



Praca pogładowa  
Review article

Marta Rorat<sup>1</sup>, Tomasz Jurek<sup>1</sup>, Krzysztof Simon<sup>2</sup>

## Diagnostyka pośmiertna w przypadkach sepsy. Część II. Badania biochemiczne i morfologiczne Post-mortem diagnostics in cases of sepsis. Part 2. Biochemical and morphological examinations

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

<sup>2</sup>Zakład Chorób Zakaźnych i Hepatologii Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

<sup>1</sup>Chair and Department of Forensic Medicine, Wrocław Medical University, Poland

<sup>2</sup>Department of Infectious Diseases and Hepatology, Wrocław Medical University, Poland

### Streszczenie

Współczesna pośmiertna diagnostyka sepsy pozwala na uzyskanie wielu przydatnych z punktu widzenia medycyny sądowej dowodów weryfikujących przyczynę zgonu. Liczne doniesienia wskazują na przydatność oznaczeń wskaźników stanu zapalnego stosowanych w medycynie klinicznej, głównie białka C-reaktywnego i prokalcytoniny. Podczas sądowo-lekarskiej sekcji zwłok niezbędne staje się wnikliwe poszukiwanie objawów chorobowych i ognisk zapalnych podczas oględzin zewnętrznych i wewnętrznych. Mimo że brak jest patognomicznych dla sepsy zmian w badaniu histopatologicznym, stanowi ono nieodzowny element diagnostyki pośmiertnej. Interpretacja uzyskanych danych i ustalenie przyczyny zgonu wymaga jednoczesnej oceny okoliczności śmierci, objawów klinicznych, wyników badań mikrobiologicznych, badań biochemicznych, ustaleń sekcyjnych i wyników badań histopatologicznych.

**Słowa kluczowe:** błąd opiniodawczy, zakażenie inwazyjne, mediatory zapalne, badanie mikroskopowe.

### Abstract

Contemporary post-mortem diagnostics of sepsis makes it possible to obtain multiple evidence verifying the cause of death which is valuable for forensic medicine. There are a number of reports indicating the usefulness of tests of inflammatory markers (chiefly C-reactive protein and procalcitonin) that are employed in clinical medicine. During medico-legal autopsy, it becomes necessary to perform a careful search of pathological symptoms and inflammatory foci – both during external and internal examinations. Although sepsis lacks pathognomic lesions that can be identified by histopathological examination, it represents an intrinsic element of post-mortem diagnostics. In order to be able to interpret the findings and establish the cause of death, the evaluation must concurrently take into account the circumstances of death, clinical symptoms, results of microbiological and biochemical tests, autopsy findings and histopathological examination results.

**Key words:** error in medico-legal opinion, invasive infection, inflammatory mediators, microscopic examination.

## Wprowadzenie

Standardem postępowania w przypadkach zgonów związanych z sepsą, oprócz diagnostyki mikrobiologicznej, są badania histopatologiczne. Poza weryfikacją przyczyny zgonu służą one wykluczeniu lub potwierdzeniu występowania chorób towarzyszących, które mogą imitować lub maskować sepsę. Z tych samych powodów zasadne jest przeprowadzenie nieukierunkowanego badania toksykologicznego. Powszechnie wiadomo, że samo badanie patomorfologiczne, poza szczególnymi sytuacjami ewidentnych zmian zapalnych czy martwiczych w tkankach (choć i tu należy brać pod uwagę zakażenie miejscowe), nie jest ani czułe, ani swoiste w rozpoznawaniu sepsy [1]. Z uwagi jednak na dużą aktywność cytokinową oraz pobudzenie immunologiczne, możliwe jest stwierdzenie nacieków z komórek zapalnych w różnych tkankach i narządach, co w zestawieniu z pozostałymi uzyskanymi danymi medycznymi może ułatwić rozpoznanie sepsy. Dodatkowym, w Polsce niestosowanym rutynowo w medycynie sądowej, a wykorzystywanym w praktyce klinicznej, narzędziem diagnostycznym w przypadkach zgonów infekcyjnych jest ocena wskaźników stanu zapalnego, takich jak białko C-reaktywne (CRP) i prokalcytonina (PCT). Prawidłowo przeprowadzone dochodzenie medyczno-sądowe, obejmujące analizę historii choroby i okoliczności śmierci, dokładne oględziny zewnętrzne i wewnętrzne, badania mikrobiologiczne, histopatologiczne i biochemiczne, wielokrotnie zwiększa szansę rozpoznania pośmiertnego sepsy i pozwala na zgromadzenie dowodów umożliwiających obronę takiej diagnozy.

## Badania biochemiczne

Wiele dotychczas opublikowanych badań wskazuje na znaczącą rolę w pośmiertnej diagnostyce sepsy różnych, stosowanych rutynowo w medycynie klinicznej, wskaźników biochemicznych. Wiadomo, że pośmiertna hemoliza krwinek ma wpływ jedynie na niektóre wyniki badań diagnostycznych, pozostając praktycznie bez znaczenia dla badań opartych na oznaczeniach frakcji białkowych. W zależności od wybranego markera stanu zapalnego istotne znaczenie dla interpretacji wyniku może mieć natomiast czas, jaki upłynął od zgonu, stąd istotne jest jego ustalenie [2].

## Introduction

In addition to microbiological diagnostics, the standard procedure in cases of sepsis-related death comprises histopathological examinations. Besides verifying the cause of death, histopathology allows to exclude or confirm the presence of concomitant diseases which can imitate or mask sepsis. Due to the same causes, a sensible measure is to perform a non-targeted toxicological analysis. It is generally recognized that a pathomorphological examination alone is neither sensitive nor specific in the diagnosis of sepsis – with the exception of special situations involving apparent inflammatory or necrotic tissue lesions (though localized infection should also be considered in such cases) [1]. However, on account of high cytokine activity and immune stimulation, it is possible to detect infiltrations of inflammatory cells in various tissues and organs. Their presence, in combination with other available medical data, may facilitate the diagnosis of sepsis. An additional diagnostic tool in cases of infectious death, which is applied in clinical practice but not routinely used in forensic medicine in Poland, is the assessment of inflammatory markers including C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT). A correctly performed forensic investigation, which comprises an analysis of the history of the disease and circumstances of death; meticulous external and internal examinations; and microbiological, histopathological and biochemical tests, significantly increases the chances of post-mortem diagnosis of sepsis, and allows to collect evidence supporting such a diagnosis.

