

Analýza bakteriální translokace v jaterní tkáni laboratorního biologického materiálu

Dominika Burdíková

Bakalářská práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta aplikované informatiky

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta aplikované informatiky
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Dominika Burdíková**
Osobní číslo: **A14004**
Studijní program: **B3902 Inženýrská informatika**
Studijní obor: **Bezpečnostní technologie, systémy a management**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Analýza bakteriální translokace jaterní tkáně laboratorního biologického materiálu**

Téma anglicky: **An Analysis of Bacterial Translocation in Laboratory Biological Liver Tissue Material**

Zásady pro vypracování:

1. Formou literární rešerže prezentujte problematiku forezních věd v oblasti patologie a forezní medicíny .
2. Analyzujte bakteriální identifikaci vzorků laboratorního materiálu jaterní hmoty se zaměřením na identifikaci aerobních a anaerobních bakterií.
3. Verifikujte bakteriální identifikaci vzorků laboratorního biologického materiálu, která bude provedena metodou MALDI-TOF.
4. Graficky vyhodnoťte bakteriální translokaci uvnitř i na povrchu jaterní tkáně.
5. Validací získaných hodnot a dat ověřte metody pro stanovení doby smrti laboratorního materiálu matematickou regresí pro invazivní a neinvazivní metodu hepatocytů .

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

1. MURRAY, R. K. Harperova biochemie (Harper's Biochemistry). From English (23rd edition) translated by Lenka Fialová et. al. 4th edition in CR. Prague: H & H, 2002. ix, 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
2. VAN DER WAALJ, D. The ecology of the human intestine and its consequences for overgrowth by pathogens such as Clostridium difficile. Ann Rev Microbiol 1980; p. 69-87.
3. KNIGHT, B. Early work on temperature and time of death, In: C. Henssage, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period, London, Edward Arnold, 1995, p.
4. HENSSGE, C. Temperature- based methods II, In: C. Henssage, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period, London, Edward Arnold, 1995, p 46 - 105.
5. NOKES, L. Analysis of algorithms in actual cases, In: C. Henssage, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period, London, Edward Arnold, 1995, pp. 34-45.
6. HENSSGE, C. Death time estimation in case work I. The rectal temperature time of death nomogram, Forensic Sci. Int. 38 (1988) 209-36.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Ján Ivanka

Ústav bezpečnostního inženýrství

Konzultant:

Ing. Lubomír Macků, Ph.D.

Ústav bezpečnostního inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

3. února 2017

Termín odevzdání bakalářské práce:

29. května 2017

Ve Zlíně dne 3. února 2017

doc. Mgr. Milan Adámek, Ph.D.
děkan



Ing. Jan Valouch, Ph.D.
ředitel ústavu

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k prezenčnímu nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen v příruční knihovně Fakulty aplikované informatiky Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen připouští-li tak licenční smlouva uzavřená mezi mnou a Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně s tím, že vyrovnání případného přiměřeného příspěvku na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše) bude rovněž předmětem této licenční smlouvy;
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové/bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis diplomanta

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na zkoumání mikroorganismů uvnitř jaterní oblasti laboratorního biologického materiálu se zaměřením na identifikaci aerobních a anaerobních bakterií. Matematickým vyjádřením bude provedena analýza výše uvedené mikroflóry a její vliv na změnu tělesné teploty v procesu smrti biologického materiálu. Z výsledků identifikace bakterií se následně určí druh mikroorganismů, který se nejvíce podílí na bakteriální translokaci uvnitř i na povrchu jaterní tkáně. Verifikací a validací získaných hodnot práce vyústí k odbornému závěru v oblasti vlivu bakteriální translokace vyšetřované oblasti laboratorního materiálu po úmrtí. Výsledkem uvedeného zkoumání je ověření metody stanovení doby úmrtí a jeho následné využití v oblasti forenzní kriminalistiky.

Klíčová slova: bakterie, forenzní kriminalistika, játra, bakteriální translokace, algor mortis

ABSTRACT

Bachelor work is focused on exploring microorganisms inside the liver in laboratory biological material focusing on the identification of aerobic and anaerobic bacteria in the studied area. Mathematical formulation will analyze the aforementioned microflora and its influence on changes in body temperature in the death process biological material. The results identify the bacteria is then determined by the type of bacteria that contributes most to bacterial translocation inside and on the surface of liver tissue. Verification and validation of the values obtained work leads to professional conclusion on the impact of bacterial translocation investigated in laboratory material. The result of this examination will verify the method of determining the time of death and its subsequent use in forensic criminalistics.

Keywords: bacteria, forensic criminalistics, liver, bacterial translocation, Algor Mortis

Především bych chtěla poděkovat svému vedoucímu Ing. Jánovi Ivankovi za odborné vedení, pomoc při praktických měřeních a trpělivost při kontrolách a konzultacích. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Ireně Butor za odborné konzultace v oblasti mikrobiologie a také mému konzultantovi Ing. Lubomíru Macků, Ph.D. za závěrečnou konzultaci. V neposlední řadě bych ráda také poděkovala rodině a přátelům, kteří mi byli podporou při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 FOREZNÍ VĚDY	11
1.1 DAKTYLOSKOPIE	11
1.2 FOREZNÍ ANTROPOLOGIE.....	12
1.3 FOREZNÍ BALISTIKA	12
1.4 FOREZNÍ ENTOMOLOGIE	13
1.5 FOREZNÍ CHEMIE	13
1.6 SOUDNÍ LÉKAŘSTVÍ	14
1.7 FOREZNÍ PSYCHOLOGIE	14
1.8 FOREZNÍ PÍSMOZNALECTVÍ.....	15
1.9 FOREZNÍ GENETIKA	15
2 KRIMINALISTIKA	16
2.1 KRIMINALISTICKÁ BIOLOGIE	16
2.2 MÍSTO ČINU.....	16
2.3 KRIMINALISTICKÉ STOPY	17
2.3.1 Význam stop.....	18
3 BAKTERIE	19
3.1 AEROBNÍ A ANAEROBNÍ BAKTERIE	19
3.2 GRAMPOZITIVNÍ A GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE	20
3.3 <i>ESCHERICHIA COLI</i>	20
3.4 <i>PROTEUS MIRABILIS</i>	21
3.5 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	21
3.6 <i>ENTEROCOCCUS SOLITARIUS</i>	22
4 FCA – FORMÁLNÍ KONCEPTUÁLNÍ ANALÝZA	23
II PRAKTICKÁ ČÁST	24
5 STANOVENÍ DOBY ÚMRTÍ	25
5.1 MĚŘENÍ TEPLoty TĚLA POMOCÍ REKTÁLNÍ SONDY	25
5.1.1 Stanovení času smrti pomocí Henssgeho diagramu	25
6 STANOVENÍ ČASU ÚMRTÍ POMOCÍ TEPLoty JATER	27
6.1 ODBĚR A ANALÝZA VZORKŮ	27
6.2 BAKTERIÁLNÍ ROZBOR	29
6.2.1 MALDI-TOF	29
6.2.2 Výsledky bakteriální identifikace	30
6.3 MĚŘENÍ TEPLoty	31
6.4 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ METODOU FCA	41
6.5 VERIFIKACE DAT V PROGRAMU MATLAB	42
ZÁVĚR	44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	45
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	47

SEZNAM OBRÁZKŮ	48
SEZNAM TABULEK.....	49
SEZNAM PŘÍLOH.....	CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.

ÚVOD

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou bakteriálního rozboru jaterní tkáně biologického laboratorního materiálu v době úmrtí. Na základě těchto rozborů je provedena analýza stanovení doby úmrtí a srovnání zkoumané metody s metodou dnes běžně používanou, tj. stanovení doby úmrtí pomocí rektální sondy. Zkoumaná metoda je mnohem přesnější. Nedochozí při ní k přímému kontaktu vyšetřovatele, případně soudního lékaře se zemřelým a hlavně nedochází k manipulaci se zemřelým. Uvedený výzkum patří do oblasti forenzní kriminalistiky, která řeší kriminální činnost pomocí vědeckých poznatků, výzkumů a různých chemických, biologických a jiných rozborů. Konkrétně zde je využita částečně forenzní medicína. Hlavní testy jsou založeny na bakteriologickém vyšetření jaterní oblasti, především na přítomnost aerobních a anaerobních bakterií. Výzkum byl prováděn na potkanech *Rattus norvegicus* (laboratorní biologický materiál), kteří nebyli speciálně vyšlechtěni k jiným účelům. Vzorky určené pro bakteriální translokaci byly odebírány v několika fázích, kdy byly odebírány bezprostředně po smrti, další vzorky v různých časových intervalech od doby úmrtí zkoumaných objektů. Disproporce u těchto vzorků jsou především v počtu nakultivovaných mikroorganismů. Výsledkem zkoumání jaterní oblasti je ověření metody stanovení doby úmrtí pomocí teplotního profilu jaterní tkáně.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 FORENZNÍ VĚDY

Celá výzkumná část předložené práce spadá do forezních věd. Forezní vědy jsou takto označovány podle latinského slova *forensis* označující „fórum“. Původ slova pochází z dob dávného Říma, kdy se řešení trestných činů prezentovalo na veřejných fórech, proto toto označení. V českém jazyce se slovo forezní často nahrazuje slovem soudní.

Forezní vědy se zabývají problematikou kriminalistiky. Tyto vědy dopomáhají k vyšetřování a odhalování trestných činů v oblasti kriminalistiky a to pomocí aplikací specifických metod na vědeckém základě. Forezní vědy se rozvíjí společně s všeobecným pokrokem. U těchto věd je třeba jak vědeckých poznatků, tak i logických úsudků a dedukcí, aby jednotlivá fakta, vyplývající z vědy, formovala celek, a tak mohla vyřešit kriminální případy. Forezní vědy tvoří rozsáhlou oblast vědy, která se neustále posouvá kupředu. Proto se zavádí následující dělení. [1]

Dělení forezních věd:

- daktyloskopie,
- forezní antropologie,
- forezní balistiky,
- forezní entomologie,
- forezní chemie,
- forezní medicína (= soudní lékařství),
- forezní psychologie,
- forezní genetika,
- písmoznalectví.

1.1 Daktyloskopie

Daktyloskopie se zabývá kožními papilárními liniemi na prstech, dlaních a chodidlech. Každý člověk má tyto linie specifické a jedinečné. Linie zůstávají téměř neměnné po celý život, mění se jen jejich délka v průběhu růstu. Avšak uspořádání a tvary těchto linií jsou neměnné. Do dnešní doby nebyli objeveni jedinci, kteří by měli stejné papilární linie jak už na ruce, tak na nohou. Při zkoumání papilárních linií záleží jak na tvaru linií, tak také na vzdálenosti jednotlivých linií. Otisky prstů člověk zanechá všude, čeho se dotkne, protože

kůže je mastná a zpocená a díky těmto vlastnostem kůže se zachytí na různých materiálech. Při sejmutí otisků z doličného předmětu se pak otisk porovnává buď s databází, nebo s konkrétním podezřelým jedincem. Porovnání musí provádět expert a otisky se musí shodovat v minimálně 10 markantech (změny v průběhu papilárních linií). V kriminalistice je využívána pro identifikaci osob. Tato metoda je rozsáhle používaná nejen díky své přesnosti a jednoduchosti, ale i díky nízkým nákladům. [1]

1.2 Forezní antropologie

Jedná se o aplikaci biologické antropologie v kriminalistice. Toto odvětví se zabývá zejména rozpoznáváním a identifikací lidských ostatků. Úzce souvisí s oborem soudního lékařství. Forezní antropologie se zabývá převážně jen kosterními ostatky. Forezní antropologii lze rozdělit do tří základních částí – osteologická expertíza, fotokomparativní zkoumání a trichologická expertíza. Osteologická expertíza se zaměřuje na zkoumání a identifikaci lidských pozůstatků. Tato expertíza se používá v případech, kdy není možné provést analýzu DNA a následně identifikovat osobu na základě výsledků. Trichologická expertíza se zabývá zajišťováním a následným zpracováním biologického materiálu, jako jsou vlasy a chlupy. Zmíněný materiál může následně sloužit jako nástroj k identifikaci osob. Fotokomparativní zkoumání slouží k identifikaci osob pomocí fotografií. Na základě zajištěných fotografií na místě činu, případně fotografií uložených v archívech s hledanými či pohřešovanými osobami. [2][3]

1.3 Forezní balistika

Balistika se zabývá střelami. Forezní balistika jako věda zkoumá pohyb střely hlavní, jaké stopy zanechá na projektilu, pohyb projektilu okolním prostředím a následně i prostředím, do kterého projektil vnikl. A jak se projektil chová po celou dobu průběhu střely (rotace, rychlost, trajektorie, konečný vzhled střely). Balistika je spojení matematiky, fyziky, chemie, biologie, strojírenství atd. Díky poznatkům ze všech vědeckých odvětví mohla balistika vzniknout. Balistika se dělí na 6 základních skupin – vnitřní, přechodovou, vnější a terminální balistiku, prenatální a postterminální. Prenatální balistika se zabývá tím, co se děje před výstřelem. Vnitřní balistika se zabývá ději, které vznikají a probíhají při výstřelu. Přechodová balistika se zabývá doprovodnými jevy vznikajícími při výstřelu (např. záblesk).

