

Zajištění stop v laboratoři

Stopy x srovnávací vzorek

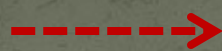
Stopa

- biologický materiál (co vyprodukovala příroda) na místě činu, který má souvislost s TČ – stane se součástí zkoumání
- v podstatě cokoliv (KSSMTK x směs)
- pro genetiku – nutnost obsahu DNA

Srovnávací vzorek

- biologický materiál odebraný osobě známé totožnosti x mrtvola neznámé totožnosti je stopa
- poškozený
- podezřelý
- domácí osoba
- eliminační vzorek

BIOLOGICKÝ MATERIÁL



vše, co bylo či je součástí nebo produktem živého organismu



krev



sperma



sliznice



Lidské / zvířecí
chlupy

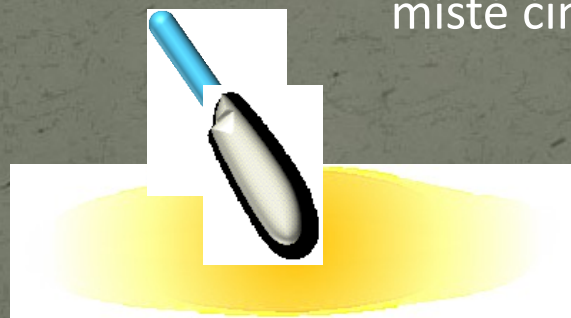
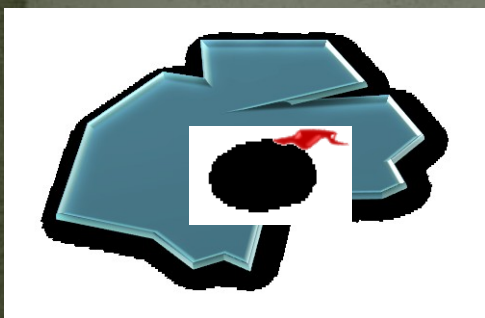


části rostlin

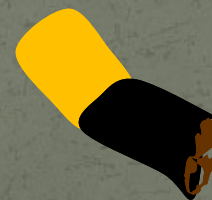
BIOLOGICKÁ STOPA



biologický materiál zajištěný v souvislosti s kriminalisticky relevantní událostí – například na místě činu

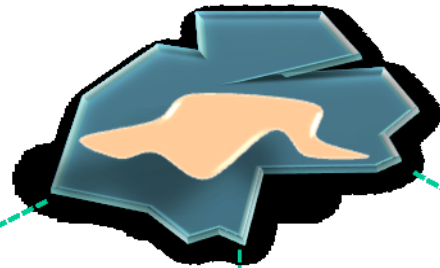


stěr moči

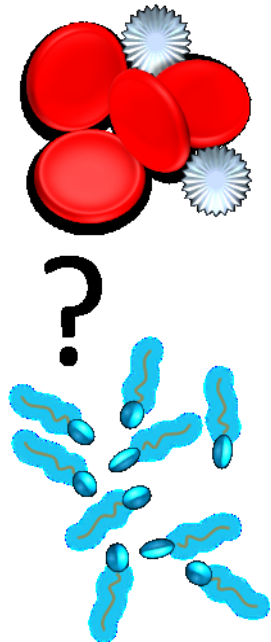


sliny na nedopalku

biologická stopa



tkáňový původ



druhový původ



původce



Stopa - neznámý vzorek

- nutno zjistit původ materiálu
- orientační testy a specifické testy

ORIENTAČNÍ:

Orientační zkouška, která vyšla pozitivně, udává, že se může jednat o daný materiál, ale taky nemusí. Tyto zkoušky jsou velmi rychlé a levné. Jsou založeny na detekci přítomnosti určitých chemických látek nebo to jsou zkoušky s fyzikální podstatou, jako je užití světla. U orientačních zkoušek se vyskytují falešně negativní výsledky s nízkou frekvencí ovšem s vyšší frekvencí falešně pozitivní výsledky.

SPECIFICKÉ:

Pozitivní výsledek specifické zkoušky indikuje, že se téměř určitě jedná o daný materiál. Specifické zkoušky poskytují vysokou pravděpodobnost, že se jedná o daný materiál. Existují i výjimky, kdy se může jednat o falešně pozitivní výsledek, ovšem tato pravděpodobnost je často zanedbatelná. Tyto zkoušky jsou založeny na detekci přítomnosti specifických bílkovin, hormonů atd.

Určení druhu biologického materiálu se provádí u stop, kdy je tohoto materiálu dostatek a neohrozí se případné stanovení genetického profilu osoby, které by po odebrání určitého množství materiálu už nebylo možné stanovit v potřebné kvalitě.

ORIENTAČNÍ ZKOUŠKA

pozitivní výsledek indikuje, že by se mohlo jednat o daný biologický materiál

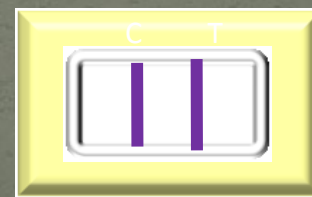
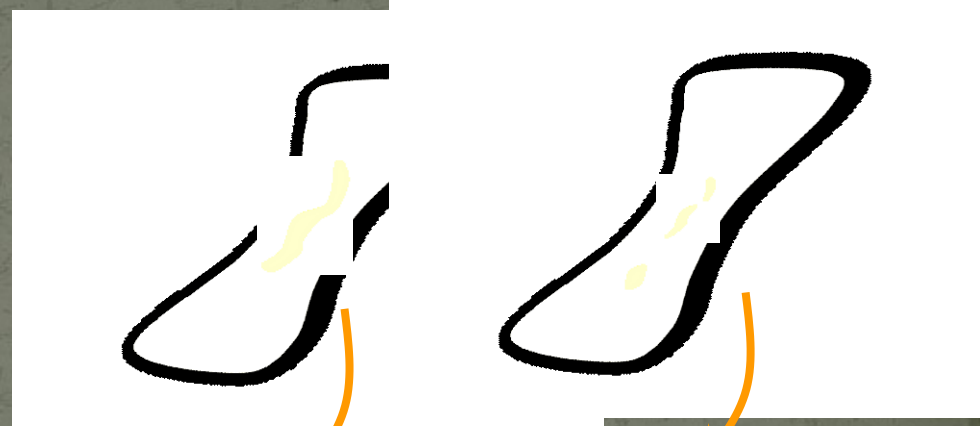


- výsledek = „nejspíš se nejedná o krev“

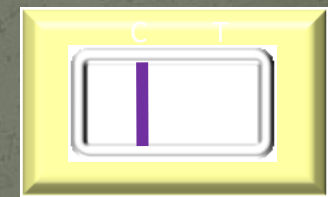
+ výsledek = „pravděpodobně se jedná o krev“

SPECIFICKÁ ZKOUŠKA

pozitivní výsledek indikuje, že se prakticky s jistotou jedná o daný biologický materiál



