**МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**РГКП «ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ» МЮ РК**

**МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ СЛЮНЫ НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ**

**Нур-Султан 2020г.**

**ПАСПОРТ МЕТОДИКИ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Наименование методики | Методика установления наличия слюны на вещественных доказательствах |
| 2. | Шифр специальности методики | 25.1 Судебно-биологическое исследование (медицинское) |
| 3. | Информация об авторе (составителе) | Составитель: **Итбаева Ж.Ж.-** судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан;  **Зайнуллина Р.В.-** судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по Западно-Казахстанской области; |
| 4. | Сущность методики | Субстратом для амилазы (фермент, присутствующий в большом количестве в слюне) является крахмал (амилаза расщепляет крахмал на моносахара) и при добавлении йода наблюдается синее окрашивание. |
| 4.1. | Экспертные задачи, решаемые методикой | Установление наличия слюны |
| 4.2. | Объекты исследования | Вещественные доказательства |
| 4.3. | Методы исследования | химический |
| 4.4. | Краткое поэтапное описание методики | -кусочки исследуемого материала и предмета-носителя в пробирках обрабатываются небольшим избытком толуола; добавляют по 1 капле раствора Люголя, разведенного 1:3 дистиллированной водой. Если в пятне была амилаза, она расщепляет крахмал, раствор становится прозрачным и измене­ния окраски при добавлении раствора Люголя не происходит. Если слюна отсутствовала, то раствор крахмала остается мутным и синеет при добавлении раство­ра Люголя. |
| 5. | Номер, дата протокола Ученого совета Центра | Протокол №1 от 18.06.2020 года |
| 6. | Информация о лице, составившем паспорт методики | **Итбаева Ж.Ж.-** судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан; |

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

**МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ СЛЮНЫ**

**Установление наличия слюны по методу Барсегянц (по амилазной активности)**

Общие принципы…………….………..……………………..….............4

Условия реакции……...…………………………………………………4

**Установление наличия слюны экспресс-методом**

Общие принципы…………….………..……………………..…..............4

**Установление наличия слюны в крахмально-агаровом геле (микрометод)**

Общие принципы…………….………..……………………..…................4

Оценка результатов………………………………………………………...5

**Установление наличия слюны человека с помощью тест пластинок**

Постановка реакции ……………………..………………………..….......5

Учет результатов……………………………………………………………5

Перечень использованных источников……………………………………**6**

**МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ СЛЮНЫ**

**Установление наличия слюны по методу барсегянц (по амилазной активности)**

Производят путем обнаружения фермента амилазы / принадлежит к группе энзимов, которые расщепляют крахмал на простые сахара/.

- измельченные кусочки исследуемого материала и предмета-носителя в пробирках обрабатываются небольшим избытком толуола(очищает от красителя и загрязнений); в каждую пробирку добавляют по 5 мл солевого раствора картофельного крахмала (свежеприготовленный) и материал на 20-24 часа оставляют в термостате при 37 гр. С.

Верхнюю половину жидкости переносят в чистую пробирку, добавляют по 1 капле раствора Люголя, разведенного 1:3 дистиллированной водой. Если в пятне была амилаза, она расщепляет крахмал, раствор становится прозрачным и измене­ния окраски при добавлении раствора Люголя не происходит. Если слюна отсутствовала, то раствор крахмала остается мутным и синеет при добавлении раство­ра Люголя. Фиолетовое окрашивание жидкости не дает оснований для вывода о наличии или отсутствии слюны. В качестве контроля в реакцию вводят предмет-носитель и заведомую слюну.

Реакция чувствительная - достаточно исследовать очень небольшие участки (10-15 мг) различных сроков давности. Следует иметь в виду, что при большой дав­ности величина навески должна быть увеличена; не рекомендуется брать навески более 100мг, т.к. может быть нарушена специфичность реакции.

Обязательные условия реакции -

а) Работать только с картофельным крахмалом (для пищевых целей).

