

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie

Centrum pro výzkum chování psů



**Aktivní pachová signatura při vyhledávání lidských ostatků
speciálně vycvičenými psy**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Monika Hrdinová

Vedoucí práce: Ing. Ludvík Pinc, Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Aktivní pachová signatura při vyhledávání lidských ostatků speciálně vycvičenými psy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11.4.2015 _____

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu diplomové práce Ing. Ludvíku Pincovi, Ph.D. nejen za odbornou pomoc při zpracování této práce, ale i za poskytnutí materiálních pomůcek, bez kterých by nebylo možné práci realizovat. Dále bych chtěla poděkovat konzultantovi mé diplomové práce Stanislavovi Voráčkovi za pomoc při vedení experimentu, zejména přínosné informace z praxe, trpělivost a neuvěřitelné množství času, které mi věnoval. A v neposlední řadě celé své rodině za trpělivost, především dceři Kristýně Mrkvičkové, za užitečné konzultace.

Aktivní pachová signatura při vyhledávání lidských ostatků speciálně vycvičenými psy

Souhrn

Psi, vycvičení na vyhledávání lidských ostatků, pátrají po pachu, který vydává rozkládající se lidská tkáň. Takto vycvičení psi jsou schopni lokalizovat např. kosterní pozůstatky, tekutiny a zbytky tkání na povrchu, pod zemí či dokonce pod vodou. Výcvik těchto psů je velice náročný, protože není jednoduché zvolit ideální výcvikové pomůcky.

Při rozkladu lidského těla vzniká mnoho těkavých organických látek. Cílem práce bylo zjistit, zda vytipované, na základě publikovaných studií nejčastěji se vyskytující, těkavé organické látky tvoří aktivní pachovou signaturu. Tedy jsou-li to látky, kterými se řídí psi speciálně vycvičení na vyhledávání neživých osob a lidských ostatků.

Testování probíhalo v Domašíně, v prostorách kynologického střediska Krajského ředitelství policie Středočeského kraje a zúčastnili se ho dva psi. Jednalo se o feny plemene německý ovčák. Jedna fena splňuje kategorii pes určený k vyhledávání lidských ostatků, druhá fena je připravena na obhajobu kategorie pro vyhledávání lidských ostatků.

K testování bylo použito sedm cílových těkavých organických látek – 1,2,4 trimethylbenzene 98%, nonanal 97%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, dimethyl disulfide 99%, hexan p. a., toulén p.a., mix těchto látek a 12 klamných pachů.

Do snifferů (plechové krabičky kruhového tvaru s děrovaným víčkem) byly vloženy čtverce Aratexu[®], na které byly následně nakapány cílové látky. Stejným způsobem byly připraveny i klamné vzorky. Sniffer byl poté vložen do připravené sklenice. V první fázi bylo ověřeno, že psi jsou schopni detekovat látky, na které jsou primárně cvičeni a nereagují na klamné pachy. V druhé klíčové fázi bylo zkoumáno, zda psi reagují na cílovou látku, nebo ji přímo označí.

Testováním bylo zjištěno, že obě dvě feny bezpečně detekují látky, na které jsou primárně cvičeny, což jsou reálné výcvikové pomůcky. V tomto případě se jedná o zeminu, která byla odebrána z okolí rozkládajícího se těla, Aratex[®] nebo části materiálů, které byly v kontaktu s neživou osobou.

Hlavní část experimentu ukázala, že jeden pes speciálně vycvičený a využívaný k vyhledávání neživých osob a lidských ostatků je schopen reagovat na dvě ze sedmi látek,

a to nonanal 97% a dimethyl disulfid 99%, nedošlo však k jednoznačnému označení těchto dvou látek. Ani jeden pes nereagoval na směs všech sedmi látek. Hypotéza, že psi, speciálně vycvičení a využívání k vyhledávání lidských ostatků budou rovněž reagovat na 1,2,4-trimethylbenzene 98%, nonanal 97%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, dimethyl disulfide 99%, hexan p.a. toluen p.a., tedy látky, které tvoří aktivní pachovou signaturu, se tedy nepotvrdila.

Klíčová slova: lidské ostatky, dekompozice, aktivní pachová signatura

Active Odor Signature in the Search for Human Remains by Specialty Trained Canines

Summary

Dogs trained to search for cadavers are looking for the smell of decomposing human tissue. Thus, trained dogs are able to find e.g. skeletal remains, fluids and remains of tissues on the surface, underground or even underwater. Training of these dogs is very challenging because it is not easy to choose the perfect training aids.

During the process of human body decomposition, many volatile organic compounds are created. The aim of the study was to determine whether predicted volatile organic compounds, which were chosen based on the previous studies, form an active odor signature. So whether these are the substances used as a clue by dogs specially trained to search for human remains.

Testing was conducted in Domašín at the premises of the Canine Training Facility of the Czech Republic Police that belongs to Central Bohemian Regional Headquarters. Two canine teams with two female German Shepherds were used for data collection. One dog has been certified as the cadaver detection canine and the other dog is young canine already prepared to be certified as the cadaver detection canine.

Seven target VOCs were used for the testing - 1,2,4 trimethylbenzene 98% nonanal 97% Ethylbenzene 99% 3-pentanone 99% dimethyl disulfide 99% Hexane pa Toluene pa, mix of these substances and 12 deceptive odors.

Small squares of fabric sorbent (ARATEX[®]) scented with target substances were inserted to sniffers (metal tin of circular shape with a perforated lid). Distracting samples were prepared in the same way. Sniffers were subsequently placed into glass jars mounted on training wheel. In the first phase it was verified that the dogs are able to detect substances which they are primarily trained for and do not respond to distracting odors. In the second key stage it was examined whether the dogs would pass the target substance, react to it or even display correct mode of signaling.

It was found out while testing that both dogs reliably detect substances that they have been trained for. These substances are realistic training aids, in this case it is the soil removed from the surrounding of decomposing body and ARATEX[®] or materials which have been in contact with the cadaver.

The main part of the experiment showed that one dog specially trained and used to search for cadavers is able to respond to two out of the seven substances in total, specifically nonanal 97% and dimethyl disulfide 99%. But even the responses to these two substances were not accurate. There was not also observed the response to the mixture of all seven substances. The hypothesis that dogs specially trained to search for human remains, will also react to 1,2,4 trimethylbenzene 98%, nonanal 97%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, dimethyl disulfide 99%, hexane p.a., toluene p.a., substances that form the active odor signature, is therefore confirmed.

Keywords: human remains, decomposition, active odor signature

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Cíl práce	11
3	Přehled literatury	12
3.1	Smrt.....	12
3.2	Posmrtné změny	12
3.2.1	Posmrtné skvrny(livores mortis).....	12
3.2.2	Posmrtná ztuhlost (rigor mortis)	13
3.2.3	Chladnutí těla (algor mortis) a zasychání kůže a sliznic.....	14
3.2.4	Autolýza	14
3.2.5	Hniloba a tlení.....	14
3.2.6	Mumifikace, adipocire	16
3.3	Forenzní entomologie	18
3.4	Pach.....	18
3.4.1	Čich	19
3.5	VOC - Organické těkavé látky.....	20
3.5.1	Charakteristika VOC látek přítomných při rozkladu lidských ostatků.....	21
3.5.2	Nejvýznamnější VOC látky z hlediska forenzní toxikologie	22
3.5.3	Mikrobiální metabolické dráhy vzniku VOC	22
3.5.4	Porovnání VOC látek u lidských a zvířecích ostatků	23
3.6	Pes při vyhledávání lidských ostatků.....	24
3.6.1	Výcvik psa pomocí laboratorně vyrobených kadaverózních pachů	24
3.6.2	Reálné výcvikové pomůcky.....	25
4	Hypotéza	27
5	Materiál a metody	28
5.1	Psi výcvičení k vyhledávání lidských ostatků	28
5.1.1	Výcvik psa.....	28
5.1.2	Metodika výcviku psů využitých v experimentu.....	28
5.2	Pomůcky a materiál používaný k experimentu	29
5.3	Průběh experimentu	31
5.3.1	Příprava materiálu	31
5.3.2	Testování.....	32
6	Výsledky	34
6.1	Statistické vyhodnocení.....	35
7	Diskuze	37

8	Závěr	38
9	Seznam literatury	39

1 Úvod

Detekce lidských ostatků psy může být důležitým nástrojem k lokalizaci pohřbených těl, protože jejich schopnost je založena na čichových podnětech a nikoliv na podnětech vizuálních. Včasná lokalizace pohřbených těl je významná pro kriminalistickou praxi (Cablk et al. 2012), zejména k určení tzv. post-mortem intervalu (PMI), což je doba, která uplynula od smrti jedince do okamžiku jeho nálezů. Stanovení PMI je jednou z nejdůležitějších a často kladených otázek v soudním lékařství. Metody používané pro stanovení PMI jsou založeny převážně na časných a pozdních posmrtných změnách (Alibegovic, 2014).

Homolka (2014) uvádí, že prvním psem vycvičeným výhradně na vyhledávání mrtvol, byla fena labradorského retrievera ve Spojených státech amerických v roce 1974 a jejím prvním nálezem bylo tělo studenta vysoké školy v Syracuse, které bylo ukryto v zemi v hloubce 1,2 metru. Státní policie v Connecticutu v USA zahájila program pro výcvik psů na vyhledávání mrtvých osob v roce 1977. První pokusy o výcvik psů pro vyhledávání lidských kadaverů byly v České republice realizovány v polovině sedmdesátých let minulého století.

Využití psů speciálně vycvičených k vyhledávání lidských ostatků nemusí být jen při neštěstích a katastrofách (Lasseter et al. 2003), ale i pro archeologické účely, kdy jsou psi schopni nalézt ukryté hroby. Psi disponují schopností rozlišovat lidské kadavery od zvířecích. (Cablk et al. 2012).

V současné době není známo, jaké sloučeniny nebo kombinace jakých sloučenin tvoří aktivní pachovou signaturu, kterou se psi řídí při vyhledávání mrtvol. Není znám ani komplexní profil těkavých organických látek rozkládajících se lidských kadaverů (Stadler et al., 2013). Velký význam při výcviku jsou správně zvolené výcvikové pomůcky, zda použít reálné výcvikové pomůcky či pseudopachy.

2 Cíl práce

Cílem práce je stanovení těkavých organických látek, které tvoří pachovou signaturu při práci psů vycvičených na vyhledávání lidských ostatků.

