

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Markéta Žďárská

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Kriminalistika a zajišťování krevních stop  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Markéta Žďárská**  
Osobní číslo: **C22015**  
Studijní program: **B0512A130006 Analýza biologických materiálů**  
Téma práce: **Kriminalistika a zajišťování krevních stop**  
Téma práce anglicky: **Forensics and Securing Blood Traces**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

Cílem této bakalářské práce je analyzovat metody a postupy používané při zajišťování krevních stop na místě činu, jejich význam pro kriminalistické vyšetřování a možnosti jejich využití při identifikaci pachatele. Práce se zaměří na teoretické aspekty zajišťování krevních stop a praktické postupy při jejich sběru a analýze.

### Hlavní body práce:

- 1. Teoretický úvod do kriminalistiky:** Definice a význam kriminalistiky, historie a vývoj metod zajišťování krevních stop.
- 2. Metody zajišťování krevních stop:** Přehled technik a nástrojů používaných při zajišťování krevních stop, včetně moderních technologií.

Rozsah pracovní zprávy: **2. 25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Aleš Eisner, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Kriminálnístika a zajišťování krevních stop jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 01. 7. 2025

Markéta Žďárská v.r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Eisnerovi Ph.D. za ochotu, přátelský přístup a cenné rady, které mi poskytoval v průběhu psaní této práce. Chtěla bych také poděkovat svým rodičům za pevné nervy a podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Kriminalistika je v dnešní době velmi žádaným oborem. Díky ní je možné vyšetřovat trestné činy, analyzovat stopy a využívat při tom různé metody. Úvodní část práce se věnuje teoretickým základům kriminalistiky a jejímu historickému vývoji. Následuje přehled forenzních disciplín, přičemž je kladen důraz na forezní medicínu a genetiku. Stěžejní část se zaměřuje na luminol, chemickou látku, která slouží k detekci stop krve na místě činu prostřednictvím chemiluminiscence. Jsou popsány vlastnosti luminolu, jeho reakční mechanismus a praktické využití v kriminalistické praxi. Cílem práce je poukázat na důležitost této detekční metody v oblasti kriminalistiky a zdůraznit význam mezioborové spolupráce při vyšetřování kriminálních případů.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Kriminalistika, forenzní vědy, biologické stopy, luminol, chemiluminiscence, krev, vyšetřování, forenzní genetika, forenzní medicína, detekce krve

## **TITLE**

Forensics and securing blood traces

## **ANNOTATION**

Criminalistics is a highly sought-after field today. It enables the investigation of criminal offences, the analysis of traces, and the application of various methods in the process. The introductory part of this thesis focuses on the theoretical foundations of criminalistics and its historical development. This is followed by an overview of forensic disciplines, with particular emphasis on forensic medicine and genetics. The main part of the thesis deals with luminol, a chemical substance used for detecting blood traces at crime scenes through chemiluminescence. The properties of luminol, its reaction mechanism, and its practical application in criminal investigations are described. The aim of the thesis is to highlight the importance of this detection method in criminalistics and to emphasize the significance of interdisciplinary cooperation in the investigation of criminal cases.

## **KEYWORDS**

Criminology, forensic science, biological traces, luminol, chemiluminescence, blood, investigation, forensic genetics, forensic medicine, blood detection

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	10
ÚVOD.....	12
1 Kriminalistika .....	13
1.1 Historie kriminalistiky .....	13
1.2 Vyšetřování na místě činu.....	15
2 Forenzní věda.....	16
2.1 Forenzní medicína.....	18
2.1.1 Historie forenzní medicíny .....	19
2.1.2 Jak vypadá klasický průběh vyšetřování ve spojení s forenzní medicínou .....	20
2.2 Forenzní genetik.....	22
2.2.1 Historie forenzní genetiky .....	22
2.2.2 Nejvýznamnější aplikace forenzní genetiky .....	22
3 Biologický materiál a biologická stopa .....	24
3.1 Jak se stopy vyhledávají?.....	25
3.2 Krev .....	26
3.2.1 Krev jako identifikační nástroj .....	31
3.3 Využití fluorescence k identifikaci krevních stop .....	32
3.3.1 Luminol.....	32
3.3.2 Luminol a jeho luminiscence .....	35
3.3.3 Luminol a hemoglobin.....	37
3.3.4 Zdroje světla jako alternativa při detekci stop .....	41
ZÁVĚR .....	43
POUŽITÁ LITERATURA .....	44

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

<b>Obrázek 1:</b> Klasický průběh vyšetřování a dokazování trestného činu a následné zakončení soudním řízením podle PČR [47]. .....	21
<b>Obrázek 2:</b> Chemický vzorec luminolu [24] .....	33
<b>Obrázek 3:</b> Protonizace a tautomerie luminolu v kyselém, neutrálním a alkalickém roztoku ( $LH_2$ , $LH^-$ a $L^{2-}$ představují diprotickou, monoaniontovou a dianiontovou formu luminolu) [40]. .....	34
<b>Obrázek 4:</b> Reakční schéma chemiluminiscence luminolu [44]. .....	35
<b>Obrázek 5:</b> Jablonského energetický diagram znázorňující energetické hladiny a přechody v molekulové sloučenině [35]. .....	36
<b>Obrázek 6:</b> Fluorescenční barviva [33] .....	37
<b>Obrázek 7:</b> Porovnání emisního spektra chemiluminiscenční reakce luminolu v přítomnosti 150 g/l lidského hemoglobinu (tečkovaná křivka), 15 g/l lidského hemoglobinu (tlustá křivka) a 1,25 g/l chlornanu sodného (slabá křivka). [54]. .....	38
<b>Obrázek 8:</b> Simulace luminolu při práci: Před nastříkáním luminolu nejsou patrné žádné stopy krve. Po nastříkání luminolu vyzařují latentní stopy krve modrou září [60]. .....	40
<b>Tabulka 1:</b> Procenta laboratoří provádějící analýzu získaných stop [9] .....	17
<b>Tabulka 2:</b> Procenta analýz na celkový počet testů tázaných laboratoří [9] .....	17
<b>Tabulka 3:</b> Rozdělení luminiscence [24]. .....	35

## **SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK**

**ALS** – alternativní zdroj světla (alternative light source)

→ Alternativní zdroj světla sloužící k odhalování latentních stop pomocí různých vlnových délek světla.

**CD4<sup>+</sup>** – T-lymfocyt s receptorem CD4 (T-helper cell)

→ T-lymfocyt nesoucí receptor CD4, který pomáhá koordinovat imunitní odpověď aktivací dalších imunitních buněk, například B-lymfocytů a cytotoxických T buněk.

**CD8<sup>+</sup>** – T-lymfocyt s receptorem CD8 (cytotoxic T cell)

→ T-lymfocyt nesoucí receptor CD8, který je schopen přímo ničit infikované nebo nádorové buňky pomocí indukce buněčné smrti.

**DNA** – deoxyribonukleová kyselina

→ Genetický materiál, který slouží k identifikaci osob.

**DMSO** – dimethylsulfoxid

→ Dipolární aprotické rozpouštědlo často používané v chemických a biochemických reakcích.

**ELISA** – enzymově vázaný imunosorbentní test (enzyme-linked immunosorbent assay)

→ Imunochemická metoda pro detekci antigenů, drog, infekčních agens atd.

**FLS** – forenzní světelný zdroj (forensic light source)

→ Zdroje světla využívané pro detekci latentních stop, např. krve nebo spermatu, pomocí fluorescence.

**GC–FID** – plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem

→ Analytická metoda využívaná zejména při analýze alkoholu.

**GSR** – zbytky střelného prachu (gunshot residue)

→ Mikroskopické částice z výstřelu zbraně, sloužící jako důkaz o použití střelné zbraně.

**ICP–MS** – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plasmou

→ Analytická metoda ke stanovení stopových množství prvků ve vzorku.

**MOS** – modus operandi

→ Způsob provedení činu, charakteristické chování pachatele.

**NK** – přirození zabijáci (Natural Killer cells)

→ Buňky vrozené imunity, které rozpoznávají a zabíjejí infikované nebo nádorové buňky nezávisle na předchozí expozici antigenu.

**RBC** – erytrocyty (red blood cells)

→ Červené krvinky, zajišťující transport kyslíku.

**SPE** – extrakce na pevné fázi (solid phase extraction)

→ Příprava vzorku pomocí adsorpce na pevné fázi, využívaná v toxikologii a analýze drog.

**WBC** – leukocyty (white blood cells)

→ Bílé krvinky, které mají obrannou funkci v imunitním systému.

## ÚVOD

Kriminalistika je vědní disciplína, která se od svého vzniku neustále vyvíjí a přizpůsobuje novým výzvám moderní doby. Spolu s rostoucí rozmanitostí a rafinovaností trestné činnosti roste také potřeba využívat stále přesnější a účinnější metody, které by umožnily efektivní odhalení a prokázání viny pachatele. Dnes už neplatí, že klíčovou roli ve vyšetřování hrají pouze výpovědi svědků nebo přiznání podezřelé osoby. Naopak forenzní vědy a moderní technologie poskytují kriminalistice objektivní a důvěryhodný základ pro odhalování pravdy, často i tam, kde lidské svědectví selhává.

Tato bakalářská práce popisuje propojení mezi kriminalistikou, forenzními vědami a biologickými stopami. Důraz klade na praktické využití chemických látek při odhalování latentních stop krve. Význam biologického materiálu v kriminalistice nelze v žádném případě podceňovat. Díky pokroku ve forenzní genetice a analytické chemii se z něj stává zásadní důkazný prostředek, který může nejen potvrdit přítomnost konkrétní osoby na místě činu, ale i rekonstruovat samotný průběh trestného činu.

V první části práci se věnuji teoretickému základu kriminalistiky, a to i jejímu historickému vývoji. Dále se zaměřuji na rozbor pojmů, které jsou klíčové pro pochopení dané problematiky. Mezi tyto pojmy patří vyšetřování, objasňování, evidence stop a další aspekty, které patří k procesu odhalování trestné činnosti.

V navazujících kapitolách rozebírám forenzní vědy a jejich specifika. Zvláštní pozornost věnuji také forenzní medicíně a genetice, které jsou v dnešní době nedílnou součástí práce kriminalistů a soudních lékařů. Následně přecházím k samotnému jádru práce, a to problematice detekce krve pomocí luminolu. Zmiňuji zde jeho využití chemiluminiscence v praxi. Luminol představuje nejen zajímavý chemický fenomén, ale především cenný nástroj pro detekci stop, které jsou pouhým okem neviditelné a často by jinak zůstaly bez povšimnutí.

Cílem této práce je tedy nejen objasnit principy fungování luminolu z chemického hlediska, ale i ukázat, jak zásadní roli hrají tyto metody při řešení kriminálních případů. V širším kontextu pak chci zdůraznit důležitost mezioborové spolupráce, zejména biologie, chemie, genetiky a práva, která je pro současnou kriminalistiku klíčová.

# 1 Kriminalistika

V návaznosti na téma mé bakalářské práce je nutné si nejprve vysvětlit následující pojmy, které s ní úzce souvisí. Kriminalistika je poměrně mladý vědní obor, který se zabývá zákonitostmi vzniku, vyhledávání, zajišťování, zkoumání a zpracování stop získaných z trestné činnosti jedince či skupiny. Je to soubor metod, postupů, prostředků a operací k úspěšnému odhalování, vyšetřování a potrestání trestné činnosti [1]. Popisuje tedy obecné a ověřené principy a další poznatky týkající se procesu práva, zločinu a zacházení s ním [2]. Mezi klíčová slova týkající se kriminalistiky patří především stopa, která značí primární zdroj informací o spáchaném trestném činu. Dalšími pojmy jsou kriminalita, což je souhrn trestných činů, které byly provedeny za daný časový úsek. Odhalování je zjišťování utajované činnosti. Objasňování je zjišťování zásadních skutečností, které definují daný trestný čin, jako jsou motiv, doba činu a také, kdo je podezřelým, případně pachatelem. Cílem tohoto bodu je zodpovězení sedmi základních kriminalistických otázek, jako jsou kdo, co, kde, kdy, jak, čím a proč. Vyšetřování je zase postup, který probíhá v souladu s trestním řádem. V rámci tohoto kroku se zpracují poznatky vycházející z objasňování, provádějí se úkony a získávají se důkazy. A v neposlední řadě je tu prevence, která předchází kriminalitě [1,3].

V úzkém vztahu s kriminalistikou je kriminologie, která je s ní často zaměňována. Je to vědní disciplína, která se zaměřuje na studium trestné činnosti, jejich pachatelů, obětí a na způsoby jejího řízení a potírání.

Kriminologie se soustředí na následující oblasti:

- analýzu stavu, struktury a vývoje trestné činnosti (kriminální fenomenologie),
- zkoumání příčin a faktorů, které vedou k páchaní trestných činů (kriminální etiologie),
- studium charakteristik a psychologických rysů pachatelů (klinická kriminologie),
- výzkum obětí trestné činnosti (viktimologie),
- metody a strategie kontroly trestné činnosti, včetně prevence a represivních opatření [1].

## 1.1 Historie kriminalistiky

Jak již bylo na počátku kapitoly zmíněno, kriminalistika jako vědní disciplína se začala formovat na přelomu 19. století. V průběhu vývoje lidské společnosti se zaváděla

různá pravidla a normy, které následně daly vzniku právního systému, který určoval, jaké chování je přijatelné. Zároveň byla stanovena pravidla, jak se bude zacházet s dotyčnými, kteří porušují zákony a páchají trestné činy [1].

