

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra obecné zootechniky a etologie**

**Centrum pro výzkum chování psů**



**Identifikace individuálního lidského pachu z  
bukálních stěrů a porovnání dvou metod  
uskladnění - na textilní sorbent a bez něj**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Machovec Jan**  
**Obor studia: AMPS**

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

© 2017 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Identifikace individuálního lidského pachu z bukálních stěrů a porovnání dvou metod uskladnění - na textilní sorbent a bez něj" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 4. 2017

---

### **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Ludvíku Pincovi, Ph.D., že jsem pod jeho vedením mohl vypracovat tuto práci, za jeho cenné rady a pomoc při psaní této práce. Dále bych chtěl poděkovat všem zaměstnancům CVCHP, kteří mi pomohli s organizací experimentu a při odběru vzorků. Rovněž bych rád poděkoval psododům Ing. Petře Vypelové, Ph.D., Ing. Mileně Santariové, Ph.D. a Ing. Janě Lněničkové. Také děkuji panu doc. Ing. Pavlu Neubergerovi, Ph.D., který mi pomohl sehnat dobrovolníky z řad studentů Technické fakulty ČZU, kterým tímto taktěž děkuji.

# **Identifikace individuálního lidského pachu z bukálních stěrů a porovnání dvou metod uskladnění - na textilní sorbent a bez něj**

## **Souhrn**

Každá osoba je nositelem individuálního lidského pachu. Psi speciálně cvičení na metodu pachové identifikace ztotožňují jedince na základě pachové signatury osoby. Jedná se o skupinu molekul, podle které psi identifikují určitou osobu. Psi jsou schopni identifikovat jedince z pachu odebraného z různých částí těla. Cílem této práce bylo zjistit, zda psi speciálně cvičení na metodu pachové identifikace dokáží identifikovat osoby za použití bukálních stěrů.

Zároveň byly porovnávány dvě metody uskladnění bukálních stěrů. Polovina odebraných vzorků byla umístěna do sklenice na textilní sorbent a druhá polovina byla uskladněna bez něj.

Psi porovnávali pach odebraný z rukou, který dostali k načichání, s 6 vzorky bukálních stěrů v řadě. Pouze jeden z těchto vzorků však pocházel od stejné osoby, od které byl odebrán pach z rukou. Psi měli ztotožnit vzorek, který pocházel od téže osoby.

Experiment prokázal, že bukální stěry osob jsou dostatečně intenzivním zdrojem individuálního lidského pachu, aby mohl sloužit k pachové identifikaci. Mezi oběma způsoby uskladnění však nebyl prokázán rozdíl v úspěšnosti ztotožnění.

## **Klíčová slova**

Pachová identifikace, psi, bukální stěry, individuální pach, pachová signatura, sliny

# **Individual human scent identification using buccal swabs and comparison of two methods of storage - with and without cloth sorbents**

## **Summary**

Every human being carries a unique scent. Dogs specially trained in human scent identification are able to identify an individual based on this unique odor signature. This signature consists of a group of molecules which enables the dogs to correctly identify the matching human individual. Dogs are able to identify an individual based on a scent collected from different parts of human body. The purpose of this thesis was to find out whether dogs specially trained in this method are able to identify the individual based on his/her buccal swabs.

Two methods of storage of buccal swabs were employed: half of the collected samples were placed in a glass container with a cloth sorbent and the other half to a glass container without it.

The dogs were supposed to compare a scent extracted from individual's hands with 6 samples of buccal swabs in a line-up. Only one of these samples belonged to the same person to whom the former scent belonged.

The experiment proved that buccal swabs are a sufficiently intense source of individual human scent and can therefore help with human scent identification. However, both methods of storage proved to be equally successful.

## **Key words**

Scent identification, dogs, buccal swabs, individual scent, odor signature, saliva

# Obsah

1 Úvod.....	6
2 Vědecká hypotéza a cíle práce.....	7
3 Literární rešerše.....	8
3.1 Čich psa.....	8
3.1.1 Funkční anatomie čichového ústrojí.....	8
3.1.2 Čichové subsystemy.....	9
3.1.3 Mozkové zpracování čichového vjemu.....	10
3.2 Lidský pach.....	12
3.2.1 Kožní žlázy.....	12
3.2.2 Podstata individuálního lidského pachu.....	13
3.2.3 Distribuce lidského pachu do okolí.....	15
3.3 Využití čichu psa.....	16
3.3.1 Identifikace lidského individuálního pachu.....	17
3.3.2 Odběr lidského pachu.....	18
3.3.3 Čichové schopnosti psa a odolnost lidského pachu.....	19
3.3.4 Metoda pachové identifikace.....	20
3.4 Sliny a bukální stěry.....	23
3.4.1 Sliny.....	23
3.4.2 Odběry a analýza bukálních stěrů.....	25
4 Materiál a metody.....	27
4.1 Použitý materiál.....	27
4.2 Odběr vzorků.....	28
4.3 Vlastní experiment.....	30
5 Výsledky.....	32
5.1 Statistické zhodnocení výsledků.....	35
6 Diskuze.....	37
7 Závěr.....	40
8 Seznam použité literatury.....	41
9 Seznam použitých zkratek.....	47

