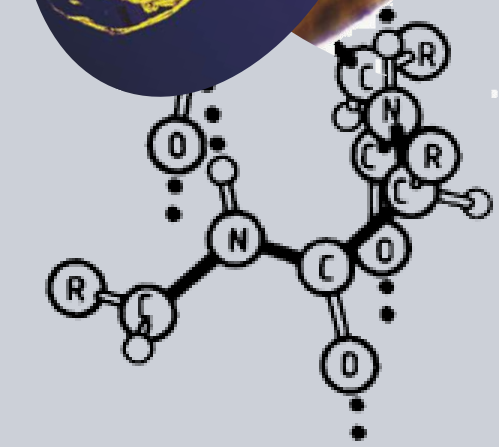
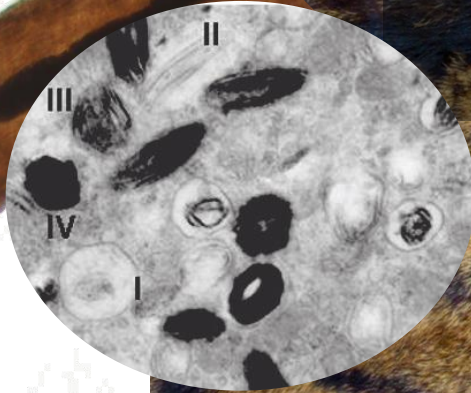
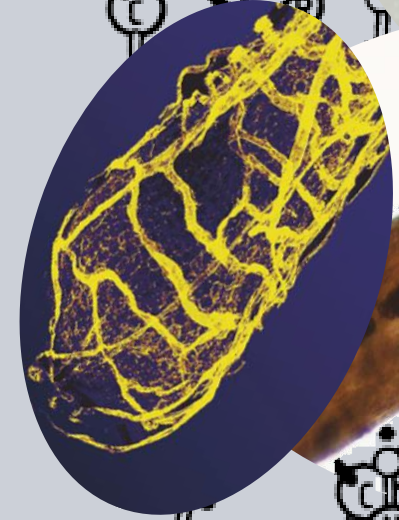
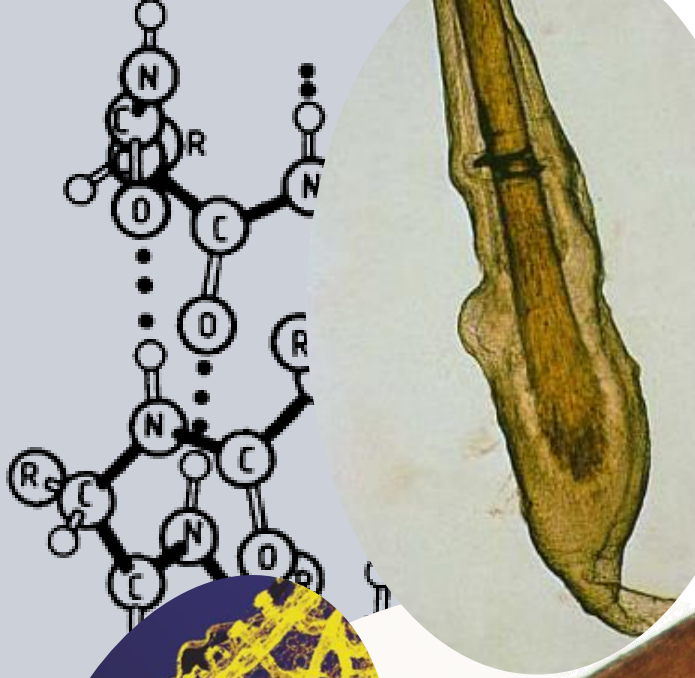


Sylabus předmětu „Forenzní trichologie“

letní semestr 2021

1. trichologický materiál (TM) – důležitá stopa na MČ, vyhledávání, zajišťování, archivace, kontaminace, analýza v laboratoři – zásady znaleckého zkoumání, metody zkoumání; terminologie
2. TM – ontogenetický vývoj, variace a variabilita TM (intraindividuální, interindividuální, etnická); znaky vlasů – morfologické, metrické; fyzikální a chemické vlastnosti
3. poškození TM (mechanické, fyzikální, chemické, biodegradace); kadeřnické úpravy; postseparační a postmortální změny
4. patologické změny, anomálie TM
5. zvířecí TM – rozdíl mezi lidským a zvířecím TM; T-DIAT – digitální atlas zvířecích chlupů
6. vlákna – rozdělení druhů vláken
7. relevantnost a irelevantnost stopy; interpretace a přesnost závěrů trichologického znaleckého zkoumání; akreditace laboratoře

TRICHOLOGIE



Trichologie

Zkoumá LIDSKÉ VLASY A CHLUPY + ZVÍŘECÍ CHLUPY

- *Thrix-, trichos ř. = vlas*
- *Pilus l. = vlas*

členění trichologie – antropologická (variabilita, historické nálezy), archeotrichologie (zachovaný trichologický materiál, pseudomorfy), klinická, experimentálně medicínská, kadeřnictví, veterinární, kožešnictví.....a

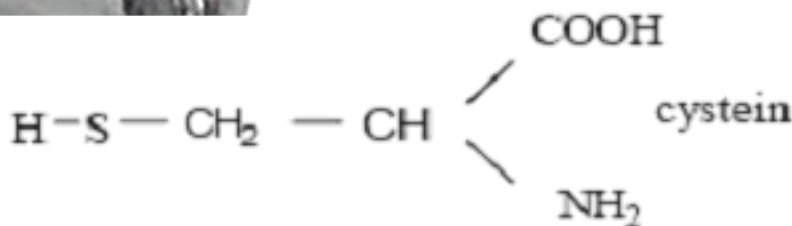
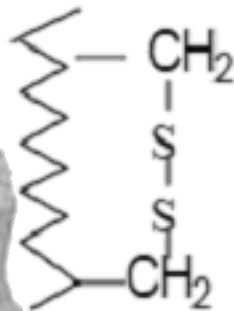
FOREZNÍ /KRIMINALISTCKÁ TRICHOLOGIE

LIDSKÉ VLASY A CHLUPY + ZVÍŘECÍ CHLUPY

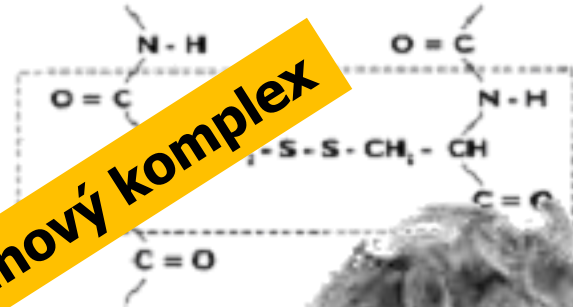
vysoká ODOLNOST vůči vnějším vlivům
zachovány i po staletích ve variabilních prostředích
ničí je: **biodegradace, vysoká teplota, oheň, chemikálie**



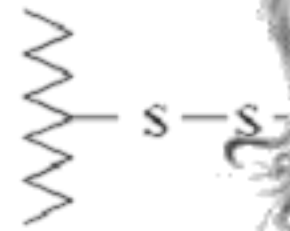
ve vnitřním řetězci (n



keratinový komplex

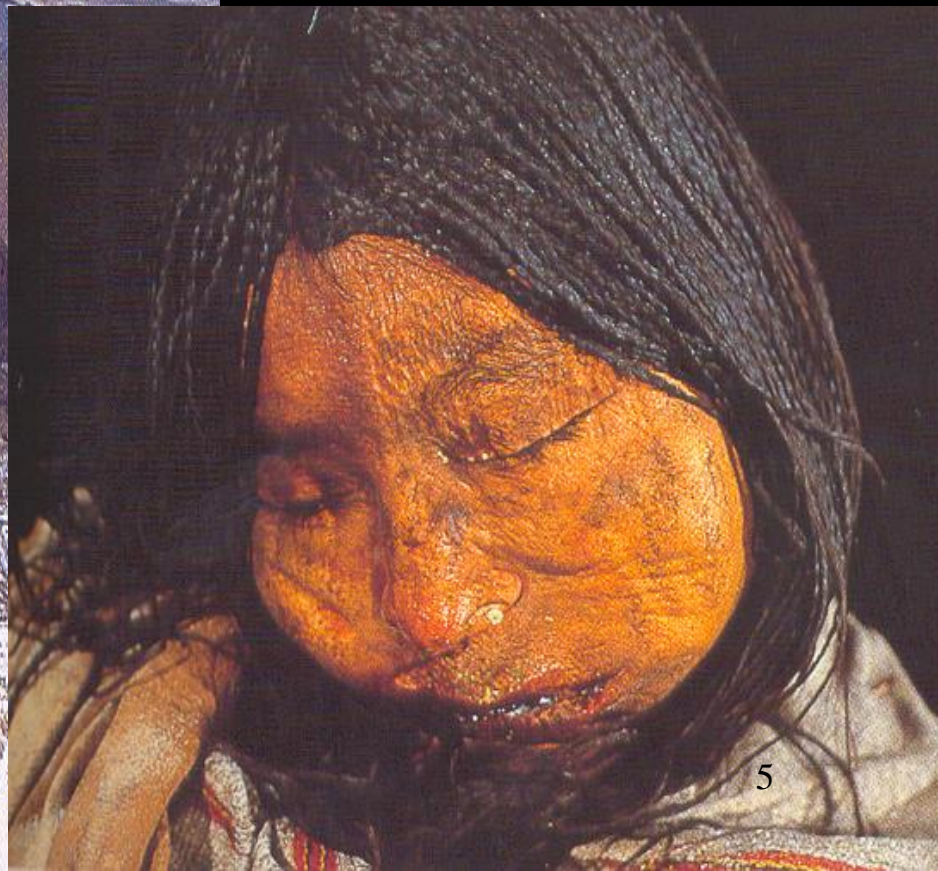


S - S - zesílení ře



Lidské oběti Inků (Llullaillaca)

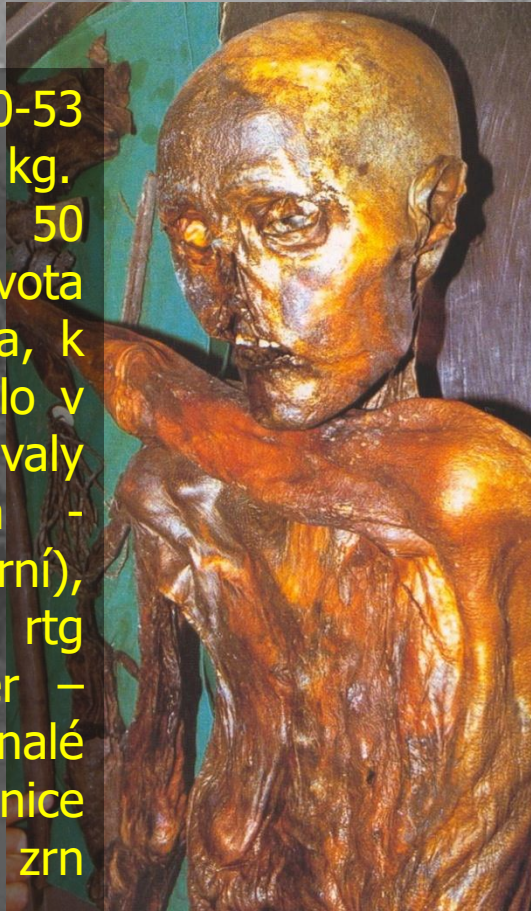
Těla inckých dětských obětí se zachovala v důsledku klimatických podmínek ve vysokých nadmořských výškách v Andách.



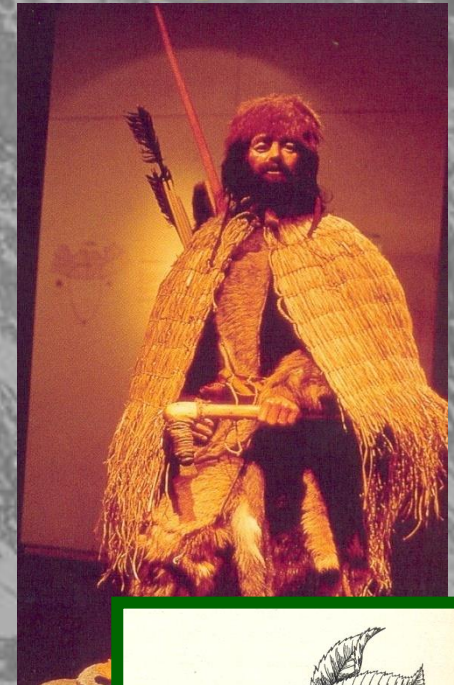
Ötzi

žil v období mezi roky 3400 až 3100 př. n. l. Mumie byla nalezena v září 1991 v Ötztalských Alpách.

Sněžný muž zemřel ve 40-53 letech, měřil 160 cm a vážil 50 kg. Na těle se našlo více než 50 dekorativních tetování. Za života utrpěl zlomeniny nosu a žebra, k dalším zlomeninám žebra došlo v době úmrtí, zuby vykazovaly výrazné opotřebení (strava - nahrubo mleté zrní), arterioskleróza, osteoartritida, rtg - chyběl poslední pár žebra - vzácná anomálie, plíce zčernalé kouřem; ve střevech směs pšenice a masa, 30 typů pylových zrn (habrovec).



ve vlasech se našly stopy kovů



Močály

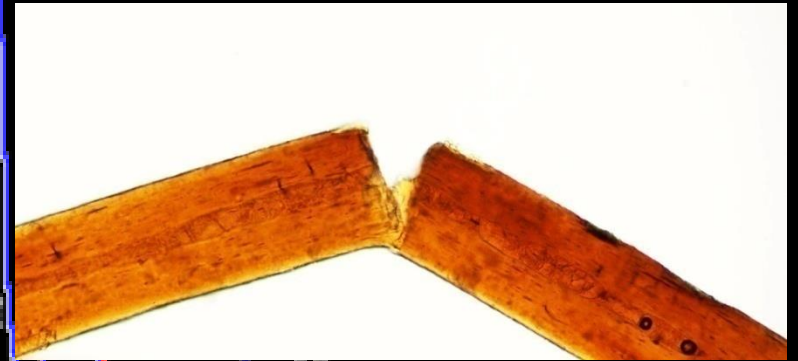
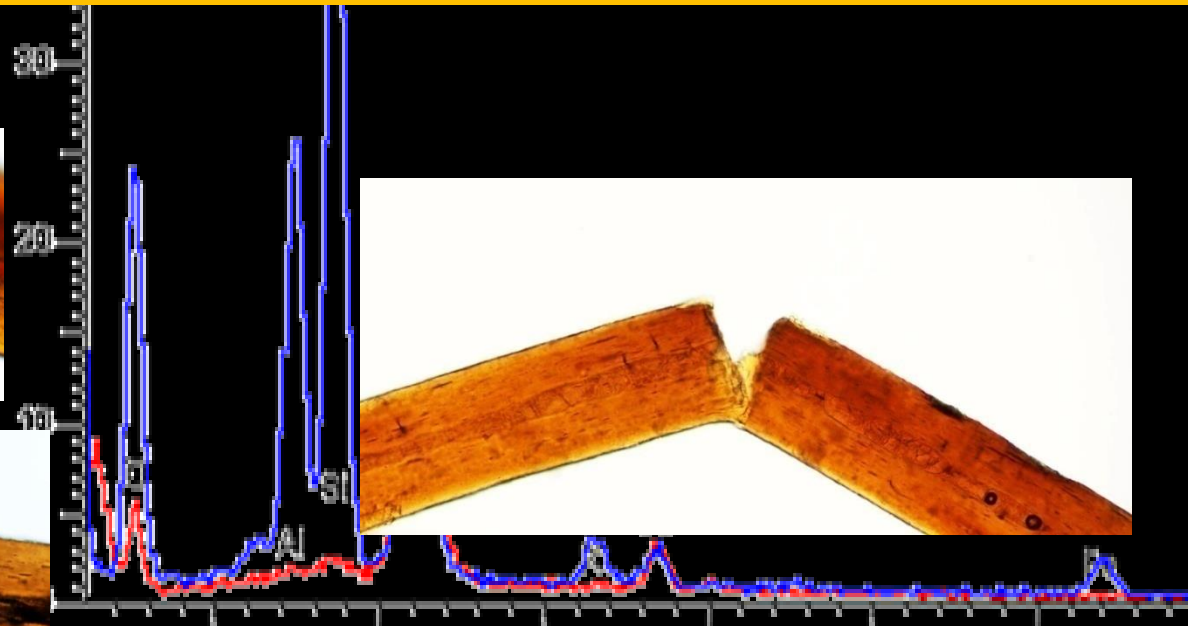
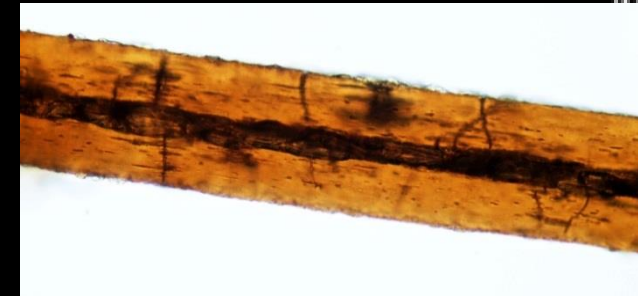
Nálezy těl, zachovaných v rašeliništích severozápadní Evropy, patří lidem, které často zastihla smrt, ať se již jednalo o oběti vražd, popravené zločince nebo lidské oběti.

kyselé prostředí, málo bakterií, Sphagnum

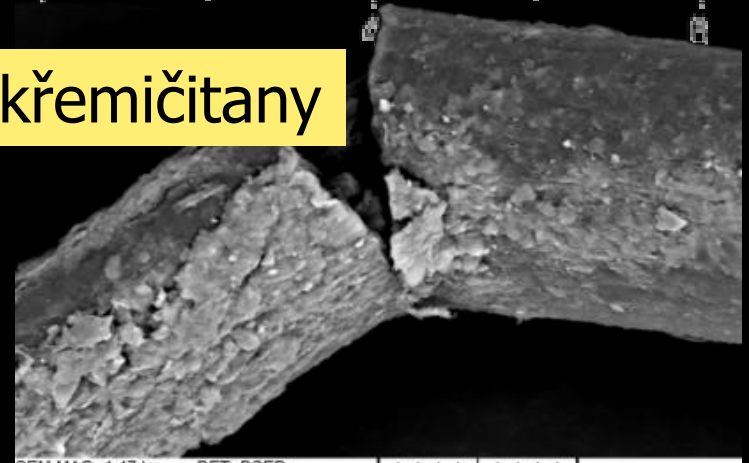


300 let př.n.l.-200 let n.l.

Zliční 5. století n.l.



hlinitokřemičitany



SEM MAG: 1.47 kx
HV: 20.0 kV
VAC: HiVac
DET: BSED
DATE: 12/28/11
Name: vlas02-lom01
50 um
Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging

Nejstarší vlasy nalezeny ve zkameněném trusu hyeny

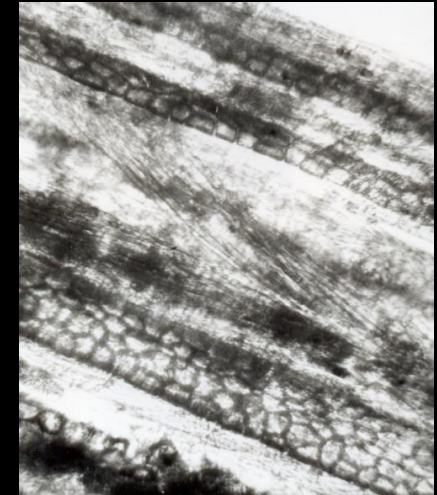
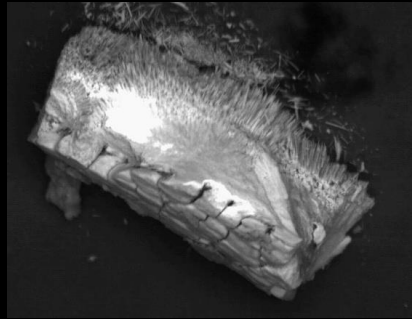


fossilizované lidské vlasy v koprolitech

195 000 – 257 000 let

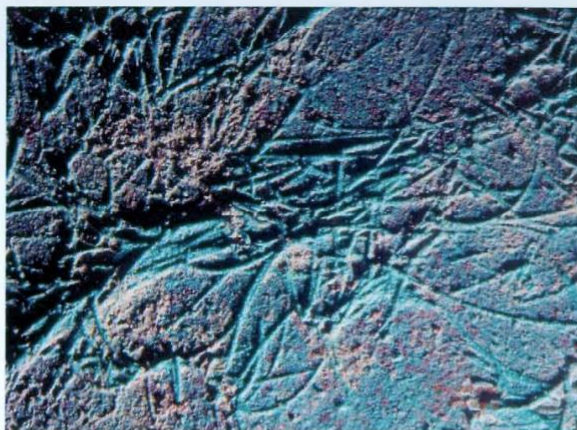
Archeotrichologie

pseudomorfy



©doc. Králík

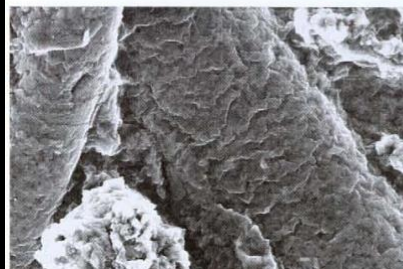
Obr. 17. Detail zvířecí srsti.
Zvětšeno 6,3x.
Fig. 17. A detail of animal
fur. Magnified 6.3x.



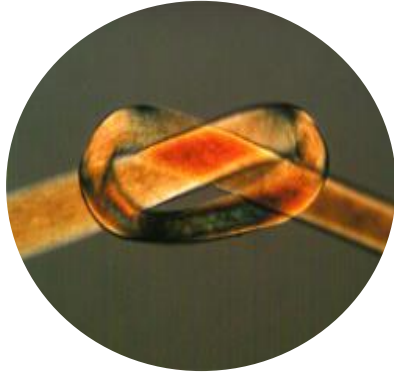
Obr. 18. Matrice vytvořená
pomocí hmoty Microsil™.
Foto H. Eliášová.
Fig. 18. Matrix created with
the aid of a Microsil™ ma-
terial.



