contundente, con la histología convencional y métodos de tinción rutinarios.⁵

El examen histoquímico-enzimático: lo constituye la determinación del nivel de actividad enzimática en los tejidos de las zonas circundantes a una lesión.³ En heridas de piel, se puede detectar niveles significativamente más altos de la enzima alfa-napftil-esterasa en periodos de sobrevivencia tan cortos como 15 a 30 minutos.⁵

El examen bioquímico: constituye la investigación y determinación de mediadores químicos de la respuesta inflamatoria aguda inespecífica. Dichas sustancias son las que más precozmente indican vitalidad y su detección delimita al mínimo posible el periodo de incertidumbre. Los cambios relacionados con la reacción vital pueden llegar a ser significativos hasta en 5 minutos de haber ocurrida una lesión.³

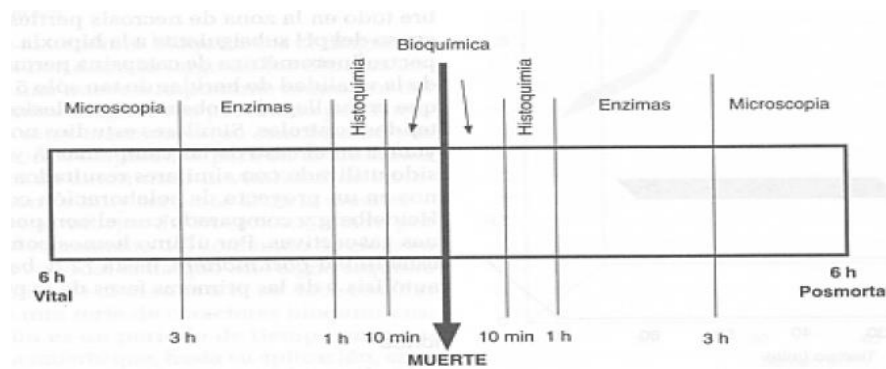


Figura 1.- Representación esquemática de la utilidad diagnóstica de la vitalidad de las heridas de los diversos marcadores y consiguiente reducción del periodo de incertidumbre.⁴

La gran mayoría de los estudios realizados con la finalidad de discriminar entre lesiones vitales y post-mortem han sido llevados a cabo en piel.³

En la actualidad, cuando se estima que los datos de la observación macroscópica son insuficientes,³ el examen histológico es el más utilizado⁶ aunque es considerado por algunos autores como un método poco apropiado cuando solo se cuenta con tinciones convencionales.⁵

Examen químico de las lesiones.

Dentro de los mediadores químicos de la inflamación se encuentran la histamina y la serotonina, sustancias preformadas cuyas concentraciones se elevan en las lesiones vitales.⁶ Ambas entran dentro del grupo de las aminas.

Las aminas son compuestos químicos derivadas de aminoácidos, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se caracterizan por contener uno o varios sustituyentes unidos a un átomo de nitrógeno.

La histamina es una amina compuesta por un anillo imidazólico y un grupo etilamino como cadena lateral. El nombre químico aprobado por la Asociación Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) es *2-(4-imidazol) etilamina* y su fórmula global es $C_5H_9N_3$.⁷ Es derivada de la descarboxilación de la L-histidina, reacción que cataliza la histidina descarboxilasa.⁸ Se encuentra principalmente en los mastocitos (cuyas concentraciones son muy elevadas en la piel, la mucosa del tracto digestivo y mucosa de las vías respiratorias), así mismo se localiza en los granulocitos basófilos y las células similares a enterocromafines de las glándulas corpofundicas del estómago.⁹

Histamina como marcador de vitalidad de una lesión.

La histamina es responsable del inicio de los cambios vasculares en la inflamación. Existe un consenso acerca de un marcado incremento en el contenido de histamina libre en las lesiones de origen vital, incremento que va desde un 50%⁵ hasta un 100%¹⁰ a los 60 minutos de ocurrida la lesión, con respecto de la piel indemne, este incremento inicia desde los primeros cinco minutos de ocurrida la lesión, tiene su pico máximo a los 20-30 minutos y persiste más allá de una hora.⁴

Un estudio realizado con modelos de lesiones en piel de ratas ha demostrado la elevación de la

histamina de manera significativa desde los 5-10 minutos de sucedida la lesión y una elevación aún mayor en las que tienen un alrededor de 60 minutos.¹¹ Una vez que el edema está completamente instalado no ocurre más liberación de histamina.¹² El incremento en la cantidad de histamina libre es concordante con un aumento posterior en la densidad de mastocitos que se puede observar mediante histología, en la piel con reacción inflamatoria,¹⁰ pero dicho aumento en la densidad de los mastocitos no ocurre en áreas hemorrágicas ni necróticas.¹³

No solo la respuesta inflamatoria puede provocar un aumento en los niveles de histamina de los tejidos, se ha comprobado que dosis terapéuticas de morfina y opioides pueden causar vasodilatación y enrojecimiento cutáneo, con prurito y sudoración, por liberación de histamina. Así mismo parte del efecto vasodilatador del alcohol es debido a la liberación de histamina que produce.¹⁴

La cantidad de histamina en piel humana indemne en caso de una muerte traumática fue establecida por *H. Johnson* (1957), en un rango que va desde 4 hasta 41 microgramos por gramo de piel dependiendo del área topográfica de donde proviene la muestra, las zonas de mayor concentración corresponden a los labios y los párpados, seguidos de la piel cabelluda y la región submentoniana, y las de menor concentración son el tórax y el abdomen.¹⁵

Existen dos factores que determinan la cantidad estimada de histamina en la piel, uno de ellos es la región anatómica, se pueden apreciar áreas hasta con tres veces más histamina que otras; el otro factor importante es el método de extracción utilizado, cabe destacar que aquellos métodos que utilizan la hidrólisis acida resultan en una cantidad hasta tres veces mayor de histamina en comparación con aquellos que no la utilizan.¹⁵ Así mismo diversas patologías alteran la cantidad de histamina presente en la piel.¹⁶

Ensayo químico de la histamina.

La cantidad y variedad de métodos desarrollados en los laboratorios para la determinación de histamina es muy abundante, no obstante la mayor parte de los utilizados para la separación aplicados a matrices sólidas, usan la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, con derivatización pre columna o post-columna con el objetivo de producir productos fluorescentes que permitan la medición con detectores de fluorescencia o ultravioleta. ¹⁸⁻⁷

La extracción es el paso más crítico en los procedimientos de ensayo de histamina, el que mayor influencia tiene en la recuperación de la sustancia. Los reactivos que más se han usado durante la extracción desde matrices sólidas son el ácido clorhídrico, el perclórico, el tricloroacético o el metanosulfónico, aunque también se ha difundido mucho el uso de solventes orgánicos como el metanol, acetona o el diclorometano.⁷

Las aminas biógenas son bases orgánicas fuertes, el uso de ácidos favorece la ruptura del enlace de la histamina con la matriz. Para las matrices constituidas por tejidos orgánicos, el ácido que mostró mejor recuperación fue el ácido tricloroacético al 10%.⁷ sin embargo existen técnicas reportadas de extracciones en matrices de tejidos orgánicos realizadas de manera satisfactoria con ácido tricloroacético al 5%.¹⁷

La técnica de extracción de histamina en piel reportada por *Johnson (1957)*¹⁵ es preferible a otras existentes debido a que utiliza cantidades muy pequeñas de tejido y requiere únicamente instrumentos de laboratorio básicos. Dicha técnica consiste en obtener la muestra, remover cualquier tejido que no corresponda a piel (incluido el tejido graso subcutáneo), pesar 100 mg de muestra, cortar la piel, machacarla con arena fina y ácido tricloroacético al 5% hasta homogenizar

y centrifugar. El sobrenadante constituye el material de extracción de histamina que puede ser sometido a análisis químico.

Debido a la baja volatilidad y la débil actividad cromofórica de las aminas biógenas, es necesario someterlas a una reacción de derivatización que le permita mejorar sus características espectrales. Entiéndase la derivatización como una técnica que consiste en transformar un compuesto químico en un producto que posea una estructura química similar. Para que el detector de los sistemas de cromatografía pueda convertir la medida física en una señal medible que sea proporcional a la concentración de la amina.⁷

Esta derivatización puede realizarse antes del ingreso a la columna cromatográfica para la separación de los analitos de interés (pre-columna) o posterior a la separación y antes de la detección (post-columna). Para este propósito existe una variedad muy amplia de agentes derivatizantes, tales como el orto-ftalaldehído (OPA), cloruro de dabsilo, cloruro de dansilo, cloruro de benzoilo, fluoresceína, entre otros.⁷

Orto-ftalaldehído.

El orto-ftalaldehído es un dialdehído aromático soluble en agua que generalmente se encuentra en forma de solución transparente de color azul pálido, las soluciones de OPA generalmente se encuentran a una concentración del 0.55%. Alquila grupos sulfhidrilo, carbonilo, hidroxilo y amina, por lo que altera la síntesis de ADN, ARN y proteínas. Tiene aplicaciones como desinfectante de endoscopios y otro instrumental médico después de la limpieza.¹⁸

El OPA reacciona con las aminas biógenas, entre ellas la histamina, produciendo un complejo fluorescente, dicha reacción ocurre de forma rápida (aproximadamente 30 segundos, en presencia de agentes reductores), El resultado final de esta reacción es un derivado iso-indol altamente fluorescente, con la única desventaja de que el resultado del proceso es producto inestable en el tiempo.⁷ a temperatura ambiente la reacción tiene su pico a los pocos minutos de sucedida y a los 10 minutos conserva aún la mitad de su fluorescencia original (medida por cromatografía de líquidos con detector de fluorescencia).¹⁹ El producto fluorescente de la reacción entre el OPA y la histamina se forma en medios alcalinos y en ausencia de agentes nucleofílicos.¹⁷

Cabe destacar que el complejo histamina-OPA, ha sido localizado y medido en la piel lesionada, en preparaciones histológicas y técnicas de microscopia que permiten valorar la fluorescencia, se ha comprobado que los niveles del complejo están incrementados en las lesiones vitales.²⁰

Evaluación de nuevas pruebas diagnósticas.

El proceso de evaluación de las nuevas pruebas requiere la realización de varios estudios consecutivos de complejidad creciente y que controlen de manera progresiva los principales sesgos que pueden ocurrir durante la validación de cualquier prueba de laboratorio, esto con el objetivo de ahorrar recursos y no someter a estudios caros y de larga duración aquellas pruebas que no hayan obtenido resultados satisfactorios en las primeras instancias. Esta es una tendencia ampliamente aceptada, aunque no existe consenso en la denominación de las distintas fases, la primera de ellas consiste en:

- Estudio preliminar o exploratorio. Se trata de un estudio transversal con muestra de conveniencia que tendría por objeto documentar que los resultados de la prueba

diagnóstica son distintos en sujetos sin y con el proceso a diagnosticar. En el estudio no se incluirían casos dudosos o complicados. Se trata de un estudio inicial que se suele hacer antes de abordar otros estudios más costosos.²¹

- Estudio de validación retrospectiva. Se trataría de un estudio transversal con el mismo objetivo que el estudio preliminar; pero la muestra debe incluir una representación adecuada del espectro del proceso a diagnosticar, incluidos casos dudosos. Este diseño puede evaluar la capacidad discriminativa, pero no predictiva del test.
- Estudio de validación prospectiva. Se lleva a cabo en sujetos sin diagnosticar, en los que se plantea el diagnóstico en cuestión. Tras realizar la prueba a validar, se sigue hasta alcanzar el diagnóstico definitivo por otros medios. Permite evaluar la capacidad predictiva diagnóstica de la prueba. Permite controlar la evaluación independiente y ciega de la prueba.
- Evaluación del impacto y utilidad. Mediante un ensayo clínico controlado, se debe evaluar la utilidad real, comparando la prueba diagnóstica²¹ habitual con la prueba a validar, realizando la designación de los casos a una prueba u otra de forma aleatoria y los resultados se evalúan en términos de resultados en salud (calidad de vida, costes, etc.).²¹

Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas de vitalidad de las lesiones.

Son pocos los estudios acerca del desempeño de los diferentes tipos de exámenes que son utilizados para el diagnóstico de vitalidad de las lesiones. Aunque existen cifras relacionadas con parámetros para los hallazgos del examen histológico de piel; *Gauchotte et al.* en 2013 determinaron la sensibilidad y especificidad de diferentes marcadores morfológicos evaluados en el examen histológico de las lesiones, para el infiltrado intersticial hemorrágico la sensibilidad es

del 100% y la especificidad del 53%, para el infiltrado inflamatorio significativo (24 polimorfonucleares en 10 campos de alta potencia, lente ocular de 10x) la sensibilidad es del 5% y la especificidad del 100% (tabla 1), esto en preparaciones histológicas con tinciones convencionales de hematoxilina/eosina evaluadas por dos observadores.²² Lo anterior permite utilizar dicho tipo de examen como estándar de comparación para el análisis y la evaluación de las pruebas diagnósticas sobre el tema.

INDICES DE VALIDEZ DEL EXAMEN HISTOLÓGICO.		
MARCADOR HISTOLÓGICO	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD
Infiltrado hemorrágico	100%	53%
Infiltrado inflamatorio	5%	100%

Tabla 1.- Modificada de "sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de vitalidad."²²

Sustrato teórico de la prueba por viraje de color para discriminación entre lesiones vitales y post-mortem.

En el presente estudio se propuso una prueba para diagnóstico de vitalidad de las lesiones, que utiliza la cualidad del OPA de cambiar de color en presencia de histamina para diferenciar entre lesiones pre mortem y post mortem (figura 2).

Si se somete a proceso una misma cantidad de tejido (piel) de una lesión vital y una post-mortem, provenientes del mismo cadáver y de la misma región anatómica, mediante una misma técnica de extracción de histamina para matrices sólidas, la cantidad obtenida de dicha amina biógena permitirá la reacción con el OPA en la primera y no en la segunda, produciendo un cambio de color apreciable de manera macroscópica en el material de la extracción. Si ambos materiales de la

extracción permiten la reacción histamina-OPA, aquel obtenido de la lesión vital será más intenso o permanecerá positivo, después de realizar diluciones progresivas, en comparación del obtenido de la lesión post-mortem.



Figura 2.- 1: solución de histamina. 2: solución de orto-ftalaldehído. 3: aspecto macroscópico de la solución de OPA. 4: aspecto macroscópico de la reacción del complejo histamina-OPA. 5: arena fina utilizada para la extracción en matriz sólida (piel).

Planteamiento del problema.