# 1 Úvod

Schopnost psů identifikovat individuální lidský pach je v posledních letech předmětem mnoha vědeckých studií (Marchal et al., 2016; Santariová et al., 2016; Schoon, 2005; Schoon et De Bruin, 1994). Ačkoliv je složení lidského pachu důkladně studováno, jeho přesné složení, a na jaké látky psi reagují, je stále nejasné. Mezi komponenty, které jsou zodpovědné za lidský pach, patří těkavé organické látky, které jsou produkovány tkáněmi a sekrety. Tyto látky se však nenacházejí pouze na povrchu kůže, ale byly identifikovány i v biologických vzorcích jako jsou krev, dech, moč nebo stěry bukální sliznice (Kusano et al., 2011).

Stěry bukální sliznice mohou sloužit k analýze různých onemocnění nebo jako vzorek DNA. Avšak využití bukálních stěrů jako zdroje pachu nebylo doposud podrobně prozkoumáno (Brown et al., 2013; Straus et Kloubek, 2008).

Lidský pach je uskladňován v takzvaných pachových konzervách, kde dochází k nižší degradaci lidského pachu a ten nemůže být nadále kontaminován. Dnes jsou textilní sorbenty používány jako prostředek pro uchovávání lidského pachu v pachových konzervách. Použití tohoto prostředku však není ideální, neboť obsahuje mnoho nečistot, které mohou zvýšit pravděpodobnost chybovosti v metodě pachové identifikace (Doležal et al., 2016).

V této práci bude ověřena možnost použití bukálních stěrů jako zdroje individuálního pachu pro metodu pachové identifikace. Zároveň zde bude porovnáno, zda psi speciálně cvičení na metodu pachové identifikace budou úspěšnější při ztotožňování vzorků uskladněných na textilním sorbentu či bez něj.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je ověřit, zda psi speciálně cvičení na pachovou identifikaci osob, dokáží identifikovat osoby za použití bukálních stěrů a dále porovnat použitelnost bukálních stěrů umístěných na sorbenty a bez nich.

H1- Bukální stěry osob budou dostatečně intenzivním zdrojem individuálního lidského pachu, aby mohly sloužit k pachové identifikaci.

H2 – Umístění bukálních stěrů na sorbent umožní lepší uchování molekul odorantů a psi budou při identifikaci těchto vzorků úspěšnější než v případě bukálních stěrů uložených bez sorbentů.



# 3 Literární rešerše

## 3.1 Čich psa

Čich je jedním z nejstarších smyslů a u většiny savců hraje významnou roli v sociálním, potravním či sexuálním chování. Tento smysl umožňuje živočichům rozlišovat z široké škály přitažlivých či odpudivých signalizujících látek (Auffarth, 2013).

### 3.1.1 Funkční anatomie čichového ústrojí

Čichové receptory obratlovců se nacházejí v nosní dutině, která je rozdělena chrupavčítým septem ventrálně zapuštěným v kosti radličné (*vomer*). Nosní dutina je součástí horních cest dýchacích, kde dochází kromě příjmu čichových vjemů také k ohřátí, ovlhčení a celkové úpravě vdechnutého vzduchu, který putuje dál do plic. Rovněž jsou zde vycytávány nečistoty a prachové částice. Sliznice nosní dutiny se dělí na dvě funkční oblasti: dýchací (*regio respiratoria*) a čichovou (*regio olfactoria*). Obě oblasti jsou pokryty víceřadým cylindrickým epitelem a jsou bohatě krveny. Čichová sliznice se skládá z čichových, podpůrných a bazálních buněk (Najbrt et al., 1980). Specifické pro tento epitel jsou cílie vystupující z čichových neuronů a na jejich povrchu se nacházejí čichové receptory (DeMaria et Ngai, 2010).

Velmi důležitou roli v čichu psa hraje externí uspořádání čenichu. Hrot nosu tvoří zrcátko (*planum nasale*), které je mediálně rozděleno brázdičkou (*philtrum*). Při výdechu tlamou by proudem vzduchu mohlo dojít k částečnému či úplnému odstranění pachu, a proto pes při čichání nedýchá s otevřenou tlamou. Pes inhaluje nosem a pachové molekuly se tak mohou dostat k čichové sliznici. Anatomie nozder umožňuje při výdechu směřovat exhalovaný vzduch do stran rostra a dozadu tak, aby zdroj pachu nacházející se na zemi byl co nejméně ovlivněn tímto vzdušným proudem a pes tak mohl znovu načichávat (Settles et al., 2002).