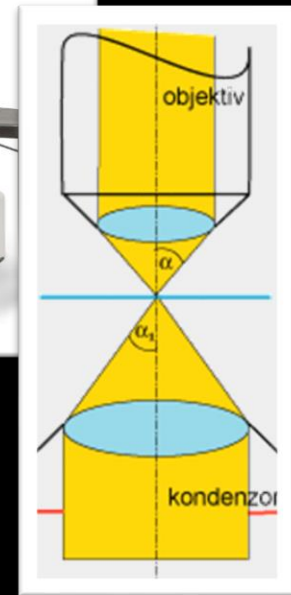
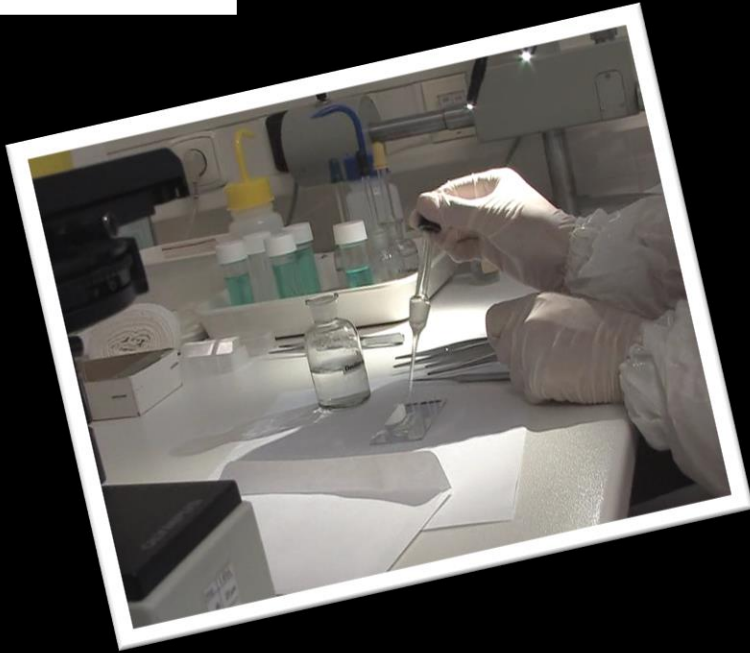
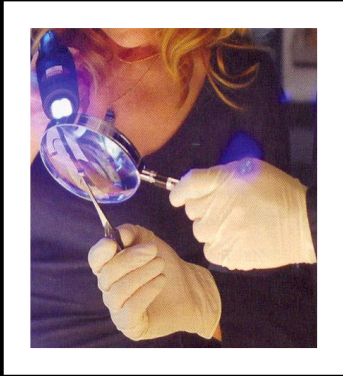
Bronzové vědro



Obr. 19. Mikroskopický snímek zvířecího
chlupu. Foto L. Fojtášek.
Fig. 19. Microscopic shot of an animal
hair.



FORENZNÍ TRICHOLOGIE I





HAIR AS A TRACE
EVIDENCE

»

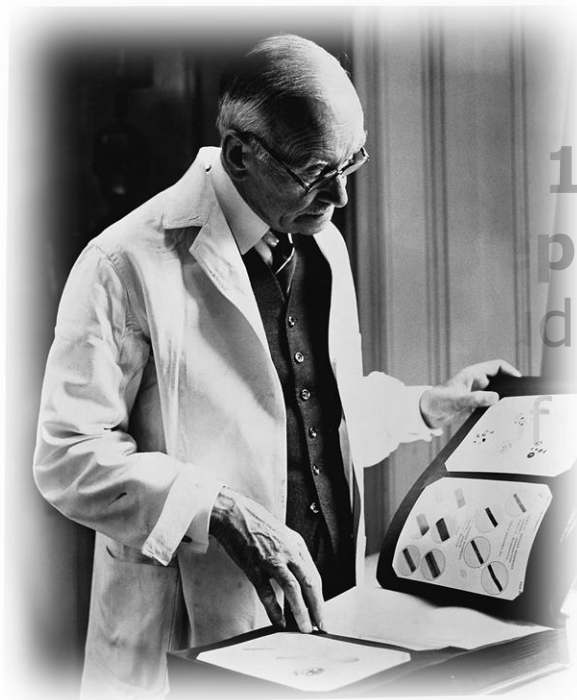
Jinesh P. S.

22/05/2013

Forenzní trichologie
zkoumá **lidské vlasy a chlupy** a **zvířecí chlupy** v kontextu policejního vyšetřování

Historie forenzní trichologie

Francie 1857 (jedna z prvních forenzních vědeckých zpráv)



John Glaister

Hairs of Mammalia from Medico-legal Aspects (1931)

(1856-1932)



Rudolf Virchow

nelze pozitivně identifikovat
jedince podle vlasů (1. pol. 19 stol.)

(1821-1902)



Paul Kirk (pol. 20. stol.)

ustanovil základy mikroskopické
analýzy vlasů

(1902-1970)



Edmond Locard 15



Forenzní trichologie

Kdo zkoumá v současné době TM v kontextu policejního vyšetřování?

- Kriminalistický ústav PČR
- Odbory kriminalisticko-technických expertiz OKTE – omezené zkoumání
- Civilní znalci, znalci od hoc



*ENFSI – working group FIBRES
od r. 2009 FIBRES, HAIRS*

Trichologický materiál

ve forenzním kontextu

- významná **biologická stopa** na místě činu (venkovní prostředí, místnost, automobil), informace o pachateli, oběti, trase; zvířeti ...
- **vznik stop**: spontánně oddělené, násilná separace, posmrtné uvolnění, kontakt/transfer
- TM relativně odolný x dekompozici
- **frekventovaná stopa** (relevantní x irelevantní)
- **výpovědní hodnota**: 0 % – téměř 100%
 - původ, druh, informace i struktura, anomálie, patologie, poškození, kosmetické úpravy, vliv prostředí, obsah xenobiotik (psychotropních látek), nuDNA, mtDNA

průměrně vypadne 100 vlasů / den



Kde hledat TM?

místo činu/místo nálezu mrtvoly
volný terén, uzavřené objekty
(byt, sklep, obchod...kufř automobilu)

**přístupové cesty, trasa transportu
oběti, trasa pachatele**

**na těle oběti a na oděvu, nástroje
vraždy, zásilky; dopravní prostředky...**

**nezaměnitelné označení stop,
dokumentace protokolem, fotografií,
videozáznamem**



VÝSKYT STOP a jejich TRANSFER

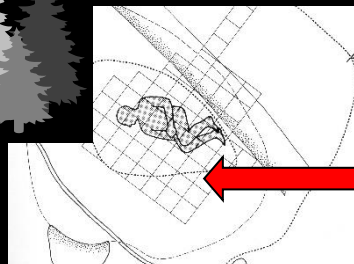
Locardův princip



pachatel



místo činu



oběť



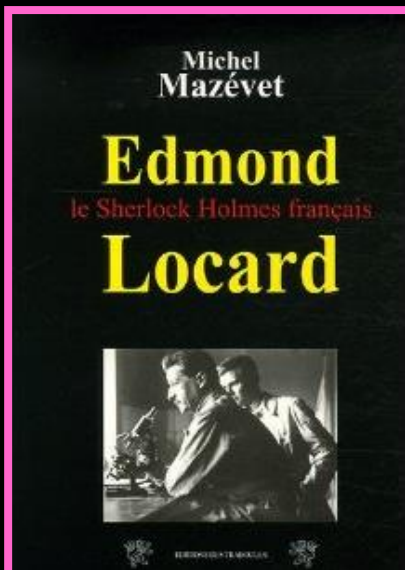
transfer



bydliště oběti



domácí osoby

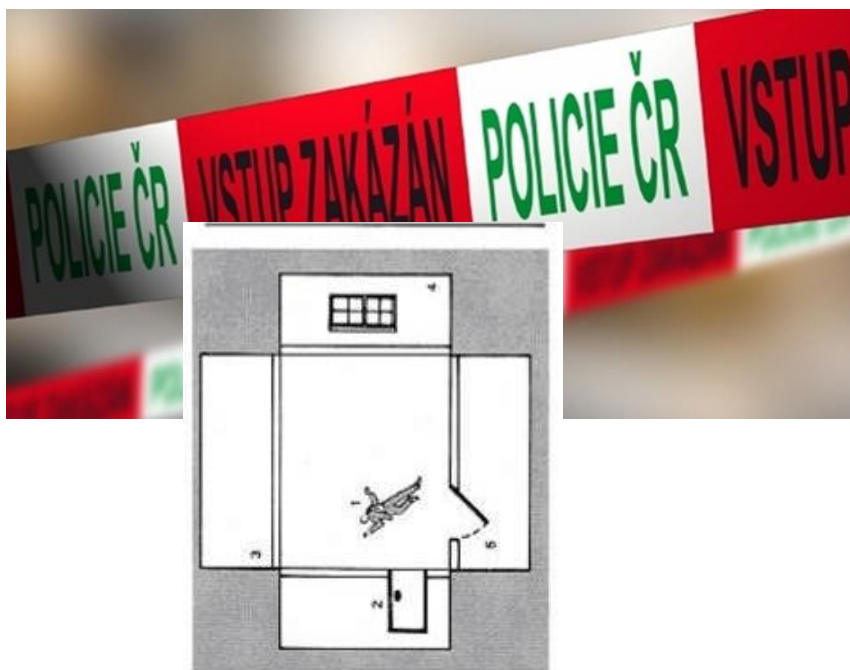


(1877-1966)

Příklady z praxe

TČ: vražda, sebevražda, znásilnění, vloupání, dopravní nehoda...

sektory, centrum ohledání, trasa - důkladný popis stop a fotodokumentace



vytržené vlasy oběti/pachatele
vypadlé vlasy, fragmenty TM

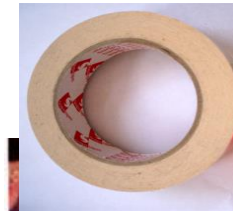
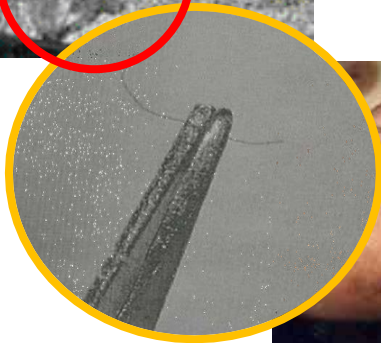
TM pachatele, oběti, domácích osob



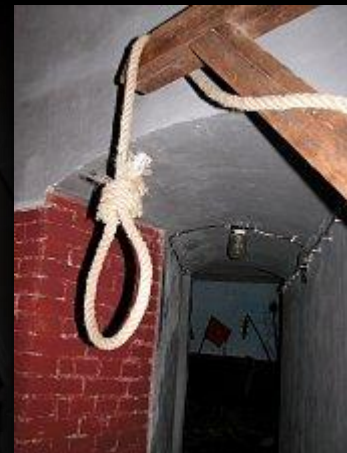
vlákna, vlas pachatele za nehty oběti



vlas na noži
(PM změny)



na izolepě nalezen
somatický chlup pachatele



TM, DNA

**chlupy živočichů
TM ve vdechnuté hlíně,
za nehty oběti, na oprátce;
místo úmrtí a transport mrtvoly**



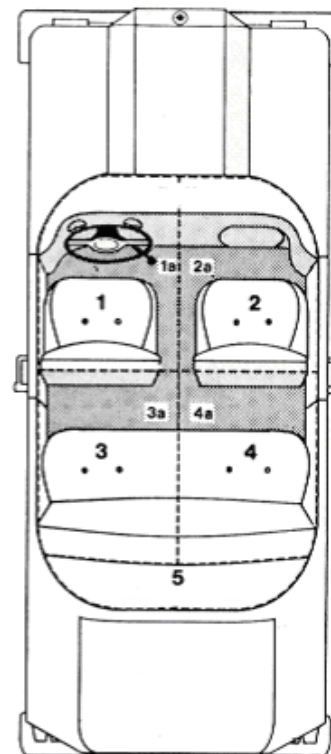
Fragmenty lebečních kostí s vlasy



**dopravní prostředky
ohledání vně i uvnitř
*dopravní nehoda, transport
obětí, zvířat a rostlin, ...***



TM
na čelním skle
na kapotě, šasi automobilu
v kufru automobilu

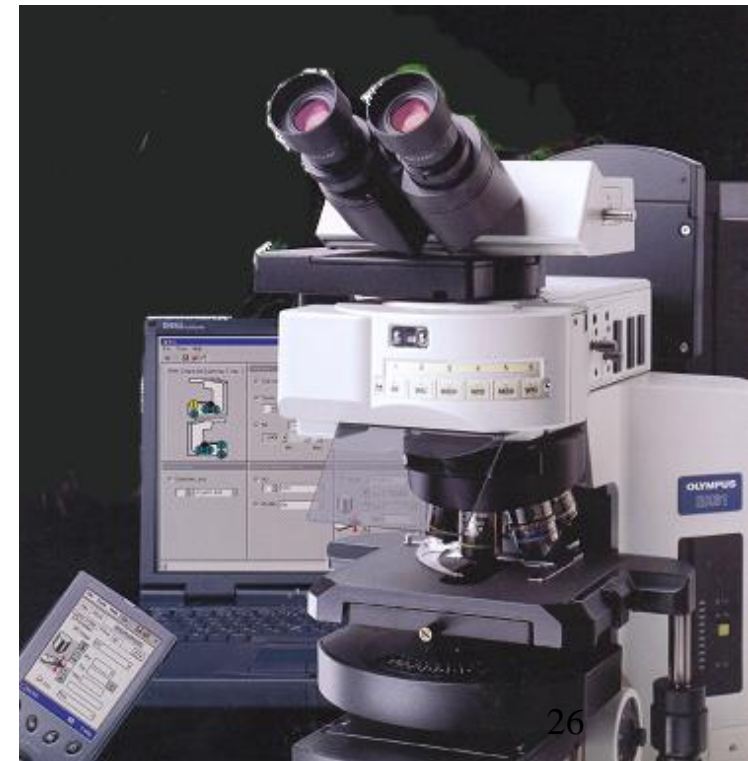
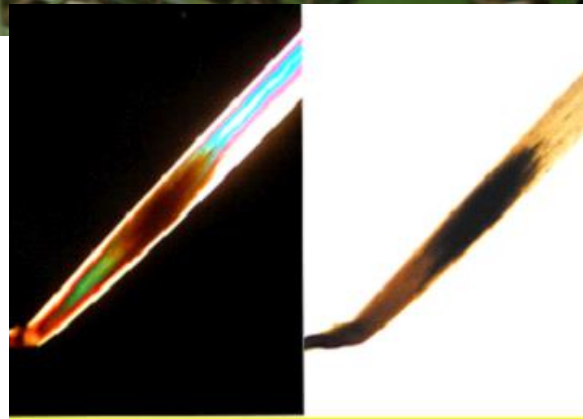


**sektory
ohledání**

Post mortem kořínky TM



dekompozice měkkých tkání
změny struktury kořínků TM



Kosterní nálezy

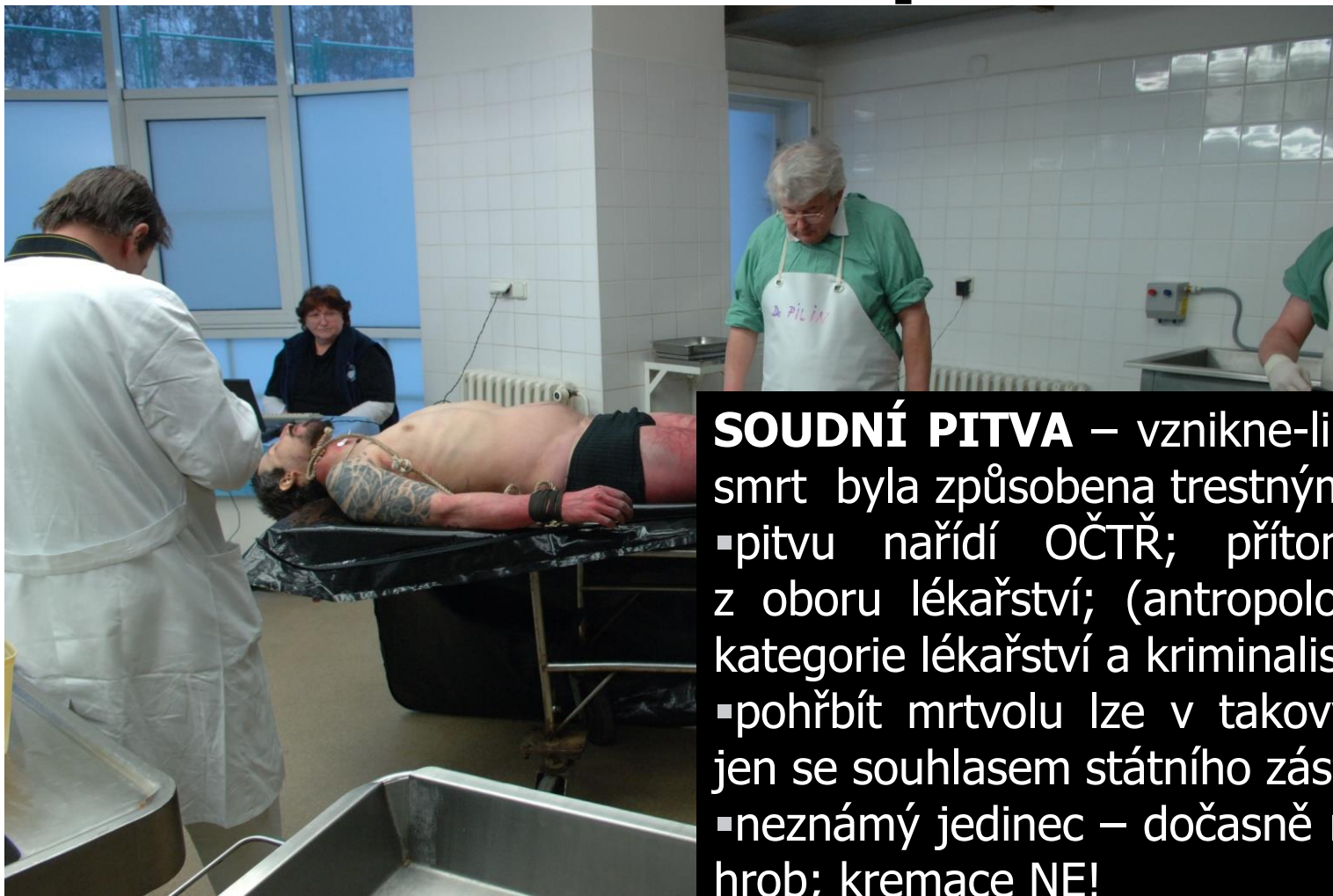


nález vlasů zachycených mezi obratli (nekrotické kořínky)

Irelevantní trichologický materiál v blízkosti fragmentů kostí



Soudní pitva



SOUDNÍ PITVA – vznikne-li podezření, že smrt byla způsobena trestným činem

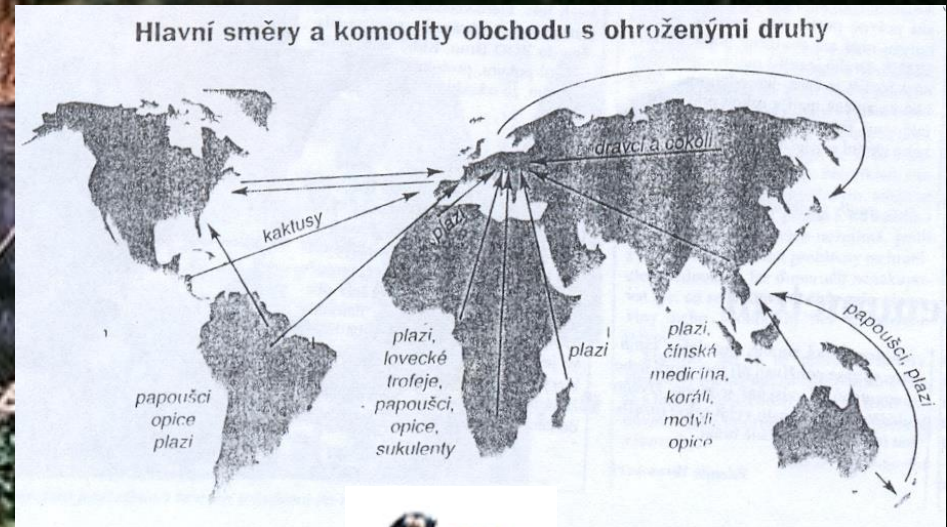
- pitvu nařídí OČTŘ; přítomní 2 znalci z oboru lékařství; (antropologie spadá do kategorie lékařství a kriminalistika)
- pohřbít mrtvolu lze v takových případech jen se souhlasem státního zástupce
- neznámý jedinec – dočasně na ÚSL, mělký hrob; kremace NE!

**odběr vlasů oběti
zajištění trichologických stop (z oděvu, těla...)**

Zvířecí chlupy ve forenzní praxi

Zvířecí chlupy – důležité forenzní stopy

- dopravní nehody
- pytláctví
- násilné trestné činy
- týrání zvířat, satanismus
- krádeže kožešinových výrobků
- ilegální export a import chráněných druhů zvířat, kožešin, výrobků
-aj.