En la actualidad además del estudio de las características macroscópicas de las lesiones, no existe una prueba de discriminación entre lesiones vitales y post-mortem, que sea rápida, que no requiera de equipos sofisticados y personal especializado, que proporcione resultados confiables, y que además sea barata y accesible. Exceptuando el examen macroscópico, todas las pruebas para diagnóstico de vitalidad de las lesiones requieren equipos caros y personal altamente especializado.

La falta de recursos humanos y de laboratorios equipados, provoca que no todos los servicios médico forenses tengan a su disposición los elementos necesarios para otorgarle soporte a la opinión médica forense (examen macroscópico) en cuanto al diagnóstico diferencial de lesiones vitales y post-mortem; aunado a eso, en los centros donde se cuenta con los recursos,

generalmente los resultados no están listos de inmediato, por lo que se deben incluir al dictamen en ampliaciones posteriores. La presente investigación propuso una nueva prueba diagnóstica que cumpliera con las cualidades necesarias para dar solución a la problemática expuesta. De lo mencionado anteriormente surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba por viraje de color para discriminación entre lesiones pre y post-mortem?

Justificación.

No existen estadísticas de los requerimientos jurídicos hechos a los servicios médicos forenses en relación a la discriminación entre lesiones vitales y post-mortem, pero la falta de certeza en dicha materia, puede tener grandes consecuencias para la procuración de justicia.

Los casos que requieren intervención medico forenses acerca de la discriminación de lesiones vitales y post-mortem, incluyen los hallazgos de segmentos corporales humanos, situación que se ve agravada cuando dicho hallazgo está relacionado a secuestros en los que partes del cuerpo de la víctima son enviados a los familiares a manera de presión para a pagar el rescate o ceder ante exigencias, en dichos casos, saber si la amputación del segmento corporal (dedos u orejas, son los más comunes) fue vital o post-mortem, puede ser sumamente importante para las indagatorias de las autoridades. Según la organización **“Alto al secuestro”**, las entidades más afectadas por el secuestro son en orden decreciente: el estado de México, Tamaulipas, Guerrero y la Ciudad de México; Así mismo en delitos relacionados a cadáveres mutilados o descuartizados, saber si una lesión fue producida en vida o después de la muerte puede ser de gran relevancia para la tipificación de las conductas delictivas y por lo tanto para la correcta procuración de justicia, por ejemplo al proporcionar elementos que sustenten agravantes (como ventaja y premeditación) en una conducta delictiva; otro ejemplo es la diferencia de las penas aplicables para diferentes conductas, según el código penal federal en su artículo 291 se impondrá de 3 a 5 años al que

provoque lesiones que entorpezca o debilite una mano, pie, brazo, pierna o cualquier otra parte del cuerpo; el artículo 292 menciona que se impondrá de 5 a 8 años al que infiera lesiones de la que resulte la inutilización completa o pérdida de cualquier órgano, en contraposición en el artículo 280 de dicho código menciona que se impondrá de 3 días a 2 años de prisión al que destruya un cadáver.

Por lo anteriormente expuesto queda claro que se requiere de una técnica sencilla, rápida, accesible y confiable, que sea capaz de realizar la discriminación entre lesiones vitales y post-mortem, que otorgue un soporte las opiniones de los médicos forenses en caso de no contar con otros estudios auxiliares para el caso. Que además implique reducir al máximo posible el periodo de incertidumbre de las lesiones.

La presente investigación consistió en el primer paso para validar una prueba diagnóstica que cumpla con las características mencionadas, sus resultados pueden permitir el desarrollo de estudios posteriores que completen el proceso de evaluación de la prueba.

Hipótesis.

La hipótesis de investigación fue la siguiente: La prueba por viraje de color tiene un desempeño igual o superior al examen histológico para el diagnóstico de vitalidad de las lesiones.

Objetivo General.

El objetivo general de la investigación fue conocer la sensibilidad y especificidad de la prueba de viraje de color para discriminación entre lesiones vitales y post-mortem, comparado con el examen histológico.

Durante la investigación se cumplieron los siguientes objetivos específicos:

1. Se recolectaron un total de 60 muestras de piel (30 provenientes de lesiones vitales y 30 de lesiones post-mortem, realizadas por el personal en el momento de la necropsia médico legal) calificadas así por el examen macroscópico.
2. Se evaluaron las muestras de piel con el examen histológico, y se calificaron como provenientes de lesiones pre-mortem o post-mortem.
3. A las muestras de piel se les practicó la prueba de viraje de color, y clasificó como provenientes de lesiones pre-mortem o post-mortem.
4. Los materiales de extracción de histamina de cada muestra, fueron sometidos a análisis químico mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, para conocer la concentración de histamina de las muestras y así corroborar los datos de la prueba de viraje de color.

II. MATERIAL Y METODOS.

Características metodológicas: La presente investigación fue el primero paso del proceso de validación de la nueva prueba para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem. Se realizó un estudio de observación, prospectivo, transversal y comparativo.

Definición del universo: Se utilizó piel obtenida cadáveres que se sometieron a necropsia médico legal en el Instituto de Ciencias Forenses (INCIFO) del Tribunal Superior de Justicia de la Ciudad de México, durante el periodo comprendido del 02/05/2017 al 25/05/2017, con controles positivos y negativos para vitalidad, de los cuales se procesaron 30 muestras para cada uno.

Tipo de universo: infinito.

Tamaño de la muestra: 60 muestras.

Tipo de muestreo: Se utilizó un muestreo intencional o por conveniencia.

Para los controles positivos y negativos se incluyeron muestras de cadáveres que contaran con las siguientes características.

Criterios de inclusión:

- El cadáver fuese de persona desconocida.
- Presentase una o más lesiones con características inequívocas de vitalidad en piel, mediante examen macroscópico.
- Presentase áreas de piel indemne en la región contralateral del cuerpo a una lesión vital.
- Tuviese un tiempo estimado de ocurrida la muerte, menor de 24 horas.
- Causa de muerte fuese conocida al finalizar la necropsia.

- Causa de muerte fuese de origen traumático.

Criterios de no inclusión:

- Las lesiones se encontrasen en el rostro o en zonas útiles para la identificación posterior del cadáver.
- Las lesiones tuviesen aspecto necrótico o hemorrágico.
- Existiese evidencia o sospecha de que el fallecido hubiese padecido alguna enfermedad sistémica o dermatológica.
- Evidencia o sospecha de que el fallecido hubiese estado intoxicado por alcohol u opiáceos.
- Existiese evidencia macroscópica de cualquier grado de putrefacción
- Existiesen materiales extraños en la piel a analizar.

Criterios de eliminación:

- Hubiese un resultado positivo en exámenes químicos para alcohol u opiáceos.
- Hubiesen antecedentes de patología sistémica o de la piel, obtenidos de manera posterior.

Una vez seleccionado un cadáver para el estudio se tomaron dos muestras de piel de 0.5 centímetros cuadrados de forma perpendicular a una lesión pre-mortem y otra de iguales características proveniente de la piel indemne de la zona contralateral a la anterior, según el criterio del médico forense (examen macroscópico) y fueron sometidas a examen histológico, examen químico para cuantificación de histamina y prueba de viraje de color.

La información de los cadáveres fue obtenida del expediente individual que les es otorgado al cuerpo que ingresa a INCIFO, en el que se hayan todos los datos relevantes conocidos, así como la descripción de las lesiones que puede llegar a presentar cada caso.

Se utilizó una estrategia de observación directa, tanto para las variables del examen histológico como para las variables de la prueba de viraje de color.

Material:

- pinzas de disección y mango de bisturí
- hojas de bisturí nuevas
- frascos de plástico
- mortero de porcelana
- micropipeta de 100-1000 microlitros (**marca "LabMate"**)
- Solución de ácido tricloroacético al 5% (**marca "productos químicos monterrey"**)
- Solución de hidróxido de amonio al 28-30% (**marca "Baker"**)
- Solución de orto-ftalaldehído al 0.55% % (**marca "CIDEX OPA", Ethicon inc, una compañía de Johnson & Johnson**).
- Solución de histamina de 10mg/ml (**marca ASAC México**).
- Solución de formaldehído al 10%
- arena fina
- tubos de plástico de 15 mililitros graduados
- tubos de vidrio
- puntas para micropipeta
- pipeta volumétrica
- papel filtro blanco

- pipetas de plástico
- agua bidestilada
- capsulas de inclusión
- portaobjetos
- cubreobjetos
- guantes de látex

Equipos:

- cromatógrafo de **gases (marca “Agilent”, modelo 7890 B)** acoplado a espectrómetro de masas (**marca “Agilent”, modelo 5977 A**) con su respectivo equipo de cómputo.
- **centrifugadora (marca “Solbast” modelo 6490)**
- **balanza analítica (marca “Chaus corp” modelo AR2140)**
- así como el equipo necesario para procesamiento histológico de tejidos para tinciones convencionales (procesador de tejidos, micrótopo, tren de tinciones y microscopio)

Método.

Se realizaron tres etapas preliminares de la investigación:

- Primera etapa: en pruebas piloto se comprobó que agregar solución orto-ftalaldehído al 0.55% al material obtenido de extracción de histamina en piel mediante el método descrito, produce reacción de color y fluorescencia apreciable de manera macroscópica.
- Segunda etapa: el Q.F.B. José Luis Domínguez realizó una curva de calibración de histamina en el equipo de cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas, utilizando una solución de histamina de 10mg/ml.

- Tercera etapa: el Q.F.B. José Luis Domínguez desarrolló un método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para cuantificar histamina del material de extracción de dicha sustancia en piel humana.

Procesamiento de las muestras.

Las muestras fueron recolectadas en el área de Anfiteatro, en donde se realizó su examen macroscópico, se obtuvo suficiente cantidad de piel para ser dividida en dos, y así una sección fuese procesada en el laboratorio de Patología para su examen histológico y la otra sección fuese procesada en el laboratorio de Química para su examen con la prueba de viraje de color y el examen bioquímico. Cada uno de los exámenes estuvo a cargo de un investigador diferente. Los datos fueron recolectados en las bitácoras correspondientes y compartidos al final de la investigación.

Examen macroscópico de las muestras.

En el área de anfiteatro, se seleccionaron los cadáveres que cumplieran con los criterios de inclusión; de los que así lo hicieran se seleccionó una lesión calificada como pre-mortem por el médico legista (Dr. Juventino Iván Miguel Hernández) y se tomó una muestra de piel del borde de la lesión, la cual fue dividida en dos secciones, ambas se etiquetaban con el mismo número consecutivo (del 1 al 30) y una distinción para señalar su carácter pre-mortem (pudiendo ser esta -A o -B, a criterio del médico legista) una era enviada al laboratorio de Patología y la otra al laboratorio de Química; del mismo cadáver era obtenida otra muestra de piel indemne del lado contralateral a la lesión y nuevamente se le dividía en dos, se les etiquetaba con el mismo número consecutivo (del 1 al 30) y se les distinguía con una etiqueta para señalar su carácter de post-mortem (-A o -B dependiendo del que fue usado para la lesión vital), una sección era enviada al

laboratorio de Patología y la otra al laboratorio de Química; de esta manera se obtenían cuatro muestras relacionadas, una pre-mortem para Patología (ejemplo: 001-A) y una pre-mortem para Química (ejemplo: 001-A), provenientes de la misma lesión; así como una post-mortem para Patología (ejemplo: 001-B) y una post-mortem para Química (ejemplo: 001-B), provenientes de la misma región de piel indemne. El médico legista registró en las hojas de recolección de datos correspondientes las características generales del cadáver y de la lesión.

Examen histológico de las muestras.

Las muestras de piel recibidas en el laboratorio de Patología fueron sometidas a procesamiento convencional de histología, y fueron evaluadas por el médico anatomopatólogo (Dr. Roberto Cuauhtémoc Mendoza Morales) quien calificó las muestras de piel como lesión pre-mortem o lesión post-mortem de acuerdo a si presentaban o no los marcadores morfológicos de infiltrado hemorrágico intersticial y/o infiltrado inflamatorio significativo, de acuerdo a lo establecido por *Gauchotte et al.* Si las muestras no cumplían con los criterios morfológicos pero mostraban alteraciones histológicas eran calificadas como Indeterminado (sin validez para la discriminación entre lesión pre-mortem y lesión post-mortem). El médico anatomopatólogo registró en las hojas de recolección de datos correspondientes las características de las muestras.

Examen por prueba de viraje de color de las muestras.

Las muestras de piel recibidas en el laboratorio de Química fueron procesadas por el médico residente de la especialidad en medicina legal (José Manuel Gómez Castro), quien realizó la extracción de histamina según una modificación del método de *Jhonson*.

Pasos de la extracción de histamina:

- 1.- Utilizando pinzas disección limpia y hoja de bisturí nueva, se elimina de la muestra todo el tejido que no corresponda a piel.
- 2.- Se corta la muestra en trozos tan pequeños como sea posible y pesa un máximo de 100 miligramos piel, cuidando que la cantidad de piel sea la misma en las dos muestras relacionadas.
- 3.- Se colocan los fragmentos en el mortero, se agregan 2 gramos de arena fina (figura 3) y se machaca el tejido durante 5 minutos hasta obtener un material lo más homogéneo posible (fragmento 4).



Figura 3.- Fragmentos de piel en mortero con arena fina para extracción de histamina.



Figura 4.- Fragmentos de piel machacados en el mortero, con arena fina.

- 4.- Agregar 10 mililitros de la solución de ácido tricloroacético 5%, al mortero con el tejido y la arena, se mezcla y se deja durante 5 minutos (figura 5), posteriormente colocar todo el material en un tubo de plástico etiquetado.



Figura 5.- Hidrolisis con ácido tricloroacético al 5%

5.- Se centrifuga a 3000 rpm por 5 minutos (figura 6), obteniéndose así un sobrenadante, correspondiente al material de extracción.

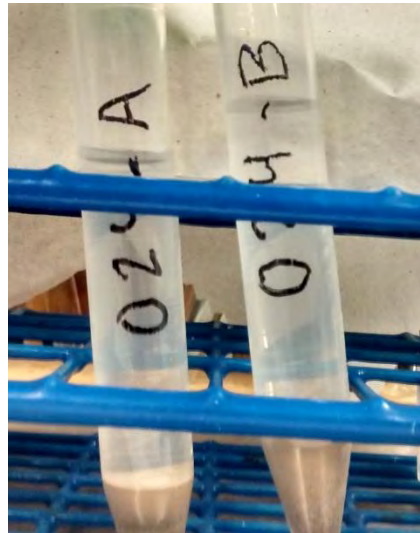


Figura 6.- Material de extracción, después del centrifugado.