Vnější balistika se zabývá okamžikem, kdy letí střela vzduchem. Terminální balistika se zabývá střelou, která uvízla v cíli. Postterminální balistika se zabývá tím, co se děje se střelou, která prošla cílem skrz. [2][3]

1.4 Forezní entomologie

Jedná se o vědu, která vychází z poznatků o členovcích, převážně hmyzu. Nejvíce je zde využito znalosti vývojových stadií hmyzu.

Při stanovení doby úmrtí se používá taktéž forezní entomologie. K metodě stanovení doby úmrtí pomocí forezní entomologie se přistupuje v okamžiku, kdy se tělo najde již ve fázi částečného rozkladu – tělo je nalezeno až po mnoha hodinách po úmrtí, často několik dní. Stanovení doby úmrtí pomocí rektální sondy a teploty jater je možné použít jen do určitého časového okamžiku. Později se tedy stanoví čas smrti pomocí entomologie. Znalec v tomto odvětví je schopen stanovit dobu úmrtí podle rozkladu těla a hlavně díky přítomnosti hmyzu. Znalec v tomto okamžiku nejdříve určí druh hmyzu, který se v těle/na těle nachází a jeho vývojové stádium. [2][3]

1.5 Forezní chemie

Forezní chemie se využívá především ke zjišťování neobvyklých látek v těle. Pomocí uvedené metody lze odhalit, zda neměla oběť v těle nějakou drogu, či jinou syntetickou látku (toxikologie). Při analýze těchto látek znalec dbá i na to, v jakém stavu se tělo nachází – jeho zdravotní stránka. Měla-li oběť nějaké zdravotní potíže, může být toxikologický nález ovlivněn případnými léky, či reakcí těla na zdravotní potíže. Při určitých nemocech může tělo produkovat běžné látky vyskytující se v těle ve zvýšené hodnotě. Tyto látky mohou reagovat s látkami nepřírodními pro tělo a ovlivnit tak výsledky toxikologie. Zkoumáme však touto metodou nejen tělo, ale třeba i okolní prostředí, zda nebylo infikováno prostředí, kde bylo tělo nalezeno. [2][3]

1.6 Soudní lékařství

V užším slova smyslu bych se chtěla zabývat právě tímto odvětvím. Soudní lékařství se zabývá, jak už je z názvu patrné, zdravotní stránkou těla. Soudní lékař (patolog) P/provádí pitvy, u kterých se dá zjistit, zda byla oběť zavražděna, díky zhmoždění těla, zda se jednalo o zdravotní selhání bez cizího zavinění apod. Často toto odvětví vyžaduje i toxikologická vyšetření. Soudní lékařství hraje důležitou roli při stanovení doby úmrtí. Soudní lékař ohledává tělo na místě činu. Jako první přijde do styku s tělem. Do příchodu soudního lékaře nesmí nikdo s tělem manipulovat. Při prvním ohledání těla na místě činu soudní lékař také stanoví dobu úmrtí. Tento krok je dnes prováděn pomocí rektální sondy. Rektální sonda, jak je již z názvu zřejmé, se zavede do konečníku těla. Pomocí této sondy je zjištěna teplota těla a podle ní se určí, kdy došlo ke smrti. Rektální sonda má však hned několik úskalí. Při zavádění sondy musíme dbát hned na několik aspektů. V době, kdy zavádíme sondu do konečníku, je vhodné, aby sonda měla přibližně stejnou teplotu, jako je teplota těla. Pokud tomu tak není, hodnota, kterou sonda ukáže, může být zkreslená. A když neznáme teplotu těla, je obtížné stanovit, jakou ideální teplotu by měla mít zaváděná sonda. Na co je třeba si dát obzvláště pozor při zavádění sondy je i to, že nesmíme porušit konečník. Při porušení konečníku může dojít k posmrtnému krvácení. Krvácení může taktéž ovlivnit výsledky rektální sondy. Dále v této oblasti může dojít ke znehodnocení kriminálních stop. Toto jsou hlavní důvody, proč je metoda nedokonalá a proč by se měla nahradit jinou metodou. Proto se snažím ve své práci ověřit metodu stanovení doby úmrtí pomocí stanovení teplotního profilu jaterní tkáně. Tato metoda by měla být přesnější. Metodu by nemělo ovlivnit tolik faktorů, jako právě u metody prováděné rektální sondou. [4]

1.7 Forenzní psychologie

Forenzní psychologie se neuplatňuje pouze na místech činu a při vyšetřování smrti. Zahrnuje i psychologii soudní, investigativní a vězeňskou. V praxi se psychologie uplatňuje vytvořením znaleckých posudků, které určují psychický stav obviněných, zda netrpí psychickými poruchami. K vytvoření těchto posudků je nutná znalost psychologie, proto tyto posudky mohou vytvářet pouze kvalifikované osoby. Dále se využívá k vytvoření profilu pachatele. Díky faktům, které kriminalisté mají, psycholog pak sepíše, jak by mohl vypadat případný popis pachatele, jaký to mohl být člověk po duševní stránce, z jakých poměrů pochází apod. Na základě takto sestavených profilů se poté může stanovit okruh hledaných osob, případně upravit způsob vyšetřování trestného činu. Forenzní psychologie se dělí na:

- kriminalistická psychologie,
- soudní psychologie
- peniternciární a postpeniternciární psychologie,
- kriminologická psychologie. [2][3]

1.8 Forezní písmoznalectví

Jedná se o zkoumání písma a písemných projevů. Zkoumá se jak styl písma, tak i náklon, tlak na pero a další. Odborníci dokáží díky těmto poznatkům vytvořit jakýsi profil pachatele. Z písma je možno vyčíst i psychický stav člověka a jeho chování v běžném životě. Zahrnuje také zkoumání pravosti podpisů. Zkoumání lze zaměřit na:

- identifikace pisatele,
- určení počtu pisatelů,
- ověření pravosti podpisu,
- identifikace pisatele padělku. [2][3]

1.9 Forezní genetika

Tato část forezních věd se zabývá analýzou DNA a jejího následného porovnání. Díky výše uvedené analýze lze určit, zda je oběť člověk, či zvíře. V podstatě se jedná o identifikaci části řetězce DNA, který kóduje malou podjednotku ribozomu. Porovnává se především postavení bází a pořadí, v jakém se jednotlivé báze v řetězci nacházejí. Najdeme-li u oběti stopy cizí DNA, pak je možné určit následně pachatele. Metoda určení DNA je přesná. Díky této metodě lze určit případnou rodinnou příslušnost. Forezní genetika se dělí na:

- kriminalistická genetika,
- identifikační genetika,
- kognativní genetika.

Kognativní genetika se zabývá rodinnou příslušností. Identifikační genetika má za úkol identifikovat osobu pomocí DNA a kriminalistická genetika se zabývá biologickými stopami zanechanými na místě činu. [1]

2 KRIMINALISTIKA

Kriminalistika je samostatný vědní obor. Kriminalistika slouží jako nástroj k ochraně občanů a státu před trestnými činy. Stejně jako forenzní vědy vyhledává příčiny vzniku trestného činu a zkoumá a zajišťuje stopy. Forenzní vědy a kriminalistika spolu úzce souvisí a často se navzájem prolínají. Neznalým osobám může připadat, že kriminalisté a forenzní specialisté mají stejnou práci. Kriminalisté se zabývají především zákonitostmi vzniku, trvání a zániku stop, dále zákonitostmi vyhledávání, zajištění a zkoumání využívaných stop. Forenzní specialisté vědecky zkoumají důkazy, které jim kriminalisté zajistili na místě činu. Kriminalisté naleznou a zajistí stopy na místě činu, forenzní specialisté zjistí příčiny vzniku stop, a jak stopy vznikly, případně jakým způsobem došlo ke kriminálnímu činu. Na základě těchto poznatků se kriminalisté snaží vypátrat pachatele trestného činu. [2]

2.1 Kriminalistická biologie

Kriminalistická biologie se zabývá vyhledáváním, zjišťováním, zkoumáním a vyhodnocováním biologických stop lidského, zvířecího a rostlinného původu. Biologický materiál lidského původu jako objekt zkoumání lze rozdělit do několika skupin:

- samovolně odloučený materiál,
- materiál oddělený od lidského těla působením násilí,
- materiál pocházející ze zaniklého organismu.

2.2 Místo činu

Místem činu se myslí území, prostor, kde došlo k vyšetřované události. V užším slova smyslu se jedná o místo, kde byla vykonána trestná činnost pachatele. Místo činu je často jediným zdrojem informací o spáchaném trestném činu, proto je jednou z nejdůležitějších částí vyšetřování trestného činu. Na tomto místě se zajišťují okolnosti potřebné pro objasnění trestného činu. Při nalezení místa činu se provádí jako první zajištění místa činu, aby nedošlo k narušení a znehodnocení stop. Dále je nutné ohledat místo činu. Ohledání místa činu zajišťují kriminalisté. Je-li na místě činu zemřelý, je třeba ohledat i tělo. Ohledání zemřelého provádí soudní lékař. Do příjezdu soudního lékaře nesmí s tělem nikdo jiný zacházet a jakkoli s ním manipulovat. V případě, že policista, který zajistí místo činu, konstatuje, že člověk nacházející se v dané oblasti může vykazovat známky života, měl by poskytnout raněnému

první pomoc. V případě následné smrti raněného dochází k znehodnocení těla a jeho důkazních stop. Výzkum uváděné problematiky předložené práce se provádí především z důvodu usnadnění vyšetřování spáchaného trestného činu. Je-li nalezeno místo činu se zemřelým, první policista může provést první zkoumání – měření teploty jater. Díky této rychlé, snadné a především bezkontaktní metodě následně stanoví dobu úmrtí. Než na místo činu dorazí soudní lékař, aby blíže prohlédl tělo, policista, který již stanovil dobu úmrtí, může promyslet a zahájit metody pátrání pro snadnější a rychlejší dopadení pachatele. Celý proces vyšetřování se tímto urychlí a usnadní.

