

## **RAPE FACILITATED BY THE ADMINISTRATION OF LIDOCAINE AND TOLUENE? CASE REPORT**

Marta SUCHAN, Piotr ADAMOWICZ

*Institute of Forensic Research, Kraków, Poland*

### **Abstract**

Blood and urine samples were collected from a 15-year old girl and submitted to the Institute of Forensic Research (IFR), on suspicion that she had been raped with the use of date-rape drugs. The materials were screened at the IFR using GC, GC-MS, HPLC and LC-MS methods for the presence of drugs that can be used to facilitate sexual assault. These analyses showed the presence of lidocaine in urine and an unknown peak in blood, which turned out to be toluene. Liquid-liquid extraction was applied to the isolation of lidocaine from the biological matrix and analysis was carried out using the LC-MS technique. The concentration of lidocaine in urine was 5.8 µg/ml; there was no lidocaine in blood at concentrations above the method's cutoff. Toluene identification and quantification were carried out by the HS-SPME-GC-MS method. The extraction was performed with a PDMS (100 µm) fibre. The concentration of toluene in blood was 1.2 µg/ml. Due to the circumstances of the case and the fact that the blood sample was collected in a non-standard tube containing gel for serum separation, analysis of this gel was performed. It was found that the gel contained significant amounts of toluene. This paper describes issues related to both the impact of gel on the concentration of drugs in blood, as well as the blood contamination with volatile compounds. It was shown that the use of unsuitable tubes for material collection may lead to erroneous results. The interpretation of the presence of lidocaine in urine was left open.

### **Key words**

Rape; Lidocaine; Toluene; SPME; Gel separator tubes.

*Received 9 September 2013; accepted 13 November 2013*

### **1. Introduction**

The use of drugs to facilitate sexual assault began to be an important factor at the beginning of the twenty-first century and today is often reflected in the casework of the Institute of Forensic Research (IFR). Rape with the use of medicines or drugs relies on the administration of these substances to the future victim, who, being under their influence, is sexually assaulted. The used substance is frequently mixed with drinks, which makes it easier to administer without inducing suspicion. Victims usually do not remember the events that have occurred, and, in addition, after regaining consciousness, they experience disorientation, dizziness, drowsiness, nausea, and often have diffi-

culty with moving. Detection of the used drug or its metabolite(s) in biological material collected from the victim can greatly support an investigation in the case of drug facilitated rape, and is often the only evidence of the crime because the victim suffers from amnesia and is not able to describe the course of events [1, 2].

In order to rule out or confirm the use of a medicine or drug, it is recommended to collect a sample or samples of biological material from the victim as soon as possible. In the case that a few to several hours have passed since the event, it is the best to collect both blood and urine samples. Several hours after an event, the concentration of administered drug in the blood can drop to values lying below the limit of detection of most analytical methods, and then urine becomes the

most important material. The concentrations of drugs or their metabolites in this material are significantly higher than in blood, but difficult to interpret with regard to both assessing the severity of poisoning and xenobiotic exposure time. However, even this material can become useless if it is collected a few days after the event. Then hair becomes irreplaceable material for conducting this type of research. One-time use of the substance may, however, not lead to high enough concentrations in hair to be measurable even with sensitive and specific coupled techniques [16].

Apart from collection of appropriate material as fast as possible for analysis, a very important issue is correct securing of material. Inadequate securing of evidence material in all cases, including drug-facilitated sexual assault, can significantly affect the obtained results and, consequently, determination of the nature of the crime. Issues of appropriate collec-

tion and securing of material for toxicological analyses have been discussed many times in the literature [26]. The most drastic example of something that can go wrong is a blood spill during transportation. Apart from any external manipulation leading to the destruction of packaging, very often a blood sample in a tube without preservative (NaF) ferments, especially during the spring and summer, and fermentation gases push out the stopper. Placing the material in inappropriate tubes may also lead to either false positive or false negative results. Additives present in some tubes (e.g. clot activators, separator gels, EDTA) can affect the results obtained by immunoenzymatic and spectrometric methods [6, 12]. The influence of interferences caused by the various additives contained in tubes, and components of the materials from which tube parts and accessories are made (e.g. rubber stoppers, lubricants, and surfactants) has been discussed extensively and in

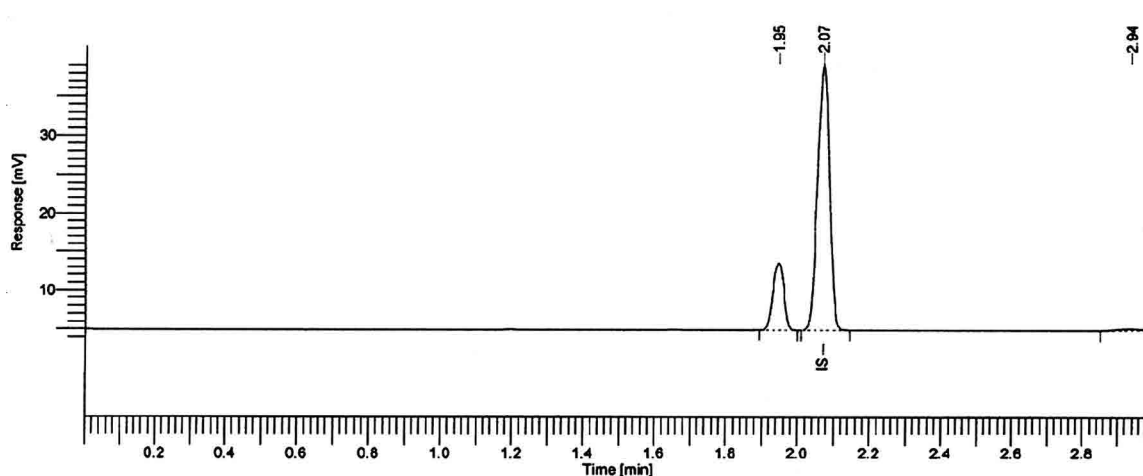


Fig. 1. Chromatogram of blood sample showing an unidentified peak: RT, 1.95 min (HS-GC-FID).

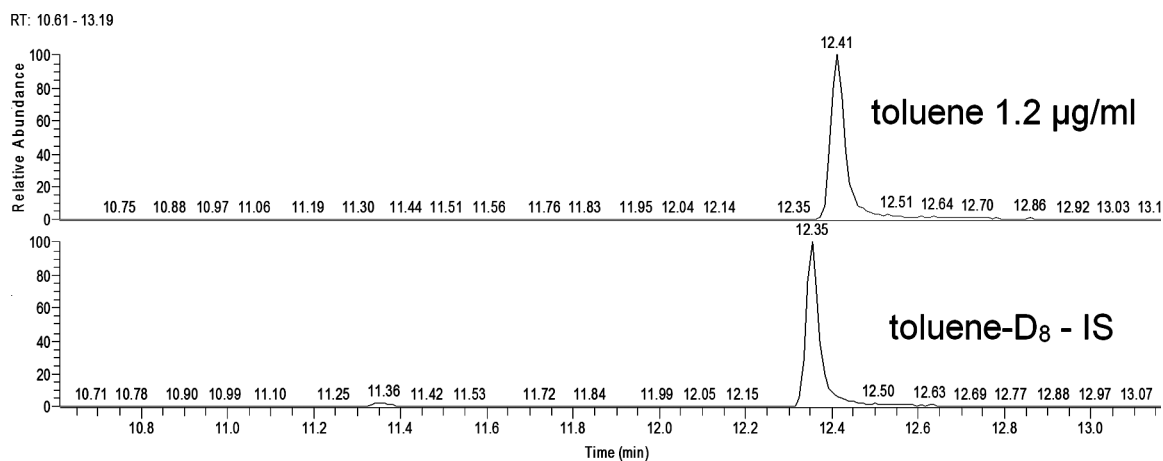


Fig. 2. Chromatogram of the analysed blood sample with toluene peak (GC-MS).

detail by Bowen et al. [6]. EDTA and heparin may falsify the results in a number of immunoassays, as may surfactants, which also affect determination by mass spectrometry (e.g. MALDI-TOF). Analysis for the presence of metals may be disrupted by components found inside and on the surface of the rubber stoppers, and clot activators cause interferences that inflate results of lithium and magnesium determination [6]. Another problem is the instability of analytes during long storage in test tubes [7] caused by both physical (such as adsorption onto the walls) and chemical processes (including the influence of the additives on the binding of xenobiotics to serum protein).