El médico residente separaba entonces 2 ml del material de extracción en tubos de vidrio etiquetados, para realizar el examen bioquímico de las muestras; y entonces procedía a realizar la prueba de viraje de color en ambas muestras para así calificar a una de ellas de pre-mortem y a la otra de post-mortem.

Pasos de la prueba de viraje de color:

1.- Agregar 100 microlitros de solución de hidróxido de amonio al 28-30% al material de extracción de histamina de las dos muestras relacionadas, y mezclar gentilmente con la pipeta.

2.- En un trozo de papel filtro blanco, se colocan dos gotas de la mezcla.

3.- A la misma zona en el papel filtro se le agregan dos gotas de solución OPA.

4.- Se espera un máximo de 30 segundos y se lee el cambio de color. Se compara la existencia o ausencia de viraje de color de ambas muestras o la diferencia en intensidad del cambio de color.

Sí existe diferencia se interpreta de la siguiente manera:

- Lesión pre-mortem: aquella con viraje de color, o un viraje de color más intenso.
- Lesión post-mortem: aquella sin viraje de color, o un viraje de color más tenue.

Si no existe diferencia en la reacción de viraje de color de ambas muestras, se procede de la siguiente manera con cada una de ellas, se reserva en tres tubos de plástico por separado un mililitro del material de la extracción, etiquetándolos como tubo "1", "2" y "3" para realizar tres diluciones; al tubo "1" se le agrega un mililitro de agua destilada y se repite el ensayo desde el paso 2; si aún no existe diferencia en el viraje de color de las muestras se procede a agregar dos mililitros de agua destilada al tubo número "2" y se repite el ensayo desde el paso 2; si aún no existe diferencia en el viraje de color de las muestras se procede a agregar tres mililitros de agua destilada al tubo número "3" y se repite el ensayo desde el paso 2.

En caso de que no exista diferencia en el viraje de color de las muestras en la tercera dilución se concluye la prueba de la siguiente manera:

- Indeterminado: sin validez para la discriminación entre lesión pre-mortem y lesión post-mortem.

El investigador principal recolectó los resultados y características de cada muestra en la hoja de recolección de datos correspondiente.

Examen bioquímico de las muestras.

Los materiales de extracción de histamina (2 ml de solución) de las muestras fueron recibidas por Químico Farmacobiólogo (Q.F.B. José Luis Domínguez Rodríguez) quien les realizó extracción con alcohol-cloroformo, las llevó a sequedad con nitrógeno y las sometió a ensayo químico para cuantificación de histamina, mediante cromatografía de gases acoplado a espectroscopia de masas, según el siguiente método de ensayo químico:

Cromatógrafo de gases.

- Temperatura del inyector 270°C
- Presión: 17.6 psi
- Flujo constante.
- Columna: EVDX-5MS, 30 metros X 200 micrómetros X 0.33 micrómetros.
- Curva térmica: se inicia a 150°C durante 2 minutos, asciende 15°C por minuto hasta llegar a 250°C, permanece dos minutos.

Espectroscopio de masas.

- Solvent delay: 1 min.
- Ionización electroquímica.

El químico farmacobiólogo tomó registro e imprimió los resultados de los cromatogramas con las concentraciones de histamina de cada una de las muestras.

III. RESULTADOS.

Tablas de características generales de las muestras.

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS MUESTRAS (PARTE 1).				
NUMERO	ETIQUETA	SEXO	EDAD	CAUSA DE LA MUERTE
1	001-A	M	45-50	HxPAF CRANEO
2	001-B	M	45-50	HxPAF CRANEO
3	002-A	F	60-65	TCE
4	002-B	F	60-65	TCE
5	003-A	F	53	AMPUTACIÓN TRAUMATICA
6	003-B	F	53	AMPUTACIÓN TRAUMATICA
7	004-A	F	53	AMPUTACIÓN TRAUMATICA
8	004-B	F	53	AMPUTACIÓN TRAUMATICA
9	005-A	M	55-60	TCE
10	005-B	M	55-60	TCE
11	006-A	M	20-25	TCE
12	006-B	M	20-25	TCE
13	007-A	M	25-30	HxPAF CRANEO
14	007-B	M	25-30	HxPAF CRANEO
15	008-A	M	30-35	HxPAF CRANEO
16	008-B	M	30-35	HxPAF CRANEO
17	009-A	M	45-50	TCE
18	009-B	M	45-50	TCE
19	010-A	F	30-35	TCE + TRAUMA MULTIPLE
20	010-B	F	30-35	TCE + TRAUMA MULTIPLE
21	011-A	M	45-50	TCE
22	011-B	M	45-50	TCE
23	012-A	M	45-50	TCE
24	012-B	M	45-50	TCE
25	013-A	M	40-45	TCE
26	013-B	M	40-45	TCE
27	014-A	M	40-45	TCE
28	014-B	M	40-45	TCE
29	015-A	M	25-30	TCE
30	015-B	M	25-30	TCE

HxPAF= HERIDA POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO. TCE.= TRAUMATISMO CRANEOENCEFALICO.

Tabla 2.- Características generales de las muestras.

Continúa en la siguiente tabla.

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS MUESTRAS, continuación.				
NUMERO	ETIQUETA	SEXO	EDAD	CAUSA DE LA MUERTE
31	016-A	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
32	016-B	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
33	017-A	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
34	017-B	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
35	018-A	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
36	018-B	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
37	019-A	M	35-40	HxPAF TORAX
38	019-B	M	35-40	HxPAF TORAX
39	020-A	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
40	020-B	M	20-25	ASFIXIA POR AHORCAMIENTO
41	021-A	M	35-40	TCE + TRAUMA MULTIPLE
42	021-B	M	35-40	TCE + TRAUMA MULTIPLE
43	022-A	M	35-40	TCE + TRAUMA MULTIPLE
44	022-B	M	35-40	TCE + TRAUMA MULTIPLE
45	023-A	M	40-45	HxPAF TORAX/ABDOMEN
46	023-B	M	40-45	HxPAF TORAX/ABDOMEN
47	024-A	M	40-45	HxPAF TORAX/ABDOMEN
48	024-B	M	40-45	HxPAF TORAX/ABDOMEN
49	025-A	F	20-25	HxPAF TORAX
50	025-B	F	20-25	HxPAF TORAX
51	026-A	F	20-25	HxPAF TORAX
52	026-B	F	20-25	HxPAF TORAX
53	027-A	M	45-50	TCE
54	027-B	M	45-50	TCE
55	028-A	M	45-50	TCE
56	028-B	M	45-50	TCE
57	029-A	M	45-50	TCE
58	029-B	M	45-50	TCE
59	030-A	M	45-50	TCE
60	030-B	M	45-50	TCE

HxPAF = HERIDA POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO. TCE = TRAUMATISMO CRANEOENCEFALICO.

Tabla 3.- Características generales de las muestras.

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS MUESTRAS (PARTES 2).			
NUMERO	ETIQUETA	TIPO DE LESIÓN	REGIÓN CORPORAL
1	001-A	Hx CONTUSA	PIEL CABELLUDA (FRONTAL)
2	001-B	P.I.	PIEL CABELLUDA (FRONTAL)
3	002-A	EQUIMOSIS	ESPALDA (SUPRAESCAPULAR)
4	002-B	P.I.	ESPALDA (SUPRAESCAPULAR)
5	003-A	CONTUSIÓN COMPLEJA (AMPUTACIÓN)	DORSO DEL PIE
6	003-B	P.I.	DORSO DEL PIE
7	004-A	CONTUSIÓN COMPLEJA (AMPUTACIÓN)	DORSO DEL PIE
8	004-B	P.I.	DORSO DEL PIE
9	005-A	EXCORIACIÓN	ABDOMEN (EPIGASTRIO)
10	005-B	P.I.	ABDOMEN (EPIGASTRIO)
11	006-A	EXCORIACIÓN	PIERNA
12	006-B	P.I.	PIERNA
13	007-A	HxPAF	PIERNA
14	007-B	P.I.	PIERNA
15	008-A	HxPAF	PIEL CABELLUDA (OCCIPITAL)
16	008-B	P.I.	PIEL CABELLUDA (OCCIPITAL)
17	009-A	Hx PUNZANTE	TORAX (SUBCLAVICULAR)
18	009-B	P.I.	TORAX (SUBCLAVICULAR)
19	010-A	CONTUSIÓN SIMPLE	PIEL CABELLUDA (TEMPORAL)
20	010-B	P.I.	PIEL CABELLUDA (TEMPORAL)
21	011-A	Hx PUNZANTE	TORAX (SUBCLAVICULAR)
22	011-B	P.I.	TORAX (SUBCLAVICULAR)
23	012-A	Hx PUNZANTE	BRAZO
24	012-B	P.I.	BRAZO
25	013-A	EQUIMOSIS	MUCOSA ORAL
26	013-B	MUCOSA ORAL INDEMNE	MUCOSA ORAL
27	014-A	ZONA DE EQUIMOSIS EXORIADA	PIERNA
28	014-B	P.I.	PIERNA
29	015-A	Hx CONTUSA	CODO

Hx= HERIDA. P.I.= PIEL INDEMNE. HxPAF=HERIDA POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO

Tabla 4.- Características generales de las muestras.

Continúa en tabla siguiente:

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS MUESTRAS (PARTE 2), continuación.			
NUMERO	ETIQUETA	TIPO DE LESIÓN	REGIÓN CORPORAL
30	015-B	P.I.	CODO
31	016-A	EXCORIACIÓN	TORAX
32	016-B	P.I.	TORAX
33	017-A	EXCORIACIÓN	PELVIS (REGION ILIACA)
34	017-B	P.I.	PELVIS (REGION ILIACA)
35	018-A	EXCORIACIÓN	MUSLO
36	018-B	P.I.	MUSLO
37	019-A	EXCORIACIÓN	RODILLA
38	019-B	P.I.	RODILLA
39	020-A	APERGAMINAMIENTO (SURCO)	CUELLO
40	020-B	P.I.	CUELLO
41	021-A	Hx CONTUSA	PIERNA
42	021-B	P.I.	PIERNA
43	022-A	Hx CONTUSA	PIERNA
44	022-B	P.I.	PIERNA
45	023-A	Hx CONTUSA	MUSLO
46	023-B	P.I.	MUSLO
47	024-A	Hx CONTUSA	TORAX (PECTORAL)
48	024-B	P.I.	TORAX (PECTORAL)
49	025-A	HxPAF	HOMBRO
50	025-B	P.I.	HOMBRO
51	026-A	HxPAF	TORAX (PECTORAL)
52	026-B	P.I.	TORAX (PECTORAL)
53	027-A	EQUIMOSIS	BRAZO
54	027-B	P.I.	BRAZO
55	028-A	EQUIMOSIS	BRAZO
56	028-B	P.I.	BRAZO
57	029-A	ZONA DE EQUIMOSIS EXORIADA	PIEL CABELLUDA (TEMPORAL)
58	029-B	P.I.	PIEL CABELLUDA (TEMPORAL)
59	030-A	ZONA DE EQUIMOSIS EXORIADA	PIEL CABELLUDA (PARIETAL)
60	030-B	P.I.	PIEL CABELLUDA (PARIETAL)

Hx= HERIDA. P.I.= PIEL INDEMN. HxPAF=HERIDA POR PROYECTIL DE ARMA DE FUEGO

Tabla 5.- Características generales de las muestras.

CANTIDAD DE MUESTRA RECUPERADA							
MUESTRA	CANTIDAD	MUESTRAS	CANTIDAD	MUESTRAS	CANTIDAD	MUESTRAS	CANTIDAD
1	80 mg	16	50 mg	31	30 mg	46	50 mg
2	80 mg	17	90 mg	32	30 mg	47	48 mg
3	90 mg	18	90 mg	33	25 mg	48	48 mg
4	90 mg	19	80 mg	34	25 mg	49	53 mg
5	96 mg	20	80 mg	35	30 mg	50	53 mg
6	96 mg	21	60 mg	36	30 mg	51	50 mg
7	94 mg	22	60 mg	37	40 mg	52	50 mg
8	94 mg	23	60 mg	38	40 mg	53	20 mg
9	50 mg	24	60 mg	39	55 mg	54	20 mg
10	50 mg	25	60 mg	40	55 mg	55	20 mg
11	100 mg	26	60 mg	41	50 mg	56	20 mg
12	100 mg	27	20 mg	42	50 mg	57	12 mg
13	80 mg	28	20 mg	43	40 mg	58	12 mg
14	80 mg	29	20 mg	44	40 mg	59	12 mg
15	50 mg	30	20 mg	45	50 mg	60	12 mg

Tabla 6.- Cantidad de tejido de cada muestra.

Graficas de características generales de las muestras.