V antice a středověku se důkazy získávaly výhradně z výpovědí svědků či obviněných. Jako hlavní důkaz bylo bráno přiznání, které se mnohdy získávalo metodami, které jsou již dnes považovány za kruté a primitivní [4].

V 18. a 19. století došlo v Evropě k významným změnám, které jsou zodpovědné za reformy trestního práva na celém kontinentu. Největší změna se týkala oblasti dokazování, přičemž klíčovým krokem bylo zavedení zákazu mučení a jiných forem nátlaku na obviněné. Tento humanitní posun naneštěstí přinesl nečekaný nárůst trestné činnosti, což vedlo k vytvoření nových orgánů, které by byly schopné čelit kriminalitě. Jedním z prvních takovýchto orgánů byl vznik Sureté v Paříži (1810) nebo Scotland Yardu v Londýně (1829) [4]. Tyto instituce se zasloužily o vylepšení metod vyšetřování, včetně evidování pachatelů, zavedení nových komunikačních kanálů a především rozvoj nových způsobů dokazování. Toto období je také charakteristické vědeckým pokrokem v oblasti společenských, přírodních, ale i technických věd, které začaly být integrovány do praxe justice a policejních složek. Poznatky z jednotlivých disciplín byly využity ve formování znaleckých posudků, které jsou využívány u soudu [1,4].

Mezi nejvýznamnější osoby kriminalistiky patří:

- Hans Gross (1847-1915) byl rakouský profesor, který je považován za zakladatele kriminalistiky. Pracoval jako vyšetřující soudce a později založil první katedru kriminalistiky na univerzitě v Grazu.
- Alphons Bertillon (1853-1914) byl pařížský úředník a šéf identifikačního oddělení policie, známý díky vytvoření antropometrické metody, která se zakládala na měření tělesných rozměrů osob.
- Francis Galton (1858-1911) byl britský vědec, který je považován za zakladatele daktyloskopie. Jeho následovník Edward J. Henry, důstojník Scotland Yardu, vytvořil klasifikační systém pro otisky prstů, který se stal celosvětovým standardem.

- Robert Heindl (1883-1958) byl německý policejní úředník, který se zaměřil na studium recidivistů a na základě toho vytvořil systém registrace pachatelů, který se opíral o analýzu způsobu páčání trestné činnosti (modus operandi = MOS) [4].

Význam pojmu kriminalistika se po druhé světové válce vyvíjela ve dvou směrech. Zejména ve Velké Británii a USA se kriminalistika označuje pojmem forensic science a je založena na spojení přírodovědného a technického zkoumání. Zatímco evropské země, jako například Francie, Německo, Itálie, Španělsko, Polsko a Česká republika, dále pak velká část latinskoamerických zemí nebo Japonsko používají pojem kriminalistika běžně. Tato interpretace zahrnuje nejen oblast technického zkoumání, ale i různé kriminalistické metodiky. V českých zemích se poté kriminalistika vyvíjela od počátku 20. století, kdy byla na evropské úrovni. Nicméně od 50. let byla v socialistických zemích ovlivněna její vysoká úroveň ideologickými názory. V dnešní době mezi hlavní instituce v České republice, které přispívají k rozvoji kriminalistiky, patří, Policejní akademie ČR, právnické fakulty, Kriminalistický ústav Praha a další výzkumné a vysoké školy. Kriminalistika v České republice stále čelí výzvám, protože kriminalita zůstává problémem a efektivitu policejní a justiční práce je nutné neustále zlepšovat [1,4].

## **1.2 Vyšetřování na místě činu**

Součástí vyšetřování na místě činu je fyzická práce, dokumentace dané lokality, identifikace a sběr důkazů pro následnou analýzu. Patří sem taktéž odhalení latentních otisků, otisků bot a pneumatik, střelných zbraní, krevních stop, biologických vzorků a dalších relevantních stop. Tento typ vyšetřování může zahrnovat více míst, osob a různých druhů důkazů. Odpovědnost pracovníků spočívá v hodnocení situace a použití potřebného vybavení k důkladnému zpracování místa činu [5].

Kriminalisté B. A. Fisher a D. R. Fisherova uvedli, že důležitým krokem ve vyšetřování je rekonstruovat události na místě činu, které se reálně odehrály. Je důležité zjistit způsob či metody, jakými byl trestný čin spáchán. Poté se pokusit odhalit motiv pachatele, zjistit, co všechno mohl pachatel vykonat, a také nalézt a zachovat konkrétní důkazy. Zpracování důkazů by mělo začít nejméně invazivními technikami a postupně přecházet k těm invazivnějším [5].

## 2 Forenzní věda

Slovo forenzní pochází z latinského „forensis“, které pochází z výrazu „forum“, což znamená náměstí. V antickém Římě se na těchto náměstích konala veřejná soudní řízení. Dnes termín forenzní používáme v kontextu, který souvisí se soudem nebo dokazováním [6]. Každá věda, která je využívána v právní praxi, je považována za forenzní vědu. Tyto vědy se zaměřují na aplikaci vědeckých metod a poznatků na právní problémy a jsou klíčovými nástroji v každém soudním řízení. Mezi forenzní vědy patří například forenzní chemie, forenzní biologie, forenzní antropologie, forenzní medicína, forenzní materiálové vědy, forenzní inženýrství, počítačová forenzika a další oblasti, které jsou široce využívány při řešení občanskoprávních sporů, prosazování trestního práva, vládních nařízeních a ochraně veřejného zdraví [7]. Forenzní vědy se vyvíjely různými způsoby. Některé disciplíny, a to zejména ty, které jsou založené na fyzikálních principech, se rozvíjely rychleji, protože jejich výzkum nebyl výrazně omezen právními nebo etickými překážkami. Díky rozvoji nových technologií tak bylo možné získávat další nové poznatky, které měly přímé uplatnění v praxi. Na druhé straně lékařské vědy čelily složitějším podmínkám, zejména kvůli dlouhodobému zákazu pitev lidských těl. V důsledku toho neexistovaly záznamy ani poznatky o vnitřní anatomii, což vývoj těchto disciplín výrazně brzdilo. Změna nastala až v roce 1832, kdy ve Velké Británii vstoupil v platnost zákon o anatomii. Ten umožnil legální provedení pitev, nicméně přinesl nový problém, čímž byl nedostatek těl určených pro výzkum. To vedlo ke vzniku anatomických škol a zároveň ke zvýšené poptávce po mrtvých tělech, přičemž legální cesty jejich získávání byly stále omezené [8].

Když bychom shrnuli zmíněné informace, tak by se dalo říci, že forenzní věda je aplikace vědeckých poznatků v rámci práva. Testuje fyzikální a biologické důkazy. Objektivně posuzuje, co se stalo a určuje čas a místo daného činu. Zjišťuje, kdo se na něm podílel. V tomto spojení hrají klíčovou roli vědecké metody forenzních věd, protože mohou přinést informace, které jsou přesnější a mnohdy i spolehlivější než výpovědi očitých svědků, nebo dokonce i přiznání [9].

Je také důležité zmínit, že existuje několik typů trestných činů, které jsou prověřovány forenzními vědami. Díky nim se získají usvědčující důkazy proti pachateli. Mezi ty nejvýznamnější patří vražda, znásilnění, loupež nebo napadení. V rámci těchto činů se využívají různé techniky laboratorního vyšetřování, jako jsou analýza otisku prstů, stopová analýza nebo DNA analýza. Jako příklad můžeme využít pohled organizace

RAND Forensic Survey. Ta přednesla studii, která řeší procentuální zastoupení laboratoří provádějící testy získaných stop z různých trestných událostí [9].

**Tabulka 1:** Procenta laboratoří provádějící analýzu získaných stop [9]

Zločin	Analýza otisků prstů	Analýza stop	DNA analýza	Balistika
Vražda	89 %	73 %	78 %	86 %
Napadení	78 %	53 %	49 %	79 %
Znásilnění	86 %	64 %	63 %	78 %
Ujetí z místa nehody	83 %	53 %	50 %	56 %
Vloupání	71 %	44 %	40 %	73 %
Krádež auta	76 %	47 %	46 %	68 %

RAND Forensic Survey také poukazuje na to, jak se rozdělují důkazy přijaté laboratořemi. Hodnoty v tabulce č. 2 nám ukazují procentuální podíly jednotlivých analýz na celkovém počtu všech testů, které provedly tázané laboratoře [9].

**Tabulka 2:** Procenta analýz na celkový počet testů tázaných laboratoří [9]

Typ důkazu	Procenta z provedených testů
Drogy	53,57 %
Otisky prstů	15,70 %
Alkohol v krvi	10,74 %
Toxikologie	6,88 %
Zbraně, nástroje, stopy atd.	4,51 %
Forenzní biologie	3,19 %
DNA	2,19 %
Analýza stop	1,59 %
Zkoumané dokumenty (padělání)	1,09 %
Stopy po požáru	0,47 %
Důkazy kybernetické kriminality	0,07 %
Zbytky výbušnin	0,03 %

Kriminální neboli forenzní laboratoře využívají technologií, a to zejména analytických přístrojů. Pro analýzu drog nebo stopovou analýzu se využívá Ramanova spektrometru. ICP-MS je metoda, která se používá pro zkoumání skla nebo GSR vzorků. V případě

toxikologie se využívá třeba extrakce pevnou fází (SPE), která v kriminalistické oblasti slouží především k analýze drog, jedů a jiných chemických látek získaných z různých typů vzorků, jako jsou krev, moč, vlasy nebo půda. V případě alkoholu tato metoda slouží spíše k přípravě vzorku, pokud je potřeba odstranit nečistoty. Hlavní metody analýzy alkoholu jsou pak například GC FID (plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem) nebo využití enzymatických metod. Dalším příkladem mohou být ELISA testy. Tato metoda se používá pro rychlou detekci specifických látek, jakou jsou opět drogy a jejich metabolity, dále pak biologické stopy, infekční agens v biologických vzorcích, což je hojně využíváno v moderní kriminalistice. Funguje na principu imunologické interakce antigenu (látka, kterou chceme určit) a protilátky (specifický protein, který s tímto antigenem reaguje). Biologické stopy, jako je krev, sperma nebo moč se dále mohou dokazovat díky fluorescenčním technikám [9].

## 2.1 Forezní medicína

Forezní medicína, jako termín si můžeme vysvětlit tak, že se jedná o 2 specializace, a to „soudní lékařství“ a „forezní toxikologie“. Je to tedy soubor lékařských věd, který se zabývá aplikací lékařských znalostí při uplatňování práva a vyšetřování trestné činnosti. V případě klinické toxikologie lékaři diagnostikují a léčí případy otravy s cílem zachránit pacientův život, zatímco ve forezní toxikologii se lékaři zabývají právními aspekty otravy. Zde můžeme zahrnout například uchovávání vzorků, jako jsou zvratky nebo žaludeční obsah získaný po žaludečním výplachu. Tyto vzorky jsou následně odesílány do forezní vědecké laboratoře k chemické analýze. Dále se připravují zprávy o úmrtí, podávají se odborné názory, vydávají se úmrtní listy a následně se těla zasílají na pitvu. Vnitřnosti jsou odesílány do laboratoře na analýzu a po jejím vyhodnocení poskytuje forezní toxikolog další odborný názor. Naopak klinická forezní medicína se zaměřuje na vyšetřování živých jedinců pro právní účely, například sestavování zpráv o zraněních, posuzování sexuálního napadení, odhadu věku, posuzování schopnosti vykonání pohlavního styku (potence), stanovení opilosti a dalších. Odborník v této oblasti je označován jako forezní lékař. V souvislosti s kriminalistikou je asi nejdůležitějším oborem forezní patologie. Tato oblast zahrnuje legální pitvu, což je pohřební vyšetření v případě náhlých, neočekávaných nebo násilných úmrtí. Cílem je zjistit příčinu smrti. Odborník je označován jako forezní patolog. Mezi další obory, které jsou spojené s forezní medicínou, patří forezní psychiatrie, forezní balistika, forezní radiologie, forezní tafonomie, forezní entomologie, forezní antropologie, forezní stomatologie a osteologie [8,10].

### 2.1.1 Historie forenzní medicíny

Nejdůležitější jména, která rezonují v souvislosti s forenzní medicínou, jsou:

1. Imhotep (2980–2900 př.n.l.) je považován za prvního právně medicinského experta, byl také hlavním soudcem a lékařem faraona Zostera, krále Egypta.
2. Hippokrates (460–377 př.n.l.) byl otcem západní medicíny. Jako první sepsal kodex lékařské etiky.
3. Manu (10 př.n.l.) napsal Manusmriti, tzv. zákon Manu. Je to nejstarší známý soubor medicínsko právního charakteru pocházející z Indie. Manu byl také prvním zákonodárcem této země, který stanovil zákony pro různé delikty.
4. Orfila (1787–1853) je považován za zakladatele moderní toxikologie. Zavedl přesné chemické metody tohoto oboru [8,10].
5. Kautilya (4. století př.n.l.), známý také jako Chanakya, byl indický filosof, který napsal Arthashastru, v níž se zmínil o regulaci lékařské praxe, legálních pitvách a toxikologii.