Autonehoda



maření vyšetřování:

irelevantní stopa –

dodatečně předložené chlupy z divokého prasete
pocházely z preparované kožešiny

Domácí „mazlíčci“



Locardův princip

z praxe:

chlupy křečka byly nalezeny na ponožce pachatele – zavražděná žena chovala křečky

pes v autě pachatele
na mrtvole nalezeny
psí chlupy



ovce
roztrhané psy



3 pitbullové
zabili muže



**Opavsko – vojenský bunkr
(satanistické praktiky – nález zvířecích chlupů (*Leporidae*))**

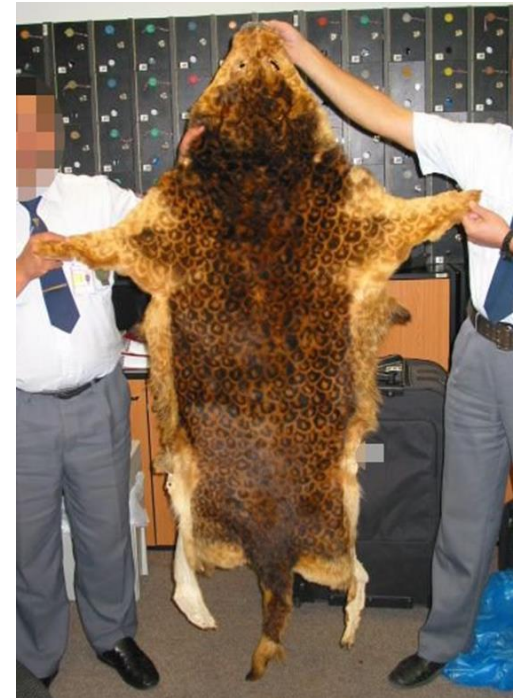


Kosti poškozené zvířaty

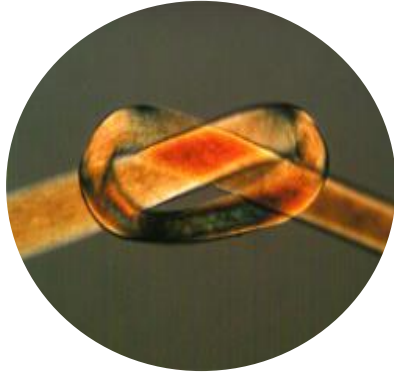
stopy zubů, zvířecí chlupy



Krádeže a falzifikáty kožešin a tkanin



vzácné kožešiny – např. sobol, hermelín, norek, sibiřská kuna, stříbrná a černá liška, činčila, perzián
vzácné textilie – např. kašmír, výrobky z vlny lamy, z chlupů antilopy tibetské



Místo činu – vymezení kompetencí

KRIMINALISTICKO-TECHNICKÁ ČINNOST

- vymezit MČ , místo nálezu mrtvoly (přítomnost relevantních stop)
- vyhledávání trichologických stop efektivní, při zajišťování nepoškodit stopu
- dokumentace lokalizace a charakteru stop
- zajištění, balení a transport stop/předmětů do laboratoře

kriminalistický technik

vyšetřovatel

OČTŘ

▪



LABORATOŘ (EXPERTIZA)

- zajištění v laboratoři (antropolog), na pitevně (antropolog, lékař)
- zkoumání v laboratoři – expertiza (vyhodnocení, komparace)
- interpretace závěrů zkoumání ve znaleckém posudku, odborném vyjádření
- účast u soudu

znalec

Vyhledávání TM



stopy viditelné

někdy nutno zvýraznit vhodným osvětlením:

šikmé osvětlení, vhodná vlnová délka

Crime-lite (420 – 470 nm) – vlákna

Megamaxx (395 nm, 625 nm) – vlasy, vlákna



Dokumentace stop

fotografie, kamera; popis

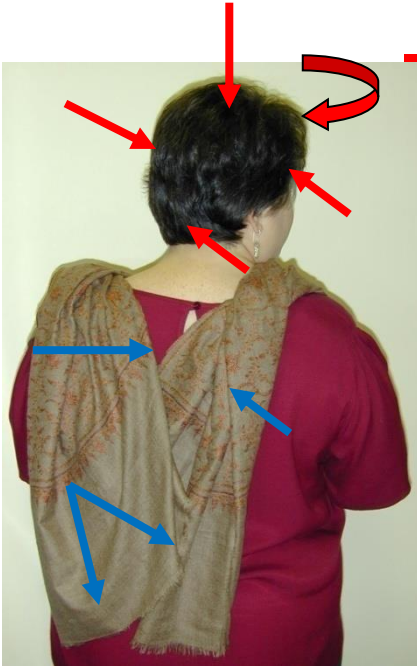
Spheron
3D skeny



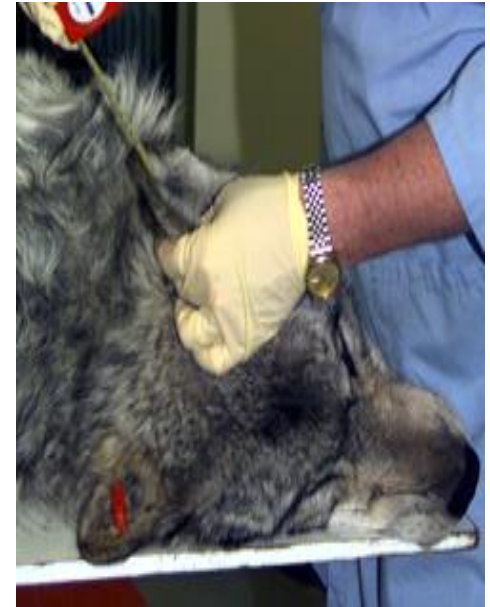
Pravidla zajišťování TM

- Nedotýkáme se stop holou rukou – chirurgické sterilní rukavice, pinzety, sáčky.
- Pokud to je možné, zajistíme celý předmět nesoucí stopu.
- Pokud **nelze zajistit předmět, stopy sejmeme** a odděleně vložíme do obalů.
- Ke zkoumání zasíláme předměty, stopy ve vhodných obalech (suché stopy, mokré stopy).
- **Popis stop, dokumentace protokolem a fotografií.**

Srovnávací TM



- **osoby** – 5 míst na hlavě (nad čelem, temeno, spánky, týl) – stříhání, vytržení, vyčesání ; bukální stěr pro DNA analýzu
- **srst zvířat** – morfologické, metrické a barevné varianty
- **tkaniny**



referenční materiál ve forenzní laboratoři (vzorkovnice TM, vzorkovnice barev); sbírka zvířecích chlupů – in natura, trvalé preparáty; digitální atlasy (TRICHOS, DIAT);

Prohlídka těla a jiné podobné úkony

Je-li k důkazu třeba provést zkoušku krve nebo jiný obdobný úkon, je osoba, o kterou jde, povinna strpět, aby jí lékař nebo odborný zdravotnický pracovník odebral krev nebo u ní provedl jiný potřebný úkon, není-li spojen s nebezpečím pro její zdraví. **Odběr biologického materiálu, který není spojen se zásahem do tělesné integrity osoby**, jíž se takový úkon týká, může s jejím souhlasem provést i OČTR. Na požádání OČTR může tento odběr i bez souhlasu podezřelého nebo obviněného provést lékař nebo odborný zdravotnický pracovník.

*OČTR: Orgány činné v trestním řízení jsou podle aktuálního trestního řádu **soud, státní zástupce a policejní orgán**, pokud provádějí úkony trestního řízení.*

Zajišťování TM

Pozor na kontaminaci stop!

základní nástroje po více kusech (pinzety, nůžky)
DEZINFEKCE nástrojů



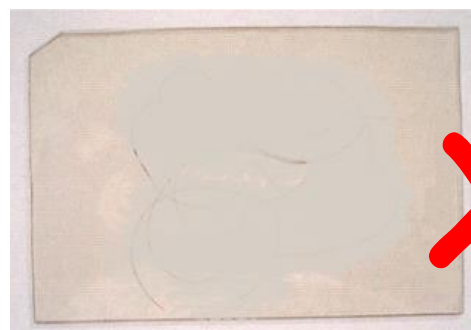
C₂H₅OH
čtverečky buničiny



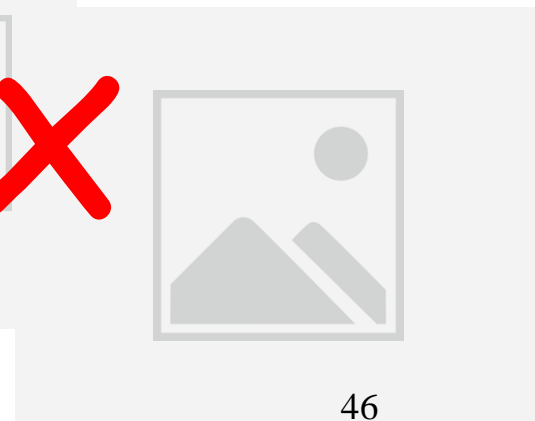
vhodné jsou pinzety plastové a entomologické



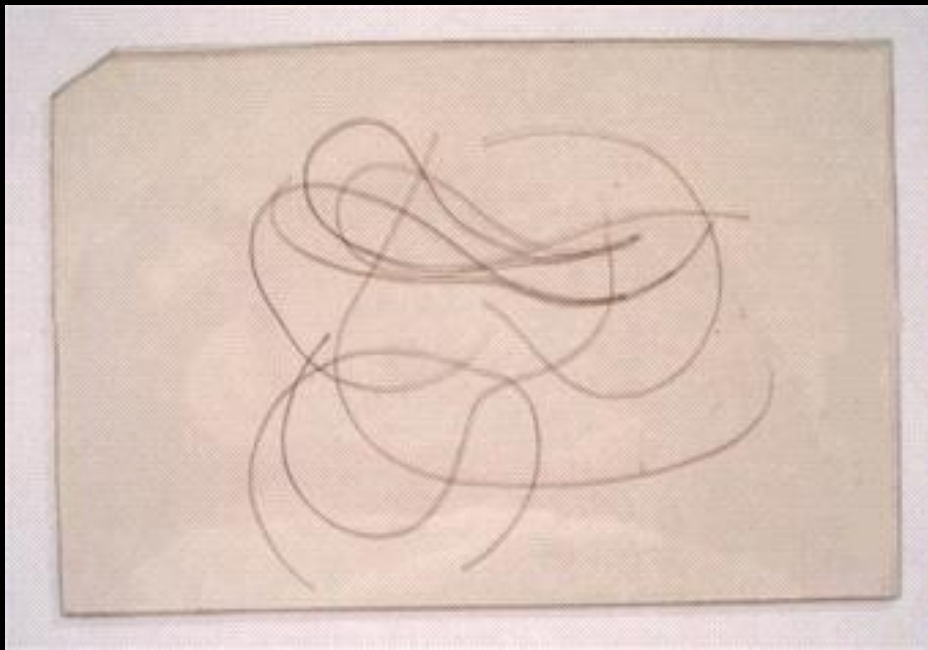
- balení: obálky, papírové sáčky, polyetylenové sáčky s uzávěrem, plastové zkušavky, Stericlin
- nepoužívat: lepicí pásky (izolepy), daktyloskopické fólie, skleněné obaly
- mokré stopy: sušení; lednice, zmrazení



la



✘ Špatně zabalený trichologický materiál

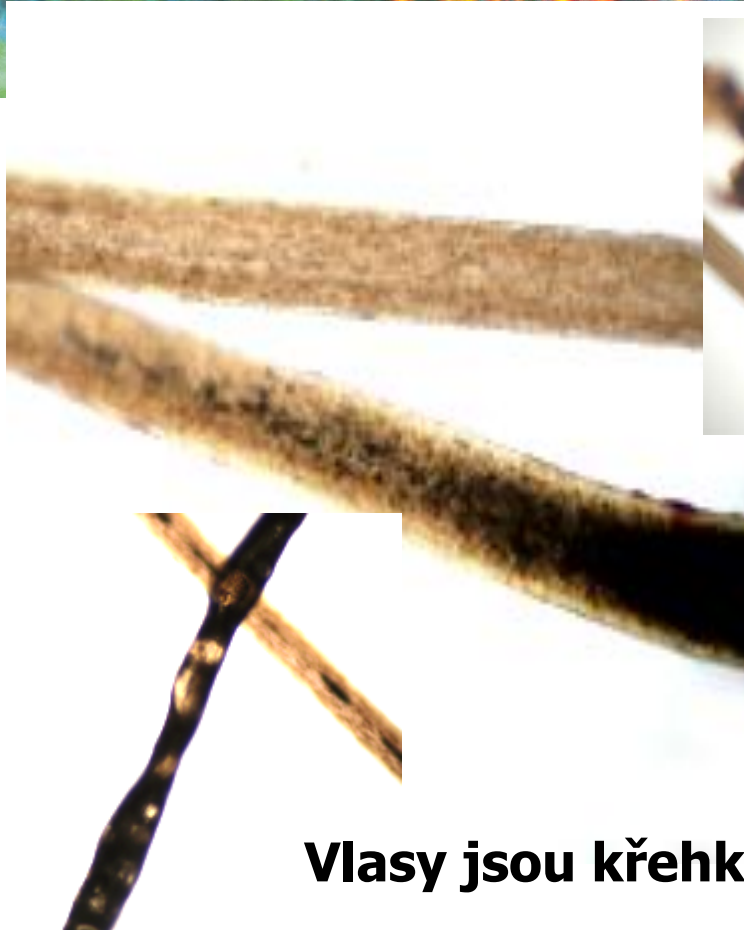


daktyloskopická fólie
(oddělení epitelů od kořínků -
omezení DNA analýzy)



dvě podložní sklíčka
spojená izolepou
(nebezpečí mechanického
poškození)

Vlasy vystavené vysoké teplotě



Vlasy jsou křehké!



Popis stop

- bezprostřední obaly stop (vnitřní obal)
č. stopy, charakter stopy, datum, jméno

speciální lepicí štítky
štítky do mrazicího boxu



psací prostředky na papír, PET,
odolné proti vodě

popisné samolepicí pásky

bezpečnostní
nálepky



BIOHAZARD

Autentizovaný (vnější) obal



- správný popis brání záměně při transportu a skladování
- přelepení spojů obalů; razítko, podpis, resp. pečetění vyloučí pochybnost o manipulaci se stopou
- bezpečnostní nálepky varují před nebezpečným obsahem

Trichologická expertiza

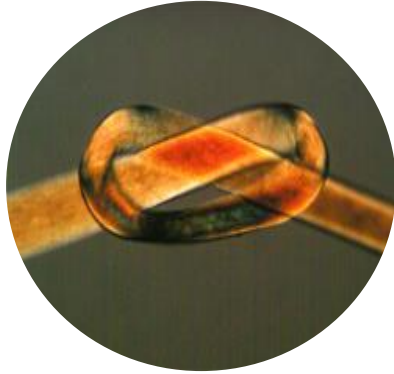


Archivace a likvidace TM

Archivace stop a srovnávacích vzorků

Likvidace TM

- *TM do speciálních kontejneru (likvidace biologického odpadu)*
- *sklíčka (podložní, krycí) do speciálních kontejnerů (likvidace skla)*



Analýza TM v laboratoři





BOZP



**Dodržovat standardní zásady ochrany zdraví při práci s TM.
Jednorázové rukavice, rouška, laboratorní oděv.**

Nošením rukavic a laboratorního oděvu chráníme zdraví a neohrožujeme výsledky zkoumání.

Zachováváme **čistotu a řád laboratoře**, pravidelně laboratoř uklízíme a stíráme laboratorní stoly.

Respektovat pravidla pro práci s potenciálně infekčním materiálem !!!



Manipulace s TM



- **TM zaslaný OČTŘ a zajištěný v laboratoři znalcem**
- **zajišťování TM v laboratoři, vyhledávání TM stereolupou**
- Používáme čisté nástroje. Dezinfekce nástrojů a pracovních ploch.
- **Vyloučit kroskontaminaci stop!**
(popis preparátů, popis stop do protokolu)
- TM vlhký – znečištěný krví, sekrety, exkrementy apod. skladovat v chladicím boxu. Odběr nečistot, očištění TM.
- Při separaci kořínku pro analýzu DNA vyloučit kontaminaci DNA osoby provádějící zkoumání (rukavice, rouška, čepice).

Trichologická expertiza je zaměřena na dekódování informací z TM

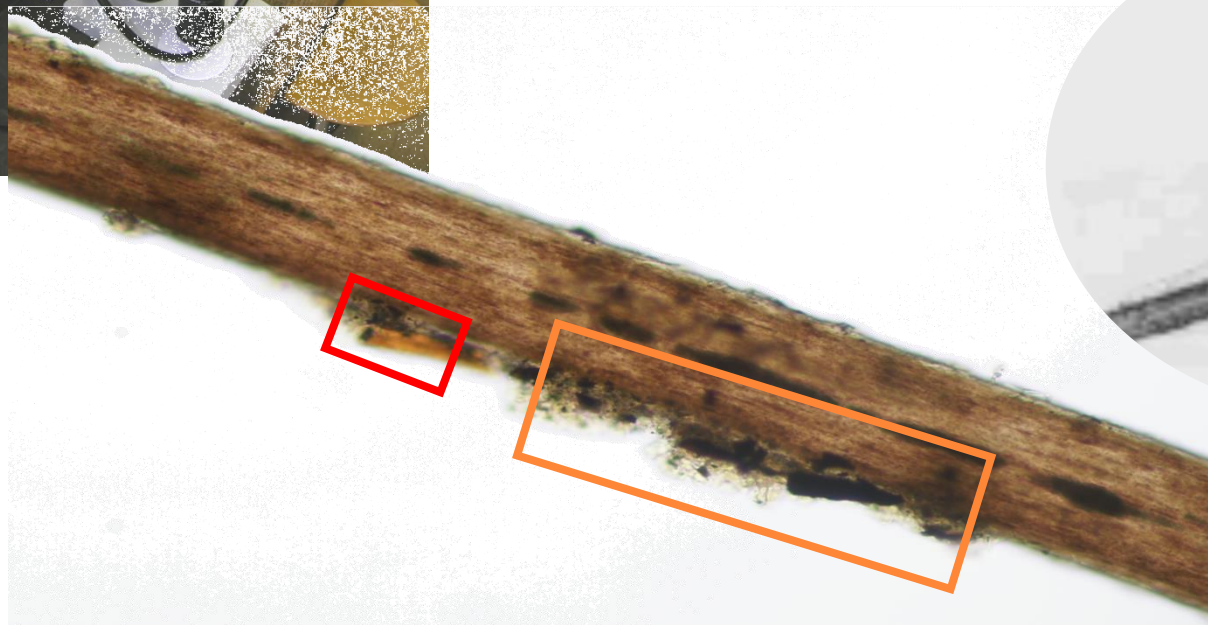
- **analýza povrchových nečistot** – detekce a průkaz povrchových nečistot (biologie, chemie)
- mikroskopické zkoumání za účelem **zjištění původu TM** (lidský, zvířecí, rostlinný, umělý)
- **lidské vlasy a lidské chlupy** – hodnocení znaků, komparace; výběr pro DNA analýzu
- **zvířecí chlupy** – taxonomická determinace

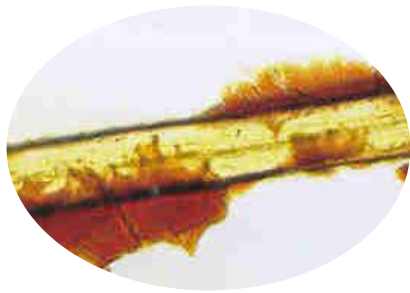
Povrchové nečistoty a paraziti

separace, analýza – biologická (dále případně genetická), chemická



stereolupa
světelný mikroskop, SEM (terčíky)
FTA karty, tampóny, eppendorfky
*sady pro orientační a specifické zkoušky
biologického materiálu – Hemophan, OBTI, RSID...*





Průkaz krve

- ORIENTAČNÍ ZKOUŠKA (peroxidázová zkouška)
– reagenční proužky Hemophan - navlhčit aktivní plošku a přitisknout na stopu (peroxid vodíku + barvotvorná složka)
- pozitivní reakce – **zelená indikátorová ploška**
- citlivost : vysoká – 5 ery/ μ l

- následuje SPECIFICKÝ PRŮKAZ KRVE, DNA analýza



destilovaná
voda



ample is typically detected within 2-5 minutes.

Původ krve

HEXAGON OBTI

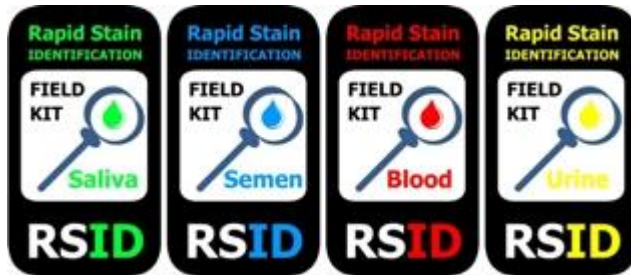
- odliší lidskou krev od zvířecí
- **princip:** hHb reaguje s monoklonální anti-human Hb protilátkou (zbarvenou); komplex je zachycen 2. protilátkou v T zóně; nezureagována anti-human Hb protilátka je zachycena v zóně C anti-mouse IgG protilátkou
- citlivost : ředění krve až 1:1 000.000 (500 červených krvinek)



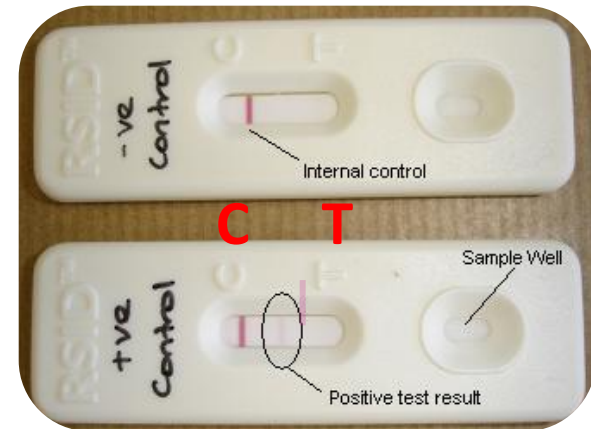
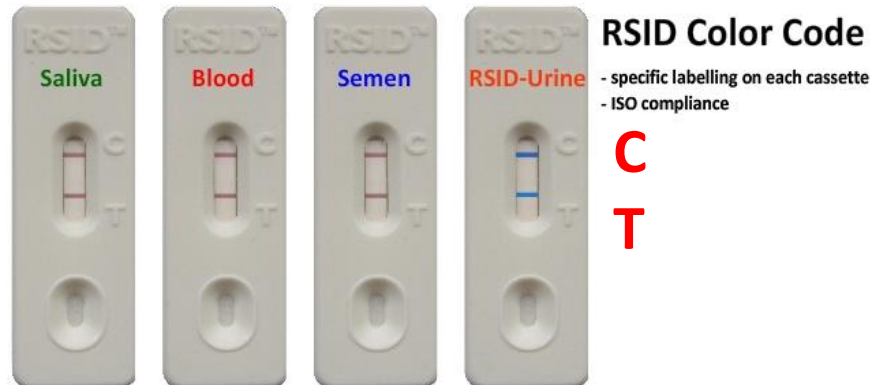
výsledky během 2-3 minut



Biologické stopy



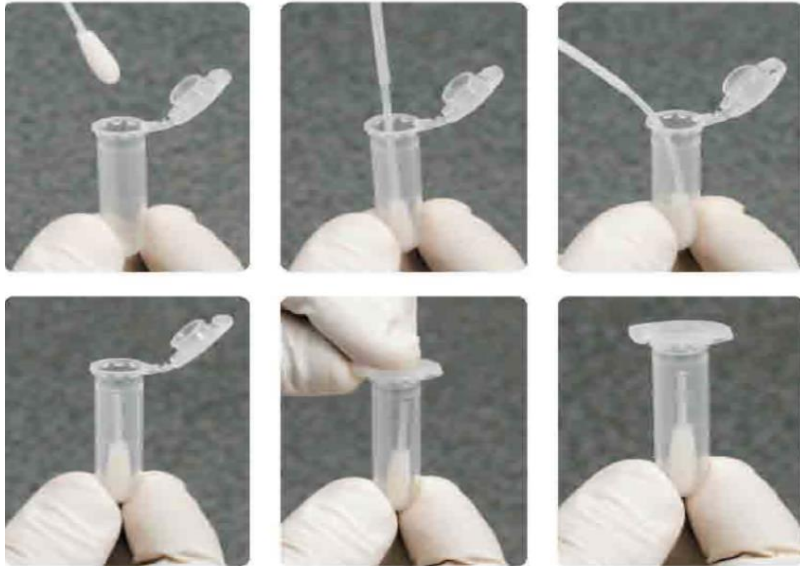
Imunochromatografické testy Rapid Stain Identification tests (RSID)



Princip: monoklonální protilátky (myší nebo králičí) specifické proti lidskému materiálu: krev, sliny, sperma, moč

1. protilátka konjugována s barevnými (např. Au) částicemi (pod vzorkem)
2. protilátka imobilizuje komplex tj. vzorek + 1. protilátka s barevnými částicemi (T)
3. protilátka rabbit/mouse IgG v zóně C reaguje s nezreagovanou 1. protilátkou

Vzorky pro DNA analýzu



Tampóny
4NG DNA SWAB

Pro sběr, transport, archivaci a izolaci nukleových kyselin při pokojové teplotě. **Karty typu FTA®** obsahují chemikálie, které **lyzují buňky, denaturují proteiny a chrání nukleové kyseliny** před oxidací a poškozením od UV záření. Karty rychle inaktivují organismy, včetně krevních patogenů a brání růstu bakterií a dalších mikroorganismů. Genomová DNA shromážděná na kartě vydrží stabilní v řádu let (týdnů v případě RNA) při pokojové teplotě.

Nečistoty na vlasech

chemická analýza



maziva, oleje...



Povýstřelové a povýbuchové zplodiny



povýstřelové
zplodiny



sada pro odběr
povýstřelových a
povýbuchových zplodin
(SEM)

Akceleranty hoření



akceleranty hoření: chemické látky a jejich směsi, které hoří nebo podporují hoření (těkavé hořlavé látky – benzín, toluen...).

