

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

ELLA DOLNÍČKOVÁ

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Určení posmrtného intervalu pomocí mikrobiomu  
Bakalářská práce

2025

Ella Dolníčková

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Predicting the Post Mortem Interval Using Microbiome  
Bachelor Thesis

2025

Ella Dolníčková

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

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Ella Dolníčková**  
Osobní číslo: **C22184**  
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Téma práce: **Určení posmrtného intervalu pomocí mikrobiomu**  
Téma práce anglicky: **Predicting the Post Mortem Interval Using Microbiome**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na určení posmrtného intervalu.
2. V úvodu práce se zaměřte na vysvětlení posmrtného intervalu a uveďte v jakých odvětvích má význam a proč. Dále popište tradiční metody používané k určení posmrtnému intervalu.
3. V další části práce popište fáze rozkladu lidského těla, složení a proměnu mikrobiomu na lidských tkáních a orgánech. Z odborných studií uveďte konkrétní příklady v závislosti na době smrti.
4. Popište metodu, která se v současnosti pro sledování mikrobiomu používá a z odborných studií uveďte výhody a nevýhody oproti tradičním metodám. Zaměřte se zhodnocení dosažených výsledků příp. budoucnost využití pro predikci posmrtného intervalu.
5. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 ve znění dodatku č. 2 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Petra Motková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

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 Určení posmrtného intervalu pomocí mikrobiomu 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 25. 6. 2025

Ella Dolníčková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych touto cestou vyjádřila upřímné poděkování vedoucí mé bakalářské práce Ing. Petře Motkové, Ph.D., za její odborné vedení, trpělivost, laskavý přístup a cenné rady, které mi poskytovala během psaní této práce. Velké poděkování patří také mé rodině za jejich podporu a povzbuzení během celého studia. Jejich víra ve mne byla neocenitelnou oporou.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zabývá určením posmrtného intervalu pomocí analýzy mikrobiomu. Podrobně popisuje složení lidského mikrobiomu, fáze rozkladu těla, roli thanatomikrobiomu a metody detekce mikroorganismů včetně využití genetické analýzy a strojového učení. Závěrečná část se věnuje aktuálním výzkumům a budoucím možnostem využití mikrobiologických dat ve forenzní praxi.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

posmrtný interval, mikrobiom, rozklad lidského těla, thanatomikrobiom, forenzní mikrobiologie, sekvenování 16S rRNA

## **TITLE**

Predicting the Post Mortem Interval Using Microbiome

## **ANNOTATION**

The bachelor thesis deals with the determination of the postmortem interval using microbiome analysis. It describes in detail the composition of the human microbiome, the phases of body decomposition, the role of the thanatomicrobiome, and methods for detecting microorganisms, including the use of genetic analysis and machine learning. The final section discusses current research and future opportunities for the use of microbiological data in forensic practice.

## **KEYWORDS**

postmortem interval, microbiome, human body decomposition, thanatomicrobiome, forensic microbiology, 16S rRNA sequencing

# **OBSAH**

<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>.....</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK.....</b>	<b>.....</b>
<b>ÚVOD.....</b>	<b>12</b>
<b>1 ÚLOHA MIKROORGANISMŮ PŘI URČENÍ POSMRTNÉHO INTERVALU .....</b>	<b>13</b>
1.1 Mikroorganismy lidského těla .....	13
1.1.1 Dlaň ruky .....	14
1.1.2 Gastrointestinální trakt .....	15
1.1.3 Dutina ústní .....	15
1.1.4 Kůže .....	16
1.1.5 Krev .....	16
1.2 Rozdílný mikrobiom u mužů a u žen.....	16
1.3 Definice a význam posmrtného intervalu .....	17
1.4 Tradiční metody určení posmrtného intervalu.....	18
1.4.1 Krátkodobý posmrtný interval .....	19
1.4.2 Dlouhodobý posmrtný interval.....	19
<b>2 FÁZE ROZKLADU LIDSKÉHO TĚLA .....</b>	<b>20</b>
2.1 Autolýza.....	21
2.1.1 Algor mortis .....	21
2.1.2 Rigor mortis.....	22
2.1.3 Livor mortis.....	23
2.2 Nafouknutí .....	24
2.2.1 Činnost mikroorganismů .....	25
2.3 Aktivní rozklad .....	26
2.3.1 Reakce mikroorganismů uvnitř těla .....	26
2.3.2 Hmyz .....	27

2.4	Pokročilý rozklad.....	28
2.4.1	Adipocere .....	28
2.4.2	Mumifikace .....	29
2.5	Skeletonizace .....	29
2.5.1	Role mikroorganismů.....	30
<b>3</b>	<b>THANATOMIKROBIOM.....</b>	<b>31</b>
3.1	Dominantní druhy .....	32
3.1.1	Trasy kolonizace .....	34
3.2	Půdní mikroorganismy.....	35
3.2.1	Změny v půdním společenství vlivem rozkladu .....	36
<b>4</b>	<b>METODY DEKTEKCE.....</b>	<b>37</b>
4.1	Sekvenování 16S rRNA.....	38
4.2	Sangerovo sekvenování .....	39
4.3	Sekvenování nové generace.....	39
4.4	Strojové učení .....	40
4.4.1	Random forest .....	40
4.5	Lidský posmrtný mikrobiální projekt .....	41
4.6	Savčí modely.....	42
<b>5</b>	<b>BUDOUCÍ SMĚŘOVÁNÍ.....</b>	<b>43</b>
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>44</b>
	<b>POUŽITÁ LITERATURA.....</b>	<b>45</b>

## SEZNAM ZKRATEK

ATP	adenosintrifosfát
CO <sub>2</sub>	oxid uhličitý
DNA	deoxyribonukleová kyselina (Deoxyribonucleic acid)
HPMP	lidský posmrtný mikrobiální projekt (Human postmortem microbiome project)
ML	strojové učení (Machine learning)
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NGS	sekvenování nové generace (Next generation sequencing)
OTU	operační taxonomická jednotka
PCR	polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction)
PMI	posmrtný interval
RF	náhodné lesy (Random forest)
rRNA	ribozomální RNA (Ribonucleic acid)
RT – qPCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
spp.	druhy (species)

## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

<b>Obrázek 1:</b> Fáze rozkladu (upraveno dle Cohen; 2019).....	20
<b>Obrázek 2:</b> Livor mortis (Serra, 2025) .....	23
<b>Obrázek 3:</b> Lidský posmrtný mikrobiom (upraveno dle Javan <i>et al.</i> , 2016a).....	31
<b>Obrázek 4:</b> Sekvenování genu 16S rRNA (upraveno dle Aryal, 2024).....	39
<b>Obrázek 5:</b> Model Random Forest (upraveno dle Yehoshua, 2023) .....	41
<b>Tabulka 1:</b> Časový průběh rigor mortis za běžných podmínek (Dillon, 2025) .....	22
<b>Tabulka 2:</b> Dominantní mikroorganismy během rozkladu (Cláudia-Ferreira <i>et al.</i> , 2023).....	32

## ÚVOD

Stanovení posmrtného intervalu, tedy doby od úmrtí člověka, je klíčový poznatek forenzní medicíny a kriminalistiky. Přesné určení časového rozmezí od smrti do nálezů těla může výrazně napomoci při vyšetřování trestných činů, zejména při identifikaci podezřelých, ověřování jejich alibi nebo rekonstrukci událostí, které vedly k úmrtí člověka.

Tradiční metody pro určení posmrtného intervalu využívají fyzikální a biologické změny na těle, mezi něž patří měření poklesu tělesné teploty, hodnocení posmrtných skvrn, posmrtné ztuhlosti či stupně rozkladu těla. Tyto metody mají však svá omezení a jejich přesnost je tak použitelná pouze v krátkém časovém období po smrti.

V posledních letech vzrostl zájem o alternativní přístupy, přičemž do popředí se dostává forenzní mikrobiologie. Studie ukazují, že mikroorganismy kolonizující tělo po smrti – tzv. thanatomikrobiom, vykazují specifické časové změny, a lze je proto využít k odhadu posmrtného intervalu s vyšší přesností. Sleduje se proměnlivost mikrobiálních komunit na různých tělních lokalitách i v okolním prostředí během rozkladu těla. Tyto změny se odehrávají nejen v trávicím traktu, ale také v dutině ústní, na kůži či plicích. Studium těchto postupných změn otevírá nové možnosti pro odhad posmrtného intervalu zejména v pokročilejších fázích rozkladu.

Cílem této bakalářské práce je shrnout aktuální poznatky o kolonizaci mikroorganismů během jednotlivých fází rozkladu a jejich využití ke stanovení posmrtného intervalu. Práce je rovněž zaměřena na metody analýzy a detekci jednotlivých mikroorganismů ze vzorků a budoucí perspektivy tohoto přístupu ve forenzní vědě.

# 1 ÚLOHA MIKROORGANISMŮ PŘI URČENÍ POSMRTNÉHO INTERVALU

Lidské tělo představuje složitý ekosystém osídlený mnoha biliony mikroorganismy, které společně žijí symbiotickým způsobem. V případě úmrtí člověka dochází v tomto ekosystému k početným biochemickým či fyzikálním změnám. Mezi hlavní změnu v mikroprostředí a následný vznik nepříznivých podmínek pro mikroorganismy, je považována produkce kyseliny močové, hypoxanthinu a akumulace nikotinamidadeninukleotidu (NADH) v těle (Dash a Das, 2022).

Postupné změny ve složení mikroorganismů vznikající v lidském těle po smrti je možné využít při odhadu posmrtného intervalu (PMI), pro určení místa a příčiny úmrtí, popřípadě také k identifikaci původu neznámých vzorků v porovnání s identifikovanými jedinečnými mikroorganismy charakterizující každého jednotlivce (Metcalf, 2019; Singh a Okpeku, 2024). Při zjišťování okolností nepřírodní smrti pomáhají mimo jiné také stupeň rozkladu, odpor kůže, teplota a další (Dash a Das, 2022).

V posledních letech se výzkum mikroorganismů jako nástroje pro forenzní vědu výrazně rozšířil díky technologickým pokrokům v sekvenování nové generace a vylepšení bioinformatických metod (Zhang *et al.*, 2023).

## 1.1 Mikroorganismy lidského těla

Lidská mikroflóra je souhrnné označení pro všechny mikroorganismy žijící uvnitř lidského těla i na jeho povrchu (Národní zdravotnický informační portál, 2025). Jedná se o bakterie, archeu, houby, protisty a viry žijící v definovaném prostředí těla za přítomnosti určitých fyzikálních, biologických a chemických podmínek. Odhadovaný počet bakteriálních buněk je 100–200 bilionů, zatímco samotné lidské tělo obsahuje 50–100 bilionů somatických buněk. Kolonizace našeho těla je nepřetržitý proces, který začíná již od narození a pokračuje celý život. Složení mikrobiomu je závislé na několika faktorech, mezi které patří rasový původ člověka, strava, životní styl, genetika, vliv prostředí a další. Přestože každý člověk má mikrobiom jinak složený (mezi jednotlivci lišící se až o 90 %) existuje skupina mikroorganismů, která se nazývá jádrový mikrobiom a je pro všechny stejná. Převážná většina těchto mikroorganismů tělu žádným způsobem neškodí, naopak pomáhá ke správnému fungování organismu například produkcí některých nezbytných vitamínů

nebo jsou důležitou složkou imunitního systému. Bakteriální rody lidské mikroflóry se shlukují do čtyř hlavních kmenů: *Bacteroidota*, *Bacillota*, *Actinomycetota* a *Pseudomonadota* (Cláudia Ferreira *et al.*, 2023; Singh a Okpeku, 2024).

Vzhledem k obrovskému forenznímu potenciálu, který představuje mikrobiální analýza, je nutné vyvinout standardizované operační postupy pro databázi na shromažďování, analýzu a interpretaci mikrobiálních důkazů. Umožní se tak využití mikroorganismů jako pomocného materiálu v trestné oblasti, například k odhadu posmrtného intervalu a dalších klíčových informacích (García *et al.*, 2020). I přes veškeré výhody s využitím mikrobiální analýzy, se ale někteří vědci obávají aplikace tohoto oboru kvůli mikrobiálním variacím, problémům s klasifikací či omezenou biomasou (García *et al.*, 2020).

### 1.1.1 Dlaň ruky

Mezi hojně osídlená mikrobiální místa patří dlaň ruky. Podle jedné studie se ukázalo, že povrch dlaně ruky může obsahovat až 150 různých bakteriálních druhů z nichž 17 % je společných pro obě ruky a pouhých 13 % sdílejí různé osoby. V případě, že dojde ke kontaktu s vnějšími povrchy, mohou se na ně přenést mikroorganismy kůže. Složení mikroorganismů na dotykovém povrchu bude pro daného člověka tak specifické, že s přesností 95 % lze určit, kdo se daného povrchu dotkl, jakým prstem nebo částí těla (Singh a Okpeku, 2024; Rogers, 2024). Povrch rukou skrývá vyšší úroveň mikrobiální diverzity oproti jiným částem kůže. Mezi lety 2008 a 2015 bylo provedeno několik výzkumů týkajících se identifikace mikrobiomu rukou. Přestože se mikrobiom rukou neustále mění, v 18 studiích se vědci zaměřili především na bakterie a mnohem méně na houby, viry a prvoky. Byly nalezeny 4 hlavní kmeny bakterií: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* a *Bacteroidetes*. Klíčovými faktory ovlivňující složení mikrobiomu rukou jsou časová a biogeografická dynamika, věk, pohlaví a další vnější faktory (Edmonds-Wilson, 2015).

Ve studii Park *et al.* (2017) byla sledována diverzita mikrobiálních společenstev na dlaních ruky mezi jednotlivci. Pomocí kultivačních metod. Bylo vyizolováno 686 bakteriálních kmenů a pomocí analýzy sekvence genu 16S rRNA dourčeno do rodů. Hlavními vyizolovanými rody byly *Staphylococcus*, *Micrococcus* a *Enhydrobacter*. Podle výzkumníků se bakteriální komunity dlaní kvalitativně podobají více komunitám na kůži předloktí než komunitám na čele nebo vnitřním lokti (Pyrek, 2020).

### 1.1.2 Gastrointestinální trakt

Dalším důležitým a velkým mikroekosystémem našeho těla jsou střeva a gastrointestinální trakt. Vyskytuje se zde více než 1000 druhů bakterií. Jedná se o největší a nejrozmanitější mikroekosystém lidského těla, který je ve srovnání s vnějšími orgány, např. kůží, méně náchylný na změny okolních teplot. Mezi soudními lékaři začíná být střevní mikroflóra důležitým ukazatelem pro odhadování PMI (Li *et al.*, 2023). Dominantním druhem je fakultativně anaerobní bakterie *Escherichia coli*, která se zde vyskytuje v hojném počtu. Důležitými kmeny jsou také *Bacteroidetes*, *Bacillota*, *Firmicutes*, *Actinomycetota* a *Pseudomonadota*. Mezi další převládající, ale méně hojné bakterie patří zástupci rodů *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* či *Faecalibacterium*. Střevní mikrobiom chrání před rozmnožením patogenních mikroorganismů, zpracovává živiny a přeměňuje je na energii, komunikuje s imunitním systémem a podílí se na mnoha chemických reakcích (např. metabolismus léčiv) (Cláudia-Ferreira *et al.*, 2023; Lloyd-Price *et al.*, 2016).

Přestože bakteriální složka tvoří většinu střevní mikrobioty, ve střevě se rovněž nachází archea, bakteriofágy, viry, jednobuněčné eukaryoty a houby. Mají důležitý význam pro udržení zdravé mikrobiální komunity. V lidském střevě se vyskytují houby rodu *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* a *Penicillium* tvořící 0,3 % mikrobioty (Dieterich *et al.*, 2018).