+ výsledek = „s jistotou se jedná o sperma“



- výsledek = „s jistotou se nejedná o sperma“

Krev

- neprůhledná tekutina červené až červenohnědé barvy
- další typy lidské krve, které lze odlišit:
 - pupečnicková krev — krev nenarozeného dítěte, která obsahuje velké množství krvetvorných kmenových buněk, obdobně jako kostní dřeň
 - menstruační krev — krev obsahující tkáň a výměšky děložní sliznice

Orientační průkaz krve

- Luminol – orientační test



$C_8H_7N_3O_2$ (IUPAC: 5-Amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione; o-Aminophthaloyl hydrazide, o-Aminophthalyl hydrazide, 3-Aminophthalhydrazide 3-Aminophthalic hydrazide)

všestranná chemikálie známá svojí chemoluminiscencí při smíchání s vhodným oxidačním činidlem v podobě modrého záření v tmavé místnosti

bílá až světle žlutá krystalická látka rozpustná ve většině organických rozpouštědlech, ale nerozpustná ve vodě

složení reakční směsi: 3-amino-ftalhydrazid (luminol), Na_2CO_3 , destil. H_2O , perborát sodný (podle Grodského z roku 1951) nebo 3-amino-ftalhydrazid (luminol), $NaOH$ (nebo KOH), H_2O_2 (podle Webera z roku 1966)

v buněčné biologii využíván pro detekci mědi, železa a kyanidů

pomocí reakce luminolu s hemoglobinovým železem je možné detekovat i stopové množství krve (ředění až 10^7) modré záření trvajícím cca 30 s

může ovlivnit množství a kvalitu DNA ve stopě



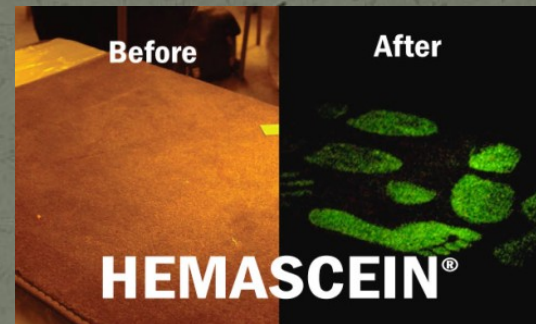
Orientační průkaz krve

- BlueStar® Forensic (BlueStar) – orientační test
- test na bázi luminolu
- detekce krevních stop pouhým okem neviditelné (vyprané, vyčištěné skvrny apod.)
- schopnost detekce při ředění až 1:10000
- intenzivnější a delší luminiscence
- pro detekci není třeba úplná tma
- možná opakovaná aplikace
- falešně pozitivní reakce: brambory, rajčata, červená cibule, fazole, křen, kyselina askorbová, 5% bělidlo, CuSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, sloučeniny chlóru a niklu



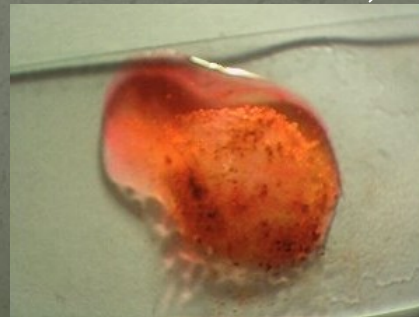
Orientační průkaz krve

- Hemascein[®] (Abacus Diagnostics) – orientační test
- slouží k odhalení latentních krevních stop na bázi redoxní reakce
- neobsahuje luminol
- zkouška na bázi fluoresceinu
- nevyžaduje úplnou tmou
- fluorescence až 10 minut
- bez interakce s DNA
- zdraví nezávadný
- falešně pozitivní reakce: brambory, krev jiného živočišného druhu, některé oleje



Orientační průkaz krve

- většina orientačních zkoušek se zaměřuje na detekci přítomnosti hemoglobinu.
- Kastle – Meyerův test – orientační test
 - poprvé popsán roku 1930
 - detekce hemoglobinu fenolftaleinem
 - zkouška založená na peroxidázové aktivitě hemoglobinu katalyzovat oxidaci fenolftaleinu ■■■ětle růžové zbarvení
 - reakce hemoglobinu a peroxidu vodíku, při kterém se spotřebovávají elektrony; fenolftalein se v této reakci chová jako dárce elektronů, dochází k redukci, mění tak svoji klasickou formu na fenolftalin a mění své ■■■ prostředí na alkalické



Orientační průkaz krve

- Zkouška peroxidem vodíků (H_2O_2) – orientační test
 - explozivní reakce - krev slouží jako katalyzátor při štěpení H_2O_2 na vodu a kyslík ■■■■■ pické „zašumění“ vzorku
 - ničí DNA !!!
- Adlerův test - orientační test
 - krevní test založený na reakci benzidinu, Na_2O_2 a ledové kyseliny octové ■■■■■ odro zelené zbarvení
 - vysoká citlivost (možná detekce vzorku při ředění 1:500000)



Specifický průkaz krve

Bertrandova zkouška – specifický test

Hb za přítomnosti $MgCl_2$ tvoří s kys. octovou při teplotě $120\text{ }^{\circ}C$ červenohnědé krystaly acetchlorheminu kosodélníkového či kosočtverečného tvaru

Teichmannova zkouška – specifický test

důkaz krve pomocí heminových krystalů

objev roku 1853 – L. Teichmann

zahřátí směsi vzorku krve, chloridu sodného a kyseliny octové ■■■■■ hědé
kosodélníkové krystalky, někdy ve formaci křížů nebo hvězdic

nemusí se podařit nalézt krystalky u vzorku vystaveného teplotě kolem $140\text{ }^{\circ}C$

Specifický průkaz krve

Takayamova zkouška – specifický test

specifická hemochromogenová zkouška pro určení krve ve skvrně

hemochromogen = rozpadový derivát Hb s denaturovanou globinovou částí a dvojmocným železem

vhodná k průkazu krevních skvrn starých, poškozených hnilobou, teplem, kyselinami nebo alkáliemi

objev roku 1912 – Masao Takayama

krevní skvrna na podložním sklíčku + reagens (glukóza, NaOH, pyridin, dest. H₂O) + krycí sklíčko + zahřátí nad plamenem

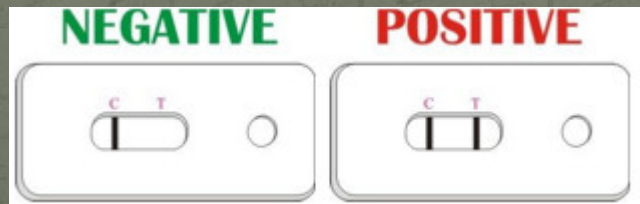
Fe z hemoglobinu reaguje s pyridinem za vzniku *oranžovo – červených krystalků*

vyžaduje velké množství materiálu



Specifický průkaz krve

- SERATEC® HemDirect test (SERATEC) – specifický test
- test založený na imunochromatografii
- detekce lidského hemoglobinu na základě specifické reakce antigen – protilátka
- test původně vyvinutý pro účely detekce krve ve stolici ■■■■■ sná detekce rakoviny tlustého střeva
- falešně pozitivní reakce: krev primátů a fretky