- *žhářství – vlasy, chlupy pachatele mohou být potřísněny akcelerantem*
- *vlasy popálené oběti*



terčik pro absorpci akcelerantů

Detekce akceleraantů

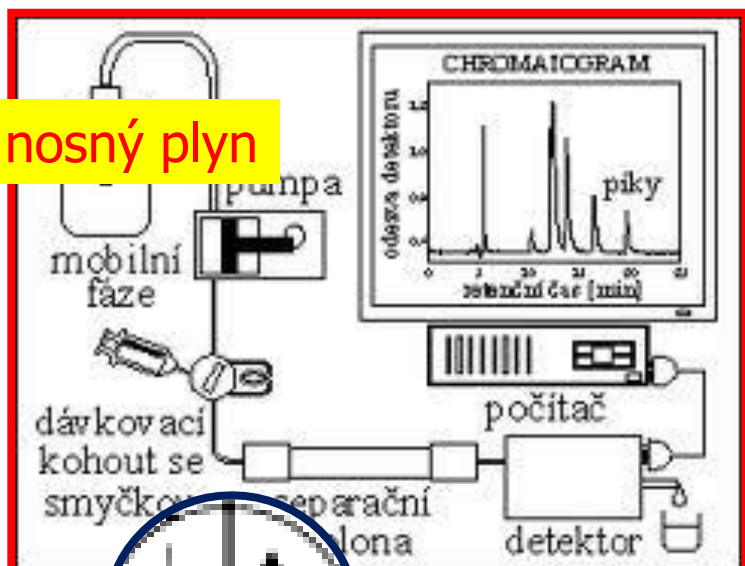
přítomnost akceleraantů hoření lze prokázat ve vlasech pomocí

plynové chromatografie

hmotnostní spektrometrie

Toluene C₇H₈

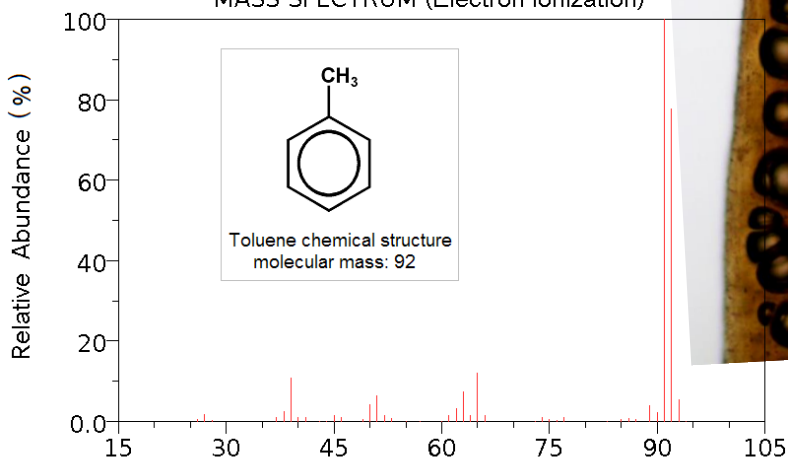
MASS SPECTRUM (Electron Ionization)



nosný plyn

vzorek

složky vzorku



Složky vzorku jsou ionizovány (elektrony). Vznikají ionty, které jsou odděleny podle m/Q (m je hmotnost a Q je náboj fragmentu) a detekovány.





L 1494

Metodika zkoumání TM

Základní metodika zkoumání trichologického materiálu je jedním ze standardních operačních postupů (SOP) aplikovaných v rámci **biologického znaleckého zkoumání na Kriminalistickém ústavu.**

Protokol o zkoušce		
Analýza trichologického materiálu SOP č. : 3B - 2 - o - 2 - 01	KU-...../ČJ-20.....-009KDO-2.....	
	Přijato dne:	
Oddělení antropologie a biologie	Zpracováno dne:	Vypracoval:
<i>Jméno a adresa zákazníka jsou uvedeny v posudku.</i>		



Označení vzorku:				Poznámka:			
Číslo vzorku	1	2	3	4	5	6	7
Původ							
Délka (mm)							
Šířka (μ)							
Barva							
Pigment							
Dřeň							
BZ							
APZ							
Patologie							
Poškození							
Ostatní							



Zkoumání, komparace, sbírky, depozit

- komplexní metodika zkoumání TM (SOP), protokol o zkoušce – popis znaků, alfanumerické skóre
- přístrojové vybavení, protokoly a kalibrace
- referenční materiál (standards, vzorkovnice TM, interní vzorkovnice barev, standardní sbírka zvířecích chlupů – in natura, trvalé preparáty, elektronická verze, atlasy (TRICHOS, DIAT)
- databáze nespotřebovaného TM materiálu, uložení na KÚ PČR podle numerického kódu a popisu

Analýza TM – základní vybavení

- **stereolupa, optický mikroskop** (procházející a dopadající světlo, polarizace, fázový kontrast, fluorescence), **SEM** (terčíky); okulárový a objektivový mikrometr; **fotoaparát, kamera, PC**
- **bruska**, formičky, pryskyřice + hardener
- kádinka, Petriho misky, síto, detergent; filtrační papír
- měřítko
- pinzety, preparační jehly, nůžky
- podložní a krycí sklíčka
- médium (parafinový olej, destilovaná voda, kanadský balzám, Solacryl), benzín, kapátko, buničtinové čtverečky
- eppendorfký stojánek
- sáčky pro depozit, popisovače
- desinfekční činidlo
- krabice na preparáty
- protokol, psací potřeby

Čištění TM

před expertizou, po expertize



voda



benzín



Vyšetření TM

Kategorizace stop



Analýza TM

- **hodnocení morfologických a metrických znaků**
- **komparace se srovnávacími vzorky vlasů osob**
- **sérologické vyšetření** (destruktivní), antigeny **A, B**
- **genetické vyšetření TM** – **nuDNA, mtDNA**
- **taxonomická determinace zvířecího TM**
- **chemická analýza** – prvky, povýstřelové a povýbuchové zplodiny, akceleranty hoření, xenobiotika (drogy, léky)
- **průkaz vláken** → **spolupráce s FY/CH**

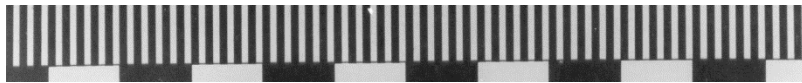
Znaky trichologického materiálu

- makroskopické a mikroskopické znaky (variační rozpětí) – variabilita
- znaky skupinové/obecné
- znaky individuální
- znaky morfologické, metrické; biochemické, chemické, genetické
- kvalitativní, kvantitativní
- kontinuální a diskontinuální charakteristiky

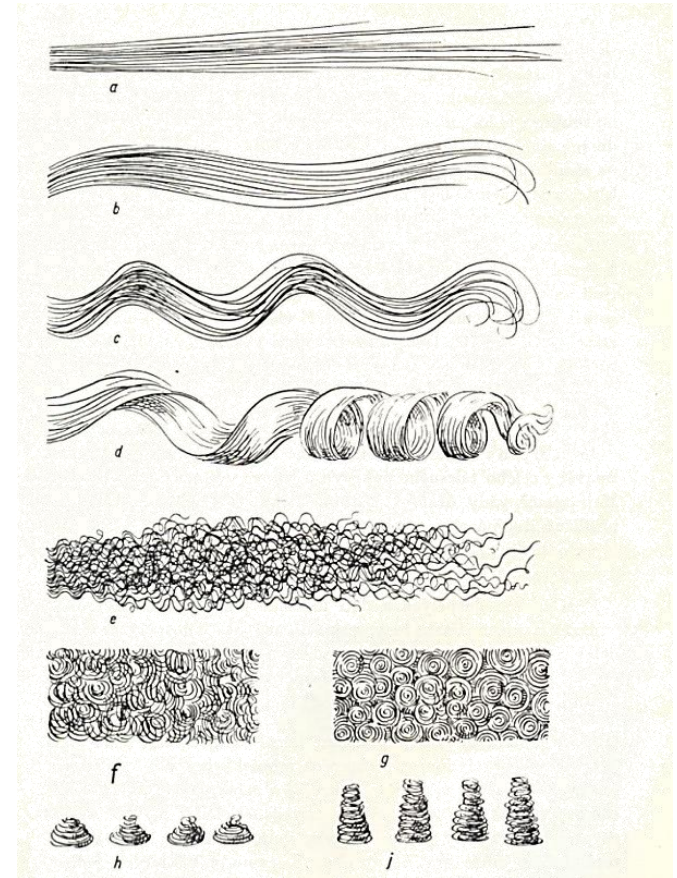
Metody : nedestruktivní, semidestruktivní,
destruktivní

Makroskopické charakteristiky

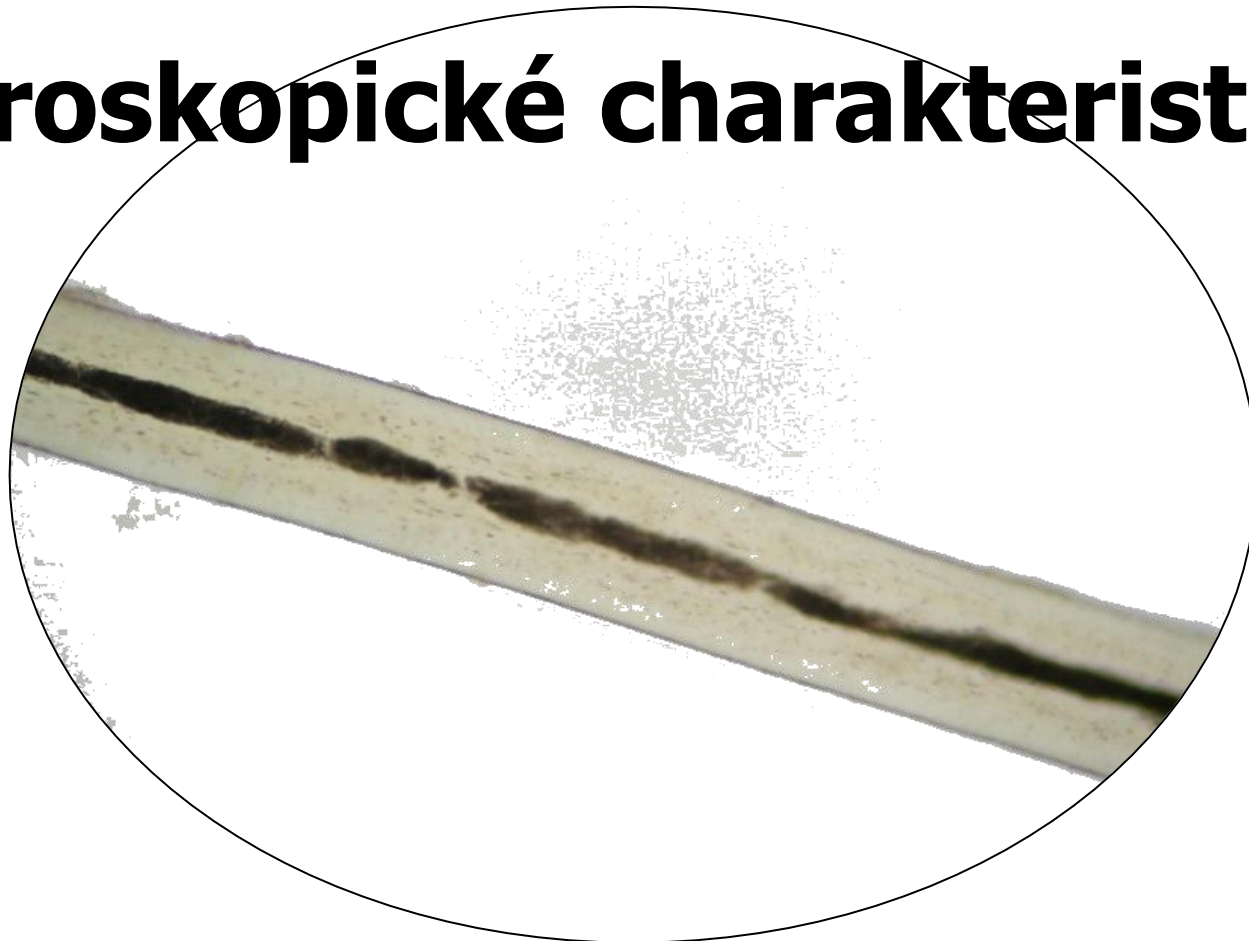
- délka stvolu ($\text{mm} \pm 0,5$)



- tvar vlasů/chlupů
stupeň zvlňení

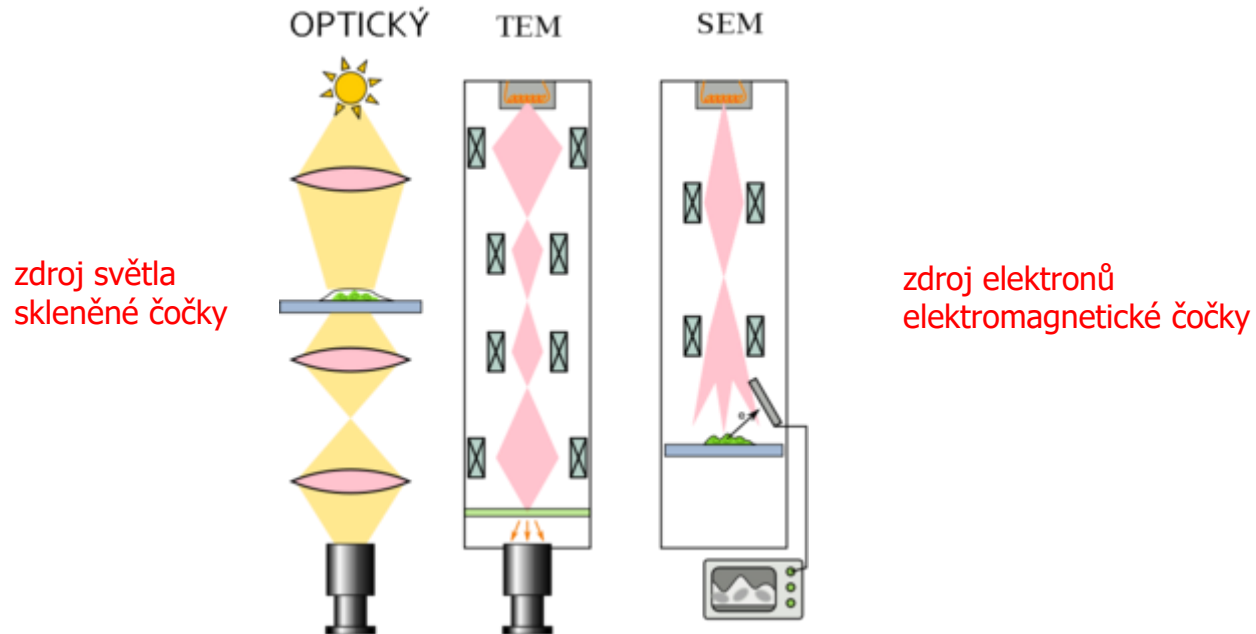


Mikroskopické charakteristiky



Mikroskopy

- elektronové (k zobrazení využívají proud elektronů)
- světelné (k zobrazení využívají světlo různých vlnových délek)

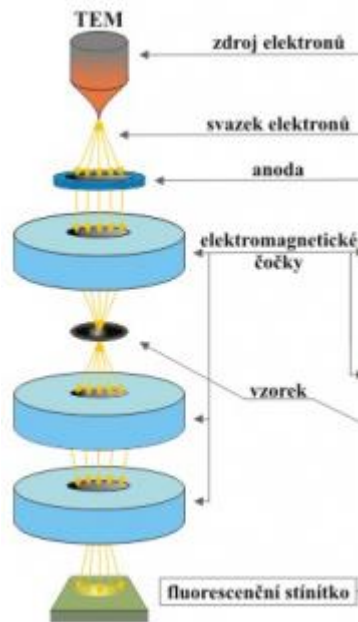


Důležité: co umožňují mikroskopy sledovat – povrch nebo vnitřní strukturu

Jedním ze základních parametrů všech mikroskopů je jejich **mezní rozlišovací schopnost**: elektronový mikroskop mnohem vyšší rozlišovací schopnost a může tak dosáhnout mnohem vyššího efektivního zvětšení (až 1 000 000×) než světelný mikroskop.

Elektronový mikroskop (TEM)

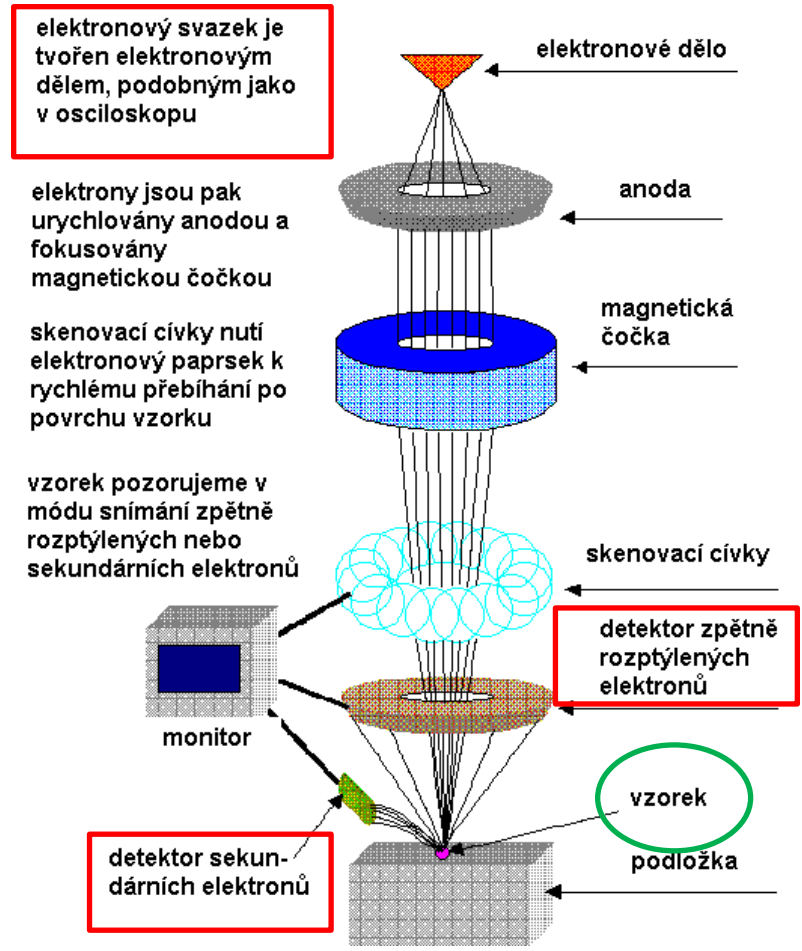
TRANSMISNÍ ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP (TEM = *transmission electron microscope*) – **zobrazení vnitřní struktury** vzorku pomocí prošlých elektronů (TE). Elektrony procházejí skrz vzorek (ultratenké řezy – 50 nm), pak jsou detekovány, část elektronů se absorbuje (teplo). **3D vizualizace.**



Elektronový mikroskop (SEM)



RASTROVACÍ ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP
(SEM = scanning electron microscope) –
zobrazení povrchu vzorku nejčastěji pomocí sekundárních elektronů (povrchová topografie) vyražených dopadem primárního elektronového paprsku, nebo zpětně odražených elektronů (materiálový kontrast).



rozlišení 0,1 – 0,7 nm

SEM – preparáty

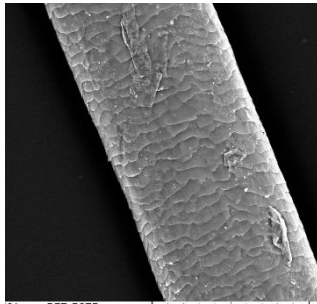
terčíky pro uchycení TM



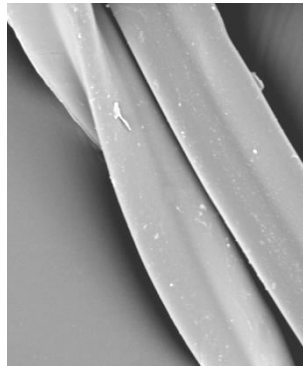
Preparát musí splňovat následující kritéria:

- na jeho povrchu by se neměly vyskytovat cizorodé částice, např. prach
- měl by být stabilní ve vakuu
- stabilitu by měl vykazovat i při ozáření elektronovým paprskem
- měl by produkovat dostatečné množství požadovaného signálu, např. sekundárních elektronů
- při expozici primárním elektronům by nemělo docházet k jeho nabíjení

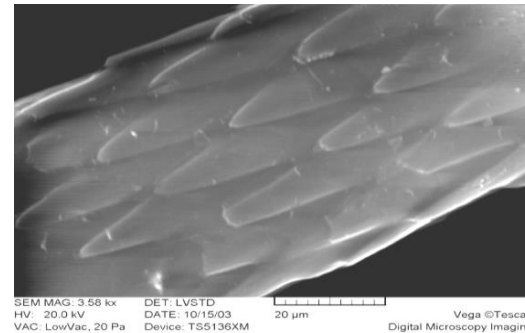
Povrchová struktura kutikula



lidské vlasy



PAD vlákno



zvířecí chlup

SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE



Preparáty pro světelnou mikroskopii



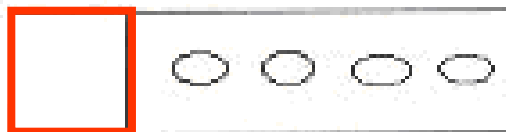
Preparáty TM

PŘÍPRAVA PREPARÁTŮ: dočasné a trvalé preparáty
médium = např. destilovaná voda, parafinový olej;
kanadský balzám, Solakryl
imerze (např. cedrový olej, glycerin)



podložní sklíčko

*různá tloušťka (1; 1,2 mm)
velikost (26 x 70 mm)*



info

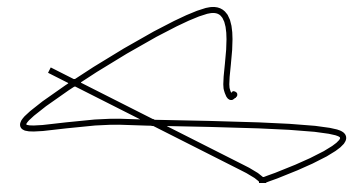
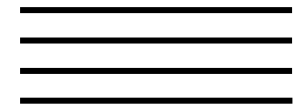
vzorek

krycí sklíčko

*různá tloušťka
(0,08; 0,11; 0,13;
0,17; 0,20 mm)*

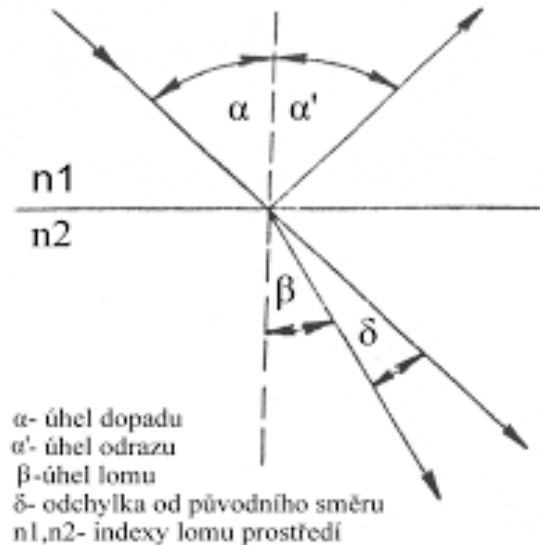


uspořádání TM v preparátu



- Vzorke TM jsou převedeny do mikroskopických preparátů (uzavírací médium destilovaná voda).
- Zjistí se původ materiálu – lidský nebo zvířecí.
- Kořínky lidského TM vhodné pro DNA se odstříhnou do označených eppendorfek.
- Následně je TM vysušen a jako uzavírací médium je v dočasných preparátech použit parafinový, cedrový olej, glycerin...