### 1.1.3 Dutina ústní

Unikátní složení mikroorganismů je zastoupeno také v dutině ústní, kde se vyskytuje *Streptococcus* spp., *Fusobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Actinomyces* spp., *Neisseria* spp. a další. Sliny představují velmi významnou složku pro určování PMI, jelikož místní mikrobiom je odlišný od jiných míst v těle, ale u jednotlivců je podobný. Ve slinách se přirozeně vyskytují antimikrobiální faktory, které se již po smrti neprodukují, a tak přispívají k posmrtné mikrobiální invazi do dutiny ústní (Cláudia-Ferreira *et al.*, 2023).

Orální složení mikroorganismů se během různých fází rozkladu mění a bakteriální společenství je pro každou fázi odlišné. Autoři studie Adserias-Garriga *et al.* (2017) sledovali orální mikrobiom na patře, jazyku, tvářích a zubním povrchu v každé fázi rozkladu. V této studii bylo prokázáno, že původní orální mikrobiom se během fáze rozkladu změnil a to tak, že v pozdím stádiu rozkladu se objevily zástupci čeledí *Peptostreptococcaceae*, *Enterococcaceae* a *Bacteroidaceae*. Při posmrtné analýze mohou tedy soudní lékaři určit,

v jaké fázi rozkladu se tělo nachází a odhadnout tak PMI (Adserias-Garriga *et al.*, 2017; Singh a Okpeku, 2024).

#### **1.1.4 Kůže**

Složení kožního mikrobiomu se na různých částech lidského těla liší podle fyzikálních a chemických vlastností (pH, pot, kožní maz). Mezi nejvíce zastoupené rody na kůži patří *Corynebacterium* a *Staphylococcus*. Mazové žlázy umístěné například na obličeji, pokožce hlavy a zádech, tvoří velké množství mazu a množí se zde především lipofilní anaerobní zástupci rodu *Cutibacterium*. Pro forenzní vědu může být *Cutibacterium acnes* důležité, protože jeho přítomnost je vysoce specifická a v případě jeho prokázání v odebraném vzorku lze potvrdit, že se jedná o kůži (Hayman a Oxenham, 2016). Kůže je největší orgán těla a jedná se o komplexní živý ekosystém ukrývající různá mikrobiální společenství na různých místech. Stupeň diverzity kožního mikrobiomu závisí na taxonomické hloubce analýzy. Konkrétní složení mikrobiomu závisí na prostředí, vývoji, zdravotním stavu, výživě atd. (Tozzo *et al.*, 2020).

#### **1.1.5 Krev**

Krev je tekutina, která se běžně nachází v místě úmrtí a může pocházet z různých částí těla včetně menstruační krve, nosní krve, žilní krve apod. Dlouhodobě byla krev považována za sterilní, avšak pomocí studie sekvenování 16S rRNA bylo zjištěno, že menstruační krev obsahuje velké množství druhů *Lactobacillus*, nosní krev je ovlivněná nasálním dechem ředící mikroorganismy a krev z kožního epitelu obsahuje mikroorganismy z kůže. Z nedávné studie bylo rovněž zjištěno, že pomocí krve dochází k translokaci komenzálních mikroorganismů z jiných částí těla, a to zejména ze střeva, úst či urogenitálního traktu (Hayman a Oxenham, 2016).

### **1.2 Rozdílný mikrobiom u mužů a u žen**

Mikrobiom u žen a mužů se liší zejména v důsledku biologických, hormonálních a anatomických faktorů. Tyto rozdíly mohou ovlivňovat složení a funkci mikroorganismů v těle. Pohlaví je jeden z hlavních faktorů, které ovlivňuje střevní mikrobiotu, avšak přímá souvislost nebyla dosud dostatečně zjištěna. Na základě několika studií se přesto prokázaly rozdíly ve složení mikrobiomu u žen a u mužů. V roce 2006 probíhal výzkum ve Francii, Německu, Itálii a Švédsku. Bylo zjištěno, že u mužů byla pozorována vyšší úroveň skupiny

*Bacteroides-Prevotella*. Rozdíly ve střevní mikrobiotě jsou mezi pohlavím zřetelnější, když je v těle přítomna střevní infekce. Při porovnání mikrobioty pacientů se střevním onemocněním způsobeným patogenními mikroorganismy (*Salmonella*, *Escherichia coli* produkující Shiga toxin, *Campylobacter* a *Shigella*) a zdravých jedinců, mělo pohlaví vliv na celkovou četnost taxonů. Ve studii z Itálie se zjistilo, že také slizniční mikrobiota je odlišná u obou pohlaví. U žen vykazovaly vyšší četnost taxonomické jednotky z *Actinobacteria*, *Lactobacillales*, *Streptococcaceae*, *Bifidobacterium* a méně z čeledi *Veillonellaceae* a neklasifikovaných z třídy *Clostridia* (Kim *et al.*, 2020).

U žen ve vaginálním mikrobiomu je přítomno velké množství bakterií, které jsou důležité pro zdraví ženy a novorozenců. Dominantní taxony jsou *Bacillota* (*Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*), *Pseudomonadota* (např. *Enterobacteriaceae*). Přestože je vaginální mikrobiom stabilní, je u každé ženy odlišný a záleží na zdravotním stavu, těhotenství, užívání antikoncepce atd. Mužské pohlavní orgány nebyly tak podrobně studovány v porovnání s ženským pohlavním ústrojím. Přesto bylo prokázáno, že sperma má u zdravých osob svůj specifický mikrobiom. Přítomný je *Lactobacillus* nebo *Prevotella*. Přítomnost druhů jako je *Ureaplasma urealyticum* či *Mycoplasma hominis* většinou souvisí s nízkou kvalitou spermatu (Hayman a Oxenham, 2016).

Rozdílné složení mikroorganismů u obou pohlaví se vyskytuje také po smrti. Výzkum provedený Bell *et al.* (2018) zahrnoval vyšetření různých anatomických oblastí například srdce. Zjistilo se, že změny v mikrobiálních komunitách byly závislé jak na pohlaví, tak na PMI. Stejný tým vědců provedl další výzkum, kdy u deseti zemřelých s PMI v rozmezí od 6 do 58 hodin pozorovali srdeční tkáň. Rozdíly v mikrobiomech byly potvrzené jak u mužů, tak u žen, kdy byla prokázána zvýšená přítomnost rodu *Streptococcus* u mužů a vyšší četnost rodu *Pseudomonas* a *Clostridium* u žen. Pomocí provedených výzkumů se prohloubil potenciál analýzy mikrobů pro odhad PMI a rovněž došlo k částečnému objasnění pochodů, ke kterým dochází v mikrobiálních komunitách během procesu rozkladu (Bell *et al.*, 2018; Singh a Okpeku, 2024).

### 1.3 Definice a význam posmrtného intervalu

Posmrtný interval je označení pro časové rozmezí mezi fyziologickou smrtí a prohlídkou zemřelého. Jedná se o velmi důležitou součást při vyšetřování smrti

(Sampaio-Silva *et al.*, 2013). Forezní patologové tímto omezením doby úmrtí definují časovou osu událostí, které vedly ke smrti (Shrestha *et al.*, 2023).

Po smrti v těle nastává přirozený sled událostí a reakcí vedoucích k rozkladu těla. I když tyto změny probíhají v relativně přesném pořadí, řada vnějších i vnitřních faktorů mohou tento proces zrychlit či zpomalit (Klimešová a kol., 2015). Mezi vnitřní faktory, které jsou úzce spojeny s posmrtnými procesy patří věk zemřelého, pohlaví a také tělesná hmotnost. Velký vliv mají i vnější faktory jako je teplota prostředí, vlhkost, půdní faktory a činnost hmyzu či jiných organismů (Adheke a Oghenemavwe, 2023).

Přestože soudním lékařem získané a vyhodnocené parametry jsou velmi důležité pro stanovení PMI, lze se na ně spolehnout v prvních 24–72 hodinách od smrti. Po uplynutí této doby jsou mikroorganismy a hmyz obvykle nejcennějším a často jediným prostředkem pro stanovení doby smrti (Anderson, 2005). Hlavní výhodou pro odhadování PMI pomocí mikrobiálních komunit je, že předvídatelně reagují na změny prostředí (Moitas *et al.*, 2024).

#### **1.4 Tradiční metody určení posmrtného intervalu**

Pro určení PMI se využívají jak tradiční, tak moderní postupy. Kriminalisté v případech nepřirozeného úmrtí prověřují všechny informace, které jim případně napomůžou dopadnout pachatele. Používají jak metody spojené s poslední komunikací zemřelého (aktivita mobilního telefonu nebo očitě svědectví) tak biologické metody související s lidským tělem a okolním prostředím. Každá tato metoda má pro přesné stanovení PMI svá omezení (dny, týdny, měsíce, roky). Pravdou však je, že čím delší je PMI, tím těžší je stanovení přesné doby úmrtí (Metcalf, 2019).

Soudní lékaři se spoléhají na různé metody, jako je vyšetření posmrtných změn v těle, analýza kostních struktur a instrumentální a molekulární přístupy. Přes toto úsilí a nový rozvoj metodik zůstává přesný odhad PMI složitým úkolem. Do dnešní doby neexistuje žádná přesná a bezpečná metoda, jak přesně určit dobu od smrti, a odhad pozdního posmrtného intervalu zůstává jedním z nejdiskutovanějších témat ve forezní patologii (Franceschetti *et al.*, 2023).

V dnešní době se PMI stanovuje pomocí biochemických, fyzikálních, mikrobiologických, entomologických či botanických výzkumů (Sampaio-Silva *et al.*, 2013).

### **1.4.1 Krátkodobý posmrtný interval**

V běžné praxi se standardně krátkodobý PMI (tj. během prvních 24–72 hodin po smrti) odhaduje dle posouzení důkazů, které vznikly reakcí samotného těla. Jedná se o změnu tělesné teploty, svalovou a nervosvalovou reaktivitu, postmortální lividitu neboli promodráání či autolýzu. Tato posmrtná fáze je klíčová pro co nejpřesnější odhad PMI. Definitivní závěry ohledně odhadu PMI však není možné vyhodnotit na základě jedné postmortální změny (Fais *et al.*, 2018). V období bezprostředně po úmrtí člověka dochází v těle k rychlým biochemickým a fyziologickým změnám, které jsou způsobeny především absencí krevního oběhu a ztrátou regulačních mechanismů. Tyto změny jsou nejvíce pozorovatelné v očích a na kůži. V očích se objevuje segmentace retinálních krevních cév, která je projevem přerušení kontinuálního sloupce krve. Tento oční jev se objeví do půl hodiny po smrti a může trvat až dvě hodiny. Mezi další oční projevy během pár hodin po smrti patří ztráta nitroočního tlaku a zakalení rohovky. V tomto období kůže ztrácí svoji pružnost a lesk, projevující se celkovým zblednutím člověka. Histologické vyšetření kůže nevykazuje žádné změny do 6 hodin od smrti (Almulhim a Menezes, 2023).

### **1.4.2 Dlouhodobý posmrtný interval**

Dlouhodobý PMI, což znamená dny až roky, se hodnotí dle stádia rozkladu, entomologické analýzy (růst larev much) či stanovení koncentrace kostního radioizotopu. Aby bylo určení PMI co nejpřesnější, je nutné zohlednit věk, pohlaví, fyziologické a patologické stavy zemřelého. V tomto stádiu se pro přesné určení PMI využívá závislá časová degradace biologických markerů jako je DNA, RNA a proteiny (Haas *et al.*, 2021).

## 2 FÁZE ROZKLADU LIDSKÉHO TĚLA

Rozklad lidského těla po smrti je nepřetržitý proces, který začíná v okamžiku úmrtí rozpadem tkání a končí, když je tělo ve stádiu vysušené kostry. Změny vznikající na těle ihned po smrti jsou často rychlejší než ty, k nimž dochází postupně během procesu rozkladu (Goff, 2009). Již čtyři minuty po smrti enzymy v těle začnou rozkládat buňky, a poté dojde k osídlení bakteriemi ze střev. Mezitím dochází k vnějšímu zpracování těla pomocí bakterií, které žijí na kůži. Přestože je každý rozklad individuální a liší se na základě podmínek, kde se zemřelá osoba vyskytuje a dalších faktorů (počasí, teplota, vlhkost, pH, příčina smrti, poloha těla či hladina kyslíku) obecně existuje pět fází rozkladu. První fáze se nazývá autolýza, druhá fáze nafouknutí, třetí fáze aktivní rozklad, čtvrtá fáze pokročilý rozklad a poslední pátá fáze je skeletonizace, jak lze vidět na obrázku 1 (Engelhaupt, 2024).



**Obrázek 1:** Fáze rozkladu (upraveno dle Cohen; 2019)

Mezi obecné známky smrti patří velmi bledá kůže, která po několika minutách ztrácí pružnost. Rty jsou suché a tvrdé. Nastávají oční změny, které zahrnují zakalení rohovky a ztrátu rohovkového reflexu a dochází k celkovému ochabnutí oka. V případě, že po smrti jsou oči otevřené, dochází k usazování částic prachu přímo do oka. Buněčné zbytky, sliznice a prach společně vytváří žlutou trojúhelníkovou oblast na obnaženém sklivci. Mezi další oční projevy patří fragmentace krevních cév neboli „kevorkianské znamení“, které se objeví pár minut

po smrti a trvá asi hodinu. Ve sklivci rovněž dochází k trvalému vzestupu hladiny kalia (Shedge *et al.*; 2023).

## 2.1 Autolýza

První fází lidského rozkladu je autolýza neboli samozažívání a začíná ihned po smrti. Mezi okamžité posmrtné změny patří necitlivost, ztráta volných pohybů, zástava dýchání a oběhu a zástava funkcí nervového systému. Smrt nastává v okamžiku, kdy se zastaví krevní oběh a dýchání, tudíž tělo nemá možnost získat kyslík a odstranit odpadní látky. Nadbytek CO<sub>2</sub> vytvoří kyselé prostředí, které způsobí praskání membrán buněk. Z popraskaných membrán se uvolní enzymy, které začnou rozkládat vnitřní orgány (Brunning, 2014; Shedge *et al.*, 2024).

Během první fáze rozkladu je mrtvolný ekosystém složen nejvíce z bakterií a mikroorganismů, kteří žijí v živém těle i na něm. Po smrti dochází k selhání imunitního systému a mikroorganismy se volně šíří i do orgánů, kde se běžně nevyskytují. Nejvíce bakterií se vyskytuje ve střevech, a proto zde začíná šíření, konkrétně na spojnici tenkého a tlustého střeva. Střevní bakterie začínají trávit střeva a poté okolní tkáň. Členové bakteriálních komunit obsahují geny kódující mechanismy, které štěpí aminokyseliny jako je glycin, glutamát, ornitin a lysin. Tyto bakterie jsou živé díky směsi látek, která uniká z poškozených buněk. Dále dochází k napadení kapilár trávicího ústrojí a lymfatických uzlin a postupují do jater, sleziny, a nakonec do srdce a mozku. Jakmile dojde k úniku bakterií ze zažívacího traktu, nastává druhá fáze hniloby (Babáková, 2025; Metcalf *et al.*, 2016).

Časná posmrtná fáze je nejdůležitějším obdobím pro odhadování postmortálního času, jelikož většina kriminálních případů pochází z tohoto období. Jedná se o období, které trvá od 3 do 72 hodin. Časná posmrtná fáze zahrnuje tzv. klasickou triádu posmrtných změn – algor mortis, rigor mortis a livor mortis (Hayman a Oxenham, 2016).

### 2.1.1 Algor mortis

Algor mortis je posmrtný proces, při kterém se tělesná teplota vyrovnává s teplotou okolí. Během života se normální tělesná teplota pohybuje v rozmezí 36,0 – 36,9 °C. Po smrti rychlost změny teploty závisí na několika faktorech, mezi které patří okolní teplotní podmínky, tělesná hmotnost, poloha těla, přítomnost či nepřítomnost oblečení atd (Hayman a Oxenham, 2016).