A case of the rape of a juvenile and problems associated with the interpretation of the results of toxicological analyses in the case of blood collection in an inappropriate tube are presented in this paper.

## 2. Case history

Blood and urine samples collected from a 15-year-old girl were submitted to IFR in connection with suspicion of drug facilitated rape. From obtained testimonies, it appeared that the juvenile went to a meeting with friends, where she drank alcohol. At about 10 p.m., the girl went to the house of a man that she didn't know, where she was found at 5 a.m. by her family, who were looking for her. The girl did not remember the course of events, including how she got to the house. She testified that she had vomited in the night, and had felt "pain in the intimate area and abdomen" in the morning. Material for analysis was collected several hours after the incident. Blood was collected in a tube with acrylic-based separator gel (BD Vacutainer® SST™ II Advance, volume 5 ml), and urine was collected in a plastic container with a capacity of 100 ml. The commissioning authority ordered the tests in order to answer whether the following were present in the secured material: "alcohol, narcotic or psychotropic drugs, or medications, particularly those used to facilitate sexual assault, so-called date-rape drugs".

## 3. Material and methods

### 3.1. Biological material

Control blood samples (free from analytes) used to develop the methods were obtained from a blood donor centre. Control urine samples were collected from people not using drugs and medicines. The biological

material sent in for research was stored at +4°C until the time of analysis.

### 3.2. Chemicals

A lidocaine standard was purchased from Ceriliant Corporation (LGC Standards, Warsaw, Poland), papaverine from the National Measurement Institute (Australia), toluene from the Chempur Company (Piekary Śląskie, Poland), and toluene-D8 from Sigma (Sigma-Aldrich Poland, Poznań, Poland). Acetonitrile (MeCN) and 98–100% formic acid were purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and ethyl acetate from POCh (Gliwice, Poland).

### 3.3. Analysis for volatile organic compounds by HS-SPME and GC-MS methods

#### 3.3.1. Sample preparation

100 µl of blood or urine was placed into 10 ml glass vials. 10 µl of internal standard solution (IS) – toluene-D8 at a concentration of 50 µg/ml – was added to the samples, achieving a final concentration of 5 µg/ml. The method of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) was applied to the isolation of the analyte using an SPME Supelco kit, which included a microsyringe for manual injection and an SPME fibre with polydimethylsiloxane (PDMS) sorbent with film thickness of 100 µm. The absorption on the fibre was carried out at ambient temperature for 10 min. Thermal desorption in the injector was conducted for 30 s at 200°C [24].

#### 3.3.2. Equipment and analytical conditions

Analysis for volatile organic compounds was performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). A FOCUS GC gas chromatograph with DSQ II mass detector by Thermo Electron Co. was used. Injection with a split (1:10) of the gas stream was applied. Separation was performed on a capillary column SPB-624 (60 m × 0.25 mm I.D., 1.4 µm film thickness) from Supelco. A temperature gradient program was used. The initial temperature of 36°C was maintained for 4 min and then increased at a rate of 20°C/min up to a final value of 200°C. The helium flow rate through the column was constant at 1.2 ml/min. The retention time (*RT*) of the toluene was 12.41 min and its deuterated derivative 12.35 min. The temperature of the transfer line of the GC-MS was set at 230°C. The temperature of the ion source was 250°C. Electron impact ionization at an energy of

70 eV was applied. The mass detector worked in total ion current mode in a mass to charge ratio ( $m/z$ ) range of 25–300 amu. Acquisition and data analysis were conducted using Xcalibur™ software Version 1.4 SR1 (Thermo Electron Corporation) [25].

### 3.4. Determination of lidocaine

#### 3.4.1. Samples preparation

IS papaverine was added to blood and urine samples (0.2 ml) placed in Eppendorf vials to obtain a concentration of 100 ng/ml, and then 0.5 ml of carbonate buffer (pH 9) and 1 ml of ethyl acetate were added. Samples were shaken for 15 min, and then centrifuged for 5 min at 13,000 rpm. The organic phase (800  $\mu$ l) was transferred to glass vials, and then evaporated to dryness at 37°C. The dry residue was dissolved in 100  $\mu$ l of MeCN and water mixture (1:1, v/v) with addition of formic acid in an amount of 1 ml/l of phase, and then placed in autosampler vial inserts.

#### 3.4.2. Equipment and analytical conditions

Analysis of extracts was conducted using a liquid chromatograph coupled with a mass spectrometer 1100 Series from Agilent Technologies operating in electrospray ionization (ESI) mode. Separation was achieved on a Merck LiChroCART column (125  $\times$  4 mm, 5  $\mu$ m) packed with Purospher RP-18e thermostated at 25°C. The mobile phase flowing through the column at 1 ml/min consisted of a mixture of acetonitrile (MeCN) and water containing formic acid in an amount of 1 ml/l of phase. The following gradient program of phase composition was used: 0 min – 0% MeCN, 15 min – 100% MeCN, 17 min – 0% MeCN, 20 min – 0% MeCN. The injection volume was 20  $\mu$ l, and the total analysis time was 20 min. The retention time ( $RT$ ) of lidocaine was 5.58 min. Selected ions (SIM) were monitored at  $m/z$  235 and 236 for lidocaine and 340 for papaverine. The mass detector operating in positive ionization mode worked under the following conditions: fragmentor voltage – 60 V, capillary voltage – 3500 V, drying gas flow – 13 l/min, drying gas temperature – 320°C, nebulizer pressure – 40 psi, and dwell time – 132 ms. Data collection and results analysis were conducted using HP LC/MSD ChemStation version A.06.03 (Agilent Technologies).

## 4. The results of analysis of the biological material

First, blood and urine samples were analysed for the presence of ethyl alcohol. The analyses were performed by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID). As a result, the presence of alcohol was not determined, but on the obtained chromatograms, a peak was observed which was not identified by the used method (Figure 1). Further analysis for volatile organic compounds by HS-SPME and GC-MS methods showed the presence of toluene in blood at a concentration of 1.2  $\mu$ g/ml. The extracted ion chromatograms ( $m/z$  91 and 98) of toluene and its deuterated derivative are presented in Figure 2. The presence of volatile xenobiotics, including toluene, was not ascertained in the urine.

Subsequently, blood and urine were screened for the presence of substances with different pharmacological effects on the human organism, with particular attention to drugs used to facilitate sexual assault. Liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) as well as LC-MS and GC-MS were applied in the research. The analyses were performed according to previously published procedures [3, 4]. As a result, the presence of lidocaine in urine was revealed, which was confirmed by targeted analysis by the LC-MS technique. The determined concentration of lidocaine in the analyzed urine was 5.8  $\mu$ g/ml. The presence of this compound was not ascertained in the blood at a concentration above the detection limit of the method of 10 ng/ml.