V problematice předložené práce je třeba se zaměřit právě na manipulaci se zemřelým. Aby nedošlo ke zkreslení výsledků, je třeba provést měření teploty jater předtím, než se bude se zemřelým jakkoli manipulovat. Tělo by mělo zůstat v pozici, v jaké ho kriminalisté našli. Až po zaznamenání naměřených výsledků by mělo dojít k následné manipulaci způsobené lékařským ohledáním těla. [2]

2.3 Kriminalistické stopy

Kriminalistická stopa je jakákoli změna, která se udála na místě činu. Stopy se dají chápat i dle Newtonova pohybového zákona: Každá akce vyvolá reakci. Při páchání trestného činu je zapotřebí nějakého specifického chování či použití různých objektů. Počinání si s uvedenými objekty vede k trestnému činu a zanechání různých materiálních, biologických a podobných odrazů. Tyto odrazy nazýváme kriminalistické stopy. Kriminální stopa existuje od svého vzniku po zajištění, případně zničení. V případě zajištění stopy, je stopa následně zpracována pomocí forenzních věd. Vzhledem k různému charakteru stop se stopy dělí na:

- paměťové,
- materiální.

Paměťové stopy jsou stopy, které se nedají vždy dobře zajistit. Vznikají v mysli člověka a jejich přesnost a množství se odvíjí od paměti a schopnosti vyjadřování zajištěné osoby, která trestný čin viděla, či je jinak spojena s trestným činem.

Materiální stopy jsou ty, které jsou fakticky nalezeny, jedná se o věcné stopy, které se dají snadno zachytit a dále zpracovávat. Nejedná se jen o předměty na místě činu, jedná se také o důsledky zacházení s objekty (např. otisky prstů, povýstřelové zplodiny apod.).

Stopy se také mohou dělit na:

- viditelné,
- latentní.

Viditelné stopy jsou ty stopy, které lze pouhým okem vidět. Naopak latentní jsou ty, které lze identifikovat až po nějakém ošetření. Ideálním příkladem jsou stopy daktyloskopické, případně otisky prstů. Na první pohled nejsou viditelné, ale při bližším zkoumání se objeví a je možné s nimi dále pracovat. Mezi viditelné stopy je možné zařadit např. otisk podrážky.

Dnes jsou běžně využívány i tzv. mikrostopy. Mikrostopy mají své označení kvůli tomu, že se jedná o velice malé stopy – malé rozměry, malé množství hmoty. [2]

2.3.1 Význam stop

Paměťové i materiální stopy mají stejný význam v oblasti kriminalistiky. Jejich rozdíl je jen v jednoduchosti a přesnosti jejich zajištění. Stopy jsou klíčové pro vyřešení trestného činu. Význam stop se dá rozdělit:

- technická hodnota,
- taktická hodnota,
- procesní hodnota stop.

Technickou hodnotu stop lze chápat tak, že na základě zajištění a vyhodnocení stop lze identifikovat konkrétní osobu, zvíře, věc. Taktická hodnota stop vychází z toho, jaké informace lze ze stopy získat a na základě těchto informací je možné stanovit závěry. Procesní hodnota stop je taková hodnota, při které se stopa stává zároveň důkazem pro trestné řízení. Podmínkou, aby se stopa mohla stát důkazem je, že stopa musí být zjištěna, zajištěna a uchována tak, jak je dáno v trestním zákoníku. [2][3]

3 BAKTERIE

Praktická část bakalářské práce je zaměřena především na mikrobiologický rozbor jaterní tkáně laboratorního biologického materiálu. V této kapitole se práce zaměří na zkrácený popis a charakteristiku bakterií.

Bakterie jsou jednobuněčné prokaryotické organismy. Nejčastěji mívají kokovitý (kulovitý) či tyčinkovitý tvar. Bakterie jsou nejrozšířenějšími organismy na světě. Není znám celkový počet všech druhů bakterií, jelikož působením přirozené či indukované selekce neustále vznikají nové druhy a jiné naopak zase zanikají. Bakterie lze nalézt prakticky všude kolem nás, ve vodě, vzduchu, půdě, organismech, jak vně, tak i uvnitř. Bakterie mají však různé ideální podmínky, ve kterých žijí a ve kterých jsou schopny růst a dále se rozmnožovat. Jsou velmi adaptabilní (přizpůsobivé) prostředí, ve kterém žijí. Bakterie se dělí na aerobní a anaerobní bakterie. Aerobní bakterie žijí v prostředí s přítomností kyslíku. Kyslík je nedílnou součástí pro správný chod jejich metabolismů. Naopak anaerobní bakterie nejsou schopné žít v prostředí s kyslíkem. Anaerobní bakterie jsou často velmi nebezpečné právě u lidí s různými poraněními, kdy se do prokrvené tkáně (rány) dostane anaerobní bakterie, která na přítomnost kyslíku v krvi může často reagovat vytvořením toxinů nebezpečných pro lidský organismus. Ne všechny bakterie nacházející se v těle jsou pro člověka nebezpečné. Je mnoho bakterií, které se běžně vyskytují v organismu a nezpůsobují v těle žádné negativní fyziologické či patologické účinky. [5]

3.1 Aerobní a anaerobní bakterie

Rozdělení bakterií na aerobní a anaerobní představuje jedno ze základních rozdělení bakterií, kdy jednotlivé mikroorganismy reagují na množství kyslíku v prostředí, kde se níže daný bakteriální kmen nachází. Aerobní bakterie se nacházejí v prostředí, které obsahuje zhruba stejné množství kyslíku, jako je v atmosféře. Aerobní bakterie striktně potřebují ke svému růstu kyslík, bez přístupu kyslíku tyto bakterie umírají. Anaerobní bakterie jsou naopak schopny přežít a rozmnožovat se i v prostředí bez přístupu kyslíku, kdy tzv. striktně anaerobní bakterie jsou přítomným kyslíkem inaktivovány až usmrcovány a fakultativně anaerobní bakterie jsou sice schopny růst bez přítomného kyslíku, ale prostředí saturované kyslíkem je pro jejich růst a rozmnožování energeticky výhodnější, proto toto prostředí upřednostňují. [5]

3.2 Grampozitivní a gramnegativní bakterie

Gramovo barvení je jednou ze základních identifikačních metod, které dělí mikroorganismy do dvou základních skupin – grampozitivní, kdy se buňky barví modře až modrofialově a gramnegativní, kdy se buňky barví růžově až růžovočerveně. Toto zabarvení je definováno různým složením peptidoglykanu v buněčné stěně u jednotlivých skupin mikroorganismů. Barvení probíhá pomocí krystalové violeti s Lugolovým roztokem. Pomocí polárního rozpouštědla (např. ethanol či aceton) je barevný komplex vymýván z buněčné stěny. Díky rozdílnému uspořádání a síle peptidoglykanu je barevný komplex z buněčné stěny gramnegativních bakterií rozpouštědlem zcela vyplaven. Buněčný preparát je poté dobarven safraninem, který buňky zbarví do růžova. V případě grampozitivních bakterií je barevný komplex zachycen v tlusté peptidoglykanové vrstvě a rozpouštědlem není vymyt. Následné dobarvení preparátu safraninem není v tmavě barvené buněčné stěně patrné.

V následující části se práce zabývá konkrétními bakteriemi, které byly identifikovány ve zkoumané oblasti. [5]

3.3 *Escherichia coli*

E. coli je jeden z nejznámějších a nejběžnějších mikroorganismů. Jedná se o modelový organismus, na kterém byly prozkoumány a popsány jevy jako bakteriální konjugace či replikace DNA.

Jedná se o pohyblivé, gramnegativní, nesporulující tyčky, 2-3 μm dlouhé a 0,5-0,8 μm široké. Vyskytují se jednotlivě nebo po dvojicích, jsou pohyblivé peritrichálními bičíky. Mají jak respiratorní, tak fermentatorní typ metabolismu, žijí se chemoorganotrofně. Rostou na běžných půdách, kde se jeví jako drobné kulaté kolonie, vykazují značnou biochemickou aktivitu - štěpí glukózu a laktózu za tvorby plynu, tvoří indol, neštěpí močovinu. *E. coli* je oxidáza negativní, kataláza pozitivní, methylčerven pozitivní, citrát negativní. Optimální teplota růstu je 37 °C. Je součástí přirozené střevní mikroflóry člověka a dalších teplokrevných živočichů, kde působí jako užitečný komenzál. *E. coli* produkující enterotoxiny mohou způsobovat průjemy a jsou i častými původci infekcí močového traktu, nozokominálních infekcí včetně septikémií a meningitid.

Ve studiích a odborné literatuře není prokázáno, že by se *E. coli* běžně vyskytovala v jaterní tkáni. Je tedy pravděpodobné, že se do tkáně bakterie dostala sekundárně. Jeden z důvodů sekundárního výskytu je, že všechny vzorky utrpěly krevní trauma. Tento způsob je méně

pravděpodobný. K infikování bakterií také mohlo dojít již po narození a růstu, nevíme totiž, z jakého prostředí zkoumaný materiál pochází. Některé kmeny *E. coli* mohou způsobovat u potkanů chronická onemocnění jater, ale ve studiích je uváděno, že se vždy jednalo o aktivní inokulaci daného kmene *E. coli*, což znamená, že by *E. coli* musela být naočkována. Primárně se zde nevyskytují. [5]

3.4 *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis je gramnegativní anaerobní bakterie. Způsobuje 90 % infekcí rodu *Proteus*. Je součástí normální střevní flory, vyskytuje se také v půdě, ve vodě, na rostlinách, ve stolici lidí a zvířat. *Proteus* bývá nalézán v mnoha ekologických stanovištích, včetně dlouhodobých zdravotnických zařízení a nemocnic. Patří do skupiny enterobakterií. Vyznačuje se plazivým růstem. Nejčastěji dochází k infekcím, pokud se bakterie přesunou do močové trubice a močového měchýře.

Bakterie mohou vstoupit do krevního řečiště skrze poranění, vyvolají zánětlivou reakci, která může způsobit sepsi.

Stejně jako *E. coli* je výskyt této bakterie v játrech sekundární. I zde je velice pravděpodobná inokulace tohoto kmene. [5]

3.5 *Staphylococcus aureus*

S. aureus je asi 1µm mikroorganismus kulovitěho tvaru, vyskytuje se jednotlivě, ve dvojicích, tetradách či nepravidelných shlucích. Typický je růst stafylokoků ve shlucích tvaru hroznu. Barví se grampozitivně, je nepohyblivý, nesporulující, fakultativně anaerobní. Živí se chemoorganotrofně, metabolismus má jak respiratorní, tak fermentatorní. Kolonie jsou obvykle neprůhledné, bílé až krémové barvy, občas žluté až žlutooranžové. Kataláza pozitivní, oxidáza negativní, redukuje nitráty. Rostou v přítomnosti 10% NaCl, optimální teplota růstu se pohybuje mezi 30 °C – 37 °C. Stafylokoky jsou všudypřítomné bakterie, jejich výskyt je primárně vázán s kůží, kožními žlázami a sliznicemi širokého spektra teplokrevných obratlovců, kde se uplatňuje jako běžný komenzál. Dále jsou často izolovány z různých potravin živočišného původu (maso, mléko, sýr) a z nejrůznějších zdrojů v prostředí jako je půda, voda, písek a prach. *S. aureus* je zřejmě nejúspěšnější lidský patogen, který zapříčiňuje velké spektrum onemocnění od nejběžnějších hnisavých onemocnění kůže, abscesů až po sepsi a alimentární intoxikace. Má pozitivní koagulázu volnou i vázanou.

Bakterie se může primárně vyskytovat prakticky ve všech tkáních a orgánech. Nejedná se ale o invazivní mikroorganismus, pokud je hostitel zdravý a jeho imunitní systém v pořádku. Pokud se v játrech vyskytovala jen v malých počtech, pravděpodobně nezapříčinila zvyšování teploty. Aby ji zvýšila, muselo by se jednat o větší množství nebo už o stafylokokovou infekci. Z výsledků víme, že se v játrech vyskytovala bakterie ve větším počtu a to u mnoha vzorků. [5]

3.6 *Enterococcus solitarius*

Jedná se o anaerobní grampozitivní bakterie vyskytující se v párech či řetězcích. Tvoří přirozenou mikroflóru ve střevě. Rostou v hypertonickém roztoku NaCl, ale mohou velmi dobře růst i za přítomnosti žluči. Patří mezi podmíněné patogeny.