Samotný proces ochlazování probíhá podle fyzikálního Newtonova zákona ochlazování, který říká, že rychlost ztráty tepla tělesem je přímo úměrná rozdílu mezi jeho teplotou a teplotou okolí. V případě lidského těla pokles teploty probíhá nerovnoměrně kvůli faktorům, které to ovlivňují. Tělesná teplota se u zemřelého nejčastěji měří v rektální oblasti pomocí digitálního teploměru nebo speciálním termometrem pro forenzní účely, který se nazývá thanatometr. V některých případech se teplota určuje pomocí jehly, která měří hodnotu přímo v jádru těla (např. v játrech) (Saukko a Knight, 2016).

V prvních 3 hodinách po smrti tělo ztrácí teplotu nejrychleji, protože rozdíl mezi teplotou těla a okolím je největší. Rychlost klesání teploty v této fázi je 0,5 – 1,5 °C za hodinu. Po 12 hodinách od smrti se rychlost teploty chladnutí zpomaluje na 0,5 °C za hodinu. V případě měření teploty po více než 12 hodinách dochází k tepelné rovnováze s okolím a teplota těla se nemění (Saukko a Knight, 2016).

### 2.1.2 Rigor mortis

Rigor mortis je označení pro posmrtnou ztuhlost příčně pruhovaných i hladkých svalů zemřelého člověka následkem vyčerpání adenosintrifosfátu (ATP). Dochází k hromadění laktátu ve svalové tkáni s následnou neschopností uvolnění aktin-myosinové vazby. Ztuhlost svalů se nejdříve projeví v menších svalech (např. oblast čelisti, očního víčka a prstů) kvůli rychlejšímu vyčerpání ATP ve srovnání s většími svaly na trupu a končetinách. Postupem času však fáze rigor mortis postihne všechny svaly v těle, včetně srdečního svalu, a postupuje směrem od hlavy k dolním končetinám (Almulhim a Menezes, 2023).

Nástup této fáze nastává obvykle do 3 hodin po smrti a vrcholí asi za 12 hodin, avšak celkový proces rigor mortis trvá 24–48 hodin (viz tabulka 1). Tělo se nezačne stahovat, ale pouze zůstane v poloze, ve které došlo k úmrtí.

**Tabulka 1:** Časový průběh rigor mortis za běžných podmínek (Dillon, 2025)

0–3 hodin po smrti	Tělo je stále teplé a nevykazuje žádné známky ztuhlosti
3–8 hodin po smrti	Začíná se objevovat ztuhlost, tělo je stále částečně pohyblivé a zůstává teplé
8–36 hodin po smrti	Svaly jsou plně ztuhlé, tělo je chladné a tuhé
36 a více hodin po smrti	Ztuhlost postupně mizí, svaly se opět stávají pružnými a tělo je studené

Rigor mortis není ideální časový úsek pro určení PMI, protože zahrnuje široké časové rozmezí a hranice mezi jednotlivými časy se mohou lišit až o 24 hodin. Na jeho průběh mají vliv různé faktory, především okolní teplota. Vyšší teplota proces urychluje (urychlení nástupu hniloby), nižší jej zpomaluje. Dalšími klíčovými faktory je onemocnění před smrtí, které může zvýšit koncentraci kyseliny ve svalové tkáni a tím i zvýšit intenzitu ztuhlosti, a fyzická aktivita před úmrtím, která může zvýšit míru ztuhlosti rovněž zvýšením koncentrací kyseliny ve svalectech (Almulhim a Menezes, 2023; Dillon, 2025).

Vymizení rigor mortis označované jako ochablost svalů nastává působením alkalických kapalin produkovaných hnilobou v důsledku enzymatického rozkladu vazebných míst pro aktin a myosin (Shivpoojan, 2018).

### 2.1.3 Livor mortis

Livor mortis je proces, při kterém se krev po zastavení oběhu shromažďuje v nejnižší položených krevních cévách orgánů v důsledku gravitace, což se nazývá hypostáza. Typická je tvorba fialovomodrých skvrn na kůži (viz obrázek 2), které vznikají během půl hodiny až 2 hodin po smrti. Po určitou dobu tyto skvrny nejsou fixovány, což znamená, že oblast lividity (promodralosti) vystavením tlaku zbělá, protože odkysličená krev je vtlačena zpět do kapilár. Pokud dojde během této fáze k pohybu těla, lividita se přesune do jiné oblasti. Po 8–12 hodinách dochází k fixaci v důsledku rozpadu krvinek a prosakováním hemoglobinu. Po fixaci oblast tlakem nebledne a neposouvá se s polohou těla. Fixace je potvrzena tlakem palců a používá se při odhadu PMI delšího než 12 hodin (Hayman, 2021).



**Obrázek 2:** Livor mortis (Serra, 2025)

Na začátku vzniku livor mortis je zbarvení kůže růžovočervené, jelikož v těle se vyskytuje dostatečné množství okysličených erytrocytů. Postupem času dochází k tmavnutí kůže, protože hladina kyslíku klesá a nastává modrofialový odstín. Toto zbarvení může být však ovlivněno i řadou faktorů. V případě otravy oxidem uhelnatým nebo kyanidem je barva světle červenorůžová. Stejně zbarvení bude i při podchlazení těla. Hnědá barva se objeví při otravě dusičnany či dusitany v důsledku tvorby methemoglobinu, a zelená barva vzniká při hnilobných změnách následkem akumulace sulfhemoglobinu (Byard, 2020).

Značné snížení intenzity zbarvení nebo úplná ztráta může být zapříčiněna nadměrnou ztrátou krve před smrtí nebo u těžce anemických lidí. Problematické rozpoznání livor mortis může být u lidí s tmavou pletí nebo s výrazným opálením (Almulhim a Menezes, 2023; Byard, 2020).

## 2.2 Nafouknutí

Druhá fáze rozkladu lidského těla nastává důsledkem autolýzy tedy procesu, při kterém enzymy z mrtvých buněk rozkládají tkáň. Během tohoto rozkladu podléhají bakterie, převážně z gastrointestinálního traktu, uvnitř těla anaerobnímu dýchání. Bakterie se v těle množí a při spotřebě tkání produkují plyny a zápachající kapaliny jako vedlejší produkty. Mezi vytvářené plyny patří sirovodík, metan a mezi kapaliny patří biogenní aminy kadaverin a putrescin. Dochází k hromadění těchto plynů a kapalin uvnitř těla a nastává jeho nafukování a později také vylučování tekutin přirozenými otvory (ústy, nosem či konečníkem) z těla ven (Hyde *et al.*, 2013).

Fáze nafouknutí nastává 3 až 5 dní po smrti, avšak závisí na podmínkách prostředí. Jako v předchozí fázi tak i zde teplé podmínky (nad 30 °C) proces urychlují a chladnější zpomalují. V případě, že je tělo ponořené ve vodě, samotné nafouknutí těla se opožďuje, ale zesilují se hnilobné procesy (Galloway *et al.*, 1989).

Charakteristickým projevem této fáze je celkové zvětšení těla, které se podle některých studií zvětší až o 200 %. Obvyklým místem, kde nafukování začíná je břišní oblast a dále pomalu postihuje obličej, oblast genitálií či hrudník. Hydrolytické enzymatické trávení způsobuje vznik puchýřů naplněných hnilobnou tekutinou a jev zvaný degloving, což je oddělení kůže od podkožních tkání a svalů. Nejčastěji k tomuto jevu dochází na končetinách. Na takto odhalená místa poté lépe přisedá hmyz a zahajuje na těle svoji aktivitu. Výrazným projevem fáze nafouknutí je projev mramorování kůže, kdy jsou na kůži krevní cévy

patrné jako tmavě zelené až černé pruhy. Postupně se změní touto barvou celé tělo, a to v důsledku tvorby sulfhemoglobinu (Almulhim a Menezes, 2023; Hau *et al.*, 2014; ServiceMaster BioClean, 2025).

### 2.2.1 Činnost mikroorganismů

Během rozkladu těla v této fázi dochází k posunu bakterií od fakultativně aerobních (*Staphylococcus*) k anaerobním (*Clostridia* či *Bacteroides*). Ve studii dle autorů Janaway *et al.* (2009) je jako důvod posunu uvedena ztráta redox potenciálu tkáně následkem nedostatku okysličené krve. Bakterie gastrointestinálního traktu, jako jsou rod *Pseudomonas* či *Bacillus* redukuje sírany a hrají významnou roli při rozkladu proteinů zemřelého (Janaway *et al.*, 2009).

V roce 2011 byl proveden výzkum na univerzitě v Texasu, kde vědci Sibyl Bucheli a Aron Lynne umístili dvě čerstvě zemřelá těla do venkovních podmínek a nechali je zde rozkládat. Poté odebrali vzorky bakterií z různých částí na těle, a to na začátku a na konci stádia nafouknutí. Ze vzorků extrahovali bakteriální DNA, sekvenovali ji a nakonec zjistili, že pro fázi nafouknutí je charakteristicky výrazný posun mikroorganismů aerobních k anaerobním druhům (Costandi, 2015).

Dominantními mikrobiálními organismy produkující plyny jsou bakterie rodu *Clostridium*. Konkrétními druhy jsou *Clostridium sordellii*, *Clostridium difficile* a *Clostridium septicum* vyskytující se ve střevech. Rozkládají aminokyseliny a bílkoviny na putrescin, kadaverin a metan. Fermentací produkují ethanol, butanol a aceton. Při rozkladu se v těle vyskytuje také druh *Methyloferula stellata*, což je methanotrofní bakterie, která se živí vznikajícím methanem. Důležitým produktem, který při rozkladu vzniká je sirovodík. Tento bezbarvý plyn produkují sulfát redukující bakterie při spotřebě vodíku (Hyde *et al.*, 2013; Javan *et al.*, 2017).

Charakteristickým projevem aktivity a činnosti anaerobních bakterií produkující plyny je hnilobný zápach. Prvním hmyzem, který je k tělu zapáchajícími plyny přitahován, jsou mouchy (*Calliphoridae*). Mouchy kladou do otevřených míst na těle vajíčka, z nichž se líhnou červy, kteří se živí mrtvou tkání. Aktivita hmyzu se vyskytuje na rozhraní druhé a třetí fáze rozkladu (Almulhim a Menezes, 2023).

## 2.3 Aktivní rozklad

Ve třetí fázi dochází k aktivnímu rozkladu těla neboli hnití. Vyskytuje se cca 10 až 20 dní po smrti a jedná se o nejrychlejší a nejprogresivnější fázi. Aktivita červů, vzniklých mezi druhou a třetí fází, způsobí praskání kůže. Dochází tak k úniku plynů a tělo se postupně zmenšuje. Popraskaná místa jsou vstupní bránou pro další mikroorganismy a hmyz, kteří dále rozkládají tělo. Nastává významný rozpad měkkých tkání, svalů a orgánů, které vlivem enzymové mikrobiální aktivity zkapalňují. Zkapalňování je doprovázeno přítomností pěny a velmi silným zápachem, způsobeným těkavými organickými látkami z metabolismu bakterií. Dochází k úbytku hmotnosti a tekutiny začínají prosakovat do okolí (Hau *et al.*, 2014; Whaley, 2021; Woolsey, 2024). Existuje několik sloučenin vytvářející charakteristický zápach. Dvě hlavní sloučeniny se nazývají kadaverin a putrescin, jejichž zápach je popsán jako „hničící maso“. Další sloučeniny jsou skatol (zápach výkalů) a indol (zatuhlý zápach). Některé sloučeniny vzniklé působením bakterií obsahují také síru. Například sirovodík zapáchá po zkažených vejcích, nebo dimethylsulfid jako česnek (Brunning, 2014).

Mikrobiální a hmyzí činností se většina měkkých tkání rozpadne a zůstane pouze odolnější tvrdší hmota jako jsou kosti, šlachy, chrupavky, vazy a také vlasy. Popraskané části kůže začínají černat, a nakonec zčerná celé tělo (Woolsey, 2024).

### 2.3.1 Reakce mikroorganismů uvnitř těla

Mikroorganismy a hmyz hrají v této fázi rozkladu velice důležitou roli. Hlavními mikroorganismy rozkládající tělo jsou anaerobní bakterie, které začaly být aktivní již ve druhé fázi rozkladu. Bakterie vylučují extracelulární enzymy, které rozkládají makromolekuly bílkovin, lipidů či sacharidů na jednodušší sloučeniny (např. glukóza). Jednoduché sloučeniny jsou metabolizovány za účelem uvolnění energie pro růst a množení mikroorganismů (Lauber *et al.*, 2014). Mezi vysoce aktivní bakterie patří zástupci kmenů *Firmicutes*, *Proteobacteria* a *Bacteroidetes*. Některé houby z okolí se také podílejí na rozkladu těla, a to především jako rozkladači složitějších substrátů (např. kreatin a lignin), které jsou pro bakterie nepřístupné (Burešová *et al.*, 2019; Lauber *et al.*, 2014).

Ve fázi, kdy tělní tekutiny začínají z těla prosakovat do půdy, začíná interakce s půdními mikroorganismy. Zvýší se tak rychlost rozkladu kvůli produkci dalších enzymů a dochází ke změně mikrobiálního prostředí v okolí (Lauber *et al.*, 2014). Pokud dojde k přemístění těla na jiné místo, půdní profil, mineralogie a mikrobiální DNA poskytnou informaci o půdě a místě,

kde k úmrtí došlo. V několika nedávných studiích bylo prokázáno, že existuje rozdíl mezi půdami hrobovými a nerozkládajícími, a to na základě toho, že zemřelá těla do půdy uvolňují obrovské množství organického materiálu. Tento materiál slouží jako potrava pro mikroorganismy a díky jeho velkému uvolňovanému množství jsou hrobní půdy ideální prostředí pro mikroorganismy, kteří zde žijí i více než rok po rozkladu (Metcalf *et al.*, 2016).

### 2.3.2 Hmyz

Aktivita hmyzu v této fázi dosahuje vrcholu. Larvy vylíhnuté z nakladených vajíček much požírají tkáň a přináší do nich další mikroorganismy a dochází tak k aktivnímu rozkladu. Na konci fáze aktivního rozkladu jsou červy a larvy orientovány převážně v hrudní oblasti. Larvy svou činností vytváří teplo, které může zvýšit teplotu v okolí ostatků a urychlit rozklad. Vylučují enzymy, které zkapalňují tkáň a tím zpřístupní živiny pro sebe i pro mikroorganismy (Bugelli *et al.*, 2018; Manning, 2020).

Rozkládající tělo začne po určité době přitahovat i brouky. Mezi hlavní druhy patří *Histeridae* (klaunovití), *Staphylinidae* (roháčovití) či *Silphidae* (mrchožrouti), kteří se živí především larvami a regulují tak množství much na ostatcích těla. Aktivita brouků vystavuje hlubší vrstvy tkáň vzduchu, což usnadňuje mikrobiální kolonizaci a rozklad je tak urychlen. Přítomnost různých druhů brouků může poskytnout informace k určení PMI (Bugelli *et al.*, 2018; Manning, 2020).

V každém druhu hmyzu, který navštíví tělo, je obsaženo rozmanité a jedinečné množství mikroorganismů. Samotná půda, na které tělo leží, obsahuje také své vlastní bakterie a jiné mikroorganismy. Všechny tyto mikroorganismy se tak v zemřelém mísí například koloběhem mouchy. Moucha, která na těle přistane, naklade vajíčka a tím tam nechá vlastní mikroorganismy, ale zároveň přijme část bakterií, které najde v okolí. Každé mrtvé tělo má tedy s největší pravděpodobností jedinečný mikrobiologický systém, který se může za určitých okolních podmínek měnit. Odhad doby zemření s osídlením hmyzu je velmi nepřesný, avšak spojení informací hmyzu a mikroorganismů by mohlo odhadnutí PMI velice zpřesnit (Costandi, 2015).