Specifický průkaz krve

Hexagon OBTI

- využíván k detekci lidské krve
- detekce lidského hemoglonbinu (hHb) – monoklonální protilátka anti-human Hb
- reaguje při naředění 1 : 2,000,000 (cca 250 červených krvinek - 0.05 µg/ml hemoglobinu)
- falešně pozitivní reakce: primáti (gorilla) a fretkovití (lasička, jezevec)
- nereaguje s kráva, prase, ovce, koza, kůň, králík, kuře, kachna, husa, morče, jelen, kočka, pes

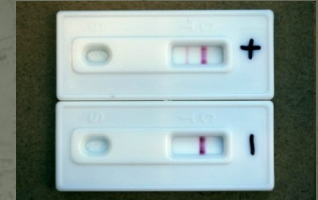


Specifický průkaz krve

HemaTrace[®] (Abacus Diagnostics) – specifický test

detekční limit pro hemoglobin: 0,07 µg/ml

specifita pro lidskou krev, krev vyšších primátů a krev fretky



RSID[™] - Blood (Rapid Stain Identification) (Independent Forensics)

– specifický test

využití dvou monoklonálních protilátek proti specifickému proteinu

– glykoforin A – specifický membránový protein erytrocytů (místo

protilátek proti hemoglobinu) vyhnutí se křížové reakci s krví

fretky, skunka, vyšších primátů apod.

schopnost detekce < 1 µl krve



Extract (µl):	0	0.2	1	5	20	100
Blood (µl):	0	0.01	0.05	0.25	1.0	500

Rapid Stain
IDENTIFICATION



RSID
Independent
Forensics

Menstruační krev

PMB test (SERATEC)

- kombinace detekce lidského hemoglobinu a D-dimeru
- D-dimer je fibrin degradující produkt přítomný v krvi, resp. krevní sraženině, a je degradován fibrinolýzou
- obsahuje dva zesíťené D fragmenty fibrinového proteinu, ze kterého je odvozen název D-dimer (menstruace je spojena s aktivací koagulačních a fibrinolytických drah)
- rozvoj akutního a/nebo chronického nadměrného srážení krve (trombotickou příhodou) jako hluboká žilní trombóza (HŽT), plicní embolie (PE), nebo diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)
- citlivost: hemoglobin: 20 ng/mL; D-dimer: 400 ng/mL – tři proužky
- falešně pozitivní: primáti a fretky
- falešně negativní v pozdější fázi menstruace

Detekce slin

Amyláza – enzym štěpící škrob na jednodušší cukry

- první enzym, který byl nalezen a izolován (1833)

- α -amyláza produkovaná slinnými žlázami = ptyalin – štěpí α -glykosidickou vazbu obsaženou v polysacharidech za vzniku menších jednotek – dextrinů

Lugolův roztok (Lugolovo činidlo) - roztok elementárního jodu a jodidu draselného ve vodě

- používaný pro důkaz škrobu (jod se váže do molekuly škrobu) ████████ navě
modré zbarvení

- v přítomnosti slin (obsahují α -amylázy), dojde ke štěpení α -glykosidické vazby, a tím k degradaci škrobu na menší jednotky ████████ d se nemá kam vázat
████████ uto – hnědé zbarvení

Roztok škrobu s Lugolovým
činidlem bez slin



Roztok škrobu s Lugolovým
činidlem se slinami

Detekce slin

- AmylasePaper (SERATEC)
 - k detekci skvrn slin, do 10 min.
 - citlivost: pod 125 mIU/mL



<https://www.youtube.com/watch?v=JBTOeRjKoTU>

<https://youtu.be/JBTOeRjKoTU>

- SERATEC® AmylaseTest
 - k detekci α -amylázy
 - citlivost: ředění 1:1000
 - do 10 min.
 - není falešně pozitivní s tělními tekutinami a se slinami domácích a užitkových zvířat

<https://youtu.be/Iuk3eayaPEI>

Detekce slin

- RSID™ - Saliva (Rapid Stain Identification) (Independent Forensics) – specifický test
 - specifický test pro detekci lidské slinné α -amylázy
 - metoda založená na imunochromatografii se dvěma monoklonálními protilátkami
 - test specifický pro lidský slinný (AmyA) antigen ██████ bez zkřížené reakce s krví, spermatem, močí, vaginálním sekretem, menstruační krví a zvířecími slinami
 - detekční limit: $< 1 \mu\text{l}$



Extract (μl):	0	1	5	10	20
Saliva (μl):	0	0.05	0.25	0.5	1.0

Detekce spermatu

Fast Blue B – sůl $C_{14}H_{12}N_4O_2Cl_2 \cdot ZnCl_2$ - orientační test

(průkaz kyselých fosfatáz (roztok připraven dle protokolu v laboratoři))

detekce kyselé fosfatázy – glykoprotein produkovaný mužskou prostatou ■■■ transport do seminální tekutiny – koncentrace až 400x vyšší než v jiných tělních tekutinách

PAP (prostatic acid phosphatase) – 1. celosvětově využívaný tumorový marker

pomocí filtračního papíru přenesení zvlhčené skvrny - zkoumané místo nejprve vizuálně prohlédněte - textilie vykazují na podezřelých místech tužší krepovitou strukturu, pod UV světlem mají stopy modravou, bílou nebo žlutavou fluorescenci

k místu se přidá detekční činidlo přidání několik kapek monohydrátu α -naftylfosfátu sodného a roztoku Fast Blue B ke vzorku ■■■■ purpurové zbarvení indikující přítomnost PAP, nutno provést zkoušku na ověřeném materiálu, moč, sekret, sliny reakci neovlivňují

Detekce spermatu

- Phosphatesmo KM

reaguje s kyselou fosfatázou, kterou obsahuje sperma

zkoumané místo nejprve vizuálně prohlédněte - textilie vykazují na podezřelých místech tužší krepovitou strukturu, pod UV světlem mají stopy modravou, bílou nebo žlutavou fluorescenci

místo navlhčit, přiložit testovací plochou po dobu cca 15 s a je-li přítomno sperma, po několika sekundách se objeví výrazné fialové skvrny



Detekce spermatu

- SERATEC[®] PSA Semiquant test (SERATEC) – specifický test
- využití monoklonální protilátky proti specifickému proteinu – PSA (prostatický specifický antigen) = p30 = γ -seminoprotein – glykoprotein produkovaný prostatou a sekretovaný do ejakulátu
- umožnění detekce spermatu i u jedinců s azoospermií nebo po vazektomii
- metoda založená na imunochromatografii
- původně vytvořený pro detekci rakoviny prostaty