## Biochemical tests

Many studies published to date suggest that a number of biochemical markers which are routinely used in clinical medicine can also play an important role in the post-mortem diagnostics of sepsis. Post-mortem haemolysis of blood cells is known to affect only selected results of diagnostic examinations, whereas it has practically no impact on tests based on protein fraction assays. However, depending on the chosen inflammatory marker, an important factor affecting the interpretation of results can be the time elapsed from death. Consequently, determining it is essential [2].

W praktyce klinicznej oraz diagnostyce pośmiertnej najczęściej oznaczanymi białkami ostrej fazy w diagnostyce zakażeń są CRP i PCT [3–5]. Białko C-reaktywne jest wskaźnikiem o wysokiej czułości, ale niskiej swoistości, jego stężenie zwiększa się zarówno w chorobach zapalnych (nie tylko zakaźnych, np. w zapaleniu trzustki, chorobach autoimmunologicznych), jak i w chorobach nowotworowych czy po urazach (np. w zmiżdżeniu tkanek). Mimo to oznaczanie CRP w diagnostyce pośmiertnej sepsy jest zalecane, z uwagi na łatwość wykonania oznaczenia, dostępność i niską cenę metody. Wykazano, że stężenie CRP zarówno w surowicy, jak i pełnej krwi jest stabilne nawet miesiąc po śmierci [6].

Procalcitonina charakteryzuje się większą swoistością – szczególnie przydatna jest w zakażeniach bakteryjnych. W przypadku sepsy stężenie PCT zwykle wynosi powyżej 2 ng/ml i w ciężkich przypadkach może wzrastać powyżej 100 ng/ml. W licznych badaniach pośmiertnych wykazano, że stężenie PCT w surowicy pobranej z żyły udowej charakteryzuje się wysoką wartością diagnostyczną i pozwala na rozróżnienie zgonu z przyczyny zakaźnej od innych stanów chorobowych [3]. Dodatkowo, co ważne, PCT jest białkiem stabilnym, w przeciwieństwie do cytokin prozapalnych; jej czas półtrwania wynosi pomiędzy 25 a 30 godzin. Wielokrotne mrożenie nie wpływa znacząco na jej stężenie w surowicy [2].

Na świecie badane są także różne inne markery stanu zapalnego, których oznaczenie ma zwiększać czułość i swoistość w rozpoznawaniu sepsy. W badaniu Tsokos i wsp. stwierdzono, że poziom interleukiny 6 powyżej 1500 pg/ml w krwi pobranej z żyły udowej we wczesnym okresie po śmierci, związany jest z dużym prawdopodobieństwem sepsy, pod warunkiem że inne przyczyny SIRS zostaną wykluczone [7]. Niestety, w innych publikacjach nie potwierdzono tych obserwacji a wręcz zakwestionowano wartość diagnostyczną zarówno interleukiny 6 i 8, jak i czynnika martwicy guza (*tumor necrosis factor*  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ) jako markerów pozwalających na odróżnienie sepsy od innych stanów będących przyczyną śmierci [8].

Kolejnym szeroko badanym białkiem ostrej fazy, służącym do pośmiertnej diagnostyki zakażeń, jest białko wiążące lipopolisacharyd (LBP) [5]. Istnieją również prace wskazujące na możliwość wykorzystania w tym celu oznaczeń rozpuszczalnego recep-

Both in clinical practice and post-mortem diagnostics, the most commonly assayed acute-phase proteins contributing to the diagnosis of infections are CRP and PCT [3–5]. C-reactive protein is a marker characterized by high sensitivity but low specificity. CRP levels increase in inflammatory diseases (not only infectious conditions, e.g. in pancreatitis, autoimmune disorders), but also in cancerous diseases and after injuries (e.g. in tissue crushing). Despite these limitations, CRP is easy to perform, widely available and inexpensive, and therefore recommended in the post-mortem diagnostics of sepsis. CRP concentrations, both in the serum and total blood, have been shown to be stable even a month after death [6].

Procalcitonin has a higher specificity, and it is particularly useful for detecting bacterial infections. In sepsis, the PCT level is usually higher than 2 ng/ml, and in severe cases it may rise above 100 ng/ml. A number of post-mortem studies have shown that the PCT concentration determined in the serum of blood collected from the femoral vein has a high diagnostic value and makes it possible to differentiate between deaths due to infectious causes and other diseases [3]. Another important factor is that, unlike proinflammatory cytokines, PCT is a stable protein; its half-life ranges between 25 and 30 hours. Also, multiple freezing operations have no significant effect on the concentration of procalcitonin in the blood serum [2].

Various other inflammatory markers, which are expected to ensure higher sensitivity and specificity of sepsis diagnosis, are also investigated across the world. Tsokos *et al.* have shown that interleukin 6 (IL-6) levels above 1,500 pg/ml in the blood collected from the femoral vein in the early period after death are associated with a high probability of sepsis on the condition that other causes of SIRS are excluded [7]. Unfortunately, other publications have not corroborated these findings, and even challenged the diagnostic value of both interleukin 6 and 8 and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) as markers allowing to distinguish sepsis from other death-causing conditions [8].

Another widely investigated acute-phase protein which is useful for the post-mortem diagnostics of infections is the lipopolysaccharide binding protein (LBP) [5]. There are also studies indicating that assays of soluble IL-2 receptor (sIL-2R) – a marker

tora interleukiny 2 (sIL-2R) – markera aktywacji limfocytów, endokanu (ESM1) – markera dysfunkcji śródbłonna naczyniowego [9, 10]. W diagnostyce pośmiertnej inwazyjnych zakażeń grzybiczych, które dotyczą głównie osób z nabytymi lub wrodzonymi niedoborami odporności, wykazano efektywność oceny stężenia  $\beta$ -glukanu w surowicy lub innych płynach ustrojowych [11].

Ishikawa i wsp. badali możliwości identyfikowania zakażeń wirusowych (które również mogą być przyczyną sepsy) przy zastosowaniu badań biochemicznych. Wykazali, że jednoczesna analiza poziomu neopteryny i CRP może być przydatna w diagnostyce tych infekcji. W śmiertelnych przypadkach zakażeń wirusowych obserwowano znacznie podwyższone poziomy neopteryny ( $> 500$  nmol/l), przy nieznacznym lub średnim wzroście CRP [12].