Vzorky, u kterých byla identifikována bakterie *Enterococcus solitarius* byly zamořeny infekcí. K infekčnímu zamoření organismu mohlo dojít v průběhu života, ale také po smrti vzorku. U těchto vzorků bylo více pravděpodobné, že právě zmíněná bakterie se podílela na zvyšující se teplotě nejvíce. Došlo-li k infekci, bakterie se vyskytovala ve vyšetřované oblasti ve větším počtu, proto i po translokaci byla ve výsledcích tato bakterie v největším počtu. [5]

4 FCA – FORMÁLNÍ KONCEPTUÁLNÍ ANALÝZA

Vyhodnocení výsledků zkoumání bylo provedeno pomocí metody FCA. Formální konceptuální analýza spadá do oblasti aplikované matematiky. Pomocí matematických vzorců a vhodně naprogramovaného programu dokáže FCA vhodně definovat objekty s vlastnostmi a určit jejich vzájemné vztahy. Díky metodě FCA můžeme relativně jednoduše vyselektovat objekty, které jsou v dané situaci ty nejvhodnější.

Formální konceptuální analýza jde použít prakticky na všechny možné objekty, které se staly předmětem selekcí. Je-li potřeba vybrat například nejlepší výrobek v poměru cena/výkon, je matematicky možné se dobrat k výsledku. Jedná se o analýzu dat vycházející z teorie svazů. Teorie svazů spadá do oblasti algebry zabývající se uspořádanými množinami. Vstupními daty jsou data tabulky. Ke každému objektu jsou přiřazovány jejich atributy (vlastnosti). Tabulka je vždy uspořádaná tak, že v řádcích se nachází objekty a ve sloupcích se nachází jejich atributy. Nejčastěji se objekty označují písmenem x a atributy písmenem y . Z tabulky se tak dostávají vždy uspořádané dvojice $\{x,y\}$. Tyto dvojice nám říkají, jaký má daný objekt vlastnost. Z tabulky lze dosáhnout dvou výstupů – konceptuální svaz (množina objektů a jejich vlastností) nebo atributové implikace (závislost mezi jednotlivými vlastnostmi). [6]

Máme-li vlastnosti objektů, není možné vždy přiřadit jen čísla 0 a 1 (0 značící nepravdu a 1 značící pravdu). Vlastnosti mohou nabývat i jiných hodnot (např. cena výrobku). Nabývá-li atribut jiné hodnoty, je třeba ho rozškálovat (konceptuální škálování). Škálování probíhá tak, že je třeba si danou hodnotu rozdělit na jednotlivé intervaly a následně intervalům přiřadit 0 a 1. Např. Je-li cena výrobku 80 Kč, je možné rozškálovat atribut ceny takto:

Tab. č. 1 – Škálování atributů

		y1		
		0-30	31-60	61-90
x1		0	0	1

Takto je možné upravit prakticky jakoukoli vlastnost objektu. Až jsou všechny vlastnosti upravené, je tabulka naplněna pouze hodnotami 0 a 1. Takto vytvořená tabulka je finálně upravena pro následné provedení konceptuálního svazu nebo atributové implikace. V této chvíli nastoupí použití matematických vzorců. Pro člověka, ne moc znalého matematiky, byly vytvořeny jednoduché programy, které za vás udělají potřebnou práci a rovnou pak provedou konceptuální svaz a ukážou, který objekt je nejvhodnější. [6]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 STANOVENÍ DOBY ÚMRTÍ

Praktická část bakalářské práce se zabývá stanovením doby úmrtí. Stanovení doby úmrtí je důležité hned z několika aspektů. Na základě stanovení doby úmrtí mohou vyšetřovatelé trestného činu stanovit postup vyšetřování. Soudní lékař stanovující dobu smrti však při ohledání těla posuzuje a vyhodnocuje i jiné aspekty. Po ohledání těla určuje příčinu smrti, druh smrti, a jak už bylo uváděno, dobu smrti. Po zjištění těchto zásadních informací se rozbíhá kriminální vyšetřování. Vyšetřování se odráží od výsledků sdělených soudním lékařem. Soudní lékař musí k tělu, ať už je v jakémkoli stavu, přistupovat vždy profesionálně a s úctou. Vždy si musí počínat tak, aby neohrozil své zdraví a zároveň nepoškodil možné důkazy na těle. Používá k tomu vhodné nástroje a pomůcky. Při ohledání těla dbá soudní lékař na změny těla po smrti. Dnes se rozlišují především tři druhy změn, a to: fyzikální, chemické a enzymatické. Pro práci důležitý algor mortis (posmrtné chladnutí těla) doprovázený rigor mortis (tuhnutí těla) patří mezi fyzikální změny. Nejčastější metodou určení doby úmrtí v České Republice je pomocí rektální sondy.

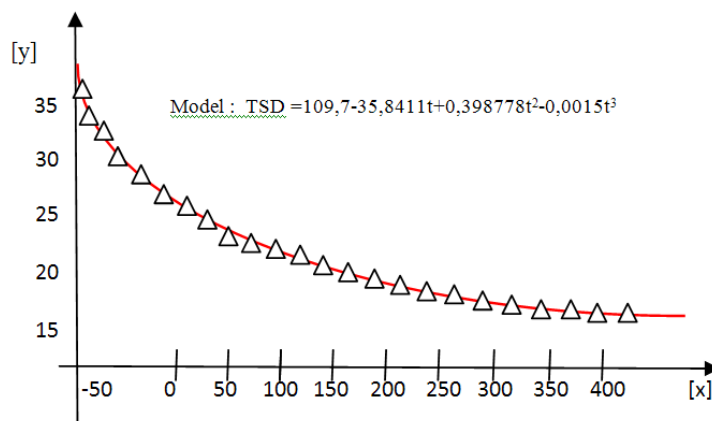
5.1 Měření teploty těla pomocí rektální sondy

Jak již bylo výše uvedeno, pro vyšetření kriminálního případu, kde se jedná o algor mortis (s doplňujícím procesem rigor mortis), je důležité stanovit čas úmrtí. Pro toto stanovení se využívá forenzních věd. Je třeba nejprve ohledat zemřelého a okolí, v němž se tělo nachází. Měření teploty těla pomocí rektální sondy může být použito jen v krátkém časovém intervalu od doby úmrtí. Je vhodné změřit teploty nejen těla, ale také teplotu okolí. U zavádění sondy je třeba však dbát na více aspektů. Nesmí se nikterak porušit konečník, kde sonda vstupuje. V ideálním případě by sonda měla mít stejnou teplotu jako měřená oblast. [7]

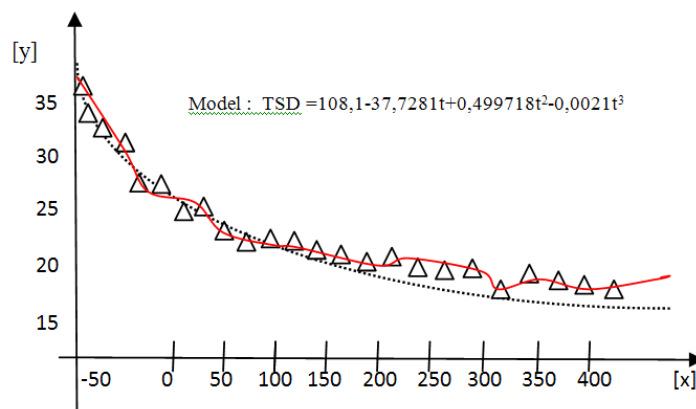
5.1.1 Stanovení času smrti pomocí Henssgeho diagramu

Uvedená metoda spočívá v měření rektální teploty, teploty okolí a vlastnostech textilních látek, které se nachází na těle zemřelého. Metoda má hned několik nevýhod. Při zavádění sondy může dojít k uvolnění obsahu v oblasti recta a tím dojde ke znehodnocení a zničení těla a kriminálních stop na těle. Rektální sonda se musí zavádět tak, aby nedošlo k poškození konečníku. Dále sonda musí splňovat hygienické podmínky, a jak bylo uvedeno výše, ideálně mít stejnou teplotu, jako je teplota okolí. Při stanovení doby úmrtí pomocí naměřených teplot je třeba provést a vypočítat pomocí matematických rovnic dobu úmrtí. Pro výpočet je nutné znát také hmotnost těla zemřelého. [7]

Studie na polynomiální regresní model pro odhad času smrti prostřednictvím rektální teploty je předmětem celosvětové diskuse, hlavně co se týče přesnosti a nejistot měření získaných naměřených hodnot při bakteriální translokaci, jako i vliv demografického profilu na zkoumaný biologický materiál. Statistická významnost v této oblasti byla matematicky vyjádřena hodnotami: $p < 0,001$, nesignifikantní korelace hodnotou $p > 0,05$. Na základě naměřených hodnot metodou per rectum při bakteriální translokaci byly zjištěny následující grafy testu homogenity reziduí, obr. 1,2. Homoskedasticitu reziduí posuzujeme pomocí grafu závislosti reziduí na predikovaných hodnotách. Měření rektální teploty bylo prováděno na osobách, kdy byl proveden bakteriální stěr sliznice rektu s pozitivní identifikací vzorků na anaerobní mikrofloru. [7]



Obr. č. 1 – Normální p-graf proložení dat [7]



Obr. č. 2 – Výsledný p-graf proložení dat s výskytem bakteriální translokace [7]

6 STANOVENÍ ČASU ÚMRTÍ POMOCÍ TEPLoty JATER

Z předchozí kapitoly vyplývá, že dnes používaná metoda stanovení doby úmrtí pomocí rektální sondy není přesná a ovlivňuje ji mnoho faktorů. Mnohem lépe by se dal určit čas úmrtí pomocí teploty jater – *Lobus sinister* a *L. dexter* (jedná se o biologický lidský materiál).

Při běžných biologických procesech se do heparu (jater) dostává mnoho bakterií. Jak už z potravy, tak při detoxikaci organismu. Velké množství šíření bakterií do jater je časté i při traumatu. Při poranění jater se bakterie dostávají dovnitř přímo díky otevřené ráně. K infekci jater bakteriemi lze však dosáhnout i při nepřímém poranění žlázy, tj. sekundární bakteriální infekce hematomu, který vznikl v důsledku úrazu.

Po úmrtí dochází v heparu ke zvýšené bakteriální translokaci (přechod bakterií lymfatického systému do krve a orgánů [8]), která má exotermické účinky. Tyto reakce běžně neprobíhají a to v důsledku funkčního imunitního systému. Po úmrtí imunitní systém přestává pracovat, proto dochází k zaplavení vyšetřované oblasti bakteriemi. Zkoumaná metoda je zaměřena na změnu teploty v jaterní tkáni. Díky této změně teploty je možné stanovit dobu úmrtí. Ke změně teploty by nemohlo dojít, kdyby se v játrech nenacházely bakterie. Po smrti se v jaterní oblasti geometrickou řadou začnou množit bakterie. Při jejich růstu a množení dochází k exotermickým reakcím, které zapříčiní nárůst teploty. Aby bylo možné celou metodu ověřit, je třeba zjistit, zda se opravdu ve zkoumané oblasti bakterie nacházejí. V případě nepotvrzení přítomnosti bakterií v jaterní tkáni by celá metoda nemohla být ověřena. Proto bylo potřeba odebrat vzorky z požadované tkáně a otestovat je na přítomnost bakterií. Aby bylo možné zjistit, která bakterie se nejvíce podílí na navyšování teploty, bylo třeba provést bakteriální identifikaci.