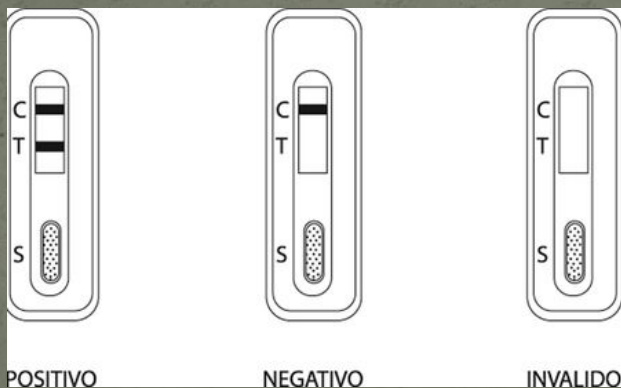
Detekce spermatu

ABAcard® p30 test (Abacus Diagnostics) – specifický test

využití monoklonální protilátky proti specifickému proteinu – PSA (prostatický specifický antigen) = p30 = γ -seminoprotein – glykoprotein produkováný prostatou a sekretovaný do ejakulátu

umožnění detekce spermatu i u jedinců s azoospermií nebo po vazektomii

metoda založená na imunochromatografii



tělní tekutina	PSA (ng/ml)
sperma	200000-5,5 mil.
amniotická tekutina	0,60-8,98
mateřské mléko	0,47-100
sliny	0
ženská moč	0,12-3,72
ženské sérum	0,01-0,53

Detekce spermatu

- RSID™ - Semen (Rapid Stain Identification) (Independent Forensics)
 - specifický test
 - využití dvou monoklonálních protilátek proti specifickému proteinu
 - semenogelin – hlavní složka lidské seminální tekutiny
 - vyhnutí se křížové reakci se spermatem kozla, berana, prasete, býka, psa, koně, myši, kocoura
 - metoda založená na imunochromatografii
 - bez zkřížené reakce s lidskou krví, slinami, močí
 - detekční limit: < 1 μ l lidského spermatu



Extract (μ l):	0	1	5	25	100
Semen (μ l):	0	0.05	0.25	1.25	5.0



Mikroskopické vyšetření spermii

- specifický důkaz přítomnosti spermatu, jeden z nejcitlivějších způsobů, mikroskopicky histologické barvení
- barvicí roztok: krystalvioleť, erytrosin se čpavkem, eosin s roztokem azuru
- skarifikát podloží kalhotek, či jiného místa s výskytem
- pozitivní nálezn jedné celé spermie

Detekce spermatu

- SPERM HY-LITER™ (Independent Forensics) – specifický test
- využití derivované monoklonální myší protilátky proti spermatickým hlavičkám
- detekce lidských spermií z míst sexuálních útoků s využitím fluorescenčního mikroskopu
- možné detekovat jedinou spermii
- [redacted] bez zkřížené reakce s epiteliálními buňkami, krvinkami a spermatem zvířat



Detekce moči

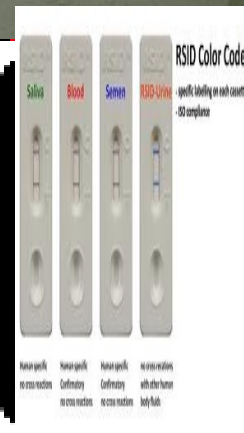
RSID™ - Urine (Rapid Stain Identification) (Independent Forensics) – specifický test

využití dvou polyklonálních králičích specifických protilátek proti THP proteinu (Tamm - Horsfall protein) – nejhojnější protein v lidské moči
vyloučení se křížové reakci s lidskými slinami, spermatem, krví, vaginální tekutinou nebo menstruační krví; moči želvy, gorily, koně, kočky

reakce s močí psa !!!

metoda založená na imunochromatografii

detekční limit: < 10 µl lidské moči



Imunoprecipitace



Paul Uhlenhuth (1870-1957)

průkaz lidské krve na základě precipitační zkoušky umožňující odlišit lidskou krev od krve jiného živočišného druhu – kontaktní metoda (výstup do 10 min)

předpoklad: krev různých živočišných druhů obsahuje unikátní proteiny; s použitím příslušných protilátek je možné krev jednotlivých druhů odlišit

Imunoprecipitace (Ouchterlony) - specifický průkaz lidské krve volnou difuzí na gelu

- Průkaz lidského původu lze provést samostatně imunologickými metodami (reakcí lidské bílkoviny se specifickou protilátkou), častěji ale průkaz lidského původu vyplyne „samovolně, jako vedlejší produkt“ z výsledku genetického zkoumání.
- Většina forenzně genetických testů užívaných k analýzám lidského biologického materiálu totiž poskytuje standardní pozitivní výsledek právě jen a pouze u lidského materiálu – říkáme, že tyto testy jsou druhově specifické.
- Poskytne-li analýza stopy pozitivní výsledek, lze zpětně konstatovat, že stopa obsahovala s jistotou lidský biologický materiál. Z tohoto důvodu se od imunologického průkazu lidské bílkoviny většinou upouští, a to zejména u stop s předpokládaným malým či velmi malým množstvím využitelného biologického materiálu.

MRTVOLY



dle stavu těla, tj.
pokročilosti degradace:

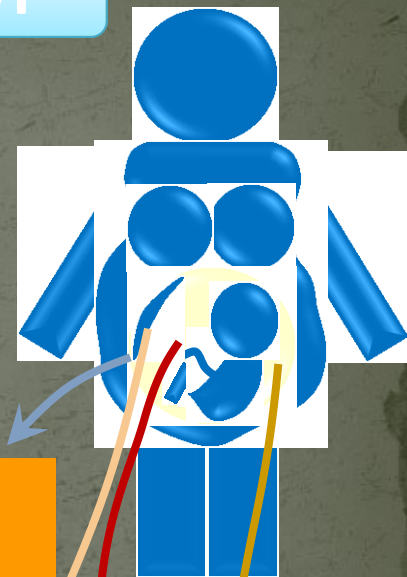
BUKÁLNÍ STĚR

PERIFERNÍ KREV

SVALOVÁ TKÁŇ

KOST, ZUB

EMBRYA, PLODY



dle situace:

**POTRATOVÝ
MATERIÁL**

CHORIOVÉ KLKY

PLODOVÁ VODA

PUPEČNÍKOVÁ KREV

Dělení dle druhu biologických stop a jejich výskytu

- Podle vztahu jejich zůstavitele k objasňované události
 - stopy pocházející z organismu pachatele
 - stopy pocházející z organismu oběti
 - stopy pocházející z organismu jiné (nezúčastněné) osoby
 - směsné stopy – pocházející z organismů nejméně dvou osob
- Podle místa nálezu
 - na místě činu
 - na předmětech a nástrojích, kterými mohl být spáchán trestný čin
 - na oděvních součástkách a těle pachatele
 - na oděvních součástkách a těle oběti
 - na vozidlech
 - na dalších předmětech a místech (se spácháním trestného činu nemusí souviset)

Stopy viditelné okem – drobné biologické stopy

- krevní kapky, otěry
- zaschlý nosní sekret
- vlasy, stopy slin na skleničkách atd.