Blood and urine were also analysed for the presence of narcotic drugs and psychotropic substances from the group of amphetamines (including MDMA), benzodiazepines, cannabinoids, cocaine and opiates. These analyses were conducted using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with Neogen's test. As a result of these analyses, the presence of compounds from the above-mentioned groups was not revealed.

In summary, the presence of toluene at a concentration of 1.2  $\mu$ g/ml was shown in the blood, while lidocaine at a concentration of 5.8  $\mu$ g/ml was revealed in the urine. Other substances that could have resulted in the symptoms described in the victim were not found.

## 5. Discussion

When analyzing the obtained results in relation to the nature and circumstances of the case, it can be concluded that the presence of lidocaine in urine may

be a result of its use a long time ago. The presence of toluene in the blood, especially at such a high concentration, is difficult to associate with the event that occurred a dozen or so hours prior to analysis.

Lidocaine is an amide-type local anaesthetic and antiarrhythmic drug. This medicine can cause a number of adverse effects, such as dizziness, euphoria, confusion, double vision, vomiting, and loss of consciousness. Such effects, including the anaesthetic effect of the lidocaine, could be desired by the perpetrator of the rape, and, furthermore, the testimony of the victim – with problems with vision or loss of consciousness – would be unreliable. In the discussed case, the girl did not remember the course of events, and vomited in the night. It can be concluded that the observed symptoms were consistent with ones that may have occurred after the administration of lidocaine.

Lidocaine is a component of many commercial preparations, including ones used for local anaesthesia, and for the treatment of pharyngitis and stomatitis (e.g. Orofar). In recent years, this compound has also often been a detected component of new drugs – so-called legal highs [27]. Determining whether the victim used a preparation containing lidocaine recently, or whether its presence in urine actually came from unconscious administration, is the responsibility of the adjudicating body. Providing information on taken medications and/or drugs together with the secured material would allow for a more complete expert opinion. It should be noted that in cases involving rape, it is especially helpful to obtain as much relevant information about the circumstances of the incident as possible. Unfortunately, collection reports sent in together with the material are very often incorrectly, incompletely or illegibly filled in. But even a fully completed standard collection report leaves many questions unanswered (including ones on taken medications), responses to which are necessary for the analyst both prior to testing and during the interpretation of results.

It is striking, however, that lidocaine was detected only in the urine, while in the blood, there were no traces of this compound at a concentration above 10 ng/ml. Although its biological half-life is 1.5–2 h, concentrations appearing in the blood after use of this drug are relatively high, while the therapeutic concentration range is defined at 0.9–5 µg/ml [18]. The maximum concentrations after oral intake of 500 mg of lidocaine are 0.6–1.1 µg/ml [5], and probably a person giving lidocaine for criminal purposes would administer higher doses, which would also translate into higher concentrations of the drug in the blood.

It cannot be ruled out that the absence of lidocaine in blood was caused by sample collection in an inap-

propriate tube. Stargel et al. [22] observed more than a 20% decrease in the concentration of lidocaine in serum in Vacutainer tubes, in which it had had contact with rubber stoppers. In addition, they showed that the storage of blood in these tubes reduces the degree of plasma protein binding of lidocaine from 56% to 28%. The reason for this phenomenon is the plasticizer TBEP – tris(2-butoxyethyl) phosphate, present in the tubes [21]. In the case described here it may be more likely that there was a decrease in the concentration due to the absorption of lidocaine in the separator gel in the tube. Dasgupta et al. [10] observed a several dozen percent decrease in the concentration of certain drugs (including lidocaine) in blood stored in Vacutainer® SST™ gel tubes. The concentration of lidocaine in the blood decreased by about 30% after just 24–48 h, and was dependent on the volume of the sample [8]. This is particularly important during long-term storage of blood samples of a small volume [11, 19].

Another problem is the interpretation of the result confirming the presence of toluene in blood. The concentration of toluene (1.2 µg/ml) determined in the blood was within the range of concentrations found in cases of inhalation of vapours of a solvent or adhesive (0.2–18.0 µg/ml) [9]. However, the circumstances of the case did not indicate that the victim had used solvents to achieve a state of intoxication. Not much lower concentrations of toluene (0.7–1.1 µg/ml) are detected in smokers who have not been exposed to this compound [5]. The use of toluene in order to facilitate sexual assault also seems unlikely. Due to the fact that the blood sample was not collected in a typical blood collection kit, but in a vial containing separator gel, it was decided to perform an analysis of the gel for the presence of toluene. The study included both the gel from the evidence tube, and an identical, factory-clean, Vacutainer® SST™ II Advance BD tube, which was treated as comparative material. Both these tubes are shown in Figure 3.

BD Vacutainer SST® II Advance™ tubes with separator gel are used to separate blood components and obtain serum. The acrylic-based gel is coated with a clot activator. Blood is drawn directly into the tube (using the standard Vacutainer® blood collection technique), which has to be subsequently gently inverted 5 times to mix the clot activator with blood. Sample prepared in this way is left in a vertical position for at least 30 min, and then centrifuged for 10 min. This results in a barrier separating the serum from the clot [15]. In the discussed case, the tube was used only to secure the blood. The collected blood sample was not subjected to the described procedure as the gel still re-



Fig. 3. Analysed Vacutainer® SST™ II Advance tubes with serum separator gel.

mained at the bottom of the tube, and the serum was not separated off.

In order to determine the toluene in the gel from the evidence and comparative tubes, 0.1 g of these materials was weighed out, and both sample aliquots were placed in 10 ml glass vials, which were capped, and then the headspace phase was analysed using HS-SPME-GC-MS methods according to the procedure described above for evidentiary blood and urine samples. As a result of these analyses, it was found that the separator gel contained toluene at concentrations of: evidence tube – 297  $\mu\text{g/g}$  (Figure 4); comparative tube – 228  $\mu\text{g/g}$ , respectively.

Problems associated with the presence of volatile compounds in the separator gel from the tubes have already been dealt with in the literature [20]. Streete and Flanagan detected the presence of xylene (mixture of o-, m- and p-) and ethylbenzene in blood collected in Sarstedt Monovette gel tubes (4.7 ml capacity). The concentrations of these compounds in serum from tubes were: ethylbenzene – 17.6  $\mu\text{g/ml}$ , and m-, o-, and p-xylene: total 20.6  $\mu\text{g/ml}$ . The above mentioned authors also analysed Vacutainer® SST™ (6 ml and 10 ml) and Sarstedt Monovette Z10 (10 ml) tubes, but in the latter they did not reveal the presence of volatile compounds [23]. The differences may seem surprising, but Sarstedt Monovette Z10 tubes do not contain