6.1 Odběr a analýza vzorků

Aby bylo možné zkoumanou teorii vědecky podložit, bylo zapotřebí provést biologický rozbor zkoumaného biologického materiálu na přítomnost bakterií. Jako biologický materiál byli využiti potkani bez speciálního bakteriologického šlechtění. Biologických subjektů ke zkoumání bylo několik desítek. Všechny zkoumané subjekty byly testovány na přítomnost bakterií. Aby bylo možné provést bakteriální identifikaci, bylo zapotřebí nejprve biologický materiál usmrtit. K usmrcení objektů docházelo vždy humánně. Objekty nebyly týrány ani mučeny. Smrt byla rychlá a bezbolestná. Usmrcení bylo provedeno pomocí zlomení vazů. Bylo třeba provést takovou smrt, aby nedošlo k poškození jaterního orgánu a aby došlo pokud možno k co nejmenší ztrátě krve. Kdyby došlo k otevřené ráně a případné ztrátě krve,

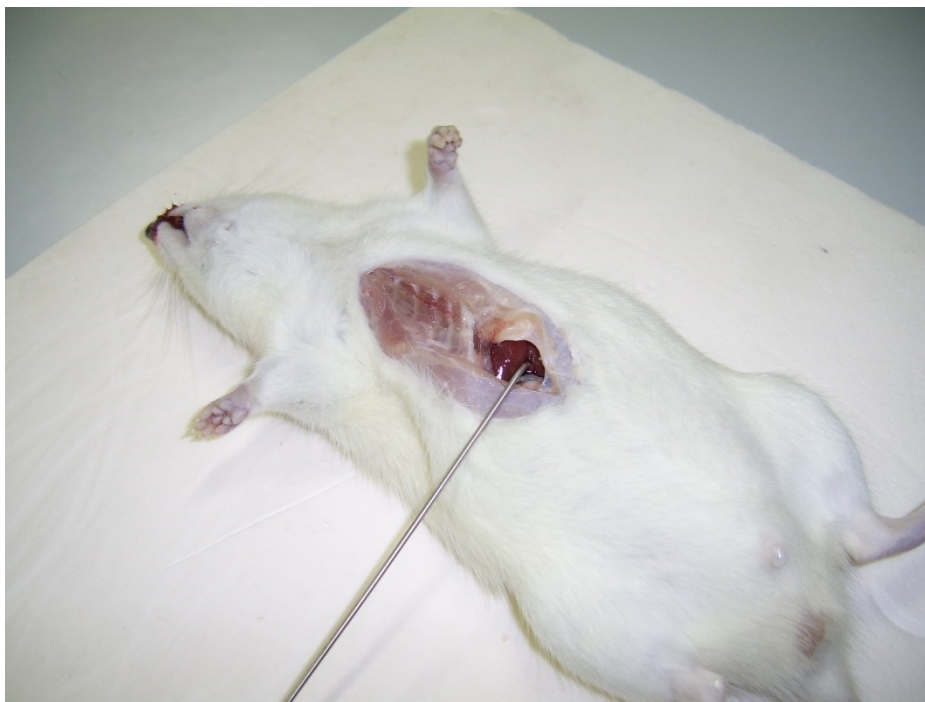
mohly by být výsledky znehodnoceny a bylo třeba prokázat přítomnost bakterií v játrech v běžném koloběhu života.

Odběr vzorků probíhal vždy v několika fázích. Každý vzorek byl označen a byla zaznamenána doba úmrtí.



Obr. č. 3 – Biologický materiál s dobou úmrtí

Jednotlivé vzorky byly usmrcovány v různých časových intervalech. Následně bylo potřeba odebrat vzorky z jaterní tkáně. Vzorky byly odebírány v různých časových intervalech od doby úmrtí. Některé ze zkoumaných vzorků byly usmrceny a vzorky byly odebírány do jedné hodiny od doby úmrtí. U jiných subjektů byly odebírány několik hodin po smrti. Časové rozmezí bylo vždy různé. Stejně tak byly vzorky uchovávány za různých teplot. Některé vzorky byly umístěny do pokojových teplot (21°C), jiné byly uchovávány v nižších, či naopak vyšších teplotách.



Obr. č. 4 – Sterilní odběr vzorků z jaterní tkáně

Vzorky byly odebírány vždy sterilně. Na každý zkoumaný subjekt byl použit nový sterilní skalpel a stěry byly prováděny sterilní tyčinkou. Stěry byly odebírány jak z povrchu jater, tak z vnitřní stěny jater, aby byla zajištěna přesnost výsledků.

6.2 Bakteriální rozbor

Jak již bylo zmíněno, u každého subjektu byl odebírán vzorek na bakteriální rozbor sterilně. Bakteriální analýza měla nejen potvrdit přítomnost bakterií, ale také měla identifikovat bakterie nacházející se ve zkoumané oblasti. Bakteriální rozbor byl prováděn společností Veditlab s.r.o.

Bakteriální identifikace byla provedena metodou MALDI-TOF.

6.2.1 MALDI-TOF

Jedná se o metodu hmotnostní spektrometrie, která využívá faktu, že každá živá buňka má určitý proteinový profil. Bakterie je ostřelována nabitými částicemi (ionizována). Díky rozdílnému tvaru proteomu (soubor všech bílkovin v buňce) každé buňky/bakterie jím proletí částice jinak. Částice, která projde přes proteom, je následně zachycena na detektoru. Určí se, za jak dlouho částice doletěla na detektor. Z tohoto času se následně určí proteinový profil

bakterie. Každá bakterie má jiný profil. Na základě získaného profilu se určí, se kterou bakterií se testovaný profil shoduje. Databáze profilů je uložena v proteinové knihovně, která byla vytvořena dříve.

6.2.2 Výsledky bakteriální identifikace

Zkoumaných subjektů bylo několik desítek. Téměř u všech zkoumaných vzorků byla prokázána přítomnost bakterií. Byly identifikovány 3 vzorky bez biologického nálezu. Vzhledem k tomu, že nebylo možné dohledat původ jednotlivých vzorků (potkanů), je možné, že mezi zkoumané vzorky byly zařazeni i takoví potkani, kteří byli speciálně vyšlechtěni. Proto se u nich neprokázala přítomnost bakterií ve zkoumané oblasti. Mohlo také dojít k chybnému odběru vzorku, případně k chybnému zacházení se vzorky. Avšak byly to ojedinělé případy. Zbytek vzorků bylo s bakteriálním nálezem ve zkoumané oblasti. Nejčastěji se objevovaly ve zkoumané oblasti 4 druhy bakterií, a to *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus solitarius*. V následující tabulce lze vidět procentuální zastoupení jednotlivých bakterií.

Tab. č. 2 – Procentuální zastoupení bakterií ve vzorcích

<i>Escherichia coli</i>	82%
<i>Staphylococcus aureus</i>	64%
<i>Proteus mirabilis</i>	36%
<i>Enterococcus solitarius</i>	18%

Zvláštností výsledků bakteriální identifikace je hlavně to, že bakterie, které se ve zkoumané oblasti nacházely nejčastěji, se primárně nevyskytují v játrech. Jejich přítomnost ve zkoumané oblasti je možná, avšak jedná se o sekundární výskyt. Z toho vyplývá, že aby byla možná přítomnost bakterií v játrech a jejich následná translokace, je zapotřebí, aby se bakterie primárně vyskytovaly ve zkoumané oblasti nebo se bakterie lymfou dopravily do zkoumané oblasti po úmrtí.

6.3 Měření teplot

Dalším krokem pro ověření zkoumané metody bylo měření teplot zkoumaného objektu. U všech objektů byla měřena teplota od doby úmrtí do doby 385 minut po smrti. Měření bylo prováděno po pěti minutách. Důvodem, proč byly teploty měřeny po tuto dobu, byly ty, že pro nás důležité navýšení teploty bylo indikováno ve zvoleném časovém intervalu. Teplota byla měřena pomocí infrakamery. Měření probíhalo ve zkoumané oblasti, oblasti jater. Zkoumané vzorky měly otevřené i uzavřené rány. Všechna měření byla prováděna za pokojových teplot (21°C) a při vlhkosti prostředí 69%. V tab. č. 3 až 12 je výběr naměřených hodnot.

Tab. č. 3 – Závislost teploty na čase – vzorek 1

Vzorek č. 1													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,8	37,6	37,1	36,8	36,5	35,2	34,7	33,3	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,7	29,6	28,2	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,7	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,3	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,7	21,4	21,3	21,3	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,6	20,5	20,5	20,4	20,3	20,4	20,4	20,4	20,5	20,5	20,6
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1

Tab. č. 4 – Závislost teploty na čase – vzorek 2

Vzorek č. 2													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,8	38,5	37,8	37,6	37,1	36,9	36,2	35,1	34,6	33,4	33	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,3	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,7	21,4	21,3	21,3	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,6	20,5	20,5	20,4	20,3	20,4	20,4	20,4	20,5	20,5	20,5
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1	20,1

Tab. č. 5 – Závislost teploty na čase – vzorek 3

Vzorek č. 3													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,8	38,5	37,8	37,6	37,0	36,9	36,2	35,1	34,6	33,5	33,2	32,7	31,9
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,2	29,8	28,3	28,1	27,5	27,4	26,8	26,5	26,4	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,6	21,4	21,4	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,6	20,5	20,5	20,5	20,5	20,4	20,4	20,4	20,5	20,6	20,6
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,6	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1	20,1

Tab. č. 6 – Závislost teploty na čase – vzorek 4

Vzorek č. 4													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,9	37,5	37,2	36,5	36,3	35,2	34,8	33,5	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,7	23,6	23,5	23,4	22,8	22,7	22,6	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,3	22,1	22	21,9	21,8	21,7	21,6	21,5	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,7	20,6	20,5	20,4	20,3	20,3	20,4	20,5	20,6	20,7	20,7
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,6	20,5	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1

Tab. č. 7 – Závislost teploty na čase – vzorek 5

Vzorek č. 5													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,6	38,3	37,9	37,6	37,0	36,9	36,2	35,1	34,6	33,5	33,2	32,7	31,9
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	38,6	38,3	37,9	37,6	37,0	36,9	36,2	35,1	34,6	33,5	33,2	32,7	31,9
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,6	21,4	21,4	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,6	20,5	20,5	20,5	20,5	20,4	20,4	20,4	20,5	20,6	20,6
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,6	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1	20,1

Tab. č. 8 – Závislost teploty na čase – vzorek 6

Vzorek č. 6													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,6	38,3	37,9	37,6	37,0	36,9	36,2	35,1	34,6	33,5	33,1	32,6	31,5
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,2	29,7	28,5	28,1	27,5	27,4	26,8	26,5	26,4	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,8	22,7	22,5	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,3	22,1	22	21,9	21,8	21,7	21,6	21,4	21,4	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,6	20,5	20,4	20,4	20,5	20,4	20,4	20,4	20,5	20,6	20,6
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,6	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1	20,1

Tab. č. 9 – Závislost teploty na čase – vzorek 7

Vzorek č. 7													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,7	37,5	37,1	36,8	36,3	35,2	34,7	33,3	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,7	23,6	23,5	23,4	22,8	22,7	22,6	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,3	22,1	22	21,9	21,8	21,7	21,6	21,5	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,7	20,6	20,5	20,4	20,3	20,3	20,4	20,5	20,5	20,5	20,5
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1

Tab. č. 10 – Závislost teploty na čase – vzorek 8

Vzorek č. 8													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,7	37,5	37,1	36,8	36,3	35,2	34,7	33,3	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,6
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,5	22,4	22,2	22	21,9	21,8	21,7	21,6	21,5	21,4	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,7	20,6	20,5	20,4	20,3	20,3	20,4	20,5	20,5	20,5	20,5
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1