Stopy okem neviditelné – odhalitelné s použitím speciálních pomůcek či postupů (orientační či specifické zkoušky, monochromatické forenzní světelné zdroje – forenzní „baterky“)

Stopy latentní – nemožnost detekce ani okem, ani screeningovými testy (Diamond™ Nucleic Acid)

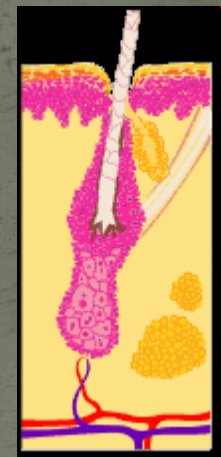
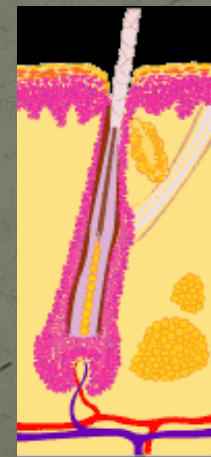
- zajišťují se „naslepo“
- odebírány v místech, kde výskyt biologického materiálu předpokládáme
- nástroje, oblečení, předměty

tDNA

- zdroj DNA- celý povrch těla – epiteliální buňky, fragmenty buněk, volná DNA
- přenos/transfer primární, sekundární a terciární
- množství DNA: vnější a vnitřní faktory
 - vnitřní: věk a pohlaví jedince, onemocnění pokožky, hygienické návyky, „trusič“ x „netrusič“
 - vnější: vlhkost, UV záření, povrch (poréznost, mikroorganismy)
 - intenzita otlaku, způsob zajištění

Detekce trichologického materiálu

- detekce založena především na morfologickém porovnání na dvou úrovních:
 - 1) odlišení lidského trichologického materiálu od materiálu jiného živočišného druhu
 - 2) odlišení: vlasy – kožní ochlupení – pubické ochlupení – axilární ochlupení



- manipulace s TM - speciální entomologická pinzeta

anagenní
(růstová) fáze

katagenní
(přechodná) fáze

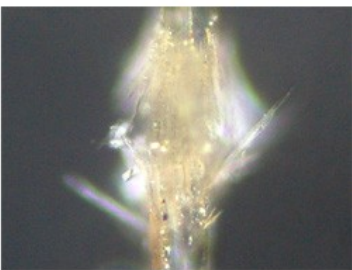
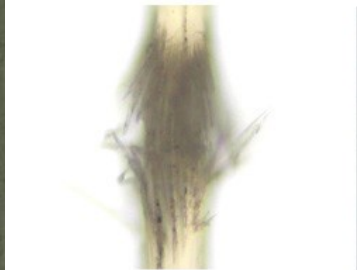
telogenní
(klidová) fáze

Trichologický materiál

- detekujeme: délku, šířku, tvar (rovné, mírně zvlněné, zvlněné, vlnité, kudrnaté, fil fil), barva (artificiální, depigmentovaná, světle – tmavě plavá, světle – středně – tmavě hnědá, černohnědá), pigment (difuzní, malé – střední – velké shluky), dřeň (chybí, souvislá, přerušovaná, ostůvkovitá)
- poškození: fyzikálně-chemické (dle destrukce stvolu), biologické faktory, genetické (alopecie a hypertrichózy, syndromy)



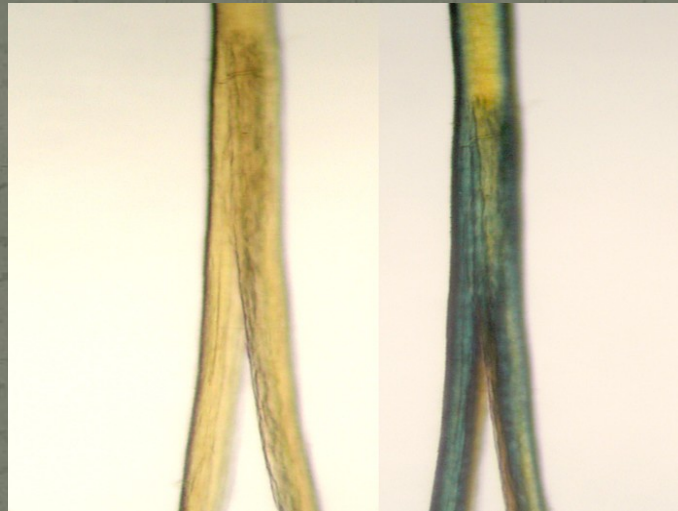
Střední fáze vývoje trichorrhhexis nodosa