## Sekcja zwłok

### Ogłędziny zewnętrzne

W przypadku podejrzenia zgonu w przebiegu sepsy bardzo dokładne ogłędziny zewnętrzne ciała są równie istotne jak w przypadku zabójstw. Szczególną uwagę należy zwrócić na wszelkiego rodzaju zmiany skórne, które mogłyby stanowić pierwotne miejsce wnikięcia patogenów – rany, ślady po wkłuciach, obecność nacieków zapalnych, ropni. Ponadto w przebiegu sepsy można obserwować zmianę zabarwienia skóry (np. zażółcenie) oraz występowanie wysypek, których identyfikacja u osób zmarłych bywa znacznie utrudniona, zwłaszcza wśród obfitych, silnie wysyconych plam opadowych. Szczególną trudność może sprawiać różnicowanie wysypki krwotocznej z wybroczynami powstającymi pośmiertnie w wyniku silnego przekrwienia i pęknięcia naczyń krwionośnych. Morfologia wykwitów w sepsie jest zróżnicowana i wiąże się między innymi z rodzajem patogenu. Najbardziej charakterystyczne, a tym samym ułatwiające rozpoznanie są zmiany krwotoczne (wybroczyny krwawe, wylewy krwawe śródskórne), które wynikają z rozwoju zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) lub tworzących się zatorów bakteryjnych (tak jak w sepsie meningokokowej). Należy ich szukać zarówno na skórze, jak i błonach śluzowych. Z kolei w zespole toksycznej nekrolizy naskórka (TEN) i gronkowcowego złuszczonego zapalenia skóry (SSSS) domi-

of lymphocyte activation, and endocan (ESM1) – a marker of vascular endothelial dysfunction could also be used for that purpose [9, 10]. An assessment of  $\beta$ -glucan concentration in the blood serum or other bodily fluids has also been demonstrated to be an effective test in the post-mortem diagnostics of invasive fungal infections occurring mainly in patients with congenital or acquired immunodeficiencies [11].

Ishikawa *et al.* have studied the possibilities of identifying viral infections (which can also cause sepsis) using biochemical tests. They have found that a concurrent analysis of neopterin and CRP levels can be useful in the diagnostics of these infections. Markedly elevated neopterin levels ( $> 500$  nmol/l) accompanied by slightly or moderately elevated CRP concentrations have been observed in lethal cases of viral infections [12].

## Autopsy

### External examination

A meticulous external examination of the body is as significant in cases of deaths of suspected sepsis as in cases of homicide. Particular attention needs to be paid to all kinds of skin lesions that could potentially represent the primary site of pathogen entry: wounds, puncture marks, inflammatory infiltrations, abscesses. Furthermore, sepsis can be associated with skin discolorations (e.g. yellow colouring) or rashes. The identification of such skin lesions, however, can be very difficult in the deceased, especially when the skin is affected by very pronounced and intensive post-mortem lividity. It can be particularly difficult to differentiate between haemorrhagic rash and blood extravasations developing after death as a result of severe hyperaemia and breaking of blood vessels. The morphology of skin eruptions in sepsis is diverse and linked, among other factors, to the type of pathogen. The most characteristic abnormalities, and thus the most valuable signs aiding diagnosis, are haemorrhagic lesions (blood extravasations, intradermal haemorrhagic effusions) which arise from the development of the disseminated intravascular coagulation (DIC) syndrome or the formation of bacterial embolisms (as in meningococcal sepsis). They can be found both on the skin and mucous membranes. In contrast, toxic epidermal necrolysis

nujące będą zmiany pęcherzowe i nadżerkowe (spełzanie naskórka) zajmujące duże powierzchnie skóry. W pierwszej jednostce chorobowej dodatkowo zajęte będą śluzówki jamy ustnej, narządów moczowo-płciowych i spojówki [13]. Należy wziąć również pod uwagę możliwość rozwoju sepsy wtórnie do zakażenia wirusowego, np. ospy wietrznej. Wówczas na skórze występować będą przede wszystkim wykwyty charakterystyczne dla choroby wirusowej, ale mogą się pojawić dwa rodzaje wysypek. Podczas oględzin, w poszukiwaniu ogniska zakażenia, należy również dokładnie obejrzeć stawy obwodowe, zwracając uwagę na ich symetrię, symetrię całych kończyn, ale również narządy moczowo-płciowe i okolicę odbytu. W przypadku zgonów szpitalnych zwraca się uwagę na obecność wszelkich cewników jako potencjalnego źródła zakażenia. W uzasadnionych przypadkach należy dążyć do poszerzenia techniki sekcyjnej o preparowanie okolic i struktur, w których w wyniku oględzin zewnętrznych ujawniono zmiany zapalne.

Pomocną wstępną wskazówką może się okazać również obecność zmian gnilnych niewspółmiernie rozwiniętych do czasu, jaki upłynął od zgonu, i warunków, w jakich znajdowały się zwłoki. Według DiMaio w sepsie już po 6 godzinach zwłoki mogą przyjmować wygląd taki jak w przypadkach, gdy od zgonu minęło 5–6 dni, nawet wówczas, gdy przechowywane są w chłodni [14].

### Oględziny wewnętrzne

Zarówno podczas pośmiertnych oględzin wewnętrznych, jak i zewnętrznych nie obserwuje się patognomonicznych dla sepsy objawów. Głównym zadaniem specjalisty medycyny sądowej jest więc poszukiwanie ognisk zapalnych w poszczególnych narządach oraz objawów skazy krwotocznej. Zwraca się uwagę na występowanie zmian krwotocznych w błonach surowiczych – opłucnej (drobne wybroczyny są charakterystyczne również dla uduszenia gwałtownego), osierdziu, otrzewnej, choć mogą wystąpić w każdym narządzie. Charakterystyczne dla gwałtownie (piorunująco) przebiegającej sepsy są wylewy krwawe do nadnerczy, przejawiające się wstrząsem, a w konsekwencji prawie zawsze zgonem. Jest to tzw. zespół Waterhouse'a-Friderichsena, typowo występujący w posocznicy meningokokowej (*Neisseria meningitidis*).