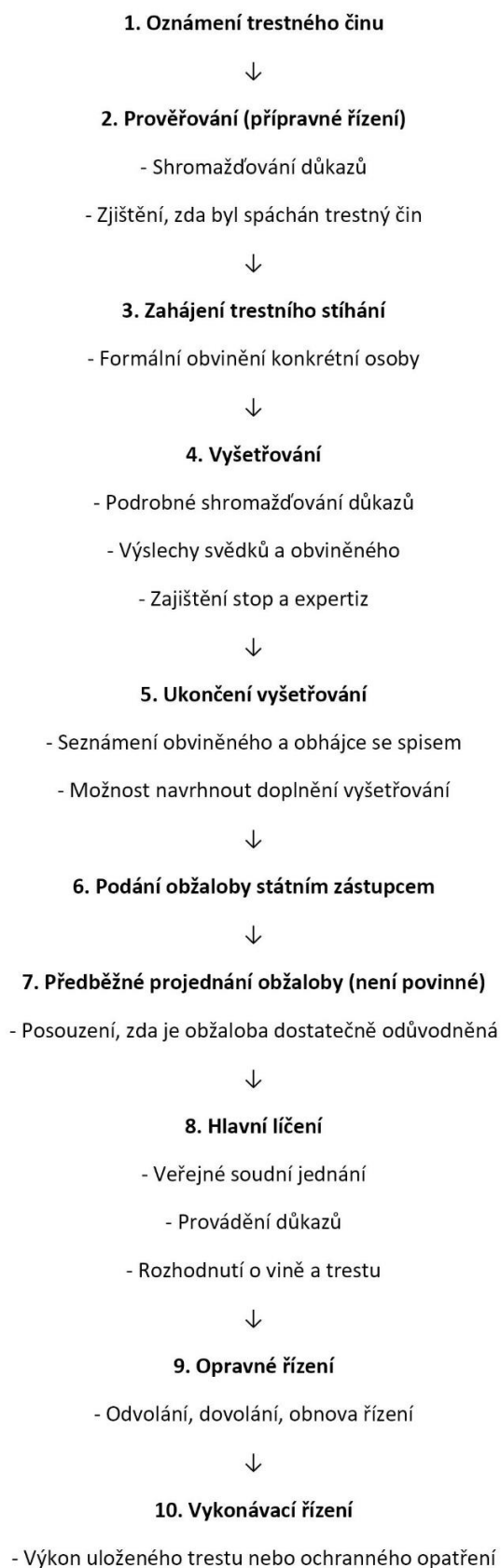
Dále mezi nejvýznamnější patology patří:

- Ludwig Casper (1796-1864) – byl německý lékař, působil na berlínské univerzitě a v roce 1858 formuloval tzv. „Casperovo pravidlo“, které stanovuje poměr rychlosti rozkladu těla ve vzduchu, ve vodě a v zemi.
- Bernard Spilsbury (1877-1947) – byl britský patolog, který se proslavil jako soudní znalec v řadě známých případů jako třeba v procesu s Hawley Crippenem a tzv. „nevěstami ve vaně“. Je považován za zakladatele moderní patologie ve Velké Británii.
- Sydney Smith (1883-1969) – novozélandský lékař, který se stal profesorem forenzní medicíny na Univerzitě v Edinburghu. Významně přispěl k rozvoji balistické expertizy a forenzní toxikologie. Je autorem učebnice Textbook of Forensic Medicine a autobiografie Mostly Murder.
- Keith Simpson (1907-1985) – britský forenzní patolog, který působil na Guy's Hospital v Londýně a byl prvním oficiálně uznaným soudním patologem v Londýně. Byl také průkopníkem forenzní stomatologie.

- Cyril Wecht (1931-2024) – je známý svou kritikou závěrů komise týkajících se atentátu na Johna F. Kennedyho.
- Henry Lee (1938-doposud) – napsal 30 knih týkajících se DNA, otisků prstů, vyšetřování místa činu a stopových důkazů. V roce 1998 také založil instituci zvanou „Institute of Forensic Science“, která se nachází v kampusu newhavenské univerzity v Connecticutu v USA.
- Burkhard Madea (1957-doposud) – odhadl čas smrti, prováděl postmortální biochemii a toxikologii. Publikoval mnoho knih a vědeckých prací [8,10].

### **2.1.2 Jak vypadá klasický průběh vyšetřování ve spojení s forenzní medicínou**

K lepšímu pochopení fungování procesů ve spojení s forenzní medicínou je dobré si provedené úkony vysvětlit na ukázkovém příkladu postupů kriminalistů a forezních lékařů při spáchání trestného činu. Osoba spáchá nějaký trestný čin, například způsobí zranění jiné osobě. Místo, kde byl tento čin vykonán, se nazývá místo činu. A v tento moment nastávají dvě možnosti. Zprvu, pokud raněná osoba zemře, je policií její tělo odesláno do márnice, kde lékař provede pitvu. Po důkladném vyšetření se shromáždí fyzické důkazy, které souvisejí s trestným činem a jsou předány forenzní laboratoři. I když lékař může poskytnout ve své pitevní zprávě předběžný názor, konečný závěr bude uveden až po obdržení výsledků z forenzní laboratoře. Za druhé, pokud zraněná osoba přežije, je transportována do nemocnice, kde ji lékař vyšetří a případně poskytne potřebnou léčbu. Po dokončení vyšetření připraví zprávu o stavu pacienta v návaznosti na právní stránku věci. Dále jsou shromážděny důkazy související s trestným činem a ty jsou pak předány jak forenzní, tak klinické laboratoři. Zprávy z těchto laboratoří jsou poté předloženy policii a následně soudu. V probíhajícím soudním řízení poté policie přivede zatčeného a dochází k tzv. právnímu boji mezi obžalobou a obhajobou. Lékař je často předvolán k soudu jako odborný svědek. Na základě všech získaných důkazů a odborných stanovisek lékaře soud rozhoduje o trestu pro obžalovaného [8,15]. V následujícím schématu je jasně vidět tento postup při vyšetřování trestného činu v návaznosti na Českou Republiku.



**Obrázek 1:** Klasický průběh vyšetřování a dokazování trestného činu a následné zakončení soudním řízením podle PČR [47].

## 2.2 Forenzní genetika

Forenzní genetika, též označována jako forenzní DNA analýza, je oblast, která využívá znalosti z oborů molekulární biologie, populační genetiky, statistiky a bioinformatiky. Stala se důležitou součástí forenzních vědeckých disciplín [6,11]. Díky ní došlo k rozvoji a zavedení DNA analýz v kriminalistice. Tyto pokroky udělaly z forenzní genetiky nejlépe pochopenou oblast mezi forenzními vědci. Forenzní analýza lidských vzorků je nejběžnějším způsobem, jak se výsledky molekulárního typování využívají při soudních řízeních po celém světě. Tyto analýzy obvykle řeší otázky spojené s krví nebo jinými tělesnými tkáněmi a určování příbuznosti v různých typech právních sporů. Protože genotypy většiny eukaryotických organismů, včetně lidí, mají stabilní strukturu, není překvapující, že molekulární forenzika se zaměřuje především na stanovení pravděpodobnosti, že dva vzorky skutečně pocházejí od stejné osoby [11].

### 2.2.1 Historie forenzní genetiky

Vývoj metod forenzní genetiky a přímého testování DNA za účelem forenzní identifikace začal v roce 1984. DNA analýzu poprvé využil prof. Alec Jeffreys, který dokázal vinu pachatele v anglickém Leicestershire, kde byly znásilněny a zavražděny dvě dívky. Tyto genotypizační metody tímto vstoupily na scénu forenzních technik [12,13]. Díky své silné rozlišovací schopnosti, srovnatelné s daktyloskopií, dostaly přirovnání „DNA otisky prstů“. Nicméně toto pojmenování bylo dosti zavádějící, proto se přešlo k přesnějšímu názvu a to „profilování DNA“. DNA má totiž oproti jiným markantům několik dalších výhod:

- je přítomna v každé lidské buňce
- v průběhu života se nemění
- umožňuje určit příbuznost
- dá se zjistit i z mikrostop a stop latentních
- její falšování vyžaduje expertní znalosti a vybavení
- existují sdílené databáze DNA profilů zločinců [14].

### 2.2.2 Nejvýznamnější aplikace forenzní genetiky

Forenzní genetika má několik klíčových aplikací, mezi které patří: především využití v kriminalistice, identifikace osob a určení biologické příbuznosti mezi jedinci. Tyto oblasti se samozřejmě často prolínají.

Co se týká kriminalistické genetiky, tak zde se zaměřujeme na analýzu genetických informací získaných z biologických stop, jako jsou vzorky DNA, a na porovnávání těchto vzorků s údaji o osobách. Tento typ zkoumání se používá především při vyšetřování trestných činů nebo jiných událostí, které mají kriminalistický význam. Hlavním cílem je obvykle zjistit, kdo je původcem konkrétní biologické stopy.

Dalším druhem využívané metody je identifikační genetika, která se věnuje určování totožnosti osob, a to jak živých, například v imigračních procesech, tak i mrtvých, například při identifikaci obětí nehod, katastrof nebo třeba válečných konfliktů. V tomto případě se často pracuje s neznámými těly.

V neposlední řadě se genetika využívá v posuzování biologické příbuznosti a zaměřuje se na určení genetických vztahů mezi jedinci. Nejvýznamnější aplikací je paternitní testování, tedy určení otcovství. Forezní genetika se také používá k posuzování dalších příbuzenských vztahů, a to v rámci dědických řízení nebo genealogických výzkumů [6].

### **3 Biologický materiál a biologická stopa**

Biologický materiál označuje veškeré látky, které jsou součástí nebo produktem živého organismu. Takovýto materiál může mít nespočet podob a může pocházet z různých částí organismů nebo jejich činností. Není omezen pouze na tělesné vzorky, jako je krev nebo vlasy. Může to být například i sušená bylinná směs nebo třeba prázdná kukla motýla, která je produktem životního cyklu hmyzu. Stejně tak se může jednat o ohryzek jablka, který nesl genetické stopy jedince, který ho konzumoval. Mezi další a zároveň i nejvýznamnější příklady patří moč nebo krev, která může ulpět třeba na náplastí. Může to být i zkumavka obsahující virus Eboly, což je materiál infekčního původu. Tato rozmanitost ukazuje, jak široce může pojem „biologický materiál“ zahrnovat různé objekty a vzorky, které mohou být použity pro vědecké analýzy [6,15,16].

Biologické materiály, které jsou zajištěny na místě činu a jsou podrobeny forenznímu zkoumání, jsou obecně označovány jako biologické stopy. Mezi tyto stopy patří hlavně krev, vlasy, sliny, spermie, kůže, moč a dokonce i různé buněčné zbytky. Jsou nejvýznamnějšími prostředky, jak bychom se mohli dostat k informacím o identitě pachatele anebo se dozvěděli o způsobu, jakým byl trestný čin spáchán. Biologické důkazy tedy umožňují propojení jednotlivce s místem činu či obětí [15,17].

V kontextu forenzní vědy se soustředíme na aspekty, které nám pomáhají při vyšetřování. Mezi ně patří zejména tkáňový původ, druhový původ a identifikace konkrétního původce biologického materiálu.

#### **a) Tkáňový původ**

Jedním z prvních kroků při analýze biologických stop je určení, z jaké tkáně materiál pochází. Mohou to být například tkáně epitelové, svalové, nervové nebo specifické tekutiny. Každá tkáň má jedinečnou strukturu a složení, což forenzním odborníkům umožňuje určit, z jaké části těla je. Analýza tkáňového původu může výrazně ovlivnit interpretaci důkazů při vyšetřování.

#### **b) Druhový původ**

Dalším důležitým krokem je určení, z jakého druhu organismu biologický materiál pochází. U materiálů nalezených na místě činu se určuje, zda stopa pramení od člověka, zvířete nebo jiného organismu. Tento faktor pomáhá vyloučit nežádoucí organismy,

a tím pádem se soustředit na relevantní druhy související s vyšetřováním. Pro stanovení druhového původu se často využívají metody molekulární biologie.

### **c) Identifikace původce**

Konečným cílem většiny forenzních analýz je identifikace konkrétního původce daného biologického materiálu. Nejčastěji se využívá analýza DNA, která je unikátní pro každého jedince (s výjimkou jednovaječných dvojčat). Srovnání DNA z nalezené stopy s databázemi nebo s DNA podezřelých osob lze jednoznačně určit, kdo byl původcem. V případě zvířecího materiálu se může provádět analýza specifických proteinů nebo genetických markerů daného druhu [6,16,18].

## **3.1 Jak se stopy vyhledávají?**

Aby mohla stopa posloužit jako důkaz, je třeba ji nejprve najít. Vyhledávání stop se obvykle dělí do několika kategorií, které se liší svou viditelností a metodami potřebnými pro jejich odhalení.

### **a) Markantní stopy, viditelné okem**

První z kategorií zahrnuje stopy, které jsou výrazné, a tudíž je není možné přehlédnout. Patří sem například tratoliště krve, které jsou na místech, kde došlo k násilí nebo jinému zranění. Kromě krve lze mluvit i o skvrnách spermatu, které můžeme nalézt na oděvu nebo ložním prádle. Mimo jiné se sem dají zahrnout i zvířecí výkaly. Tyto stopy jsou snadno zjištěitelné i laikem a jejich odběr nečiní žádné komplikace. V praxi je taková stopa okamžitě zřejmá a lze ji rychle zajistit pro další analýzu.

### **b) Stopy viditelné okem při podrobném ohledání**

Do této kategorie patří menší biologické stopy, které i přesto, že jsou okem viditelné, vyžadují důkladné prozkoumání místa činu. Může se jednat o krevní kapky, které mohou být rozptýlené po okolí nebo o otěry na površích, kde došlo ke kontaktu. Spadají sem rovněž zaschlé nosní sekrety, vlasy, anebo stopy slin například na skleničkách či jiných nádobách.