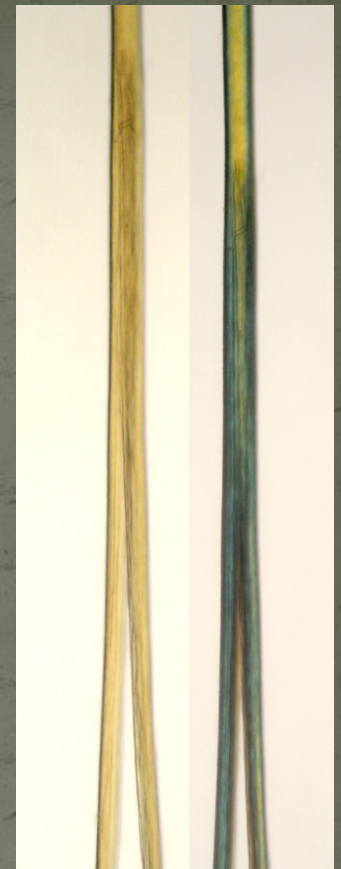
Terminální fáze



Zakončení vlasu po přetržení

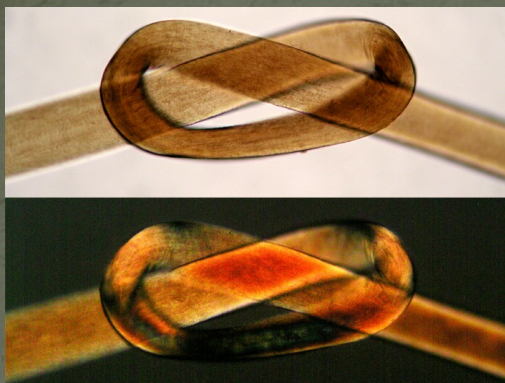


Trichonodosis



Trichoptilosis

Trichorrhhexis nodosa



střelná poškození



poškození způsobené
skleněnými střepy



stlačení úderem tupé
strany sekery



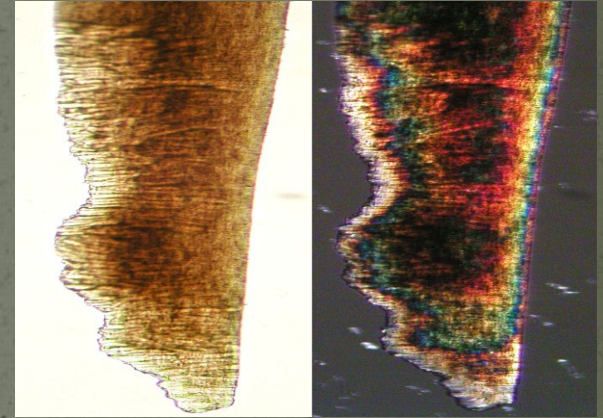
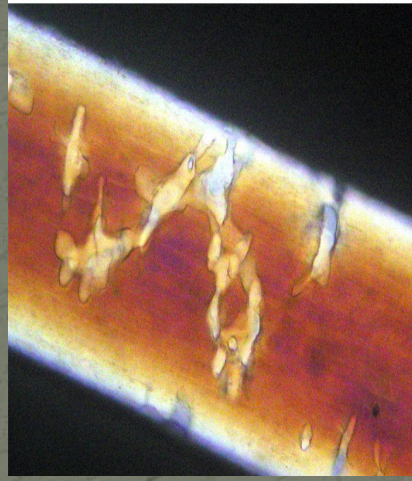
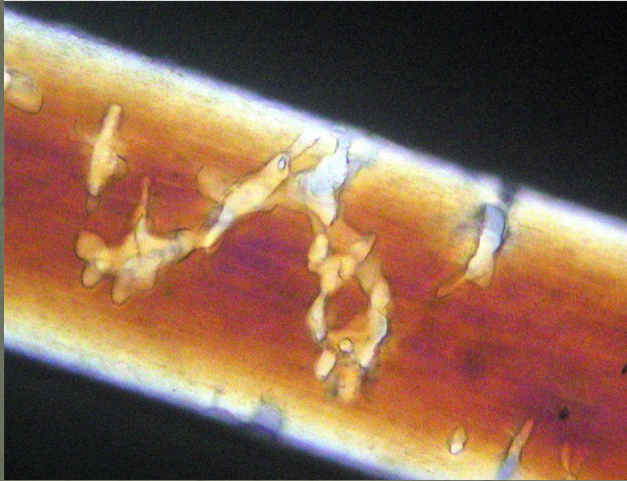
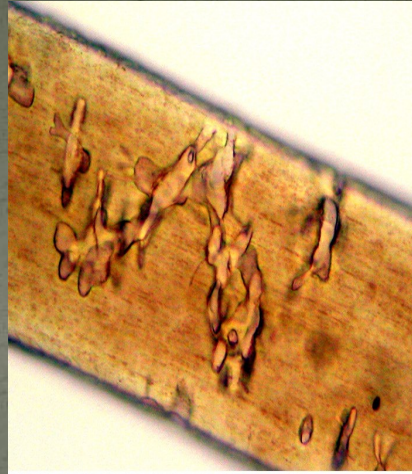
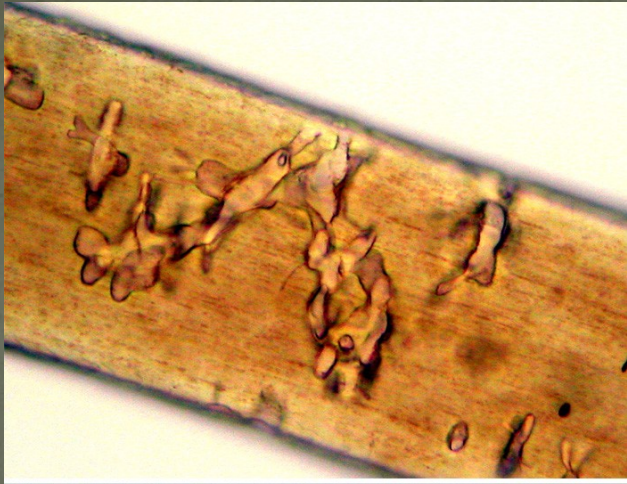
tepelná poškození



stlačení pinzetou



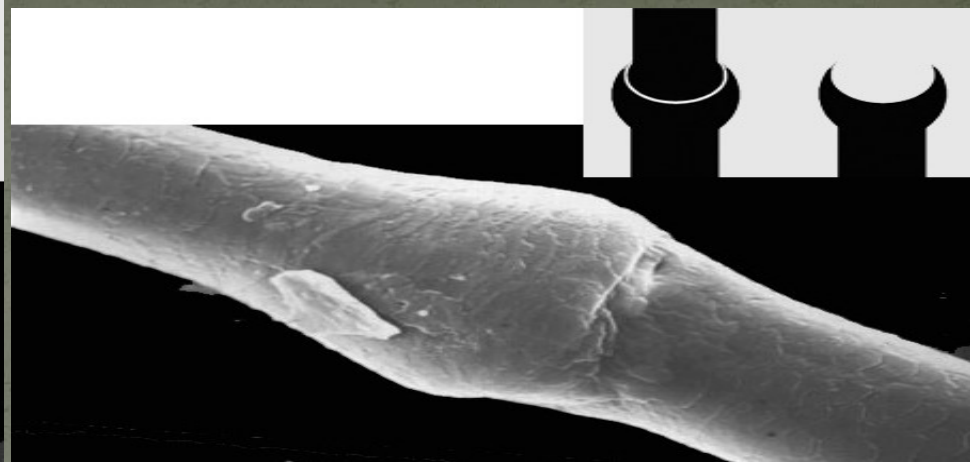
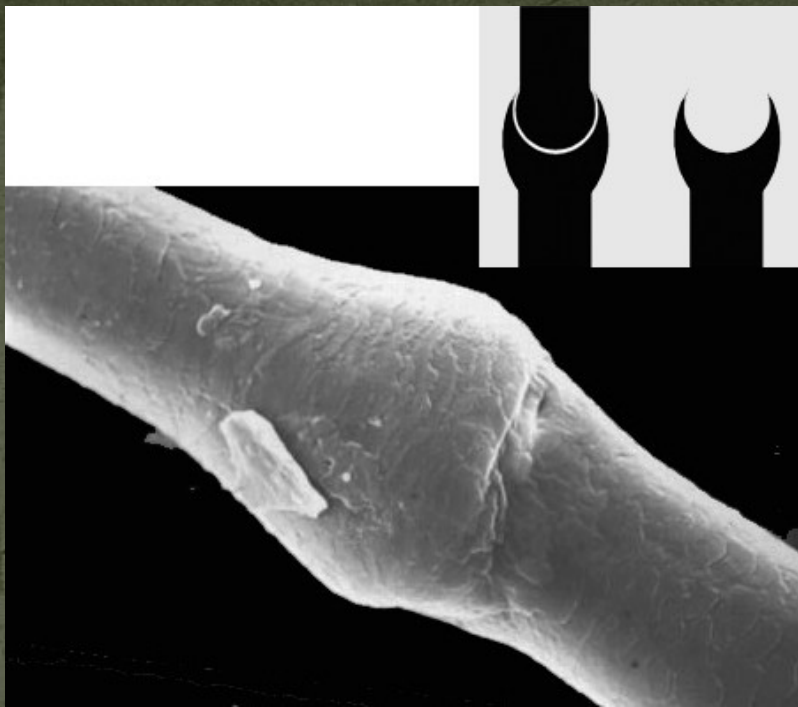
poškození způsobená
konc. NaOH



