

УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ КАЛА В СЛЕДАХ НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ МЕТОДОМ ВОСХОДЯЩЕЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А. П. Четвертнова^{1,3}, А. Л. Федоровцев², Н. С. Эделев^{2,3}

¹ ОГБУЗ «Костромское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», Кострома

² ГБУЗ НО «Нижегородское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», Нижний Новгород

³ Кафедра клинической судебной медицины ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, Нижний Новгород

Аннотация: В статье приведены результаты исследования пигментного состава кала в следах на вещественных доказательствах методом восходящей тонкослойной хроматографии. Целью исследования была разработка способа установления наличия кала, основанного на обнаружении желчного пигмента – стеркобилина. Исследовали образцы кала от трупов взрослых лиц без видимых болезненных изменений печени, желчного пузыря, кишечника, со сроками хранения материала от 3 суток до 1 года. При хроматографии образцов кала в системе растворителей бутанол – дистиллированная вода – ледяная уксусная кислота (4:1:2) после обработки хроматограмм реактивом Эрлиха получены положительные результаты – появление полос красного цвета с $R_f = 0,55-0,60$, что подтверждает присутствие стеркобилина. При исследовании образцов мекония, крови, слюны, пота, влагалищного содержимого и мочи данным способом реакция на наличие стеркобилина была отрицательной. Данный способ может быть использован в практической работе для установления наличия кала в следах на вещественных доказательствах.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография, кал, стеркобилин

DETERMINATION OF FECES IN TRACES ON MATERIAL EVIDENCE BY THE METHOD OF ASCENDANT THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

A. P. Chetvertnova, A. L. Fedorovtsev, N. S. Edelev

Abstract: The article presents the results of a study of the pigment composition of feces in traces on material evidence by the method of thin-layer chromatography. The aim of the study was to develop a method for determining the presence of feces based on the detection of stercobilin. The objects of the study were samples of feces of adults without visible pathological changes in the liver, gallbladder, intestines in a sectional study, with a fence age of 3 days to 1 year. When using chromatography of fecal samples in the solvent system butanol-distilled water-glacial acetic acid (4:1:2) and subsequent processing with Ehrlich reagent positive results were obtained – the appearance of red stripes on chromatograms at $R_f = 0,55-0,6$, which indicates the presence of stercobilin. When studying the samples of meconium, blood, saliva, sweat, vaginal contents, and urine by this way, the reaction to the presence of stercobilin was negative. Thus, this method can be used in practice to determine the presence of feces in the traces on physical evidence.

Keywords: thin-layer chromatography, feces, stercobilin

<http://dx.doi.org/10.19048/2411-8729-2018-4-4-30-32>

При проведении судебно-биологических экспертиз, поводом к назначению которых являлось совершение насильственных действий сексуального характера (ст. 132 УК РФ), а именно введение полового члена или других предметов в прямую кишку, перед экспертом стоит вопрос об обнаружении элементов кала на вещественных доказательствах [1].

В настоящее время наличие кала устанавливают микроскопическим методом [2, 3, 4, 5] и, как показывает практика, при исследовании микроследов, гниении материала, что далеко не редкость, типичные для кала морфологические элементы зачастую не выявляются. А. Sinelnikov, E. Kopitov, K. Reich (2017) разработали способ обнаружения кала в следах на вещественных доказательствах полимеразной цепной реакцией, который основан на выявлении 16S рРНК гена *B. dorei* микрофлоры кишечника человека [6]. Однако этот метод является дорогостоящим, трудоемким и не всегда дает положительные результаты, что связано с вариативностью количества и состава кишечной микрофлоры у разных лиц. Таким образом, существующие способы по установлению наличия кала в следах на вещественных доказательствах не лишены недостатков, что подчеркивает актуальность исследования.

◇ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка простого, доступного и специфичного способа установления наличия кала в следах на вещественных доказательствах.