Refrakční index zalévacího média



Snellův zákon lomu světla:

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{n_2}{n_1}$$

Pro přechod z prostředí s indexem lomu n_1 do prostředí s indexem lomu n_2 se často používá **relativní index lomu**:

$$n = \frac{n_1}{n_2}$$

vakuum=1
vzduch=1,00026
sklo=1,5 až 1,9.
voda=1,33
cedrový olej=1,52
imerzní olej=1,515
kan. balzám=1,54
imerzní olej Olympus=1,516
kůra a kutikula vlasu=1,52

n = refrakční index média

(médium vhodné pro mikroskopické pozorování TM má index okolo 1,52)

refrakce – změna ve směru paprsku světla, k níž dochází při jeho přechodu z jednoho průhledného prostředí do jiného, které má rozdílnou hustotu; refraktometry

Světelné mikroskopy

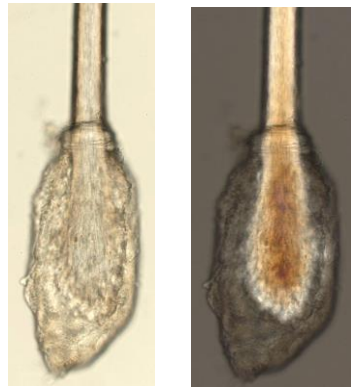
řecky micron = malý a scopos = cíl

- mikroskopy (bílé světlo)
- polarizační mikroskop (polarizace procházejícího světla)
- mikroskop pro fázový kontrast
- fluorescenční mikroskop (fluorescence)

objekt je zobrazen

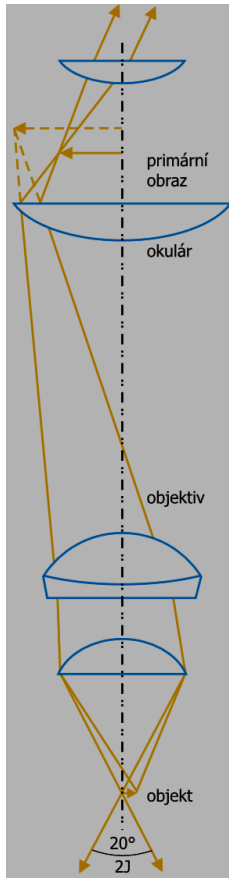
- v procházejícím světle (světlo prochází pozorovaným objektem)
- v dopadajícím světle (světlo dopadá na povrch objektu)

- ve světlém poli
- v temném poli



Světelné mikroskopy

mikroskopy monokulární, binokulární
povrch, vnitřní stavba, šířka stvolu a dřeně



mechanická část
optická část
osvětlovací část

ČÁST MECHANICKÁ: stativ, tubus, revolverový měnič objektivů, pohyblivý stolek, makrošroub, mikrošroub, vypínač, ovládání intenzity světla

ČÁST OPTICKÁ: objektivy, okuláry

ČÁST OSVĚTLOVACÍ: zdroj světla, zrcátko, polní clona, kondenzor, aperturní clona

Světelné mikroskopy

propojení s PC, fotoaparátem nebo kamerou

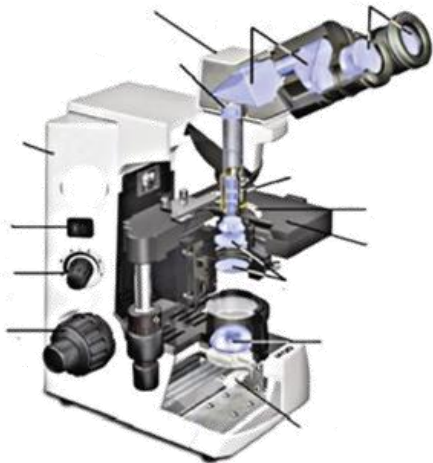


mikroskop s videokamerou a propojení s PC
digitální obraz

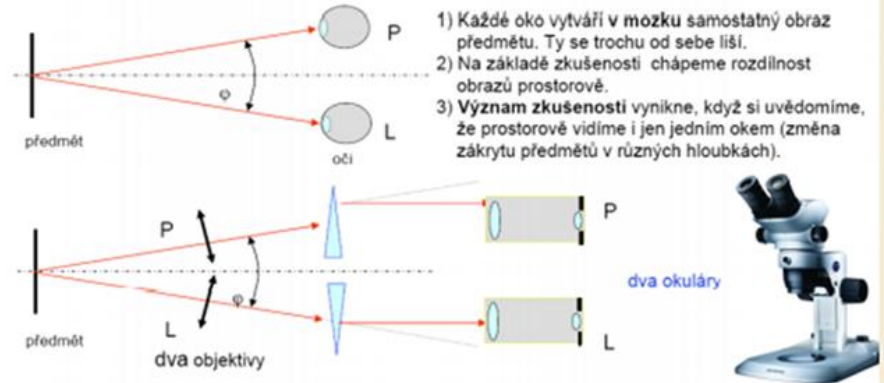
mikroskopy monokulární, binokulární, stereomikroskopy



Monokulární mikroskop

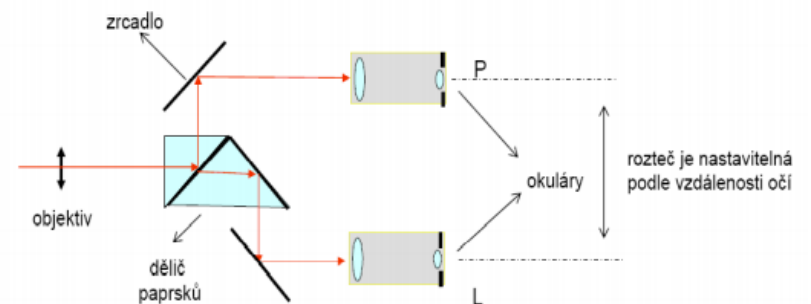


Stereomikroskop



- 1) Stereomikroskop se skládá ze dvou samostatných mikroskopů, jeden pro levé a druhý pro pravé oko.
- 2) Čím větší je úhel ϕ , tím výraznější je stereovjem.

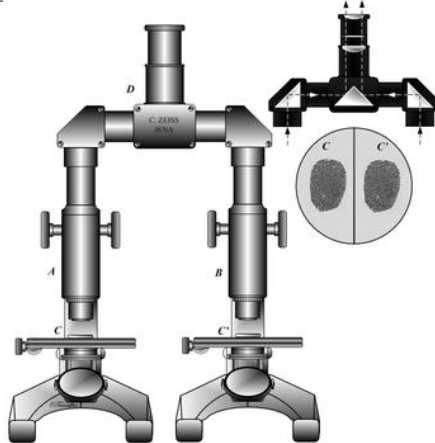
Binokulární mikroskop



- 1) Binokulární mikroskop **není** stereo mikroskop.
- 2) Každé oko pozoruje svým okulárem meziobraz preparátu. Pozorování oběma očima je méně únavné než jedním okem.
- 3) Současnou **ostrost obou** dílčích obrazů je třeba postupně doladit jednotlivými okuláry.

Komparační mikroskop

Při pohledu do porovnávacího mikroskopu vidíme najednou dva vzorky.



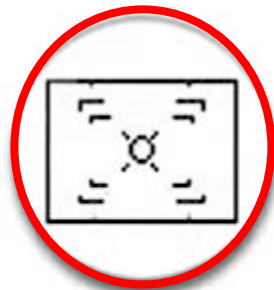
Komparační mikroskop (srovnávací) je svojí konstrukcí **spojením dvou** identických částečně synchronizovaných **mikroskopických soustav** tvořených 2 objektivy, které mají okuláry svedeny k sobě v rozestupu lidských očí. Každá z polovin zorného pole přísluší své soustavě.



Okulár

Základní úlohou okuláru je **zvětšit obraz vytvořený objektivem**. Obraz vytvořený objektivem není dokonalý, okulár má vady opačné a tím se vady objektivu zmírní.

Do oblasti **okulárové clony** je u okulárů k tomu upravených vsunut průhledný **skleněný disk** s obdélníkem, mikrometrickým měřítkem, křížem nebo čtvercovou sítí.



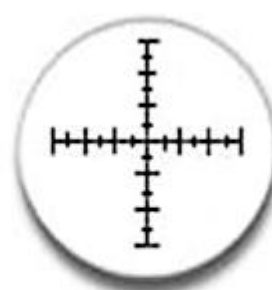
(a)

mikrofotografie



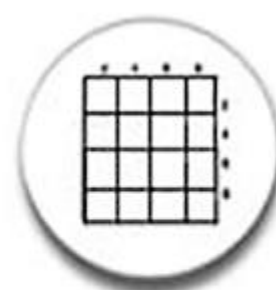
(b)

mikrometrické měřítko



(c)

polarizace



(d)

počítání objektů

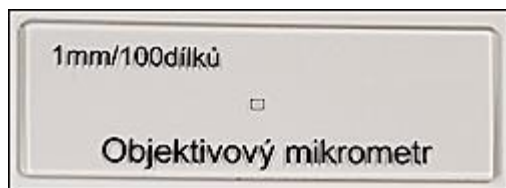


Metrické charakteristiky

maximální a minimální šířka stvolu, šířka dřene, indexy

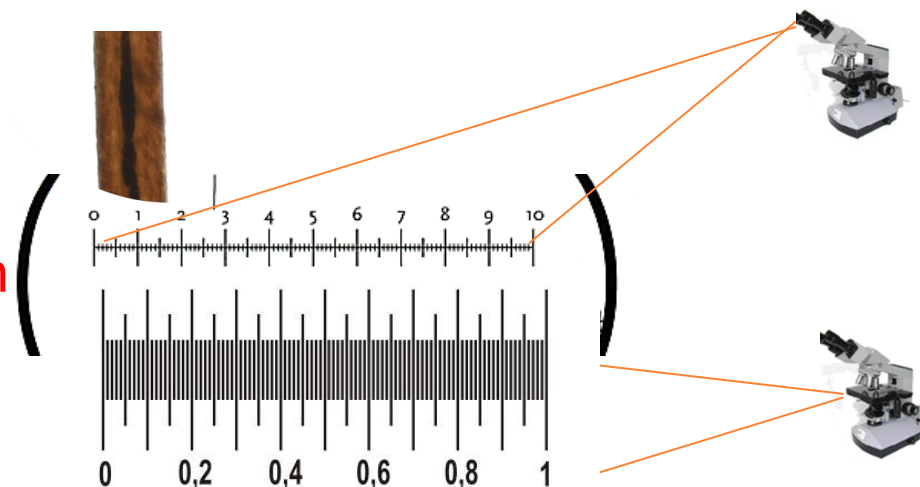
OKULÁROVÝ MIKROMETR = dílky

OBJEKTIVOVÝ MIKROMETR = 1 mm



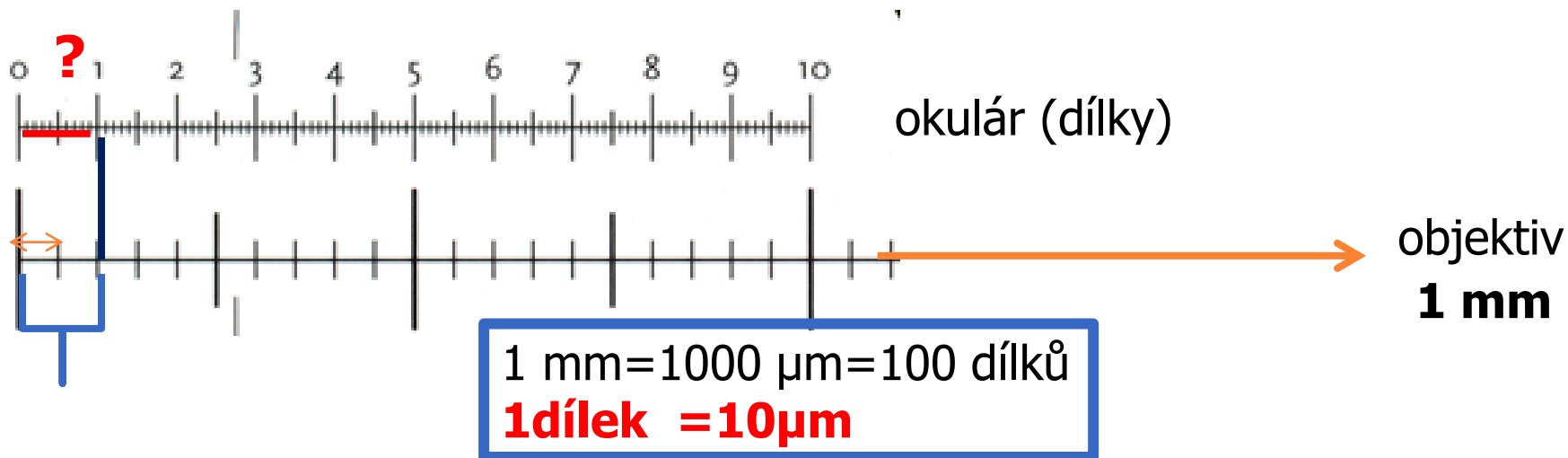
objektivový mikrometr kalibrováný
(stálý), standard, etalon

**kalibrace měřítka =
vztah mezi hodnotami
okulárového a objektivového
měřidla**



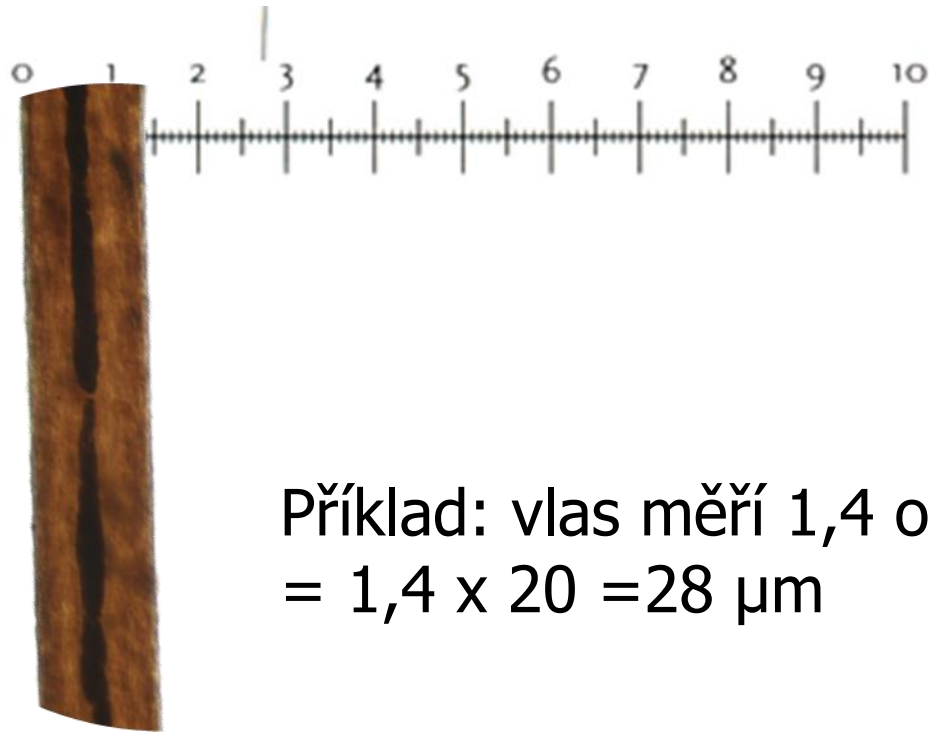
určit mikrometrický koeficient,
kterým budeme vždy při určitém zvětšení
násobit zjištěný počet okulárových dílků;

různá zvětšení mají různý mikrometrický
koeficient !



musíme vypočítat, kolik měří **jeden dílek** v okuláru
vidíme, že 1 dílek **okulárového měřidla** = 2 dílkům **objektivového měřidla** tj. **1 dílek okuláru měří 20 μm**

mikrometrický koeficient
(2 ob : 1 ok) x 10 μm = 20



Příklad: vlas měří 1,4 okulárových dílků
= $1,4 \times 20 = 28 \mu\text{m}$

Objektivy



60x Plan Achromat Objective



Figure 1

Objektivy suché a imerzní

Apochromát=

optická soustava s korigovanou otvorovou a barevnou vadou.
Parfokální objektiv – zachovává zaostření při různém zvětšení

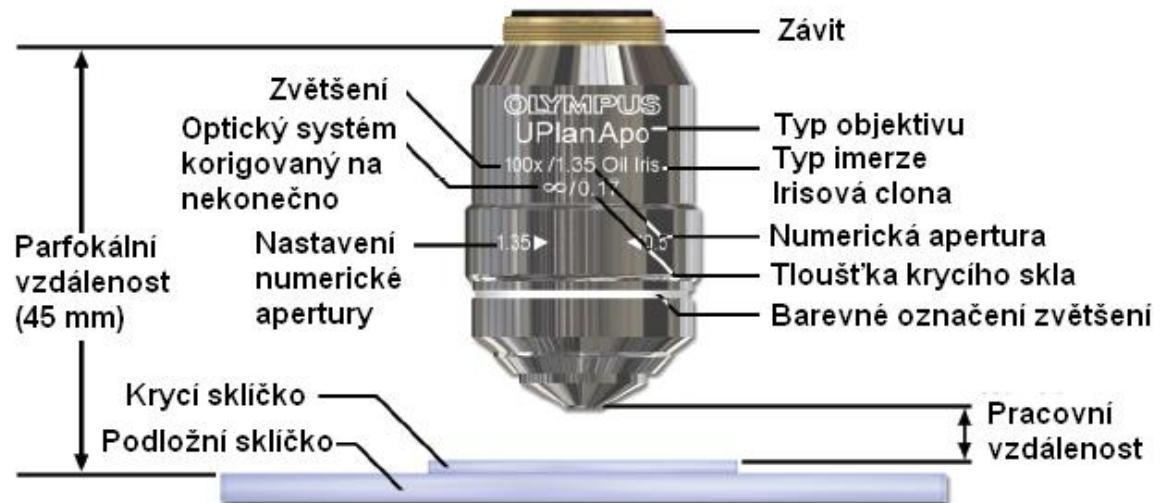
Zvětšení: 0,5x), černá (1-1,5x), oranžová (2-2,5x), červená (4,5x), žlutá (10x), zelená (16-20x), tyrkysová (25-35x), světle modrá (40-50x), modrá (60-63x), bílá (100-150x)

Wi - vodní imerze, Oil - imerzní olej

Volná pracovní vzdálenost (W.D. = working distance)
= vzdálenost krycího sklička od čelní čočky objektivu

Table 1 - Common Objective Working Distances

Manufacturer	Correction	Magnification	Numerical Aperture	Working Distance
Nikon	PlanApo	10x	0.45	4.0 mm
Nikon	PlanFluor	20x	0.75	0.35 mm
Nikon	PlanFluor (oil)	40x	1.30	0.20 mm
Nikon	PlanApo (oil)	60x	1.40	0.21 mm
Nikon	PlanApo (oil)	100x	1.40	0.13 mm



Numerická apertura

světelnost objektivu a pomáhá určit volbu okuláru

N.A. = numerická apertura = vztah mezi otvorovým úhlem a lomivostí prostředí
= **účinná světelnost objektivu**

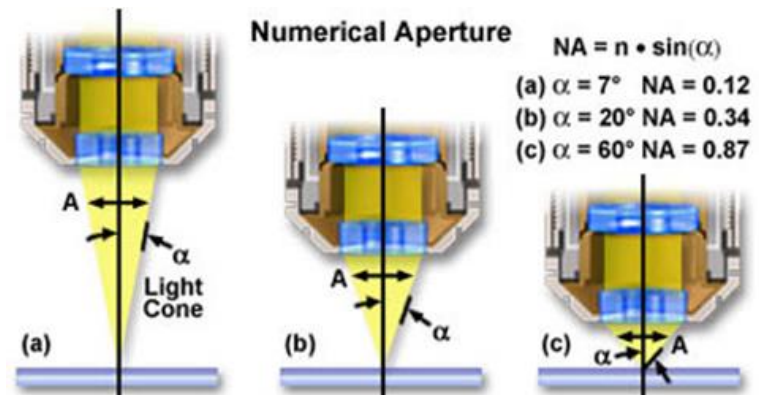
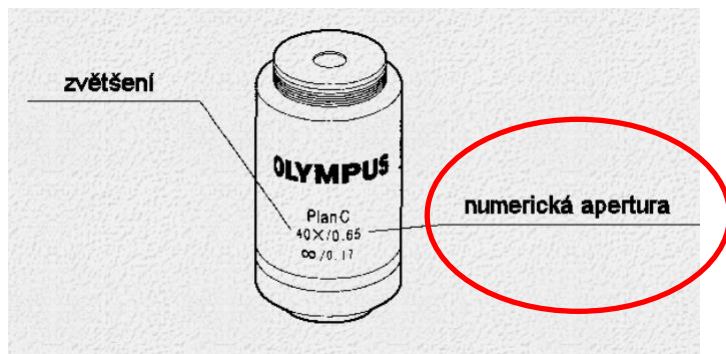
Platí: **N.A. = n · sin α**

n...index lomu prostředí (mezi objektivem a preparátem)

index lomu: vzduch 1,00026, voda 1,33, glycerol 1,473, sklo 1,5

α....poloviční vstupní úhel paprsků do objektivu

Numerická apertura závisí na polovičním vrcholovém úhlu maximálního světelného kužele, který může do čočky vstoupit nebo z ní vystoupit.



Čím větší je N.A. objektivu, tím vyšší rozlišení a zvětšení má objektiv.

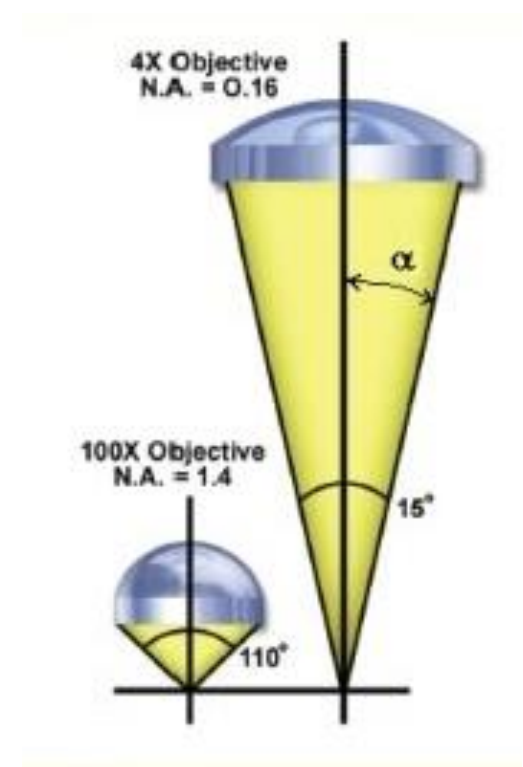
Podle prostředí mezi krycím sklem a čelní čočkou objektivu rozlišujeme:

suché objektivy: N.A. < 1

imerzní objektivy: N.A. > 1
(vodní imerze, olejová imerze)

Table 1 - Common Objective Working Distances

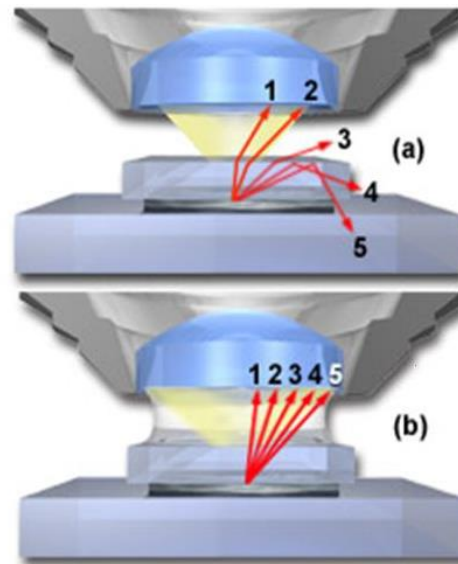
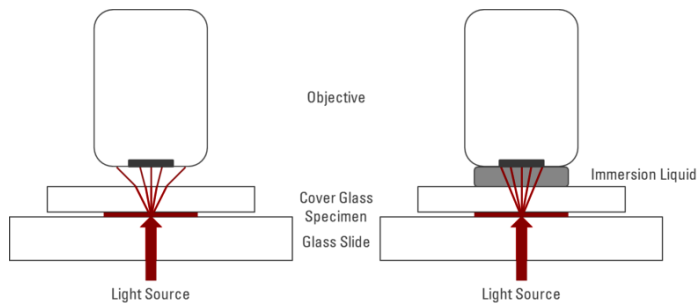
Manufacturer	Correction	Magnification	Numerical Aperture	Working Distance
Nikon	PlanApo	10x	0.45	4.0 mm
Nikon	PlanFluor	20x	0.75	0.35 mm
Nikon	PlanFluor (oil)	40x	1.30	0.20 mm
Nikon	PlanApo (oil)	60x	1.40	0.21 mm
Nikon	PlanApo (oil)	100x	1.40	0.13 mm



Imerze

Imerze je v optické mikroskopii technika, kterou se **zvětšuje účinná numerická apertura** objektivu tím, že se **na krycí sklíčko preparátu** kápne imerzní tekutina a objektiv se do ní ponoří.

imerzní objektivy



imerzní tekutina n

voda	1,333
glycerin	1,4695
Parafinový olej	1,480
Cedrový olej	1,515
Syntetický olej	1,515

Princip imerze: paprsky od objektu směřují do objektivu, dole s imerzí, nahoře bez ní. Při průchodu krycím sklíčkem se lomí podle toho, jaký je index lomu okolí. **Je-li mezi sklíčkem a objektivem tekutina se srovnatelným indexem lomu, vstoupí víc paprsků do objektivu.**

Zvětšení mikroskopu

volba okuláru



zvětšení mikroskopu: okulár x objektiv (nelze však použít jakýkoli okulár)

užitečné zvětšení mikroskopu – platí: 1000 x N.A. (hodnota je podkladem pro výběr vhodného okuláru)

$0,40 \times 1.000 = 400$ (tj. užitečné zvětšení), vhodný okulár k tomuto objektivu je 20x

Slabší okulár nedovolí plně využít rozlišovací schopnost objektivu, silnější okuláry dávají prázdné zvětšení, které nezobrazí více detailů a spíše snižuje ostrost obrazu.