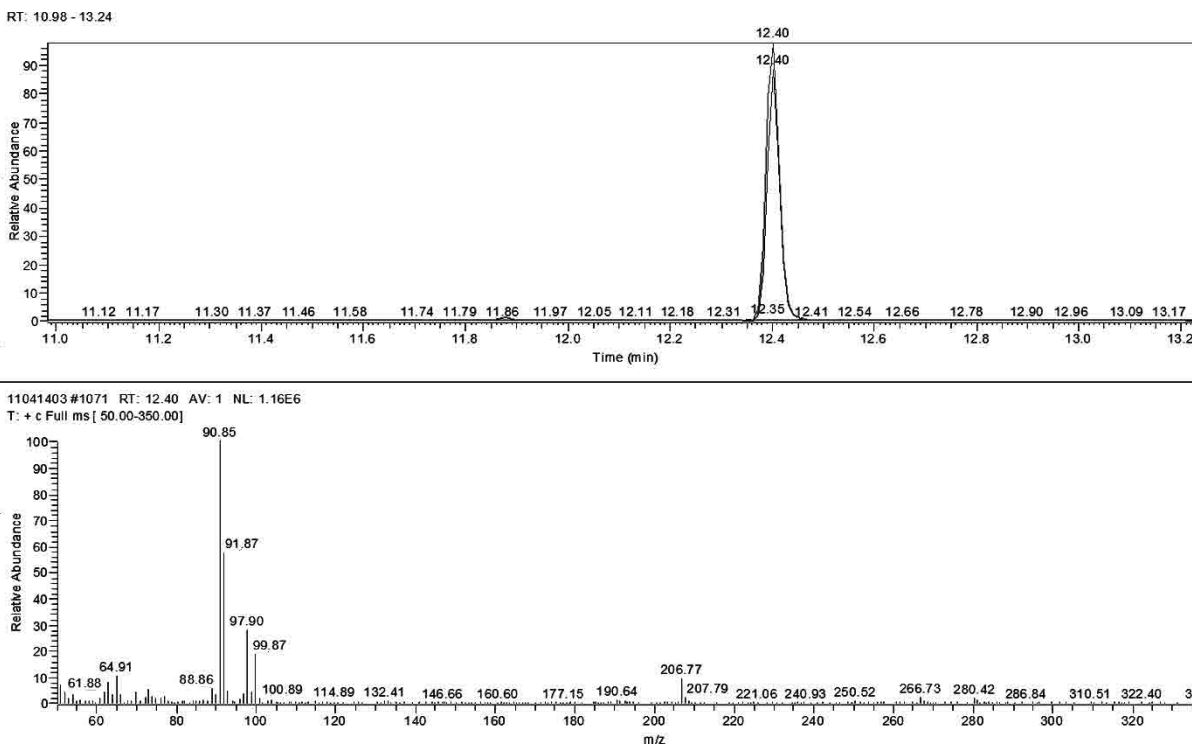


Fig. 4. Chromatogram and mass spectrum of the toluene present in separation gel from the collection tube (GC-MS).

gel and the mentioned Vacutainer® SST™ contained a completely different gel than the currently produced Vacutainer® SST™ II [8]. Dyne et al. [13] analysed the blood of two workers who had lost consciousness, using toluene-based glue. The concentrations of toluene determined during admission to hospital were 2–6 times lower than those determined after 48 hours of hospitalisation. Due to the obtained results, the aforementioned authors examined the used Sarstedt Monovette tubes, and showed significant amounts of toluene, 1-butanol, ethylbenzene, and xylene in them. The differences in the kinds of detected solvents in relation to those identified by Streete and Flanagan [23] were due to the change in gel used in the production of the tubes. The concentrations of toluene in stored blood determined by Dyne et al. [13] were higher (reached a value of about 20 µg/ml) than reported in the case described here (1.2 µg/ml). The cause of these differences could be the use of tubes from another manufacturer as well as the fact that the blood collected in the case described here was not mixed with the gel present in the tube. A similar problem was encountered by Franzen et al., who presented the case of a 31-year-old woman suffering from diabetes and admitted to hospital with symptoms of hyperglycemia. Due to suspicion of poisoning, additional analyses were carried out by gas chromatography, which showed the presence of toluene. Finally, it was shown that the toluene was from the separator gel present in the tube, and the cause of poisoning was cocaine [14]. It should be noted that blood may also be contaminated with other volatile compounds such as 1-butanol or 2-methyl-2-propanol, which appear in blood collected in tubes coated inside with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) [13, 17].

Therefore, in the case of collection of material that will be analysed for volatile substances, tubes should be carefully chosen, and the type of additive contained in them must be also taken into account. Unfortunately, the circumstances of the case are sometimes not known, so it cannot be predicted what kind of analysis will be necessary. In the discussed case, the identification of the source of toluene led to the ruling out of the victim's exposure to this compound. The collection of blood for analysis for the presence of volatile compounds (e.g., obtained from a person suspected of solvent intoxication) in a tube containing gel with toluene or another solvent could lead to a positive result being the result of contamination of the material. In such a case, the presence of toluene in a blood sample would not raise suspicions. In the described case, in the absence of data on drugs possibly taken by the vic-

tim, the question of the interpretation of the presence of lidocaine in urine remains open.

## 6. Summary

Some blood collection tubes with separator gel may contain toluene and other solvents (e.g., xylenes and ethylbenzene), and therefore are inappropriate for collection of material for toxicological analyses, particularly for the presence of volatile compounds. The use of unsuitable collection tubes may lead to erroneous results of analysis, in particular when the material is stored for a long time. The final result of a toxicological analysis depends both on correctly conducted chemical analysis and an appropriate way of collecting and securing biological material.

In cases where the use of drugs for facilitation of rape is suspected, it becomes necessary to provide – along with the collected material – information on taken medicines and drugs.

## References

1. Adamowicz P., Kała M., Date-rape drugs scene in Poland, *Przegląd Lekarski* 2005, 62, 572–575.
2. Adamowicz P., Kała M., Drugs and alcohol as agents used for facilitation of sexual assault, *Problems of Forensic Sciences* 2004, 47, 79–90.
3. Adamowicz P., Kała M., Screening for drug-facilitated sexual assault by means of liquid chromatography coupled to atmospheric-pressure chemical-ionisation-mass spectrometry (LC-APCI-MS), *Problems of Forensic Sciences* 2008, 76, 403–411.
4. Adamowicz P., Kała M., Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas-chromatography-electron ionization-mass spectrometry, *Forensic Science International* 2010, 198, 39–45.
5. Baselt R. C., Disposition of toxic drugs and chemicals in man, Biomedical Publications, Foster City 2011.
6. Bowen R. A. R., Hortin G. L., Csako G. [et al.], Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays, *Clinical Biochemistry* 2010, 43, 4–25.
7. Bush V., Blennerhasset J., Wells A. [et al.], Stability of therapeutic drugs in serum collected in Vacutainer serum separator tubes containing a new gel (SST II), *Therapeutic Drug Monitoring* 2001, 23, 259–262.
8. Bush V. J., Janu M. R., Bathur F. [et al.], Comparison of BD Vacutainer SST Plus Tubes with BD SST II Plus tubes for common analytes, *Clinica Chimica Acta* 2001, 306, 139–143.