◇ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовано 50 образцов кала, изъятых от трупов мужчин и женщин в возрасте от 40 до 75 лет без признаков гниения и без видимых болезненных изменений печени, желчного пузыря и кишечника, со сроками хранения материала от 3 суток до 1 года, методом восходящей тонкослойной хроматографии.

Известно, что основным пигментом кала в норме является стеркобилин, который придает ему характерную коричневую окраску [7].

С целью выявления стеркобилина в следах нами был выбран метод восходящей тонкослойной хроматографии, отличающийся простотой, экономичностью, доступностью оборудования и гибкостью, позволяющей легко модифицировать его в соответствии с поставленной задачей [8].

Суть метода заключается в том, что на хроматографическую пластину с закрепленным на ней слоем сорбента наносят анализируемый раствор и помещают в хроматографическую камеру с растворителем, кото-

рый, двигаясь к противоположному краю пластины под действием капиллярных сил, разделяет исследуемый раствор на компоненты. Окрашенные вещества не требуют специального обнаружения, бесцветные пятна делают видимыми, обрабатывая хроматограммы соответствующим реагентом-обнаружителем. Положение зоны вещества на хроматограмме характеризуется величиной R_f , которая равна отношению расстояния, пройденного исследуемым веществом, к расстоянию, пройденному растворителем [9, 10, 11].

В судебной биологии метод восходящей тонкослойной хроматографии является основным при установлении наличия крови, пота, мочи [12].

Вырезки с марлевых тампонов из пятен кала размерами 0,5×0,5 см заливали 0,5 мл физиологического раствора и экстрагировали в течение 24 часов при температуре 4 °С. Для хроматографирования использовали хроматографические пластины Sorbfil ПТСХ-АФ-В размерами 10,0×10,0 см с толщиной слоя силикагеля 90–120 мкм. На линию старта, отступив 1,5 см от нижнего края хроматографической пластины, на слой силикагеля наносили капилляром по капле вытяжек из исследуемых объектов и подсушивали ее при комнатной температуре. С целью насыщения пятен эту процедуру повторяли 2–3 раза. Пластины с нанесенными на нее вытяжками из объектов помещали в камеру так, чтобы растворитель не соприкасался с линией старта. Когда растворитель достигал верхнего края пластины, ее извлекали из камеры и черным графитовым карандашом отмечали уровень растворителя – линию финиша.

В качестве растворителей использовали следующие системы: хлороформ – уксусная кислота (100:3), бензол – этилацетат – этанол (90:20:7,5), бензол – этанол (25:2), хлороформ – этанол (50:1), бутанол – дистиллированная вода – ледяная уксусная кислота (4:1:2) [13].

В системах бензол – этанол (25:2), хлороформ – этанол (50:1) получены отрицательные результаты – отсутствие видимых при дневном свете окрашенных участков на хроматограммах.

В системах бензол – этилацетат – этанол (90:20:7,5), хлороформ – уксусная кислота (100:3) и бутанол – дистиллированная вода – ледяная уксусная кислота (4:1:2) получены положительные результаты – появление полос оранжевого цвета на хроматограммах. Для работы нами была выбрана система бутанол – дистиллированная вода – ледяная уксусная кислота (4:1:2), широко применяемая в работе судебно-биологических отделений для установления наличия крови, пота и мочи.

Для того чтобы подтвердить наличие именно стеркобилина в исследуемых участках на хроматограммах, использовали унифицированную бензальдегидную пробу Нейбауэра (1979), которая основана на том, что уробилиногеновые тела, в том числе стеркобилин, с реактивом Эрлиха образуют соединение красного цвета [14]. Для этого пластину после элюирования помещали в термостат на 2–3 минуты при температуре 50–52 °С, обрабатывали реактивом Эрлиха (10% раствор парадиметилбензальдегида в концентрированной соляной кислоте) и прогревали в вертикальном положении в течение 2–3 минут при температуре 50–52 °С. При этом оранжевые полосы на хроматограммах окрашивались в красный цвет, что подтверждает факт наличия стеркобилина в исследуемых участках на хроматограммах.