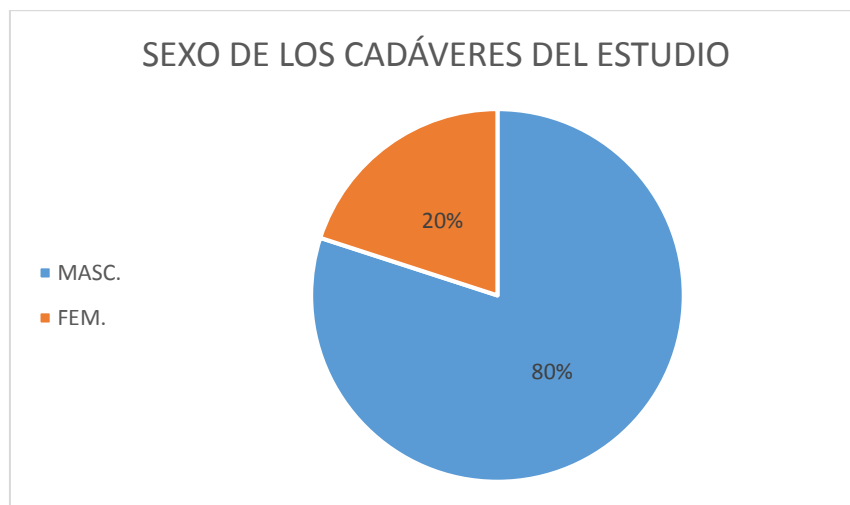


Figura 7.- de un total de 60 muestras, 48 fueron obtenidas de cadáveres del sexo masculino (80%) y 12 de cadáveres del sexo femenino (20%)

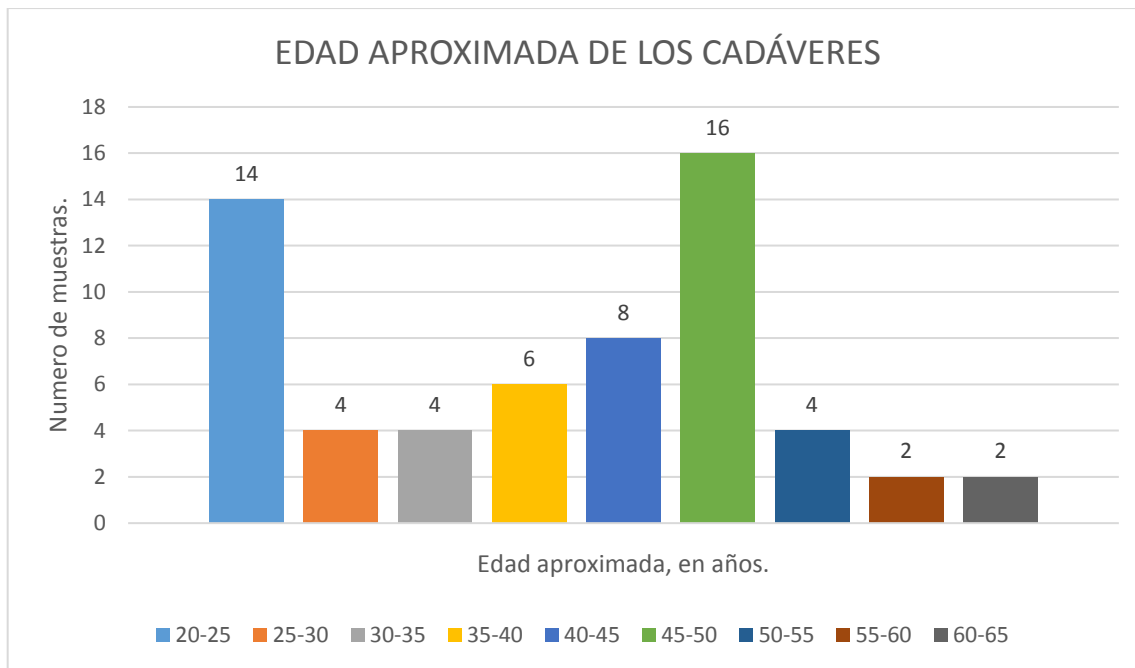
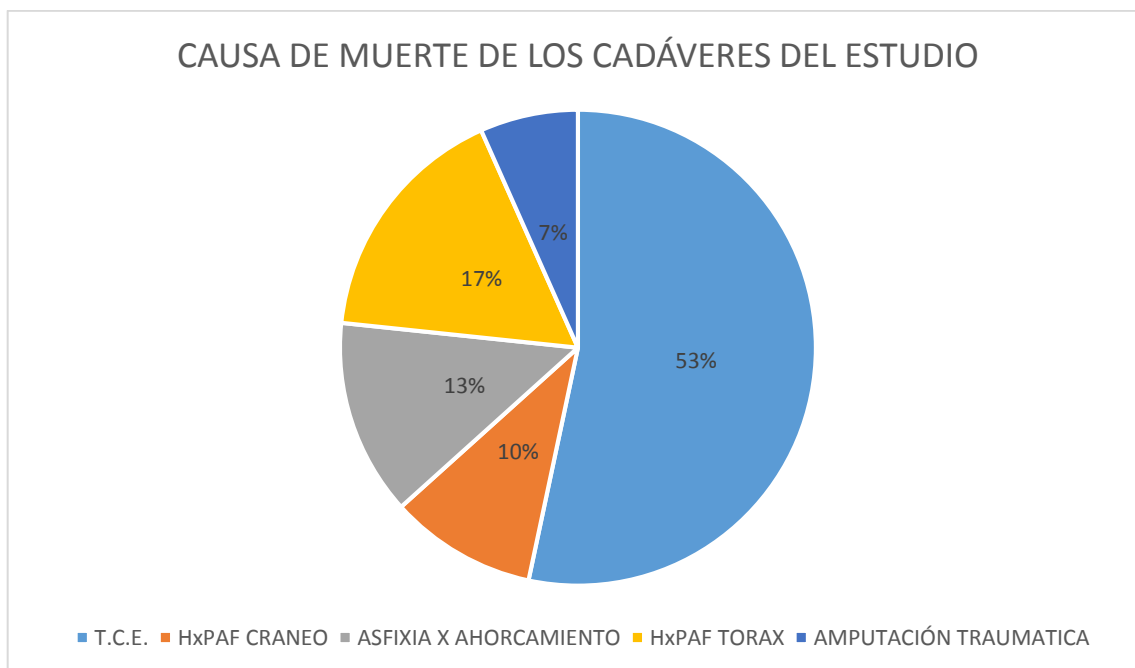


Figura 9.- Numero de muestras de acuerdo a la edad aproximada de los cadáveres de los que fueron obtenidas; de 20 a 25 años 14 (23.3%), de 25 a 30 años 4 (6.6%), de 30 a 35 años 4 (6.6%), de 35 a 40 años 6 (10%), de 40 a 45 años 8 (13.3%), de 45 a 50 años 16 (26.6%), de 50 a 55 años 4 (6.6%), de 55 a 60 años 2 (3.3%) y de 60 a 65 años 2 (3.3%).



T.C.E.= traumatismo craneo encefálico. HxPAF= herida por proyectil de arma de fuego.

Figura 9.- La causa de muerte del cadáver fue T.C.E. en 32 (53.3%) de las muestras, HxPAF de tórax en 10 (16.6%), asfixia por ahorcamiento en 8 (13.3%), HxPAF de cráneo en 6 (10%) y 4 (6.6%) muestras fueron obtenidas de una amputación traumática de miembro pélvico.

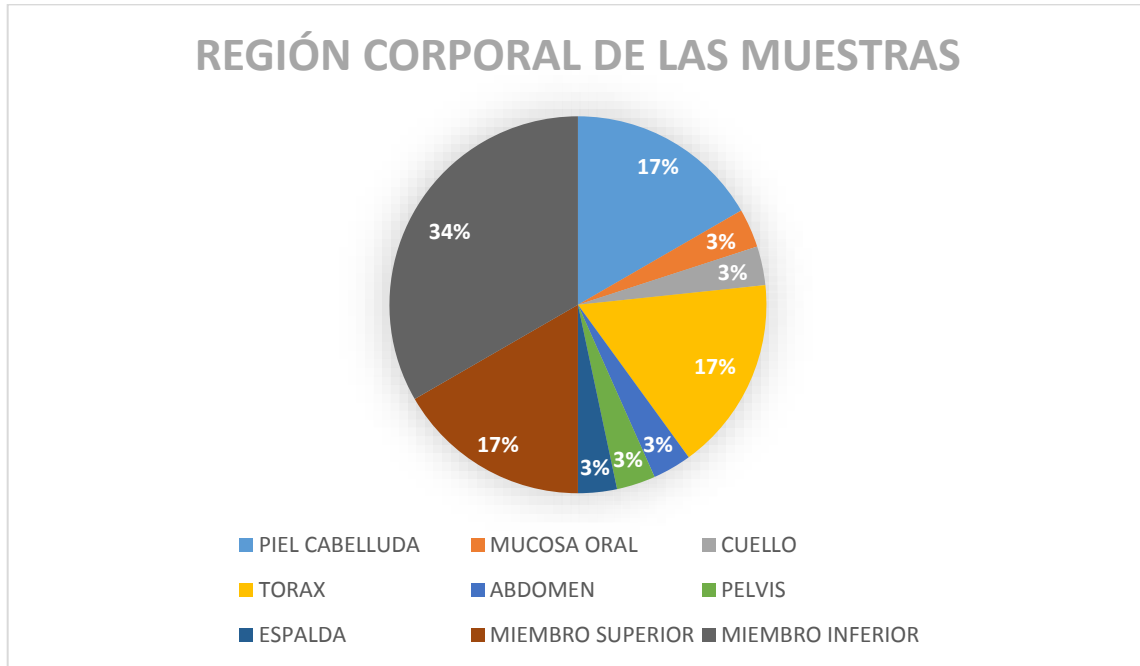


Figura 10.- Numero de muestras según la región corporal de la que fueron obtenidas; miembro inferior 20 (33.3%), piel cabelluda 10 (16.6%), miembro superior 10 (16.6%), tórax 10 (16.6%), mucosa oral 2 (3.3%), cuello 2 (3.3%), abdomen 2 (3.3%), pelvis 2 (3.3%) y espalda 2 (3.3%).

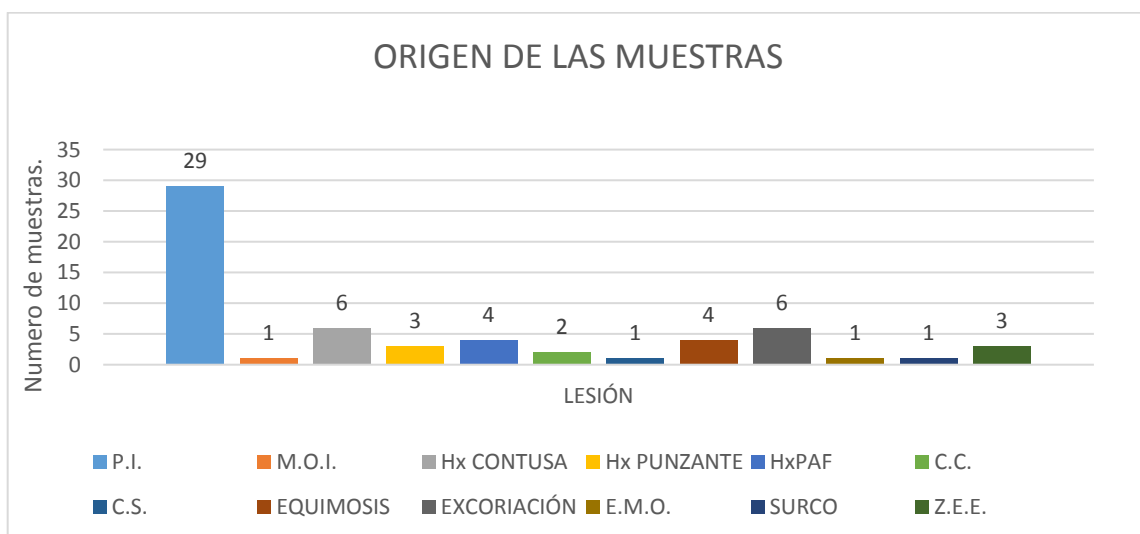


Figura 11.- P.I.= piel indemne. M.O.I.= mucosa oral indemne. Hx= herida. HxPAF= herida por proyectil de arma de fuego. C.C.=contusión compleja. C.S.=contusión simple. E.M.O.= equimosis en mucosa oral. Z.E.E.=zona de equimosis con excoriación.

Numero de muestras según el origen del que fueron obtenidas; P.I 29 (48.3%), Hx contusa 6 (10%), excoriación 6 (10%), HxPAF 4 (6.6%), equimosis 3 (5%), Hx punzante 3 (5%), Z.E.E. 3 (5%), contusión compleja 2 (3.3%), contusión simple 1 (1.6%), surco por ahorcadura 1 (1.6%), M.O.I. 1 (1.6%) y E.M.O. 1 (1.6%).

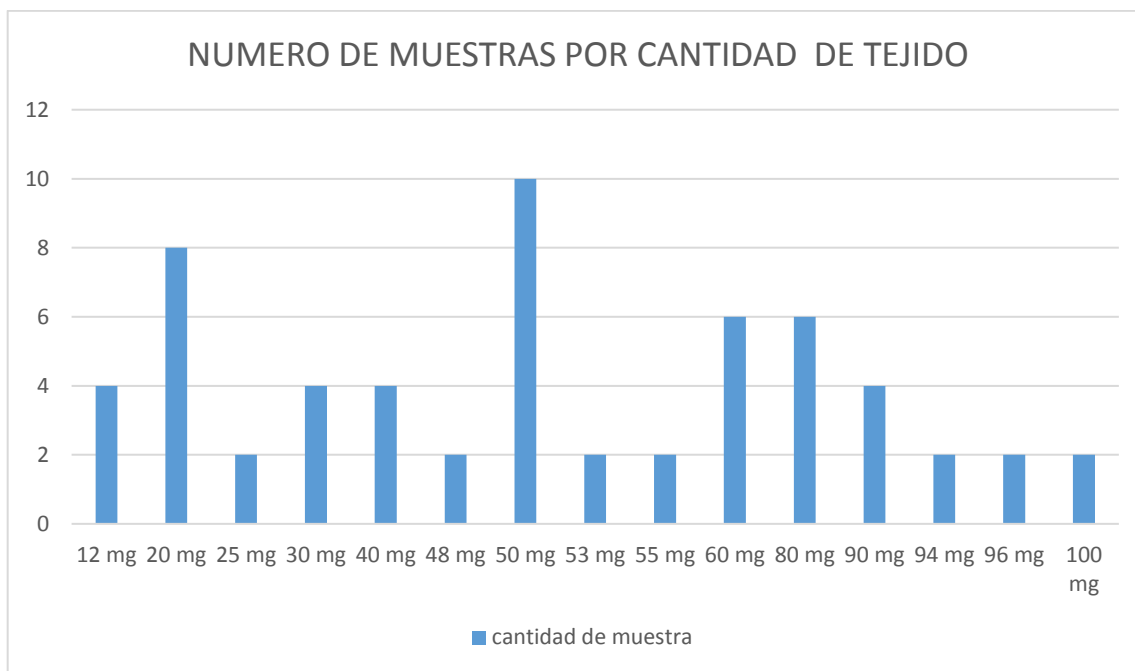


Figura 12.- La cantidad de tejido recuperado para las muestras se encuentra distribuido entre 12 y 100 mg. 10 muestras (16.6%) fueron de 50 mg, 8 muestras (13.3%) fueron de 20 mg, 6 muestras (10 %) fueron de 80 mg, 6 muestras (10%) fueron de 60 mg, 4 muestras (6.6%) fueron de 40 mg, 4 muestras (6.6%) fueron de 30 mg, 4 muestras (6.6%) fueron de 90 mg, 4 muestras (6.6%) fueron de 12 mg, 2 muestras (3.3 %) fueron de 25 mg, 2 muestras (3.3%) fueron de 53 mg, 2 muestras (3.3%) fueron de 55 mg, 2 muestras (3.3%) fueron de 94 mg, 2 muestras (3.3%) fueron de 96 mg y 2 muestras (3.3%) fueron de 100 mg.

Tablas generales de resultados de las muestras.