(TEN) syndrome and staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) are dominated by vesicular and erosive lesions (epidermal exfoliation) covering large skin areas. The former of the conditions additionally affects the mucosa of the mouth, urogenital organs and conjunctiva [13]. Another possibility to consider is the development of sepsis secondary to a viral infection such as chickenpox. In such cases, the dominant skin lesions are eruptions characteristic of the viral disease, but two types of skin rash can also be present. During the examination of the body aimed at detecting the focus of infection, it is also necessary to carefully inspect the peripheral joints, focusing on their symmetry and the symmetry of the extremities as a whole, and also examine the urogenital organs and the anal area. In hospital deaths, attention must be given to all catheters as potential sources of infection. In justified cases, efforts should be made to extend the autopsy technique by the preparation of regions and structures in which an external examination reveals inflammatory lesions.

A helpful preliminary clue can also be the presence of putrid lesions which are disproportionately developed in relation to the time elapsed from death and the conditions in which the body has been kept. According to DiMaio, in cases of sepsis six hours are enough for the body to assume an appearance similar to cases in which 5–6 days have elapsed from death – even if the body is stored in refrigerated facilities [14].

### Internal examination

Neither internal nor external port-mortem examinations reveal any pathognomonic symptoms of sepsis. The main task of a forensic specialist is, therefore, to look for inflammatory foci in individual organs and signs of hemorrhagic diathesis. Notable is also the presence of haemorrhagic lesions in the serous membranes: the pleura (minor extravasations are also a characteristic sign of suffocation), the pericardium and the peritoneum, though they can also be found in any other organ. A characteristic feature of fulminant (violent) sepsis are blood extravasations into the adrenal glands which manifest as shock and, consequently, nearly always lead to death. The condition is referred to as Waterhouse-Friderichsen syndrome, and typically accompanies meningococcal septicaemia (*Neisseria meningitidis*).

W wyniku sepsy każdy narząd może być objęty procesem chorobowym – zawierać patologiczne zmiany i mieć zmieniony wygląd. Nerka, jeden z najczęściej uszkodzonych narządów, może być powiększona (obrzęk kory) i mieć napiętą torebkę. Ciemnoczerwony rdzeń wyraźnie kontrastuje z bledością kory, czasami widoczne jest zatarcie granicy korowo-rdzeniowej, ropnie (w przebiegu ropnicy), cechy wstępującego odmiedniczkowego zapalenia nerek czy też martwica niedokrwienna kory rozwijająca się w wyniku tworzących się zatorów tętnicznych. Z kolei w wątrobie, oprócz ropni, może wystąpić zapalenie dróg żółciowych, klinicznie objawiające się żółtaczką cholestatyczną lub np. ostre stłuszczenie wątroby. Narząd jest zwykle powiększony, cięższy, miękki i żółtawo zabarwiony, torebka Glissona jest napięta, a brzegi narządu zaokrąglone. Śledziona jest powiększona i obrzęknięta, z czerwono-szarą lub brązową miąższem. Należy zwrócić uwagę na naczynia śledzionowe, w których świetle można niekiedy stwierdzić zakrzepy. Płuca są ciężkie, ciemnoczerwone, może się wydobywać z nich treść (pianista, wodnista, krwista, ropna) [1, 13]. W sercu opisuje się martwicę, skrzepliny przyścienne, krwotoki – w tym krwotoki podwsięrdziowe. Lewa komora jest dość często poszerzona, koniuszek serca staje się zaokrąglony, a ściana komory przybiera wiotki wygląd [1]. W celu ustalenia źródła zakażenia, sekcja zwłok w przypadku podejrzenia sepsy musi zostać przeprowadzona jak najszybciej i w sposób szczególnie dokładny, z uwzględnieniem w uzasadnionych przypadkach czasami pomijanych w badaniu zmienionych zapalnie tkanek miękkich, całego układu moczowo-płciowego i układu pokarmowego (jelita), kręgosłupa, gardła i migdałków, ucha środkowego i zatok.

## Badanie histopatologiczne

Badanie histopatologiczne stanowi podstawę diagnostyki pośmiertnej sepsy, szczególnie w przypadkach ujemnych wyników badań mikrobiologicznych lub przy braku ich zlecenia. Istotne jest pobranie materiałów w odpowiedniej ilości i z wielu różnych tkanek i narządów. W zależności od patogenu będącego przyczyną sepsy, stwierdzane zmiany histopatologiczne mogą być znacznie zróżnicowane, a nacieki zapalne mieć różne nasilenie. Dla przykładu, w przebiegu zakażenia *Streptococcus pneumo-*

As a result of sepsis, every organ can be affected by the disease process – contain pathological lesions and have an altered appearance. The kidneys, which are among the most commonly damaged organs, can be enlarged (cortical oedema) and have tight capsules. The medulla is dark red, and thus contrasts sharply with the pale cortex. Occasionally, the corticomedullary border is blurred. Other manifestations include abscesses (secondary to pyaemia), features of ascending pyelonephritis or ischaemic necrosis of the renal cortex developing as a result of formation of arterial embolisms. The liver, aside from abscesses, can also be affected by cholangitis, which manifests clinically as cholestatic jaundice or, for example, acute fatty liver. The organ is usually enlarged, heavier than normally, soft and yellowish. Glisson's capsule is tight, and the liver margins appear rounded. The spleen is enlarged and swollen, with red-grey or brownish parenchyma. Attention should also be paid to the spleen vessels, as their lumens may sometimes reveal thrombi. The lungs are heavy, dark red, and may produce a frothy, watery, bloody or purulent discharge [1, 13]. The heart has been reported to feature signs of necrosis, parietal thrombi and haemorrhages – including subendocardial bleeding. The left ventricle is quite commonly dilated, the apex of the heart becomes rounded, and the ventricular wall assumes a flaccid appearance [1]. In order to establish the source of infection in cases of suspected sepsis, autopsy must be conducted as soon as possible and in a very meticulous manner, taking into consideration (whenever justified) aspects which are sometimes omitted during routine examinations including soft tissues affected by the inflammatory process, the entire urogenital system and digestive system (intestines), the spine, pharynx and tonsils, middle ear and sinuses.