Červy opouštějící tělo signalizují konec fáze aktivního rozkladu (Woolsey, 2024).

## 2.4 Pokročilý rozklad

Za několik týdnů po smrti dochází ke čtvrté fázi rozkladu. Většina měkkých tkání je rozložena, tělo je v zaschlém stavu a zbyly pouze tvrdší části těla: kosti, vlasy, chrupavky, vazy a lepkavé vedlejší produkty rozkladu. Během této fáze přichází k tělu velké množství většího hmyzu (brouci), aby zpracovali i tuto tuhou hmotu (Cohen, 2019). Mezi brouky, kteří se živí ztuhlou kůží a šlachami patří druh *Necrobium rufipes* neboli Paličnick rudonohý (Forbes *et al.*, 2016).

Pokud na těle zbyla část kůže, nachází se v suchém či kožovitém stavu, avšak části kostry budou viditelné a dochází k obnažování kostí. Zbytky kůže mají černou barvu, a proto se někdy této fázi říká fáze černá. Dochází k dokončování stádia hnití a z těla se uvolněné tekutiny vsakují do okolního prostředí a tím přispívají ke koloběhu živin (Hau *et al.*, 2014; Rai *et al.*, 2023). Aktivita mikroorganismů pomalu začíná slábnout, protože proces hniloby se zpomalil a postupně nastává pátá fáze rozkladu (Ditto, 2024). Zápach není tak intenzivní jako ve fázi aktivního rozkladu. Je cítit pouze sýrový zápach způsobený kyselinou máselnou vzniklou fermentací anaerobních bakterií. Bakterie (např. druh *Clostridium*) přeměňují lipidy a proteiny na tuto kyselinu. Tímto procesem tak dochází k odstranění zbytků tkání a postupnému vysušování těla. Kyselinu máselnou lze využít jako relativně přesný ukazatel pro odhad PMI, jelikož v ostatcích přetrvává, i když ostatní těkavé sloučeniny ubývají (Australian museum, 2020; Matoba *et al.*, 2022).

Po rozkladu půda pod zemřelým tělem obsahuje vysokou koncentraci živin vzhledem k ekosystému v okolí. Odhaduje se, že každý kilogram suché tělesné hmoty uvolní do půdy 32 g dusíku, 10 g fosforu, 4 g draslíku a 1 g hořčíku. Všechny tyto živiny potřebují mikroorganismy a hmyz pro svoji aktivitu. V půdě mohou látky zůstat i několik let, a proto jsou vnímány jako důležitý ukazatel pro forenzní vědce (Costnadi, 2015; Manning, 2020).

### 2.4.1 Adipocere

Na těle se může vyskytovat jev zvaný adipocere, což je proces speciální mumifikace. Adipocere lze jinými slovy nazvat jako hrobový či mrtvolný vosk, který je produktem rozkladu tukové tkáně vzniklé hydrolýzou triacylglyceridů na glycerol a volné mastné kyseliny. Tato zezačátku vosková hmota má světle šedou barvu, která postupem času začne tuhnout a rovněž ztuhnou i místa na těle, kde se vyskytuje. Na samotné tvorbě adipoceru se podílí

i bakterie *Clostridium perfringens*, která je důležitá při tvorbě mastných kyselin po smrti. Pro samotné bakteriální a enzymatické procesy je důležitá přítomnost vody, ale naopak přítomnost kyslíku, tedy vystavení těla na vzduchu, reakci inhibuje. Tvorba adipoceru vyžaduje přítomnost lipidů, takže se více vyskytuje u žen či obézních jedinců. Nejčastějšími místy, kde adipocere vzniká jsou tváře, brada, břicho či hýždě. V závislosti na podmínkách, ve kterých se tělo nachází, je vznik adipoceru viditelný asi měsíc po smrti a lze tak odhadnout posmrtný interval. Nejčastěji se však vyskytuje u zemřelých, kteří se nachází pod vodou (Tsokos, 2005). Vznik adipoceru a doba jeho trvání závisí nejen na vlhkosti a nedostatku kyslíku v okolí, ale také na pH a teplotě, kdy je vyžadováno teplé prostředí (Jopp-van Well *et al.*, 2016).

#### **2.4.2 Mumifikace**

Mumifikace je výsledek vysychání nebo dehydratací kůže či tkáně. Nastává kvůli nedostatečné vlhkosti, která je potřebná pro rozkladnou činnost mikroorganismů. Celkově tělo vypadá vyprahle, což jej chrání po delší dobu. Vzniká v suchém horkém prostředí, popřípadě když se tělo nachází ve větrných podmínkách nebo v teplém průvanu. Kůže zemřelého ztmavne, ztvrdne a vypadá kožovitě. Dále má kůže natažený vzhled přes výčnělky, jako jsou například jařmové kosti, dolní čelist apod. Samotné tělo se zmenšuje, ale rysy v obličeji, popřípadě zranění jsou zachovány, takže v této fázi je identifikace těla snazší. Pro tvorbu mumifikace tělo potřebuje více času než pro vytvoření adipocere. Mumifikace se může objevit u těla jako celku nebo v lokalizovaných oblastech, jako jsou například končetiny nebo jazyk (Almulhim a Menezes, 2023; Durham University, 2025; Hau *et al.*, 2014; Shedge *et al.*; 2023).

#### **2.5 Skeletonizace**

Konečnou fází rozkladu těla je skeletonizace. Charakteristické je obnažení více než poloviny kosterních částí a celkově tělo vypadá vyschle. Může se zde stále vyskytovat malé množství měkké tkáně nebo chrupavky či šlachy, k nimž jsou kosti připojené. Na základě různého typu prostředí, abiotických či biotických podmínek může někdy nastat částečná skeletonizace (Lichnerová, 2011; Shrestha *et al.*, 2023).

Skeletonizace vzniká za několik týdnů až měsíců po smrti a doba jejího trvání je několik let, než se kosti úplně rozpadnou. Mezi faktory ovlivňující tuto fázi patří teplota (optimální

pro rychlý rozklad je mezi 30–40 °C), pH půdy (kyselé může urychlit rozklad kostí) a dále hmyz a mikroorganismy. Během této fáze z kosterních zbytků vypadávají zuby a nehty, popřípadě vlasy. Přestože skoro všechno ze zemřelého člověka je rozpadnuto, kosti jsou stále velkým zdrojem informací pro identifikaci, včetně věku, pohlaví, DNA a traumatu (Píštěková, 2011; Prokeš, 2015).

V případě, že na kosterní zbytky svítí sluneční záření, povrch kostí se začne zesvětlovat a ultrafialové paprsky rozkládají organické zbytky. Rychlost bělení je pro každý typ kosti jiná. Žebra a lopatky se bělí rychleji než ostatní. Kosti, které se nachází v zastíněném místě bělají pomaleji (Hawkins *et al.*, 2017; Horák *et al.*, 2022).

Postupem času se pH půdy vrací na původní úroveň a rovněž dochází k návratu složek normální půdní fauny. Neexistuje však konečný bod této fáze a rozdíly v půdní fauně mohou být zjištěny i několik měsíců až let po smrti, což naznačuje, že se na místě nacházelo tělo (Goff, 2009).

### 2.5.1 Role mikroorganismů

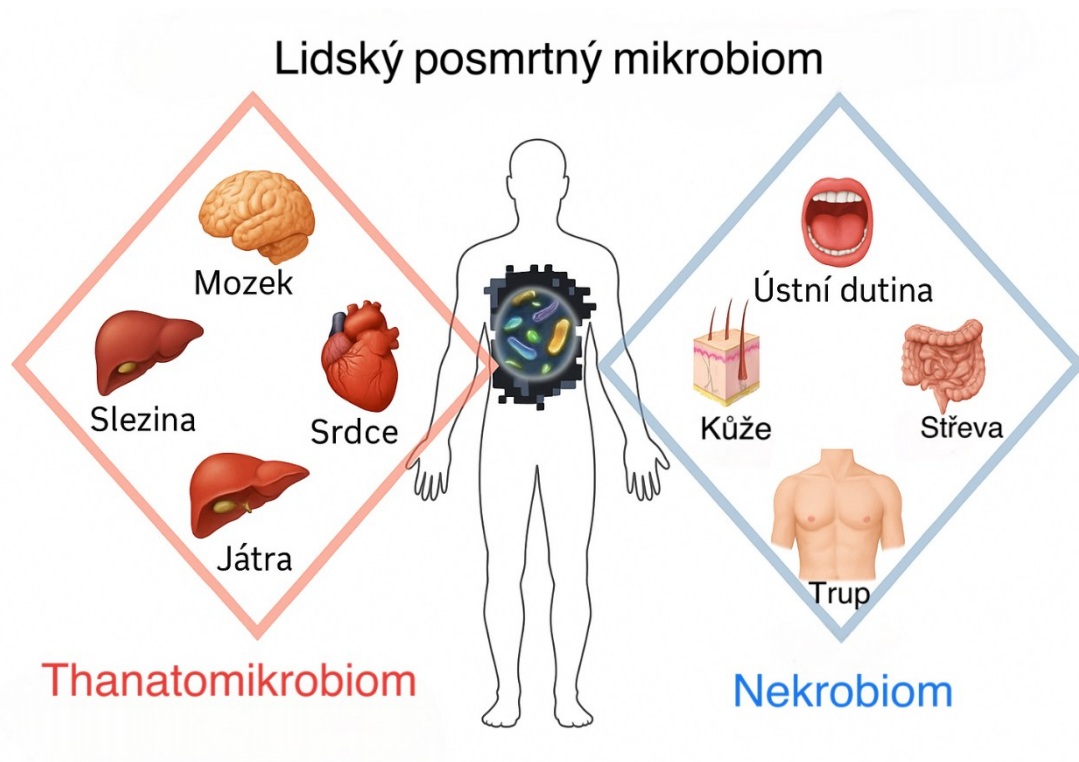
Mikroorganismy jsou velice důležitou složkou ve fázi skeletonizace. Přispívají k rozkladu zbytků organických látek a ovlivňují forenzní analýzy. Hlavními mikroorganismy v této fázi jsou zástupci rodu *Devosia* a čeledi *Phyllobacteriaceae*, kteří jsou s postupem rozkladu aktivnější. Jedná se o dusík fixující bakterie využívající kolagen v kostech jako zdroj dusíku. Tímto způsobem urychlují rozklad organických složek kostí. Postupným rozkladem kostí se vytváří a zvyšuje tzv. porozita neboli pórovitost. Toto mikroprostředí je ideální pro aerobní bakterie čeledi *Phyllobacteriaceae*, kteří využívají kyslík pro dýchací metabolismus a usnadňují tím rozklad organických složek (Deel *et al.*, 2021; ServiceMaster BioClean, 2025).

Mikrobiální prostředí v kostech je klíčovým indikátorem pro odhad PMI během pozdního rozkladu těla. Po třech a více týdnech ztrácí mikroorganismy z kůže a půdy svoji užitečnost, avšak pro odhad PMI v této fázi jsou důležití zástupci rodu např. *Devosia* (Deel *et al.*, 2021; ServiceMaster BioClean, 2025).

Mikrobiální společenstva v kostech se liší v závislosti na části těla i konkrétním jedinci, přičemž klíčovou roli hraje jak prostředí rozkladu, tak vnitřní faktory, jako je typ kosti. Tato variabilita komplikuje použití univerzálních metod pro odhad PMI, a proto je zapotřebí vyvíjet lokálně přizpůsobené forenzní přístupy (Emmons *et al.*, 2020).

### 3 THANATOMIKROBIOM

Tanatomický mikrobiom společně s epinekrotickou mikrobiální komunitou patří mezi složky lidského postmortálního mikrobiomu. Epinekrotický mikrobiom označuje mikroorganismy na vnějších površích těla a thanatomikrobiom popisuje mikroorganismy uvnitř zemřelého (viz obrázek 3). Každá z těchto složek může poskytnout informace o posmrtných mikroorganismech v těle. Studie lidského mikrobiomu prokázaly, že se tyto komunity vyskytují v těle již krátce před smrtí (Javan *et al.*, 2016a).



**Obrázek 3:** Lidský posmrtný mikrobiom (upraveno dle Javan *et al.*, 2016a)

Thanatomikrobiom pochází z řeckého slova *thanatos* neboli smrt. Zabývá se studiem mikroorganismů, kteří se nacházejí ve vnitřních orgánech zemřelého těla (v mozku, srdci, játrech a slezině). Mikroorganismy jsou součástí i krve, která je po smrti odebrána. Samotný thanatomikrobiom je definován jako mikrobiální společenstvo vnitřních tělesných míst vzniklý sukcesním procesem, při kterém triliony mikroorganismů osidlují, množí se nebo odumírají uvnitř mrtvého těla. Tento proces vede ke změně složení společenstva v průběhu času a stává se tak obrovským aspektem pro odhad posmrtného intervalu a pro poskytování mikrobiálních důkazů pro soudně-lékařské vyšetřování úmrtí (Javan *et al.*, 2016a; Javan a Finley, 2018).

Po smrti lidského těla dochází u bilionů mikrobiálních buněk k zásadní proměně. Mikrobiom se výrazně mění – nejen co se týče samotných mikroorganismů žijících v těle hostitele, ale i v souvislosti s komplexním sledem událostí, které nastávají během rozkladu, kdy dochází k rozpadu buněk a uvolnění jejich vnitřního obsahu. Tento proces zásadně ovlivňuje složení lidské mikrobiální komunity komenzálů. Tělo se stává obrovským zdrojem živin, zahrnující dusík, uhlík, fosfor, vodu a další. Prostředí uvnitř těla se mění na hypoxické a přechází do procesu anaerobní fermentace, přičemž vznikají plyny jako sirovodík, oxid uhličitý, metan, amoniak a další. V této fázi začínají tělo kolonizovat mikroby z vnějšího prostředí, a zároveň dochází k výrazným změnám v početnosti některých komenzálních druhů. Nastává nekontrolovatelná reprodukce kolonizovaných mikroorganismů a tím dochází k utlumení činnosti ostatních buněk. Tímto dějem se nekrobiom na povrchu ovlivní rychleji než mikrobiom uvnitř těla. Následně se začínají orgány rozkládat podle zátěže mikroorganismů a PMI. Například ve studii autorů Tuomisto *et al.* (2013) nebyly v játrech detekovány žádné mikroorganismy při PMI 5 dní. (Abdoun *et al.*, 2023; Can *et al.*, 2014; Dash a Das, 2020).

Tuomisto *et al.* (2013) popsali na 33 zemřelých tělech thanatomikrobiom jednak pomocí kultivačních technik a jednak pomocí molekulárně biologických metod, konkrétně kvantitativní reverzní transkriptázovou polymerázovou řetězovou reakcí (RT-qPCR). Pro analýzu použili vzorky z krve, jater, portální žíly, lymfatických uzlin a perikardiální tekutiny. Výsledkem bylo prokázáno 21 rodů, přičemž nejvyšší výskyt vykazovaly *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., a *Escherichia* spp. (Javan a Finley, 2018).

### 3.1 Dominantní druhy

Podle fáze rozkladu těla se průběžně mění složení dominantních druhů mikroorganismů. V tabulce číslo 2 jsou shrnuty hlavní třídy, čeledi nebo rody v každé fázi rozkladu.