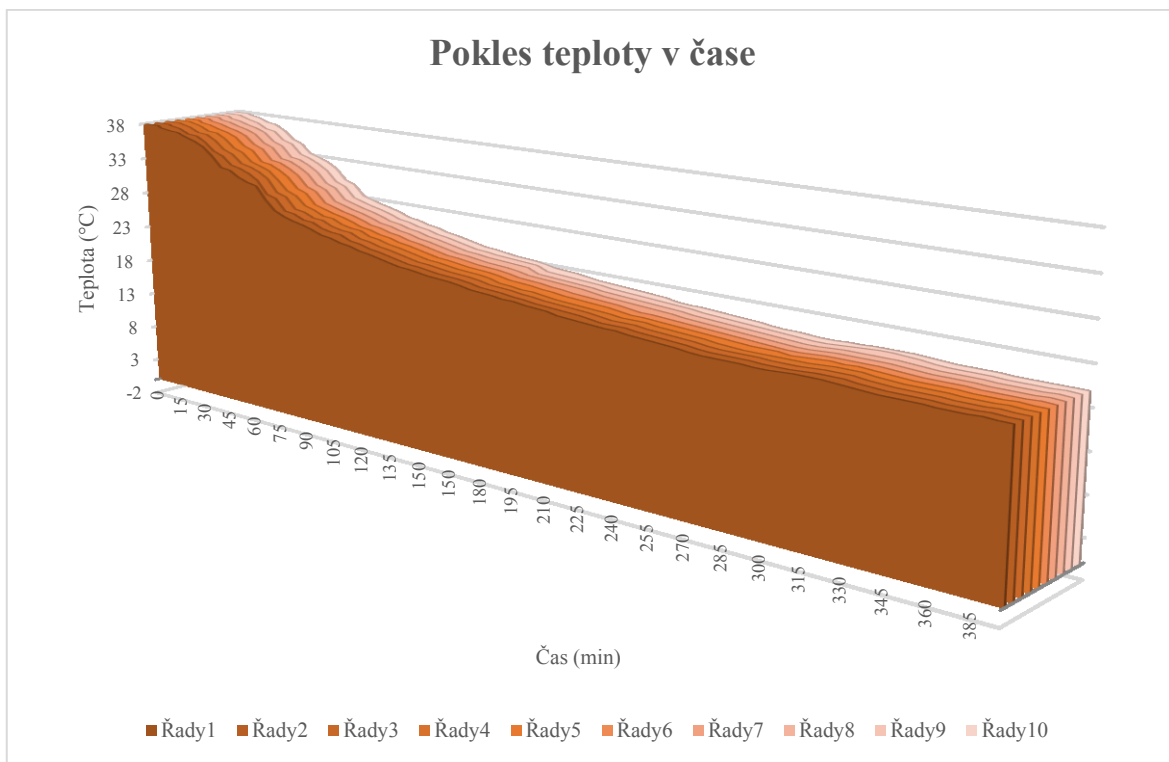
Tab. č. 11 – Závislost teploty na čase – vzorek 9

Vzorek č. 9													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,7	37,5	37,1	36,8	36,3	35,2	34,7	33,3	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,6	21,4	21,4	21,3	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,7	20,6	20,5	20,4	20,3	20,3	20,4	20,5	20,5	20,5	20,5
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1

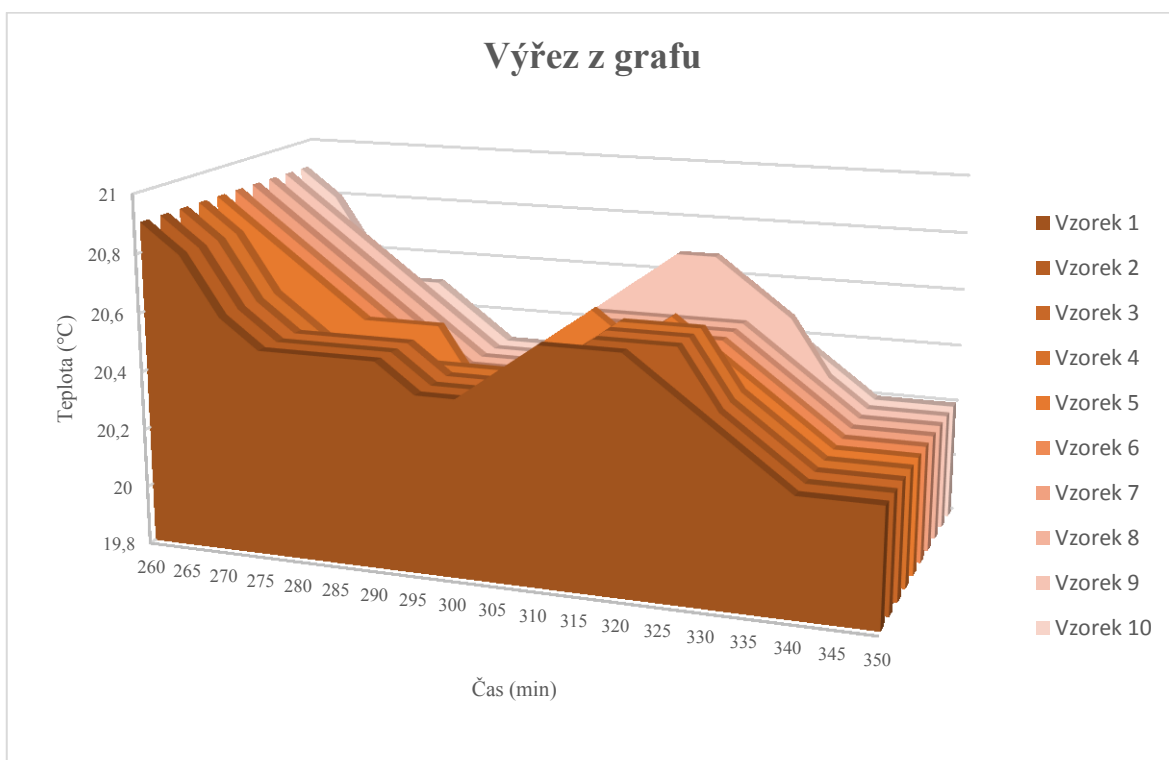
Tab. č. 12 – Závislost teploty na čase – vzorek 10

Vzorek č. 10													
Čas (min)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Teplota (°C)	38,7	38,5	37,7	37,5	37,1	36,8	36,3	35,2	34,7	33,3	33,1	32,5	31,7
Čas (min)	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
Teplota (°C)	30,3	29,8	28,4	28	27,6	27,3	26,9	26,4	26,2	25,8	25,6	25,2	25
Čas (min)	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190
Teplota (°C)	24,7	24,4	24,1	24	23,8	23,6	23,5	23,4	23,2	22,9	22,8	22,7	22,5
Čas (min)	195	200	205	210	215	220	225	230	235	240	245	250	255
Teplota (°C)	22,4	22,2	22,1	22	21,9	21,8	21,6	21,4	21,4	21,3	21,2	21,1	21
Čas (min)	260	265	270	275	280	285	290	295	300	305	310	315	320
Teplota (°C)	20,9	20,8	20,7	20,6	20,5	20,5	20,5	20,3	20,4	20,5	20,6	20,6	20,7
Čas (min)	325	330	335	340	345	350	355	360	365	370	375	380	385
Teplota (°C)	20,5	20,4	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,1	20,2	20,1	20,1

Z naměřených hodnot lze vidět, že teplota těla v čase klesá a po určité době, v čase 290 – 300 minut od doby úmrtí, nastává nárůst teploty. Tento nárůst je způsoben, jak již bylo zmínováno, díky bakteriální translokaci, při které dochází k exotermickým reakcím. Teplota stoupá po dobu 30 minut. Nárůst teploty není velký (v rámci desetín stupňů), je však znatelný. V práci je jen výběr z měření, sloužící pro ukázkou. U všech zkoumaných vzorků byl také nárůst teploty ve stejném čase, jako tomu je u demonstrováných výsledků.



Obr. č. 5 – Graf poklesu teploty v čase

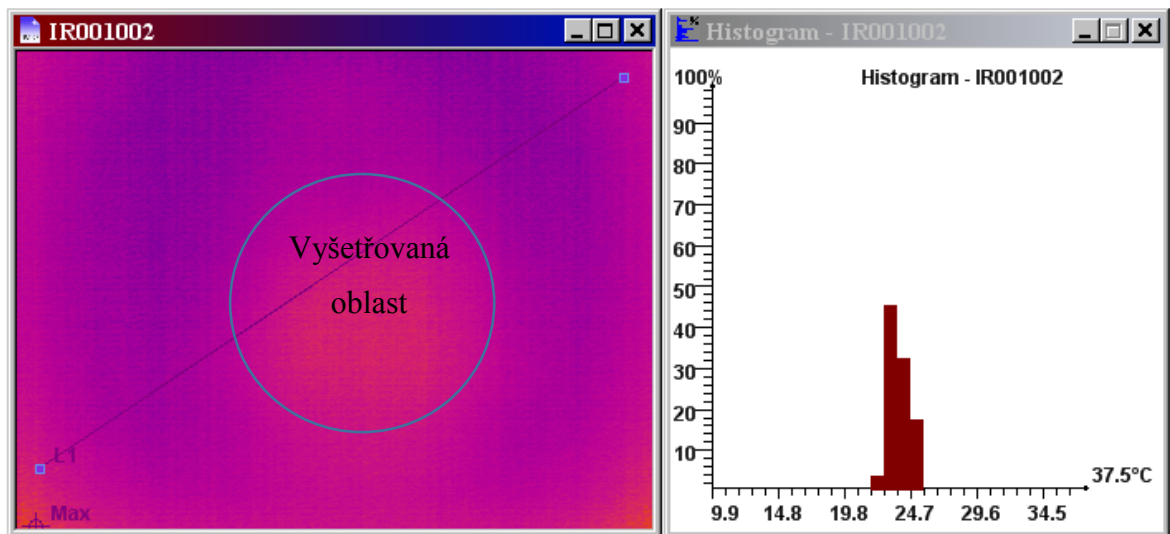


Obr. č. 6 – Výřez z grafu – Graf poklesu teploty v čase

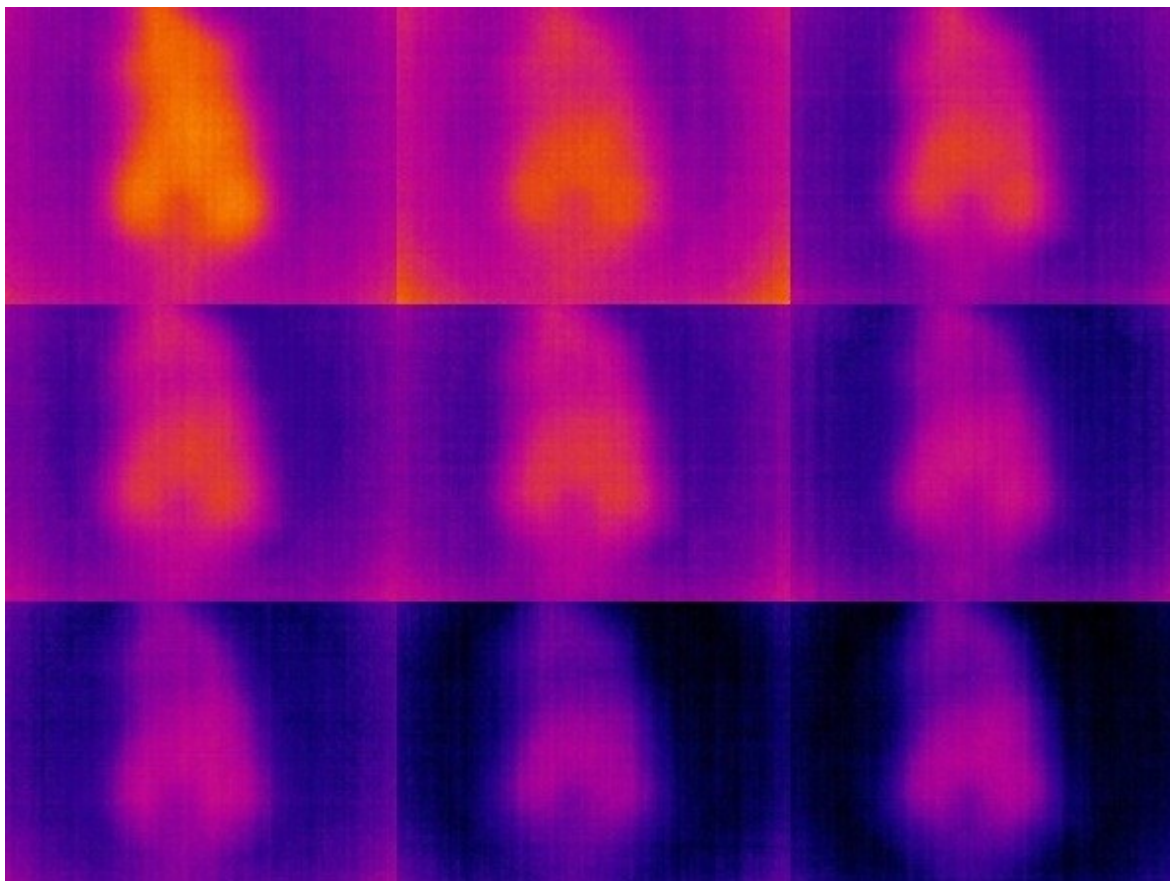
V prvním grafu lze vidět pokles teploty a následně její nárůst od času 295 min od doby úmrtí. Následující graf je výřez grafu předchozího, zde je lépe vidět, jak teplota roste díky