## Histopathological examination

Histopathological examination is the basis for the post-mortem diagnostics of sepsis, particularly when microbiological test results are negative or are not ordered. A crucial aspect is collecting an appropriate amount of specimens from many different tissues and organs. Depending on the pathogen causing sepsis, identified histopathological lesions may vary considerably, and inflammatory infiltrations may demonstrate different degrees of severi-

*niae* oraz Gram-ujemnych pałeczek stwierdza się typowo cechy ostrego zapalenia, z kolei w zakażeniach *Streptococcus pyogenes* i *Clostridium perfringens* dominują objawy martwicy, bez zapalenia. W zakażeniu *Neisseria meningitidis* oraz *Pseudomonas aeruginosa* charakterystyczne są zmiany zapalne naczyń i zakrzepica. Niewielkie zmiany zapalne występują u osób z neutropenią [13].

Poniżej omówiono zmiany występujące w poszczególnych narządach.

**Serce.** Niewydolność mięśnia sercowego jest główną przyczyną śmierci w przebiegu ciężkiej sepsy i wstrząsu septycznego. Przeprowadzone dotychczas badania wskazują, że uszkodzenie serca wiąże się głównie ze zmianami czynnościowymi [15]. Mimo że stwierdzono na modelu zwierzęcym istotne zmiany apoptyczne włókien mięśniowych, praktyka kliniczna pokazuje, że występujące zaburzenia funkcji serca nie są adekwatne do tego typu zmian [13, 16, 17]. Prawdopodobnie dysfunkcja związana jest głównie z efektem cytokinowym i w znaczącym stopniu jest odwracalna. Pozostałe mechanizmy wpływające na uszkodzenie serca to: zaburzenia mikrokrążenia, niedotlenienie, zaburzenia metaboliczne i mitochondrialne, dysregulacja układu autonomicznego, tlenek azotu [13, 18]. W badaniu histopatologicznym serca stwierdza się śródmiąższowe nacieki z komórek jednojądrzastych, co w większości przypadków nie jest związane z zapaleniem mięśnia sercowego, ale ze zjawiskiem uogólnionej dysregulacji śródbłonna naczyń. Inne obserwowane zmiany to m.in. martwica, krwawienie i włóknienie śródmiąższowe, *myocarditis* (wg niektórych autorów do 1/3 przypadków) czy też infekcyjne zapalenie wsierdzia [13, 19]. Do badania histopatologicznego zaleca się pobranie pełnej grubości wycinków w postaci poprzecznych do przebiegu włókien mięśniowych plasterów, minimum 5 wycinków – 2 z prawej komory i 3 z różnych części lewej komory [20].

**Mózg.** Brak jest typowych objawów sepsy i wstrząsu septycznego zarówno w badaniu morfologicznym, jak i histopatologicznym. Rzadko kiedy dochodzi do bezpośredniego zajęcia tego narządu. Występujące zaburzenia świadomości zwykle, podobnie jak w przypadku serca, są przemijające i mają związek z ogólną reakcją zapalną i aktywnością cytokin [13]. Do istotnych mechanizmów wywołujących objawy kliniczne należą nadmierna aktywa-

ty. For example, infections caused by *Streptococcus pneumoniae* and Gram-negative rods are usually accompanied by features of acute inflammation. In contrast, infections triggered by *Streptococcus pyogenes* and *Clostridium perfringens* are dominated by signs of necrosis, without inflammation. In *Neisseria meningitidis* and *Pseudomonas aeruginosa* infections, characteristic features include inflammatory lesions in blood vessels and thrombosis. Minor inflammatory lesions also occur in patients with neutropenia [13].

The section below discusses lesions found in different body organs.

**Heart.** Myocardial failure is the main cause of death in the course of severe sepsis and septic shock. Studies conducted to date demonstrate that cardiac damage is mainly related to functional changes [15]. Although significant apoptotic lesions in muscle fibres have been shown in the animal model, clinical practice demonstrates that identified cardiac function disorders are not consistent with lesions of this type [13, 16, 17]. The dysfunction is probably linked to the cytokine effect and is largely reversible. Other mechanisms involved in cardiac damage are disorders of the microcirculation, hypoxia, metabolic and mitochondrial disorders, dysregulation of the autonomic nervous system, nitric oxide [13, 18]. The histopathological examination of the heart reveals interstitial infiltrations of mononucleated cells, which – in the majority of cases – are not related to myocarditis but to the process of generalized vascular endothelial dysregulation. Other observed lesions include necrosis, interstitial haemorrhaging and fibrosis, myocarditis (according to some authors, in up to a third of all cases) or infectious endocarditis [13, 19]. The recommended procedure for performing a histopathological examination is to collect full-thickness specimens in the form of slices transverse to the arrangement of muscle fibres, a total of five specimens: two from the right ventricle and three from various parts of the left ventricle [20].

**Brain.** No typical symptoms of sepsis or septic shock are seen either on morphological or histopathological examination. The organ is rarely involved directly. As with the heart, disorders of consciousness which are observed have a transient character and are related to the general inflammatory reaction

cja mikrogleju, zaburzenia perfuzji naczyniowej, dysfunkcja bariery krew-mózg, niedotlenienie, zaburzenia metaboliczne oraz zmiany w zakresie neurotransmisji [21]. W badaniu mikroskopowym można stwierdzić cechy mikrozawału lub zawału mózgu spowodowane zmianami zatorowo-zakrzepowymi, encefalopatii niedotlenieniowo-niedokrwiennej (zajęcie szczególnie okolicy hipokampa, jąder mózdzku i kory mózgu), ropnie i mikroropnie przerzutowe, zmiany krwotoczne, proliferację astrocytów i mikrogleju w korze mózgu czy nawet mielinolizę środkową mostu. Z uwagi na możliwość wystąpienia zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych istotne jest również podczas sekcji pobranie do badania opony twardej [1, 21].