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS					
No.	Etiqueta	Macroscópico	Histológico	Viraje de color	Niveles de histamina (mcg/g)
1	001-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	43.6
2	001-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	48.8
3	002-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	29.6
4	002-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	36
5	003-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	19.2
6	003-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	33.9
7	004-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	34.3
8	004-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	27.9
9	005-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	25.9
10	005-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	INDETERMINADO	28.7
11	006-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	23.9
12	006-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	23.5
13	007-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	34.2
14	007-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	21.5
15	008-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	35.4
16	008-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	29.1
17	009-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	23.8
18	009-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	18.2
19	010-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	22.6
20	010-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	15.2
21	011-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	16.3
22	011-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	13.2
23	012-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	25.6
24	012-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	25.4
25	013-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	31
26	013-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	18.6
27	014-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	42.4
28	014-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	37.6
29	015-A	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	PRE-MORTEM	19.7
30	015-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	11.4

Tabla 7.- Resultados de las muestras en los diferentes exámenes realizados.
Continúa en la siguiente tabla.

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS, continuación.					
No.	Etiqueta	Macroscópico	Histológico	Viraje de color	Niveles de histamina (mcg/g)
31	016-A	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	POST-MORTEM	8.9
32	016-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	16.2
33	017-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	20.3
34	017-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	24.5
35	018-A	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	INDETERMINADO	15.3
36	018-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	INDETERMINADO	21.4
37	019-A	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	PRE-MORTEM	10.8
38	019-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	13.3
39	020-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	24.5
40	020-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	9.4
41	021-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	12.1
42	021-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	22.3
43	022-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	15.1
44	022-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	6.9
45	023-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	3.8
46	023-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	8.9
47	024-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	5.4
48	024-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	14.4
49	025-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	11.5
50	025-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	5.1
51	026-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	9.4
52	026-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	8.5
53	027-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	10
54	027-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	10.8
55	028-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	INDETERMINADO	7.7
56	028-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	INDETERMINADO	7.4
57	029-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	POST-MORTEM	15.3
58	029-B	POST-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	13.4
59	030-A	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	PRE-MORTEM	8.3
60	030-B	POST-MORTEM	POST-MORTEM	POST-MORTEM	21.5

Tabla 8.- resultados de las muestras en los diferentes exámenes realizados.

Tabla de contingencia.

		EXAMEN HISTOLOGICO		TOTAL
		PRE-MORTEM	POST-MORTEM	
PRUEBA DE VIRAJE DE COLOR.	PRE-MORTEM	19 (a)	7 (b)	26 (r)
	POST-MORTEM	6 (c)	19 (d)	25 (s)
TOTAL		25 (t)	26 (u)	51 (T)

Tabla 9.- tabla de contingencia.

Sensibilidad:

Sensibilidad= d/u $S = 19/26$ $S = 0.73$ **Sensibilidad= 73%**

Especificidad:

Especificidad= a/t $E = 19/25$ $E = 0.76$ **Especificidad= 76%**

Valor Predictivo Positivo:

Valor Predictivo Positivo= a/r $VPP = 19/26$ **Valor predictivo positivo= 0.73**

Valor Predictivo Negativo:

Valor Predictivo Negativo= d/s $VPN = 19/25$ **Valor Predictivo negativo= 0.76**

IV. DISCUSIÓN.

De los índices de validez:

- La prueba de viraje de color para discriminar lesiones vitales de lesiones post-mortem tiene una sensibilidad del 73%, lo que significa que el 73% de las lesiones que verdaderamente son vitales tendrán como resultado ser calificadas como pre-mortem en la prueba de viraje de color. Así mismo la prueba de viraje de color para discriminar lesiones vitales de lesiones post-mortem tiene una especificidad del 76%, lo que significa que el 76% de las lesiones que verdaderamente son post-mortem tendrán como resultado ser calificadas como post-mortem en la prueba de viraje de color.
- La prueba de viraje de color para discriminar lesiones vitales de lesiones post-mortem tiene un valor predictivo positivo de 0.73, lo que significa que cuando la prueba califica como pre-mortem a una muestra, el 73% de las ocasiones se trata en verdad de una lesión pre-mortem; Así mismo la prueba de viraje de color para discriminar lesiones vitales de lesiones post-mortem tiene un valor predictivo negativo de 0.76, lo que significa que cuando la prueba califica como post-mortem a una muestra, el 76% de las ocasiones se trata en verdad de una lesión post-mortem.
- Las cifras de sensibilidad y valor predictivo positivo, son iguales; de la misma manera las cifras de especificidad y valor predictivo negativo son iguales; esto es debido a las características de la prueba de viraje de color, la cual se basa en realizar una comparación entre la muestra proveniente de la lesión y la muestra proveniente de tejido indemne, lo que implica que cuando una muestra es calificada de pre-mortem la otra lo sea de post-mortem de manera automática, y viceversa; además el diseño de la investigación, que toma en consideración las muestras de manera individual a pesar de que estén

relacionadas por pares, da como resultado que las cifras sean las mismas. No obstante estos detalles no interfieren con la validez de los resultados.

De la extracción y método químico para determinar histamina:

- Todas las muestras fueron exitosas para la extracción de histamina, situación que se verifica con los resultados de cromatografía, ya que en todos los materiales de extracción se pudo cuantificar la concentración de histamina (que tuvo un rango de 3.8 a 48.8 microgramos por gramo), destacando que el 100% de los resultados se apega por márgenes muy estrechos a la concentración de histamina referida por la bibliografía.
- De acuerdo a lo expuesto anteriormente, se puede decir que la técnica de extracción y el método de ensayo químico, de los que se valió la presente investigación, son útiles en las matrices de tejido en las que fueron empleadas.

De las muestras con resultados destacados:

- Existieron un total de 23 muestras cuyos resultados fueron destacados ya que existió coincidencia entre el resultado del examen histológico y la prueba de viraje de color, además de que la concentración de histamina en la lesión vital fue significativamente mayor a la concentración de histamina de la lesión post-mortem relacionada; ellas son las muestras 7, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 26, 27, 28, 30, 39, 40, 43, 44, 49, 50, 51 y 52.
- Esto demuestra que la diferencia en la concentración de histamina entre una lesión pre-mortem y una post-mortem, se puede reflejar en los resultados de la prueba de viraje de color, los cuales además pueden ser concordantes con el examen histológico.
- De estos 23 de muestras que obtuvieron resultados destacados, 8, correspondieron a casos de herida por proyectil de arma de fuego, 4 a una herida punzante (de las utilizadas para

accesos venosos), 2 a una equimosis en la mucosa oral, 2 a una zona de equimosis con excoriación, 2 a una contusión simple (equimosis con aumento de volumen), 2 a un surco por ahorcamiento y 2 a una contusión simple (amputación traumática) y una lesión post-mortem aislada (muestra 30); sin existir predominio por alguna región corporal en particular.

- De lo anterior se destaca que todas las muestras relacionadas con casos de heridas por proyectil de arma de fuego mostraron resultados sobresalientes en la investigación (concordancia entre el resultado del examen histológico, la prueba de viraje de color y el examen bioquímico para histamina).
- Se puede recomendar el uso de la prueba de viraje de color para los casos de heridas por proyectil de arma de fuego.
- En los resultados de las muestras relacionadas 51 y 52 existe coincidencia entre lo arrojado por el examen histológico y la prueba de viraje de color, así como mayor concentración de histamina en la lesión vital que en la lesión post-mortem, sin embargo la diferencia en las concentraciones es poca (9.4 contra 8.5 mcg/g),
- En los resultados de las muestras relacionadas 11 y 12 existe coincidencia entre los resultados del examen histológico y la prueba de viraje de color, así como mayor concentración de histamina en la lesión vital que en la lesión post-mortem, no obstante la diferencia en las concentraciones es mínima (23.9 contra 23.5 mcg/g),
- Existieron en total 27 muestras, de las 51 que fueron incluidas en el análisis estadístico, en las que coincidió el examen histológico, la prueba de viraje de color y el análisis bioquímico.
- En las muestras relacionadas 29 y 30 se encontró que el examen histológico no pudo ser determinante para clasificar la lesión vital, aunque la prueba de viraje de color coincidió con el examen macroscópico de la lesión, y el examen bioquímico demostró mayor

concentración de histamina en la lesión vital que en la lesión post-mortem; situación que puede ser explicada por un mecanismo de muerte rápido o súbito que no permita la instauración de los marcadores histológicos de vitalidad pero sí un aumento en la concentración de histamina.

De las muestras con resultados satisfactorios:

- Un total de 13 muestras constituyen el resto de los resultados que fueron concordantes entre el examen histológico y la prueba de viraje de color, aunque en ellos no se pudo corroborar por medio del análisis bioquímico, ya que no la concentración de histamina fue menor en la lesión vital comparada con la lesión post-mortem.
- Los datos anteriores dejan en claro que el resultado de la prueba de viraje de color no depende únicamente de la concentración de histamina; debiendo existir alguna otra sustancia en el material de extracción que reaccione de manera similar o idéntica con el orto-ftalaldehído, y cuya concentración sea mayor en una lesión pre-mortem que en una post-mortem; muy probablemente se trata de la serotonina, la cual también es una amina biógena cuya concentración se eleva en los tejidos durante la reacción inflamatoria, pero lo hace a un ritmo diferente que la histamina.
- Estas 13 muestras cuyos resultados del examen histológico y la prueba de viraje de color concordaron, más no así el examen bioquímico, son las muestras 3 y 4, 5 y 6, 38, 41 y 42, 45 y 46, 53 y 54, y, 59 y 60; y se corresponden con 2 casos de herida contusa, 2 de equimosis, 1 de zona de equimosis con excoriación, 1 de contusión compleja (amputación traumática) y uno de piel indemne de manera aislada. Con predominio regional por el miembro pélvico (6 muestras), ubicándose el resto en espalda (2 muestras), miembro torácico (2 muestras), piel cabelluda (2 muestras) y tórax (1 muestra).

De las muestras eliminadas del análisis estadístico:

- Un total de 9 muestras fueron descartadas del proceso estadístico; debido a que obtuvieron un resultado indeterminado en la prueba de viraje de color o en el examen histológico y no pudieron ser clasificadas categóricamente como vitales o post-mortem (muestras 9, 10, 29, 31, 35, 36, 37, 55 y 56); quedando entonces un total de 51 muestras, con las que fueron realizados los cálculos estadísticos.
- De las 9 muestras eliminadas por tener algún resultado indeterminado, 6 correspondieron a excoriaciones, 2 a equimosis y 1 a herida contusa.
- De lo anterior se puede decir que es más probable que la prueba de viraje de color tenga resultados indeterminados si se aplica en una excoriación.
- En el par de muestras relacionadas 35 y 36, la prueba de viraje de color arrojó resultados indeterminados, sin embargo el examen histológico no pudo localizar los marcadores de vitalidad en la lesión pre-mortem.
- En el par de muestras relacionadas 55 y 56, la prueba de viraje de color arrojó resultados indeterminados, no obstante fue coincidente con los resultados del examen bioquímico ya que la diferencia en la concentración de histamina fue mínima (7.7 y 7.4 mcg/g)

De los falsos positivos y falsos negativos:

- 7 muestras de las 51 analizadas tuvieron un falso positivo en la prueba de viraje de color al ser comparadas con el examen histológico.
- 6 muestras de las 51 analizadas tuvieron un falso negativo en la prueba de viraje de color al ser comparadas con el examen histológico.
- Las muestras relacionadas con los falsos positivos y falsos negativos fueron 1, 2, 21, 22, 23, 24, 32, 33, 34, 57 y 58, que se corresponden a dos casos de heridas punzantes (de acceso

venosos), dos excoriaciones, una herida contusa y una zona de equimosis con excoriación; localizados dos en piel cabelluda, dos en el tórax, uno en el miembro superior y otro en pelvis (cresta iliaca).

- De lo anterior se puede decir que no existe un tipo de lesión que tenga mayor probabilidad de producir un falso positivo o un falso negativo en la prueba de viraje de color, así como tampoco hay para una región corporal en especial.
- En los resultados falsos positivos y falsos negativos; las pruebas 1, 2, 32, 33 y 34, mostraron una concentración mayor de histamina en la lesión post-mortem, lo que concuerda con el viraje de color de mayor intensidad y el resultado falso, lo que puede ser explicado por la existencia de necrosis o hemorragia significativa en el tejido, lo que de acuerdo a la bibliografía interfiere con la eficacia de la migración de células inflamatorias a la lesión.
- En los resultados falsos positivos y falsos negativos; las pruebas 21, 22, 57 y 58, la lesión pre-mortem tuvo una concentración más elevada de histamina, lo que no concuerda con el viraje de color de mayor intensidad y el resultado falso.
- En los resultados falsos positivos y falsos negativos; las pruebas 23 y 24 mostraron una diferencia mínima en las concentraciones de histamina de la lesión vital y post-mortem (25.6 y 25.4 mcg/g respectivamente), lo que no concuerda con el viraje de color de mayor intensidad y el resultado falso.
- Dichos resultados dejan en claro que en algún momento de la prueba de viraje de color, existe algo que interfiere en la formación del complejo de histamina-OPA, siendo sospechosa la arena fina utilizada para la extracción, ya que fue el único material de los empleados que no contó con un control de calidad para ser utilizado en un laboratorio.
- Se recomienda buscar un material abrasivo sustituto de la arena fina, que cuente con un grado de pureza suficiente y sea inerte, para utilizar en la extracción.

De la cantidad de tejido de las muestras.

- Las muestras con resultados en la prueba de viraje de color que se relacionan correctamente con el examen histológico con el examen bioquímico correspondieron a las siguientes cantidades de tejido (todas en mg): 100, 100, 94, 94, 90, 90, 80, 80, 80, 80, 60, 60, 55, 55, 53, 53, 50, 50, 50, 50, 40, 40, 20, 20 y 20.
- El 80 % de las muestras en esta categoría tuvieron una cantidad de tejido de 50 o más mg, mientras que solo el 25% tuvieron una cantidad igual o menor a 50 mg.
- Las muestras con resultados en la prueba de viraje de color que se relacionan correctamente con el examen histológico más no así con el examen bioquímico correspondieron a las siguientes cantidades de tejido (todas en mg): 96, 96, 90, 90, 50, 50, 50, 50, 40, 20, 20, 12 y 12.
- El 61.5% de las muestras en esta categoría tuvieron una cantidad de tejido de 50 o más mg, mientras que solo el 38.4% tuvieron una cantidad igual o menor a 50 mg.
- De lo anteriormente expuesto se puede decir que es recomendable que la muestra tenga 50 mg o más de tejido para que los resultados de la prueba de viraje de color sean se correlacionen correctamente con el examen histológico.
- Las muestras correspondientes a falsos positivos y falsos negativos correspondieron a las siguientes cantidades de tejido (todas en mg): 80, 80, 60, 60, 60, 60, 48, 48, 30, 25, 25, 12 y 12.
- El 54.5% de las muestras en esta categoría tuvieron una cantidad de tejido igual o mayor a 50 mg, mientras que el 45.4% restante tuvo una cantidad menor a 50 mg.