Užitečné zvětšení mikroskopu

Celkové zvětšení \leq N.A. objektivu x 1000

Příklad 1:

Objektiv 40x, N.A.=0,65

Okulár (0,65 x 1 000) : 40 = 16,25

Okuláry 15 x 40 x 15 = 600 \leq 650 O.K.

Okuláry 20 x 40 x 20 = 800 $>$ 650 (prázdné zvětšení)

Příklad 2:

Objektiv 100x, N.A.=1,3

Okulár (1,3 x 1000) : 100 = 13

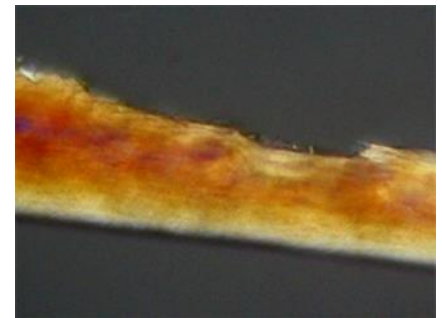
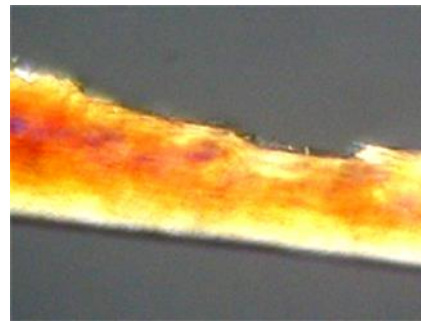
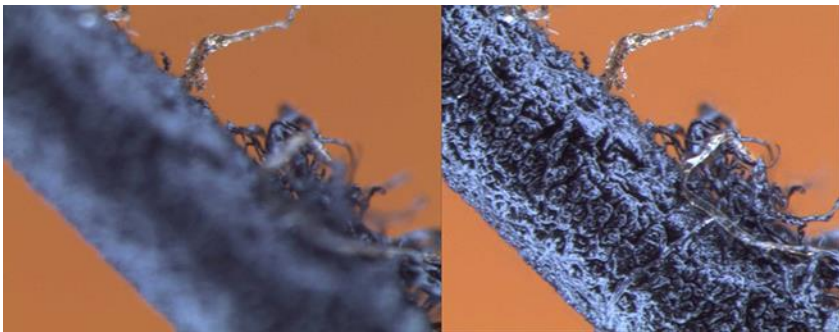
Okuláry 12,5 100 x 12,5 = 1250 \leq 1300 O.K.

Okuláry 15x 100 x 15 = 1500 $>$ 1300 (prázdné zvětšení)

Hloubka ostrosti

Hloubka ostrosti je rozdíl mezi vzdálenostmi nejbližšího a nejvzdálenějšího místa zobrazeného předmětu od objektivu, která jsou zobrazena s ještě přijatelnou ostrostí. **Méně zvětšující objektivy** (např. 4x, 10x) mají **větší hloubku ostrosti** oproti více zvětšujícím objektivům (např. 40x, 60x, 100x).

Hloubku ostrosti lze zvýšit přicloučením nebo snížením postavení kondenzoru. Tím mohou být tedy zobrazeny detaily ležící nad a pod objektem.



Rozlišovací schopnost světelného mikroskopu

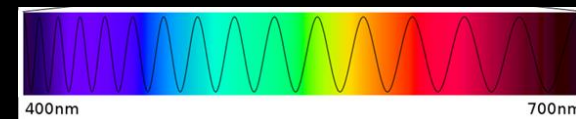


kritický faktor získání kvalitního mikroskopického obrazu

vzdálenost dvou bodů, které mikroskop zobrazí jako dva samostatné body

$$d = \lambda / \text{N.A.}$$

$$d = \lambda / n \times \sin \alpha$$



d – vzdálenost dvou bodů

λ – vlnová délka světla

n – index lomu prostředí mezi objektivem a krycím sklíčkem

α – polovina úhlu kužele paprsků, které mohou vstoupit do objektivu

Rozlišovací schopnost lze zvýšit:

λ → použití světla s kratší vlnovou délkou (filtry)

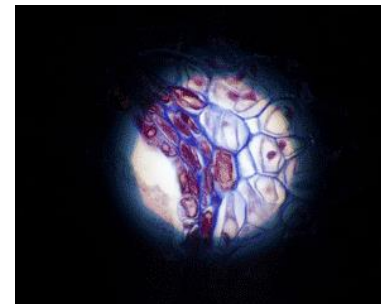
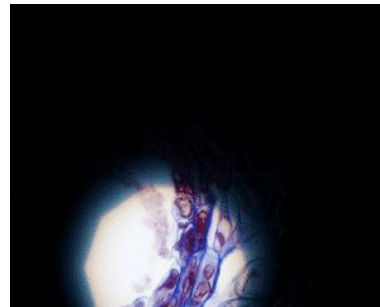
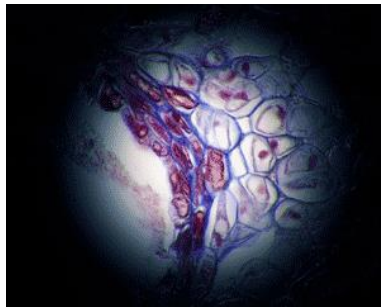
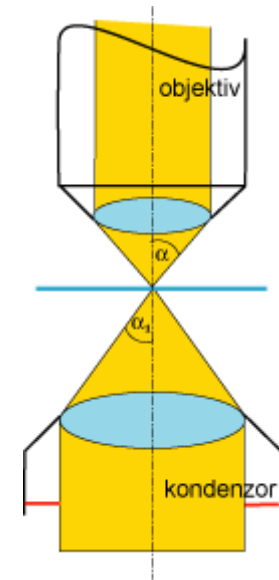
n → zvýšit index lomu prostředí použitím imerzního oleje

oko 0,25 mm; světelný mikroskop cca 0,2 μm ; elektronový mikroskop 0,1-0,7 nm

Optimalizace osvětlení v mikroskopu

Köhlerovo nastavení osvětlení: CENTROVANÝ SYSTÉM – rovnoměrné a **maximální osvětlení** průhledného preparátu, ležícího v předmětové rovině. Současně by měla být dosažena nejlepší kombinace mezi **rozlišovací schopností** a **kontrastem**.

Preparát leží ve společném ohnisku objektivu a kondenzoru.

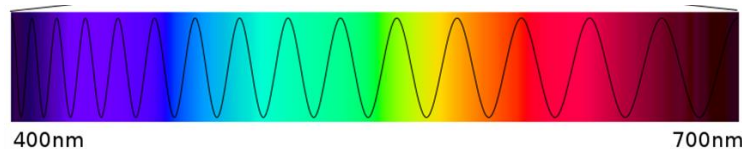


Světelné zdroje

Různé způsoby mikroskopického zobrazování se rozlišují na základě druhu záření přicházejícího do objektu (**světlo viditelné, ultrafialové, infračervené, polarizované apod.**), nebo podle způsobu uspořádání optické soustavy (**procházející světlo, odražené světlo, emitované fluorescencí apod.**).

Světlo je viditelná část elektromagnetického záření o vlnové délce **390-760 nm**.

UV < 390 nm IR > 760 nm



Základními charakteristikami světla jsou:

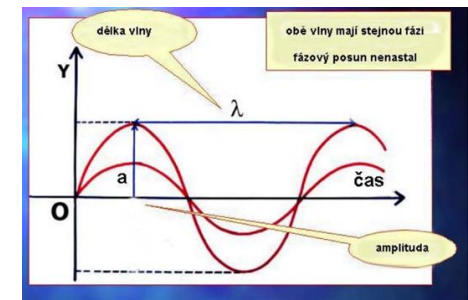
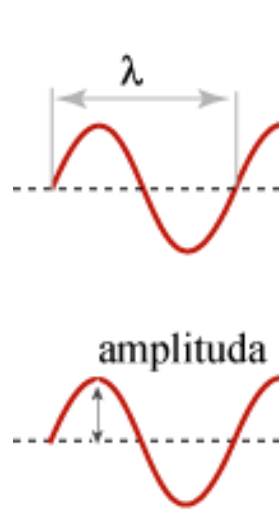
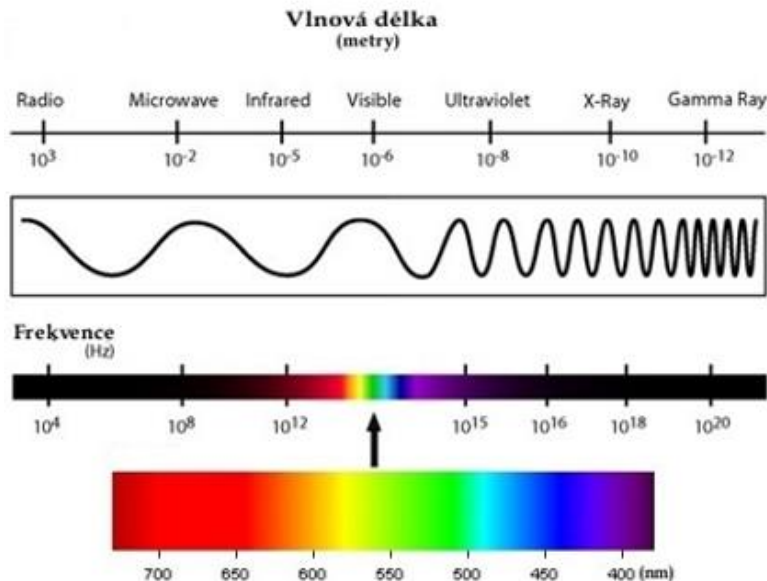
Rychlost (c) – ve vakuu je to $3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Frekvence (f) – počet kmitů za jednotku času

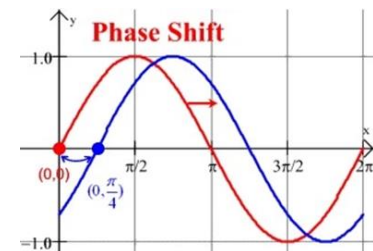
Vlnová délka (λ) – vzdálenost mezi odpovídajícími si body sinusoidy. Udává **barvu světla**.

Amplituda (A) – největší odchylka sinusoidy od nulové hodnoty, na amplitudě závisí **intenzita světla**.

Fáze (φ) udává v jaké části vlny (sinusoidy) se vlnění nachází v časovém okamžiku. Interference.



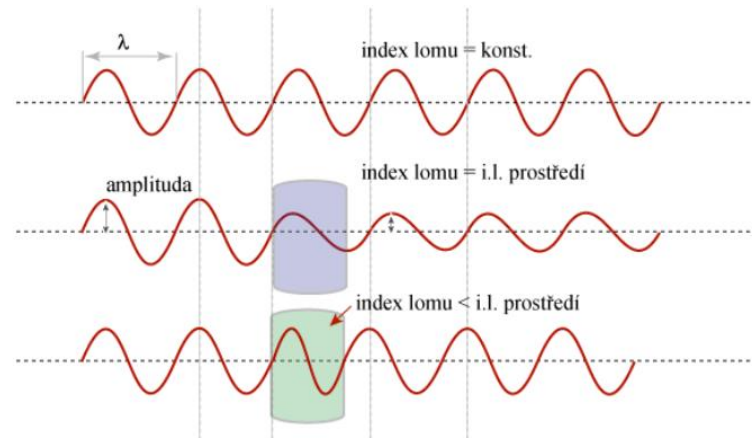
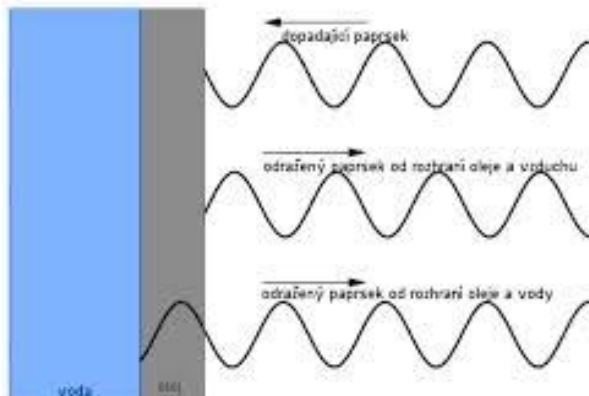
dvě sinusové vlny ve stejné fázi



Fázový posuv

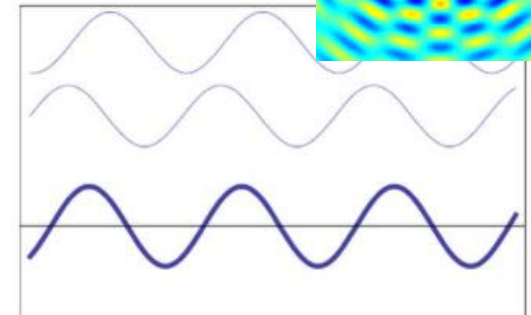
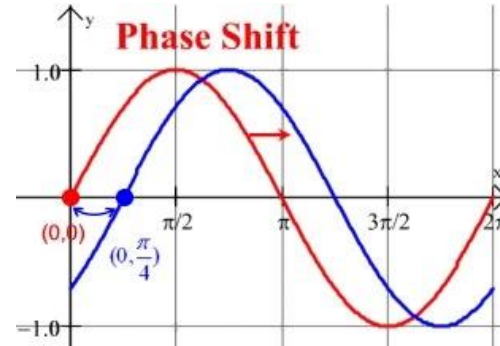
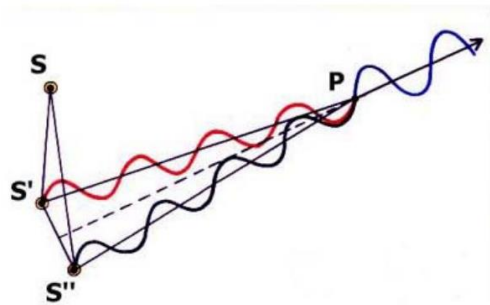
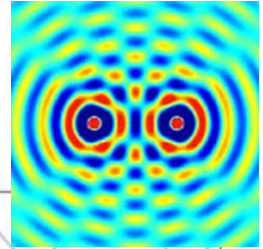
Různé části objektů (nebo prostředí) mají **různou optickou hustotu**. Při dopadu na objekt se paprsek odrazí bez změny fáze nebo se změnou fáze.

Při průchodu objektem dochází k absorpci světla (mění se amplituda) nebo k posunu fáze vlnění.

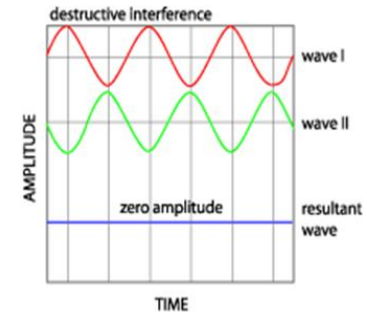
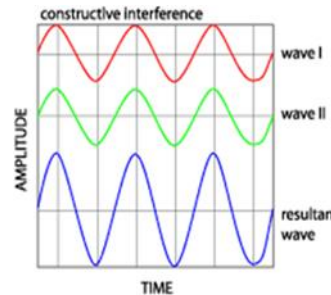


- dopadající paprsek
- odražené paprsky
- konstantní prostředí
- absorpce světla (změna intenzity, jasu)
- objekt je transparentní, změna indexu lomu způsobí změnu dráhy, posun fáze)

Interference znamená vzájemné ovlivňování, prolínání nebo střetání vln. Při jejich pohybu a prolínání se vzájemně zesilují, nebo vzájemně ruší.



dvě vlny (S' a S'') se stejnou fází a se stejnou amplitudou při setkání v bodě P vytvoří interferenci novou vlnu s dvojnásobnou amplitudou



Interference:
 minimálně 2 vlnění stejné vlnové délky (není podmínkou), dráhový nebo fázový posuv
 mikroskopy s fázovým kontrastem a polarizací

Kvalita zobrazení biologických objektů závisí na

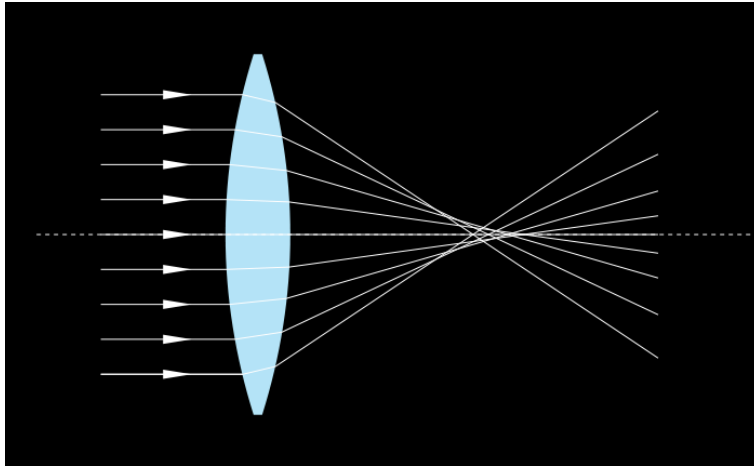
1. užitečné zvětšení

1.rozlišovací schopnosti mikroskopu

2.kvalitě osvětlení preparátu

3.kontrastu obrazu

Vady optických soustav

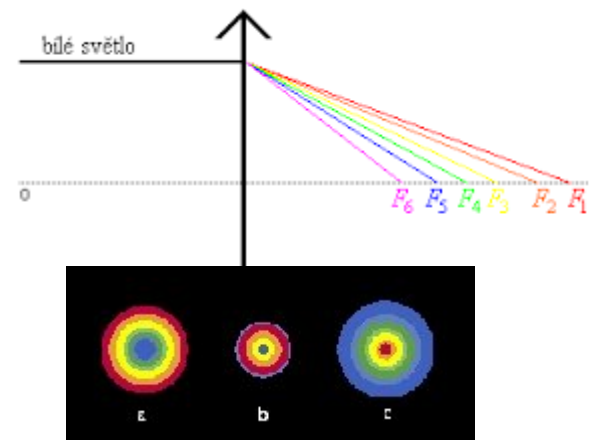


Otvorová (kulová) vada (sférická aberace) vzniká při zobrazení osového bodu **širokým paprskovým svazkem**.

Obrazem bodu je kruhová ploška (neostrost obrazu).

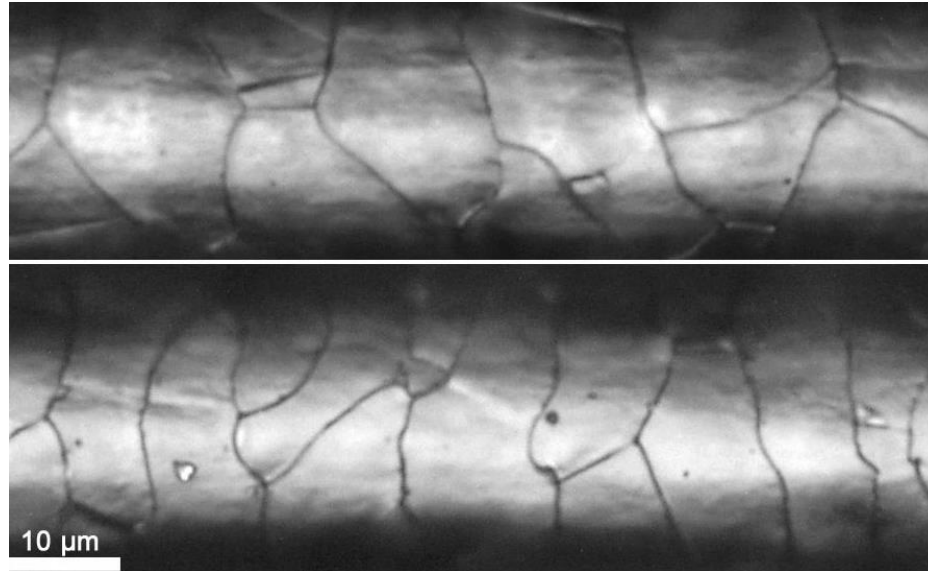
Barevná vada Při průchodu čočkou s barevnou vadou dochází k **rozkladu světla**.

V důsledku barevné vady je obrazem bodu bod určité barvy, který je obklopen mezikružímí jiných barev (duhové zbarvení okrajů, neostrost obrazu).



Dopadající světlo

informace o povrchové struktuře TM



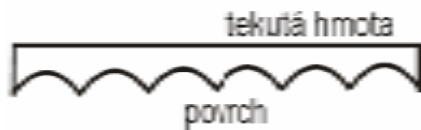
kutikula zvířecího chlupu
v dopadajícím světle optického mikroskopu

Mikrorelief povrchu TM

Postup:

1) Nanesení tenké vrstvy rychle tuhnoucí průhledné hmoty (4 – 8% roztok celoidinu v acetonu) na chlup.