**Nerki.** Ostra niewydolność nerek jest jedną z najczęściej występujących dysfunkcji narządowych w sepsie. Oprócz wspomnianego efektu cytokinowego, w patogenezie uszkodzenia nerek dużą rolę odgrywa również niedokrwienie – związane z nieprawidłową pracą serca, spadkiem ciśnienia i wazokonstrykcją, ale także toksyczne działanie leków [13]. Często wskazuje się ostrą martwicę cewek nerkowych jako typową dla ciężkiej sepsy i wstrząsu septycznego. Przegląd literatury pokazuje jednak, że nie ma specyficznych dla sepsy histologicznych cech ostrego uszkodzenia nerek [22]. W badaniu pośmiertnym można zaobserwować ropne zmiany ogniskowe, ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek, ogniska martwicy niedokrwiennej nerek. Kłębuszki nerkowe mogą być zapadnięte lub zupełnie prawidłowe; w DIC wraz z pęcherzykami płucnymi stanowią najczęstszą lokalizację zmian zakrzepowych. Uszkodzenie cewek nerkowych może mieć pochodzenie niedokrwienne lub toksyczne [13]. Mikroskopowo można stwierdzić m.in. obrzęk śródmiąższowy z rozdzieleniem cewek, obrzęk lub apoptozę komórek cewkowych, niewielki śródmiąższowy naciek zapalny. Po śmierci dość szybko dochodzi do autolizy nerek, co znacznie zaciera obraz i utrudnia ocenę ich struktury [1, 13].

**Nadnercza.** Niedobór lipidów, przerost lub atrofia, krwotok miąższowy lub zakrzepica drobnych tętniczek są typowymi zmianami występującymi w sepsie [13]. Zmiany krwotoczne występujące w przebiegu DIC częściej są obserwowane w obrębie kory niż rdzenia [1].

**Płuca.** Rozlane uszkodzenie pęcherzyków płucnych w przebiegu ostrego zespołu niewydolności

and cytokine activity [13]. Important mechanisms producing clinical symptoms include excessive microglial activation, disorders of vascular perfusion, dysfunction of the blood brain barrier, hypoxia, metabolic disorders and changes in neurotransmission [21]. Microscopic examinations disclose features of cerebral microinfarct/infarction caused by thromboembolic lesions, hypoxic-ischaemic encephalopathy (involving, in particular, the region of the hippocampus, cerebellar nuclei and cerebral cortex), metastatic abscesses and microabscesses, haemorrhagic lesions, microglial and astrocytic proliferation in cerebral cortex or even central pontine myelinolysis. On account of the possibility of meningitis, autopsy should also involve the collection of specimens of dura mater and their examination [1, 21].

**Kidneys.** Acute kidney failure is one of the most common organ dysfunctions occurring in sepsis. In addition to the cytokine effect mentioned above, a major role in the pathogenesis of kidney damage is also played by ischaemia – associated with abnormal heart function, reduced blood pressure and vasoconstriction, but also with toxic effects of drugs [13]. Many reports point to acute tubular necrosis as a condition characteristic for severe sepsis and septic shock. However, a review of the literature shows that there are no sepsis-specific histological features of acute kidney damage [22]. A post-mortem examination may reveal suppurative focal lesions, acute pyelonephritis and foci of ischaemic renal necrosis. Renal glomeruli may appear sunken or be completely normal; together with pulmonary alveoli, they are the most frequent location of thrombotic lesions in DIC. Damage to renal tubules may be ischaemic or toxic in origin [13]. Microscopic findings may include, among other features, interstitial oedema with the separation of tubules, oedema or apoptosis of tubular cells, and mild interstitial inflammatory infiltration. After death, kidney autolysis occurs rapidly, which considerably obscures the findings and makes it more difficult to evaluate their structure [1, 13].

**Adrenal glands.** Typical abnormalities accompanying sepsis include lipid deficiency, hypertrophy or atrophy, parenchymal haemorrhage or thrombosis of small arteries [13]. Haemorrhagic lesions occurring in DIC are more commonly observed within the cortex than in the medulla [1].

**Lungs.** Diffuse alveolar damage secondary to acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a pa-



oddechowej (ARDS) jest patologią występującą u znacznej części chorych na sepsę. Nie jest to stan patognomoniczny dla sepsy, może również wystąpić np. w uszkodzeniach gazami wziewnymi czy też przy aspiracji treści żołądkowej. Mechanizm powstawania zmian jest złożony. Badania wykazały, że uszkodzenie związane jest z nasilonym procesem zapalnym – akumulacją neutrofilów i aktywnością określonych chemokiny [23]. Obecność poszczególnych zmian w tkance płucnej zależy od fazy rozwoju procesu patologicznego – wysiękowa, regeneracyjna lub naprawcza. W pierwszej fazie, trwającej do tygodnia, płuca są ciężkie i ciemnoczerwone. Histologicznie początkowo stwierdza się przekrwienie ściany, obrzęk i obecność czerwonych krwinek w pęcherzykach płucnych, niewielkie nacieki neutrofilowe w śródmiąższu. Następnie dochodzi do rozwoju tzw. płuca wstrząsowego – zapadnięcia się pęcherzyków płucnych, nagromadzenia się neutrofilów, występuje krwotok i płyn obrzękowy o dużej zawartości białka; tworzą się błony szkliste na powierzchni nabłonka oddechowego oskrzelików i przewodników pęcherzykowych [13]. W kolejnych fazach dochodzi do stopniowej naprawy i powrotu do normalnej struktury z wykorzystaniem procesu włóknienia śródmiąższowego oraz remodelingu w zakresie kapilar naczyńnicowych. W przebiegu sepsy można również stwierdzić agregację płytek krwi i włókienka w naczyniach płucnych. Typowe są zmiany w mikrokrążeniu. Wykazanie histologicznie nagromadzenia w płucach granulocytów wielojądrowych (*leukocyte sticking*) odzwierciedla przekrwienie i leukostazę, ale zwykle nie towarzyszy temu reakcja zapalna śródmiąższowa i śródpęcherzykowa – co jest typowe dla gwałtownie postępującego i śmiertelnego wstrząsu septycznego. W przypadkach wątpliwych zaleca się dodatkowo metody immunohistochemiczne. Istnieją dowody naukowe wskazujące na przydatność badania ekspresji E-selektyn, VLA-4 i ICAM-1 w pośmiertnej diagnostyce sepsy [1, 24, 25].