### 3.1.2 Čichové subsystémy

Čichový systém savců se skládá z hlavního olfaktorického epitelu, vomeronasálního orgánu, septálního orgánu a Grünebergova ganglia. Septální orgán je tvořen párem ostrůvků čichového epitelu u nosní přepážky, který je umístěn u nosopatrového otvoru. Je celkově oddělen od hlavního olfaktorického epitelu respiratorním epitelem. Jedná se o chemosensorický orgán, který vede vzruchy po axonech do čichového kyje stejně jako hlavní olfaktorický epitel. Grünebergovo ganglium leží rostrálně na obou stranách nosní dutiny u přechodu mezi stropem nosní dutiny a nosní přepážky. V tomto místě se nachází klubíčko neuronů (Breer et al., 2006), které vede axony do čichového kyje. Zdá se, že Grünebergerovo ganglium detekuje chemické substance s nízkou těkavostí nebo ty, které je třeba detekovat okamžitě (Fuss et al., 2005). U psa však Grünebergovo ganglium a septální orgán zcela chybí (Barrios et al., 2014).

Vomeronasální orgán je oboustranně symetrický orgán ležící ventrorostrálně podél septa (Dennis et al., 2003). Jedná se o trubičkovitý útvar pokrytý sliznicí, který je spojen s dutinou ústní řezákovým průchodem (*ductus incisivus*), který ústí na řezákové bradavce (*papilla incisiva*) (Park et al., 2014; Chamanza et Wright, 2015). Epitel vomeronasálního orgánu je tedy oddělen od hlavního olfaktorického epitelu a skládá se ze tří typů buněk podobných jako u hlavního olfaktorického epitelu. Na povrchu neuronů VNO jsou exprimovány tři skupiny receptorů: V1R, V2R a formyl-peptidové receptory (Quignon et Galibert, 2016; DeMaria et Ngai, 2010). Axony těchto neuronů vomeronasálního orgánu se vnořují do rostralaterální části přídatného čichového kyje (Mori et Yoshihara, 1995). Vomeronasální orgán detekuje chemické signály, zahrnující feromony, které vyvolávají behaviorální či fyziologickou reakci při určitých typech chování (Dennis et al., 2003, DeMaria et Ngai, 2010).

Hlavní olfaktorický epitel pokrývá celé čichové bludiště. V čichovém epitelu se vedle čichových buněk nacházejí ještě bazální buňky a buňky podpůrné. Čichové buňky jsou bipolární neurony, z kterých vede nemyelizovaný axon. Jako většina buněk v těle se i tyto musí pravidelně obměňovat (Breer et al., 2006). Životnost čichových buněk není delší než několik měsíců (Bainbridge, 2016). Nové čichové buňky se diferencují z bazálních buněk. Z čichových buněk vystupují na povrch sliznice do hlenové vrstvy

cílie obsahující olfaktorické receptory. Tyto receptory jsou spojeny s G-proteiny (GPCR - G protein-coupled receptor) (Breer et al., 2006). GPCR je různorodá rodina receptorů lišící se ve struktuře a funkci mající společné to, že sedmkrát prostupují cytoplazmatickou membránou (Mendoza et al., 2014).

Olfaktorické receptory jsou kódovány geny v olfaktorickém subgenomu, který je u savců rozšířen téměř na všech chromosomech (Quignon et al., 2012). Každý gen exprimuje jeden olfaktorický receptor, který rozpoznává mnoho odorantů. Každá čichová buňka však nese pouze jeden exprimovaný receptor. K celkovému olfaktorickému obrazu pak pravděpodobně slouží kombinace veškerých receptorů (Breer et al., 2006). Psi mají téměř 1000 genů kódujících olfaktorické receptory, z nichž zhruba 20% tvoří pseudogeny. Díky kombinacím těchto receptorů spojenými s G-proteiny jsou pak psi schopni rozlišit miliony různých pachů (Olender et al., 2003).

### 3.1.3 Mozkové zpracování čichového vjemu

Vzruch se přenáší po axonu čichové buňky skrze řešetnou ploténku (*lamina cribrosa*), která tvoří přepážku mezi nosní a lebeční dutinou. V ní se nachází mnoho drobných otvorů právě pro průchod čichových nervů. Tyto axony pak dohromady vytváří 1. hlavový nerv neboli čichový nerv (*nervus olfactorius*), který vede vzruchy do čichového kyje (*bulbus olfactorius*) v předním mozku (*prosencephalon*) (Auffarth, 2013). Čichový nerv je oproti ostatním hlavovým nervům specifický tím, že do mozku vstupují stovky malých nervů, oproti jednomu nervovému svazku. Zajímavá je také regenerační schopnost této části nervové soustavy. Jak již bylo řečeno, čichové buňky se neustále obměňují a každé nové buňce musí dorůst i celý nový axon do čichového kyje podél ostatních čichových nervů (Bainbridge, 2016).