**Tabulka 2:** Dominantní mikroorganismy během rozkladu (Cláudia-Ferreira *et al.*, 2023)

<b>Autolýza</b>	<b>Nafouknutí</b>	<b>Aktivní rozklad</b>	<b>Pokročilý rozklad</b>	<b>Skeletonizace</b>
<i>Escherichia</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Tenericutes</i>	<i>Turicibacter</i>		<i>Bacillus</i>

Velký vliv na samotné složení mikrobiomu mají abiotické a biotické faktory. Mezi abiotické faktory patří čas, teplota, vlhkost, pH, strava či užívané léky. Biotickými faktory jsou hmyz, mrchožrouti, přítomnost komenzálních mikroorganismů a další. Prostředí, ve kterém se tělo nachází, se musí při odhadu PMI také zohlednit, protože v případě, kdy je tělo ve vodě, může se na něm objevit vyšší zastoupení mikroorganismů žijících ve vodním prostředí např. zástupců rodu *Pseudomonas* (Dash a Das, 2020).

Jelikož je pojem thanatomikrobiom relativně nový termín, neexistuje mnoho studií, které by se tímto mikrobiomem podrobně zabývaly. Mezi první největší studii posmrtného mikrobiálního společenstva vnitřních orgánů patří studie autorů Javan *et al.* (2016b). Autoři předpokládali, že časově závislé změny v thanatomikrobiomu během rozkladu mohou odhalit čas smrti. Vzorky byly odebrány od 27 zemřelých pocházejících z trestních případů z různých příčin úmrtí s posmrtnými intervaly od 3,5 hodin do 240 hodin. Byla použita technologie sekvenování amplikonů 16S rRNA pro klasifikaci taxonů v orgánech zemřelých. Vybranými orgány byly mozek, srdce, játra a slezina. Dále se využily stěry z bukálních dutin a také krevní vzorky z každého těla. Celkem bylo osekvenováno 66 vzorků. Další výsledky ukázaly, že se bakterie mezi orgány v rámci jednoho pohlaví nelišily, ale mezi mužem a ženou ano. U žen byl zaznamenán vysoký výskyt rodu *Pseudomonas* a *Clostridiales*, zatímco u mužů velké zastoupení druhů *Clostridium*, *Streptococcus* a *Rothia*. Výjimka však nastala u zastoupení mikroorganismů v dutině ústní, kde se u obou pohlaví vyskytovaly podobné rody, kterými byly *Streptococcus*, *Viellonella* a *Prevotella*. Na začátku rozkladu byly pozorovány vysoké počty neznámého druhu *Clostridium* spp., *Prevotella bivia* a *Prevotella timonensis* (29,5 hodiny). Zajímavostí je, že druh *Clostridium novyi* byl hojnější naopak při posledním PMI (240 hodin). Nejstabilnějším kmenem, který se vyskytoval napříč různých míst v těle byl kmen *Firmicutes*. Tímto průlomovým výzkumem byl vytvořen mikrobiální seznam thanatomikrobiomu, který by mohl být užitečný jako forenzní nástroj pro poskytnutí informací o lidských ostatcích (Javan *et al.*, 2016b).

Další studie byla provedená v Itálii na 40 tělech, které měly PMI v rozmezí od 24 hodin do 432 hodin. Bylo zjištěno, že během rozkladu jsou děloha a prostata poslední vnitřní orgány, které se rozkládají. Tyto orgány mají silně odlišné složení mikroorganismů v porovnání s nereprodukčními orgány (Lutz, 2020).

### 3.1.1 Trasy kolonizace

Kolonizace mikroorganismů po smrti začíná z gastrointestinálního traktu. Narušením střevní bariéry dochází k prostupu bakterií do krve a dalších orgánů difúzním systémem. První kolonizované orgány jsou játra, slezina, srdce a mozek. Tyto orgány jsou u zdravých lidí považovány za sterilní, ale během 24 hodin od smrti v nich dochází k hojnému množení mikroorganismů. Hlavními endogenními mikroorganismy jsou *Escherichia coli* či *Bacteroides* spp., kteří jsou běžnou součástí střevní mikroflóry. Z ústní dutiny se v hlavové části těla šíří *Streptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Staphylococcus* spp. či *Lactobacillus* spp. Jejich činností dochází k rozkladu měkkých tkání v hlavě. Během prvních 2 dnů rozkladu byla v oblasti tváře, bicepsů a trupu dominantní skupina *Proteobacteria*. Druhy *Bacteroides* a *Lactobacillus* lze využít jako kvantitativní markery pro stanovení PMI. V důsledku autolýzy a uvolňování živin, dochází k anaerobní fermentaci. Zpočátku dominuje druh *Lactobacillus*, ale postupně ubývá kvůli nedostatku kyslíku. V tomto anaerobním prostředí se začínají rozmnožovat druhy *Clostridium* (10–40 %), konkrétně *Clostridium perfringens* nebo *Clostridium septicum* a dále *Bacteroides* spp. nebo *Prevotella*. Zástupci rodu *Clostridium* produkují enzymy a toxiny, které zapříčiňují nadýmání těla. Tlak plynů usnadňuje mikrobiální migraci. *Bacteroides* postupují z gastrointestinálního traktu a rozkládají polysacharidy a bílkoviny. Počet těchto bakterií s postupem času klesá a převládají zástupci rodu *Clostridium*. Hnilobnými bakteriemi jsou *Pseudomonas*, *Shewanella* nebo *Aeromonas*, kteří jsou adaptováni na vlhké prostředí. Aktivní jsou i *Proteobacteria*, které jsou v pozdějších fázích nahrazeny kmenem *Firmicutes* (5–20 % z celkové komunity). Dále nastává fáze, kdy původní lidský mikrobiom je překonán mikrobiomem z okolí a objevuje se na povrchu těla. Mezi tyto dominantní bakterie patří *Acinetobacter* (5–20 %) nebo *Bacillus*, kvasinky rodu *Candida* či mikroskopické vláknité houby rodu *Aspergillus*. Jejich úlohou je kolonizace sliznic a velkých povrchů při pozdním rozkladu. Vlivem hmyzu jsou do těla přiváděny hmyzí mikroorganismy. U larev masařek je znám mikrob *Ignatzschineria* spp. (20–55 %) (Dash a Das, 2020; Hyde, 2013; Javan *et al.*, 2016b; Metcalf, 2013).

### 3.2 Půdní mikroorganismy

Půdní mikrobiální společenství se oproti lidskému mikrobiomu velice liší. Na základě mikrobiálních změn v půdě lze prokázat dřívější přítomnost pohřbeného nebo rozkládajícího se těla. Důležitou roli hrají půdní mikroorganismy i při určování PMI, kdy jsou přítomni na povrchu těla v různých stádiích rozkladu. Půdní mikroorganismy začínají rozklad ovlivňovat až v lehce pokročilém stavu. Mezi půdní bakterie, která v těle přeměňuje amoniak na dusičnany patří *Nitrosomonas* spp. a druhou důležitou bakterií je *Nitrobacter* spp., která přetváří dusitany na dusičnany. Mezi další nitrifikační bakterie patří *Nitrococcus* spp., *Nitrosocystis* spp. a *Nitrospira* spp. V případě nepřítomnosti nitrifikačních bakterií se amoniak hromadí v půdě. Další důležitým prvkem uvolňujícím se během rozkladu je fosfor, který se v těle nachází v mnoha složkách. Je součástí bílkovin, nukleových kyseliny a koenzymů, fosfátu a fosfolipidů. Pro transformaci fosforu z nerozpustných organických komplexů na rozpustné jsou důležité bakterie *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, zástupci rodu *Penicillium* atd. (Dent *et al.*, 2004; Wójcik *et al.*, 2021).

Tuky mohou také podléhat oxidaci pomocí bakterií, hub, a především vzdušného kyslíku. Rozkládají se na glycerol a mastné kyseliny, a nakonec na oxid uhličitý a vodu. Za těchto aerobních podmínek a vystavení tukových tkání viditelnému světlu je rozklad urychlen. Dosud existuje málo informací o tom, které půdní mikroorganismy způsobují rozklad lipidů. Z tělního prostředí je tuk rozkládán pomocí bakterie *Clostridium perfringens*. V raných fázích rozkladu dochází vlivem působením mikroorganismů k uvolňování sacharidů z měkkých tkání. K tomuto ději dochází převážně v játrech, kde se například glykogen rozkládá na cukry, které jsou poté bakterií *Clostridium* spp. rozloženy na řadu organických kyselin a alkoholy. V anaerobních podmínkách dochází k produkci kyseliny mléčné, kyseliny máselné, kyseliny octové a acetonu. Fermentací sacharidů se také produkuje plyn metan, vodík a sirovodík (Dent *et al.*, 2004).

Během rozkladu, kdy je tělo v kapalném stavu jsou orgány měkké a zdegenerované k nepoznání. K tomuto stavu dochází vlivem rozkladu proteinů na jednodušší složky a tím je umožněn růst většího počtu druhů mikroorganismů na substrátu a jejich následné rozptýlení ve tkáních. Zkapalňující tkáně jsou naplněny plyny z rozkládajících se zbytků. Někdy dochází úniku těchto kapalin z přirozených otvorů ven z těla vlivem tlaku plynů. (Janaway, 1997).

Mezi jednu z posledních činností mikroorganismů v rozkladu těla je rozklad kolagenu u kosterních zbytků. Působením bakteriálních kolagenáz dochází k redukci proteinů na peptidy a následně na aminokyseliny, které se vyplaví do podzemní vody. Degradaci kolagenu způsobuje např. bakterie *Clostridium* spp., přičemž rovněž vzniká plynová gangréna (Janaway, 1997).

### 3.2.1 Změny v půdním společenství vlivem rozkladu

Pro odhad PMI se využívá také kvantifikace taxonomické a funkční posloupnosti mikroorganismů v půdě pod lidskými ostatky. Ve studii autorů Coubagh *et al.* (2015) bylo zjištěno, že dominantními půdními mikroorganismy pod lidskými ostatky jsou zástupci kmenů *Proteobacteria*, které zvýšily půdní hojnost z 15 na 26 % a také *Firmicutes*, jejichž zastoupení se zvýšilo z 1 na 29 %. Naopak hojnost kmenu *Acidobacteriota* se snížila z 30 na 9,5 % (Dash a Das, 2020; Wójcik *et al.*, 2021).

V rané fázi rozkladu se množství mikroorganismů na rozhraní mezi tělem a půdou rychle zvyšuje především po prasknutí těla (Finley, 2016).

Pro nejpresnější výzkum mikroorganismů z půdy je důležitý správný odběr vzorku. Vyžaduje se rozlišení půdy, která souvisí s se změnami thanatomikrobiomu od srovnávacího vzorku čisté půdy bez kontaktu se zemřelým. Odebírá se půda s maximální hloubkou 5 cm. Čistý vzorek půdy by měl být odebrán nejméně 5–15 m od těla. Autoři Finley *et al.* (2016) rozdělili ve své práci zemřelé do dvou skupin. První skupina byly těla na povrchu půdy a druhá skupina těla pohřbená. Bylo zjištěno, že v obou skupinách převládal kmen *Proteobacteria*, ale o něco méně bylo zástupců tohoto kmene ve skupině pohřbených těl. Naopak zástupců kmene *Acidobacteriota* bylo více v pohřbených tělech než v povrchové skupině. Po 9 měsících se převládajícím kmenem v povrchové skupině stal kmen *Firmicutes*. V pohřbené skupině byly hojné kmeny *Acidobacteriota* a *Verrucomicrobiota* (Wójcik *et al.*, 2021).

## 4 METODY DEKTEKCE

Existuje několik metod pro odhad doby úmrtí na základě různých změn, kterými tělo po smrti prochází (v krátkodobém horizontu, bezprostředně po smrti, změny ve sklivci či měkkých tkání apod.). Většina těchto metod je však nepřesná, protože proces rozkladu je ovlivněn několika faktory, a to především teplotou a vlhkostí. Pro lepší a přesnější odhady se vyvinuly další oblasti, a to thanatobiologie a thanatomikrobiom. Thanatobiologie je založena na odhadu PMI z degradace DNA/RNA a analýze proteinů. Tato oblast je využívána hlavně v prvních fázích rozkladu a thanatomikrobiom pro pozdní fáze rozkladu (Hauther *et al.*, 2015; Zapico *et al.*, 2022).

V posledních letech se testovalo mnoho metod pro odhadnutí PMI s co nejvyšším stupněm specifity. Studie se pohybovaly od analýzy iontové koncentrace tělních tekutin, analýzy metabolitů v organismu, aplikaci radiologických technologií až po entomologickou analýzu v pozdních stádiích rozkladu. Každá z těchto metod byla nějakým způsobem užitečná ale měly určité omezení. Pro stanovení PMI neexistuje tedy pouze jediná metoda (Tozzo *et al.*, 2022).

Lidská zemřelá těla používaná pro posmrtné mikrobiální studie jsou darovaná těla z programů dobrovolného darování do venkovních zařízení pro rozklad. Jako vhodný odběr se navrhuje stěr ze studované oblasti než preparace tkání, protože stěr poskytuje vyšší mikrobiální diverzitu. V různých studiích byly testovány a hodnoceny odlišná místa na těle (orgány a tkáně). Při odběru je důležité mít na paměti porovnávání změn v mikrobiální komunitě v různých oblastech těla. Cílem těchto studií je určení, které taxonomické jednotky jsou přítomny v různých fázích rozkladu (Zapico *et al.*, 2022).

Většina studií mikrobiomu zahrnuje generování kompozičních profilů mikrobiomu s identifikací přítomných mikroorganismů a jejich kvantifikaci. Složení mikrobiomu lze zkoumat metodami závislými nebo nezávislými na kultuře. V metodě závislé na kultuře se využívá izolace nebo kultivace životaschopných mikroorganismů ze vzorků. Umožňuje identifikaci mikroorganismů s vysokou spolehlivostí. Nevýhodou však je zkreslení vlivem kultivačních podmínek, protože ne všechny mikroorganismy z okolí jsou životaschopné a kultivovatelné na použitých médiích za daných podmínek. V metodách nezávislých na kultuře se přímo extrahují nukleové kyseliny ze vzorků a zastoupení mikroorganismů

je nejčastěji dourčeno pomocí sekvenačních metod. Tyto metody poskytují velice přesné a komplexnější výsledky (Zhou *et al.*, 2018).

#### 4.1 Sekvenování 16S rRNA

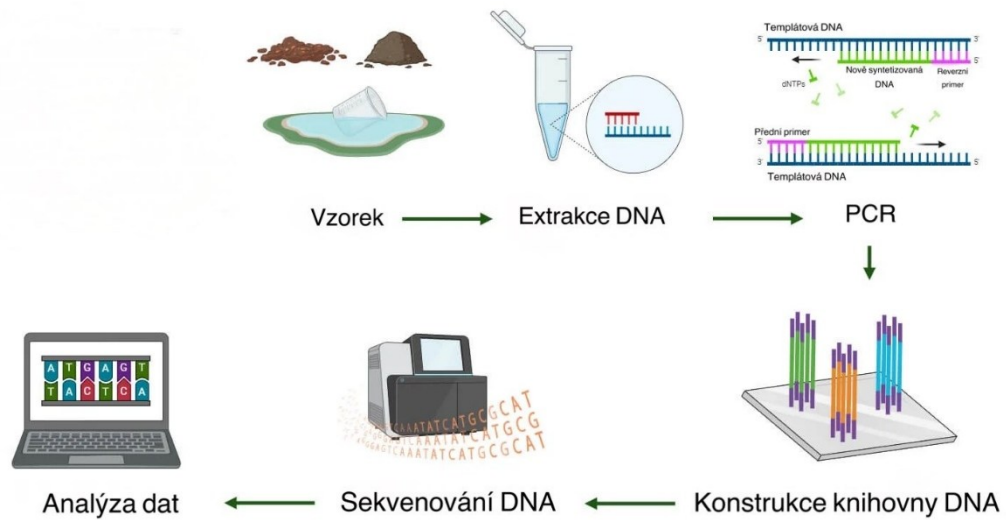
Sekvenační technologie v analýze mikroorganismů pro odhad PMI výrazně pokročily. Pomocí sekvenování ribozomální RNA je možná identifikace a kvantifikace taxonů bakterií ve tkáních (Al-Juhani *et al.*, 2025).