**Wątroba.** W przebiegu sepsy mogą wystąpić uszkodzenie miąższu wątroby związane z hipoksemią (*hypoxic hepatitis*) i procesem zapalnym, żółtaczką cholestatyczną związaną lub nie z zapaleniem dróg żółciowych czy też ropnie wątroby (obecnie rzadko spotykane). Histologicznie występować może cholestaza kanalikowa i przewodnikowa, proliferacja przewodników żółciowych, śródmiąższowe

thology identified in a considerable proportion of sepsis patients. It does not represent a pathognomonic symptom of sepsis, since it can also occur, for example, in injuries caused by gas inhalation or aspiration of gastric contents. The mechanism underlying the development of lesions is complex. Research has shown that the damage is related to the presence of a severe inflammatory process with the accumulation of neutrophils and the activity of specified chemokines [23]. The presence of different lesions in the pulmonary tissue depends on the stage of the pathological process: exudative, regenerative or reparative. In the first phase, which lasts for up to a week, the lungs are heavy and dark red in colour. Initial histological findings include congestion of the pulmonary wall, oedema and presence of red blood cells in the pulmonary alveoli as well as small interstitial neutrophil infiltrations. That stage leads to the development of the so-called “shock lung” characterized by alveolar collapse, accumulation of neutrophils, haemorrhage and collection of protein-rich oedematous fluid. Hyaline membranes form on the surface of respiratory epithelium of the bronchioles and alveolar ducts [13]. Subsequent stages see a gradual repair and return to the normal structure based on the process of interstitial fibrosis and remodelling of vascular capillaries. Another process noted in the course of sepsis is the aggregation of blood platelets and fibrin in pulmonary blood vessels. Typical are also lesions affecting the microcirculation. Histologically demonstrated pulmonary accumulation of multinucleated granulocytes (“leukocyte sticking”) reflects congestion and leukostasis, however it is not usually accompanied by the interstitial and interalveolar inflammatory reaction – which is typical for the rapidly progressing and lethal septic shock. In uncertain cases, immunohistochemical methods are additionally recommended. There is scientific evidence of the usefulness of tests determining the expression of E-selectins, VLA-4 and ICAM-1 in the post-mortem diagnostics of sepsis [1, 24, 25].

**Liver.** Sepsis can involve damage to hepatic parenchyma associated with hypoxaemia (hypoxic hepatitis) and the inflammatory process, cholestatic jaundice related or unrelated to cholangitis, or liver abscesses (currently rarely found). Histological findings may include canalicular and ductular cholestasis, proliferation of biliary ducts, interstitial

nacieki zapalne, krwawienia, wewnątrzratokowa agregacja włókniaka, rzadziej martwica komórek wątrobowych [1, 13, 26]. W tzw. wątrobie wstrząsowej na przekrojach widoczny jest czerwony siatkowaty wzór – histologicznie zmiany zatorowo-zakrzepowe, niedokrwienie i martwica [27].

**Śledziona.** *Splenitis* uznawane jest za jeden z objawów systemowego zakażenia. Dochodzi wówczas do ostrego przerostu miazgi czerwonej z licznymi naciekami neutrofilii i makrofagów w białej i czerwonej miazdze [1, 28]. Badania wykazały znaczne zmniejszenie obszarów zawierających B i T, w zależności od patogenu wywołującego sepsę. Dla przykładu, w zakażeniu entokokami szczególnie wyrażona jest deplecja w zakresie obszarów B [29]. W praktyce śledziona jest narządem mało przydatnym diagnostycznie. Nie tylko ze względu na brak charakterystycznych objawów, lecz także bardzo szybką autolizę po śmierci.

**Przewód pokarmowy.** Wybroczyny i wylewy krwawe, martwica (zmiany zatorowo-zakrzepowe), nadżerki, owrzodzenia i ropnie mogą wystąpić w błonie śluzowej całego przewodu pokarmowego w przebiegu sepsy – *septic enterocolitis*. Podobnie jak w przypadku nerek, po śmierci szybko dochodzi do zmian autolitycznych w zakresie błony śluzowej i podśluzowej, co utrudnia znacząco diagnostykę [1].

## Wnioski

1. W rutynowej diagnostyce pośmiertnej w przypadku podejrzenia sepsy należy oznaczać stężenia CRP i prokalcytoniny.
2. Szczególnie ważne są dokładne oględziny zewnętrzne oraz wewnętrzne, podczas których opisuje się wszelkie zmiany zapalne i poszukuje źródeł infekcji, poszerzając standardowe techniki sekcyjne.
3. Badanie histopatologiczne jest obligatoryjne. Mimo że brak jest patognomicznych cech sepsy w poszczególnych narządach, wyniki badań mikroskopowych mogą znacznie ułatwić rozpoznanie.

---

*Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.*

inflammatory infiltrations, haemorrhaging, intrasplenic aggregation of fibrin or – less commonly – necrosis of liver cells [1, 13, 26]. Cross-sections of the so-called “shock liver” reveal a red net pattern which histologically represents thromboembolic lesions, ischaemia and necrosis [27].

**Spleen.** One of the symptoms of systemic infection is believed to be splenitis. The condition is associated with acute hyperplasia of the red pulp with multiple infiltrations of neutrophils and macrophages in the white and red pulp [1, 28]. Studies have demonstrated a marked reduction of areas containing B and T cells depending on the type of the sepsis-inducing pathogen. For example, an enterococcal infection results in an especially pronounced depletion in B-areas [29]. In practice, however, the spleen is not a very diagnostically useful organ: not only due to the absence of characteristic symptoms, but also due to its very rapid autolysis after death.

**Digestive system.** Sepsis may give rise to blood extravasations and effusions, necrosis (thromboembolic lesions), erosions, ulcers and abscesses in the mucosa of the entire digestive system – *septic enterocolitis*. As with the kidneys, autolytic lesions in the mucous and submucous membranes develop very quickly, making it considerably more difficult to diagnose the condition [1].

## Conclusions

1. In cases of suspected sepsis, routine post-mortem diagnostics should include CRP and procalcitonin concentration assays.
2. It is especially important to perform a meticulous external and internal examination of the body in order to describe all inflammatory lesions and look for sources of infection, extending standard autopsy techniques.
3. The histopathological examination is obligatory. Although there are no pathognomic features of sepsis in individual organs, results obtained in microscopic tests can markedly facilitate the diagnosis.