3 Přehled literatury

3.1 Smrt

Smrt je ireverzibilní zástava dechu a srdeční činnosti (Štefan et al., 2013). Umírání není okamžitý projev, ale většinou dlouhotrvající pochod (Tesař, 1976). Metabolismus tkání pokračuje několik hodin po smrti (Madea et al., 2013). Při nástupu smrti po vyřazení centrálních regulačních mechanismů odumírají buňky a buněčné systémy různou rychlostí. Toto časově ohraničené přežívání, až do odumření poslední buňky, je označováno jako intermediální život. Reakce, které se ještě v tomto období dají pozorovat, se označují jako supravitální. Rozlišují se nejisté známky smrti a jisté známky smrti. Mezi nejisté známky patří takové, které i když se vyskytují společně, nedovolují jednoznačně stanovit smrt. Patří k nim například bledost kůže či pokles tělesné teploty (Štefan et al., 2013).

3.2 Posmrtné změny

Po smrti dochází k mnoha fyzikálně-chemickým změnám, které se vyskytují v pravidelném sledu a mohou být použity k odhadu posmrtného intervalu (PMI) (Salam et al., 2012). Mezi tyto změny zahrnujeme posmrtné skvrny (*livores mortis*), posmrtnou ztuhlost (*rigor mortis*), chladnutí těla (*algor mortis*) a hnilobné změny (Štefan et al., 2013). Bucholtz (2014) uvádí, že doba PMI na základě posmrtných změn je vždy jen odhad, protože všechny změny jsou závislé na mnoha dalších faktorech, např. teplotě, oděvu, stáří, velikosti těla, způsobu a příčině smrti.

3.2.1 Posmrtné skvrny (*livores mortis*)

Posmrtné skvrny vznikají hypostázou, tj. klesáním krve na nejnižší položené části těla (Goff, 2009). Stávají se patrnými při naplnění kožních kapilár krví (Štefan et al. 2013). První známky *livor mortis* jsou obvykle pozorovány zhruba hodinu po smrti (Goff, 2009). Ke splývání skvrn dochází v průměru za 2,5 hodiny. Barva posmrtných skvrn je různě intenzivně červenofialová až modrofialová. (Štefan et al., 2013). Clark et al. (1997) uvádí, že barva skvrn může být významná při určení příčiny úmrtí. Při otravě oxidem uhelnatým jsou skvrny červené, u kyanidu draselného načervenalé. Při utopení nebo u zmrzlých mrtvol jsou skvrny narůžovělé, protože nastává hemolýza a hemoglobin vystoupí z cév se snáze oxiduje kyslíkem difundujícím do vzduchu. Již Tesař (1976) se ve své knize zmiňuje, že skvrny

nesmějí být zaměněny s krevními výrony, které v místě tlaku nemizí. Z lokalizace skvrn je možné usuzovat, v jaké pozici mrtvé tělo leželo, z barvy skvrn je někdy možné určit přibližnou příčinu smrti.



Obrázek 1: Ostrůvkovité skvrny s vyblednutím v místě tlaku podložky (foto: archiv ÚSL Vinohrady in Hladík et al., 2012)

3.2.2 Posmrtná ztuhlost (rigor mortis)

V okamžiku smrti je svalstvo většinou ochablé (Tesař, 1976). Brzy však, někdy již v průběhu první hodiny nastupuje ztuhnutí, a to nejprve v obličejových svalech, poté se šíří přes svalstvo šíje, horní končetiny a trup na dolní končetiny (Janaway et al., 2009). Plně vyvinutá je 6–12 hodin po smrti (Štefan et al., 2013). Nástup a trvání rigor mortis se řídí dvěma primárními faktory: teplotou a metabolickým stavem organismu (Goff, 2009). V důsledku autolytických a hnilobných změn začíná ztuhlost mizet asi za 2 dny a obvykle za 3–4 dny vymizí úplně (Štefan et al., 2013). Při nízkých teplotách může trvat více dnů i týdnů. Většina studií zabývajících se délkou posmrtné ztuhlosti při nižších teplotách byla provedena na zvířatech (Krompecher et al., 2007), ale Varetto et al.(2005) ve své studii s lidskými mrtvolami dospěl k závěru, že při 4°C začne částečně mizet posmrtná ztuhlost za 11–17 dní, úplně vymizí za 28 dní. Tyto údaje jsou velmi důležité pro odhad doby smrti. K rychlému vývoji a značnému stupni rozvoje ztuhlosti dochází dále v důsledku zvýšené činnosti svalstva těsně před smrtí (Štefan et al., 2013).

Zvláštním případem posmrtné ztuhlosti je kataleptická ztuhlost, která nastává v okamžiku smrti, kdy všechny části těla zůstanou ztuhlé v tom postavení, v jakém

se nacházely zaživa v okamžiku smrti (Tesař, 1976). Reddy et Lowenstein (2011) uvádí, že příčina kataleptické ztuhlosti je neznámá, ale často bývá spojena s násilnou smrtí.

3.2.3 Chladnutí těla (algor mortis) a zasychání kůže a sliznic

Jakmile dojde k úmrtí, tělo přestane regulovat svou vnitřní teplotu (Goff, 2009). Tělesná teplota neklesá přímočaře, ale nejdříve o něco pomaleji, potom rychleji a s přibývajícím vyrovnáváním s okolní teplotou opět pomaleji. Nejdříve začínají chladnout periferní části. Rychlost chladnutí závisí na četných faktorech, z nichž nejdůležitější jsou teplota okolního prostředí, síla tukového polštáře, počet vrstev oblečení (Štefan et al., 2013) a způsob a příčina smrti (Tesař, 1976).

Z čerstvých postmortálních změn má význam zasychání kůže a sliznic, které je podmíněno ztrátou vody odpařující se z povrchu těla. Zasychání je nejlépe patrné na rtech, spojivkách, na genitálu a na kůži, jejíž povrch byl před smrtí nebo po smrti porušen (Štefan et al., 2013).

3.2.4 Autolýza

Ihned po smrti ztrácejí tkáň odolnost proti vlastním enzymům, které velmi brzy vyvolávají hluboké změny buněčných a tkáňových struktur (Hyde et al., 2013). Po smrti působí hlavně proteolytické fermenty štěpící bílkoviny. K těmto změnám dochází nejrychleji v orgánech s bohatou enzymatickou výbavou. Jsou to nadledvinky, pankreas, žaludeční a střevní sliznice. Rovněž dochází k autolytickým změnám v mozku (Štefan et al. 2013).

3.2.5 Hniloba a tlení

Autolýza buněk a tkání přechází pozvolna v rozklad těla hnilobnými bakteriemi (Tesař, 1976), které vnikají do těla ze střev, kůže a dýchacími cestami. Hnilobné procesy jsou urychleny vysokou teplotou, vlhkostí a předcházející infekcí, zvláště sepsí. Působením anaerobních hnilobných bakterií vznikají hnilobné plyny (Štefan et al., 2013). Hnilobné bakterie se šíří především krví v cévách, což se projevuje zelenavým až černozeleným prosvítáním podkožní žilní sítě tzv. mramorováním (Clark et al., 1997).

Při rozkladu těla jsou nápadné některé produkty štěpících se bílkovin (Gill-King, 1997). Při štěpení bílkovin, které je spojeno s rozbřednutím až zkapalněním, vzniká sirovodík (Tesař, 1976). Charakteristickými produkty dekarboxylace jsou putrescin a kadaverin.

Putrescin vzniká během reakce katalyzované enzymem dekarboxylázou odštěpením karboxylové skupiny z ornitinu za vzniku oxidu uhličitého. Ke vzniku kadaverinu dochází při dekarboxylaci lysinu, která je katalyzována enzymem lysin dekarboxylázou za odštěpení oxidu uhličitého z karboxylové skupiny (Gill-King, 1997). Obě dvě látky jsou důležité pro svůj charakteristický zápach při rozkladu a tvoří pachovou signaturu pro vyhledávání lidských ostatků psy (Killam, 1990).

Za 2–3 měsíce dochází k úplnému vymizení tělesných tekutin a k pomalému vysychání. Kůže hluboko zapadá do mezižeberních prostorů a břicho je vpadlé. V této fázi posmrtného rozkladu již převládá proces tlení. Při něm chemicky probíhají oxidační procesy, na kterých se podílejí především aerobní bakterie a plísně. Tlení celý rozkladný proces ukončí (Štetan et al., 2013).



Obrázek 2: Plně vyvinutá hniloba (foto: archiv ÚSL Vinohrady in Hladík et al., 2012)



Obrázek 3: Tlení (foto: archiv ÚSL Vinohrady in Hladík et al., 2012) "

3.2.6 Mumifikace, adipocire

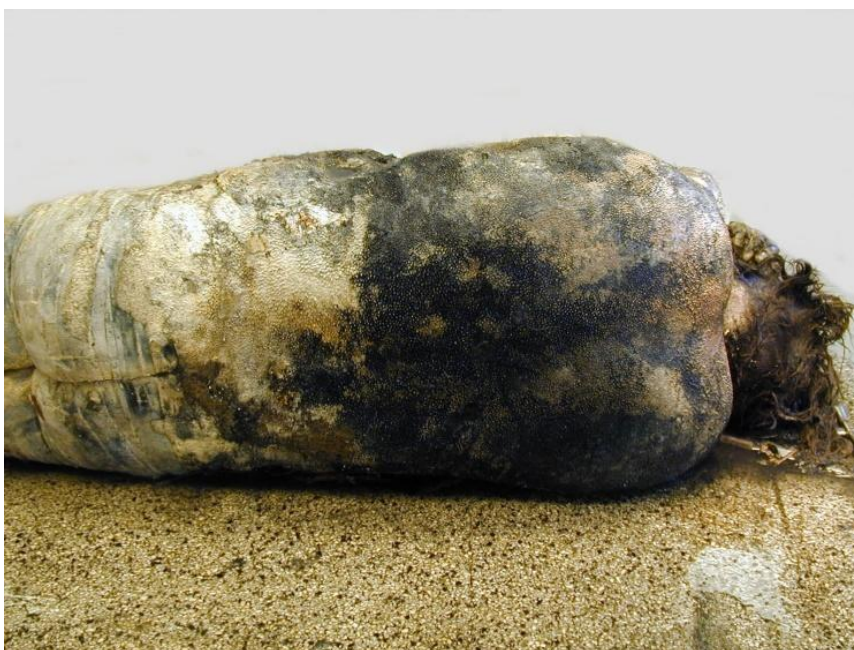
Přirozené procesy vedou k rozkladu mrtvého těla až na kosti. Za určitých podmínek může dojít k přerušení rozkladných procesů a k přirozené konzervaci těla. K mumifikaci dochází ztrátou tekutin a vysycháním těla v suchém, teplém a větraném prostředí.