Для каждого образца рассчитывали величину R_f . При этом получены следующие результаты: при хроматографировании 50 образцов кала в системе растворителей бутанол – дистиллированная вода – ледяная уксусная кислота (4:1:2) отмечалось появление полос оранжевого

цвета с $R_f = 0,55–0,60$, которые после обработки реактивом Эрлиха приобретали красную окраску, что свидетельствовало о наличии в исследуемых объектах уробилиновых тел (стеркобилина) [15].

С целью изучения специфичности метода восходящей тонкослойной хроматографии по выявлению стеркобилина, кроме образцов кала, данным способом исследовали образцы мекония, крови, слюны, пота, влагалищного содержимого, мочи.

Для этого вырезки из пятен мекония, крови, слюны, пота, влагалищного содержимого, мочи размерами 0,5×0,5 см с марлевых тампонов заливали 0,5 мл физиологического раствора и экстрагировали в течение 24 часов при температуре 4 °С. Затем вытяжки наносили на линию старта хроматографической пластины ПТСХ-АФ-В, элюировали в системе растворителей бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2) и обрабатывали реактивом Эрлиха.

При этом получены следующие результаты: при исследовании образцов мекония, крови, слюны, пота, влагалищного содержимого, мочи реакция на наличие стеркобилина была отрицательной – отсутствие полос красного цвета при $R_f = 0,55–0,60$.

♦ ВЫВОД

Проведенными исследованиями разработан способ установления наличия кала в следах на вещественных доказательствах методом восходящей тонкослойной хроматографии, который основан на выявлении желчного пигмента кала – стеркобилина. Способ отличается простотой, специфичностью, доступностью оборудования и реактивов и может быть применен при проведении судебно-биологических экспертиз по выявлению кала в следах на вещественных доказательствах.

♦ ЛИТЕРАТУРА

1. Загрядская А. П., Федоровцев А. Л., Эделев Н. С. Судебно-медицинская экспертиза в уголовном процессе. Н. Новгород: НижГМА, 1999. 160 с.
2. Барсегянц Л. О., Левченков Б. Д. Судебно-медицинская экспертиза выделений организма. М.: Медицина, 1978. 142 с.
3. Барсегянц Л. О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. М.: Медицина, 1999. 272 с.
4. Бронникова М. А., Гаркави А. С. Методика и техника судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств. М.: Медгиз, 1963. 276 с.
5. Федоровцев А. Л., Ревнитская Л. А., Королева Е. И., Эделев Н. С. Судебно-медицинские цитологические исследования следов на вещественных доказательствах. Н. Новгород, 2009. 152 с.
6. Sinelnikov A., Kopitke E., Reich K. PRS-based tests for forensic detection of feces; use of Bacteroides species as indicator of fecal matter. Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2007;6:37–9. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.011>.
7. Физиология человека / под ред. В. М. Покровского, Г. Ф. Коротько. М.: Медицина, 1997. 368 с.
8. Буланова А. В., Полякова Ю. Л. Хроматография в медицине и биологии. Самара: «Самарский университет», 2006. 116 с.
9. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. М.: Мир, 1988. 403 с.
10. Кибардин С. А., Макаров К. А. Тонкослойная хроматография в органической химии. М.: Химия, 1978. 128 с.
11. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. М.: Мир, 1981. 616 с.