9. Buszewicz G., Kiszka M., Czekajska-Luckiewicz H., Interpretacja wyników pośmiertnych badań toksykologicznych w zatruciach toluenem, na przykładzie pięciu przypadków, *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii* 2000, 50, 95–99.
10. Dasgupta A., Blackwell W., Bard D., Stability of therapeutic drug measurements in specimens collected in Vacutainer plastic blood-collection tubes, *Therapeutic Drug Monitoring* 1996, 18, 306–309.
11. Dasgupta A., Dean R., Saldana S. [et al.], Absorption of therapeutic drugs by barrier gels in serum separator blood collection tubes. Volume- and time-dependant reduction in total and free drug concentration, *Therapeutic Drug Monitoring* 1996, 18, 306–309.
12. Drake S. K., Bowen R. A. R., Ramaley A. T. [et al.], Potential interferences from blood collection tubes in mass spectrometry analyses of serum polypeptides, *Clinical Chemistry* 2004, 50, 2398–2401.
13. Dyne D., Cocker J., Streete P. J. [et al.], Toluene, 1-butanol, ethylbenzene and xylene from Sarstedt Monovette serum gel blood collection tubes, *Annals of Clinical Biochemistry* 1996, 33, 355–356.
14. Franzen D., Rentsch K. M., Fischer-Vetter J. [et al.], „Geisterpeak” in der Gas-Chromatografie bei schwerer metabolischer Azidose, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2006, 131, 2770–2773.
15. How to prepare a quality sample using BD Vacutainer® SST™ tubes [http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/plus\_plastic\_tubes\_instructions\_SSTsample\_VS5177.pdf, accessed March, 21, 2013].
16. LeBeau M. A., Mozayani A., Drug-facilitated sexual assault, Academic Press, Boca Raton 2001.
17. Moffat A. C., Clarke’s analysis of drugs and poisons, Pharmaceutical Press, London 2011.
18. Molina D. K., Handbook of forensic toxicology for medical examiners, CRC Press, Boca Raton 2010.
19. Quattrocchi F., Karnes H. T., Robinson J. D. [et al.], Effect of serum separator blood collection tubes on drug concentrations, *Therapeutic Drug Monitoring* 1983, 5, 359–362.
20. Richardson T., Pitfalls in forensic toxicology, *Annals of Clinical Biochemistry* 2000, 37, 20–44.
21. Shah V. P., Interference with measurements of certain drugs in plasma by plasticizer in Vacutainer tubes, *Clinical Chemistry* 1982, 28, 2327–2328.
22. Stargel W. W., Roe C. R., Routledge P. A. [et al.], Importance of blood collection tubes in plasma lidocaine determinations, *Clinical Chemistry* 1979, 25, 617–619.
23. Streete P. J., Flanagan R. J., Ethylbenzene and xylene from Sarstedt Monovette serum gel blood-collection tubes, *Clinical Chemistry* 1993, 39, 1344–1345.
24. Suchan M., Lechowicz W., Determination of inhalational anaesthetics in blood by means of gas chromatography-mass spectrometry detection using headspace solid phase microextraction (HS-SPME-GC-MS), *Problems of Forensic Sciences* 2010, 82, 173–183.
25. Tokarczyk B., Lechowicz W., Inhalation anaesthetics in biological material, *Problems of Forensic Sciences* 2008, 75, 314–325.
26. Wiergowski M., Reguła K., Pieśniak D. [et al.], Pobieranie, przechowywanie i transport materiału biologicznego zabezpieczonego przyżyciowo i pośmiertnie do badania na zawartość alkoholu etylowego oraz środków podobnie działających do alkoholu. Propozycja aktualizacji instrukcji pobierania próbek krwi i moczu, *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii* 2007, 47, 223–230.
27. Zuba D., Byrska B., Prevalence and co-existence of active components of “legal highs”, *Drug Testing and Analysis* 2012, doi: 10.1002/dta.1365.

---

**Corresponding author**

Dr Piotr Adamowicz  
Instytut Ekspertyz Sądowych  
ul. Westerplatte 9  
PL 31-033 Kraków  
e-mail: padamowicz@ies.krakow.pl

---



## ZGWAŁCENIE UŁATWIŁONE PODANIEM LIDOKAINY I TOLUENU? ANALIZA PRZYPADKU

### 1. Wstęp

Użycie środków farmakologicznych w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego nabrało znaczenia na początku XXI wieku i obecnie często znajduje odzwierciedlenie w działalności opiniodawczej w Instytucie Ekspertyz Sądowych (IES). Zgwałcenia z zastosowaniem leków lub narkotyków polegają na podaniu tych środków przyszłej ofierze, która, będąc pod ich działaniem, zostaje wykorzystana seksualnie. Środek jest najczęściej mieszany z napojami, co ułatwia jego podanie bez wzbudzenia podejrzeń. Ofiary zwykle nie pamiętają zaistniałych zdarzeń, a ponadto, po odzyskaniu świadomości, odczuwają zaburzenia orientacji, zawroty głowy, senność, nudności i często mają trudności z poruszaniem się. Wykazanie obecności zastosowanego środka farmakologicznego lub jego metabolitu(ów) w materiale biologicznym pobranym od ofiary może znacznie ułatwić dochodzenie w sprawie o zgwałcenie ułatwione podaniem środka farmakologicznego, a często jest też jedynym dowodem zaistniałego przestępstwa, ponieważ ofiara cierpiąca na niepamięć nie jest w stanie opisać przebiegu zdarzeń [1, 2].

W celu wykluczenia bądź potwierdzenia użycia leku lub narkotyku, rekomendowane jest jak najszybsze pobranie od ofiary próby lub prób materiału biologicznego. W przypadku, kiedy od zdarzenia upłynęło kilka do kilkunastu godzin, najlepiej pobrać zarówno próbę krwi, jak i moczu. Po kilkudziesięciu godzinach od zdarzenia stężenie podanego środka we krwi może ulec obniżeniu do wartości leżących poniżej granicy wykrywalności większości metod analitycznych, a wtedy mocz staje się najistotniejszym materiałem. Stężenia podanych środków lub ich metabolitów w tym materiale są znacznie wyższe niż we krwi, lecz trudne do interpretacji w odniesieniu zarówno do oceny ciężkości zatrucia, jak i czasu narażenia na ksenobiotyk. Niemniej nawet ten materiał może stać się bezużyteczny, jeżeli zostanie pobrany po kilku dniach od zaistniałego zdarzenia. Wówczas niezastąpionym materiałem do przeprowadzenia tego typu badań stają się włosy. Jednorazowe przyjęcie substancji może jednak nie prowadzić do wystąpienia w tym materiale odpowiednio wysokiego stężenia, które byłoby mierzalne nawet przy zastosowaniu czułych i specyficznych technik łączonych [16].

Prócz jak najszybszego pobrania odpowiedniego materiału do badań bardzo ważną kwestią jest jego prawidłowe zabezpieczenie. Nieodpowiednie zabezpieczanie materiału dowodowego we wszystkich sprawach, w tym o zgwałcenie z użyciem środka farmakologicznego, może istotnie wpływać na uzyskane wyniki, a w konsekwencji

na ustalenie sposobu dokonania przestępstwa. Problematyka odpowiedniego pobierania i zabezpieczania materiału do badań toksykologicznych była poruszana w piśmiennictwie wielokrotnie [26]. Najbardziej drastycznym przypadkiem jest rozlanie krwi w czasie transportu. Pomijając wszelkie manipulacje zewnętrzne prowadzące do zniszczenia opakowania, bardzo często próba krwi w probówce bez środka konserwującego (NaF) ulega fermentacji, zwłaszcza w okresie wiosennym i letnim, a gazy fermentacyjne wypychają korek. Umieszczenie materiału w nieodpowiednich fiolkach może także prowadzić do uzyskania fałszywie zarówno dodatnich, jak i ujemnych wyników. Znajdujące się w niektórych fiolkach dodatki (m.in. aktywatory krzepnięcia, żele rozdzielające, EDTA) mogą wpływać na wyniki otrzymane metodami immunoenzymatycznymi oraz spektrometrycznymi [6, 12]. Wpływ interferencji wywoływanych przez poszczególne dodatki znajdujące się we fiolkach, jak i przez składniki materiałów, z których wykonane są elementy fiolek (m.in. gumowe zatyczki, substancje smarne i surfaktanty), został szczegółowo i obszernie omówiony przez Bowna i in. [6]. EDTA i heparyna mogą fałszować wyniki wielu testów immunologicznych, podobnie jak surfaktanty, które dodatkowo wpływają na oznaczenia metodą spektrometrii mas (np. MALDI-TOF). Analizy w kierunku obecności metali mogą zostać zaburzone składnikami znajdującymi się wewnątrz i na powierzchni gumowych zatyczek, natomiast aktywatory krzepnięcia wywołują interferencje powodujące zawyżenie wyników oznaczeń litu i magnezu [6]. Problemem jest także niestabilność analitów podczas długiego przechowywania materiału w probówkach [7] spowodowana zarówno procesami fizycznymi (np. adsorpcja na ściankach), jak i chemicznymi (m.in. wpływ dodatków na związanie ksenobiotyków z białkami krwi).