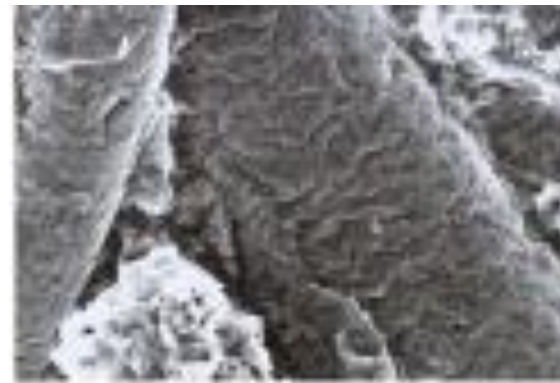
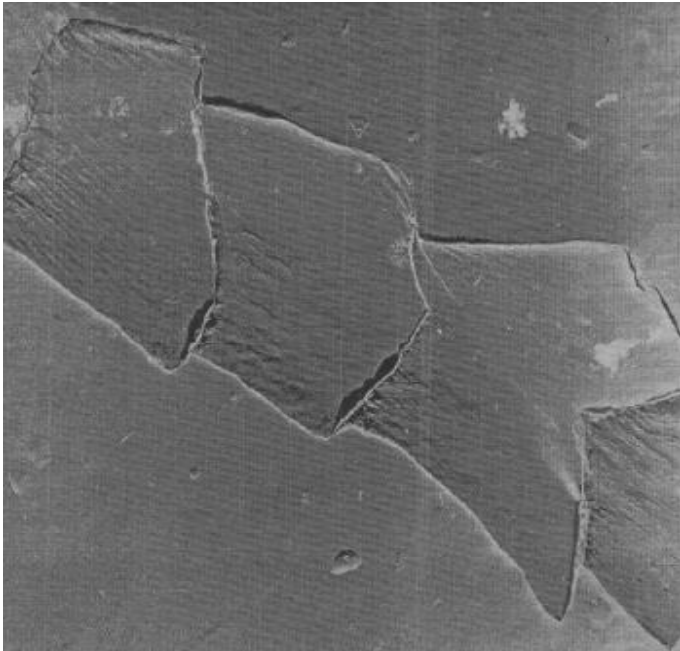
Otisk se sejme (sloupne) a přenese (přilepí) na podložní sklíčko, (doporučuje se eventuálně lepicí pásku zhomogenizovat namočením v benzenu a vysušením).



2) Vlas/chlup se umístí do média (např. lak na nehty, lepidlo), po zaschnutí se vlas/chlup vyjme a otisk (na lepicí pásce) pozoruje v mikroskopu.

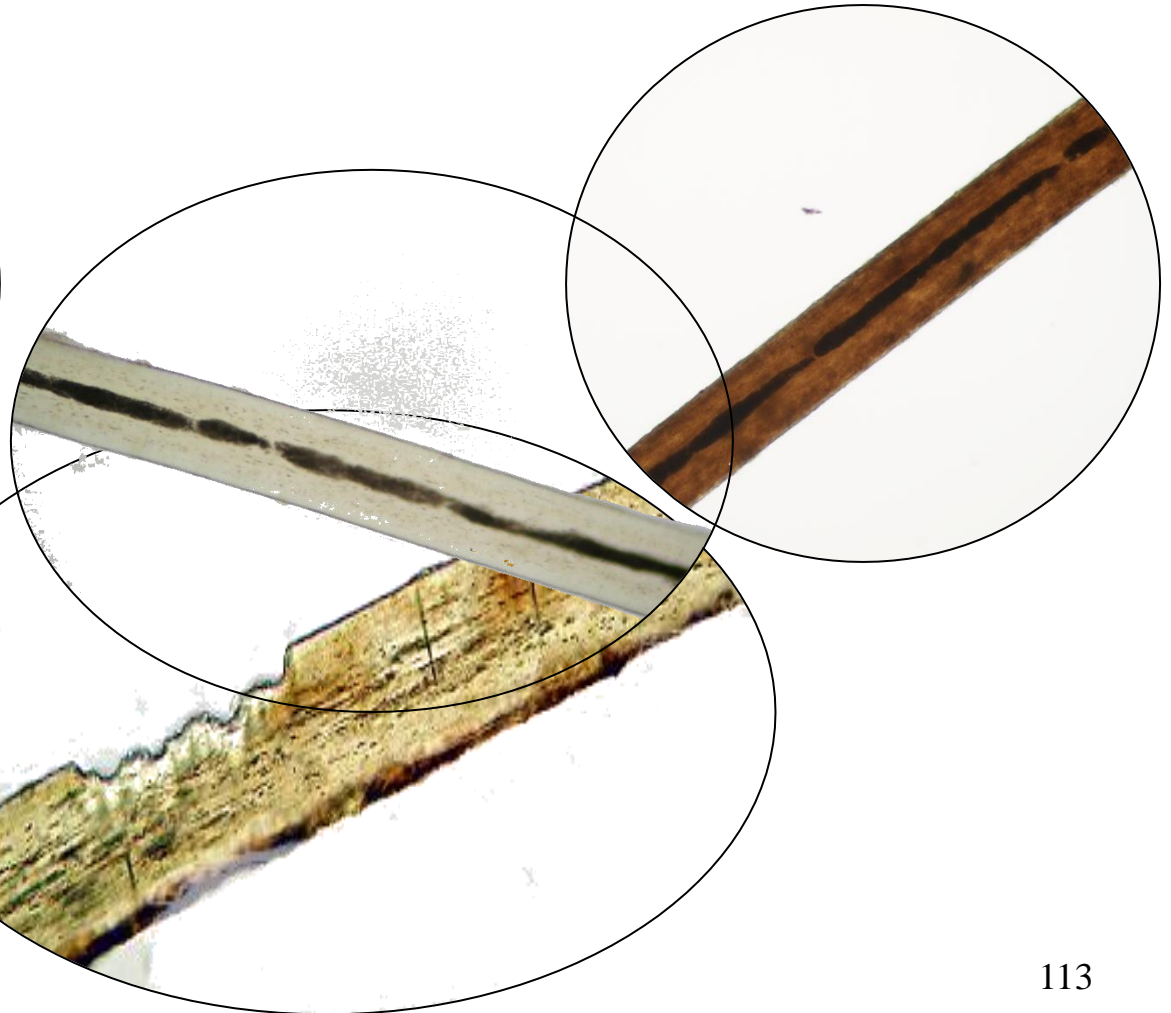
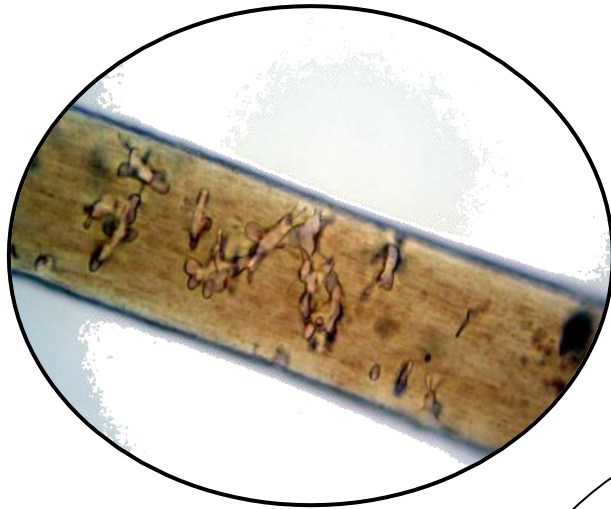
3) Otisk chlupu v Mikrosilu.

Otisk zvířecího chlupu



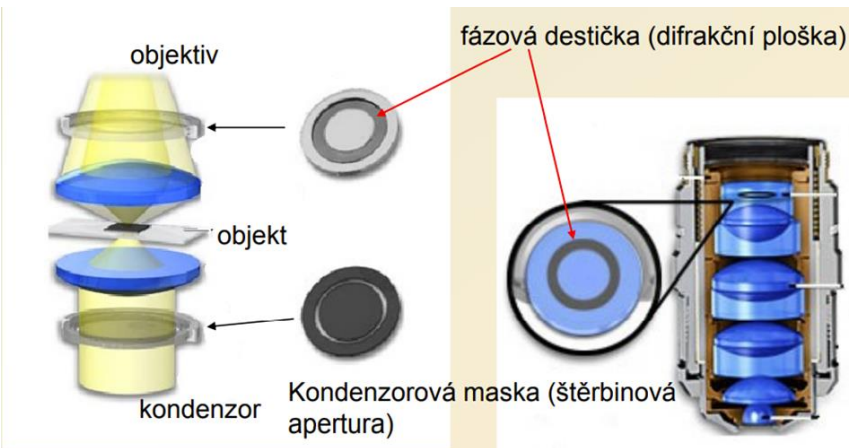
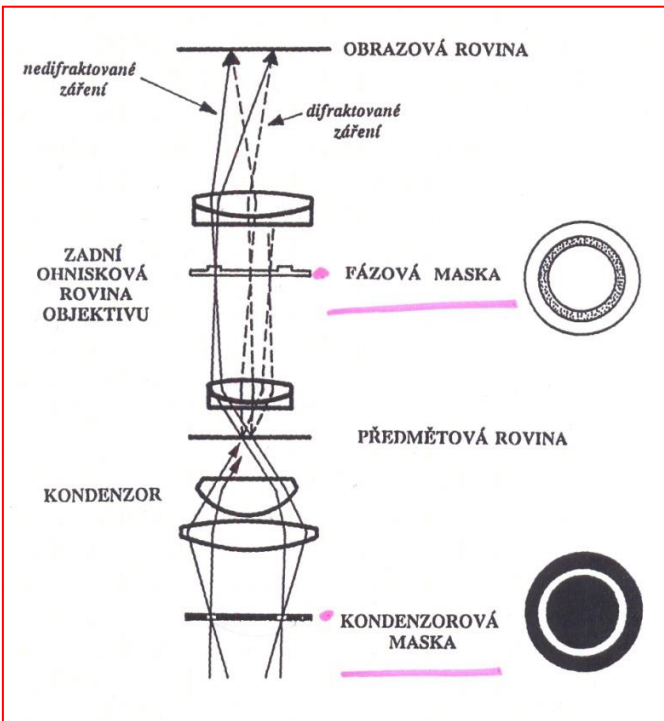
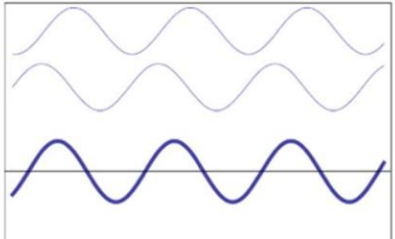
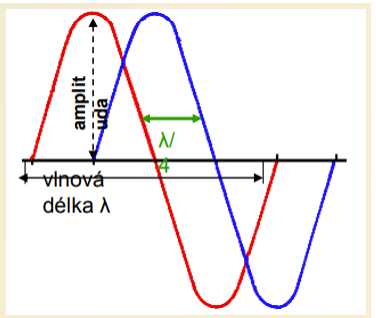
Procházející světlo

osvětlení difúzní, Köhlerovo osvětlení



Fázový kontrast

Změna fáze světla. Interference vln (vlny beze změny a vlny se změnou fáze) **Obraz se vytváří interferencí fázově posunutých a neposunutých paprsků. Dochází ke změně intenzity světla (rozdíly amplitudové).** Fázové objekty pak vypadají jako **tmavé nebo světlé vůči svému okolí (pozitivní nebo negativní kontrast).** Technika umožňuje zviditelnit jemné struktury.



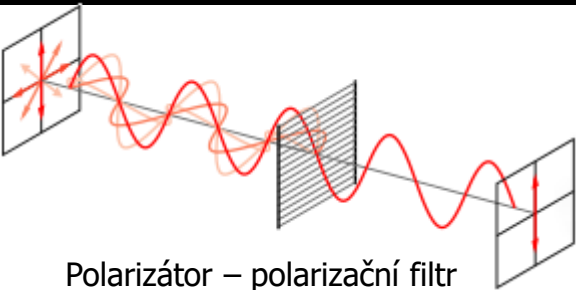
Objektivy pro fázový kontrast - fázová destička
(převádí neviditelné fázové rozdíly na rozdíly amplitudové)

Fázový kontrast

Na kondenzor se umístí **kondenzorová maska s kruhovou štěrbinou**, kterou proniká světlo do objektu. V objektivu, v místě obrazu kondenzorové masky, je umístěna **fázová maska**. V místě šterbiny u kondenzorové masky je **u masky fázové napařená polopropustná vrstva kovu, která mění fázi světla o čtvrtinu vlnové délky**. Díky tomuto uspořádání prochází nedifraktované (neohnuté) záření ze zdroje (štěrbinu kondenzorové masky) tou částí fázové masky, která mění fázi světla. Ostatní vlnění, které se na objektu ohnulo a nebo zlomilo, projde beze změny. Při **interferenci vln** v obrazové rovině se části objektu, které různým způsobem mění fázi světla, projeví **různou intenzitou světla**. Tato technika **převádí rozdíly v posunu fáze světla procházejícího různými částmi objektu, které nevidíme, na rozdíly v intenzitě světla, kterou můžeme pozorovat.**

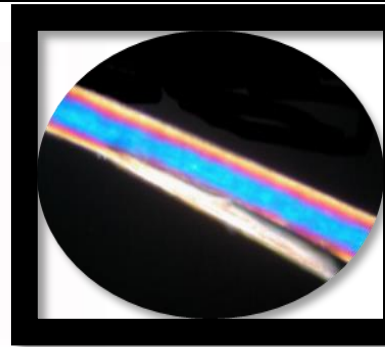
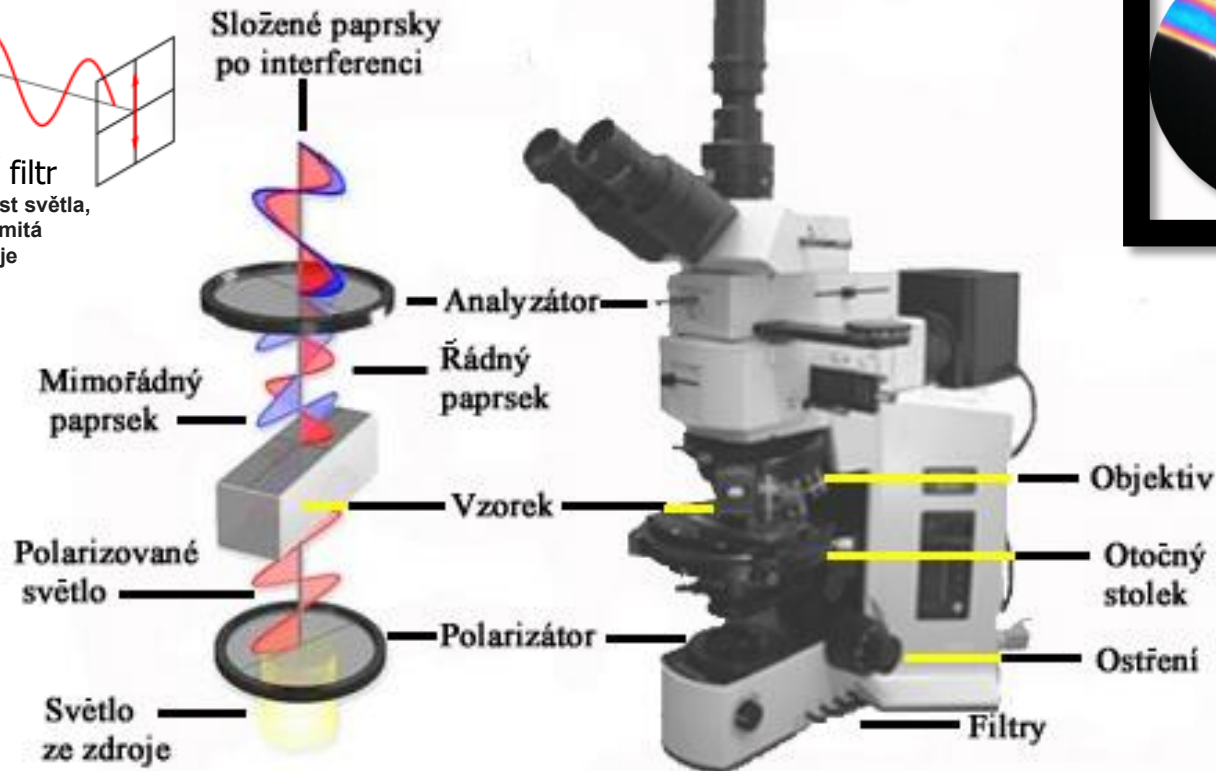
Polarizační mikroskopie

Světlo kmitá v různých rovinách, polarizované světlo kmitá v jedné rovině.



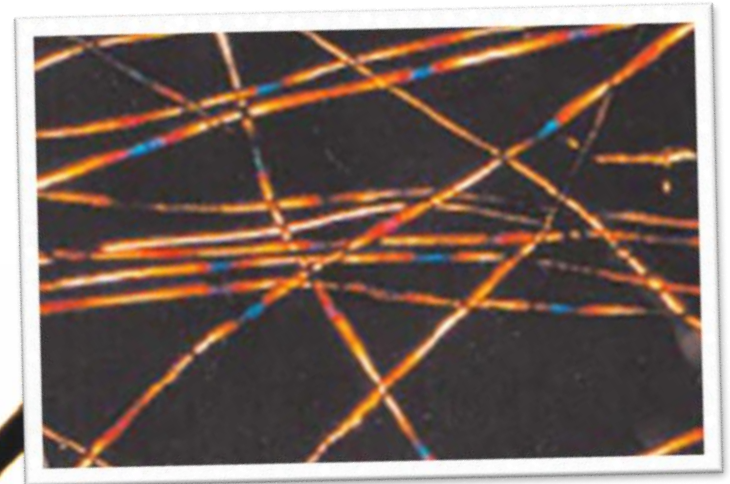
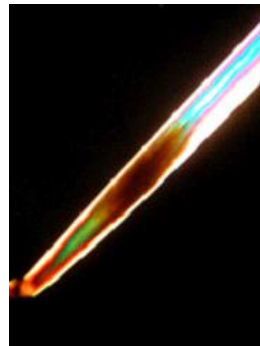
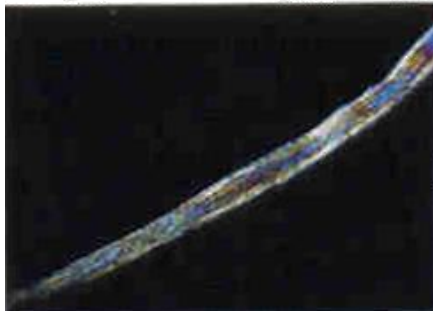
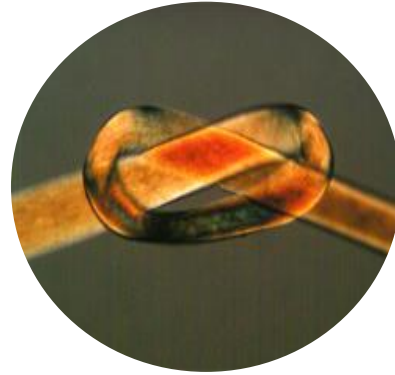
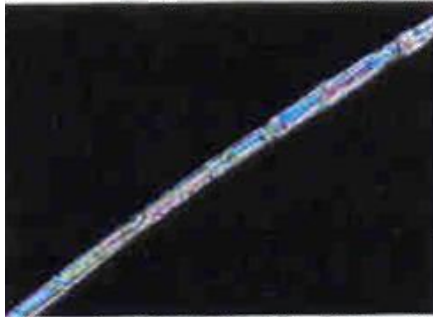
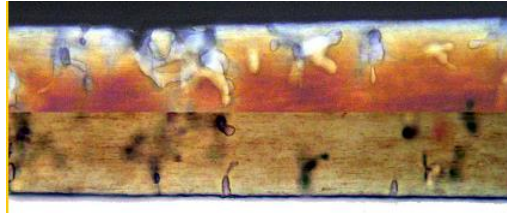
Polarizátor – polarizační filtr

Ze světla je vybrána pouze ta část světla, jejíž vektor elektrické intenzity kmitá pouze v jednom směru a zbytek je pohlcen.

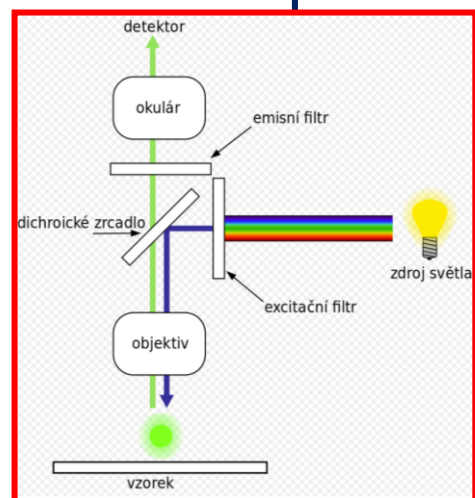
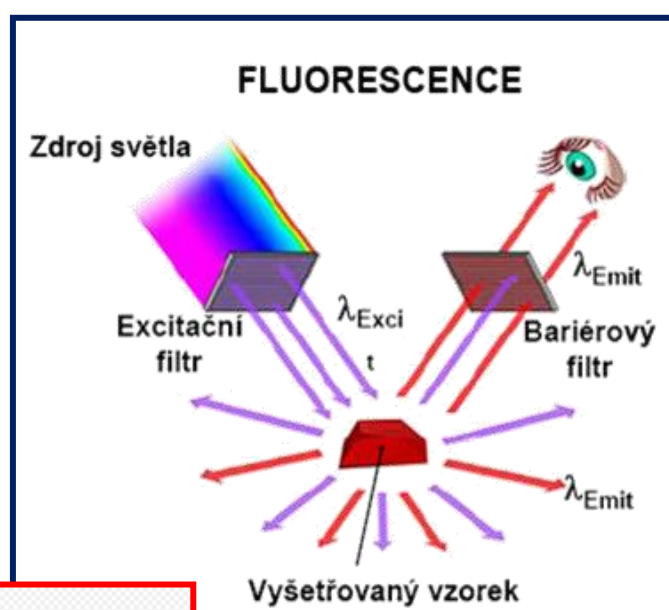


Každý polarizovaný paprsek vycházející z **polarizátoru** se při průchodu dvojlomným objektem rozkládá na **dva paprsky – paprsek řádný a mimořádný**. Ty jsou proti sobě fázově posunuté. Po průchodu **analyzátozem** dochází k interferenci (skládání) těchto dvou paprsků do stejné roviny kmitu a obraz objektu se jeví jako světlý na tmavém pozadí, resp. barevný na tmavém pozadí.

Polarizované světlo



Fluorescence

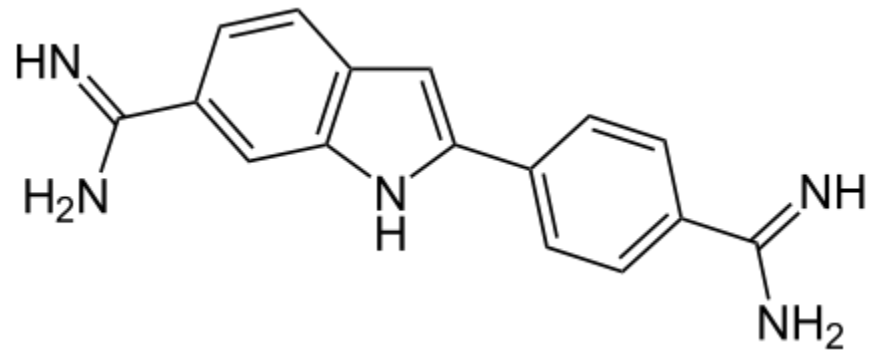
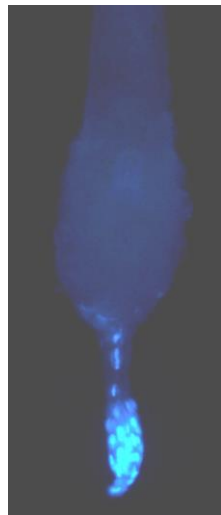
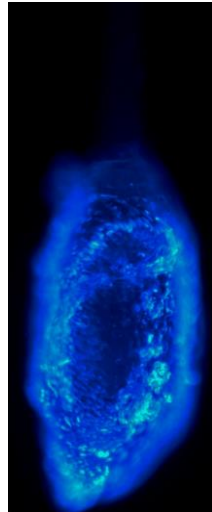


fluorochromy se vážou na buněčné struktury

Ze zdroje světla je pomocí tzv. **excitačního filtru** propuštěno pouze světlo určité vlnové délky λ_{Exci} , které dopadá na vyšetřovaný vzorek. Zde dochází k fluorescenci, přičemž vzorek emituje světlo o vlnové délce $\lambda_{emit} > \lambda_{excit}$. Pomocí tzv. **bariérového filtru** je do oka pozorovatele propuštěno jen světlo emitované, které vidí jen ty části vzorku, které emitují světlo o vlnové délce λ_{emit} .