12. Сборник методических документов по судебно-биологическому исследованию вещественных доказательств / сост. С. В. Гуртовая. М.: РЦСМЭ, 1998. 121 с.
13. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармазии и клинической биохимии. М.: Мир, 1980. 348 с.
14. Неменова Ю. М. Методы клинических лабораторных исследований. М.: Медицина, 1967. 443 с.
15. Приоритет на изобретение РФ № 2018115660/26.04.2018 года. Эделев Н. С., Федоровцев А. Л., Четвертнова А. П. Способ установления наличия кала в следах на вещественных доказательствах. Доступно по: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2018115660&TypeFile=html. Ссылка активна на 09.11.2018.
16. Sinelnikov A., Kopitke E., Reich K. PRS-based tests for forensic detection of feces; use of Bacteroides species as indicator of fecal matter. Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2007;6:37–9.
17. Human physiology. Red. V. M. Pokrovskiy, G. F. Korot'ko. Moscow: Meditsina, 1997. 368 p. (In Russian)
18. Bulanova A. V., Polyakova Yu. L. Chromatography in medicine and biology. Samara: «Samarskiy universitet», 2006. 116 p. (In Russian)
19. Gejss F. Fundamentals of thin-layer chromatography. Moscow: Mir, 1988. 403 p. (In Russian)
20. Kibardin S. A., Makarov K. A. Thin layer chromatography in organic chemistry. Moscow: Himiya, 1978. 128 p. (In Russian)
21. Kirhner Yu. Thin layer chromatography. Moscow: Mir, 1981. 616 p. (In Russian)
22. The collection of methodical documents on forensic biological examination of physical evidence. Moscow: RCSME, 1998. 121 c. (In Russian)
23. Sharshunova M. Thin layer chromatography in pharmacy and clinical biochemistry. Moscow: Mir, 1980. 348 p. (In Russian)
24. Nemenova Yu. M. Methods of clinical laboratory research. Moscow: Meditsina, 1967. 443 c. (In Russian)
25. Приоритет на изобретение РФ № 2018115660/26.04.2018 года. Эделев Н. С., Федоровцев А. Л., Четвертнова А. П. А method of establishing the presence of feces in traces on physical evidence. Доступно по: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2018115660&TypeFile=html. Ссылка активна на 09.11.2018. (In Russian)

◇ REFERENCES

1. Zagryadskaya A. P., Fedorovcev A. L., Edelev N. S. Forensic medical examination in criminal proceedings. Nizhniy Novgorod: NiznGMA, 1999. 160 p. (In Russian)
2. Barsegyants L. O., Levchenkov B. D. Forensic medical examination of body secretions. Moscow: Meditsina, 1978. 142 p. (In Russian)
3. Barsegyants L. O. Forensic medical examination of material evidence. Moscow: Meditsina, 272 c. (In Russian)
4. Bronnikova M. A., Garkavi A. S. Methods and techniques of forensic medical examination of material evidence. Moscow: Medgiz, 1963. 276 p. (In Russian)
5. Fedorovtsev A. L., Revnitskaya L. A., Koroleva E. I., Edelev N. S. Forensic medical cytologic research traces the evidence. Nizhniy Novgorod, 2009. 152 p. (In Russian)

Для корреспонденции

ЭДЕЛЕВ Николай Серафимович – д.м.н., проф., начальник ГБУЗ НО «НОБСМЭ», заведующий кафедрой клинической судебной медицины ГБОУ ВПО ПИМУ МЗ РФ; • 603104, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 70, ГБОУ ВПО ПИМУ МЗ РФ • sudmedex-nn@mail.ru • {ORCID: 0000-0002-7341-8833}

ФЕДОРОВЦЕВ Андрей Леонидович – д.м.н., врач – судебно-медицинский эксперт судебно-цитологического отделения ГБУЗ НО «НОБСМЭ» • 603104, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 70, ГБУЗ НО «НОБСМЭ» • A-L-Fedorovcev@yandex.ru • {ORCID: 0000-0002-6281-4689}

ЧЕТВЕРТНОВА Анна Павловна – врач – судебно-медицинский эксперт ОГБУЗ «КОБСМЭ», заочный аспирант кафедры клинической судебной медицины ГБОУ ВПО ПИМУ МЗ РФ • 156000, г. Кострома, ул. Островского, д. 31/23, ОГБУЗ «КОБСМЭ»; 603104, г. Нижний Новгород, пр-т Гагарина, д. 70, ГБОУ ВПО ПИМУ МЗ РФ • Chetvertnova2011@yandex.ru • {ORCID: 0000-0002-4786-1065}