W niniejszej pracy przedstawiono przypadek zgwałcenia nieletniej oraz problematykę związaną z interpretacją uzyskanych wyników badań toksykologicznych w przypadku zabezpieczenia krwi do nieodpowiedniej fiołki.

### 2. Opis przypadku

Do IES nadesłano próby krwi i moczu pobrane od 15-letniej dziewczyny w związku z podejrzeniem dokonania zgwałcenia ułatwionego podaniem środków farmakologicznych. Z otrzymanych zeznań wynikało, że małoletnia wybrała się na spotkanie do znajomych, na którym piła alkohol. Około godziny 22 dziewczyna uda-

ła się do domu nieznanego mężczyzny, gdzie została odnaleziona około godziny 5 rano przez poszukującą ją rodzinę. Dziewczyna nie pamiętała przebiegu zdarzeń, również tego, jak znalazła się w tym domu. Zeznała, że w nocy wymiotowała, a rano odczuwała „ból w okolicach intymnych i podbrzusza”. Materiał do badań pobrano po kilkunastu godzinach od zdarzenia. Krew została zabezpieczona w fiolce z żelazem rozdzielającym na bazie akrylu (BD Vacutainer® SST™ II Advance, pojemność 5 ml), natomiast mocz pobrano do plastikowego pojemnika o pojemności 100 ml. Jednostka zlecająca badania skierowała postanowienie m.in. w celu udzielenia odpowiedzi, czy w zabezpieczonym materiale obecne są: „alkohol, środki odurzające lub psychotropowe albo leki, w szczególności środki stosowane w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego, tzw. date-rape drugs”.

### 3. Materiał i metody

#### 3.1. Materiał biologiczny

Próby krwi kontrolnej (wolnej od analitów) stosowane do opracowania metod otrzymano od stacji krwiodawstwa. Próby moczu kontrolnego pochodziły od osób nieprzyjmujących środków odurzających i leków. Materiał biologiczny przesłany do badań do czasu analizy był przechowywany w temperaturze +4°C.

#### 3.2. Odczynniki

Wzorzec lidokainy pochodził z firmy Cerilliant Corporation (LGC Standards, Warszawa, Polska), papaweryny z National Measurement Institute (Australia), toluenu z firmy Chempur (Piekary Śląskie, Polska), a toluenu-D8 z Sigmy (Sigma-Aldrich Polska, Poznań, Polska). Acetonitryl (MeCN) i kwas mrówkowy 98–100% zakupiono w firmie Merck (Darmstadt, Niemcy), a octan etylu w POCh (Gliwice, Polska).

#### 3.3. Analiza w kierunku lotnych związków organicznych metodami HS-SPME i GC-MS

##### 3.3.1. Przygotowanie próbek

Do szklanych fiolek o pojemności 10 ml pobrano 100 µl krwi lub moczu. Do odmierzonych próbek dodano 10 µl roztworu wzorca wewnętrznego (IS), czyli toluenu-D8 o stężeniu 50 µg/ml, osiągając stężenie końcowe 5 µg/ml. Do izolacji analitu zastosowano metodę nadpowierzchniowej mikroekstrakcji do fazy stałej (HS-SPME) z wykorzystaniem zestawu do SPME firmy Supelco, w skład którego wchodziła mikrostrzykawka do dozowania manualnego i włókno SPME z sorbentem polidimetylosiloksanowym (PDMS) o grubości filmu

100 µm. Absorbpcję na włóknie prowadzono w temperaturze otoczenia przez 10 min. Desorbpcję termiczną w dozowniku prowadzono przez 30 s w temperaturze 200°C [24].

##### 3.3.2. Aparatura i warunki analizy

Analizę w kierunku lotnych związków organicznych prowadzono techniką chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Do badań użyto chromatografu gazowego firmy Thermo Electron Co. FOCUS GC z detektorem masowym DSQ II. Zastosowano dozowanie z podziałem (1:10) strumienia gazu. Rozdział prowadzono na kolumnie kapilarnej SPB-624 (60 m × 0,25 mm I.D., grubość filmu 1,4 µm) firmy Supelco. Zastosowano gradientowy program temperatury. Temperatura początkowa wynosząca 36°C była utrzymywana przez 4 min, a następnie wzrastała z szybkością 20°C/min aż do osiągnięcia wartości końcowej wynoszącej 200°C. Natężenie przepływu helu przez kolumnę było stałe i wynosiło 1,2 ml/min. Czas retencji (*RT*) toluenu wynosił 12,41 min, a jego deuterowanej pochodnej 12,35 min. Temperatura linii transferowej GC-MS nastawiona była na 230°C. Temperatura źródła jonów wynosiła 250°C. Zastosowano jonizację elektronową o energii 70 eV. Detektor masowy pracował w trybie całkowitego prądu jonowego w zakresie stosunku masy do ładunku (*m/z*) 25–300 amu. Akwizycja i analiza danych odbywała się przy zastosowaniu oprogramowania Xcalibur™ Version 1.4 SR1 (Thermo Electron Co.) [25].

#### 3.4. Oznaczanie lidokainy

##### 3.4.1. Przygotowanie próbek

Do próbek krwi i moczu (0,2 ml) umieszczonych we fiolkach Eppendorfa dodawano jako IS papawerynę, aby osiągnąć stężenie wynoszące 100 ng/ml, a następnie 0,5 ml buforu węglanowego (pH 9) oraz 1 ml octanu etylu. Próbkę wytrząsano przez 15 min, po czym wirovano przez 5 min przy 13 000 obr./min. Fazę organiczną (800 µl) przenoszono do szklanych fiolek, a następnie odparowywano do sucha w temperaturze 37°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 100 µl mieszaniny MeCN i wody (1:1, v/v) z dodatkiem kwasu mrówkowego w ilości 1 ml/l fazy, a następnie umieszczano we wkładkach fiolek do automatycznego podajnika próbek.

##### 3.4.2. Aparatura i warunki analizy

Analizę ekstraktów prowadzono przy zastosowaniu chromatografu cieczowego połączonego ze spektrometrem mas serii 1100 firmy Agilent Technologies pracującego w trybie jonizacji przez elektrozpylanie (ESI). Rozdział uzyskano przy użyciu kolumny LiChroCART (125 × 4 mm, 5 µm) z wypełnieniem Purospher RP-18e

firmy Merck utrzymywanej w temperaturze 25°C. Fazę ruchomą, przepływającą przez kolumnę z szybkością 1 ml/min, stanowiła mieszanina acetonitrylu (MeCN) i wody z dodatkiem kwasu mrówkowego w ilości 1 ml/l fazy. Zastosowano następujący program gradientu składu fazy: 0 min – 0% MeCN, 15 min – 100% MeCN, 17 min – 0% MeCN, 20 min – 0% MeCN. Objętość dozowanej próbki wynosiła 20 µl, a całkowity czas analizy 20 min. Czas retencji (*RT*) lidokainy wynosił 5,58 min. Monitorowano wybrane jony (SIM) o *m/z* 235 i 236 dla lidokainy oraz 340 dla papaweryny. Detektor mas, rejestrujący w trybie jonizacji dodatniej, pracował w następujących warunkach: napięcie fragmentora – 60 V, napięcie kapilary – 3500 V, przepływ gazu osuszającego – 13 l/min, temperatura gazu osuszającego – 320°C, ciśnienie nebulizera – 40 psi, czas akwizycji poszczególnych jonów – 132 ms. Zbieranie i analiza danych odbywała się przy zastosowaniu oprogramowania HP LC/MSD ChemStation w wersji A.06.03 (Agilent Technologies).