### **c) Stopy okem neviditelné, detekované zvláštními testy**

Třetí kategorie zahrnuje stopy, které jsou příliš malé nebo skryté natolik, aby je lidské oko zaregistrovalo. Tyto stopy se dají odhalit pomocí speciálních pomůcek a technik. Jedním z příkladů jsou monochromatické forenzní světelné zdroje, často označované jako „forenzní baterky“. Využívají specifické vlnové délky světla ke zviditelnění určitého biologického

materiálu, jako je krev, spermie nebo jiné organické stopy. Další běžně používané techniky zahrnují chemické reakce s látkami, které mohou způsobit světélkování při kontaktu s materiálem. Příkladem takových látek je aplikace Luminolu nebo Fastblue, které pomáhají detekovat i velmi zředěné stopy.

#### **d) Stopy zcela latentní**

Latentní stopy jsou ty, které nejsou viditelné ani při uplatnění běžných forenzních technik. Často se jedná o otisky prstů, které mohou být přítomné na hladkých površích, ale nejsou viditelné bez použití speciálních prášků, plynů nebo chemických látek. Detekce latentních stop vyžaduje pokročilé technologické vybavení a odborné znalosti [19,20].

### **3.2 Krev**

Životně důležitou tekutinou je krev, která cirkuluje v krevním oběhu a plní řadu důležitých funkcí v lidském organismu. Je to komplexní směs, která se skládá z tekuté části, známé jako plazma a pevných složek, mezi něž patří červené krvinky (erytrocyty), bílé krvinky (leukocyty) a krevní destičky (trombocyty). Tyto složky spolupracují, aby udržely homeostázu těla, poskytovaly ochranu proti infekcím a podílely se na srážení krve, což zabraňuje nadměrnému krvácení při poranění. V těle plní krev několik funkcí. Jednou z nich je funkce transportní, která zahrnuje přenos kyslíku, živin a hormonů do buněk a odpadních látek, jako je oxid uhličitý, z buněk do vylučovacích orgánů. Dále udržuje regulaci tělesné teploty a taky konstantní pH [21]. Dospělý člověk má v těle přibližně pět litrů krve, která tvoří 7–8 % tělesné hmotnosti. Přibližně 2,75 až 3 litry krve tvoří plazma a zbytek je buněčná část [62].

#### **Složky krve:**

Buněčná část krve obsahuje červené krvinky (erytrocyty, RBC), bílé krvinky (leukocyty, WBC) a krevní destičky (trombocyty). Erytrocyty zajišťují transport kyslíku z plic do tkání, leukocyty hrají klíčovou roli v imunitní obraně organismu a trombocyty se podílejí na srážení krve. Všechny tyto krevní elementy vznikají v kostní dřeni [62].

V dětském věku se krvetvorba odehrává ve většině kostí. S přibývajícím věkem se však tento proces omezuje na určité oblasti, zejména na obratle, hrudní kost, žebra, pánev a některé části dlouhých kostí horních a dolních končetin. Kostní dřen aktivně zapojená do tvorby krevních buněk se označuje jako červená dřev, zatímco neaktivní dřev se nazývá žlutá kostní dřev. Hematopoéza, neboli tvorba krve, začíná u pluripotentních hematopoetických

kmenových buněk. Tyto buňky mají schopnost se dělit a diferencovat na všechny typy krevních buněk. Z těchto univerzálních kmenových buněk poté vznikají tzv. angažované kmenové buňky, které jsou již specializované pro vznik konkrétních buněčných linií [62].

#### a) Erytrocyty

Červené krvinky jsou nejpočetnějším typem buněk. Dávají krvi její charakteristickou červenou barvu a tvoří přibližně 40–45 % objemu krve, což se dá odborně vyjádřit pojmem hematokrit (poměr objemu červených krvinek k celkovému objemu krve). Průměrný počet erytrocytů činí přibližně 5,2 milionu buněk na mikrolitr krve u mužů a 4,6 milionu u žen. Erytrocyty mají typický bikonkávní tvar (dvojdutý disk), který jim umožňuje snadné procházení i velmi úzkými kapilárami bez poškození. Zralé červené krvinky neobsahují jádro, které je v průběhu vývoje vytlačeno z buňky. Jejich hlavní funkcí je přenos kyslíku z plic do tkání a zároveň odvodu oxidu uhličitého zpět do plic. K přenosu kyslíku slouží molekula hemoglobinu (červené krevní barvivo), která je přítomna v každém erytrocytu. Hemoglobin tvoří přibližně 33 % hmotnosti erytrocytu. Kromě transportu kyslíku se erytrocyty podílejí na odstraňování oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>), který vzniká jako vedlejší produkt metabolismu buněk. Ten se v kapilárách dostává do krve a je přiváděn zpět do plic. Enzym karbonická anhydráza, přítomný v erytrocytech, urychluje přeměnu CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O na kyselinu uhličitou (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), která se dále disociuje na vodíkové (H<sup>+</sup>) a hydrogenuhličitanové ionty (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).



Hydrogenuhličitanové ionty přecházejí do krevní plazmy, zatímco vodíkové ionty se vážou na hemoglobin. Tímto způsobem je odstraněno přibližně 70 % oxidu uhličitého. Asi 7 % CO<sub>2</sub> se rozpouští volně v plazmě a zbývajících 23 % se váže přímo na hemoglobin. V jedné z fází vývoje červených krvinek vzniká tzv. retikulocyt, který ještě obsahuje zbytky buněčných organel. Po jejich ztrátě vzniká zralý erytrocyt. Průměrná životnost erytrocytu v krevním oběhu je přibližně 120 dní. Odumřelý erytrocyt je poté odstraňován makrofágy především ve slezině a játrech. Tvorba erytrocytů je řízena hormonem erythropoetinem, jehož produkce se zvyšuje v reakci na nízkou hladinu kyslíku v těle, například při plicních onemocněních nebo anémii (chudokrevnost). Erythropoetin stimuluje červenou kostní dřeň k urychlené tvorbě a zrání nových erytrocytů. Až 90 % erythropoetinu se tvoří v ledvinách. Při selhání ledvin nebo po jejich odstranění dochází často k rozvoji anémie, právě kvůli jeho nedostatku. Pro správnou tvorbu erytrocytů jsou nezbytné i další látky, především železo, vitamin B12 a kyselina listová [62].

## b) Leukocyty

Bílé krvinky (leukocyty, WBC) představují klíčovou součást imunitního systému a hrají zásadní roli v obraně organismu proti infekcím. Cirkulují krevním oběhem, aby mohly být rychle dopraveny do místa, kde dochází k infekci nebo poškození tkáně. V krvi zdravého dospělého člověka se běžně nachází přibližně 4 000 až 10 000 leukocytů na mikrolitr krve. Zvýšený počet bílých krvinek v krvi obvykle signalizuje přítomnost infekce v organismu. Mezi hlavní typy bílých krvinek patří například neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, monocytů nebo lymfocytů. Leukocyty se dělí podle přítomnosti jádra na granulocyty (neutrofilů, eozinofilů, bazofilů) a agranulocyty (monocyty, lymfocyty). Granulocyty tedy obsahují ve své cytoplazmě granule naplněná trávicími enzymy. Barva těchto granulí je odlišná podle typu buňky. Bazofily mají fialová granula, eozinofilů červeno-hnědá a neutrofilů mají granula slabě růžovo-modrá. Po uvolnění do krevního oběhu granulocyty přežívají průměrně 4-8 hodin. Poté migrují do tkání, kde setrvávají přibližně 4–5 dní. Při závažné infekci se tyto doby často výrazně zkracují [62].

Neutrofilů jsou hlavní složkou imunitní odpovědi proti bakteriálním infekcím. Jejich funkcí je fagocytóza, což je aktivní pohlcování a trávení bakterií. Jedna neutrofilní buňka může pohltnout 5–20 bakterií. Neutrofilů mají typicky více laločné jádro, díky čemuž jsou známé také jako polymorfonukleární leukocyty (PMN). Nezralé neutrofilů, tzv. „bandy“ se objevují v krevním oběhu zejména při akutních bakteriálních infekcích [62].

Eozinofilů se podílejí především na likvidaci parazitů a rovněž hrají roli při alergických reakcích. Na druhou stranu pomáhají regulovat aktivitu žírných buněk a bazofilů (uklidňují imunitní reakci) [62].

Bazofily jsou známé svou účastí při alergických a zánětlivých reakcích. Uvolňují například histamin, který zvyšuje propustnost kapilár a heparin, jenž zabraňuje srážení krve v místě infekce, aby se ostatní bílé krvinky mohly snadněji dostat k ohnisku infekce [62].

Monocyty po opuštění krevního oběhu migrují do tkání, kde se zvětšují a diferencují v makrofágy, tedy buňky schopné fagocytózy. Kromě obrany proti infekcím se podílejí na odstraňování starých, poškozených nebo odumřelých buněk. Vyskytují se ve tkáních po celém těle, například v játrech, slezině, plicích, lymfatických uzlinách, kůži a střevech. Celý tento rozptýlený systém makrofágů se označuje jako retikuloendoteliální systém. Monocyty cirkulují v krvi 10–20 hodin, poté vstupují do tkání, kde mohou přežít měsíce až roky [62].

Neutrofilů i monocytů využívají různé mechanismy, jak pronikat k infikovaným místům a likvidovat patogeny. Umějí procházet stěnami cév díky procesu zvanému diapedéza. Pohybují se ameboidním pohybem a reagují na chemické signály, tuto schopnost označujeme jako chemotaxe [62].

Lymfocyty jsou klíčové buňky specifické imunity, které hrají zásadní roli v obraně organismu proti patogenům a v udržování imunologické paměti. Tvoří přibližně 20-40 % všech leukocytů v periferní krvi a dělí se na tři hlavní typy: B-lymfocyty, T-lymfocyty a NK buňky. B-lymfocyty produkují protilátky (imunoglobuliny), které neutralizují antigeny. T-lymfocyty vznikají v kostní dřeni, ale dozrávají v brzlíku a opět jsou velmi důležité v buněčné imunitě. Dělí se na  $CD8^+$ , které ničí buňky infikované virem nebo nádorové buňky prostřednictvím apoptózy (programovaná buněčná smrt).  $CD4^+$  produkují cytokiny, které aktivují další imunitní buňky, jako B-lymfocyty a makrofágy, a regulují imunitní odpověď. A regulační T-lymfocyty, které udržují imunitní toleranci a zabraňují autoimunitním reakcím. NK buňky, neboli tzv. „Natural Killers“ patří k buňkám vrozené imunity. Jsou schopny rozpoznat a zničit nádorové nebo virem infikované buňky, a to bez předchozí znalosti konkrétního antigenu [62].

### c) Trombocyty

Krevní destičky jsou buněčné fragmenty, které jsou důležité při srážení krve. Jejich hlavní funkcí je tvorba tzv. destičkové zátky v místě poranění, čímž napomáhají zastavení krváčení. Společně s plazmatickými srážecími faktory se podílejí na komplexním procesu homeostázy. Kromě samotného vytváření zátky také podporují další mechanismy, které stabilizují a posilují vznikající krevní sraženinu. V jednom mikrolitru krve se běžně nachází přibližně 150 000 až 400 000 trombocytů. Trombocyty vznikají v kostní dřeni z velmi velkých buněk zvaných megakaryocyty, které se rozpadají na menší fragmenty. Tyto fragmenty tvoří samotné krevní destičky. Trombocyty neobsahují buněčné jádro a nejsou schopné dělení. Nové destičky vznikají vždy rozpadem dalších megakaryocytů podle potřeby organismu. Průměrná životnost trombocytů v krevním oběhu činí přibližně 10 dní. Trombocyty obsahují řadu chemických látek, které jsou důležité pro srážení krve:

- aktin a myozin: bílkoviny umožňující smrštění destiček
- látky iniciující srážení: spouštějí samotný proces koagulace
- chemotaktické látky: přitahují další krevní destičky na místo poranění

- regenerační faktory: stimulují obnovu poškozených cév
- stabilizující látky: pomáhají upevnit vytvořenou krevní sraženinu [62].

#### **d) Plazma**

Plazma je čirá, světle nažloutlá tekutina, která tvoří tekutou složku krve. Po konzumaci velmi tučného jídla nebo při zvýšené hladině lipidů v krvi může plazma dočasně získat mléčný vzhled. Přibližně 90 % objemu plazmy tvoří voda. Zbývajících 10 % tvoří různé rozpuštěné látky, které jsou nezbytné pro život a cirkulují krevním oběhem. Tyto látky difundují z míst s vyšší koncentrací do míst s nižší koncentrací, například z plazmy do buněk. Stejným principem se naopak do krevního oběhu dostávají odpadní látky, které buňky vylučují a jsou následně odstraňovány zejména ledvinami a plicemi. Pohyb tekutin mezi cévním řečištěm a okolními tkáněmi je řízen dvěma tlaky:

- Hydrostatickým tlakem: tlakem krve, který vytlačuje tekutinu z cév.
- Onkotickým tlakem: tlakem, který vzniká díky bílkovinám rozpuštěným v plazmě a má tendenci udržovat tekutinu uvnitř cév [62].