Fluorescence

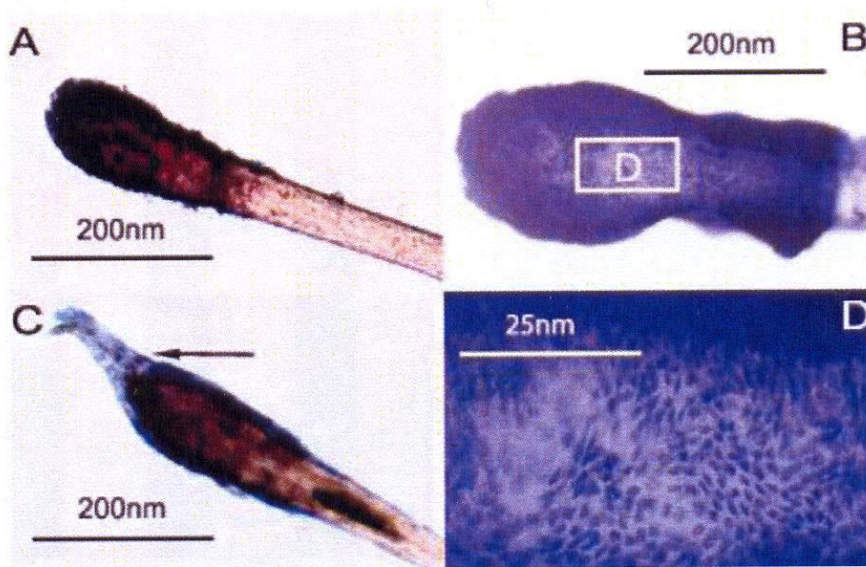
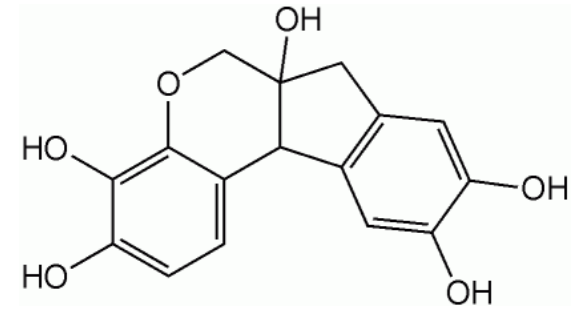
vazba fluorochromu na buněčnou složku



DAPI (Dann,1971) – vazba na DNA
(DAPI=4',6-diamidino-2-phenylindol)

absorpce UV (358nm)
modrá emise (461 nm)

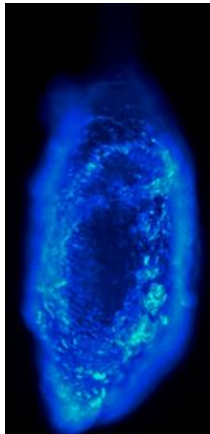
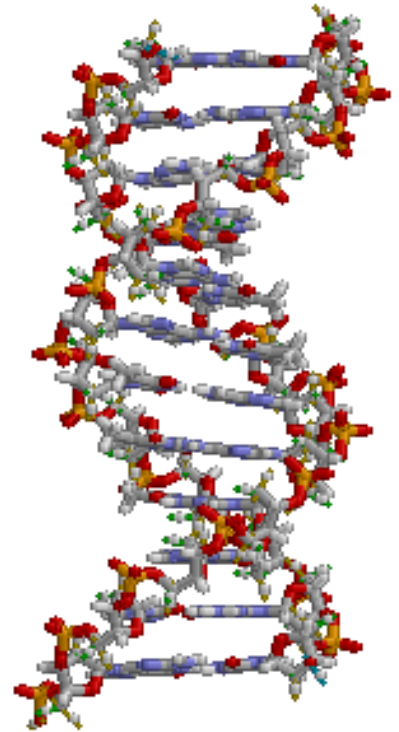
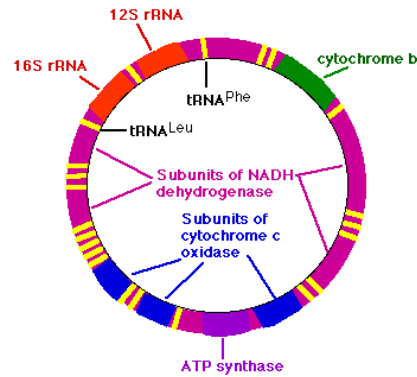
Hematoxylin



Genetické zkoumání



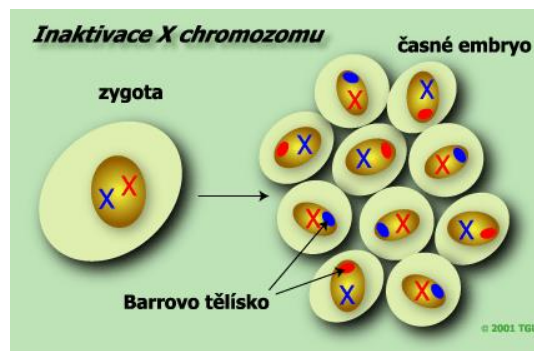
- nuDNA – kořínky
- mtDNA – stvoly



Pohlaví (lidský TM)

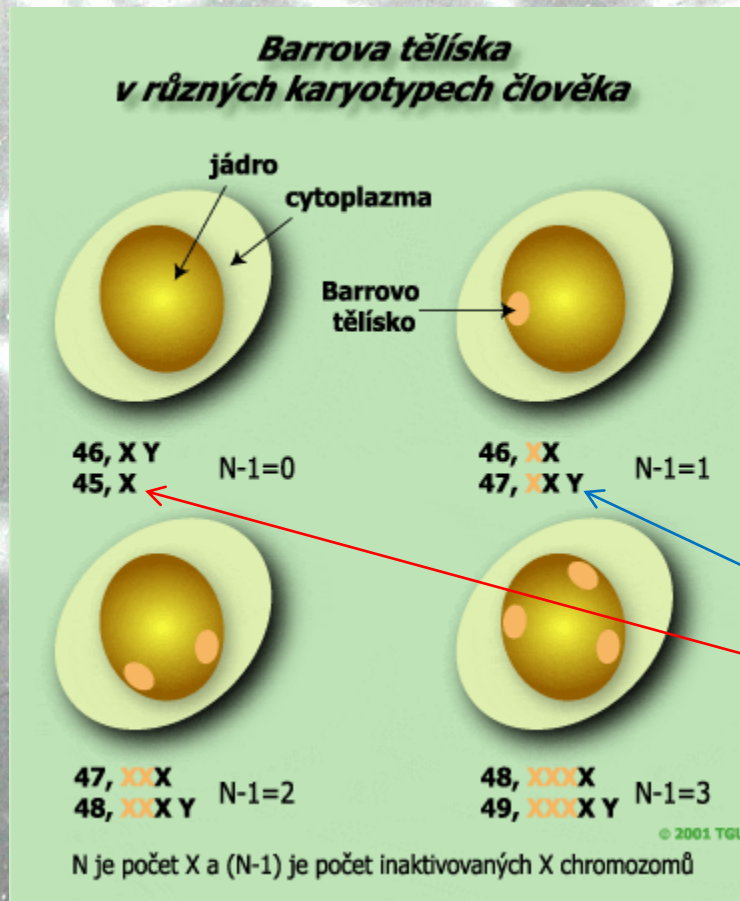
Screening – vyšetření **sex chromatinu** (Baarových tělísek).
Pro hledání se odebírají **buňky epiteliální pochvy vlasu**
nebo bukální sliznice.

Baarovo tělísko = vytvořeno u žen, krátce po vytvoření zygoty = inaktivní chromozom X s **kondenzovaným heterochromatinem uloženým blízko jaderné membrány**; výběr jednoho z chromozomů X, který se stane inaktivní, je u každé buňky náhodný.



Baarovo tělísko

průkaz po dodání fluorescenční značky (fluorochromu) – fluorescence



**XXX syndrom
superžena**

**47 + XXX
má dvě Baarova
tělíska, frekvence
výskytu je asi 1/1000
narozených děvčat**

♂ Klinefelterův sy
♀ Turnerův sy

Biochemické metody

- sérologické vyšetření – **aglutinogeny** (antigeny) A,B, sérologická inaktivita
- **glykovaný keratin** (glykace proteinů keratinu) – diabetes mellitus

Příčné průřezy stvolu nábrusy



bruska



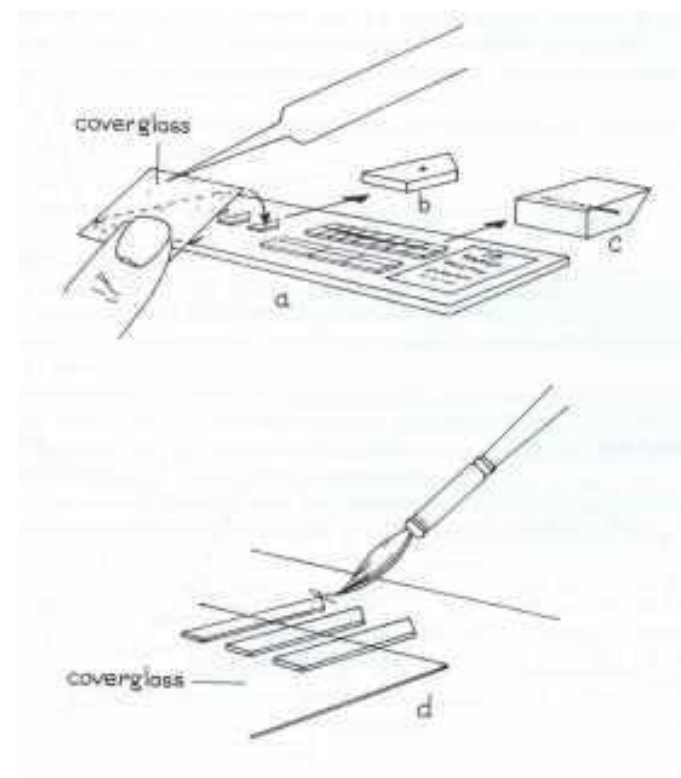
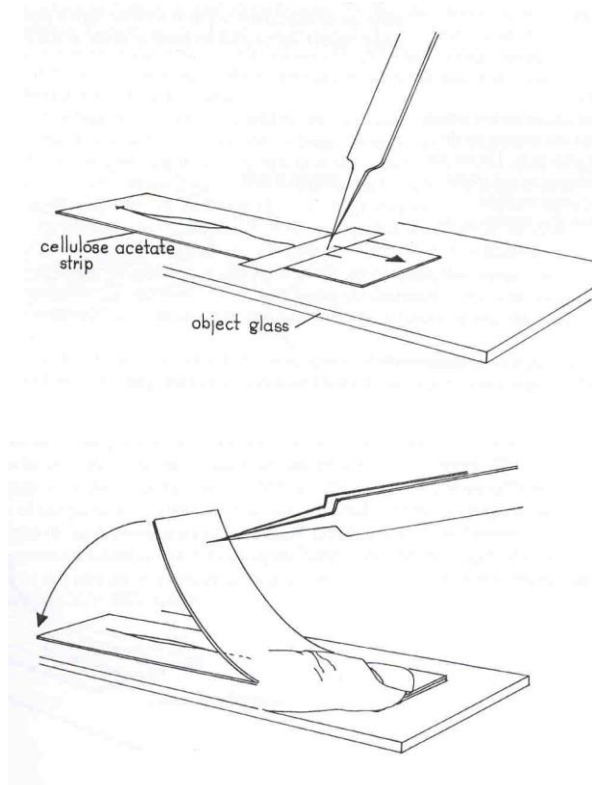
Epoxicure



Příčné průřezy stvolů zvířecích chlupů

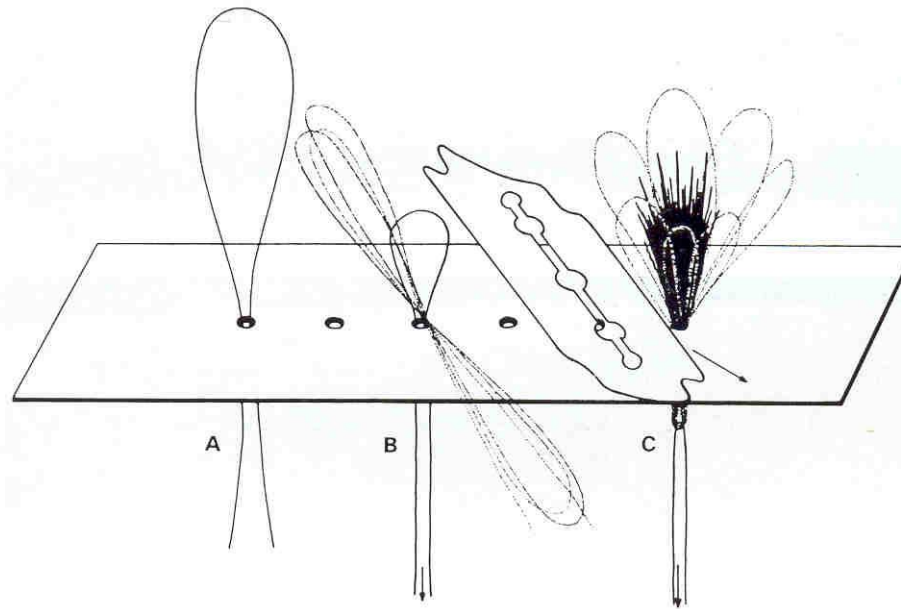


Příprava příčných průřezů



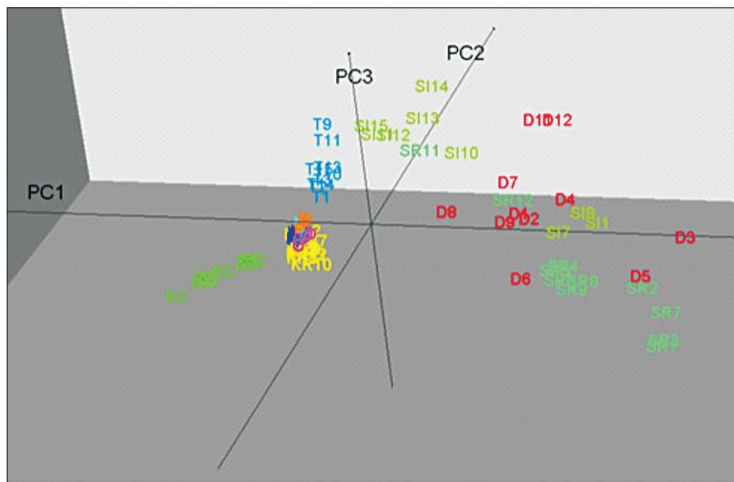
nitrát celulózy (celoidin)+ aceton

Příprava příčných průřezů

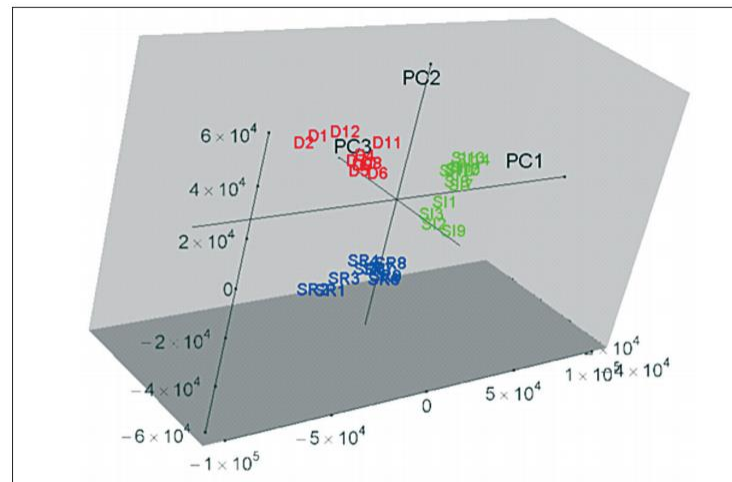


Rychlé proteomické rozlišení zvířecích chlupů pomocí hmotnostní spektrometrie

Anna Zubová, Karin Humpoláková, David Straka, Tatiana Smirnova, Pavel Cejnar, Štěpánka Kučková



Obr. 3 Analýza chlupů domestikovaných a divokých zvířat pomocí PCA
Analysis of hairs of domesticated and wild animals by means of PCA



Obr. 4 Analýza srsti u lesních zvířat pomocí PCA. Legenda: D – daněk, SI – jelen, SR – srnec / Analysis of fur of wood animals by means of PCA. Explanatory notes: D – fallow deer, SI – red deer, SR – roe deer

Průkaz xenobiotik

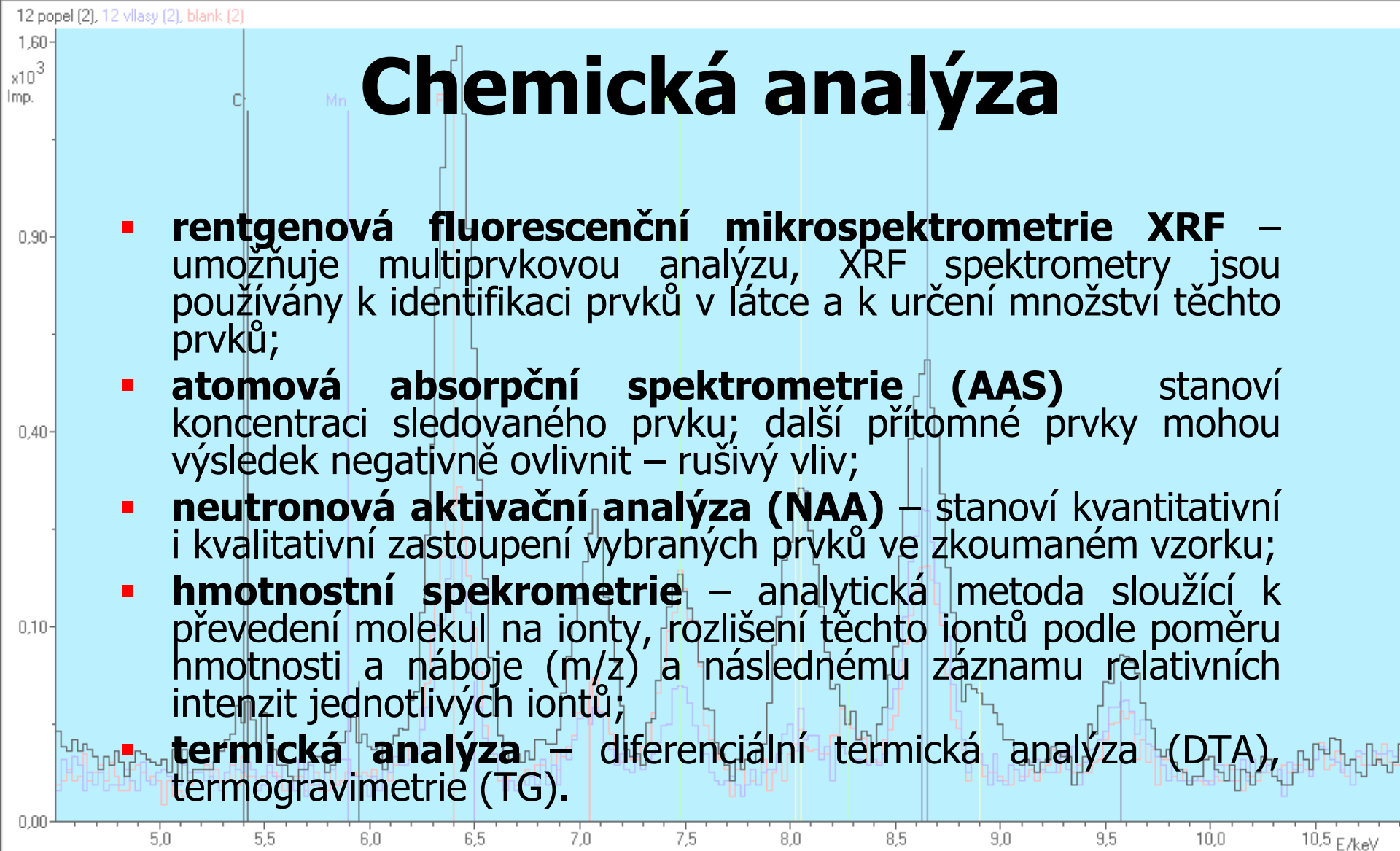
xenos = cizí bios = život

Xenobiotika = látky cizorodé organismu; biotransformace v organismu

pasivní inkorporace, pasivní kontaminace, difúze z potu a kožního mazu

komplexní a segmentární analýza markerů
(látky téměř nezměněná až metabolit)

- **jedy (arsen, thallium)**
- **drogy** (heroin, kokain, marihuana, LSD)
- **léky** (sedativa, antidepresiva)



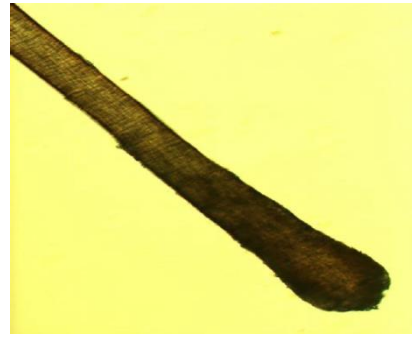
Chemická analýza

- **rentgenová fluorescenční mikrospektrometrie XRF** – umožňuje multiprvkovou analýzu, XRF spektrometry jsou používány k identifikaci prvků v látce a k určení množství těchto prvků;
- **atomová absorpční spektrometrie (AAS)** stanoví koncentraci sledovaného prvku; další přítomné prvky mohou výsledek negativně ovlivnit – rušivý vliv;
- **neutronová aktivační analýza (NAA)** – stanoví kvantitativní i kvalitativní zastoupení vybraných prvků ve zkoumaném vzorku;
- **hmotnostní spektrometrie** – analytická metoda sloužící k převedení molekul na ionty, rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti a náboje (m/z) a následnému záznamu relativních intenzit jednotlivých iontů;
- **termická analýza** – diferenciální termická analýza (DTA), termogravimetrie (TG).

Channel:	228	228	228
E/keV:	5,391	5,391	5,391
Impulse:	28	7	12

Thallium

Thallium se hromadí v anagenních folikulech; tmavě hnědá nebo černá depozita; porušena keratinizace; vlasy se lámou ve folikulu a masívně vypadávají (alopecie).



Chemická analýza vlasů

- Napoleon – arsen (NAA)
- Peruánská mumie – kokain
- Beethoven – olovo
- Kazuistika – psychofarmaka