K adipocire – zmýdelnění naopak dochází u těl uložených ve vlhkém prostředí za nepřístupu vzduchu (Madea et al., 2013). Při adipocire dochází k přeměně tuku v šedobílou mazlavou hmotu, složenou z palmitové a stearinové kyseliny a jejich vápenatých a hořečnatých solí.

Adipocire může být i důkazním materiálem vzhledem k tomu, že dojde k zachování měkkých tkání (Ubelaker et Zarenko, 2011). Podle studie Inoue et al.(1995) může vést k zachování toxikologického důkazu jako v případě, kdy byl zjištěn toluen ve zbytcích konzervované adipocire.



Obrázek 4: Mumifikace v teplovodním potrubí – detail ruky (foto: archiv ÚSL Vinohrady in Hladík et al., 2012)



Obrázek 5: Adipocire po 3 letech ve vlhké zemi (foto: archiv ÚSL Vinohrady in Hladík et al., 2012)

3.3 Forezní entomologie

Jak uvádí Štefan et al. (2013), rozklad mrtvého těla během hniloby a tlení je velmi často urychlen biologickými činiteli. Nález různých vývojových stádií určitého hmyzu může sloužit k určení doby smrti.

Pokusy o využití mrchožravého hmyzu jako indikátoru stupně rozkladu mrtvol můžeme sledovat od padesátých let devatenáctého století (Povolný, 1979). Rozklad živočišných těl, především obratlovců je spojen se zákonitou sukcesí mrchožravého (saprofágního, resp. nekrofágního) hmyzu. Hmyz je vybaven vysoce vnímavými smysly, zejména čichem, takže bývá obvykle první na místě, kde zůstala mrtvola.

Kriminalistická entomologie vychází z poznatku, že sukcese mrchožravého hmyzu na zdechlinách je zákonitým pochodem, neboť se stářím mrtvoly je spjaté i vývojové stadium každého hmyzu a každý mrchožravý hmyz může v podstatě mít indikační význam (Povolný, 1978).

Šuláková (2006, 2010) uvádí na kadaverech sedm sukcesních vln. První vlna - čerstvá mrtvola, se objevuje bezprostředně po smrti. Druhá vlna - nadmutí těla, z těla se uvolňují plyny bakteriálního rozkladu. Třetí vlna - aktivní rozklad, zahrnuje dvě fáze. Během první dochází ke zmydelnění tuků, při kterém se uvolňují těkavé mastné kyseliny. Druhá fáze představuje fermentaci proteinů, tzv. sýrovou fermentaci. Čtvrtá vlna - pokročilý rozklad, v rámci kterého dochází ke čpavkové fermentaci, při které se tvoří a uvolňuje amoniak. Pátá vlna - dochází k vysychání mrtvoly. Šestá vlna - na kostech zbývají pouze nepatrné zbytky měkkých tkání, zbytky vlasů a ochlupení. Sedmá vlna – skelet, na kostech se mohou objevit řasy a plísně. Rychlost rozkladu ovlivňuje zejména teplota prostředí. Teplota je důležitá z hlediska enzymatických dějů, které probíhají v mrtvém těle.

3.4 Pach

Pach je obvykle tvořen malými molekulami, které se uvolňují z chemických sloučenin a jsou rozptýleny ve vzduchu ve formě suspenze. Suspendovat mohou i těžší organické látky. Rychlost a množství uvolňovaných molekul ovlivňuje vlhkost a teplota okolního prostředí (Regnier et Goodwin, 1977). Savci jsou schopni zachytit pachy s vysokou molekulovou hmotností a také tzv. těžké látky na rozdíl od člověka. (Laing, 1991). Pes dokáže zamířit proud teplého vydechaného vzduchu na očichávané místo a tak zvednout ze země molekuly

o vyšší molekulové hmotnosti, které by normálně nebylo možno čichem vnímat. Teplý vydechovaný vzduch rovněž umožní zvýšit vypařování látek za nízkých teplot. Psi tak, mohou pracovat i při teplotách hluboko pod bodem mrazu. Mají rovněž schopnost ověřovat pach předmětu a zároveň vyfukovat vzduch šikmo za sebe, tím dochází k tomu, že ověřovaný pach není odfouknut (Settles et al., 2002).

Každý člověk má specifický pach, který za sebou neustále zanechává, aniž by to mohl nějak ovlivnit. Doba setrvání pachu člověka na jednom místě je závislá na mnoha faktorech. Kromě typu pachu samotného je závislá také na proudění vzduchu, tlaku, teplotě a vlhkosti vzduchu a na terénu, po kterém se člověk pohybuje. Pach člověka se rozlišuje na pach primární neboli individuální specifický pro každého jedince a daný jeho fyziologií, pach sekundární určený hygienou a životními podmínkami daného jedince a pachy terciární přidružené, což jsou všechny ostatní momentálně přítomné pachy (Curran et al., 2005; Ryneš, 1997). Individuální pach je ovlivňován věkem, pohlavím, zdravotním stavem a životním stylem každého jedince (Stockham et al. 2004). Ve studii Pinc et al. (2011) bylo zjištěno, že speciálně cvičení psi jsou schopni rozeznat pachy monozygotických dvojčat, které jsou geneticky totožné, navzdory tomu, že žijí ve stejném prostředí a jedí stejné jídlo. Z toho vyplývá, že geneticky totožní jedinci nemají zcela totožný pach.

Straus et Kloubek (2011) uvádějí, že každý člověk zanechává svojí pachovou stopu jako hmotný odraz své činnosti na místech svého doteku, pohybu nebo pobytu vždy, a to nezávisle na své vůli. Olfaktorická metoda pachové identifikace je založena na poznání, že každý člověk je nositelem individuálního pachu, který je geneticky podmíněn a je stálým projevem jeho životních funkcí. Zdrojem lidského pachu je tělo. Jelikož čich psa je mnohem citlivější než čich člověka, je pes schopen tento pach detekovat. Ze studie Vyplelová et al. (2014) vyplývá, že pes je schopen identifikovat pach člověka, i když zdroj pachu nebyl v přímém kontaktu s člověkem. Tyto výsledky by mohly přinést nové možnosti jako důkazní prostředek v trestním řízení.

3.4.1 Čich

Čich je schopnost vnímat chemikálie rozptýlené ve vzduchu nebo vodě a pravděpodobně úzce souvisí s chutí (Hettinger et al., 1990). Savčí čichový systém dokáže přesně rozpoznat a rozlišovat velké množství čichových podnětů (Bushdid et al., 2014). Pes patří mezi nejvíce využívaná zvířata pro své olfaktorické schopnosti. Je například schopen

při sledování pachové stopy člověka správně určit směr pohybu osoby (Wells et Hepper, 2003). Vynikající čichové schopnosti jsou prokázány také u krysy, kdy Zhuang et al. (2015) zkoumali potenciál krysy detekovat pachy. Přesto nejvíce využívanými zvířaty stále zůstávají psi. Browne et al. (2006) uvádějí, že vycvičení psi mohou výrazně snížit množství času stráveného hledáním cílového objektu a jsou často spolehlivější a praktičtější než různá elektronická detekční zařízení. Spektrum jejich využití je velmi široké. Od vyhledávání drog, pohřešovaných osob, výbušnin či rakoviny (Quignon et al., 2012). Myšlenka využití psů pro účely odhalování rakoviny otevírá nové možnosti, kdy včasné rozpoznání zhoubného nádoru v raném stádiu onemocnění je stěžejní pro úspěšnou léčbu. Nádorové buňky produkují těkavé organické sloučeniny, které jsou psi schopni rozpoznat i v nepatrném množství (Buszewski et al., 2012).

3.5 VOC - Organické těkavé látky

Organické těkavé látky jsou významnou složkou řady látek běžně se vyskytujících ve forenzních vědách. Detekce a identifikace těchto látek je nezbytná pro četné soudní analýzy (Leitch et al., 2013). V posledních letech se zvýšil zájem o identifikaci těkavých organických látek pro lékařské i toxikologické účely a aplikaci v oblasti životního prostředí. VOC mohou poskytnout informace ke zlepšení odhadu post-mortem intervalu a také by mohly pomoci odhalit etiologii smrti (Statheropoulos et al., 2005).

Těkavé organické sloučeniny uvolňované po smrti jsou meziprodukty rozkladného procesu. Tyto produkty pocházejí z katabolismu čtyř hlavních kategorií biologických molekul v živých organismech, a to proteinů, nukleových kyselin, lipidů a sacharidů (Dekeirsschieter et al., 2009). Fermentací sacharidů, aminokyselin, glycerolu a mastných kyselin vznikají na mrtvém těle těkavé sloučeniny jako například ethanol, acetaldehyd, aceton, 2-propanol, 1-propanol, 1-butanol, isobutanol, isoamyl alkohol, d-amyl alkohol, acetát, propionát, butyrát, isobutyrylát a ethyl estery (Boumba et al., 2007). Mezi další identifikovatelné těkavé látky patří dimetyl disulfid, toluen, hexan, benzen, 1,2,4-trimetyl, 2-propanon a 3-pentanon (Statheropoulos et al., 2005).

Množství těkavých látek na mrtvém těle je závislé na množství a složení přítomných mikroorganismů, dostupnosti substrátu, na podmínkách, v jakých se tělo nacházelo před úmrtím, a na způsobu skladování po smrti. Na rozdíl od zvířat může být množství těkavých látek na lidských ostatecích ovlivněno konzumací alkoholu před smrtí (Boumba et al., 2007).

3.5.1 Charakteristika VOC látek přítomných při rozkladu lidských ostatků

Statheropoulos et al. (2007) se zaměřil na výzkum VOC látek v časných stádiích lidského rozkladu. Lidská mrtvola byla umístěna v uzavřeném pytli po dobu čtyř dní. Byly sledovány unikající VOC látky na základě odběrů vzorků v různých časových intervalech. Tyto látky byly analyzovány pomocí plynové chromatografie (GC) a hmotnostní spektrometrie (MS).