Bílkoviny, které tvoří významnou část rozpuštěných látek v plazmě. Mají velké molekuly, které jen obtížně procházejí stěnami kapilár. Díky tomu zůstávají převážně v cévách a vytvářejí onkotický tlak, jenž napomáhá udržení stabilního objemu krve. Koncentrace bílkovin v plazmě se pohybuje mezi 65–85 g/l. Mezi hlavní plazmatické bílkoviny patří:

- Albumin (cca 60 %): udržuje onkotický tlak a přenáší různé látky.
- Globuliny (alfa-1, alfa-2, beta, gama = imunoglobuliny): podílí se na imunitě a transportu.
- Srážlivé bílkoviny, především fibrinogen: nezbytné pro zástavu krvácení.

Tyto bílkoviny kromě transportní funkce zajišťují i udržování acidobazické rovnováhy, účastní se imunitních procesů, napomáhají srážení krve a slouží jako enzymy v mnoha biochemických reakcích v těle [62].

Další důležitou skupinu látek rozpuštěných v plazmě tvoří elektrolyty, a to zejména sodík  $\text{Na}^+$ , draslík  $\text{K}^+$ , chlorid  $\text{Cl}^-$ , hydrogenuhličitan  $\text{HCO}_3^-$ , vápník  $\text{Ca}^{2+}$  a hořčík  $\text{Mg}^{2+}$ .

Tyto ionty jsou nezbytné pro široké spektrum tělesných funkcí, včetně udržování rovnováhy tekutin, nervového vedení, svalové kontrakce (včetně srdečního svalu), koagulace a pH [62].

Plazma dále obsahuje i sacharidy, například glukózu, cholesterol, hormony, vitaminy a další biologicky aktivní látky. Cholesterol se v plazmě transportuje navázaný na lipoproteiny, a to hlavně:

- LDL: lipoproteiny s nízkou hustotou
- HDL: lipoproteiny s vysokou hustotou.

Pokud je krev odebrána do zkumavky a ponechána ke srážení, následně stočena na centrifuze, tak je nazývána sérem. Rozdíl mezi plazmou a sérem je právě v přítomnosti fibrinogenu v plazmě a také v postupu přípravy. Sérum, jak již bylo zmíněno, vzniká ze sražené krve a neobsahuje srážecí faktory. Na dně odběrové zkumavky pak vzniká krevní koláč. Naopak plazma vzniká z nesražené krve a obsahuje srážecí faktory (fibrinogen), dále mohou být v odběrové zkumavce přítomny antikoagulační látky, jako jsou heparin, citrát sodný nebo EDTA, které brání srážení [62].

### **3.2.1 Krev jako identifikační nástroj**

Krev je zdrojem DNA, která se stává klíčovým nástrojem pro kriminalisty při vyšetřování různých typů trestné činnosti. DNA je unikátní pro každou osobu, a to i v případě, že nejsou přítomny přímé důkazy, jako je zbraň nebo osobní předměty pachatele. V takových situacích mohou být krevní vzorky použity k vytvoření genetického profilu, který se následně porovnává s databázemi DNA, například s Národní databází DNA (CODIS) v USA. Může dojít k identifikaci pachatele, k propojení podezřelého s konkrétním místem činu nebo k rekonstrukci trestného činu [17,22].

Pokud je na místě činu zanechána krev, analýza je provedena i v případě, že vzorek je velmi malý nebo poškozený. Pokrokem v technologiích je polymerázová řetězová reakce (PCR). Umožňuje totiž amplifikaci, neboli zvýšení koncentrace, i z velmi malých a degradovaných vzorků DNA, což dramaticky zvyšuje šanci na úspěšnou identifikaci [17,22].

Krvavé stopy pomáhají pochopit dynamiku události a také zodpovědět zásadní otázky, jako je směr nebo rychlost pohybu oběti, útočníka a způsob, jakým byla oběť napadena. Krevní stopy na podlaze nebo na stěnách mohou pomoci určit, zda došlo k útoku v těsné blízkosti oběti. Takové krvavé stopy se nazývají vzorce. Jsou známé dva druhy, jako „zpětný

rozstřík krve“ (back spatter) a „Přední rozstřík krve“ (forward spatter) [18]. Mohou naznačovat, zda byla oběť napadena bodnou zbraní nebo zda došlo k útoku s použitím tupé síly, jako je například úder těžkým předmětem. Krvavé stopy na oblečení oběti mohou rovněž naznačit, zda se oběť pohybovala, nebo zda byla v bezvědomí během útoku. Jednou z analýz krevních stop je metoda „spatter“ BPA – analýza rozstříku krve, což je vědní disciplína, která se soustředí na studium vzorců krve na různých typech povrchů. Metoda vyžaduje detailní zkoumání tvaru, velikosti a směru krvavých skvrn. Pokud dojde k vícenásobnému zranění, analýza může pomoci určit počet útoků, místo zranění a způsob, jakým byla zranění dosažena [23]. Mimo vizuální stránky bych zmínila ještě techniky 3D modelování a digitální analýzy, které kriminalisté hojně využívají k identifikaci krevních skvrn.

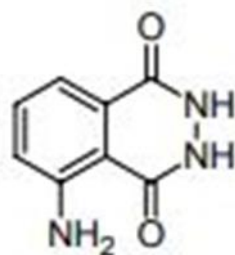
### **3.3 Využití fluorescence k identifikaci krevních stop**

Na některých površích jako jsou koberce, kachlové obložení nebo v různých spárách mohou být krevní stopy velmi špatně viditelné pouhým okem. V takových situacích se musí použít specializovaných metod, které umožní detekci i těch nejmenších náznaků skvrn, které by byly jinak přehlédnuty. K tomu slouží například luminolový test [23].

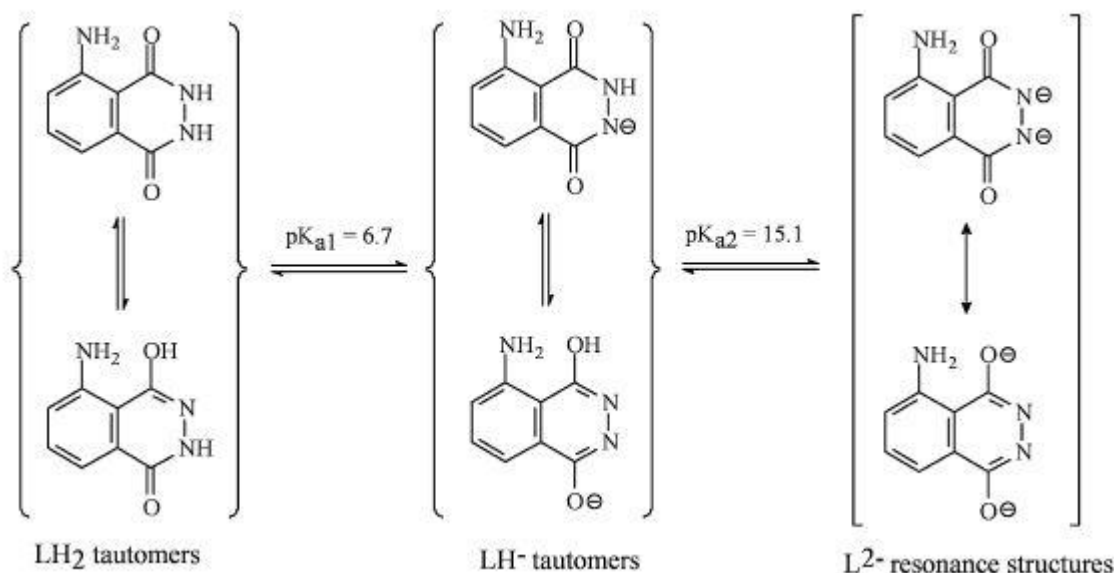
#### **3.3.1 Luminol**

Jednou z nejběžnějších a nejefektivnějších metod pro detekci krevních a jiných stop je luminolová reakce. Luminol, chemicky 5-amino-2,3-dihydro-1,4-ftalazindion, je chemická sloučenina hojně využívaná ve forenzní analýze právě pro detekci stop, které jsou buď špatně viditelné, nebo se je pachatel pokusil odstranit [24]. Objev a historie luminolu sahají do roku 1908, kdy ho německý vědec A. Schmitz poprvé syntetizoval [25]. Avšak v roce 1928 H. Albrecht oznámil jeho zapojení do chemiluminiscenčních reakcí [26]. Následně forenzní vědec W. Specht v roce 1937 poprvé podrobně studoval roli heminu (derivát hemoglobinu, konkrétně železitý komplex porfyrinu) v chemiluminiscenční reakci a jeho využití pro detekci krve. Můžeme to považovat za první použití chemiluminiscence pro forenzní účely [27]. Dalšími vědci byli F. Proesher a A. Moody, kteří předpověděli tautomerizaci luminolu v alkalických a kyselých roztocích. Zjistili, že chemiluminiscenční emise je silnější u starší krve, než čerstvé krve [28]. J. McGrath ukázal, že luminol je specifický pro krev, ale doporučil potvrzení reakcí jinými testy [29]. M. Grodsky a spol. navrhli směs pro detekci krevních stop, která se stala běžně používaným vzorcem. Luminol se stal klíčovým činidlem v molekulární biologii, analytické chemii a forenzní vědě, včetně detekce DNA a také pro historické a archeologické studie. Byl použit jako základ pro množství citlivých a selektivních detekčních metod, včetně vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), imunoanalýzy,

DNA sond, DNA typizace a jako substrát při detekci Western blot [30,40,41,42]. Luminol je cyklický acyl hydrazid, popisuje obrázek č. 2, a vykazuje typickou reaktivitu této skupiny. Můžeme ho popsat jako žlutou pevnou krystalickou látku, která se vyznačuje tvorbou výrazných zrnitých krystalů [37]. Mezi nejvýznamnější charakteristiky luminolu patří molekulová hmotnost, která činí 177,16 g/mol. Jeho bod tání je 319 320°C. Luminol je stabilní při pokojové teplotě, citlivý na světlo, hořlavý a neslučitelný se silnými kyselinami, zásadami a redukčními činidly. Při reakci s oxidačními činidly vyzařuje světlo (chemiluminiscenčně). Toxikologické vlastnosti u člověka nebyly ještě plně prozkoumány, nicméně bylo zjištěno, že může způsobovat podráždění sliznic, očí, kůže, dýchacích cest a gastrointestinálního traktu, což se projevuje nevolností, zvracením, únavou a průjmem [38,39]. Roztoky luminolu jsou citlivé na světlo a přítomnost kovových kationtů, obvykle zůstávají stabilní 8 12 hodin. Bylo prokázáno, že je tepelně labilní, a proto by měl být chráněn před vysokými teplotami. Také byly zjištěny dvě odlišné hodnoty  $pK_a$  (6,74;15,1), které odpovídají postupné deprotonaci dvou acyl hydrazidových skupin, při  $pK_{a1}$  a  $pK_{a2}$ . Při nižších hodnotách pH je luminol plně protonován ( $LH_2$ ), zatímco při vyšších hodnotách pH dochází k postupné deprotonaci, nejprve na monoanion ( $LH^-$ ) a poté na dianion ( $L^{2-}$ ) [38]. Tuto situaci znázorňuje obrázek č. 3. Proces oxidace luminolu, při němž vzniká světlo, je složitý vícestupňový mechanismus, který závisí na několika faktorech, jako jsou pH, teplota, iontová síla reakčního prostředí a přítomnost reaktivních druhů. Mezi tyto reaktivní látky, jež mohou interagovat s luminolem, patří kovový katalyzátor nebo hydroxidové ionty [40].

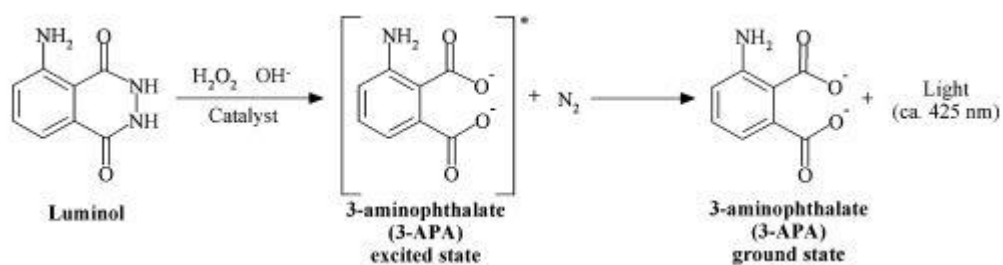


**Obrázek 2:** Chemický vzorec luminolu [24]



**Obrázek 3:** Protonizace a tautomerie luminolu v kyselém, neutrálním a alkalickém roztoku ( $\text{LH}_2$ ,  $\text{LH}^-$  a  $\text{L}^{2-}$  představují diprotickou, monoaniontovou a dianiontovou formu luminolu) [40].

Bylo pozorováno fluorescenční spektrum meziprojektu v oxidačním procesu luminolu, známého jako 3-aminoftalát v elektronicky excitovaném stavu ( $3\text{-APA}^*$ ), které se přesně shoduje s chemiluminiscenčním spektrem luminolu. Na základě tohoto zjištění se dospělo k závěru, že tento excitovaný meziprojekt může být považován za druh, který vyzařuje světlo po deexcitaci do základního stavu ( $3\text{-APA}$ ) [43,44]. V dipolárních aprotických rozpouštědlech, jako je dimethylsulfoxid (DMSO) obsahující kyslík, nebo ve středně alkalických protických rozpouštědlech (pH 8-11) například ve vodě nebo nižších alkoholech, dochází k chemiluminiscenční reakci. Ta probíhá za přítomnosti mírného oxidantu (nejčastěji peroxidu vodíku) a vhodného katalyzátoru, jako je kovový ion nebo enzym oxidoreduktázy. Při této reakci se excitovaný 3-aminoftalátový dianion ( $3\text{-APA}^*$ ) vrací do základního stavu ( $3\text{-APA}$ ) a uvolňuje energii ve formě světla, což je vidět na obrázku č. 4. Pokud reakce probíhá v protickém prostředí, tak vzniká 3-aminoftalátový dianion téměř kvantitativně. Protická rozpouštědla zajišťují dárcovství protonu díky přítomnosti vodíku vázaného na elektronegativní prvek, což jim umožňuje tvořit vodíkové vazby [44,45,46].