mykózy

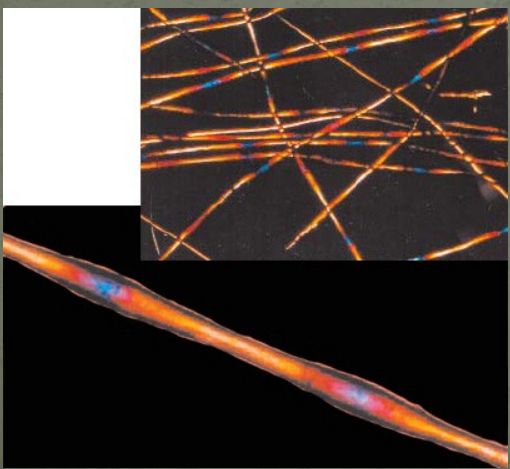
poškození keratofilními
plísněmi a houbami

poškození způsobené
různými keratofilními
živočichy

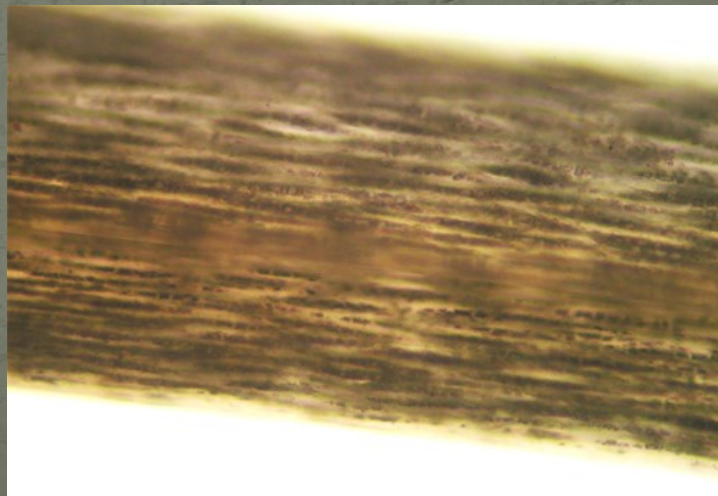
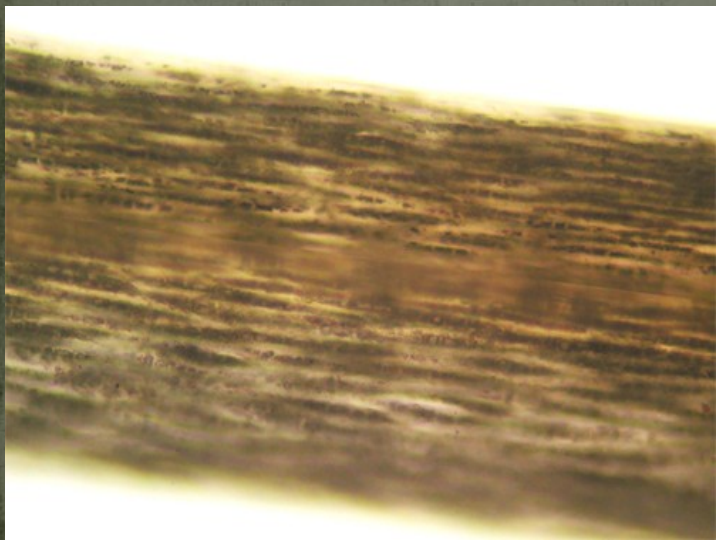
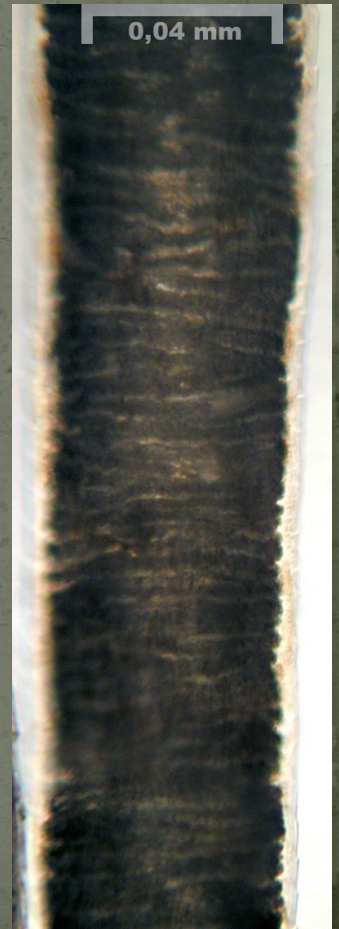
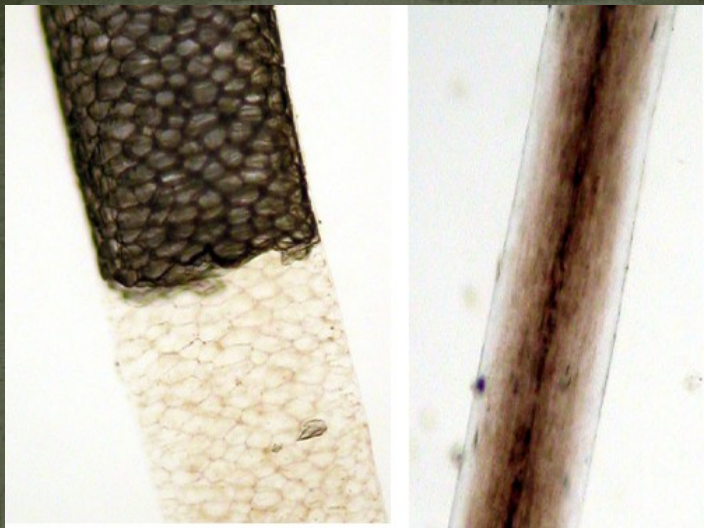