Hmotnostní spektrometrie (MS) je ideální ke zjišťování chemické struktury analytu ve stopách biologické matrice (Balíková, 2010). Plynová chromatografie (GC) je separační metodou sloužící k oddělování složek obsažených ve vzorku, a to plynů, kapalin a pevných látek s bodem varu pod 400°C. (Meyers et Eiceman, 2000). V kombinovaném systému (GC/MS-SPME™) jsou těkavé a tepelně stabilní sloučeniny nejdříve separovány plynovou chromatografií a následně jsou adsorbované sloučeniny tradičně detekovány hmotnostními spektrometry (Statheropoulos, 2005) nebo mikro-extrakcí (Brown et al., 2013). V posledních letech se hmotnostní spektrometrie kombinuje také s kapalinovou chromatografií (LC/MS-SPME™) jako doplněk pro analýzu speciálních látek (Balíková, 2010).

Statheropoulos et al. (2007) identifikovali více než 30 látek. Mezi nejvýznamnější patří alkohol, aldehydy a ketony 3-propanon a 2-butanon, sulfidy, dimethyl disulfid, dimethyl sulfid, benzenové deriváty, benzen methyl a naftalen. Není vyloučená ani fermentace jiných substrátů, ale na výslednou koncentraci nemá téměř žádný vliv (Boumba et al., 2007). Během studie se ukázalo, že existují dva možné zdroje VOC. Prvním zdrojem je atmosférický vzduch zachycený při balení mrtvoly. Dalším potenciálním zdrojem je plastový pytel na zakrytí těla. Bylo však prokázáno, že většina VOC detekovaných na plastovém pytli pochází z hnilobného rozkladu těla (Statheropoulos et al., 2005).

Vass (2012) se ve svém výzkumu pokoušel identifikovat těkavé chemické sloučeniny, které vznikají při dekompozici lidského těla. V této studii bylo sesbíráno 186 vzorků půdy ze čtyř pohřebišť. V další části výzkumu bylo identifikováno více než 478 samostatných sloučenin produkovaných během procesu rozkladu lidských a zvířecích ostatků v průběhu čtyř let. Ve výsledcích analýzy VOC látek spojených s rozkladem lidského těla bylo prokázáno 56 chemických látek. V pozdní fázi dekompozice byl prokázán zvýšený výskyt aldehydů jako je butanol, heptanal, nonanal. Dále převládaly alkany – hexan, nonan, oktan (Vass et al., 2008).

3.5.2 Nejvýznamnější VOC látky z hlediska forenzní toxikologie

Ethanol je z hlediska forenzní toxikologie velmi významný. Již několikrát bylo dokázáno, že ethanol je produkován mikroorganismy ve zvířecích a lidských ostatecích (Johnson et al., 2004). Proto je vždy obtížné rozlišit ethanol obsažený v těle již před smrtí a ethanol vzniklý po smrti působením bakterií (O'Neal et Poklis, 1996). Nicméně v některých případech ethanol na mrtvém těle není detekován. Tento jev je přisuzován tomu, že koncentrace ethanolu po smrti výrazně stoupá a hned poté klesá na nulu v důsledku spotřeby ethanolu jako substrátu pro mikroorganismy (Corry, 1978). V dnešní době se analýza ethanolu na mrtvém těle provádí zcela běžně, a to plynovou chromatografií (Boumba et al., 2007).

Bakteriální produkce ethanolu je spojována s produkcí dalších těkavých látek jako třeba methanolu, formaldehydu, kyseliny propionové, acetonu, kyseliny octové, acetaldehydu a kyseliny máselné produkované hnilobnými bakteriemi (Kala et Chudzikiewicz, 2003).

Těkavé sloučeniny obsahující síru jsou většinou spojovány s anaerobní dekompozicí organické hmoty a jsou typické svým charakteristickým zápachem (Statheropoulos et al, 2005).

3.5.3 Mikrobiální metabolické dráhy vzniku VOC

Po smrti z těla během jeho rozkladu unikají těkavé emise. Tento proces je velmi komplikovaný, závislý na mnoha faktorech, a ještě stále není úplně prozkoumán. Hlavním faktorem je metabolismus mikroorganismů, které jsou hlavními producenty těkavých organických sloučenin. Mikroorganismy, které se na tomto procesu podílejí, jsou nejen ty v těle zemřelého, ale tělo je kolonizováno i mikroorganismy z okolního prostředí. Složení mikrobiálního společenstva je velmi komplexní a jednotlivá mikrobiální společenstva spolu během sukcese vzájemně interagují. Složení je ovlivněno mnoha faktory, například teplotou a vlhkostí (Paczkowski et Schutz, 2011; Statheropoulos, 2005).

Krátce po smrti migrují anaerobní mikroorganismy ze střev do mrtvých tkání. Stejně tak migrují aerobní bakterie dýchací soustavy, ale ty brzy uhynou v důsledku nedostatku kyslíku. V pozdějším stadiu rozkladu se na mrtvé tělo dostávají také anaerobní mikroorganismy z půdy. Znamená to tedy, že bakteriální flóra se změní z aerobní na anaerobní, která je zastoupena především rodem Clostridia. Mikrobiální enzymy

hydrolyzují polymery (lipidy, sacharidy a proteiny) na monomery (mastné kyseliny, monosacharidy a aminokyseliny) (Boumba et al., 2007).

3.5.4 Porovnání VOC látek u lidských a zvířecích ostatků

Při studiu dekompozice svalové tkáně jsou často z etických hledisek využívány zvířecí ostatky jako analogy rozkladu lidských tkání (Dekeirsschieter, 2009). V experimentu z roku 2013 byly porovnávány vzorky svalové tkáně z člověka, vepřového masa, hovězího masa a masa jehněčího, odebrané z půdy, kde byly ostatky uloženy. Tkáň ovce byla nejvíce podobná lidské v mnoha měřených parametrech (Stokes et al., 2013).

Cablk et al. (2012) porovnávali VOC látky lidských, prasečích, kuřecích a kravských kadaverů. Nejzajímavějším zjištěním bylo, že prasečí tkáň nemůže nahradit tkáň lidskou. Pouze sedm z 30 sloučenin specifických pro lidské ostatky bylo společných, dále bylo zaznamenáno dalších devět unikátních sloučenin, které nebyly přítomny v lidských vzorcích. Toluén a nonanal byly jedny ze sloučenin, které byly nalezeny v obou vzorcích. Naopak dimethyl disulfid nebyl přítomen ve vzorcích prasečího kadaveru. Jeho absence je pozoruhodná, vzhledem k tomu, že disulfidové vazby se vyskytují v mnoha tkáních, kde stabilizují proteiny a jsou důležité pro keratin. Naopak překvapivě největší podobnosti s lidským kadaverem dosáhl kadaver kuřecí.

Dekeirsschieter et al. (2009) zkoumali pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie právě na jatečně upraveném praseti vliv biotopu na těkavé organické látky. Ve svém pokusu se zaměřil na tři typy lokalit – pole, les a město. Nejvíce VOC bylo detekováno na mršině na poli, a to přesně 90. Les dosáhla podobných výsledků jako pole, a to 85 detekovaných VOC látek. Výrazně méně jich bylo nalezeno na mršině ve městě, konkrétně 57 VOC látek. Mezi všemi detekovanými látkami dimethyl disulfid, putrescin a kadaverin, tedy látky, které jsou často spojovány s procesem dekompozice, nebyly vůbec identifikovány. Rozdíly mezi jednotlivými biotopy byly pravděpodobně způsobeny znečištěním ovzduší a mikroorganismy v okolním prostředí. Mezi VOC látkami vždy převládaly kyseliny, cyklické uhlovodíky, sloučeniny síry a dusíku a kyslíkaté sloučeniny. Ale v každém prostředí byly nalezené VOC látky trochu jiné díky interakci s okolním prostředím, či proto, že se nacházely pouze ve stopovém množství a během pokusu nebyly detekovány.

3.6 Pes při vyhledávání lidských ostatků

Oesterhelweg et al. (2006) uvádí, že psi speciálně vycvičení k vyhledávání lidských ostatků jsou vyškoleni pouze k detekci pachů mrtvých osob. Potřeba takto vyškolených psů vznikla při pátrání záchraných psů v průběhu katastrof, kdy psi vyškoleni na vyhledávání živých osob ztratili stopu v okamžiku, kdy byla hledaná osoba již mrtvá (Page, 2008). Lit et Crawford (2006) testovali 23 psů, z toho 11 psů cvičených na vyhledávání živých osob a 12 psů cvičených na vyhledávání živých a mrtvých osob. Z jejich výsledků vyplývá, že psi cvičení na vyhledávání živých i mrtvých osob by neměli být nasazováni v situacích, kdy je třeba dohledat pouze živé osoby.

Komar (1999) popisuje dvouměsíční tréninkový program s osmi psy, který jasně ukazuje, že psi jsou efektivním a spolehlivým nástrojem k vyhledávání rozptýlených lidských ostatků.

V praxi mohou být požadavky na psy vycvičené pro vyhledávání mrtvol velice různorodé, od vyhledávání nedávno zemřelých osob až po kadavery v pokročilém stádiu rozkladu. Zdrojem zápachu může být celé tělo, jeho části, tkáň či krev (DeGreeff et al., 2012). Úspěšnost dohledání lidských kadaverů je ovlivněna mnoha faktory (Lasseter et al., 2003), jako jsou povětrnostní podmínky, teplota vzduchu, vlhkost půdy. Optimálními podmínkami pro použití psů je vlhká půda a teplota vzduchu 5°–15°C (Killam, 1990). Podle Tipple et al. (2014) není z vědecké literatury známo, zda existuje jediná sloučenina, která se vytvoří v okamžiku smrti a přetrvává po celou dobu rozkladu a psi se podle ní orientují, či zda má každý stupeň rozkladu různý pach.

3.6.1 Výcvik psa pomocí laboratorně vyrobených kadaverózních pachů

V ideálním případě se při výcviku psů určených k vyhledávání lidských kadaverů výcvikové pomůcky skládají z reálných látek (Tipple et al., 2014). Lidská tkáň je považována za spolehlivý zdroj pachů (DeGreeff et al., 2012). Vzhledem k právním omezením a biologickému riziku jak pro psa, tak psovoda je obtížné a v některých státech nepřípustné získat lidskou tkáň (Stadler et al., 2012).