- De lo anterior se puede decir que la cantidad de tejido de la muestra sea mayor o menor de 50 mg, no tiene relación con la existencia de falsos positivos y falsos negativos, en la prueba de viraje de color.
- Las muestras eliminadas por resultados indeterminados correspondieron a las siguientes cantidades de tejido (todas en mg): 50, 50, 40, 30, 30, 30, 20, 20 y 20.
- El 77.7% de las muestras en esta categoría tuvieron una cantidad menor de 50 mg, mientras que solo el 22.2% restante tuvo 50 mg o más de tejido.
- De lo anteriormente expuesto se puede decir que es recomendable que las muestras tengan más de 50 mg para evitar que arrojen resultados indeterminado en la prueba de viraje de color.

V. CONCLUSIONES.

Primera.- la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem tiene una sensibilidad de 73%.

Segunda.- la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem tiene una especificidad de 76%.

Tercera.- la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem NO tiene un desempeño igual o superior al examen histológico.

Cuarta.- en este estudio preliminar, la prueba de viraje de color ha demostrado tener resultados diferentes para una lesión vital y una lesión post-mortem.

Quinta.- la técnica de extracción de histamina y el método de ensayo químico para cuantificar dicha sustancia, ambos desarrollados para esta investigación, son útiles para sus objetivos.

Sexta.- la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem es especialmente útil en caso de heridas por proyectil de arma de fuego.

Séptima.- la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem es menos recomendable para utilizarse en excoriaciones

Octava.- no existe una región corporal en la que la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem sea especialmente útil.

Novena.- es menos recomendable utilizar la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem en las extremidades inferiores.

Decima.- es recomendable utilizar como mínimo 50 mg de piel para las muestras de la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem.

Onceaba.- la prueba de viraje de color puede proporcionar un sustento objetivo a la opinión del médico legista, cuando no se cuente con los recursos o la oportunidad de realizar el examen histológico; subsanando así la falta de una prueba rápida, sencilla, barata y confiable para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem.

VI- RECOMENDACIONES.

Esta investigación, constituyó un estudio preliminar para evaluar la validez de la prueba de viraje de color para discriminar entre lesiones vitales y post-mortem; en la que se cumplieron los dos objetivos principales, primero se documentó que la prueba ofrece resultados diferentes cuando se trata de una lesión pre-mortem y una post-mortem, y en segundo lugar se obtuvieron cifras de sensibilidad y especificidad que permiten valorar la factibilidad de llevar a cabo un estudio más amplio y más elaborado para así continuar con el proceso de validación de esta nueva prueba diagnóstica de utilidad forense; sin olvidar que la prueba de viraje de color es subjetiva, al depender del observador la evaluación de los resultado, situación susceptible de sesgos, el investigador principal considera que de acuerdo a los resultados obtenidos, sí está justificado llevar a cabo un nuevo estudio, como continuación a la presente investigación, además de la estandarización de la prueba de viraje de color; Sin embargo antes de proceder es menester ampliar el examen bioquímico para incluir cuantificaciones de serotonina; así como modificar la técnica de extracción sustituyendo la arena fina con algún otro elemento abrasivo, y así mejorar los índices de validez de la prueba.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Teke A. *Medicina Legal*. 2a.ed. Chile. Mediterraneo. 2001. 51.
2. Payne-James J. Jones R. Manlove J. *Simpson's Forensic Medicine*. 13a.ed. Gran Bretaña. Hodder Arnold. 2011. 49.
3. Patitó J. Lossetti O. Guzmán C. Lesiones en general y patología forense. Lesiones vitales y post-mortem. *Tratado de medicina legal y elementos de patología forense*. Argentina. Quorum. 2003; 369-381.
4. Calabuig JA. Villanueva E. Diagnóstico diferencial entre lesiones vitales y post-mortem. *Medicina legal y toxicología*. 6ª.ed. España. Masson.; 351-359.
5. Dettmeyer R. Vitality, injury age, determination of skin wound age and fracture age. *Forensic Histopathology. Fundamentals and perspectives*. Alemania. Springer. 2011; 191-209.
6. DiMaio V. DiMaio D. Determination of Whether a wound is ante or post mortem. *Forensic Pathology*. 2a.ed. CRC. Estados Unidos. 2001; 125-126.
7. Sanchez N. *Desarrollo y validación de un método de ensayo por HPLC con detección UV para la determinación de histamina en productos derivados de la pesca*. Proyecto de graduación previo a la obtención de título. Escuela superior politécnica del litoral. Guayaquil, Ecuador. 2016.
8. McKee T. McKee J. Reacciones biosintéticas de los aminoácidos, neurotransmisores. *Bioquímica. La base molecular de la vida*. 3ª.ed. McGraw-Hill. Estados Unidos. 2003; 480-482.
9. Geneser F. *Histología*. 3ª.ed. Editorial Médica Panamericana. Dinamarca. 2000; 217,240.
10. Bonelli A. Bacci S. Vanellia G. B. Noreli G.A. Immunohistochemical localization of mast cells as a tool for the discrimination of vital and postmortem lesions. *Int J Legal Med* (2003) 117 :14–18.
11. Maeno Y. Takabe F. Mineso I, Inquie H. A study on the vital reaction in wounded skin: simultaneous determination of histamine and polyamines in injured rat skin by high-performance liquid chromatography. *Forensic Science International*, 46. 1996. 1255-268.
12. Papp A. Harma M. Harvima R. Lahtinen T. Uusaro A. Alhava E. Microdialysis for detection of dynamic changes in tissue histamine levels in experimental thermal injury. *Burns* 31 (2005) 476–481.
13. Trautmann A. Toksoy A. Engelhardt. Bocker E. Gillitzer R. Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo. *J Pathol* 2000; 190: 100-106.
14. Lorenzo P. Ladero J.M. Leza J.C. Lizasoain I. *Drogodependencias. Farmacología, patología, psicología, legislación*. Ea.ed. Editorial Medica Panamericana. España. 2009. 114,389.
15. Herbert H. Johnson Jr. Histamine levels in human skin. *A.M.A Archives of dermatology*. Vol. 76. Dec. 1957.
16. Feldberg W. Loeser A. A. Histamine content of human skin in different clinical disorders. *J. Physiol.* (1954) 126, 286-292.

17. Paraskevas D, Deda O, Karacosta T.D, themelis D.G. Selective fluorimetric method for the determination of histamine in seafood samples based on the concept of zone fluidics. *Analytica Chimica Acta* 778 (2013) 48– 53.
18. Orto- ftalaldehído (opa). por la sociedad catalana de farmacia clínica (ref. de 22 de octubre de 2016) disponible en web:
<http://www.scfarmclin.org/docs/higiene/part4/43310.pdf>.
19. Buteau C, Duitschaever C. Stability of the o-phthalaldehyde-histamine complex. *Journal of Chromatography*, 212 (1981) 23-27.
20. Chen Zhong F, Jia Zhen Z. Localization and quantification of histamine in injured skin as parameters for the timing of wounds. *Forensic Science international*, 57 (1991) 163- 171.
21. Carnero-Pardo C. Evaluación de las pruebas diagnósticas. *Rev Neurol* 2005; 40 (11): 641-643
22. Gauchotte G, Wissler M J, Casse J M, et al. FVIIIra, CD15, and tryptase performance in the diagnosis of skin stab wound vitality in forensic pathology. *Int J Legal Med* (2013) 127:957–965

ANEXO 1.

RESULTADOS INDIVIDUALES DE CADA MUESTRA.

Muestra 1.- Etiqueta: 001-A. Origen de la muestra: herida contusa con zona equimótica rojo violácea. Región corporal: frontal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-55 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color: más tenue en diluciones 1,2 y 3, post-mortem. Concentración de histamina: 43.6 microgramos/gramo de piel.

Muestra 2.- Etiqueta: 001-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: frontal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-55 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color más intenso en diluciones 1,2 y 3, pre-mortem. Concentración de histamina: 48.8 microgramos/gramo de piel.



Figura 1.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 1 y 2.

Muestra 3.- Etiqueta: 002-A. Origen de la muestra: equimosis violácea con apergaminamiento en región central. Región corporal: supraescapular. Género: masculino. Edad aproximada: 60-65 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 90

mg. Viraje de color más intenso en diluciones 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 29.6 microgramos/gramo de piel.

Muestra 4.- Etiqueta: 002-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: supraescapular. Género: masculino. Edad aproximada: 60-65 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 90 mg. Viraje de color más tenue en diluciones 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 36.0 microgramos/gramo de piel.

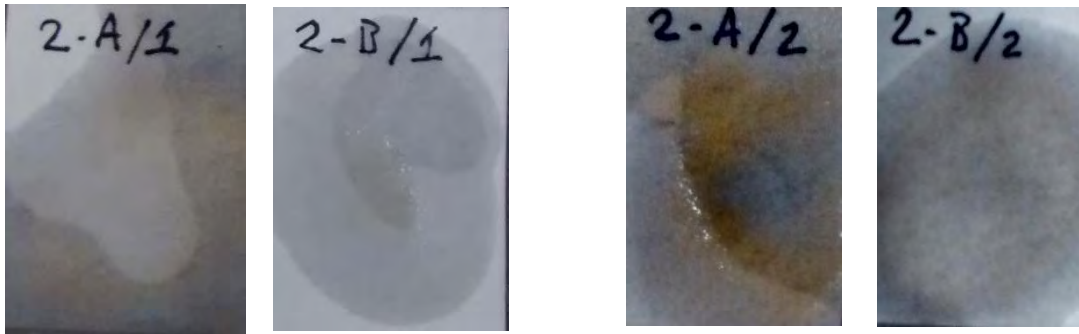


Figura 2.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 3 y 4.

Muestra 5.- Etiqueta: 003-A. Origen de la muestra: herida de bordes lineales con equimosis violácea tenue circundante. Región corporal: dorso del pie, lateral al eje del miembro. Género: femenino. Edad aproximada: 53 años. Causa de muerte: amputación traumática. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 96 mg. Viraje de color: viraje de color más intenso sin dilución, sin viraje de **color en dilución "1", pre-mortem**. Concentración de histamina: 19.2 microgramos/gramo de piel.

Muestra 6.- Etiqueta: 003-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: dorso del pie lateral al eje del miembro. Género: femenino. Edad aproximada: 53 años. Causa de muerte: amputación traumática. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad

de muestra: 96 mg. Viraje de color: viraje de color más tenue sin dilución, sin viraje de color en dilución "1", post-mortem. Concentración de histamina: 33.9 microgramos/gramo de piel.

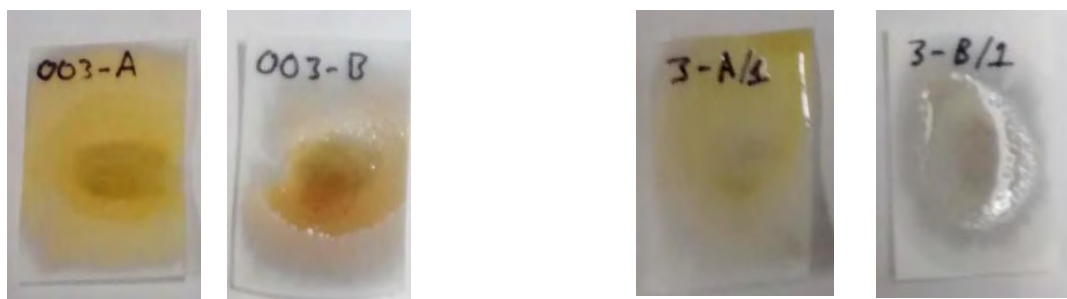


Figura 3.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 5 y 6.

Muestra 7.- Etiqueta: 004-A. Origen de la muestra: herida de bordes lineales con equimosis violácea tenue circundante. Región corporal: dorso de pie, medial al eje del miembro. Género: femenino. Edad aproximada: 53 años. Causa de muerte: amputación traumática. Histológico: pérdida de arquitectura en dermis reticular, marginación de PMN, infiltrado hemorrágico, pre-mortem. Cantidad de muestra: 94 mg. Viraje de color: viraje de color más intenso sin dilución, dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 34.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 8.- Etiqueta: 004-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: dorso de pie, medial al eje del miembro. Género: femenino. Edad aproximada: 53 años. Causa de muerte: amputación traumática. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 94 mg. Viraje de color: viraje de color más tenue sin dilución, dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 27.9 microgramos/gramo de piel.

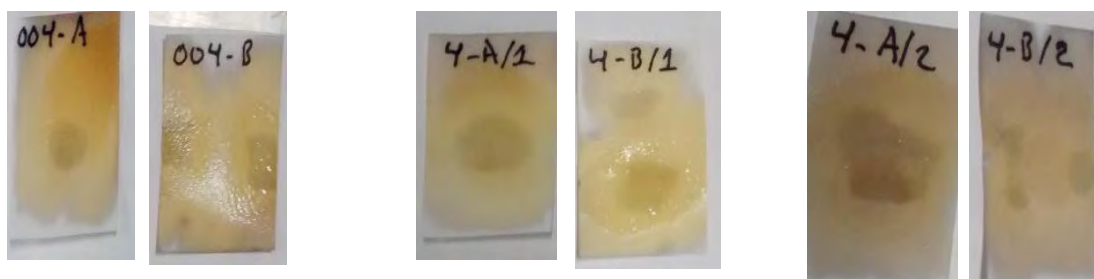


Figura 4.-Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 7 y 8.

Muestra 9.- Etiqueta: 005-A. Origen de la muestra: excoriación seca con equimosis roja tenue circundante. Región corporal: epigastrio. Género: masculino. Edad aproximada: 55-60 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico. Histológico: pérdida de epidermis, fibras de colágeno densas en dermis reticular, lesión en proceso de reparación, pre-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 25.9 microgramos/gramo de piel.

Muestra 10.- Etiqueta: 005-B. Origen de la muestra: piel indemne (alrededor de la lesión). Región corporal: epigastrio. Género: masculino. Edad aproximada: 55-60 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 28.7 microgramos/gramo de piel.