Genová sekvence 16S rRNA je nejvíce používaným genovým markerem ke studii mikrobiální taxonomie a fylogeneze. Tento gen kóduje malou podjednotku bakteriálního ribozomu a umožňuje definovat vývojové vztahy. Délka genu je přibližně 1550 párů bází obsahující 9 druhově specifických hypervariabilních oblastí (V1–V9), které jsou rozprostřeny mezi konzervovanými oblastmi. Konzervované oblasti jsou podobné mezi různými bakteriálními druhy, a proto jsou vhodné pro univerzální primery pro amplifikaci v široké oblasti bakterií. Variabilní oblasti jsou rozdílné mezi jednotlivými druhy, čímž se umožňuje identifikace bakterií v různých mikrobiálních prostředích. Tato vlastnost je ideální pro vytváření operačních taxonomických jednotek (OTU) z nejpodobnějších sekvencí. Konfrontací s OTU se definují vývojové vztahy, a nakonec dojde k identifikaci bakteriální komunity. Velkou výhodou této metody je, že identifikaci lze provést i z fragmentů 16S rRNA o velikosti pouze 100 párů bází. Další silnou stránkou této metody je bioinformatické vyhodnocování. K dispozici jsou kvalitní databáze a spolehlivé klasifikační kanály, čímž je umožněna větší hloubka čtení a nižší náklady ve srovnání s metagenomickým sekvenováním (Aryal, 2024; Tozzo *et al.*, 2022).

Princip sekvenování genu 16S rRNA je založen na sekvenování ampikonu, které cílí na specifické oblasti genomu. Využívá genetickou informaci uloženou v genu pro identifikaci a klasifikaci bakteriálních druhů. Proces zahrnuje extrakci DNA z odebraného vzorku, PCR amplifikaci genu 16S rRNA, konstrukci knihovny, sekvenování a následnou analýzu dat pomocí bioinformatických nástrojů. Jednotlivé kroky sekvenování jsou zobrazeny na obrázku 4 (Aryal, 2024).

Ve studii autorů Hyde *et al.* (2013) byla provedena analýza mikrobiomu během rozkladu těla. Vzorky byly odebrány z různých míst na těle včetně vnitřního prostředí u dvou zemřelých ve dvou časových stádiích – na začátku a na konci fáze nadýmání. Pomocí sekvenování genu 16S rRNA byl zjištěn posun od aerobních bakterií k anaerobním ve všech částech těla. Rovněž

se zjistily rozdíly ve struktuře společenstev mezi těly, místy odběru vzorků a mezi začínajícím a koncovým bodem rozkladu (Tozzo *et al.*, 2022).



**Obrázek 4:** Sekvenování genu 16S rRNA (upraveno dle Aryal, 2024)

## 4.2 Sangregovo sekvenování

V metodě Sangerova sekvenování lze sekvenovat pouze jeden fragment v čase zaměřený na určitý gen. Využívají se primery pro vyhledávání specifických genů DNA např. pro vyhledání genu 16S rRNA. Pořadí jednotlivých bází – chromatogram se vyhodnotí pomocí speciálního softwaru. Dochází k porovnání výsledků s referenčními databázemi a každá OTU (operační taxonomická jednotka) se poté identifikuje podle vlastní genové sekvence (Fakultní nemocnice Brno, 2025; Gomes a Korf, 2018).

## 4.3 Sekvenování nové generace

V metodě sekvenování nové generace (NGS) lze sekvenovat miliony fragmentů DNA najednou, což poskytuje podrobné informace o struktuře genomů, genetických variacích a změnách v chování genů. Podstatou je zpracování milionů sekvencí zároveň v jednom běhu, čímž se získá velké množství dat. Do reakce vstupují vzorky v tzv. knihovně. Pro zahájení je potřeba získání sady fragmentů (knihovny). PCR produkty obsahují tyto cílené úseky 16S rRNA, které se označí speciálními sekvenačními adaptory a pro odlišení jednotlivých vzorků se použijí čárové kódy. Knihovna se poté amplifikuje (získá tisíce přesných klonů z jednotlivých fragmentů). Následně jsou všechny fragmenty přečteny sekvenátorem.

Výsledkem je získání mnoha milionů krátkých čtení, které odpovídají bakteriálním 16S sekvencím. Tyto sekvence se poté pomocí softwaru sloučí a porovnají s databázemi mikroorganismů a tím se identifikují (Novotná, 2018; Satam *et al.*, 2023).

Od roku 1984 se profilování DNA k rozlišení vzorků stalo hlavním vyšetřovacím nástrojem ve forenzní vědě. V dnešní době dominuje metoda sekvenování nové generace. NGS se stalo ve forenzních laboratořích velice významné díky schopnosti poskytovat přesné a citlivé výsledky z kontaminovaných vzorků z míst činů. Touto metodou lze nejen určit mikrobiální složení pro zjištění PMI, ale také identifikace mužské DNA, identifikace stop v případech otravy, sledování příbuzenství, identifikace stáří či tělních tekutin (Satam *et al.*, 2023).

## 4.4 Strojové učení

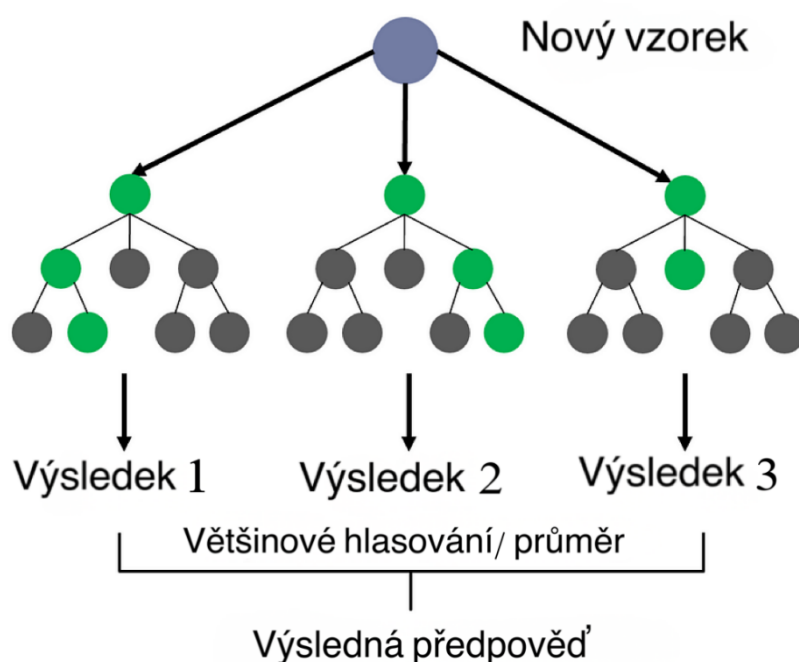
Studiemi rozkladu zemřelých těl se mohou vytvářet regresní modely. K vytvoření těchto modelů jsou zapotřebí data několika mikrobiálních společenstev. Vzorky jsou odebírány v řadě časových intervalů ze stejného místa na těle. Strojové učení (ML – Machine learning) zlepšuje odhad PMI analýzou dat mikrobiomu s využitím vzorců mikrobiální sukcese. V laboratořích se pomocí ML vytváří prediktivní modely, kterými lze určit PMI na základě časové řady vzorků. Data jsou rozdělena do trénovacích a testovacích souborů. Trénovací data slouží k naprogramování algoritmu ML. Tím dochází vygenerování modelu a následně testovací data se použijí k určení jeho přesnosti. Po vytvoření modelu se zanalyzují stěry odebrané z ostatků s neznámým PMI a výsledky se poté zadají do systému, který vygeneruje PMI s poskytnutím možné míry chybovosti (Aliouche, 2023).

### 4.4.1 Random forest

Metoda náhodného lesa (RF – Random forest) je metoda strojového učení pro vytvoření předpovídání PMI pomocí mikrobiálních vzorků (Al-Juhani *et al.*, 2025).

Vzorky jsou odebírány ze samotného zemřelého těla nebo z půdy pod ním. Dochází k sekvenování 16S rRNA pro vytvoření mikrobiálního profilu a identifikaci. Následně dochází k bioinformatickému zpracování pomocí OTU a výsledkem je relativní zastoupení jednotlivých druhů ve vzorku. Poté se model trénuje, kdy se vkládají údaje o mikrobiálním složení a známém času od smrti, popřípadě lze vložit i teplotu prostředí. Poté jednotlivé „stromy“ hlasují pro správný výsledek, tedy správný čas doby úmrtí (viz obrázek 5). V modelu

dochází k určení mikroorganismů, kteří se nachází v jednotlivých fázích rozkladu, a porovnání neznámé se známými vzorky s daným PMI. Konečným výsledkem je předpověď neboli jak model správně vyhodnotil data a jaká je průměrná odchylka. Model je tedy schopen říct, které mikroorganismy ze vzorku jsou pro PMI nejdůležitější a odhalí, jak se mikrobiální společenstva v čase mění (Javan *et al.*, 2016b; Metcalf *et al.*, 2013)



**Obrázek 5:** Model Random Forest (upraveno dle Yehoshua, 2023)

Výhodami tohoto modelu je vysoká přesnost při odhadu PMI s využitím mikroorganismů po smrti. Podle výzkumů je chybovost málo přes 5 %. Dalším benefitem je redukce šumu během zpracování dat ze vzorku, kombinace dat z různých typů vzorků či taxonomických úrovní. Dokáže také zpracovat nelineární vztahy mezi jednotlivými mikroorganismy a doby od (Belk *et al.*, 2018).

#### 4.5 Lidský posmrtný mikrobiální projekt

Lidský posmrtný mikrobiální projekt neboli Human Postmortem Microbiome Project (HPMP) se zabývá identifikací a charakterizací thanatomikrobiomu, epinekrotických společenstev a půdního mikrobiomu pod rozkládajícím se zemřelým tělem. Tento projekt slouží k usnadnění experimentálního modelu ke srovnání údajů získaných z mezinárodních laboratoří a tisíců zemřelých lidí. Pomocí HPMP lze sjednotit celosvětový výzkum a rozšířit stávající data

zahrnující např. odběr vzorků, zpracování, sekvenování a bioinformatickou analýzu. Následně lze vytvořit univerzální standard pro analýzu posmrtného mikrobiomu. Pro vědce HPMP zajišťuje informace o možnostech, jak si nechat zpracovat stávající a budoucí vzorky rozkladu pomocí standardních metod. Dochází k výměnám informací a znalostí mezi posmrtnými mikrobiálními studiemi. Výsledkem projektu by mohlo být zlepšení, validace pokroků použitelných nástrojů pro mikrobiologické studie člověka a pochopení role mikroorganismů při rozkladu těla (Javan a Finley, 2018).

#### **4.6 Savčí modely**

Savčí modely jsou nejpřesnější technikou pro výzkum odhadu posmrtného intervalu. Typickými savčími modely jsou myši, prasata a králíci. Umožňují etické, kontrolované a sdělovací experimenty, které by u lidí nebylo možné provádět. Těmito modely dochází k testování mikrobiálního rozkladu a vývoji tzv. mikrobiálních hodin. Nejčastějším modelem je myš, a to z důvodu své malé velikosti, což umožňuje rychlý rozklad. Lze zde kontrolovat teplotu prostředí, vlhkost, hmyzí aktivitu apod. Tento myší model je vhodný pro krátkodobé intervaly. Ve studii autorů Metcalf *et al.* (2013) byly myši rozkládány v různém prostředí a vzorky odebrány z úst, povrchu těla apod. Druhým významným modelem je prasečí, protože se nejvíce podobá člověku, kvůli své anatomii, hmotnosti, kůži a střevní mikroflóře. Je vhodný pro studie dlouhodobých intervalů (týdny až měsíce). Ve studii dle Pechal *et al.* (2013) byla prasata umístěna v přirozeném prostředí a byly odebírány vzorky z těla a půdy. Zjistily se změny v relativním zastoupení hlavních bakteriálních kmenů v průběhu různých fází rozkladu (Cobaugh *et al.*, 2015; Javan *et al.*, 2016b; Metcalf *et al.*, 2013; Pechal *et al.*, 2013).

## 5 BUDOUCÍ SMĚŘOVÁNÍ

Mikrobiální společenstva představují pro forenzní vědu velký potenciál pro odhad PMI. Přestože je v této oblasti dalších širších výzkumů, které by zahrnovaly odběry vzorků z různých částí těla, rozsáhlejší studie za variabilních podmínek či porovnání mikroorganismů v půdě pod tělem a v krátké blízkosti, dosavadní výsledky ukazují, že mikroorganismy se v průběhu rozkladu v závislosti na čase vyvíjejí předvídatelným způsobem. Do budoucna by bylo vhodné vytvořit standardizovaný protokol pro odběr vzorků za účelem analýz PMI. Měly by být rovněž zohledněny rozdíly mezi pohlavím, jelikož se až na jisté výjimky na těle liší. Tímto zohledněním by bylo možné rozpoznat pohlaví na základě mikroorganismů. Autoři ve své studii doporučují zaměřit budoucí výzkum především na efektivní strojové učení (Motias *et al.*, 2023).

Budoucím směrem pro zvýšení spolehlivosti je začlenění multi-omických přístupů do studia PMI pomocí mikrobiomu. To zahrnuje kombinaci metagenomického sekvenování jako jsou metaproteomika, metatranskriptomika či metabolomika. Těmito směry lze získat komplexnější pochopení aktivit a interakcí mikrobiálních společenstev, včetně jejich metabolických pochodů a molekulárních mechanismů. Existují však určitá omezení, která je potřeba řešit. Jedná se ovlivnění v důsledku vnějších vlivů či vnesení jiných mikroorganismů pomocí hmyzu. Překonáním omezení a rozšířením studií pro zvýšení přesnosti a spolehlivosti pro odhad PMI pomocí mikrobiomu by v konečném výsledku velice posílilo možnosti forenzního vyšetřování (Jangid a Dalal, 2023).

## ZÁVĚR

Stanovení posmrtného intervalu patří mezi základní úkoly forenzní vědy, přičemž jeho přesnost může zásadně ovlivnit úspěšnost vyšetřování kriminálních případů. Tradiční metody jsou ovlivňovány řadou faktorů a jejich využití je omezeno pouze na krátké časové období po smrti. Analýza mikrobiálních společenstev po smrti vykazuje přesnější způsob, jak posmrtný čas odhadnout.

Mikrobiální společenstva jsou přirozenou součástí lidské mikroflóry. Pro každou oblast těla i pohlaví jsou specifické určité druhy mikroorganismů. Po úmrtí dochází vlivem nedostatku kyslíku a postupujícího rozkladu ke změnám v jejich složení. Pro určitou fázi rozkladu jsou typické druhy mikroorganismů a dochází k úbytku aerobních a převládnutí anaerobních druhů. Postupem času kolonizují tělo i mikroorganismy z okolního prostředí, zejména z půdy, a samotný rozklad je ovlivněn také přítomností hmyzu. Mikrobiální společenstva na lidském těle i v jeho okolí vykazují určité časové zákonitosti, které lze využít pro odhad posmrtného intervalu, a to i v pozdějších fázích rozkladu.

Moderní technologie, jako je například sekvenování DNA ze vzorků a následné zpracování dat pomocí bioinformatických nástrojů, umožňují detailní sledování změn na úrovni jednotlivých druhů mikroorganismů. Existuje mnoho technologií a studií zabývajících se odhadem PMI, přičemž výzkum v této oblasti stále pokračuje s cílem dosáhnout co nejpřesnějších výsledků.