Jako alternativa jsou používány tzv. pseudopachy. Jedná se o synteticky vyrobené pachy, např. kadaverin a putrescin. Výhodou těchto látek je, že je možné je získat legální cestou, vyžadují však zvláštní opatrnost při manipulaci. Nevýhodou konkrétně těchto dvou

sloučenin je, že je můžeme najít nejen v lidských, ale i ve všech rozkládajících se organických látkách (Oesterhelweg et al., 2006). Dále byla jejich přítomnost zjištěna ve slinách zdravých lidí (Cooke et al., 2003). Statheropoulos et al. (2005) a Vass et al. (2008) neidentifikovali kadaverin a putrescin v látkách vystupujících z lidských kadaverů.

Klíčový odorant, který je určující pro psy vyhledávající lidské ostatky, není znám (Hoffman et al., 2009), nicméně výrobci synteticky vyrobených pachů tvrdí, že přesně demonstrují pach látek stoupajících z lidských kadaverů. Složení těchto uměle vyrobených látek nebylo zveřejněno, ale předpoklad je, že pro zjednodušení obsahují pouze několik sloučenin. Stadler et al. (2012) publikovali složení 2 pseudopachů sady Sigma Pseudo™ Corpse od firmy Sigma-Aldrich. Byly identifikovány 2 hlavní složky, a to 2-pyrrolidon a kyselina 4-bi (GABA) v jednom pseudopachu a putrescin a kadaverin v druhém. Tipple et al. (2014) dospěl k závěru, že psi výhradně trénovaní s pomocí pseudopachů, nemusejí být schopni lokalizovat mrtvoly či lidské ostatky.

3.6.2 Reálné výcvikové pomůcky

Zbytkový zápach z rozkládajících se lidských ostatků může zůstat v půdě či na povrchu ještě dlouho poté, co jsou ostatky odstraněny. Rychlost rozkladu měkkých tkání může být výrazně ovlivněna podmínkami prostředí, příčinou smrti, přítomností oblečení, tělesné hmotnosti, mumifikací či tvorbou adipocire (Campobasso et al., 2001).

Jednou z výcvikových pomůcek může být zemina, kde je, nebo bylo tělo uloženo. Na místě nemusí být žádné viditelné ostatky, přesto se může jednat o původní uložení těla. Tělo mohlo být přesunuto nebo roztroušeno mrchožrouty. Studie Alexander et al. (2015) prokázala, že speciálně vycvičení psi k vyhledávání lidských ostatků jsou schopni identifikovat stopové množství lidských kadaverů v půdě.

Cablk et Sagebiel (2011) ve své studii ověřovali schopnost psů vycvičených k vyhledávání lidských ostatků lokalizovat samotné zuby. Důležitost zubů ve forenzním šetření je velmi dobře zdokumentována. Zuby mohou být důležitým prostředkem při identifikaci oběti. Výsledky ukázaly, že psi jsou schopni lokalizovat zuby ve volném prostředí s vysokou přesností, i když se jejich schopnosti liší a je potřeba více studií k dalšímu ověření.

Další reálnou výcvikovou pomůckou by mohla být krev neživých osob. Riezzo et al. (2014) se zaměřili ve své práci na ověření schopnosti psů, vycvičených k vyhledávání lidských ostatků, dohledat lidský kadaver na základě velmi nízké koncentrace krve. Studie ukázala, že psi jsou schopni detekovat vzorky lidské krve z mrtvol i ve velmi malých koncentracích.

V některých státech jsou používány jako analog lidského těla jatečně upravená těla prasat. Ale na základě závěrů Dekeirsschieter et al. (2009), Cablk et al. (2012) se zdá, že pachová signatura lidských ostatků a kadaverů prasat je rozdílná a není tedy ideální výcvikovou pomůckou.

4 Hypotéza

Psi, speciálně vycvičení a využívání k vyhledávání lidských ostatků budou rovněž reagovat na 1,2,4 trimethylbenzene 98%, nonanal 97%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, dimethyl disulfide 99%, hexan p.a., toulén p.a., tedy látky, které tvoří aktivní pachovou signaturu.

5 Materiál a metody

Experiment probíhal v Domašíně, prostorách kynologického střediska Krajského ředitelství policie Středočeského kraje. Pokus byl uskutečňován v místnosti, kde byly využity tzv. „karusely“.

Testování probíhalo od srpna 2014 do března 2015.

5.1 Psi vycvičení k vyhledávání lidských ostatků

K provedení experimentu byli použiti 2 psi. Jednalo se o feny plemene německý ovčák.

Fena A, stáří 9 let, která sedm let splňuje kategorii pes určený k vyhledávání lidských ostatků a fena B, stáří dva roky v současné době připravena na obhajobu kategorie pro vyhledávání lidských ostatků.

5.1.1 Výcvik psa

Do 14. až 16. měsíce probíhá výchova a socializace psa. Seznamuje se s hlavními cviky, jako je poslušnost, obrana, vypracování pachové stopy.

V 15. měsíci po absolvování základního kurzu je pes zařazován do jedné ze čtyř skupin základních kynologických činností v kraji. Poté přichází na řadu doškolovací kurz, kde je psu zadána kategorie, v našem případě pes určený k vyhledávání lidských ostatků. Každý rok se pak psovod musí zúčastnit kondičního kurzu pro danou specializaci. Psi, kteří jsou vycvičení na vyhledávání lidských ostatků pátrají po pachu, jež vydává rozkládající se lidská tkáň. Výcvik této specializace je komplikovaný, neboť díky legislativě České republiky, ale také z etického hlediska nelze získat části lidských těl, které by se používaly pro výcvik služebních psů. Ten může být prováděn pomocí laboratorně vytvořených umělých pachů, které jsou následně napuštěny do porézních tablet. Další možností je zemina, která byla odebrána z okolí rozkládajícího se těla, konzervace části materiálů, případně Aratex[®], který je nasorbován pachem mrtvého ponecháním v kontaktu s neživou osobou.

5.1.2 Metodika výcviku psů využitých v experimentu

Jedním z nejdůležitějších faktorů při výcviku psa je motivace. K vytvoření motivace jsou používány různé posilující mechanismy, které mohou mít různou podobu – pamlskek,

oblíbená hračka, hra s psovodem, pochvala. Psi určeni k vyhledávání lidských ostatků jsou cvičeni pozitivním posilováním, kdy chování vede k příjemnému podnětu a to kombinací metod založenou na potravním chování s metodou založenou na loveckém chování. Metoda založená na potravním chování je využívána během série cvičení. Pokud pes správně detekuje a označí danou látku, v tomto případě se jedná o zeminu, která byla odebrána z okolí rozkládajícího se těla, Aratex[®] nebo části materiálů, které byly v kontaktu s neživou osobou, je odměněn potravou. Trénink psa probíhá před kmením a krmná dávka je používána jako odměna. Vždy na konci série cvičení je využito metody založené na loveckém chování, kdy „kořist“ představuje balónek. Pes hračku přináší a přetahuje se s psovodem.

Důležitým faktorem při výcviku je používání klamných pachů. Jako klamné pachy psovod používá uhynulou zvěř.



Obrázek 6 Motivační odměny (foto: M. Hrdinová)

5.2 Pomůcky a materiál používaný k experimentu

- Sklenice na ukládání vzorku o objemu 0,7 litru
- Sniffery (plechové krabičky kruhového tvaru) o rozměrech 6,5 x 2 cm s děrovaným víčkem



Obrázek 7: Sniffery + aratex (foto: M. Hrdinová)

- Aratex[®] – tkanina používaná na snímání pachu při individuální pachové identifikaci
- 2 kusy peánu
- Skleněná mikropipety na jedno použití 150 mm
- Klamněvzorky: methyl benzoate 99%, cudohexanone 99,8%, eugenol 99%, allyl sulfide 97%, (+)-limonene 96%, benzaldehyde 98%, D(+)-carvone 98%, 1-octanol 99%, (1S)-(-)-alpha-pinene 98%, geraniol 99%, amyl acetát 99%, beta-Ionone 96%, hexanal 96% - všechny tyto vzorky byly zakoupeny u výrobce Acros Organics.



Obrázek 8: Klamně vzorky (foto: M. Hrdinová)

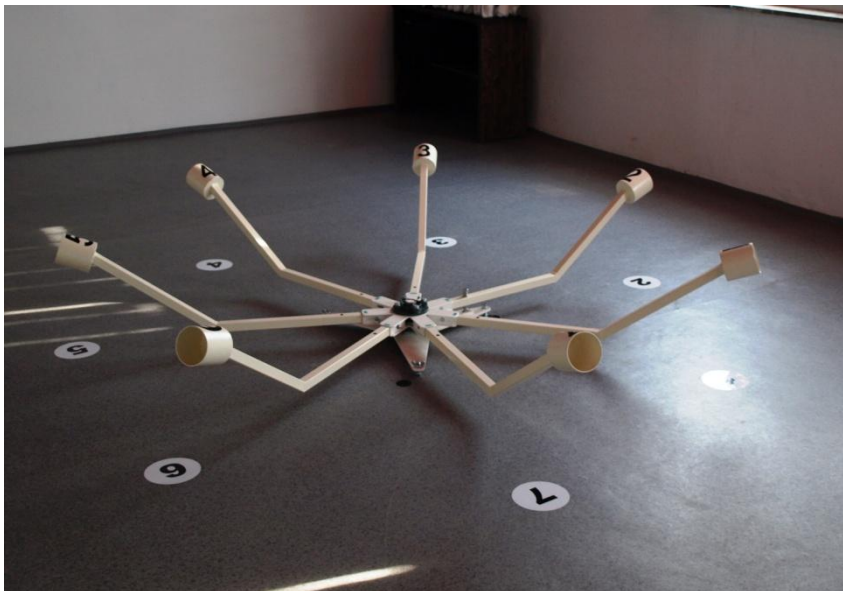
- Cvičná látka - zemina odebraná z okolí rozkládajícího se těla
- Cvičná látka - části materiálů, které byly v kontaktu s neživou osobou
- Manipulační kleště

- 1,2,4 trimethylbenzene 98%, výrobce Alfa Aesar
- Nonanal 97%, výrobce Alfa Aesar
- Ethylbenzene 99%, výrobce Alfa Aesar
- 3-Pentanone 99%, výrobce Alfa Aesar
- Dimethyl disulfide 99%, výrobce Alfa Aesar
- Hexan p.a. výrobce Penta
- Toulén p.a. výrobce LACH-NER
- Mix látek - 1,2,4 Trimethylbenzene 98%, Nonanal 97%, Ethylbenzene 99%, 3-Pentanone 99%, Dimethyl disulfide 99%, Hexan p.a., Toulén p.a. (namícháno v Oblastní nemocnici Příbram, a.s. v laboratoři oddělení Mikrobiologie a parazitologie)

5.3 Průběh experimentu

5.3.1 Příprava materiálu

Ve výcvikovém kynologickém středisku se nacházejí dva typy tzv. „karuselu“, se sedmi pozicemi, které byly použity v našem experimentu.