б) Не повышать чувствительность реакции путем уменьшения количества крахмала - при этом произойдет потеря специфичности.

в) Нельзя изменять время нахождения материала в термостате -реакция разработана для времени в 20-24 часа.

**Установление наличия слюны экспресс-методом**

1.Кусочки из объектов, контроль к ним, кусочки марли с заведомой слюной и контроль к ней, помещают в отдельные пробирки.

2.В каждую пробирку добавляется 1-2 капли 2% солевого раствора картофельного крахмала, чтобы объекты смочились и туда же добавить толуол на 1/3 пробирки. Плотно закрыть пробки пробками и поместить в термостат на 3 часа при температура +370С.

3.По истечении времени пробирки вынуть и вытяжки со дна пробирок перенести на плоскость отдельными пипетками. В каждую лунку с вытяжкой капать по 1 капле раствора Люголя, разведенного дистиллированной водой 1:3.

**Установление наличия слюны в крахмально-агаровом геле (микрометод)**

Небольшая вырезка или смыв исследуемого пятна заливается физиологи­ческим раствором / несколько капель/. Экстрагирование в течение часа при ком­натной температуре. Параллельно готовится крахмально-агаровый гель - 2 г картофельного крахмала, 1 гагара, 100 мл физиологического раствора. Смесь нагре­вают до расплавления агара и наносят гель на предметные стекла толщиной око­ло 1 мм. Пробойником формируют отверстия диаметром 3-5 мм; расстояние между лунками около 1 см. В лунки помещают вытяжки из пятен, контролей предметов-носителей и заведомую слюну (разведение последней 1: 500 –1000). Стекла во влажных камерах помещают для инкубации в термостат при температуре + 37о.С на 1 час.

Окраска - раствор Люголя (1:6 и более).

**Оценка результатов** - если есть слюна - вокруг лунок остается светлая зона, а весь остальной гель - синий.

Чувствительность - 1: 2500 – З000.

Специфичность - не дает положительного результата с кровью, спермой, влагалищным содержимым.

Стекло с гелем может храниться во влажной камере в холодильнике. Для длительного хранения следует добавить консервант - азид натрия.

**Установление наличия слюны человека с помощью тест пластинок**

Реакция основана на содержании α-амилазы в слюне человека, которая взаимодействуя с моноклональными антителами мыши образует комплекс антиген-антитело, мигрирующего с током жидкости до тестовой линии.

**Постановка реакции:**

1. Смыв на ватную палочку с поверхности объектов для экспертизы либо вырезку (площадью около 20мм) инкубируют в 1мл универсального буфера в течение 1-2 часов при комнатной температуре.
2. Отобрать 20мкл полученного экстракта и смешать с 80мкл универсального буфера
3. Полученный объем-100мкл вносят в углубление теста.
4. Оценка результата в течение 10минут

**Учет результатов:**

Учет результатов визуальный. Наличие двух красных полос в контрольной (С) и тестовой зоне (Т) свидетельствует о положительном результате-наличии слюны человека, появление только одной видимой красной полосы в контрольной зоне (С) свидетельствует об отрицательном результате.

**Перечень использованных источников:**

1. Сборник материалов по судебно- медицинской экспертизе.-М.,1960.
2. «Инструкция по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» (Приказ МЗ РК от 20 мая 2010г. № 368) – Астана, 2010
3. Письмо Главного судебно-медицинского эксперта Минздрава РСФСР б/н от 1993г. Памятка по объему и пределам необходимых исследований при проведении экспертизы вещественных доказательств (биологических объектов крови, спермы, пота, мочи, ногтей, гистологических и цитологических препаратов). –М, 1993. -8с
4. Методическое письмо Главного судебно-медицинского эксперта Минздрава СССР. Об определении наличия слюны в пятнах. М.,1961.-
5. «Исследование вещественных доказательств» Томилин. М.1962.

6Методика установления наличия слюныс помощью тест-пластинки «SALIVATEST» – Астана, 2016г.

7Инструкция по применению тест полосок **«**RSIDSALIVA»