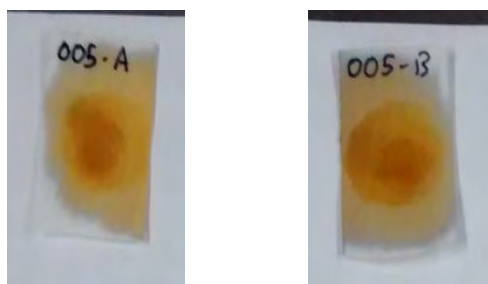


Figura 5.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 9 y 10.

Muestra 11.- Etiqueta: 006-A. Origen de la muestra: excoriación con costra húmeda con equimosis roja tenue circundante. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico. Histológico: tejido de granulación, infiltrado inflamatorio, lesión en proceso de reparación, pre-mortem. Cantidad de muestra: 100 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 23.9 microgramos/gramo de piel.

Muestra 12.- Etiqueta: 006-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico.

Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 100 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 23.5 microgramos/gramo de piel.

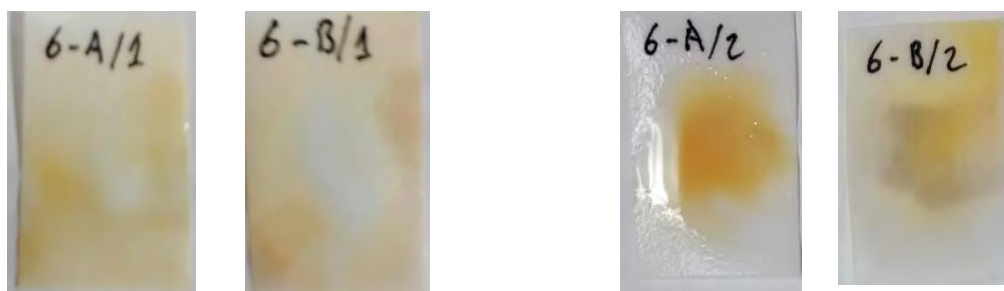


Figura 6.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 11 y 12.

Muestra 13.- Etiqueta: 007-A. Origen de la muestra: herida de entrada por proyectil de arma de fuego. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio perivascular focalizado, pre-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 34.2 microgramos/gramo de piel.

Muestra 14.- Etiqueta: 007-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 2, post-mortem. Concentración de histamina: 21.5 microgramos/gramo de piel.



Figura 7.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 13 y 14.

Muestra 15.- Etiqueta: 008-A. Origen de la muestra: herida de entrada por proyectil de arma de fuego. Región corporal: occipital (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio alrededor de los anexos focalizado, pre-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 35.4 microgramos/gramo de piel.

Muestra 16.- Etiqueta: 008-B. Origen de la muestra: piel cabelluda indemne. Región corporal: occipital (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de cráneo. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 29.1 microgramos/gramo de piel.

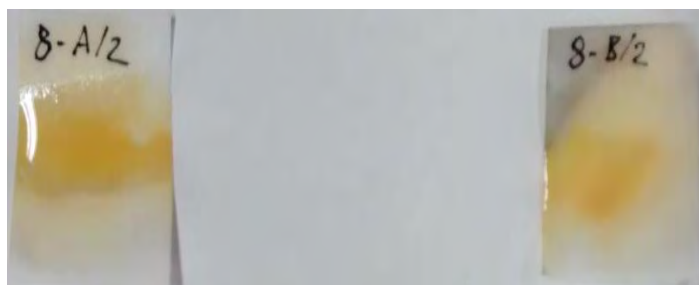


Figura 8.-Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 15 y 16.

Muestra 17.- Etiqueta: 009-A. Origen de la muestra: herida punzante con equimosis violácea circundante (acceso venoso central). Región corporal: tórax (subclavicular). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico focalizado, infiltrado inflamatorio en dermis papilar, pre-mortem. Cantidad de muestra: 90 mg. Viraje de color: con viraje de color sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 23.8 microgramos/gramo de piel.

Muestra 18.- Etiqueta: 009-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: tórax (subclavicular). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 90 mg. Viraje de color: sin viraje de color sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 18.2.8 microgramos/gramo de piel.

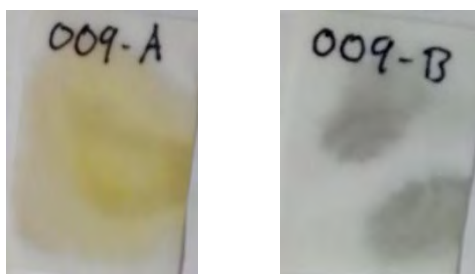


Figura 9.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 17 y 18.

Muestra 19.- Etiqueta: 010-A. Origen de la muestra: contusión simple, con aumento de volumen y equimosis rojiza. Región corporal: temporal. Género: femenino. Edad aproximada: 30-35 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico, fractura de piso de cráneo. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio focalizado, pre-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 22.6 microgramos/gramo de piel.

Muestra 20.- Etiqueta: 010-B. Origen de la muestra: piel cabelluda indemne. Región corporal: temporal. Género: femenino. Edad aproximada: 30-35 años. Causa de muerte: Traumatismo craneoencefálico, fractura de piso de cráneo. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 80 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 2, post-mortem. Concentración de histamina: 15.2 microgramos/gramo de piel.

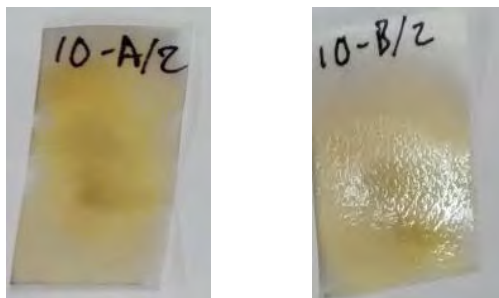


Figura 10.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 19 y 20.

Muestra 21.- Etiqueta: 011-A. Origen de la muestra: herida punzante con equimosis violácea circundante (acceso venoso central). Región corporal: tórax (subclavicular). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico, infiltrado inflamatorio en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 16.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 22.- Etiqueta: 011-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: tórax (subclavicular). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 13.2 microgramos/gramo de piel.

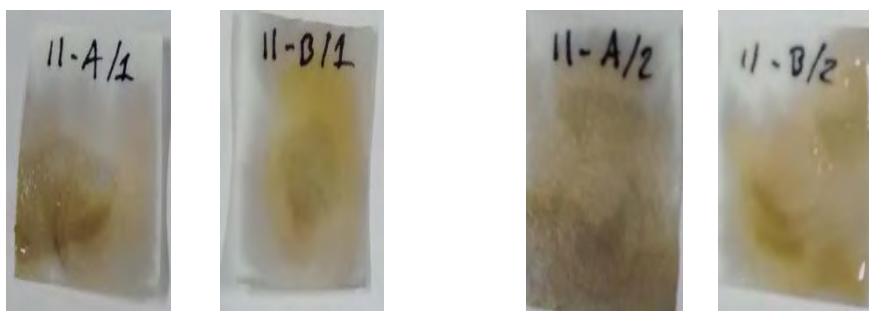


Figura 11.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 21 y 22.

Muestra 23.- Etiqueta: 012-A. Origen de la muestra: herida punzante con equimosis violácea circundante (acceso venoso periférico). Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio en dermis papilar y reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 3, post-mortem. Concentración de histamina: 25.6 microgramos/gramo de piel.

Muestra 24.- Etiqueta: 012-B. Origen de la muestra: piel indemne (circundante de la lesión). Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: escasos polimorfonucleares en dermis papilar, post-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 3, pre-mortem. Concentración de histamina: 25.4 microgramos/gramo de piel.

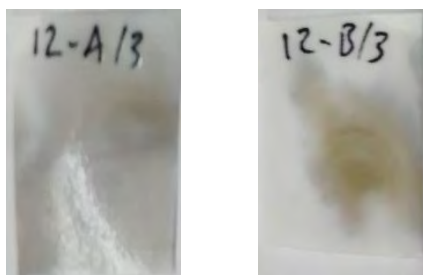


Figura 12.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 23 y 24.

Muestra 25.- Etiqueta: 013-A. Origen de la muestra: equimosis violácea en mucosa oral. Región corporal: mucosa de labio inferior. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de

muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en estroma infiltrado inflamatorio pericapilar, pre-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución, con viraje en dilución 1, pre-mortem. Concentración de histamina: 31.0 microgramos/gramo de piel.

Muestra 26.- Etiqueta: 013-B. Origen de la muestra: mucosa oral indemne. Región corporal: mucosa de labio inferior. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 60 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, sin viraje en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 18.6 microgramos/gramo de piel.

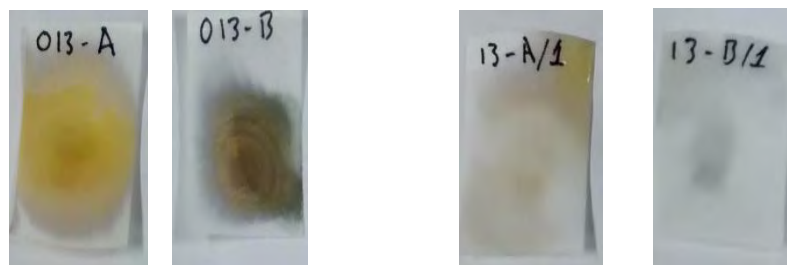


Figura 13.-Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 25 y 26.

Muestra 27.- Etiqueta: 014-A. Origen de la muestra: zona equimotico excoriada de color rojizo. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: con viraje sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 42.4 microgramos/gramo de piel.

Muestra 28.- Etiqueta: 014-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg.

Viraje de color: sin viraje sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 37.6 microgramos/gramo de piel.

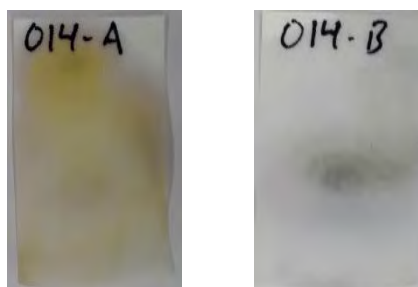


Figura 14.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 27 y 28.

Muestra 29.- Etiqueta: 015-A. Origen de la muestra: herida contusa sin equimosis circundante. Región corporal: codo. Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: congestión capilar, infiltrado inflamatorio pericapilar focal, indeterminado. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 19.7 microgramos/gramo de piel.

Muestra 30.- Etiqueta: 015-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: codo. Género: masculino. Edad aproximada: 25-30 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico. Sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 11.4 microgramos/gramo de piel.

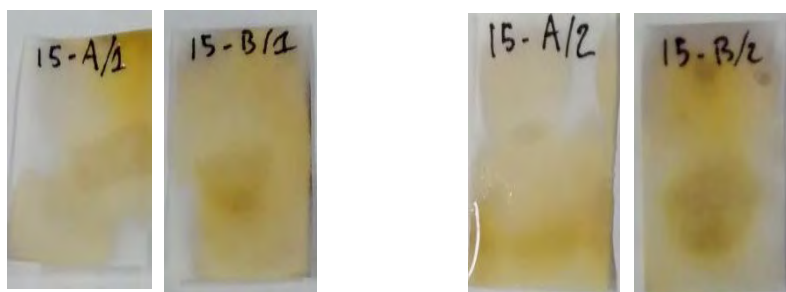


Figura 15.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 29 y 30.

Muestra 31.- Etiqueta: 016-A. Origen de la muestra: excoriación. Región corporal: tórax. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: pérdida de epidermis, congestión capilar leve, indeterminado. Cantidad de muestra: 30 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 8.9 microgramos/gramo de piel.

Muestra 32.- Etiqueta: 016-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: tórax. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 30 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 16.2 microgramos/gramo de piel.

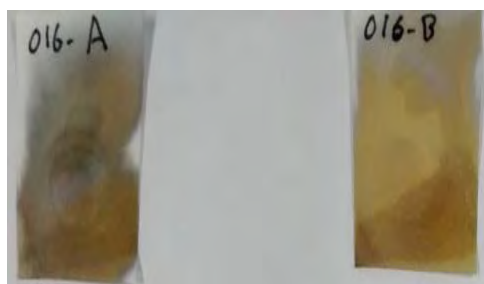


Figura 16.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 31 y 32.

Muestra 33.- Etiqueta: 017-A. Origen de la muestra: excoriación. Región corporal: iliaca. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: pérdida de epidermis, infiltrado inflamatorio pericapilar de polimorfonucleares y linfocitos, pre-mortem. Cantidad de muestra: 25 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 20.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 34.- Etiqueta: 017-b. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: iliaca. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 25 mg. Viraje de color:

más intenso sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 24.5 microgramos/gramo de piel.

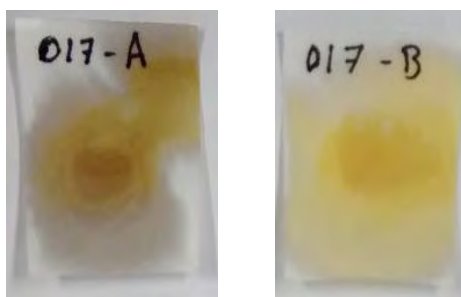


Figura 17.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 33 y 34.

Muestra 35.- Etiqueta: 018-A. Origen de la muestra: excoriación. Región corporal: muslo. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: pérdida de epidermis, congestión capilar, indeterminado. Cantidad de muestra: 30 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 15.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 36.- Etiqueta: 018-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: muslo. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 30 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 21.4 microgramos/gramo de piel.

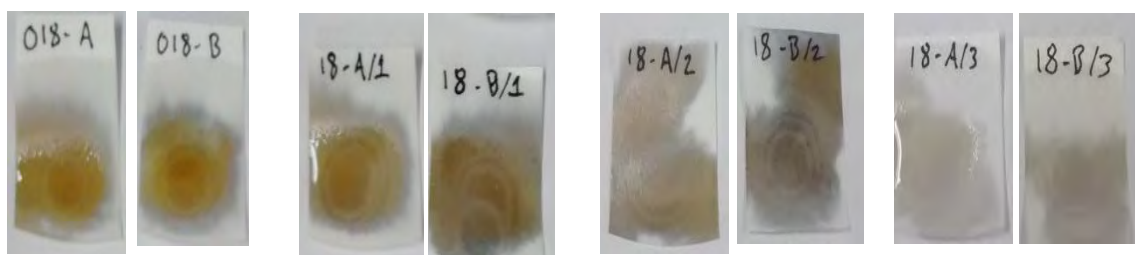


Figura 18.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 35 y 36.

Muestra 37.- Etiqueta: 019-A. Origen de la muestra: excoriación. Región corporal: rodilla. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: congestión vascular de dermis papilar, indeterminado. Cantidad

de muestra: 40 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 10.8 microgramos/gramo de piel.