Obrázek 9: Karusel (foto: M. Hrdinová)

Do snifferů byly vloženy čtverce Aratexu® o velikosti zhruba 5x5cm, na které byly následně nakapány cílové látky. Stejným způsobem byly připraveny i klamné vzorky. Sniffer byl poté vložen do připravených sklenic. Ty byly po použití ekologicky zlikvidovány. Přemísťování sklenic s ostrým vzorkem probíhalo pomocí manipulačních kleští.

5.3.2 Testování

Vzhledem k tomu, že psůvod používá jako klamný pach uhynulou zvěř, probíhala před samotným testováním, od srpna 2014, nejdelší část experimentu. Psům byly mezi vzorky, na které jsou primárně cvičeni, vkládány klamné pachy, použité v našem experimentu. Z experimentu byl vyřazen Benzaldehyde 98%, který zkrystalizoval. V druhé části proběhla u každého psa šestkrát ověřovací série, kde bylo ověřeno, že pes označí vzorek látky na který je primárně cvičen a nebude reagovat na klamné pachy. Psůvod nebyl předem informován o pozici klamných vzorků, aby nedocházelo k ovlivňování psa. Testování probíhalo na 2 typech „karuselů“ se sedmi pozicemi. U psa A byl použit typ „karuselu“ s bočním přístupem, u psa B „karusel“ s horním přístupem.



Obrázek 7: Pes B při ověřovací části experimentu (foto: M. Hrdinová)

Druhá fáze, pro náš experiment nejdůležitější, byla uskutečněna k ověření hypotézy, zda psi budou schopni detekovat vytipované organické těkavé látky, které tvoří aktivní pachovou signaturu, tedy látky, kterými se pes řídí při vyhledávání lidských kadaverů. Do „karuselu“ byla mezi klamné vzorky založena cílová látka. Vzorky byly uloženy

do snifferů a poté vloženy do sklenic. Při testu bylo použito sedm cílových látek a směs všech sedmi látek. V jeden den probíhala vždy detekce pouze jedné látky, aby se zabránilo přetěžování nervové soustavy psa. Každý pes prošel každou látkou celkem šestkrát. Psi byli již při běžném nácviku přivykáni, že nebyli vždy za označení cílové látky odměňováni. Pokud by byl pes při experimentu odměňován za úspěšnou detekci cílové látky, pravděpodobně by došlo k tomu, že pes by látku detekoval z důvodu uložení pachy do čichové paměti. Při každém testu na jednotlivé látky byla náhodně měněna pozice vzorků bez přítomnosti psů, stejným způsobem jako v první fázi testování.

Psi pracovali na vodítku. K ovlivnění psa psůvodem nemohlo dojít, vzhledem k tomu, že vzorky zakládala vždy autorka práce bez přítomnosti psů.

6 Výsledky

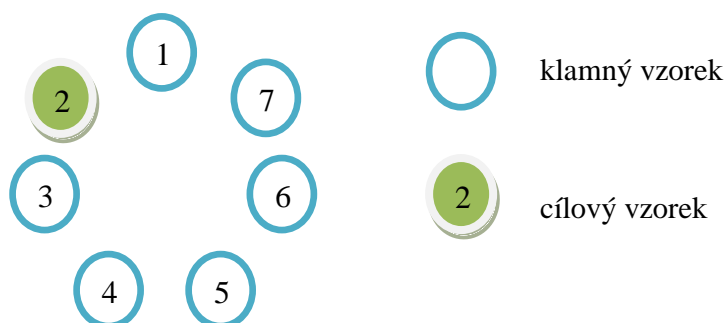
Testování bylo provedeno během ledna až března 2015 v uzavřené místnosti areálu kynologického střediska Krajského ředitelství policie Středočeského kraje v Domašíně. Místnost byla vždy uklizena, aby nedošlo k ovlivnění psů jinými pachy.

Při samotném testování proběhla ověřovací série, kdy bylo opakovaně umístěno vždy šest klamných vzorků a jeden primární cvičný vzorek. Oba dva psi označili pouze primární cvičný vzorek a na klamné vzorky nereagovali. Pes A označil vzorek zalehnutím, pes B hrabáním.

V další části byla ověřována hypotéza, že psi detekují vybrané těkavé organické látky. Pes A ani pes B neoznačili žádnou ze sedmi vytipovaných látek. U psa A došlo u dvou látek k reakci, která se projevila jeho zastavením a ověřováním pachu. Jednalo se o látky: Dimethyl disulfide 99% a Nonanal 97%. Ale i pouhou reakci jsme ohodnotili jako pozitivní, vzhledem k tomu, že psovod byl schopen určit, kde se cílová látka nachází. Stejným způsobem pracuje psovod i v terénu. Díky svým zkušenostem reaguje již i na nestandardní chování svého psa. Je předpoklad, že pes by látku začal označovat.

Směs látek namíchaných v Oblastní nemocnici Příbram nebyla označena ani jedním psem. Pes B pach nepatrnou chvíli ověřoval, ale psovod nebyl schopen identifikovat, kde se látka nachází, proto jsme reakci neoznačili jako pozitivní.

Diagram znázorňující průběh testování



Obrázek 8: diagram Nonanal 97%

Tabulka 1 Reakce psů na založené pachové řady v průběhu testování, + označení či reakce psa na vzorek, – projítí bez označení či reakce na vzorek, c - celkem pozitivních reakcí

Látka	PES A								PES B								CELKEM	
	1	2	3	4	5	6	c _A	%	1	2	3	4	5	6	c _B	%	c	%
98% 1,2,4 Trimethylbenzene	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Nonanal 97%	+	+	+	+	+	+	6	100	-	-	-	-	-	-	0	0	6	50
Ethylbenzene 99%	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
3-Pentanone 99%	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Dimethyl disulfide 99%	+	+	+	+	+	+	6	100	-	-	-	-	-	-	0	0	6	50
Hexan p.a.	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Toulen p.a.	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Mix látek	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0
Cvičná látka	+	+	+	+	+	+	6	100	+	+	+	+	+	+	6	100	12	100

6.1 Statistické vyhodnocení

Počet možností označení každé látky při jednom pokusu byl roven počtu snifferů, tedy sedm. Pravděpodobnost označení pak byla 1:7 a pravděpodobnost nesprávného označení 6:7. Každý pokus byl proveden 12 krát. K vyhodnocení byla použita metoda výpočtu Bernoulliho pravděpodobnosti (Bernoulli probability - Rosner, 2006).

- 1,2,4 trimethylbenzene 98%, výrobce Alfa Aesar
- Ethylbenzene 99%, výrobce Alfa Aesar
- 3-pentanone 99%, výrobce Alfa Aesar
- Hexan p.a. výrobce Penta
- Toulen p.a. výrobce LACH-NER
- Mix látek - 1,2,4 Trimethylbenzene 98%, Nonanal 97%, Ethylbenzene 99%, 3-Pentanone 99%, Dimethyl disulfide 99%, Hexan p.a., Toulen p.a.

U výše uvedených látek je pravděpodobnost, že psi ani v jednom z 12 pokusů neoznačí správný vzorek 15,7%.

- Nonanal 97%, výrobce Alfa Aesar
- Dimethyl disulfide 99%, výrobce Alfa Aesar

U výše uvedených látek je pravděpodobnost, že psi v šesti pokusech z 12 označí správný vzorek 3%.

Vzhledem k tomu, že pes A označil všechny vzorky správně a pes B neoznačil správně ani jeden vzorek bylo nutné spočítat pravděpodobnost pro každého psa zvlášť.

Pravděpodobnost, že pes A ve všech případech z 6 pokusů označí správný vzorek je $0,85 \times 10^{-5}$. Pravděpodobnost, že pes B ani jednou z 6 pokusů neoznačí správný vzorek je 39,7%.

- Cvičná látka

U výše uvedené cvičné látky je pravděpodobnost, že psi ve všech případech z 12 pokusů označí správný vzorek $72,25 \times 10^{-10}$.

Pro hladinu významnosti byla zvolena hodnota $p = 0,05$ (5 %).

Pro látky 1,2,4 trimethylbenzene 98%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, hexan p.a., toulén p.a., mix látek (1,2,4 trimethylbenzene 98%, nonanal 97%, ethylbenzene 99%, 3-pentanone 99%, dimethyl disulfide 99%, hexan p.a., toulén p.a.) vyšlo, že pravděpodobnost je větší, než zvolená hladina významnosti a nastává případ, který jsme očekávali s pravděpodobností 15,7%. Není jisté, zda výsledek tohoto pokusu nemá pouze náhodný charakter a proto jsou výsledky statisticky nevýznamné.

U látek Nonanal 97% a Dimethyl disulfide 99% je pravděpodobnost menší než zvolená hladina významnosti, což znamená, že nastává případ, který jsme očekávali s 3% pravděpodobností, proto testovaná odchylka nemůže mít náhodný charakter. Závěrem tedy je, že na zvolené hladině významnosti je výsledek tohoto pokusu statisticky významný.

Výsledek se však lišil pro oba psy. U psa A není téměř žádná možnost pravděpodobnosti a tudíž je výsledek statisticky významný. U psa B je však pravděpodobnost 39,7% a může tedy mít náhodný charakter. Výsledek pokusu pro psa B není statisticky významný.

U cvičného vzorku je pravděpodobnost výrazně menší než zvolená hladina významnosti, což znamená, že nastává případ, který jsme očekávali s nepatrnou pravděpodobností (tzn. v méně než 5 %). Takový případ je téměř nemožný, proto testovaná odchylka nemůže mít náhodný charakter. Závěrem tedy je, že na zvolené hladině významnosti je výsledek tohoto pokusu statisticky významný.