přítomným bakteriím. Grafickým zobrazením lze vidět, že u všech demonstrováných vzorků dochází ke stejné anomálii.

Teplota byla měřena termokamerou v oblasti jater, nikoli teplota těla. Důvodem, proč tomu tak je, že nárůst teploty těla není až tak znatelný. Na obrázku vidíme, že teplota jater stoupá. Aby bylo možné určit, v jakém časovém okamžiku se tělo nachází, je třeba vidět jaterní oblast na termokameře (viz. Obr. č. 8). Z obrázku je zřejmé, že při zamoření zkoumané oblasti bakteriemi, celá oblast svítí, na termokameře je obraz výraznější. Na obrázcích je také viditelné, jak teplota jater moc neovlivňuje své okolí a taktéž není moc ovlivňována okolními teplotami. Výhodou této metody je, že játra jsou větší orgán. I tato metoda je ovlivňována okolím, avšak ne tak výrazně, jako měření teploty rektální sondou. Je-li teplota okolí rozdílná řádově o jednotky stupňů, naměřené hodnoty nebudou moc zkreslené. Doba úmrtí se bude lišit v několika minutách. Je-li teplota okolí rozdílná v řádech desítek stupňů, výsledky budou zkreslené a nedá se tato metoda využít.

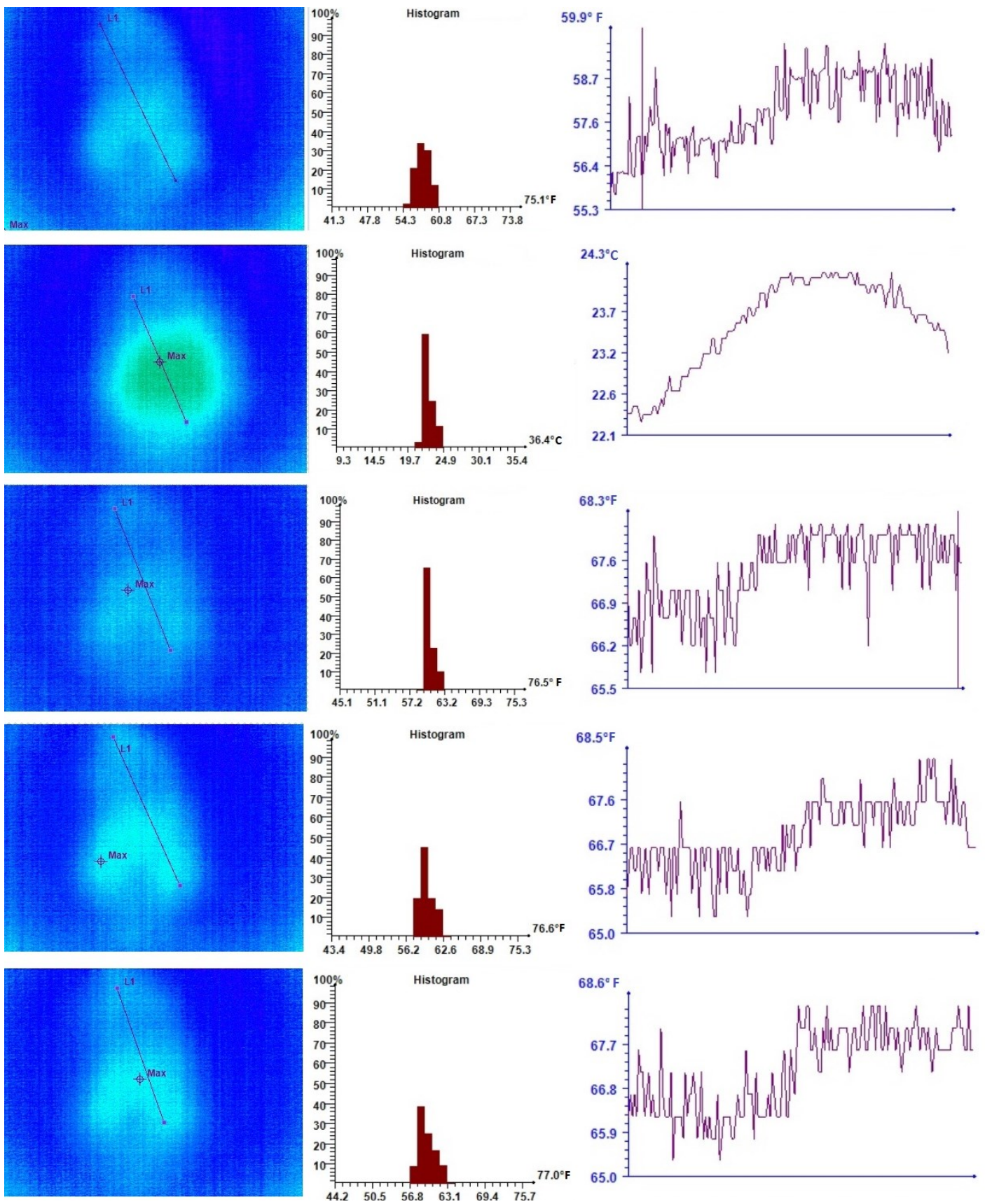


Obr. č. 7 – Teplotní singularita scannovaného vzorku



Obr. č. 8 – Postupné chladnutí biologického materiálu

Obr. č. 8 a 9 ukazují jaterní oblast viditelnou na termokameře. Obr. č. 8 ukazuje, jak teplota těla a především jater klesá. Obr. č. 9 již ukazuje nejen obraz termokamery, ale také histogramy navýšení teploty jednotlivých vzorků při zamoření jaterní oblasti bakteriemi.

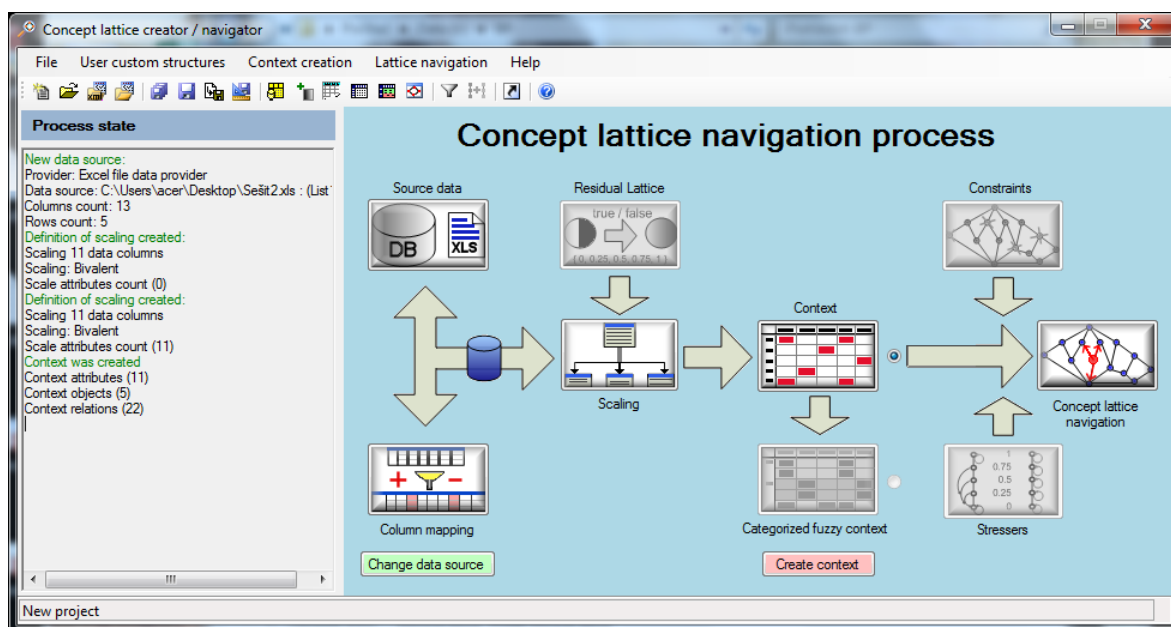


Obr. č. 9 - Grafický výstup teplotní závislosti na bakteriálním zamoření parenchymu jater

6.4 Zpracování výsledků metodou FCA

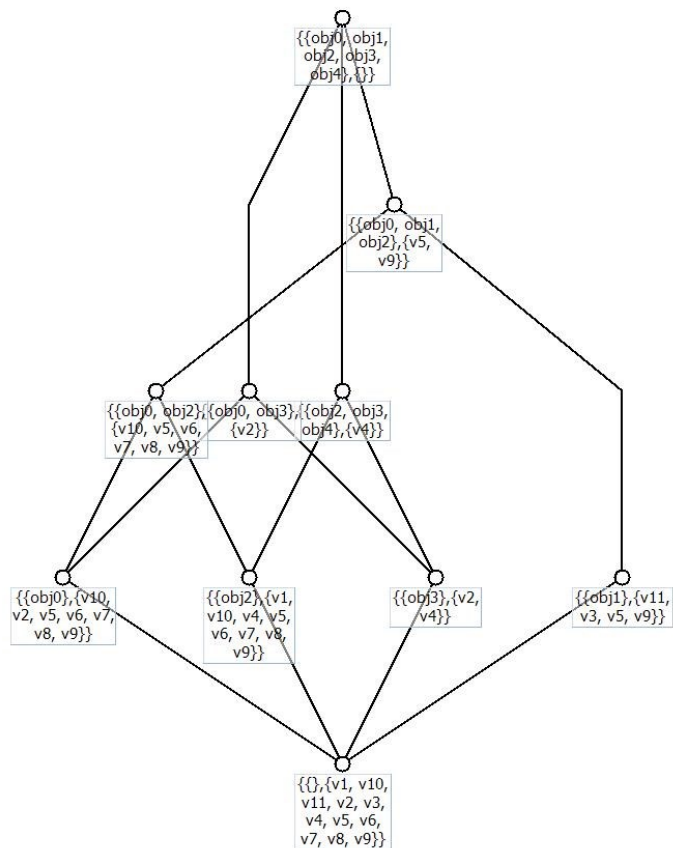
Abychom mohli určit, která bakterie se nejvíce podílela na bakteriální translokaci a sní spojenými exotermickými reakcemi vedoucími k navyšování teploty, byla na výsledky aplikovaná metoda FCA.