Muestra 38.- Etiqueta: 019-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: rodilla. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 40 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 2, post-mortem. Concentración de histamina: 13.3 microgramos/gramo de piel.

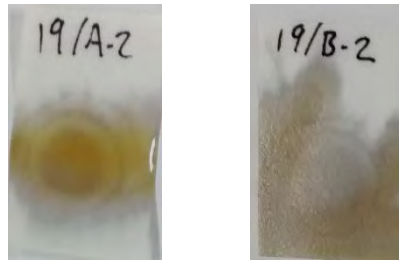


Figura 19.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 37 y 38.

Muestra 39.- Etiqueta: 020-A. Origen de la muestra: surco duro (zona de apergaminamiento). Región corporal: cuello. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: infiltrado hemorrágico, congestión vascular de dermis papilar, pre-mortem. Cantidad de muestra: 55 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución, con viraje de color en dilución 1, pre-mortem. Concentración de histamina: 24.5 microgramos/gramo de piel.

Muestra 40.- Etiqueta: 020-B. Origen de la muestra: piel indemne (cercana a la lesión). Región corporal: cuello. Género: masculino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: asfixia por ahorcamiento. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 55 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, sin viraje de color en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 9.4 microgramos/gramo de piel.

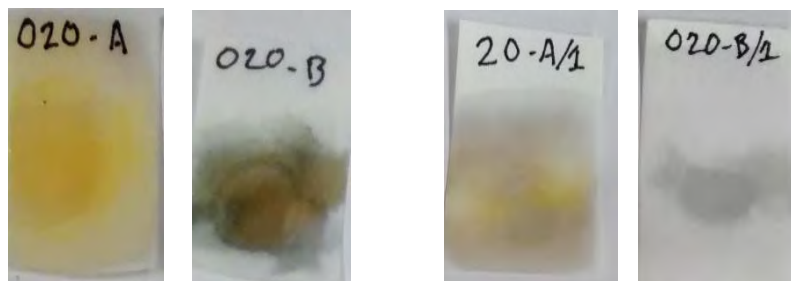


Figura 20.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 39 y 40.

Muestra 41.- Etiqueta: 021-A. Origen de la muestra: herida contusa con equimosis roja. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico (conjunto de traumatismos). Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis papilar y reticular, infiltrado inflamatorio pericapilar, pre-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 12.1 microgramos/gramo de piel.

Muestra 42.- Etiqueta: 021-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico (conjunto de traumatismos) Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 22.3 microgramos/gramo de piel.

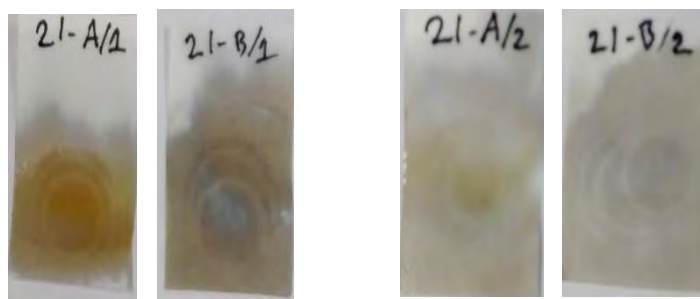


Figura 21.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 41 y 42.

Muestra 43.- Etiqueta: 022-A. Origen de la muestra: herida contusa con equimosis roja. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: traumatismo

craneoencefálico (conjunto de traumatismos). Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio pericapilar, destrucción de fibras de colágeno, pre-mortem. Cantidad de muestra: 40 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 15.1 microgramos/gramo de piel.

Muestra 44.- Etiqueta: 022-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: pierna. Género: masculino. Edad aproximada: 35-40 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico (conjunto de traumatismos). Histológico: infiltrado inflamatorio pericapilar muy focalizado, post-mortem. Cantidad de muestra: 40 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 6.9 microgramos/gramo de piel.

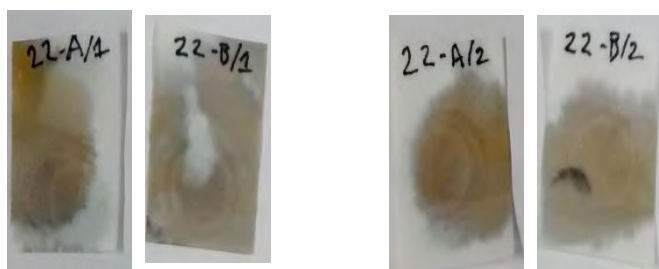


Figura 22.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 43 y 43.

Muestra 45.- Etiqueta: 023-A. Origen de la muestra: herida contusa con equimosis violácea. Región corporal: muslo. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax y abdomen. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis papilar y reticular, infiltrado inflamatorio pericapilar y en fibras de colágeno, pre-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución y en dilución 1, pre-mortem. Concentración de histamina: 3.8 microgramos/gramo de piel.

Muestra 46.- Etiqueta: 023-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: muslo. Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax y abdomen. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem.

Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución y en dilución 1, pre-mortem.
Concentración de histamina: 8.9 microgramos/gramo de piel.

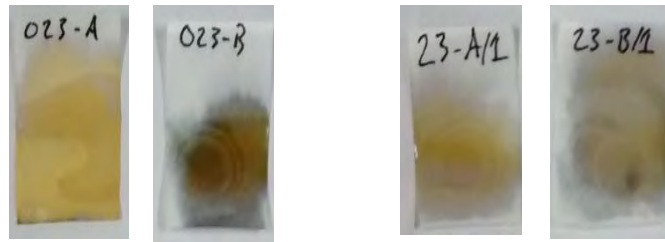


Figura 23.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 45 y 46.

Muestra 47.- Etiqueta: 024-A. Origen de la muestra: herida contusa con equimosis violácea. Región corporal: tórax (pectoral). Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax y abdomen. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio pericapilar focal, edema en dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 48 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución y en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 5.4 microgramos/gramo de piel.

Muestra 48.- Etiqueta: 024-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: tórax (pectoral). Género: masculino. Edad aproximada: 40-45 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax y abdomen. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 48 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución y en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 14.4 microgramos/gramo de piel.

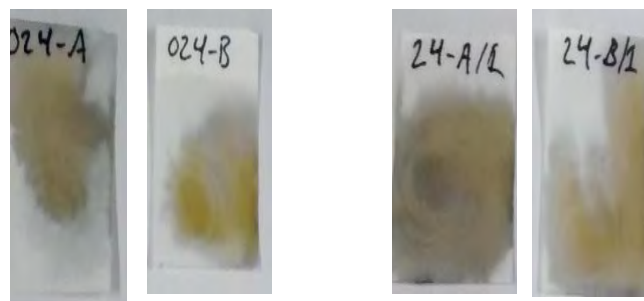


Figura 24.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 47 y 48.

Muestra 49.- Etiqueta: 025-A. Origen de la muestra: herida de entrada por proyectil de arma de fuego. Región corporal: hombro. Género: femenino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: infiltrado hemorrágico focal, necrosis coagulativa de dermis, fragmentos de pólvora, pre-mortem. Cantidad de muestra: 53 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución, pre-mortem. Concentración de histamina: 11.5 microgramos/gramo de piel.

Muestra 50.- Etiqueta: 025-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: hombro. Género: femenino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 53 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución, post-mortem. Concentración de histamina: 5.1 microgramos/gramo de piel.

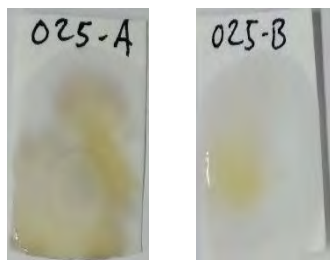


Figura 25.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 49 y 50.

Muestra 51.- Etiqueta: 026-A. Origen de la muestra: herida de entrada por proyectil de arma de fuego. Región corporal: tórax (pectoral). Género: femenino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: infiltrado hemorrágico focal, infiltrado inflamatorio focal, necrosis coagulativa de dermis, destrucción de fibras de colágeno, pre-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 2 y 3, pre-mortem. Concentración de histamina: 9.4 microgramos/gramo de piel.

Muestra 52.- Etiqueta: 026-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: tórax (pectoral). Género: femenino. Edad aproximada: 20-25 años. Causa de muerte: herida por proyectil de arma de fuego penetrante de tórax. Histológico: sin cambios histopatológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 50 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 2 y 3, post-mortem. Concentración de histamina: 8.5 microgramos/gramo de piel.

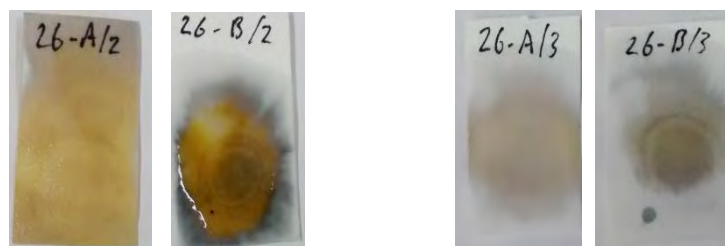


Figura 26.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 51 y 52.

Muestra 53.- Etiqueta: 027-A. Origen de la muestra: equimosis violácea. Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis reticular, infiltrado inflamatorio pericapilar, congestión capilar, pre-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución y en dilución 1, pre-mortem. Concentración de histamina: 10.0 microgramos/gramo de piel.

Muestra 54.- Etiqueta: 027-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución y en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 10.8 microgramos/gramo de piel.

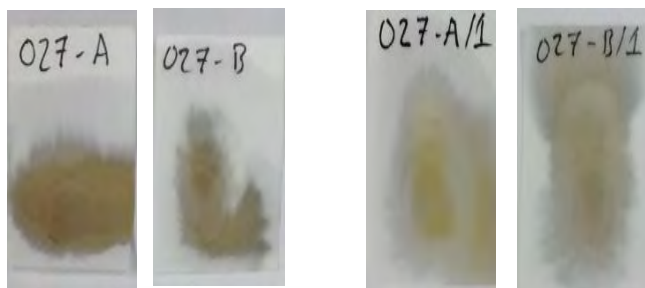


Figura 27.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 53 y 54.

Muestra 55.- Etiqueta: 028-A. Origen de la muestra: equimosis violácea. Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico en dermis papilar, infiltrado inflamatorio, edema de dermis reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 7.7 microgramos/gramo de piel.

Muestra 56.- Etiqueta: 028-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: brazo. Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: sin cambios histológicos significativos, post-mortem. Cantidad de muestra: 20 mg. Viraje de color: indeterminado. Concentración de histamina: 7.4 microgramos/gramo de piel.

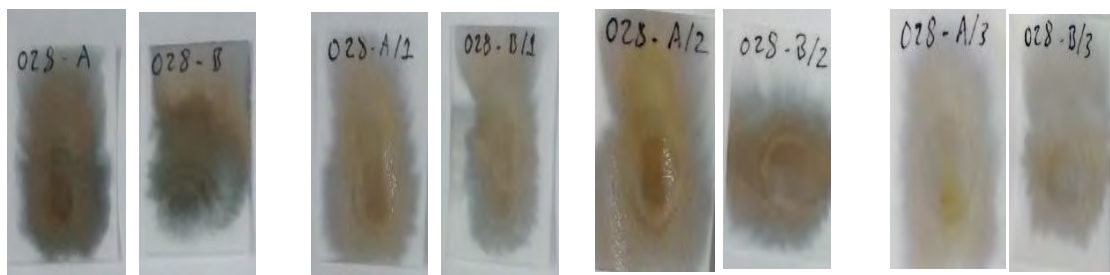


Figura 28.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 55 y 56.

Muestra 57.- Etiqueta: 029-A. Origen de la muestra: zona equimotico excoriada de color rojo violácea. Región corporal: temporal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico, infiltrado inflamatorio pericapilar y alrededor de los anexos, perdida de epidermis, edema de dermis

reticular, pre-mortem. Cantidad de muestra: 12 mg. Viraje de color: más tenue sin dilución y en dilución 1, post-mortem. Concentración de histamina: 15.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 58.- Etiqueta: 029-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: temporal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado inflamatorio, pre-mortem. Cantidad de muestra: 12 mg. Viraje de color: más intenso sin dilución y en dilución 1, pre-mortem. Concentración de histamina: 13.4 microgramos/gramo de piel.

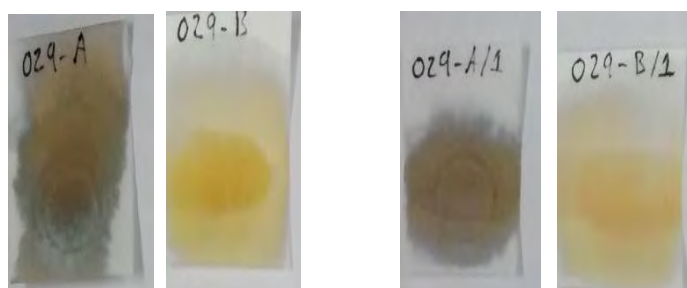


Figura 29.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 57 y 58.

Muestra 59.- Etiqueta: 030-A. Origen de la muestra: zona equimotico excoriada de color rojo violácea. Región corporal: parietal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: infiltrado hemorrágico focal, infiltrado inflamatorio focal, congestión capilar de la dermis, pre-mortem. Cantidad de muestra: 12 mg. Viraje de color: más intenso en dilución 1 y 2, pre-mortem. Concentración de histamina: 8.3 microgramos/gramo de piel.

Muestra 60.- Etiqueta: 030-B. Origen de la muestra: piel indemne. Región corporal: parietal (piel cabelluda). Género: masculino. Edad aproximada: 45-50 años. Causa de muerte: traumatismo craneoencefálico. Histológico: congestión vascular, post-mortem. Cantidad de muestra: 12 mg. Viraje de color: más tenue en dilución 1 y 2, post-mortem. Concentración de histamina: 21.5 microgramos/gramo de piel.

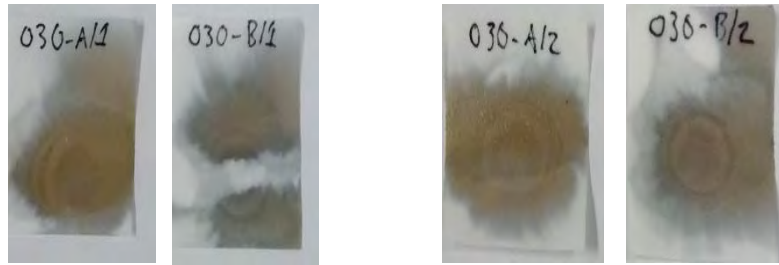


Figura 30.- Principales imágenes de la prueba de viraje de color de muestras 59 y 60.