7 Diskuze

Výsledky testování nejsou jednoznačné. Zůstává tedy otázkou, čím se řídí psi při vyhledávání lidských kadaverů. Mnoho autorů uvádí, že pach je směs těkavých organických látek, které stimulují čichové neurony (Harper et al., 2005; Breer et al., 2006; Macias et al., 2010). Z lidských kadaverů stoupá velké množství těkavých organických látek. Vass (2012) identifikoval během rozkladu lidských a zvířecích ostatků 478 samostatných sloučenin. Snaha nalézt organické těkavé látky tvořící pachovou signaturu, kterou se psi řídí při vyhledávání mrtvol vedla k tomu, že byly v našem testování použity látky, které jsou uváděny jako jedny z nejčastěji se vyskytujících sloučenin při dekompozici mrtvého lidského těla (Statheropoulos et al., 2005, 2007; Vass et al., 2008; Kusano et al., 2011; Paczkowski et al., 2011; Boumba et al., 2007; Hoffman et al., 2009; Cablk et al., 2012), přesto psi ani jednu z látek jednoznačně neoznačili.

Na látky nonanal 97% a dimethyl disulfid 99% byla zaznamenána reakce psa, který splňuje kategorii pro vyhledávání lidských ostatků. Dimethyl disulfid je často spojován s anaerobním rozkladem organické hmoty a je znám pro svůj charakteristický zápach (Statheropoulos et al., 2005). Vass et al. (2008) publikoval, že nonanal byl zjištěn v průběhu celého rozkladu lidského těla, a to v měkkých tkáních i kostech, což je velice pozoruhodné a dokazuje to, že i pach kostí může přispět k celkové signatuře spojené s rozkladem těla.

Je pravděpodobné, že pes A na vzorky reagoval, ale jednoznačně je neoznačil a pes B na výše uvedené látky nereagoval z důvodu, že psi při vyhledávání lidských kadaverů nezpracovávají čichový vjem analyticky, ale synteticky. Goldblatt (2009) uvádí, že čich je především syntetický smysl a ne analytický. Což by mohlo potvrzovat i naše testování. V našem experimentu byl v Oblastní nemocnici Příbram vytvořen mix sedmi organických těkavých látek, stoupajících z lidských ostatků, ale tuto směs psi neoznačili. Není tedy možné s jistotou určit, jaká část pachové signatury je v případě lidských kadaverů pro psy určující.

Nároky na psy vycvičené pro vyhledávání mrtvol jsou vysoké. Psi by měli být schopni dohledat osoby nedávno zemřelé, stejně jako lidské kadavery v pokročilém stádiu rozkladu. Vass et al. (2004) uvádějí, že pach nedávno zesnulých osob a mrtvol v různých fázích rozkladu se skládá z více chemických sloučenin, které se mění.

8 Závěr

Ze statistických výsledků Policejního prezidia vyplývá, že od roku 2002 do roku 2014 byl služební pes použit při vyhledávání neživých osob celkem 720 krát. K nálezů neživé osoby došlo 40 krát. Na první pohled by se mohlo zdát, že tyto výsledky vypovídají o velmi malé úspěšnosti detekce neživých osob. Ale je třeba si uvědomit, že v mnoha případech, kdy pes místo neoznačil, bylo pro prověření zjištěno, že se zde skutečně žádná neživá osoba ani lidské ostatky nenacházejí.

Hlavním předpokladem úspěšného výcviku je výběr výcvikových pomůcek a způsob výcviku.

Při výcviku psů určených k vyhledávání lidským ostatků se často využívá tzv. „pseudopachů“, což jsou synteticky vyrobené pachy. Ukazuje se, že tyto umělé pachy nejsou spolehlivou pomůckou. Vzhledem k tomu, že z předchozích studií je patrné, že VOC látky stoupající ze zvířecích kadaverů jsou odlišné od VOC látek z lidských kadaverů lze doporučit nevyužívat jako analogy lidského těla zvířecí kadavery.

Z výsledků našeho testování vyplývá, že nejspolehlivější jsou reálné výcvikové pomůcky, kterými je zemina, která byla odebrána z okolí rozkládajícího se těla, konzervace části materiálů, případně Aratex®, který je nasorbován pachem mrtvého ponecháním v kontaktu s neživou osobou. Zde psi při testování vykazovali 100% úspěšnost.

I způsoby výcviku nejsou jednotné. V některých případech je využíváno psů, kteří jsou vycvičeni jak k vyhledávání živých tak i mrtvých osob, což dle názoru autorky vede k menší úspěšnosti.

Přesto, že by bylo třeba více studií, aby bylo možné stanovit těkavé organické látky, které tvoří pachovou signaturu při práci těchto psů, jsou správně vycvičení psi stále spolehlivějším detektorem než analytické technologie.

Na základě našeho testování a dříve provedených studií by se zdálo vhodné doporučit využívání reálných výcvikových pomůcek a používání psů, kteří jsou výhradně cvičeni k vyhledávání mrtvých osob.

9 Seznam literatury

- Alexander**, M.B., Hodges, T.K., Bytheway, J., Aitkenhead-Peterson, J.A. 2015. Application of Soil in Forensic Science: Residual odor and HRD dogs. *Forensic Science international*. PII: S0379-0738(15)00039-0.
- Alibegovic**, A. 2014. A new parameter for the determinativ of the postmortem interval. *Journal of Forensic and Legal Medicine*. 27. 39-45.
- Balíková**, M. 2010. GC-MS aplikace v toxikologii: Screeningové metody. Ústav soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN Praha
- Boumba**, V.A., Ziafrou, K.S., Vougiouklakis, T. 2007. Biochemical pathways generating post-mortem volatile compounds co-detected during forensic ethanol analyses. Department of Forensic Medicine and Toxicology. *Forensic Science International* 174. 133–151.
- Breer**, H., Fleischer, J., Strotmann, J. 2006. The sense of smell: multiple olfactory subsystems. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63. 1465-1475.
- Brown**, J.S., Prada P. A., Curran A. M., Furton K.G. 2013. Applicability of emanating volatile organic compounds from various forensic specimens for individual differentiation. *Forensic Science International*, vol.226. s.173-182. DOI: 10.1016/j.forsciint.2013.01.008.
- Browne**, C., Stafford, K., Fordham, R. 2006. The use of scent-detection dogs. *Irish Veterinary Journal*. Vol.59.2.
- Bucholtz**, A. 2014. Chapter 4 – Time of death. *Death Investigation*. p.57-69. Doi:10.1016/B978-1-4557-7437-1.00004-1
- Bushdid**, C., Magnasco, M., Vosshall, L., Keller, A. 2014. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science* vol.343. no. 6177. Pp.1370-1372.
- Buszewski**, B., Rudnicka, J., Ligor, T., Walczak, M., Jezierski, T., Amann, A. 2012. Analytical and unconventional methods of cancer detection using odor. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 38
- Cablk**, M.E., Sagebiel, J.C. 2011. Field Capability of Dogs to Locate Individual Human Teeth. *Forensic Science*. Vol.56. No. 4.

- Cablk**, M.E., Szlagowski, E.E., Sagebiel, J. C., 2012. Characterization of the volatile organic compounds present in the headspace of decomposing animal remains, and compared with human remains. *Forensic Science International* 220. 118–125.
- Campobasso**, C.P., Vell, G.D., Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*. 120. 18-27.
- Clark**, M.A., Worrell, M.B., Pless, J.E. 1997. Determination of Death and Early Postmortem Changes. *Postmortem Changes in Soft Tissues. Forensic Taphonomy*. Chapter 9. 2-3.
- Cooke**, M., Leeves, N., White, C. 2003. Time profile of putrescine, cadaverine, indole and skatole in human saliva. *Archives of Oral Biology*. 48. 323-327.
- Corry**, J.E.L. 1978. Possible sources of ethanol ante- and postmortem: its relation to the biochemistry and microbiology of decomposition. *J. Appl. Bacteriol.* 44. 1–56.
- Curran**, A.M., Rabin S.I. RABIN, Prada P.A., Furton K.G. 2005. Comparison of the Volatile Organic Compounds Present in Human Odor Using Spme-GC/MS. *Journal of Chemical Ecology*, vol. 31, issue 7, s. 1607-1619. Doi: 10.1007/s10886-005-5801-4.
- DeGreeff**, L.E., Weakley-Jones, B., Furton, K.G. 2012. Creation of training aids for human remains detection canines utilizing a non-contact, dynamic airflow volatile concentration technique. *Forensic Science International*. 217. 32-38.
- Dekeirsschieter**, J., Verheffen, F.J., Gohy, M., Hubrecht, F., Bourguignon, L., Lognay, G., Haubruge, E.. 2009. Cadaveric volatile organic compounds released by decaying pig carcasses (*Sus domestica* L.) in different biotopes. *Forensic Science International*. 189. 46-53..
- Gill-King**, H. 1997. Chemical and Ultrastructural Aspect of Decomposition. *Modifications of Soft Tissue, Bone, and Associated Materials. Forensic Taphonomy: The postmortem Fate of Human Remains*. Chapter 6.
- Goff**, M. L., 2009. Early post-mortem changes and stages of decomposition in exposed cadavers. 49. 21-36.
- Goldblatt** A., 2009. Olfaction in the dog. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. Vol. 4. Iss. 6 . pp. 247-248.
- Harper**, R. J., Almirall, J. R., Furton, K. G. 2005. Identification of Dominant Odor Chemicals Emanating From Explosives for Use in Developing Optimal Training Aid Combinations

- and Mimics for Canine Detection. *Talanta*. vol. 67. pp. 313-27.
- Hettinger**, T. P., Myers, W. E., Frank, M. E. 1990. Role of olfaction in perception of nontraditional 'taste' stimuli. *Chem. Senses*. vol. 15. pp. 755-760.
- Hoffman**, E.M., Curran, A.M., Dulgerian, N., Stockham, R.A., Eckenrode, B.A. 2009. Characterization of the volatile organic compounds present in the headspace of decomposing human remains. *Forensic Science International*. 186. 6-13.
- Homolka**, M. 2014. Analýza současného stavu speciální kynologie v České republice – se zaměřením na vyhledávání výbušnin. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta. České Budějovice. S. 37-38.
- Hyde**, E.R., Haarmann, D.P., Lynne, A.M., Bucheli, S.R., Petrosino, J.F. 2013. The Living Dead: Bacterial community Structure of a Cadaver at the Onset and End of the Bloat Stage of Decomposition, *PLoS ONE*8(10): e77733. doi: 10.1371/journal.pone.0077733
- Inoue**, H., Iwasa, M., Maeno, Y., Koyama, H., Sato, Y., Matoba, R. 1995. Detection of toluene in an adipoceratous body. *Forensic Science International*. 78. 119-124.
- Janaway**, R.C., Percival, S.L., Wilson, A.S. 2009. Decomposition of Human Remains. *Microbiology and Aging*. Pp 313-334.
- Johnson** Robert D., Lewis Russell J., Angier Mike K., Vu Nicole T. 2004. The Formation of Ethanol in Postmortem Tissues. Civil Aerospace Medical Institute Federal Aviation Administration Oklahoma City, OK 73125. Final Report. Office of Aerospace Medicine Washington, DC 20591.
- Kala** M., Chudzikiewicz E. 2003. The influence of post-mortem ganges in biological material on interpretation of toxicological analysis results. *Problems of Forensic Sciences*, vol. LIV. Institute of Forensic Research, Cracow.
- Killam**, E.W. 1990. Air-scent dogs. *The Detection of Human Remains*, Appendix 7. 231-232.
- Komar**, D. 1999. The use of cadver dogs in locating scattered, scavenged human remains: Preliminary Field Test Results. *Forensic Science*. 44(2). 405-408
- Krompecher**, T., Gilles, A., Brandt-Casadevall, C., Mangin, P. 2007. Experimental evaluation of rigor mortis IX. The influence of the breaking (mechanical solution) on the development of rigor mortis. *Forensic Science International*. 176. 157-162.