V prvním kroku bylo zapotřebí vhodně zvolit objekty a jejich vlastnosti. V tomto konkrétním případě byly jako objekty zvoleny identifikované přítomné bakterie. Jako atributy byly zadávány jednotlivé přítomnosti daných bakterií ve zkoumaných objektech. Hodnoty, kterých tak atributy nabývaly, byly 1 a 0. Nemuselo být aplikováno konceptuální škálování. Program, do kterého byly nahrány data, se jmenoval Concept Lattice creator.



Obr. č. 10 – Prostředí programu Concept Lattice creator

Ve zmíněném programu bylo zapotřebí provést několik kroků, které vedly k výslednému konceptuálnímu svazu. Po dokončení všech jednotlivých operací program vygeneroval zmíněný konceptuální svaz.



Obr. č. 11 – Výsledný konceptuální svaz

Na základě konceptuálního svazu je možné určit, která bakterie se podílí na bakteriální translokaci nejvíce. Dle označení, zvoleného při zadávání objektů a atributů do tabulky vyplývá, že nejvíce se na procesu podílí bakterie *Escherichia coli*.

6.5 Verifikace dat v programu MATLAB

Na základě naměřených dat byly vykresleny grafické závislosti času, teploty a bakteriální translokace dvou ukázkových vzorků v programu MATLAB. Základní výpis zdrojového kódu pro vykreslení je uveden níže.

Načtení dat

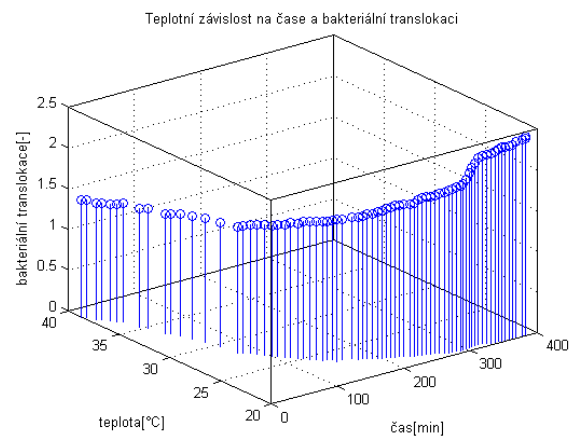
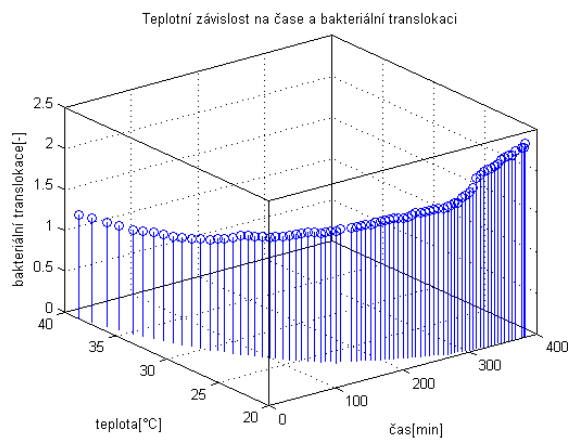
Načtení dat ze souboru:

```
vzorek1 = xlsread('pluska.xlsx', 1, 'I12:K89');
vzorek2 = xlsread('pluska.xlsx', 1, 'M12:O89');
```

Vykreslení dat

Vykreslení načtených dat, popis grafu, popis os:

```
figure(1);  
s = stem3(vzorek1(:,1),vzorek1(:,2),vzorek1(:,3));  
title('Teplotní závislost na čase a bakteriální translokaci');  
xlabel('čas[min]');  
ylabel('teplota[°C]');  
zlabel('bakteriální translokace[-]');  
view(3);  
  
figure(2);  
s = stem3(vzorek2(:,1),vzorek2(:,2),vzorek2(:,3));  
title('Teplotní závislost na čase a bakteriální translokaci');  
xlabel('čas[min]');  
ylabel('teplota[°C]');  
zlabel('bakteriální translokace[-]');  
view(3);
```



ZÁVĚR

Výzkum byl zaměřen na zvyšování teploty jater v procesu algor mortis a na základě vyhodnocených výsledků stanovit, zda je možné zjistit dobu úmrtí pomocí měření teploty jater. Problematika zmíněné výzkumné práce a část výsledků, bylo již prezentováno v mých pracích STOČ z roku 2015 a 2016. v Jak již bylo výše uvedeno, vzorky pro bakteriální rozbor byly odebírány z povrchu i vnitřní tkáně jater. Vzhledem k výskytu bakterií uvnitř jaterní tkáně muselo dojít k zamoření bakteriemi celou zkoumanou tkáň a následně se bakterie translokací dostaly až na povrch vyšetřované oblasti. Při pozitivním bakteriálním nálezu je zřejmé, že k translokaci dochází ihned po úmrtí zkoumaného materiálu. Translokace je dlouhý proces, při kterém se namnoží obrovské množství bakterií. Ve zkoumaných vzorcích byly nejvíce zastoupeny 4 druhy bakterií. V tabulce č. 2 je uveden procentuální výskyt těchto bakterií. Z tabulky lze vyčíst, že nejčastěji se vyskytující bakterie je *E. coli*. Přítomnost této bakterie byla prokázána u 82% zkoumaných vzorků. Po úmrtí u biologického materiálu v jaterní oblasti dojde k nekontrolovatelnému zaplavení bakteriemi vyšetřované oblasti. Po určité době dojde ke skokovému navýšení teploty vyšetřované oblasti (Obr. č. 5 a 6). Příčinou tohoto nárůstu jsou exotermické reakce, které způsobuje právě bakteriální translokace. Ke zvyšování teploty dopomáhají všechny bakterie nacházející se ve vyšetřované oblasti. Je nutné, aby se bakterie v játrech mohly primárně vyskytovat nebo aby tam mohly být krví, lymfou dopraveny. Z problematiky vyplývá, že je nutná přítomnost bakterií v době úmrtí zkoumaného materiálu v játrech primárně nebo aby se bezprostředně po smrti do jater dostaly. Závěrem lze tedy říct, že zkoumaná metoda se dá pro stanovení doby úmrtí použít. Demonstovaná metoda je mnohem přesnější a lze ji snáze aplikovat než metodu stanovení doby úmrtí pomocí rektální sondy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LIMBERG, Tomáš. *Forenzní vědy a jejich využití v kriminalistice*. Brno, 2011. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita. Vedoucí práce Mgr. Pavel Kandalc.
- [2] MUSIL, Jan, Zdeněk KONRÁD a Jaroslav SUCHÁNEK. *Kriminalistika*. 2., přeprac. a dopl. vyd. V Praze: C.H. Beck, 2004. Beckovy mezioborové učebnice. ISBN 80-7179-878-9.
- [3] STRAUS, Jiří. *Kriminalistická metodika*. 2., rozš. vyd. Plzeň: Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, 2008. ISBN 978-80-7380-124-3.
- [4] HIRT, Miroslav a František VOREL. *Soudní lékařství*. Praha: Grada Publishing, 2016. ISBN 978-80-247-5680-6.
- [5] RNDR. SEDLÁČEK, Ivo CSc. *Taxonomie Prokaryot*. 1. vyd. Brno: Typo Art Pres, 2007. ISBN 80-210-4207-9.
- [6] KAUER, Martin. *Formální konceptuální analýza nad neúplnými daty*. Olomouc, 2014. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Doc. RNDr. Michal Krupka, Ph.D.
- [7] IVANKA, Ján. The Pathological Effect of Bacterial Translocation to the Henssge Nomogram. *The Pathological Effect of Bacterial Translocation to the Henssge Nomogram*. 2012. DOI: 10.1016/j.proeng.2012.09.511. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705812045742>
- [8] Ramachandran, A., Balasubramanian, K. (2001). *Intestinal dysfunction in liver cirrhosis. Its role in spontaneous bacterial peritonitis*. J Gastroenterol Hepatol, 16, 607-612.
- [9] BURDÍKOVÁ, Dominika a IVANKA, Ján.: In.: Vliv patologické bakteriální translokace na teplotní singularitu trávicí soustavy laboratorního biologického materiálu v procesu Algor Mortis. Security magazin - Alarm, vyd. Plettac Security, ročník XVII, č.:4/2015, Infodom s.r.o., Slovenská republika, s. 15-16, ISSN 1335 – 504X
- [10] STOČ 2015, Zlín, 23. 4. 2015, Fakulta aplikované informatiky, Univerzita T. Bati ve Zlíně, Zlín, Dominika Burdíková: *Vliv patologické bakteriální translokace na teplotní singularitu trávicí soustavy laboratorního biologického materiálu v procesu ALGOR MORTIS*, S5 sekce, Měřicí a diagnostické systémy
- [11] STOČ 2016, Zlín, 21. 4. 2016, VŠB Ostrava, Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, Dominika Burdíková: *Analýza bakteriální translokace v jaterní tkáni laboratorního biologického materiálu*, S4 sekce, Měřicí a diagnostické systémy, Ostrava, 2016
- [12] Murray, R. K.: *Harperova biochemie (Harper's Biochemistry)*. From English (23rd edition) translated by Lenka Fialová et. al. 4th edition in CR. Prague: H & H, 2002. ix, 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
- [13] Van der Waaij, D., *The ecology of the human intestine and its consequences for overgrowth by pathogens such as Clostridium difficile*. Ann Rev Microbiol 1980; p. 69-87.
- [14] B. Knight, Early work on temperature and time of death, In: C. Henssge, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, *The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period*, London, Edward Arnold, 1995, p. 4

- [15] C. Temperature- based methods II, In: C. Henssge, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period, London, Edward Arnold, 1995, p 46 - 105.
- [16] Nokes, L.: Analysis of algorithms in actual cases, In: C. Henssge, B. Knight, T. Krompecher, B. Medea, L. Nokes, The Estimation of the Time Since Death in the Early Postmortem Period, London, Edward Arnold, 1995, pp. 34-45.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

FCA Formální konceptuální analýza.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1 – Normální p-graf proložení dat	26
Obr. č. 2 – Výsledný p-graf proložení dat s výskytem bakteriální translokace	26
Obr. č. 3 – Biologický materiál s dobou úmrtí	28
Obr. č. 4 – Sterilní odběr vzorků z jaterní tkáně	29
Obr. č. 5 – Graf poklesu teploty v čase	37
Obr. č. 6 – Výřez z grafu – Graf poklesu teploty v čase	37
Obr. č. 7 – Teplotní singularita scannovaného vzorku	38
Obr. č. 8 – Postupné chladnutí biologického materiálu	39
Obr. č. 9 - Grafický výstup teplotní závislosti na bakteriálním zamoření parenchymu jater	40
Obr. č. 10 – Prostředí programu Concept Lattice creator	41
Obr. č. 11 – Výsledný konceptuální svaz	42

SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1 – Škálování atributů	23
Tab. č. 2 – Procentuální zastoupení bakterií ve vzorcích	30
Tab. č. 3 – Závislost teploty na čase – vzorek 1	31
Tab. č. 4 – Závislost teploty na čase – vzorek 2	31
Tab. č. 5 – Závislost teploty na čase – vzorek 3	32
Tab. č. 6 – Závislost teploty na čase – vzorek 4	32
Tab. č. 7 – Závislost teploty na čase – vzorek 5	33
Tab. č. 8 – Závislost teploty na čase – vzorek 6	33
Tab. č. 9 – Závislost teploty na čase – vzorek 7	34
Tab. č.10 – Závislost teploty na čase – vzorek 8	34
Tab. č. 11 – Závislost teploty na čase – vzorek 9	35
Tab. č. 12 – Závislost teploty na čase – vzorek 10	35