Pili bifurcati

Trichorrhexis invaginata



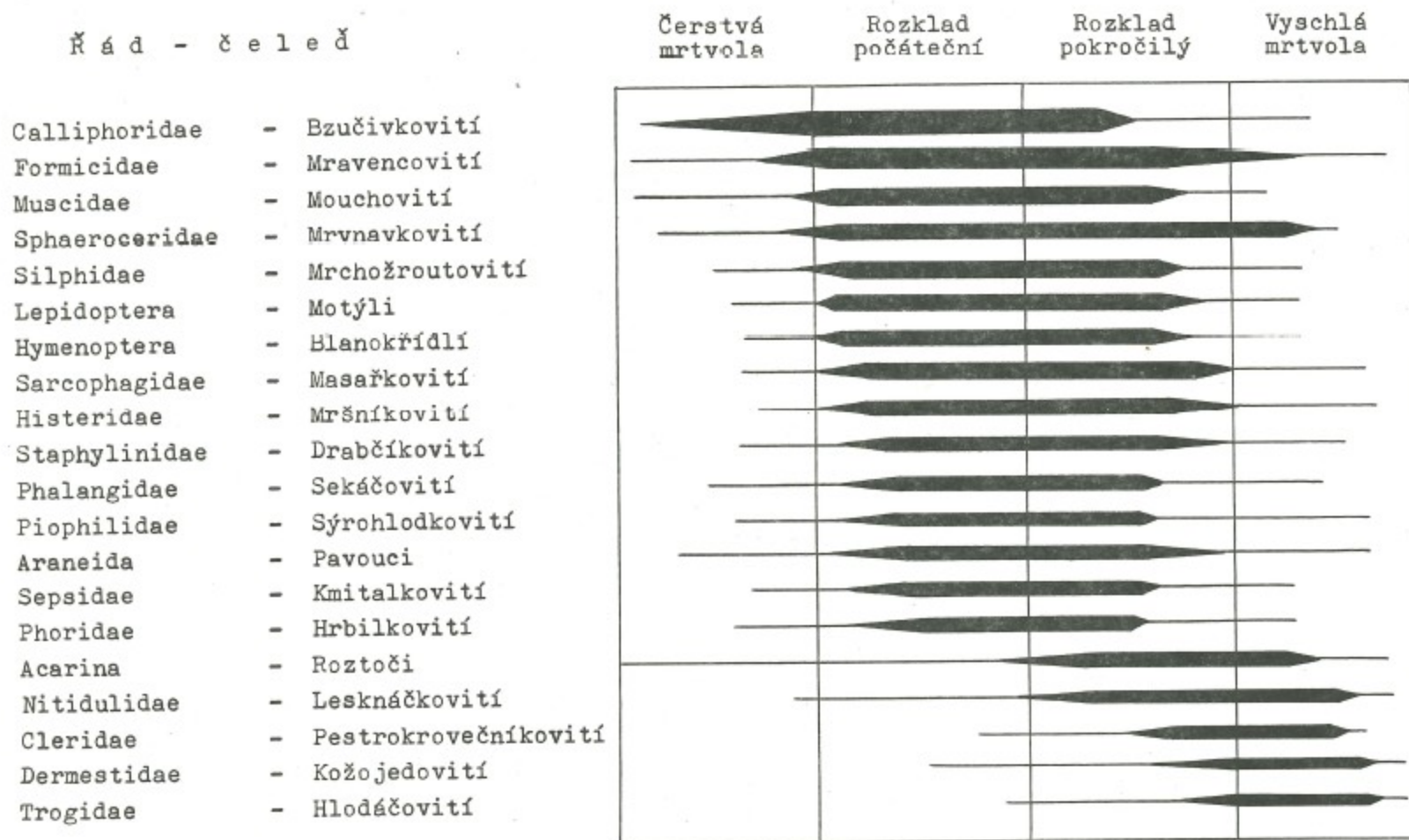
Monilethrix představuje autosomálně dominantní dědičný defekt vlasového stvolu způsobený mutací genů pro keratin typ II (HB1 a HB6), klinicky se projevující alopecie a folikulárními papulemi.



Entomologie

- určení data/času úmrtí u mrtvoly (post mortem čas)
- znalost počastí, teploty, pokryv těla mrtvoly, příčina smrti, lokalita, dostupnost, nadmořská výška, nekrofágní fauna
- dle společenstva hmyzu: nekrofágní (čerstvá mrtvola), saprofágní (biochemicky aktivní), dermatofágní (vysychající), keratofágní (dehydratovaných zbytcích)
- dle rozkladu mrtvoly: čerstvá, nadmutá, bioch. aktivní, pokročilý rozklad, vysychání a zbytky
- odběr reprezentativního vzorku živých i mrtvých larev, kukel a dospělců z těla a lože mrtvoly, dochovat larvy a kukly do stádia dospělého a určit o jaký druh šlo, odpočet délky zpětně do období naklazení vajíček
- časově zákonitý sled nekrofágního hmyzu
- s délkou doby pobytu mrtvoly v terénu je stejně zákonitě spjata i vývojové stádium každého hmyzu
- každý nekrofágní hmyz nalezený na mrtvole má svůj identifikační význam
- genetika: nevhodně odebraný vzorek, nepodařilo se určit druh hmyzu

Příklad sukcese různých skupin členovců na mrtvole :



Entomologie

- určení data/času úmrtí u mrtvoly (post mortem čas)
- znalost počastí, teploty, pokryv těla mrtvoly, příčina smrti, lokalita, dostupnost, nadmořská výška, nekrofágní fauna
- dle společenstva hmyzu: nekrofágní (čerstvá mrtvola), saprofágní (biochemicky aktivní), dermatofágní (vysychající), keratofágní (dehydratovaných zbytcích)
- dle rozkladu mrtvoly: čerstvá, nadmutá, bioch. aktivní, pokročilý rozklad, vysychání a zbytky
- odběr reprezentativního vzorku živých i mrtvých larev, kukel a dospělců z těla a lože mrtvoly, dochovat larvy a kukly do stádia dospělého a určit o jaký druh šlo, odpočet délky zpětně do období naklazení vajíček
- časově zákonitý sled nekrofágního hmyzu
- s délkou doby pobytu mrtvoly v terénu je stejně zákonitě spjata i vývojové stádium každého hmyzu
- každý nekrofágní hmyz nalezený na mrtvole má svůj identifikační význam
- genetika: nevhodně odebraný vzorek, nepodařilo se určit druh hmyzu

Genetika entomologie

- metody extrakce: DEP-25 DNA extraction Kit, Lego DNA kit, buffer a QIAamp DNA Mini kit
- co detekují: mtDNA – cytochrom C podjednotky I a II (COI a COII), polymorfní oblasti mtDNA a rRNA (28S a 16S)
- metodika: PCR-RFLP techniky
 - pyrosekvenování, RT PCR, microarray, analýza hetroduplexů (detekce bodových mutací v dsDNA)
- vyhodnocení: daný program s využitím BLASTu a tvorby fylogenetických stromů s využitím statistiky (LR, ...), GenBank databáze
- databáze vzorků pro daný region

Biologie x genetika

- biologie: původ biologického materiálu
- pouze a jedině znalec totiž může určit, zda stopa má skutečně povahu biologického materiálu či nikoli

- 1) vyhledat
- 2) zajistit
- 3) otestovat
- 4) odebrat na genetiku