**Obrázek 4:** Reakční schéma chemiluminiscence luminolu [44].

### 3.3.2 Luminol a jeho luminiscence

Luminol se využívá v procesu zvaného luminiscence, nebo česky světélkování, kdy je vyzařováno elektromagnetické záření po předchozím dodání energie. Druhy luminiscence rozdělujeme podle typů budící energie, které nám znázorňuje následující tabulka [24,31].

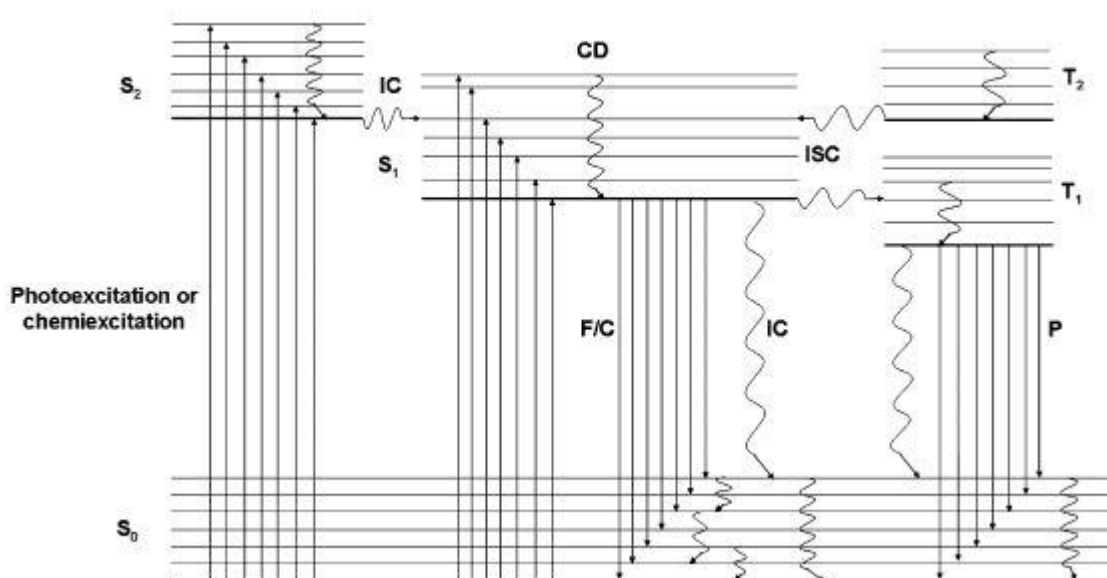
**Tabulka 3:** Rozdělení luminiscence [24]

Druh luminiscence	Budící energie
Radioluminiscence	krátké elektromagnetické záření - například $\gamma$ , rentgenové atd.
Termoluminiscence	tepelná
Elektroluminiscence	elektrická
Katodová luminiscence	elektrony urychlené v elektrickém poli
Triboluminiscence	mechanická - tření, stlačování apod.
Chemiluminiscence	chemická reakční
Fotoluminiscence	UV-VIS záření
Sonoluminiscence	ultrazvuk

Na tomto principu funguje právě i Luminol, který reaguje s hemoglobinem, krevním barvivem, obsaženým v krvi za vzniku chemiluminiscence [32,33]. To je proces, při němž dochází k emisím světla bez generování významné tepelné energie. Jinými slovy, luminofofor (světélkující látka) nejprve přijme energii (světelnou, tepelnou atd.) a přejde do excitovaného stavu (přeskok ze základní do vyšších energetických hladin). Jelikož je excitovaný stav nestabilní, tak tato látka přechází zpět do základního stavu za současného uvolnění energie ve formě světla. Výsledek se projevuje modrým světlem, které je viditelné po zhasnutí okolního osvětlení [24]. Je důležité si uvědomit, že jakmile molekula přejde ze zmiňovaného excitovaného stavu do metastabilního meziprojektu, může se vrátit do základního stavu

různými způsoby. Tyto procesy lze znázornit schematicky, například pomocí diagramu „energetické studny“ nebo jednodušším způsobem pomocí Jablonského diagramu (obrázek č. 5), který byl poprvé představen ve 30. letech 20. století. Emise světla může být buď fluorescenční, pokud pochází ze singletového stavu, nebo fosforescenční, pokud je spojena s tripletovým stavem. Chemiluminiscenční reakce generují světlo s různou intenzitou a vlnovou délkou. Přičemž poslední parametr, tedy vlnová délka, pokrývá spektrum od blízkého ultrafialového záření (100–380 nm), přes viditelné (380–760 nm) až po blízké infračervené záření (760–1000 nm). Intenzita chemiluminiscenční emise z reakce závisí na rychlosti a účinnosti procesu, kdy vznikají excitované stavy. Můžeme to popsat pomocí kvantového výtěžku chemiluminiscence, vyznačeného touto rovnicí [34,35]:

$$\phi_{CL} = \frac{\text{celkový počet vyzářených fotonů}}{\text{počet reagujících molekul}}$$

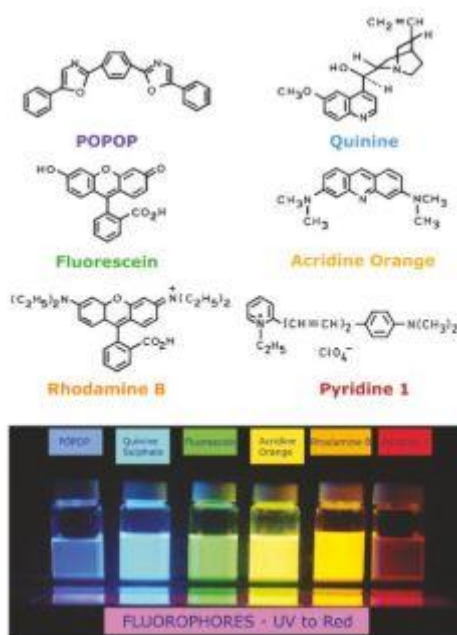


**Obrázek 5:** Jablonského energetický diagram znázorňující energetické hladiny a přechody v molekulové sloučenině [35]

Z obrázku nám vyplývá, že písmeno C nám vyznačuje chemiluminiscenci; písmeno F fluorescenci; a písmeno P fosforescenci. Dále CD popisuje kolizní deaktivaci; IC vnitřní konverzi; ISC mezisystémový přechod. A v neposlední řadě zde máme jednotlivé hladiny a to S<sub>0</sub>, která prezentuje základní singletový stav; S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, excitované singletové stavy a T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, excitované tripletové stavy. Šipka → znázorňuje zářivý přechod a poslední „klikatá šipka“ vyjadřuje nezářivý přechod [35].

Chemiluminiscence se mimo jiné používá i v biochemii, zejména v imonuchemických testech, kde umožňuje detekci specifických biomolekul, jako jsou proteiny. Probíhá to pomocí enzymatických reakcí, které generují světlo, což činí tento děj velmi cenným nástrojem v oblasti vědeckého výzkumu a diagnostiky [32,33].

Chemiluminiscenční reakce se často kombinuje s dalšími metodami, jako je fluorescenční barvení pro maximální efektivitu detekce. Fluorescenční barviva zobrazená na obrázku č. 6, jako je například primárně fluorescein, mohou být aplikována na podezřelé povrchy, kde po vystavení UV světlu začne krev nebo jiné materiály fluoreskovat. Kromě toho mohou být použita specifická chemická činidla, jako jsou třeba tetramethylbenzidiny, které reagují přímo s hemoglobinem. Aplikace těchto technologií také zvyšuje pravděpodobnost, že i při dlouhé době od spáchání trestného činu, budou moci vyšetřovatelé nalézt důkazy, které by jinak zůstaly neodhaleny [36].

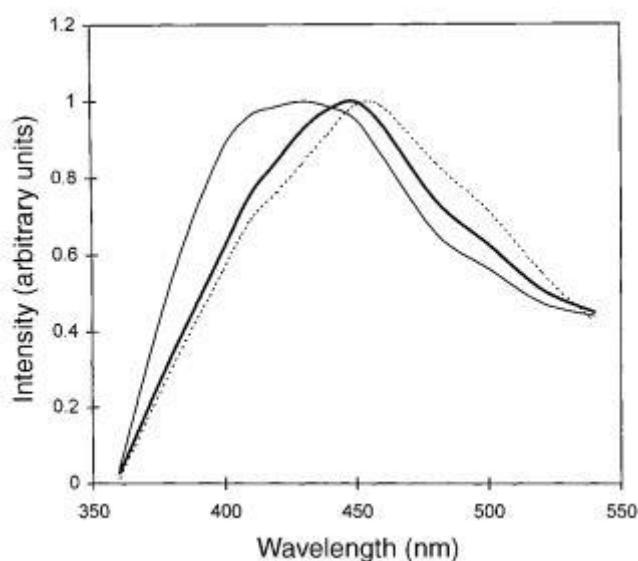


Obrázek 6: Fluorescenční barviva [33]

### 3.3.3 Luminol a hemoglobin

Reakce luminolu a hemoglobinu je další metodou, která je založena na schopnosti hemoglobinu a jeho derivátů obsažených v krvi katalyzovat oxidaci luminolu v alkalickém prostředí [48]. Ve vodných roztocích se pozorované světlo pohybuje v rozmezí od modrofialové až po modrozelenou barvu (cca 400-500 nm). Barva a maximum emise závisí na podmínkách reakce [63]. V nedávné studii Quickendena a kolegů zjistili, že když se luminol smíchaný s peroxidem nastříká na krev, světlo, které tato směs vyzařuje, má své

maximum kolem 455 nm. Když se ale nastříká na bělidlo (chlornan sodný), maximum je 430 nm. Tento rozdíl v posunu vlnových délek je pravděpodobně způsoben tím, že krev silně pohlcuje světlo kolem 420 nm. Působí zde jako vnitřní filtr, což nám zobrazuje obrázek č. 7 [54]. Přesná role katalyzátorů a reakčních meziproduktů v luminolové reakci není doposud plně objasněna. Reakci mohou katalyzovat různé komplexy přechodných kovů, přičemž optimální pH prostředí závisí na použitém katalyzátoru a pohybuje se v rozmezí pH 8-11. Postup poté spočívá v aplikaci vodného roztoku luminolu a oxidačního činidla na podezřelou oblast [48].



**Obrázek 7:** Porovnání emisního spektra chemiluminiscenční reakce luminolu v přítomnosti 150 g/l lidského hemoglobinu (tečkovaná křivka), 15 g/l lidského hemoglobinu (tlustá křivka) a 1,25 g/l chlornanu sodného (slabá křivka). [54].

Hemoglobin (Hb) je molekula zajišťující transport kyslíku v erytrocytech obratlovců i některých bezobratlých. Je zároveň zodpovědný za červené zbarvení krve. U savců tvoří hemoglobin tetramer složený ze čtyř globinových řetězců, z nichž každý obsahuje prostetickou hemovou skupinu. Tato skupina je tvořena komplexem protoporfyrinu IX a železnatého iontu  $\text{Fe}^{2+}$ . Železo je koordinováno čtyřmi atomy dusíku pyrrolových kruhů v rovině porfyrinového jádra. Pátá koordinační pozice je obsazena zbytkem histidinu z globinu, zatímco šestá koordinační poloha je určena pro vazbu exogenního ligandu. U oxyhemoglobinu je tímto ligandem molekula kyslíku  $\text{O}_2$ , naopak u deoxyhemoglobinu zůstává tato pozice prázdná [55].

V organismu je hemoglobin chráněn před denaturací zapouzdřením v červených krvinkách a udržováním železa ve formě  $\text{Fe}^{2+}$ . To se dá zařídit buď pomocí neenzymatických (obal globinu, redukovaný glutathion) nebo enzymatických mechanismů, jako je využití NADPH-methemoglobin reduktázy a NADH-cytochrom b5 reduktázy. Díky tomu se železo při vazbě a uvolnění kyslíku nemění. Jakmile se krev nachází mimo tělo, dochází k hemolýze a rozkladu biomolekul působením enzymů buněk a mikroorganismů. Dochází k rozpadu polypeptidické části hemoglobinu. Železo vázané v hemu se oxiduje z  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$ , protože v tomto stavu dochází ke snížení buněčného železa [56].