---

*The authors declare no conflict of interest.*

## Piśmiennictwo

## References

1. Ritty GN. *Essentials of Autopsy Practice: Advances, Updates and Emerging Technologies*. Springer-Verlag, London 2006.
2. Tsokos M. Postmortem diagnosis of sepsis. *Forensic Sci Int* 2007; 165: 155-164.
3. Tsokos M, Reichelt U, Nierhaus A, Puschel K. Serum procalcitonin (PCT): a valuable biochemical parameter for the postmortem diagnosis of sepsis. *Int J Legal Med* 2001; 114: 237-243.
4. Bode-Jänisch S, Schütz S, Schmidt A, Tschernig T, Debertin AS, Fieguth A, Hagemeyer L, Teske J, Suerbaum S, Klintschar M, Bange FC. Serum procalcitonin levels in the postmortem diagnosis of sepsis. *Forensic Sci Int* 2013; 226: 266-272.
5. Augsburger M, Iglesias K, Bardy D, Mangin P, Palmiere C. Diagnostic value of lipopolysaccharide-binding protein and procalcitonin for sepsis diagnosis in forensic pathology. *Int J Legal Med* 2013; 127: 427-435.
6. Astrup BS, Thomsen JL. The routine use of C-reactive protein in forensic investigations. *Forensic Sci Int* 2007; 172: 49-55.
7. Tsokos M, Reichelt U, Jung R, Nierhaus A, Puschel K. Interleukin-6 and C-reactive protein serum levels in sepsis-related fatalities during the early postmortem period. *Forensic Sci Int* 2001; 119: 47-56.
8. Schrag B, Roux-Lombard P, Schneider D, Vaucher P, Mangin P, Palmiere C. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, and interleukin-8 as diagnostic parameters in sepsis-related fatalities. *Int J Legal Med* 2012; 126: 505-512.
9. Reichelt U, Jung R, Nierhaus A, Tsokos M. Serial monitoring of interleukin-1b, soluble interleukin-2 receptor and lipopolysaccharide binding protein levels after death. A comparative evaluation of potential postmortem markers of sepsis. *Int J Legal Med* 2005; 119: 80-87.
10. Palmiere C, Augsburger M. Endocan measurement for the postmortem diagnosis of sepsis. *Leg Med (Tokyo)* 2014; 16: 1-7.
11. Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the serum (1->3)-beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections-a study based on autopsy cases from 6 years. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1864-1870.
12. Ishikawa T, Hamel M, Zhu BL, Li DR, Zhao D, Michiue T, Maeda H. Comparative evaluation of postmortem serum concentrations of neopterin and C-reactive protein. *Forensic Sci Int* 2008; 179: 135-143.
13. Lucas S. The autopsy pathology of sepsis-related death. *Cur Diag Pathol* 2007; 13: 375-388.
14. DiMaio DJ, DiMaio VJ. *Forensic Pathology*. CRC Press, Florida 1991.
15. Celes MR, Prado CM, Rossi MA. Sepsis: going to the heart of the matter. *Pathobiology* 2013; 80: 70-86.
16. Ha T, Hua F, Grant D, Xia Y, Ma J, Gao X, Kelley J, Williams DL, Kalbfleisch J, Browder IW, Kao RL, Li C. Glucan phosphate attenuates cardiac dysfunction and inhibits cardiac MIF expression and apoptosis in septic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: H1910-1918.
17. Lancel S, Petillot P, Favory R, Stebach N, Lahorte C, Danze PM, Vallet B, Marchetti P, and Nevieri R. Expression of apoptosis regulatory factors during myocardial dysfunction in endotoxemic rats. *Crit Care Med* 2005; 33: 492-496.
18. Flierl MA, Rittirsch D, Huber-Lang MS, Sarma JV, Ward PA. Molecular events in the cardiomyopathy of sepsis. *Mol Med* 2008; 14: 327-336.
19. Schmittinger CA, Dünser MW, Torgersen C, Luckner G, Lorenz I, Schmid S, Joannidis M, Moser P, Hasibeder WR, Halabi M, Steger CM. Histologic pathologies of the myocardium in septic shock: a prospective observational study. *Shock* 2013; 39: 329-335.
20. Royal College of Pathologists 2005, Sudden death with likely cardiac pathology. [www.rcpath.org](http://www.rcpath.org).
21. Sonnevile R, Verdonk F, Rauturier C, Klein IE, Wolff M, Annane D, Chretien F, Sharshar T. Understanding brain dysfunction in sepsis. *Ann Intensive Care* 2013; 3: 15.
22. Langenberg C, Bagshaw SM, May CN, Bellomo R. The histopathology of septic acute kidney injury: a systematic review. *Crit Care* 2008; 12: R38.
23. Czermak BJ, Breckwoldt M, Ravage ZB, Huber-Lang M, Schmal H, Bless NM, Friedl HP, Ward PA. Mechanisms of enhanced lung injury during sepsis. *Am J Pathol* 1999; 154: 1057-1065.
24. Tsokos M. Immunohistochemical detection of sepsis-induced lung injury in human autopsy material. *Leg Med (Tokyo)* 2003; 5: 73-86.
25. Tsokos M, Fehlauer F. Post-mortem markers of sepsis: an immunohistochemical study using VLA-4 (CD49d/CD29) and ICAM-1 (CD54) for the detection of sepsis-induced lung injury. *Int J Legal Med* 2001; 114: 291-294.
26. Nesseler N, Launey Y, Aninat C, Morel F, Mallédant Y, Seguin P. Clinical review: The liver in sepsis. *Crit Care* 2012; 16: 235.
27. Nesvetov AM. Morphological diagnosis of DIC syndrome. Shock liver. *Anesteziol Reanimatol* 1997; 6: 27-31.
28. Arismendi-Morillo GJ, Briceño-García AE, Romero-Amaro ZR, Fernández-Abreu MC, Girón-Piña HE. Acute non-specific splenitis as indicator of systemic infection. Assessment of 71 autopsy cases. *Invest Clin* 2004; 45: 131-135.
29. Gunia S, Albrecht K, May M, Stosiek P. The white pulp in the setting of the septic spleen caused by different bacteria: a comparative morphometric study. *APMIS* 2005; 113: 675-682.

**Adres do korespondencji**

Tomasz Jurek  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
ul. J. Mikulicza-Radeckiego 4  
50-345 Wrocław, Polska  
e-mail: tomasz.jurek@umed.wroc.pl

**Address for correspondence**

Tomasz Jurek  
Chair and Department of Forensic Medicine  
Wrocław Medical University  
J. Mikulicza-Radeckiego 4  
50-345 Wrocław, Poland  
e-mail: tomasz.jurek@umed.wroc.pl