Ačkoliv je k dispozici široké množství metod pro detekci mikroorganismů a získání spolehlivých informací, praktické využití forenzní mikrobiologie je dosud limitováno několika faktory. Patří mezi ně vysoká variabilita mikroorganismů mezi jednotlivci, rozdíly v prostředí či chybějící standardizace metod. V budoucím směřování lze očekávat větší rozvoj technologií, větší dostupnost dat a zdokonalení již existujících analytických postupů. Forenzní mikrobiologie by tak mohla významně doplnit nebo dokonce nahradit tradiční přístupy při určování posmrtného intervalu.

## POUŽITÁ LITERATURA

ABDOUN, A.; AMIR, N. a FATIMA, M. Thanatobiome in forensic medicine. *New Microbiologica* [online]. 2023, **46**(3), 236–245. [cit. 2025-05-12]. ISSN 1121-7138. Dostupné z: [https://newmicrobiologica.org/wpcontent/uploads/2023/09/MICRO\\_3\\_2023\\_1.2\\_REVIEW\\_496N369\\_Amir\\_236-245.pdf](https://newmicrobiologica.org/wpcontent/uploads/2023/09/MICRO_3_2023_1.2_REVIEW_496N369_Amir_236-245.pdf)

ADHEKE, O.M. a OGHENEMAVWE, L.E. Review of estimation models for postmortem interval using total body score and accumulated degree days for different geographical regions. *Asian Journal of Advanced Research and Reports* [online]. 2023, **17**(11), 43–56. [cit. 2024-11-17]. ISSN 2582-3248. Dostupné z: <https://doi.org/10.9734/ajarr/2023/v17i11553>

ADSERIAS-GARRIGA, J.; QUIJADA, N.M.; HERNANDEZ, M.; RODRÍGUEZ LÁZARO, D.; STEADMAN, D. a GARCIA-GILL, L.J. Dynamics of the oral microbiota as a tool to estimate time since death. *Molecular Oral Microbiology* [online]. 2017, **32**(6), 511–516. [cit. 2025-04-15]. ISSN 2041-1006. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/omi.12191>

ALIOUCHE, H. Microbial succession as a forensic tool: Estimating time of death. *News Medical* [online]. 2023. [cit. 2025-05-30]. Dostupné z: <https://www.news-medical.net/life-sciences/Microbial-Succession-as-a-Forensic-Tool-Estimating-time-of-death.aspx>

AL-JUHANI, A.A.; GABER, A.M.; DESOKY, R. M.; BINSHALHOUB, A. A.; ALZHRANI, M. J.; ALRAYTHI M.S. From microbial data to forensic insights: systematic review of machine learning models for PMI estimation. *Forensic Science, Medicine and Pathology* [online]. 2025. [cit. 2025-05-20]. ISSN 1556-2891. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12024-025-01002-x>

ALMULHIM, A.M. a MENEZES, R.G. Evaluation of postmortem changes. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [online] 2023. [cit. 2024-11-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554464/>

ANDERSON, G.S. Effects of arson on forensic entomology evidence. *Canadian Society of Forensic Science Journal* [online]. 2005, **38**(2), 49–67. [cit. 2024-11-16]. ISSN 0008-5030. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00085030.2005.10757584>

ARYAL, S. 16S rRNA gene sequencing: Principle, steps, uses, diagram. *Microbe Notes* [online]. 2024. [cit. 2025-05-30]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/16s-rrna-gene-sequencing/>

AUSTRALIAN MUSEUM. Stages of decomposition. *Australian Museum* [online]. 2020. [cit. 2025-03-26]. Dostupné z: <https://australian.museum/learn/science/stages-of-decomposition/>

BABÁKOVÁ, B. Luring escape. *Jasuteren.cz* [online povídka]. 2024. [cit. 2025-01-05]. Dostupné z: <https://jasuteren.cz/media/pages/archiv/nove-sady/luring-escape/4065174646-1722856067/povidka-bernardety-babakove.pdf>

BELK, A.; XU, Z. Z.; CARTER, D. O.; LYNNE, A.; BUCHELI, S.; KNIGHT, R.; METCALF J.L. Microbiome data accurately predicts the postmortem interval using random forest regression models. *Genes* [online]. 2018, **9**(2). [cit. 2025-05-31]. ISSN 2073-4425. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/genes9020104>

BELL, C.R.; WILKINSON, J.E.; ROBERTSON, B.K. a JAVAN, G.T. Sex-related differences in the thanatomicrobiome in postmortem heart samples using bacterial gene regions V1-2 and V4. *Letters in Applied Microbiology* [online]. 2018, **67**(2), 144-153. [cit. 2025-04-15]. ISSN 0266-8254. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/lam.13005>

BRUNNING, A. The chemistry of the odour of decomposition. *Compound Interest* [online]. 2014. [cit. 2024-12-26]. Dostupné z: <http://www.compoundchem.com/2014/10/30/decompositionodour/>

BUGELLI, V.; GHERARDI, M.; FOCARDI, M.; PINCHI, V.; VANIN, S. a CAMPOBASSO, C.P. Decomposition pattern and insect colonization in two cases of suicide by hanging. *Forensic Sciences Research* [online]. 2018, **3** (1), 94–102. [cit. 2025-03-19]. ISSN 2096-1790. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/20961790.2017.1418622>

BUREŠOVÁ, A.; KOPECKÝ, J.; HRDINKOVÁ, V.; KAMENÍK, Z.; OMELKA, M.; SAGOVÁ-MAREČKOVÁ, M. a VIELLE, C. Succession of microbial decomposers is determined by litter type, but site conditions drive decomposition rates. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2019, **85**(24), e01760-19. [cit. 2025-03-18]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.01760-19>

BYARD, R.W. Estimation of the time since death in the early postmortem period (24–48 hours). *Estimation of the Time since Death*. Elsevier [online]. 2020, 11–27. [cit. 2025-03-06]. ISBN 9780128157312. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815731-2.00002-9>

CAN, I.; JAVAN, G. T.; POZHITKOV, A. E. a NOBLE, P. A. Distinctive thanatomicrobiome signatures found in the blood and internal organs of humans. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2014, **106**(1-7). [cit. 2025-05-01]. ISSN 01677012. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.07.026>

CLÁUDIA-FERREIRA, A.; BARBOSA, D.J.; SAEGEMAN, V.; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A. a DINIS-OLIVEIRA, R.J. The future is now: Unraveling the expanding potential of human (necro)microbiome in forensic investigations. *Microorganisms* [online]. 2023, **11**(10). [cit. 2024-11-22]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102509>

COBAUGH, K. L.; SCHAEFFER, S. M.; DEBRUYN, J. M. a BERG, G. Functional and structural succession of soil microbial communities below decomposing human cadavers. *PLOS ONE* [online]. 2015, **10**(6). [cit. 2025-06-01]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130201>

- COHEN, A. What are the stages of human decomposition? *Bio SoCal* [online]. 2019. [cit. 2025-03-24]. Dostupné z: <https://biosocal.com/what-are-the-stages-of-human-decomposition/>
- COSTANDI, M. Life after death: the science of human decomposition. *The Guardian* [online]. 2015. [cit. 2025-03-24]. Dostupné z: <https://www.theguardian.com/science/neurophilosophy/2015/may/05/life-after-death>
- DASH, H.R. a DAS, S. Microbial community signatures for estimation of postmortem time intervals. *Advances in Applied Microbiology* [online]. 2022, 91–113. [cit. 2024-11-16]. ISBN 9780323989657. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2022.02.002>
- DASH, H.R. a DAS, S. Thanatomicrobiome and epinecrotic community signatures for estimation of post-mortem time interval in human cadaver. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2020, **104**(22), 9497-9512. [cit. 2025-05-01]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10922-3>
- DEEL, H.; EMMONS, A.L.; KIELY, J.; DAMANN, F.E.; CARTER, D.O.; LYNNE, A.; KNIGHT, R.; XU, Z.Z.; BUCHELLI, S. a METCALF, J.L. A pilot study of microbial succession in human rib skeletal remains during terrestrial decomposition. *mSphere* [online]. 2021, **6**(4), e00455-21. ISSN 2379-5042. [cit. 2025-04-03]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/msphere.00455-21>
- DENT, B. B.; FORBES, S. L. a STUART, B. H. Review of human decomposition processes in soil. *Environmental Geology* [online]. 2004, **45**(4), 576-585. [cit. 2025-05-15]. ISSN 0943-0105. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00254-003-0913-z>
- DIETERICH, W.; SCHINK, M. a ZOPF, Y. Microbiota in the gastrointestinal tract. *Medical Sciences* [online]. 2018, **6**(4). [cit. 2025-04-07]. ISSN 2076-3271. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/medsci6040116>
- DILLON, S.R. The rates of chemical reactions. *Department of Chemistry & Biochemistry, Florida State University* [online]. [cit. 2025-03-04]. Dostupné z: <https://www.chem.fsu.edu/chemlab/chm1020c/Lecture%208/02.php>
- DITTO, P.D. Human decomposition evaluation: a standardized approach for staging and scoring morphological features using artificial intelligence. *Master's thesis. University of Tennessee* [online]. 2024. [cit. 2024-11-16]. Dostupné z: [https://trace.tennessee.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=12008&context=utk\\_gradthes](https://trace.tennessee.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=12008&context=utk_gradthes)
- DURHAM UNIVERSITY. What happens to human bodies after death? [online]. [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: <https://www.futurelearn.com/info/courses/forensic-archaeology-and-anthropology/0/steps/67858>

EDMONDS-WILSON, S.L.; NURINOVA, N.I.; ZAPKA, C.A.; FIERER, N. a WILSON, M. Review of human hand microbiome research. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2015, **80**(1), 3–12. [cit. 2025-4-5]. ISSN 09231811. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2015.07.006>

EMMONS, A.L.; MUNDORFF, A.Z.; KEENAN, S.W.; DAVOREN, J.; ANDRONOWSKI, J.; CARTER, D.O.; DEBRUYN, J.M. a ARCHER, M. Characterizing the postmortem human bone microbiome from surface-decomposed remains. *PLOS ONE* [online]. 2020, **15**(7), e0218636. [cit. 2025-04-03]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218636>

ENGELHAUPT, E. These microbes break you down when you die. Are they a key to forensic science? *National Geographic* [online]. 2024. [cit. 2024-12-26]. Dostupné z: <https://www.nationalgeographic.com/science/article/youre-surrounded-by-bacteria-that-are-waiting-for-you-to-die>

FAIS, P.; MAZZOTTI, M.C.; TETI, G.; BOSCOLO-BERTO, R. a PELOTTI, S. HIF 1 $\alpha$  protein and mRNA expression as a new marker for postmortem interval estimation in human gingival tissue. *Journal of Anatomy* [online]. 2018, **236**(6), 1031–1037. [cit. 2024-11-16]. ISSN 0021-8782. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/joa.12800>

FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO. Příloha č. 4: Princip metody Sangerova sekvenování [online]. Brno: FN Brno. [cit. 2025-05-30]. Dostupné z: <https://www.fnbrno.cz/priloha-c-4-princip-metody-sangerova-sekvenovani-cmbg/f6466>

FINLEY, S. J.; PECHAL, J. L.; BENBOW, M. E.; ROBERTSON, B. K. a JAVAN, G. T. Microbial signatures of cadaver gravesoil during decomposition. *Microbial Ecology* [online]. 2016, **71**(3), 524-529. [cit. 2025-05-16]. ISSN 0095-3628. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0725-1>

FORBES, S.; BLAU, S. a VOSS, S. The science of decomposition. *Deadly secrets—the science of decomposition*. Science.org.au [online]. 2016. [cit. 2025-03-26]. Dostupné z: <https://www.science.org.au/curious/decomposition>

FRANCESCHETTI, L.; AMADASI, A.; BUGELLI, V.; BOLSI, G. a TSOKOS, M. Estimation of late postmortem interval: Where do we stand? A literature review. *Biology* [online]. 2023, **12**(6). [cit. 2024-11-17]. ISSN 2079-7737. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biology12060783>

GALLOWAY, A.; BIRKBY, W.H.; JONES, A.M.; HENRY, T.E. a PARKS, B.O. Decay rates of human remains in an arid environment. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 1989, **34**(3), 607–616. [cit. 2025-03-08]. ISSN 0022-1198. Dostupné z: <https://doi.org/10.1520/JFS12680J>

GARCÍA, M.G.; PÉREZ-CÁRCELES, M.D.; OSUNA, E., LEGAZ, I. a ERCOLINI, D. Impact of the human microbiome in forensic sciences: A systematic review. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2020, **86**(22), e01451-20. [cit. 2024-11-25]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.01451-20>

GOFF, M.L. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. *Experimental and Applied Acarology* [online]. 2009, **49**(1-2), 21–36. [cit. 2024-12-26]. ISSN 0168-8162. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9284-9>

GOMES, A. a KORF, B. Genetic testing techniques. *Pediatric Cancer Genetics*. Elsevier [online]. 2018, 47-64. [cit. 2025-05-30]. ISBN 9780323485555. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48555-5.00005-3>

HAAS, C.; NEUBAUER, J.; SALZMANN, A.P.; HANSON, E. a BALLANTYNE, J. Forensic transcriptome analysis using massively parallel sequencing. *Forensic Science International: Genetics* [online]. 2021, **52**. [cit. 2024-11-16]. ISSN 18724973. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102486>

HAU, T.; HAMZAH, N.; LIAN, H. a HAMZAH, S. Decomposition process and post mortem changes. *Sains Malaysiana* [online]. 2014, **43**(12), 1842–1882. [cit. 2025-03-17]. Dostupné z: [https://www.ukm.my/jsm/pdf\\_files/SM-PDF-43-12-2014/08%20Teo%20Chee.pdf](https://www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-43-12-2014/08%20Teo%20Chee.pdf)

HAUTHER, K. A.; COBAUGH, K. L.; JANTZ, L. M.; SPARER, T. E. a DEBRUYN, J. M. Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 2015, **60**(5), 1234-1240. [cit. 2025-05-18]. ISSN 0022-1198. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12828>

HAWKINS, M.M.; SCHULTZ, J.J. a MITCHELL, A.T. Skeletal sun bleaching and weathering patterns in Central Florida: An approach for estimating time since death (TSD). *American Academy of Forensic Sciences, 2017 Annual Meeting Proceedings* [online]. 2017, **A85**. [cit. 2025-4-2]. Dostupné z: <https://www.aafs.org/sites/default/files/media/documents/AAFS-2017-A85.pdf>

HAYMAN, J. a OXENHAM, M. Algor mortis and temperature-based methods of estimating the time since death. *Human Body Decomposition*, Elsevier [online]. 2021, 13–52. ISBN 9780128036914. [cit. 2025-01-04]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803691-4.00002-9>

HAYMAN, J. A review of research concerning the estimation of time since death in decomposed bodies in the early stages of decomposition. *Estimation of Time Since Death in Australian Conditions*, Elsevier [online]. 2021, 1–40. ISBN 9780128244241. [cit. 2025-03-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824424-1.00005-6>

HORÁK, O.; PYSZKO, M.; PÁRAL, V. a ŠANDOR, O. Degreasing and bleaching bones using light sources as a tool to increase the safety of teaching osteology at the University of Veterinary Sciences Brno. *PeerJ* [online]. 2022, **10**, e14036. [cit. 2025-04-03]. ISSN 2167-8359. Dostupné z: <https://doi.org/10.7717/peerj.14036>

HYDE, E.R.; HAARMANN, D.P.; LYNNE, A.M.; BUCHELI, S.R. a PETROSINO, J.F. The living dead: Bacterial community structure of a cadaver at the onset and end of the bloat stage of decomposition. *PLOS ONE* [online]. 2013, **8**(10), e77733. [cit. 2025-03-08]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077733>

