**МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

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

**МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ МОЧИ НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ**

**Нур-Султан 2020г.**

**ПАСПОРТ МЕТОДИКИ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Наименование методики | Методика установления наличия мочи 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 | Растворитель, проходя через пятно мочи, разделяет её на компоненты, диагностическим признаком мочи является мочевина, которую проявляют парадиметилбензоальдегидом. |
| 4.1. | Экспертные задачи, решаемые методикой | Установление наличия мочи |
| 4.2. | Объекты исследования | Вещественные доказательства  |
| 4.3. |  Методы исследования | Физико-химический, хроматографический |
| 4.4. |  Краткое поэтапное описание методики | Вытяжки из объектов, предметов - носителей, образца мочи наслаивают на силуфоловую пластинку. Применяют растворитель: бутанол - уксусная кислота - дистиллированная вода в соотношении 4: 1: 2. Проявитель: 1 % раствор парадиметиламинобензальдегида в соляной кислоте. Наличие лимонно – желтого окрашивания – положительный результат.  |
| 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 МОЧИ**

**Методика установление наличия мочи методом тонкослойной хроматографии (мочевина)**

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

**Установление наличия мочи реакцией образования берлинской лазури (креатинин)**

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

Техника исследования……………………………………………………………..4

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

**Установление наличия мочи с помощью теста** ……………………………...6

Перечень использованных источников…………………………………………...6

**МЕТОДИКА УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ МОЧИ**

**Установление наличия мочи методом тонкослойной хроматографии (мочевина)**

Вытяжки из объектов, предметов - носителей, образца мочи наслаивали на силуфоловую пластинку. Применяли растворитель: бутанол - уксусная кислота - дистиллированная вода в соотношении 4: 1: 2. Проявитель: 1 % раствор парадиметиламинобензальдегида в соляной кислоте. Наличие лимонно – желтого окрашивания – положительный результат.

**Установление наличия мочи реакцией образования берлинской лазури (креатинин)**

В лабораторных условиях присутствие мочи можно доказать путем обнаружения ее компонента - креатинина. Способ определения основан на обнаружении креатинина ре­акцией образования берлинской лазури.

Креатинин содержится не только в моче, но также и в крови и других выделениях. Однако, поскольку в моче его значительно больше, реакция на креатинин, при соблюдении определенной методики и техники исследования, практически, специфична для мочи и пригодна для судебно-медицинских целей (проверка специфичности реакции показала, что с пятнами других выделений и крови образование берлинской лазури не происходит даже при исследовании навесок материала, равных 500 мг).

**Техника исследования**

Измельченные ножницами кусочки материала из пятна, подозрительного на мочу, и из расположенного вблизи него участка предмета-носителя помещают в отдельные пробирки и добавляют толуол в таком объеме, чтобы объекты были полностью погружены в него (толуол предотвращает переход в вытяжку красителей и окрашенных загрязнений с вещественных доказательств). Через 5 минут толуол отсасывают пастеровскими пипетками, а к исследуемому материалу приливают 2% раствор уксусной кислоты или 4% раствор трихлоруксусной кислоты (раствор кислоты должен омочить объект и остаться в незначительном избытке). Содержимое пробирок нагревают 3 минуты с небольшими перерывами, не доводя до кипения, над пламенем горелки. Во время нагревания, с целью лучшего экстрагирования, периодически отжимают материал в пробирке стеклянной палочкой. После нагревания жидкость из каждой пробирки переносят в чистую пробирку, охлаждают до комнатной температуры и добавляют 6 капель 10% раствора едкого натра (до рН 10—11 по универсальному индикатору) и 10 капель 1 % водного раствора нитропруссида натрия.

**Оценка результата.**

Когда получающееся при этом красное или оранжевое окрашивание (образование изонитрозокреатинина) перейдет в желтое, приливают 10 капель ледяной уксусной кислоты, и кипятят в пределах 10 минут с небольшими перерывами. Если сине-зеленое окрашивание (образование берлинской лазури) появляется ранее 10 минут, кипячение прекращают. Сине-зеленый цвет жидкости, находящейся в контакте с пятном, при отсутствии окрашивания жидкости, в которой находился контрольный участок предмета носителя, свидетельствует о наличии мочи. Если сине-зеленого окрашивания не происходит (берлинская лазурь не образуется), следует считать, что моча в пятне не обнаружена. В судебно-медицинской практике нельзя ограничиваться получением изонмтрозокреатинина, так как красное или оранжевое окрашивание очень быстро переходит в желтое, а желтый цвет присущ одному из реагентов, входящих в реакцию, — раствору нитропруссида натрия.

Установление присутствия мочи в пятне всегда должно сопровождаться контрольным исследованием таких же по весу кусочков не только материала вещественного доказальства из участка, расположенного в непосредственной близости от пятна, но и из заведомого пятна мочи.

Реакция весьма чувствительная: позволяет обнаруживать креатинин в 0,003—0,05 мл жидкой мочи (содержание креатанина у разных людей несколько варьирует). По экспериментальным данным, положительный результат можно получить с кусочками материала весом от 1 до 15 ,мг из пятен мочи давностью от 2 до 5 дней. По мере старения пятен требуется некоторое увеличение количества материала, до 43 мг при многолетней давности.

Учитывая, что исход реакции на креатининзависит но только от давности пятен, но и от количества в них мочи, в процессе каждой экспертизы следует варьировать величину навесок материала.

Все реактивы должны быть предварительно проверены с заведомыми пятнами мочи. Второй этап реакции не получится даже при работе с заведомыми пятнами мочи, если уксусная кислота ,и раствор щелочи хранились в ненадлежащих условиях (например, при недостаточно герметичной упаковке). Раствор нитропруссида натрия следует хранить в посуде из темного стекла, при длительном хранении он разлагается.

Наличие мочи может быть доказано реакцией на креатинин даже тогда, когда моча попала на пятно крови или когда кровь находится на испачканном мочой материале вещественного доказательства. В таких случаях в реакцию следует обязательно вводить не 2% раствор уксусной кислоты, а 4% раствор трихлоруксусной кислоты, препятствующей переходу в жидкость красящего вещества крови.

Мочу не удается обнаружить в пятнах, подвергшихся вымачиванию в растворе какого-либо моющего средства или в чистой воде хотя бы в течение 3 минут. Проглаживание пятен сильно нагретым утюгом, производимое в течение 1 часа (с перерывами) почти не препятствует последующему обнаружению мочи. Исследование можно производить и с загнившим материалом.

**Установление наличия мочи с помощью тест пластинок**

Реакция основана на содержании урины в крови человека, которая взаимодействует на тест-пластинке с моноклональными антителами мыши с образованием комплекса антиген-антитело, мигрирующего с током жидкости до тестовой линии

**Постановка реакции:**

1. Вырезки из объектов для экспертизы (площадью около 20мм) инкубируют в 100мкл универсального буфера в течение 1-2 часов при комнатной температуре.
2. Отобрать 10мкл полученного экстракта и смешать с 90мкл 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 крови 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 мочи в пятнах. М. 1963г.