#### 4. Wyniki badania materiału biologicznego

W pierwszej kolejności zostały zbadane na zawartość alkoholu etylowego próby krwi i moczu. Badania wykonano metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID). W ich wyniku nie wykazano obecności alkoholu, niemniej na otrzymanych chromatogramach zaobserwowano pik, którego nie zidentyfikowano zastosowaną metodą (rycina 1). Dalsza analiza w kierunku lotnych związków organicznych metodami HS-SPME i GC-MS wykazała we krwi obecność toluenu w stężeniu 1,2 µg/ml. Chromatogramy dla wyekstrahowanych jonów (*m/z* 91 i 98) toluenu i jego deuterowanej pochodnej przedstawiono na rycinie 2. W moczu nie stwierdzono natomiast obecności lotnych ksenobiotyków, w tym toluenu.

W następnej kolejności krew i mocz poddano badaniom przesiewowym na obecność środków o różnym działaniu farmakologicznym na organizm ludzki, ze szczególnym uwzględnieniem środków stosowanych w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego. Do badań zastosowano techniki chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD) oraz LC-MS i GC-MS. Analizy wykonano zgodnie z wcześniej opublikowanymi procedurami [3, 4]. W wyniku przeprowadzonych badań w moczu wykazano obecność lidokainy, co potwierdzono analizą ukierunkowaną techniką LC-MS. Wyznaczone stężenie lidokainy w badanym moczu wyniosło 5,8 µg/ml. We krwi nie stwierdzono tego związku w stężeniu powyżej granicy wykrywalności zastosowanej metody wynoszącej 10 ng/ml.

Krew i mocz badano także w kierunku obecności środków odurzających i substancji psychotropowych z grup amfetamin (w tym MDMA), benzodiazepin, kan-

nabinoli, kokainy i opiatów. Powyższe badania wykonano metodą immunoenzymosorbcyjną (ELISA) z zastosowaniem testów firmy Neogen. W wyniku tych analiz nie wykazano obecności związków z wyżej wymienionych grup.

Reasumując, we krwi wykazano obecność toluenu w stężeniu 1,2 µg/ml, a w moczu lidokainy w stężeniu 5,8 µg/ml. Innych środków, które mogłyby spowodować opisane u pokrzywdzonej objawy, nie stwierdzono.

#### 5. Dyskusja

Analizując uzyskane wyniki w odniesieniu do charakteru i okoliczności sprawy, można stwierdzić, że obecność lidokainy w moczu może pochodzić z jej przyjęcia w odległym czasie. Obecność toluenu we krwi, zwłaszcza w tak wysokim stężeniu, trudno jest powiązać z zaistniałym przed kilkunastoma godzinami zdarzeniem.

Lidokaina jest amidowym środkiem znieczulenia miejscowego oraz lekiem przeciwyrtmicznym. Lek ten może powodować szereg niepożądanych efektów, takich jak zawroty głowy, euforia, splątanie, podwójne widzenie, wymioty oraz utrata przytomności. Efekty takie, w tym działanie anestetyczne lidokainy, mogłyby być pożądane przez sprawcę zgwałcenia, a zeznania ofiary przy problemach z widzeniem lub utratą przytomności byłyby mało wiarygodne. W omawianej sprawie dziewczyna nie pamiętała przebiegu zdarzenia, a w nocy wymiotowała. Można więc wnioskować, że zaobserwowane objawy były zgodne z tymi, jakie mogły wystąpić po podaniu lidokainy.

Lidokaina jest składnikiem wielu popularnych preparatów, w tym stosowanych do miejscowych znieczuleń, w leczeniu stanów zapalnych gardła i jamy ustnej (np. Orofar). W ostatnich latach związek ten był także często wykrywany składnikiem nowych narkotyków, tzw. dopalaczy [27]. Ustalenie, czy ofiara stosowała preparat zawierający lidokainę w ostatnim czasie, czy jej obecność w moczu pochodzi rzeczywiście z nieświadomego przyjęcia, leży w kompetencji organu orzekającego. Dostarczenie wraz z zabezpieczonym materiałem informacji dotyczących przyjmowanych leków i/lub środków odurzających pozwoliłoby na wydanie pełniejszej opinii. Należy zaznaczyć, że w sprawach dotyczących zgwałceń szczególnie pomocne jest uzyskanie jak największej liczby istotnych informacji o okolicznościach zdarzenia. Niestety bardzo często nadsyłane wraz z materiałem protokoły pobrania są nieprawidłowo, niekompletnie lub nieczytelnie wypełnione. Ale nawet kompletnie wypełniony standardowy protokół pobrania nie daje odpowiedzi na wiele pytań (w tym dotyczących przyjmowanych leków), na których odpowiedzi są niezbędne dla analityka zarówno przed przystąpieniem do badań, jak i podczas interpretacji uzyskanych wyników.

Zastanawiające jest jednak, że lidokainę wykazano tylko w moczu, podczas gdy we krwi nie stwierdzono nawet śladowych ilości tego związku w stężeniu powyżej 10 ng/ml. Pomimo, że jej biologiczny okres półtrwania wynosi 1,5–2 h, to stężenia pojawiające się we krwi po przyjęciu tego leku są stosunkowo wysokie, a zakres stężeń terapeutycznych określany jest na 0,9–5 µg/ml [18]. Maksymalne stężenia po doustnym przyjęciu 500 mg lidokainy wynoszą 0,6–1,1 µg/ml [5], a prawdopodobnie osoba stosująca lidokainę w celach przestępczych zastosowałaby większe dawki, co jednocześnie przełożyłoby się na wyższe stężenia tego leku we krwi.

Nie można również wykluczyć, że nieobecność lidokainy we krwi spowodowana została pobraniem próby do nieodpowiedniej probówki. Stargel i in. [22] zaobserwowali ponad 20% spadek stężenia lidokainy w surowicy w probówkach Vacutainer, w których miała ona kontakt z gumowymi zatyczkami. Ponadto wykazali, że przechowywanie krwi w tych fiolkach obniża stopień wiązania lidokainy z białkami osocza z 56% do 28%. Przyczyną tego zjawiska był obecny we fiolkach plastyfikator TBEP – fosforan tris(2-butoksyetylu) [21]. W opisywanym tu przypadku bardziej prawdopodobne mogło być zmniejszenie się stężenia lidokainy wskutek jej absorpcji w żelu rozdzielającym znajdującym się w fiolce. Dasgupta i in. [10] zaobserwowali kilkudziesięcioprocentowy spadek stężenia niektórych leków (w tym lidokainy) we krwi przechowywanej we fiolkach Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> z żelem. Stężenie lidokainy we krwi zmniejszyło się o około 30% już po 24–48 h i było zależne od objętości próby [8]. Zjawisko to jest szczególnie istotne podczas długiego przechowywania prób krwi o małej objętości [11, 19].