- Kusano, M., Mendez, E., Furton, K.G.** 2011. Development of headspace SPME method for analysis of volatile organic compounds present in human biological specimen. *Anal Bioanal Chem.* 400. 1817-1826. Doi 10.1007/s00216-011-4950-2
- Laing, D.G.** 1991, Characteristics of the human sense of smell when processing odor mixtures, in D.G. Laing, R.L. Doty, and W. Breipohl, Eds., *The Human Sense of Smell*, Springer-Verlag, pp. 241–259.
- Lasseter, A.E., Jacobi, K.P., Farley, R., Hensel, L.** 2003. Cadaver Dog and Handler Team Capabilities in the Recovery of Buried Human Remains in the southeastern United States. *Forensic Science.* Vol.48. No.3.
- Leitch, O., Anderson, A., Kirkbride, K.P., Lennard, Ch.** 2013. Biological organisms as volatile compound detectors. *Forensic Science International.* 232. 92-103.
- Lit, L., Crawford, C.A.** 2006. Effect of training paradigm on search dog performance. *Applies Animal Behaviour Science.* 98. 277-292.
- Macias, M. S., Guerra-Diaz, P., Almirall, J. R., Furton, K. G.** 2010. Detection of piperonal emitted from polymer controlled odor mimic permeation systems utilizing *Canis familiaris* and solid phase microextraction– ion mobility spectrometry. *Forensic Science International* Vol. 195. pp. 132-138.
- Madea, B., Kernbach-Wighton, G.** 2013. Early and Late Postmortem Changes. *Encyclopedia of Forensic Sciences.* 217-228. Doi: 10.1016/B978-0-12-382165-2.00187-2
- Meyers, R. A., Eiceman, G.** 2000. *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory, and instrumentation: Instrumentation of Gas Chromatography.* New York: Wiley, 15 v. (xxi, 13970 p.). ISBN 0471976709.
- O'Neal CL1, Poklis A.** 1996. Postmortem production of ethanol and factors that influence interpretation: a critical review. *Am J Forensic Med Pathol.* Mar;17(1):8-20.
- Oesterhelweg, L., Kröber, S., Rottmann, K., Willhöft, J., Braun, C., Thies, N., Püschel, K., Silkenath, J., Gehl, A.** 2006. Cadaver dogs – A study on detection of contaminated carpet squares. *Forensic Science International* 174. 35–39
- Paczkowski, S., Schutz, S.** 2011. Post-mortem volatiles of vertebrate tissue. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 91, issue 4, s. 917-935. Doi: 10.1007/s00253-011-3417-x.

- Page, D.** 2008. Is forensic science going to the dogs? *Forensic Magazine* 5 33–40.
- Pinc, L., Bartoš, L., Reslová, A., Kotrba, R.,** 2011. Dogs discriminate identical twins. *PLoS One*. vol. 6. issue 6.e20704.
- Povolný, D.** 1978. Hmyz v kriminologii. *Vesmír*. 57 205-208.
- Povolný, D.** 1979 Některá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice. *Kriminalistický sborník*. 10 629-631.
- Quignon, P., Galibert, F., Rimbault, M., Robin, S.,** 2012. Genetics of canine olfaction and receptor diversity. *Mammalian Genome*. 23. p. 132 – 143.
- Reddy, K., Lowenstein, E.J.,** 2011. Forensics in dermatology: Part I. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Vol. 64. Issue 5. 801-808.
- Regnier, F.E., M. Goodwin,** 1977, On the chemical and environmental modulation of feromone release from vertebrate scent marks, in D. Muller-Schwarze and M.M. Mozell, Eds., *Chemical Signals in Vertebrates*, Plenum Press, New York, pp. 115–133.
- Riezzo, I., Neri, M., Rendine, M., Bellifemina, A., Cantatore, S., Fiore, C., Turillazzi, E.** 2014. Cadaver dogs: Unscientific myth or reliable biological devices? *Forensic Science International*. 244. 213-221.
- Rosner, B.** 2006. *Fundamentals of Biostatistics*. Belmont. 7. ed. CA: Thomson – Books/Cole. pp. 868. ISBN: 10-0-538-73349-7.
- Ryneš, M.** 1997. *Pachové práce psů ve sportovní kynologii*. Dona. České Budějovice. 69 s. ISBN: 808546392X.
- Salam, H.F.A., Shaat, E.A., Aziz, M.H.A., Sheta, A.A.M., Hussein, H.A.S.M.** 2012. Estimation of postmortem interval using thanatochemistry and postmortem ganges. *Alexandria Journal of Medicine*. 48. 335-344.
- Settles, G. S., Keste, D. A., Dodson-Dreibelbis, L. J.** 2002. The External Aerodynamics of Canine Olfaction. A chapter in *Sensors and Sensing in Biology and Engineering*, ed. Barth F. G., Humphrey J.A.C., Secomb T.W., Springer, Vienna et NY.
- Stadler, S., Stefanuto, P.H., Byer, J.D., Brokl, M., Focant, J.F.** 2012. Analysis of synthetic canine training aids by comprehensive two-dimensional gas chromatography–time of flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1255. 202– 206

- Stadler, S., Stefanuto, P.H., Brokl, M., Forbes, S.L., Focant, J.F.** 2013. Characterization of Volatile Organic Compounds from Human Analogue Decomposition Using Thermal Desorption Coupled to Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography–Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical chemistry*. 85. 998-1005.
- Statheropoulos, M., Spiliopoulo, Agapiou, A.** 2005. A study of volatile organic compounds evolved from the decaying human body. *Forensic Science International*, vol. 153, 2-3, s. 147-155. DOI: 10.1016/j.forsciint.2004.08.015.
- Statheropoulos, M., Spiliopoulou, C., Agapiou, A., Pallis, G.C., Sianos, E.** 2007. Enviromental aspects of VOCs evolved in the early stages of human decomposition. *Science of the Total Enviroment*. 385. 221-227.
- Stockham, R.A., Slavin, D.L., Kift, W.,** 2004. Specialized use of human scent in criminal investigations, *Forensic Sci. Commun.* 6., number 3.
- Stokes, K.L., Forbes, S.L., Tibbett, M.** 2013. Human Versus Animal: Contrasting Decomposition Dynamics of Mammalian Analogues in Experimental Taphonomy. *Forensic science*. Vol. 58. No. 3. Doi: 10.1111/1556-4029.12115.
- Straus, J., Kloubek, M.** 2010. *Kriminalistická odorologie*. Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, s.r.o. Plzeň. 184 s. ISBN: 9788073802387.
- Štefan, J., Hladík, J., Adámek, T.** 2013. Soudní lékařství a jeho moderní trendy. *Forenzní thanologie*. 17-32. ISBN: 978-80-24 7 -3594 -8.
- Šuláková, H.** 2006. Speciální biologie: využití hmyzu při stanovení post mortem intervalu. *Kriminalistický sborník* 3. 36-37.
- Šuláková, H.** 2010. Detektivové přes hmyz. *Naše vojsko* 5 54-56.
- Tesař, J.** 1976. Soudní lékařství. *Změny posmrtné* G. 72. ISBN 08-025-58.
- Tipple, C.H.A., Caldwell, P.T., Kile, B. M., Beussman, D.J., Rushing, B., Mitchell, N.J., Whitchurch, C.H.J., Grime, M., Stockham, R., Eckenrode, B.A.** 2014. Comprehensive characterization of commercially available caninetraing aids. *Forensic Science International*. 242. 244-254.

- Ubelaker**, D.H., Zarenko, K.M. 2011. Adipocere: What is known after over two centuries of research. *Forensic Science International*. 208. 167-172.
- Varetto**, L., Curto, O. 2005. Long persistence of rigor mortis at constant low temperature. *Forensic Science International*. 147. 31-34.
- Vass**, A.A., Smith, R.R., Thompson C.V., Burnett, M.N., Wolf, D.A., Synsteliën, J.A., Dulgerian, N., Eckenrode, E. 2004. Decompositional Odor Analysis Database. *Forensic Science*. Vol. 49. No.4..
- Vass**, A.A., Smith, R.R., Thompson C.V., Burnett, M.N., Dulgerian, N., Eckenrode, E. 2008. Odor Analysis of Decomposing Buried Human Remains. *Forensic Science*. Vol. 53. No.2.
- Vass**, A.A. 2012. Odor mortis. *Forensic Science International*. 222. 234-241.
- Vyplelová**, P., Vokálek, V., Pinc, L., Pacáková, Z., Bartoš, L., Santariová, M., Čapková, Z. 2014. Individual human odor fallout as detected by trained canines. *Forensic Science International*. č. 234, s. 13-15. ISSN: 0379-0738.
- Wells**, D. L., Hepper, P. G. 2003. Directional tracking in the domestic dog, *Canis familiaris*. *Applied Animal Behaviour Science*. Vol. 84. 297-305.
- Zhuang**, L., Guo, T., Cao, D., Ling, L., Su, K., Hu, N., Wang, P. 2015. Detection and classification of natural odors with an in vivo bioelectronic nose. *Biosensors and Bioelectronics*. 67. 694-699.