V alkalickém prostředí se trojmocné železo  $\text{Fe}^{3+}$  váže na hydroxylovou skupinu (-OH), čímž vzniká hematin. To je forma hemu, ve které je kyslík nahrazen hydroxylovou skupinou. Tato změna způsobuje, že krvavá skvrna mění barvu z červené na hnědou. Přeměna hemoglobinu na hematin se zrychluje při aplikaci luminolu, protože ten vytváří alkalické a oxidační podmínky. Hematin pak může katalyzovat rozklad peroxidu vodíku a oxidaci luminolu, což vede ke světélkování. Tento katalytický cyklus zahrnuje přechod mezi hematinem ( $\text{OH-Fe}^{3+}$ ), aktivovaným radikálovým meziproduktem ( $\text{OH-Fe}^{4+}\text{-P}^*$ ) a zpět, analogicky k mechanismům známým u enzymů peroxidáz [55,57,58]. Deriváty železitého hemu mají podobné vlastnosti jako enzymy peroxidázy, které se běžně vyskytují například v rostlinách. Díky schopnosti podílet se na dvouelektronových redoxních reakcích se jejich aktivita označuje jako pseudoperoxidázová schopnost. Tyto látky nejsou skutečné enzymy peroxidázy, ale napodobují jejich funkci. Katalyzují rozklad peroxidu vodíku a podílí se na oxidačně-redukčních reakcích. Tato vlastnost tvoří základ mnoha předběžných testů na přítomnost krve, jako je například luminolový test [59].

Při provádění luminolového testu kriminalisté aplikují luminolovou směs. Tato směs se skládá z luminolu, peroxidu vodíku a alkalického prostředí, které tvoří např. NaOH. Časté je i použití stabilizátorů, např. pufrů, které zvyšují citlivost reakce (TRIS, boritanový pufr nebo NaOH/ $\text{Na}_2\text{CO}_3$  pufr). V poslední řadě sem ještě patří rozpouštědlo, jako je voda nebo DMSO. Kriminalisté smíchají všechny potřebné látky do lahve s rozprašovačem a aplikaci provedou na místo, kde se domnívají, že by mohla být krev přítomna. Pokud dojde ke kontaktu směsi s hemoglobinem, tak železo v molekule působí jako katalyzátor a urychluje reakci mezi luminolem a peroxidem vodíku. Tato oxidační reakce poté vede ke vzniku sloučeniny 3-aminoftalátu. Luminol při ní ztrácí atomy vodíku a dusíku a získává atomy kyslíku. Poté následuje samotná excitace 3-aminoftalátu (viz. kapitola 3.3.1). Díky přítomnosti železa je světlo dostatečně intenzivní, aby bylo viditelné i ve tmě [60].

Pokud luminol odhalí pravděpodobné stopy krve, kriminalisté je následně zaznamenají pomocí fotografie nebo videokamery, aby uchovali důkaz o rozmístění krevních stop. Luminolová reakce však neposkytuje jednoznačný důkaz o přítomnosti krve. Může totiž reagovat i s jinými látkami, například s běžným domácím bělidlém. Zkušeni vyšetřovatelé mohou odhadnout pravděpodobnost přítomnosti krve podle rychlosti a intenzity luminiscence. Nicméně ke spolehlivému potvrzení je vždy nutné provést další specifické testy, které ověří, zda se skutečně jedná o lidskou krev. Luminol tedy sám o sobě nestačí k objasnění trestného činu. Přesto ale výrazně přispívá k průlomu ve vyšetřování, jako je odhalení vzorců skrytých krevních skvrn, které mohou pomoci určit místo útoku nebo typ použité zbraně. Odlišnosti jsou totiž patrné ve stopách po střelné zbraně a noži. Luminol může rovněž odhalit slabé krvavé otisky obuvi, které mohou poskytnout důležité informace o pohybu pachatele po činu [60]. Krásný rozdíl viditelnosti krevních skvrn po aplikaci luminolu je vidět na obrázku č. 8.

Jednou z nevýhod luminolu je, že chemická reakce může poškodit jiné důležité stopy na místě činu. Z tohoto důvodu bývá použití luminolu odkládáno až na pozdější fázi prohlídky místa činu, po vyčerpání jiných metod [60].



**Obrázek 8:** Simulace luminolu při práci: Před nastříkáním luminolu nejsou patrné žádné stopy krve. Po nastříkání luminolu vyzařují latentní stopy krve modrou září [60].

### 3.3.4 Zdroje světla jako alternativa při detekci stop

Světlo je obecně forma energie, která může být vyzařována různými procesy. Mezi tyto procesy poté patří:

- Žhnutí: produkce světla v důsledku světelné energie, jak ji známe například z klasické žárovky nebo plynové lampy.
- Fluorescence a fosforescence: emise světla v reakci na energii záření, jako u fluorescenční žárovky nebo televizní obrazovky.
- Generování laseru: cílené a zesílené vyzařování světla na principu stimulované emise záření.

Všechny tyto procesy fungují na stejném základním principu. Vnější zdroj energie excituje atomy a způsobí uvolnění světelných částic – fotonů. Když dojde ke zrychlení atomů, tak do sebe narážejí větší silou [61].

K detekci a identifikaci biologických stop bylo vyvinuto několik metod, které se dělí na presumptivní a potvrzovací testy. Presumpční testy slouží primárně ke screeningovému vyhledávání stop, zatímco potvrzovací testy umožňují jednoznačné určení druhu biologického materiálu. Většina těchto testovacích metod je však destruktivní, což znamená, že může dojít ke znehodnocení DNA. Některé z nich lze provádět pouze za laboratorních podmínek [49].

Jedním z nejběžnějších presumpčních nástrojů je forenzní světelný zdroj (FLS), který umožňuje detekci biologických stop na místech, kde nejsou pouhým okem viditelné, například na tmavých podkladech. FLS se využívá zejména k vyhledávání skvrn pomocí fluorescenčního nebo kontrastního zvýraznění. U biologických tekutin jako je sperma, sliny, moč nebo krev, dochází po ozáření světlem určité vlnové délky k absorpci záření a následné emisi světla v jiné vlnové délce, což vytváří fluorescenční efekt [50].

Přestože citlivost FLS je nižší než u chemických metod, jako je luminolová reakce, která detekuje krev až při ředění 1:5 000 000, má FLS tu výhodu, že nevyžaduje použití chemikálií, je šetrnější k analyzovaným vzorkům a snadno se aplikuje přímo na místě činu. Kromě samotné detekce se FLS hojně využívá i pro zvýraznění stop pro fotografickou dokumentaci. Moderní FLS systémy, jako jsou výkonné světelné zdroje s filtry či lasery přizpůsobené forenznímu použití, zahrnují i zařízení označovaná jako alternativní světelné zdroje (ALS). Tato zařízení jsou konstruována tak, aby maximalizovala vizuální kontrast nebo podporovala fluorescenci stop za různých světelných podmínek [51].

Jak již bylo zmíněno, tak jednou z nejjednodušších metod, které kriminalisté využívají k detekci krevních stop, jsou alternativní zdroje světla, například ultrafialového světla. Tato technika je obzvláště efektivní při vyhledávání stop na tmavém podkladu. ALS může pomoci lokalizovat latentní skvrny na místě činu, na které následně navazují další presumptivní testy, jež umožňují detailnější posouzení přítomnosti tělesných tekutin [52].

Nejpoužívanější univerzální zařízení tohoto typu je Polilight®, který nabízí široké spektrum vlnových délek, umožňuje detekci stop dokonce i přes překryv vrstvy barvy. Citlivost tohoto zařízení při zředění vzorku se pohybuje v poměru 1:1000. Přesto je nezbytné při použití těchto zdrojů dbát na opatrnost, protože určité vlnové délky ultrafialového světla mohou způsobit degradaci DNA ve vzorcích. Jedna ze studií zjistila, že expozice světlu o vlnové délce 255 nm po dobu 30 sekund nebo déle vedla k natolik výraznému poškození DNA, že při kvantifikaci a amplifikaci metodou PCR-STR nebylo možné DNA detekovat [51]. Dalším příkladem ALS bez použití chemických látek je Woodova lampa (WL), která vyzařuje UV záření v rozmezí 320-400 nm a je určena primárně k detekci spermatu. U jiných tělních tekutin může podávat falešně pozitivní výsledky. Jiné ALS systémy vykazují vyšší spolehlivost, například BlueMaxx BM 500, který dosáhl ve studii 100 % citlivosti na spermie. Kromě něj byl nedávno vyvinut i přístroj Lumatec Superlight 400, který pracuje ve spektru 320-700 nm a umožňuje detekci stop za denního světla i v úplné tmě [53].

## ZÁVĚR

Tato práce se zabývala tématem, které se nachází na pomezí několika vědeckých disciplín. Ukázala, jak může být kombinace chemie, biologie a genetiky využita při objasňování trestných činů. Byla věnována pozornost způsobům, jakým lze detekovat biologické stopy, a to především v návaznosti na jednu z nejvýznamnějších tělních tekutin, kterou je krev. V jednotlivých kapitolách byly popsány nejen základní pojmy, ale také jejich historický kontext.

Význam biologického materiálu zajištěného na místě činu je nezpochybnitelný. Jednotlivé stopy mohou poskytnout cenné informace o průběhu události, přítomnosti konkrétní osoby či použitém násilí. Chemické látky, jako je luminol, umožňují odhalit stopy, které jsou jinak obtížně zachytitelné. V této souvislosti byla v práci popsána podstata luminolové reakce, a také princip chemiluminiscence. Luminol je bezesporu užitečným pomocníkem při vizuálním hledání stop krve, zejména tam, kde nejsou patrné pouhým okem, nebo se je pachatel pokusil zakrýt.

Současně je nutné si uvědomit, že detekce luminolem má svá omezení. Reakce je velmi citlivá, ale nikoliv absolutně specifická, a proto je třeba její výsledky vždy ověřovat dalšími metodami. Bez následného potvrzení například DNA analýzy nebo sérologických testů by nebylo možné považovat za přímý důkaz v právním smyslu. To znovu podtrhuje důležitost kombinace více přístupů a úzké spolupráce mezi jednotlivými forenzními obory. Z popisu použitých metod a jejich uplatnění v praxi je patrné, že forenzní vědy hrají v současném systému vyšetřování velmi důležitou roli. Právě schopnost propojit teoretické poznatky s reálnými situacemi na místě činu dělá z forenzních nástrojů nejen vědecký, ale i praktický základ práce kriminalistů. Použití luminolu a dalších chemických činidel je toho příkladem.

Celkový přínos této práce spočívá ve snaze přiblížit praktické využití konkrétní detekční metody, která i přes svou jednoduchost výrazně usnadňuje práci v terénu. Detekce krve luminolem nepředstavuje pouze teoretický koncept, ale slouží jako účinné vodítko, které dokáže rychle upozornit na potenciálně klíčová místa k dalšímu zkoumání. Její použití výrazně přispívá k lepší orientaci na místě činu, a taktéž umožňuje cílenější zajištění biologického materiálu, což má přímý dopad na efektivitu vyšetřování.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. MUSIL, Jan, KONRÁD Zdeněk a SUCHÁNEK Jaroslav. *Kriminalistika*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: <<C.H. >>Beck, 2004. Beckovy mezioborové učebnice. ISBN 80-717-9878-9.
2. WOLFGANG, Marvin E. Criminology and the Criminologist. Online. *The Journal of Criminal Law, Criminology, and Police Science*. 1963, roč. 1963, č. 2, s. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/1141156>. [cit. 2024-11-06].
3. STRAUS, Jiří. *Úvod do kriminalistiky*. 2., rozš. vyd. Plzeň: Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, 2006. ISBN 80-868-9895-4.
4. STRAUS, Jiří a VAVERA, František. *Dějiny kriminalistiky*. Plzeň: Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, 2012. ISBN 978-80-7380-370-4.
5. DENNING, Elaine Rebekah. Basic crime scene training. Online. In: *Basic crime scene training program*. Guilford College, 2019, s. 50. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/community.29406027>. [cit. 2024-11-06].
6. ŠIMKOVÁ, Halina. *Breviář forenzní genetiky: forenzní DNA analýza v otázkách a odpovědích*. Online. Brno: Tribun EU, 2012. ISBN 978-80-263-0247-6. Dostupné z: [https://drive.google.com/file/d/1tPmdin69-sqO1\\_eDKml3q1Ti4vD37pVT/view](https://drive.google.com/file/d/1tPmdin69-sqO1_eDKml3q1Ti4vD37pVT/view) [cit. 2024-11-06].
7. KATZ, Evgeny and HALÁMEK, Jan. Forensic Science: A Multidisciplinary Approach. Online. *Journal of Forensic Legal & Investigative Sciences*. 2016, roč. 2016, č. 1., s. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.24966/FLIS-733X/100004>. [cit. 2024-11-06].
8. INNES, Brian, (ed.). *Vědci proti zločinu - svět moderní forenzní vědy*. Naše vojsko CZ, 2010. ISBN 9788020611055.
9. SCHWABE, William; DAVIS, Lois M. and JACKSON, Brian A. Forensic analysis. Online. In: *Challenges and Choices for Crime-Fighting Technology Federal Support of State and Local Law Enforcement*. RAND Corporation, 2001, s. 55-82. ISBN 9780833032393. Dostupné z: <https://www.jstor.org/stable/10.7249/mr1349ostp.13?seq=1>. [cit. 2025-04-07].
10. SURESH, Chand. *Essentials of forensic medicine & toxicology*. Elsevier India, New Delhi, 2023. ISBN 9788131267769, 8131267768.
11. AMORIM, Antonio and BUDOWLE, Bruce. *Handbook Of Forensic Genetics*. World Scientific Publishing Company, 2017. ISBN 9781786340795, 1786340798.

