

**РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»**



МЕТОДИКА

**УСТАНОВЛЕНИЯ НАЛИЧИЯ СЛОНЫ НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ
ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ**

(шифр специальности – 25.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика установления наличия слюны на вещественных доказательствах
2. Шифр специальности методики	25.1(5)
3. Информация о разработчике методики	Итбаева Ж.Ж. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан ЦСЭ МЮ РК, Зайнуллина Р.В. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по ЗКО ЦСЭ МЮ РК
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. Объекты исследования	Вещественные доказательства
4.2. Методы исследования	Химический
4.3. 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. Дата одобрения методики Ученым Советом ЦСЭ МЮ РК	Протокол №1 от 18.06.2020г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Итбаева Ж.Ж. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории ИСЭ по г.Нур-Султан ЦСЭ МЮ РК

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 реакции5

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 предмет-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 температуре +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 вырезкали 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 слону (разведение последней 1: 500 –1000). Стекла во влажных камерах помещают для инкубации в термостат при температуре + 37°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 – 3000.

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. Смыть 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»