JANAWAY, R.C.; PERCIVAL, S.L. a WILSON, A.S. Decomposition of human remains. PERCIVAL, Steven L. (ed.). *Microbiology and Aging*. Totowa, NJ: Humana Press [online]. 2009, 313-334. [cit. 2025-06-20]. ISBN 978-1-58829-640-5. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-327-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-327-1_14)

JANAWAY, R.C. The decay of buried human remains and their associated materials. HUNTER, J.; ROBERTS, C. a MARTIN, A., eds. *Studies in Crime: An Introduction to Forensic Archaeology*. London: Routledge [online]. 1997, 58–85. [cit. 2025-06-20]. Dostupné z: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?doi=8b8862db9765dabf047901d0b6c973af85ceb5de&repid=rep1&type=pdf>

JANGID, Ch. a DALAL, J. Exploring the potential of microbial communities: Understanding their role in PMI estimation. HAKAN DOGAN, Kamil (ed.). *Unlocking the Mysteries of Death – New Perspectives for Post-mortem Examination*. IntechOpen [online]. 2023. [cit. 2025-06-01]. ISBN 978-1-83769-383-2. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/intechopen.1002055>

JAVAN, G. T.; FINLEY, S. J.; ABIDIN, Z. a MULLE, J. G. The thanatomicrobiome: A missing piece of the microbial puzzle of death. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2016a, **7**. ISSN 1664-302X. [cit. 2025-06-01]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00225>

JAVAN, G. T.; FINLEY, S. J.; CAN, I.; WILKINSON, J. E.; HANSON, J. D. a TARONE, A.M. Human Thanatomicrobiome Succession and Time Since Death. *Scientific Reports* [online]. 2016b, **6**(1). [cit. 2025-05-31]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/srep29598>

JAVAN, G.T. a FINLEY, S.J. What is the “thanatomicrobiome” and what is its relevance to forensic investigations? *Forensic Ecogenomics*. Elsevier [online]. 2018, 133–143. [cit. 2025-04-29]. ISBN 9780128093603. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809360-3.00006-0>

JAVAN, G.T.; FINLEY, S.J.; SMITH, T.; MILLER, J. a WILKINSON, J.E. Cadaver thanatomicrobiome signatures: The ubiquitous nature of *Clostridium* species in human decomposition. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2017, **8**. [cit. 2025-03-09]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02096>

JOPP-VAN WELL, E.; AUGUSTIN, C.; BUSSE, B.; FUHRMANN, A.; HAHN, M. TOSKOS, M.; VERHOFF, M. a SCHULZ, F. The assessment of adipocere to estimate the post-mortem interval – a skeleton from the tidelands. *Anthropologischer Anzeiger* [online]. 2016, **73**(3), 235–247. [cit. 2025-03-27]. ISSN 0003-5548. Dostupné z: <https://doi.org/10.1127/anthranz/2016/0615>

KIM, Y.S.; UNNO, T.; KIM, B.-Y. a PARK, M.-S. Sex differences in gut microbiota. *The World Journal of Men's Health* [online]. 2020, **38**(1). [cit. 2024-12-26]. ISSN 2287-4208. Dostupné z: <https://doi.org/10.5534/wjmh.190009>

KLIMEŠOVÁ, V.; BARTÁK, M. a ŠULÁKOVÁ, H. Forenzní entomologie a její využití v kriminalistické praxi. *ResearchGate* [online]. 2015. [cit. 2024-11-16]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/294736954>

LAUBER, C.L.; METCALF, J.L.; KEEPERS, K.; ACKERMANN, G.; CARTER, D.O.; KNIGHT, R. a DRAKE, H.L. Vertebrate decomposition is accelerated by soil microbes. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2014, **80**(16), 4920–4929. [cit. 2025-03-18]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/AEM.00957-14>

LI, N.; LIANG, X.-R.; ZHOU, S.-D.; DANG, L.-H.; LI, J.; AN, G.-S.; REN, K.; JIN, Q.-Q.; LIANG X.-H.; CAO, J.; DU, Q.-X.; WANG, Y.-Y. a SUN, J.-H. Exploring postmortem succession of rat intestinal microbiome for PMI based on machine learning algorithms and potential use for humans. *Forensic Science International: Genetics*. 2023 [online]. **66**. [cit. 2024-11-29]. ISSN 18724973. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2023.102904>

LICHNEROVÁ, K. Vliv tafonomických faktorů na degradaci kostní a zubní tkáně. Bakalářská práce. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra antropologie a genetiky člověka [online]. 2011. [cit. 2025-04-02]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/36619/130025472.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

LLOYD-PRICE, J.; ABU-ALI, G. a HUTTENHOWER, C. The healthy human microbiome. Online. *Genome Medicine* [online]. 2016, **8**(1). [cit. 2024-11-30]. ISSN 1756-994X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>

LUTZ, H.; VANGELATOS, A.; GÖTTEL, N.; OSCULATI, A.; VISONA, S.; FINLEY, S. J.; GILBERT, J.A. a JAVAN, G.T. Effects of extended postmortem interval on microbial communities in organs of the human cadaver. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2020, **11**. [cit. 2025-06-20]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.569630>

MANNING, P. Life after death: How insects rise from the dead and transform corpses into skeletons. *The Conversation* [online]. 2020. [cit. 2025-03-18]. Dostupné z: <https://theconversation.com/life-after-death-how-insects-rise-from-the-dead-and-transform-corpse-into-skeletons-148847>.

MATOKA, K.; MURAKAMI, M.; FUJITA, E.; JIN, S.; OGASAWARA, R. MATOKA, T.; TAKEUCHI, A.; HAGA, S.; OZAKI, M. a HYODOH, H. The usefulness of measuring n-butyric acid concentration as a new indicator of blood decomposition in forensic autopsy. *Legal Medicine* [online]. 2022, **57**. [cit. 2025-03-26]. ISSN 13446223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2022.102071>

METCALF, J.L. Estimating the postmortem interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption. *Forensic Science International: Genetics* [online]. 2019, **38**, 211–218. [cit. 2024-11-10]. ISSN 18724973. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.11.004>

METCALF, J.L.; CARTER, D.O. a KNIGHT, R. Microbiology of death. *Current Biology* [online]. 2016, **26**(13), R561–R563. [cit. 2025-01-05]. ISSN 09609822. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.042>

METCALF, J.L.; WEGENER PARFREY, L.; GONZALEZ, A.; LAUBER, C.L.; KNIGHTS, D.; ACKERMANN, G.; HUMPHREY, C.G.; GEBERT, J.M.; TREUREN, V.W.; BERGLYONS, D.; KEEPERS, K.; GUO, Y.; BULLARD, J.; FIERER, N.; CARTER, O.D. a KNIGHT, R. A microbial clock provides an accurate estimate of the postmortem interval in a mouse model system. *Elife* [online]. 2013, **2**. [cit. 2025-05-13]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: <https://doi.org/10.7554/eLife.01104>

MOITAS, B.; CALDAS, I.M. a SAMPAIO-MAIA, B. Microbiology and postmortem interval: A systematic review. *Forensic Science, Medicine and Pathology* [online]. 2023, **20**(2), 696–715. [cit. 2024-11-17]. ISSN 1556-2891. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12024-023-00733-z>

NÁRODNÍ ZDRAVOTNICKÝ INFORMAČNÍ PORTÁL. *Národní zdravotnický informační portál* [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2025. [cit. 2025-04-25]. ISSN 2695-0340. Dostupné z: <https://www.nzip.cz>

NOVOTNÁ, M. Princip NGS metody [online]. Hradec Králové: Generi Biotech, 2018 [cit. 2025-05-30]. Dostupné z: <https://www.generi-biotech.com/cs/princip-ngs-metody/>

PARK, J.; KIM, S.J.; LEE, J-A; KIM, J.W. a KIM, S. B. Microbial forensic analysis of human-associated bacteria inhabiting hand surface. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* [online]. 2017, **6**, e510-e512. [cit. 2025-06-19]. ISSN 18751768. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2017.09.210>

- PECHAL, J. L.; CRIPPEN, T. L.; BENBOW, M. E.; TARONE, A. M.; DOWD, S. a TOMBERLIN, J.K. The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing. *International Journal of Legal Medicine* [online]. 2014, **128**(1), 193-205. ISSN 0937-9827. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00414-013-0872-1>
- PECHAL, J.L.; CRIPPEN, T.L.; TARONE, A.M.; LEWIS, A.J.; TOMBERLIN, J.K. a BENBOW, M.E. Microbial community functional change during vertebrate carrion decomposition. *PLoS ONE* [online]. 2013, **8**(11). [cit. 2025-06-01]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079035>
- PÍŠTEKOVÁ, H. Tafonomie v archeologickém kontextu. Analýza velkomoravských pohřbů na lokalitě Břeclav-Pohansko-Lesní hrúd. Bakalářská diplomová práce. [online]. Brno: Masarykova univerzita, Filozofická fakulta, Ústav archeologie a muzeologie. 2011. [cit. 2024-11-16]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/fru6m/Bc.tafonomie.pdf>
- PROKEŠ, L. Posmrtné změny a jejich význam při interpretaci pohřebního ritu (ke vztahu mezi archeologií a forenzními vědami). [online]. Masarykova univerzita, Brno. 2015. [cit. 2025-04-02]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2015/Bi6868/um/Posmrtn%C3%A9\\_zmeny.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2015/Bi6868/um/Posmrtn%C3%A9_zmeny.pdf)
- PYREK, K.M. The hand microbiome, bacterial diversity, and defining 'clean' in hand hygiene. *Healthcare Hygiene Magazine* [online]. 2020. [cit. 2025-04-05]. Dostupné z: <https://www.healthcarehygienemagazine.com/the-hand-microbiome-bacterial-diversity-and-defining-clean-in-hand-hygiene/>
- RAI, M.; THAKUR, A.; YADAV, J. a TIWARI, G. Factors influencing the decomposition of human dead bodies in tropical climate - All weather cross-sectional study. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research* [online]. 2023, **13**(7), 291–296. [cit. 2025-03-24]. ISSN 0975-5160. Dostupné z: <https://impactfactor.org/PDF/IJTPr/13/IJTPr,Vol13,Issue7,Article50.pdf>
- ROGERS, K. Human microbiome. *Encyclopedia Britannica* [online]. 2024. [cit. 2024-11-25]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/human-microbiome>
- ROY, D.; TOMO, S.; PUROHIT, P. a SETIA, P. Microbiome in death and beyond: Current vistas and future trends. *Frontiers in Ecology and Evolution* [online]. 2021, **9**. [cit. 2024-11-22]. ISSN 2296-701X Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.630397>
- SAMPAIO-SILVA, F.; MAGALHÃES, T.; CARVALHO, F.; DINIS-OLIVEIRA, R.J. a SILVESTRE, R. Profiling of RNA degradation for estimation of postmortem interval. *PLoS ONE* [online]. 2013, **8**(2). ISSN 1932-6203. [cit. 2024-11-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056507>

- SATAM, H.; JOSHI, K.; MANGROLIA, U.; WAGHOO, S.; ZAIDI, G.; RAWOOL, S.; THAKARE, R.P.; BANDAY, S.; MISHRA, A.K.; DAS, G. a MALONIA, S.K. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology* [online]. 2023, **12**(7). [cit. 2025-05-30]. ISSN 2079-7737. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biology12070997>
- SAUKKO, P. a KNIGHT, B. *Knight's forensic pathology*, 4. vyd. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2016. ISBN 978-0-340-97253-3.
- SERRA, S. *Livor mortis, bluish color, bruise, mortis of death, postmortem lividity* [online]. [cit. 1. června 2025]. Dostupné z: <https://www.pond5.com/stock-images/photos/item/266223328-livor-mortis-bluish-color-bruise-mortis-death-postmortem-liv>
- SERVICEMASTER BIOCLEAN. The Stages of Human Decomposition. *ServiceMaster BioClean Blog* [online]. 2025. [cit. 2025-03-08]. Dostupné z: <https://servicemasterbioclean.com/blog/stages-human-decomposition>
- SHEDGE, R.; KRISHAN, K.; WARRIER, V. a KANCHAN, T. *Postmortem Changes* [online]. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cit. 2025-06-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539741/>
- SHIVPOOJAN, K. Time since death from rigor mortis: forensic prospective. *Journal of Forensic Science & Criminal Investigation* [online]. 2018, **9**(5), ISSN 24761311. [cit. 2025-03-12]. Dostupné z: <https://doi.org/10.19080/JFSCI.2018.09.555771>
- SHRESTHA, R.; KANCHAN, T. a KRISHAN, K. Methods of estimation of time since death. *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. [cit. 2024-11-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549867/>
- SINGH, A.A. a OKPEKU, M. Emerging methods of human microbiome analysis and its forensic applications: Review. *Forensic Science International: Reports* [online]. 2024, **9**. [cit. 2024-11-22]. ISSN 26659107. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fsir.2024.100355>
- TOZZO, P.; AMICO, I.; DELICATI, A.; TOSELLI, F. a CAENAZZO, L. Post-mortem interval and microbiome analysis through 16S rRNA analysis: A systematic review. *Diagnostics* [online]. 2022, **12**(11). [cit. 2025-05-19]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112641>
- TOZZO, P.; D'ANGIOLELLA, G.; BRUN, P.; CASTAGLIUOLO, I.; GINO, S. a CAENAZZO, L. Skin microbiome analysis for forensic human identification: What do we know so far? *Microorganisms* [online]. 2020, **8**(6). Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060873> [cit. 2025-4-7].
- TSOKOS, M. Postmortem changes | Overview. In: *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine* [online]. Elsevier, 2005, 456–476. [cit. 2025-03-18]. ISBN 9780123693990. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B0-12-369399-3/00091-4>

- TUOMISTO, S.; KARHUNEN, P. J.; VUENTO, R.; AITTONIEMI, J. a PESSI, T. Evaluation of postmortem bacterial migration using culturing and real-time quantitative PCR. *Journal of Forensic Sciences* [online]. 2013, **58**(4), 910-916. [cit. 2025-05-01]. ISSN 0022-1198. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12124>
- WAHLEY, T. 5 Stages of decomposition. *Human STEAM* [online]. 2021. [cit. 2025-03-19]. Dostupné z: <https://humanap.community.uaf.edu/2021/06/19/5-stages-of-decomposition/>
- WÓJCIK, J.; TOMSIA, M.; DRZEWIECKI, A. a SKOWRONEK, R. Thanatobiome – State of the art and future directions. *Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology* [online]. 2021, **60**(1), 21-29. [cit. 2025-05-15]. ISSN 2545-3149. Dostupné z: <https://doi.org/10.21307/PM-2021.60.1.03>
- WOOLSEY, M. 5 stages of human decomposition - external factors explained. *Chore-ology* [online]. 2024. [cit. 2025-03-18]. Dostupné z: <https://www.chore-ology.com/post/5-stages-of-human-decomposition>
- YEHOSHUA, R. *Random forests* [online]. Medium, 25. března 2023 [cit. 2025-06-01]. Dostupné z: <https://medium.com/@roiyeo/random-forests-98892261dc49>
- ZAPICO, S. C. a ADSERIAS-GARRIGA, J. Postmortem interval estimation: New approaches by the analysis of human Tissues and microbial communities' changes. *Forensic Sciences* [online]. 2022, **2**(1), 163-174. [cit. 2025-05-18]. ISSN 2673-6756. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/forensicsci2010013>
- ZHANG, J.; LIU, W.; SIMAYIJIANG, H.; HU, P. a YAN, J. Application of microbiome in forensics. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* [online]. 2023, **21**(1), 97–107. [cit. 2024-11-10]. ISSN 1672-0229. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.07.007>
- ZHOU, W. a BIAN, Y. Thanatobiome composition profiling as a tool for forensic investigation. *Forensic Sciences Research* [online]. 2018, **3**(2), 105-110. [cit. 2025-05-19]. ISSN 2096-1790. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/20961790.2018.1466430>