Kolejnym problemem stała się interpretacja wyniku stwierdzającego obecność toluenu we krwi. Wykazane we krwi stężenie toluenu (1,2 µg/ml) mieściło się w zakresie stężeń spotykanych w przypadku wdychania rozpuszczalnika lub par kleju (0,2–18,0 µg/ml) [9]. Z okoliczności sprawy nie wynikało jednak, aby poszkodowana stosowała rozpuszczalniki w celu wprowadzenia się w stan odurzenia. Niewiele niższe stężenia toluenu (0,7–1,1 µg/ml) są wykrywane u palaczy, którzy nie byli narażeni na ten związek [5]. Zastosowanie toluenu w celu ułatwienia wykorzystania seksualnego również wydaje się mało prawdopodobne. Ze względu na fakt, że próba krwi nie została zabezpieczona w typowym pakiecie do pobierania krwi, lecz do fiolki zawierającej żel rozdzielający, postanowiono wykonać analizę żelu na zawartość toluenu. Badaniom poddano zarówno żel pochodzący z dowodowej fiolki, jak i identycznej, fabrycznie czystej fiolki Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> II Advance firmy BD, którą potraktowano jako materiał porównawczy. Obie przedmiotowe fiolki przedstawiono na rycinie 3.

Probówki BD Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> II Advance z żelem rozdzielającym służą do rozdzielania składników krwi i uzyskania surowicy. Żel na bazie akrylu powleczony jest aktywatorem krzepnięcia. Krew jest pobierana bezpośrednio do probówki (za pomocą standardowej techniki pobierania krwi Vacutainer<sup>®</sup>), która następnie ma być 5 razy delikatnie odwracana w celu wymieszania krwi z aktywatorem krzepnięcia. Tak przygotowaną próbkę pozostawia się w pozycji pionowej na przynajmniej 30 min, a następnie wiruje przez 10 min. W efekcie powstaje bariera oddzielająca surowicę od skrzepu [15]. W omawianej sprawie fiolka została użyta tylko do zabezpieczenia krwi. Pobrana próbka krwi nie została poddana opisanej procedurze, ponieważ żel wciąż pozostał na dnie fiolki, a surowica nie została oddzielona.

W celu oznaczenia toluenu w żelu z fiolki dowodowej i porównawczej odważono po 0,1 g tego materiału, a obie naważki umieszczono w szklanych fiolkach o pojemności 10 ml, które zakapslowano, a fazę nadpowierzchniową poddano analizie metodą HS-SPME-GC-MS zgodnie z procedurą opisaną powyżej dla dowodowych próbek krwi i moczu. W wyniku tych analiz stwierdzono, że żel rozdzielający zawiera toluen w stężeniach odpowiednio: fiolka z materiałem dowodowym – 297 µg/g (rycina 4); fiolka porównawcza – 228 µg/g.

Problematyka związana z obecnością lotnych związków w żelu rozdzielającym obecnym we fiolkach była już poruszana w piśmiennictwie [20]. Streete i Flangan wykryli obecność ksylenu (mieszania o-, m- i p-) oraz etylobenzenu we krwi zabezpieczonej we fiolkach z żelem Sarstedt Monovette o pojemności 4,7 ml. Stężenia tych związków w surowicy z fiolki wynosiły odpowiednio: etylobenzen 17,6 µg/ml, m-, o- i p-ksylen razem 20,6 µg/ml. Wyżej wymienieni autorzy badali również fiolki Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> (6 ml i 10 ml) oraz fiolki Sarstedt Monovette Z10 (10 ml), ale w tych ostatnich nie wykazali obecności lotnych związków [23]. Różnice mogą wydawać się zaskakujące, ale fiolki Sarstedt Monovette Z10 nie zawierają żelu, a wspomniane Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> zawierały zupełnie inny żel niż obecnie produkowane Vacutainer<sup>®</sup> SST<sup>™</sup> II [8]. Dyne i in. [13] analizowali krew dwóch pracowników, którzy stracili przytomność, używając kleju na bazie toluenu. Stężenia toluenu wyznaczone podczas przyjęcia do szpitala były 2–6 razy niższe niż wyznaczone po 48 godzinach hospitalizacji. Ze względu na uzyskane wyniki wspomniani autorzy przebadali użyte fiolki Sarstedt Monovette i wykazali w nich znaczne ilości toluenu, 1-butanolu, etylobenzenu i ksylenu. Różnice w rodzajach wykrytych rozpuszczalników w stosunku do stwierdzonych przez Streeta i Flangana [23] były spowodowane zmianą żelu stosowanego w produkcji fiolek. Stężenia toluenu w przechowywanej krwi oznaczone przez Dyne'a i in. [13] były wyższe (osiągały wartości około 20 µg/ml) niż wykazane w opisywanym tu przypadku (1,2 µg/ml). Przyczyną tych różnic mogło

być zastosowanie fiolek innego producenta, jak również fakt, że zabezpieczona w opisaną tu sprawą krew nie została wymieszana z żelem obecnym we fiołce. Z podobnym problemem zetknęli się Franzen i in., którzy przedstawili przypadek 31-letniej kobiety cierpiącej na cukrzycę i przyjętej do szpitala z objawami hiperglikemii. Ze względu na podejrzenie zatrucia zostały przeprowadzone dodatkowe badania metodą chromatografii gazowej, w wyniku których stwierdzono obecność toluenu. Ostatecznie wykazano, że toluen pochodził z żelu rozdzielającego obecnego we fiołce, a przyczyną zatrucia była kokaina [14]. Należy zaznaczyć, że krew może być także zanieczyszczona innymi związkami lotnymi, np. 1-butanolem lub 2-metylo-2-propanolem, które pojawiają się we krwi przechowywanej we fiolkach pokrytych wewnątrz kwasem etylenodiaminotetraoctowym (EDTA) [13, 17].

Dlatego też w przypadku zabezpieczania materiału, który ma być analizowany w kierunku zawartości substancji lotnych, należy rozważnie wybierać fiołki, a także brać pod uwagę rodzaj znajdującego się w nich dodatku. Niestety czasem nie są znane okoliczności sprawy, a więc nie można przewidzieć, jakiego rodzaju badania będą konieczne do przeprowadzenia. W omawianej sprawie określenie źródła toluenu pozwoliło na wykluczenie narażenia ofiary na ten związek. Zabezpieczenie do fiołki zawierającej żel z toluenem lub innym rozpuszczalnikiem krwi, która miałaby być badana w kierunku obecności związków lotnych (np. pobranej od osoby podejrzewanej o odurzanie się rozpuszczalnikami) mogłoby doprowadzić do uzyskania pozytywnego wyniku będącego rezultatem kontaminacji materiału. W takim przypadku obecność toluenu we krwi nie budziłaby podejrzeń. W niniejszej sprawie, przy braku danych dotyczących ewentualnie przyjmowanych przez ofiarę środków farmakologicznych, otwarta pozostaje kwestia interpretacji obecności lidokainy w moczu.

## 6. Podsumowanie

Niektóre fiołki do pobierania krwi z żelem rozdzielającym mogą zawierać toluen oraz inne rozpuszczalniki (np. ksyleny i etylobenzen), w związku z czym są nieodpowiednie do zabezpieczania materiału do badań toksykologicznych, zwłaszcza w kierunku obecności związków lotnych. Stosowanie nieodpowiednich fiolek do pobierania materiału może prowadzić do błędnych wyników analizy, w szczególności, gdy materiał jest przechowywany przez dłuższy czas. Końcowy wynik analizy toksykologicznej zależy zarówno od prawidłowo przeprowadzonej analizy chemicznej, jak i właściwego sposobu pobrania i zabezpieczenia materiału biologicznego.

W sprawach, w których podejrzewane jest podanie środków farmakologicznych w celu ułatwienia dokonania zgwałcenia, niezbędne staje się dostarczenie – wraz z zabezpieczonym materiałem – informacji dotyczących przyjmowanych leków i środków odurzających.