12. JEFFREYS, Alec J.; WILSON, Victoria and THEIN, Swee Lay. Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. Online. *Nature*. 1985, roč. 1985, č. 1., s. 67-73. ISBN 8024461773. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/314067a0> [cit. 2025-01-23].
13. GILL, Peter; JEFFREYS, Alec J. and WERRETT, David J. Forensic application of DNA „fingerprints.“ Online. *Nature*. 1985, roč. 1985, č. 1., s. 577 - 579. ISBN 8024461773. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/318577a0>. [cit. 2025-01-23].
14. JEFFREYS, Alec J.; WILSON, Victoria and THEIN, Swee Lay. Individual-specific „fingerprints“ of human DNA. Online. *Nature*. 1985, roč. 1985, č. 1., s. 76-79. ISBN 8024461773. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/316076a0>. [cit. 2025-01-23].
15. JAMES, Stuart H.; NORDBY, Jon J.; BELL, Suzanne and WILLIAMS, Lana J. *Forensic Science: An Introduction to Scientific and Investigative Techniques*. Online. 4. Taylor & Francis, 2014. ISBN 9781439853863. Dostupné z: [https://www.google.cz/books/edition/Forensic\\_Science/dH\\_RBQAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1](https://www.google.cz/books/edition/Forensic_Science/dH_RBQAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1). [cit. 2025-01-23].
16. TAUPIN, Jane Moira. *Introduction to Forensic DNA Evidence for Criminal Justice Professionals*. Taylor & Francis, 2017. ISBN 9781439899106.
17. BUTLER, John M. *Forensic DNA typing : biology, technology, and genetics of STR markers.*, 2. Elsevier Academic Press, London, 2005. ISBN 9780080470610, 0080470610.
18. FISHER, Barry A. J. and FISHER, David R. *Techniques of Crime Scene Investigation*. Taylor & Francis, 2022. ISBN 9781498758161, 1498758169.
19. VYAS, Bhavik; HALÁMKOVÁ, Lenka and LEDNEV, Igor K. *A universal test for the forensic identification of all main body fluids including urine*. Online. *Forensic Chemistry*. 2020, roč. 2020, č. 20, s. 6. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.forc.2020.100247>. [cit. 2025-01-29].
20. HOUCK, Max M. *Materials Analysis in Forensic Science*. Online. Saint Louis: Elsevier Science & Technology, 2016. ISBN 9780128006733, 0128006730. Dostupné z: [https://www.google.cz/books/edition/Materials\\_Analysis\\_in\\_Forensic\\_Science/P8S3CgAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1&dq=detection+of+forensic+evidence&pg=PA470&printsec=frontcover](https://www.google.cz/books/edition/Materials_Analysis_in_Forensic_Science/P8S3CgAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1&dq=detection+of+forensic+evidence&pg=PA470&printsec=frontcover). [cit. 2025-01-29].

21. HALL, John E. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book.*, 12. Saunders, 2010. ISBN 9781437726749, 1437726747.
22. BELL, Suzanne. *Forensic Science An Introduction to Scientific and Investigative Techniques.* Online. 5. Taylor & Francis, 2019. ISBN 9781351691604, 1351691600. Dostupné z: [https://www.google.cz/books/edition/Forensic\\_Science/1KWaDwAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1](https://www.google.cz/books/edition/Forensic_Science/1KWaDwAAQBAJ?hl=cs&gbpv=1). [cit. 2025-02-12].
23. BEVEL, Tom and GARDNER, Ross M. *Bloodstain Pattern Analysis with an Introduction to Crime Scene Reconstruction.*, 2. Taylor & Francis, 2008. ISBN 9781420052725, 1420052721.
24. ŠIMSÁ, Daniel a SKOPAL, Jan. Chemická luminiscence luminolu a jeho syntéza ze snadno dostupných chemikálií. Online. *Chemické listy*. 2008, roč. 102, č. 1., article 102, s. 3. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/1605/1605>. [cit. 2025-02-12].
25. SCHMITZ, A. J. *Über des hydrazyde der trimensinsäure und der hemimellitsäure.* Online. Heidelberg: Inaug. Dissert., 1913. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1016/j.talanta.2006.12.045>. [cit. 2025-03-03].
26. ALBRECHT, Otto Herbert. *Chemiluminescence of hydrazide amino acid phthalic.* Vol 136. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 1928. [cit. 2025-03-03].
27. SPECHT, Walter. *The Chemiluminescence of Hemin as a means of finding and recognizing blood traces of forensic importance.* Vol 50. Angewandte Chemie, 1937. [cit. 2025-03-03].
28. PROESCHER, Frederick. and MOODY, M. Arthur. *Detection of blood by means of chemiluminescence.* Vol 24. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1939. [cit. 2025-03-03].
29. MCGRATH, John. *Chemical Luminescence Test for Blood.* Vol 2. British Medical Journal, 1942. [cit. 2025-03-03].
30. GRODSKY, Morris.; WRIGHT, Keith. and KIRK, L. Paul. *Simplified preliminary blood testing An Improved Technique and a comparative Study of Methods.* Vol 42. The Journal of Criminal Law, 1951. [cit. 2025-03-03].
31. SINGH, Jaskaran and SHARMA, Neeta Raj. *Crime Scene Management Within Forensic Science.* Springer Nature Singapore, 2022. ISBN 9789811640919, 9811640912.

32. JAMES, Stuart H.; KISH, Paul E. and SUTTON, T. Paulette. *Principles of Bloodstain Pattern Analysis Theory and Practice*. Taylor & Francis, 2005. ISBN 9781420039467, 1420039466.
33. LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Springer US, 2007. ISBN 9780387463124, 0387463127.
34. SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James and NIEMAN, Timothy A. *Principles of Instrumental Analysis*. Saunders College Pub., 1998. ISBN 9780030020780, 0030020786. [cit. 2025-03-03].
35. CAMPBELL, Anthony K. *Chemiluminescence Principles and Applications in Biology and Medicine*. VCH, 1988. ISBN 9780895735010, 0895735016. [cit. 2025-03-03].
36. PAYNE-JAMES, Jason and BYARD, Roger. *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*. Elsevier Science, 2015. ISBN 9780128000557, 0128000554.
37. KRICKA, Larry. J. and WHITEHEAD, Thomas. P. Chemiluminescent and bioluminescent immunoassays. Online. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1987, roč. 1987, č. 8, article 5, s. 829-833. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0731-7085\(87\)80101-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0731-7085(87)80101-2). [cit. 2025-03-23].
38. KRICKA, Larry J. Chemiluminescent and bioluminescent techniques. Online. *Clinical Chemistry*. 1991, roč. 37, č. 9, s. 1472-1481. ISSN 0009-9147. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/clinchem/37.9.1472>. [cit. 2025-05-24].
39. KHAN, Parvez; IDREES, Danish and MOXLEY, Michael A. Luminol-Based Chemiluminescent Signals: Clinical and Non-clinical Application and Future Uses. Online. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015, roč. 2015, č. 2, article 2, s. 333-355. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0850-1>. [cit. 2025-03-23].
40. BARNETT, Neil. W. and FRANCIS, Paul. S. CHEMILUMINESCENCE: Liquid-Phase. Online. In: *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*. 2. Australia: Deakin University, Geelong, VIC, Australia, 2005, s. 511-521. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B0123693977000704>. [cit. 2025-03-24].
41. BAEYENS, Wilfred Robert G.; NAKASHIMA, Kenichiro; IMAI, Kazuhiro; LING, Betty Lin and TSUKAMOTO, Yukie. Development of chemiluminescence reactions in biomedical analysis. Online. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1989, roč. 1989, č. 7, article 4, s. 407-412. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(89\)80027-5](https://doi.org/10.1016/0731-7085(89)80027-5). [cit. 2025-03-24].

42. LIAO, Shao-Yen and WHANG, Chen-Wen. Indirect chemiluminescence detection of amino acids separated by capillary electrophoresis. Online. *Journal of Chromatography A*. 1996, roč. 1996, č. 736, article 1-2, s. 247-254. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)01353-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)01353-9). [cit. 2025-03-24].
43. HASTINGS, J. Woodland and MC ELROY, William David. Online. In: *Biographical Memoirs: Volume 85*. Washington DC: The National Academies Press, 2004, s. 164-182. Dostupné z: <https://nap.nationalacademies.org/read/11172/chapter/11>. [cit. 2025-03-24].
44. MCCAPRA, Frank. Chemiluminescence and bioluminescence. Online. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 1990, roč. 1990, č. 1, article 51, s. 21-28. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/101060309087037C>. [cit. 2025-03-24].
45. SCIFUN.ORG. *Shakhashiri Chemical Demonstrations Videos*. Online. 2008. Dostupné z: [http://scifun.org/ScienceVideos/Guide\\_Shakhashiri\\_49Demo\\_Videos.pdf](http://scifun.org/ScienceVideos/Guide_Shakhashiri_49Demo_Videos.pdf). [cit. 2025-03-24].
46. KIRK, E. Raymond and OTHMER, F. Donald. *Concise encyclopedia of chemical technology*. 3. New York: John Wiley: A Wiley-interscience publication, 1985. ISBN 0-471-86977-5.
47. POLICIE ČESKÉ REPUBLIKY. *Trestní řízení*. Online. Policie České Republiky. 2025. Dostupné z: <https://policie.gov.cz/clanek/trestni-rizeni.aspx?>. [cit. 2025-05-22].
48. SPALDING, Robert P. *Identification and Characterization of Blood and Bloodstains*. CRC Press, 2002. ISBN 9780429257094.
49. VIRKLER, Kelly and LEDNEV, Igor K. Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Online. *Forensic Science International*. 2009, roč. 2009, č. 188, article 1-3, s. 1-17. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.02.013>. [cit. 2025-04-15].
50. LENNARD, Chris and STOILOVIC, Milutin. Application of forensic light sources at the crime scene. In: *The Practice of Crime Scene Investigation*. CRC Press, 2004, s. 28. ISBN 9780429245718.

51. VANDENBERG, Nicholas and VAN OORSCHOT, Roland A. H. The use of Polilight ni the detection of Seminal fluid, Saliva, and Bloodstain and Comparison with Conventional Chemical -Based Screening test. Online. *Journal of Forensic Science*. 2006, roč. 2006, č. 51, article 2, s. 10. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2006.00065.x>. [cit. 2025-04-15].
52. HOUCK, Max M. and SIEGEL, Jay A. *Foundamentals of Forensic Science*. Online. Academic Press, 2006. ISBN 0080507085. Dostupné z: [https://www.google.cz/books/edition/Fundamentals\\_of\\_Forensic\\_Science/xgnYLTBwCXYC?hl=cs&gbpv=1](https://www.google.cz/books/edition/Fundamentals_of_Forensic_Science/xgnYLTBwCXYC?hl=cs&gbpv=1). [cit. 2025-04-15].
53. NELSON, David G. and SANTUCCI, Karen. A. An Alternate Light Source to Detect Semen. Online. *Academic Emergency Medicine*. 2025, roč. 3, č. 32, article 3, s. 1-4. ISSN 1553-2712. Dostupné z: <https://doi.org/10.1197/aemj.9.10.1045>. [cit. 2025-04-15].
54. QUICKENDEN, Terence I. and COOPER, Paul D. Increasing the specificity of the forensic luminol test for blood. Online. *Luminescence*. 2001, roč. 16, č. 3, s. 251-253. ISSN 1522-7235. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bio.635>. [cit. 2025-06-19].
55. KADISH, Karl; SMITH, Kevin M. and GUILARD, Roger. *The Porphyrin Handbook*. Online. Elsevier Science, 2000. ISBN 9780123932082, 0123932084. Dostupné z: [https://www.google.cz/books/edition/The\\_Porphyrin\\_Handbook\\_Volume\\_8/fVzv95mssn8C?hl=cs&gbpv=1](https://www.google.cz/books/edition/The_Porphyrin_Handbook_Volume_8/fVzv95mssn8C?hl=cs&gbpv=1). [cit. 2025-04-27].
56. BUNN, Howard. F. and FORGET, Bernard. G. Hemoglobin: Molecular, Genetic, and Clinical Aspects. 2. W.B. Saunders Company, 1986. ISBN 9780721621814.
57. SVISTUNENKO, Dimitri A. Reaction of haem containing proteins and enzymes with hydroperoxides: The radical view. Online. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2005, roč. 1707, č. 1, s. 127-155. ISSN 00052728. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2005.01.004>. [cit. 2025-04-29].
58. BAJ, Stefan and KRAWCZYK, Tomasz. An investigation into the reaction of hemin-catalysed luminol oxidation by peroxy compounds. Online. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2006, roč. 183, č. 1-2, s. 111-120. ISSN 10106030. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2006.03.002>. [cit. 2025-04-29].

59. COX, Milton. A Study of the Sensitivity and Specificity of Four Presumptive Tests for Blood. *Journal of Forensic Sciences*. 1991, roč. 36, č. 5, s. 1503-1511. ISSN 0022-1198. [cit. 2025-04-29].
60. LAMB, Robert. *How luminol works* [online]. HowStuffWorks, [cit. 2025-05-16]. Dostupné z: <https://science.howstuffworks.com/luminol.htm>
61. FREUDENRICH, Craig. *How Light Sticks Work* [online]. HowStuffWorks, [cit. 2025-05-16]. Dostupné z: <https://science.howstuffworks.com/innovation/everyday-innovations/light-stick.htm>
62. FREUDENRICH, Craig. *How Blood Works* [online]. HowStuffWorks, [cit. 2025-05-19]. Dostupné z: <https://health.howstuffworks.com/human-body/systems/circulatory/blood.htm>
63. BARNI, Filippo; LEWIS, Simon W.; BERTI, Andrea; MISKELLY, Gordon M. and LAGO, Giampietro. Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection. Online. *Talanta*. 2007, roč. 72, č. 3, s. 896-913. ISSN 00399140. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.12.045>. [cit. 2025-06-19].