Čichový kyj plní funkci jakéhosi filtru, rozlišuje jednotlivé pachy, zvyšuje citlivost pachové detekce a odbourává pachové pozadí pro lepší přenos vybraných pachů (Jia et al., 2014). V čichovém kyji vytvářejí axony odstupující z čichových buněk glomeruly, kde dochází k prvotnímu rozkódování olfaktorické informace a signál odtud putuje dál přes pyramidové neurony do olfaktorického kortexu (Siniscalchi, 2016). Ten se skládá z pěti oblastí mozku: piriformní kortex, přední olfaktorické jádro (*nucleus olfactorius anterior*), čichový hrbolík (*tuberculum olfactorium*), entorhinalní kortex a

amygdala. Tyto oblasti jsou zodpovědné za čichové vnímání a následnou behaviorální reakci vyvolanou pachovým vjemem (DeMaria et Ngai, 2010).

Čichový kyj a olfaktorický kortex u psů je mnohem vyvinutější než ty samé struktury u člověka (Horowitz et al., 2013). Přední olfaktorické jádro hraje významnou roli v kortikální kaskádě, které poskytuje substrát k další analýze z čichového kyje do dalších částí mozku. Vytváří mozkovou reprezentaci (Gestalt) odorantů nebo směsí odorantů, které nemohou být samy odvozeny ze samotných charakteristik molekul.

Piriformní kortex je anatomicky a fyziologicky rozdělen na přední a zadní část. Podrobně se zapojuje do behaviorálních a asociativních procesů (Siniscalchi, 2016). Některé dráhy z čichového kyje jsou přímo zapojeny do piriformního kortexu, kudy jsou rychle přenášeny olfaktorické informace, které hrají významnou roli pro přežití. Jedná se o rychlou generalizaci důležitosti ohrožení, která může přijít například z odorantu, který je asociován s predátorem, a může zapříčinit nepodmíněnou reakci "boj-útek" skrze aktivování dráhy hypothalamus-hypofýza-nadledviny (Haberly, 2001). Piriformní kortex tedy vytváří jakýsi asociativní systém mezi odorantovou reprezentací a behaviorální reakcí (Siniscalchi, 2016).

Také amygdala může být aktivována přímo z čichového kyje, přeskočením primárního olfaktorického kortexu. Toto hraje významnou roli při emocionálním zpracování pachového stimulu. Z amygdaly pak informace putují do piriformního kortexu.

Entorhinální kortex je styčným bodem pro kortikálně-hipokampální nervové vedení a hraje roli v pracovní paměti. Slouží jako vyrovnávací paměť příchozích informací do hippokampu. Hippokampus je zapojen do zpracovávání pachů v epizodické paměti a pomáhá při specifikaci vnímání zážitků během bdělosti. Neurony entorhinálního kortexu jsou aktivovány během učení spojeným s prostorem a navigací a mohly by tedy u psa hrát významnou roli při sledování pachové stopy (Siniscalchi, 2016).

Čichové dráhy se napojují na další struktury v mozku. Jedná se především o napojení na limbický systém a na hypothalamus, skrze nějž dochází k reakci autonomního nervového systému na čichové podněty a vyvolání příslušné visceromotorické odpovědi (Čihák, 2004).

Použití funkční magnetické rezonance může pomoci odhalit procesy v mozku

spojené s čichem. Jedním z prvních takovýchto experimentů byl experiment Jia et al. (2014), kde byla sledována aktivace částí mozku psa při vystavení odorantů různé koncentrace v anestezii i při vědomí. Čichový kyj a oblasti olfaktorického kortexu byly aktivovány při nízké i vysoké koncentraci odorantu, a to jak u psa při vědomí tak u psa v anestezii. Vyšší mozkové struktury však byly aktivovány především u psů při vědomí.

## 3.2 Lidský pach

Lidský pach představuje složitý komplex mnoha látek, které jsou produkovány především největším tělním orgánem - kůží. Kůže je rozdělena do několika vrstev: na povrchu těla se nachází pokožka (*epidermis*), pod kterou leží škára (*corium*). Třetí, nejspodnější, vrstvou kůže je podkožní vazivo (*tela subcutanea*), která připojuje kůži k periostiu nebo vazivu svalů. V těchto vrstvách se nacházejí tři typy žláz, které vytvářejí sekrety zapříčiňující lidský pach. Mezi tyto žlázy patří ekrinní potní žlázy (*glandulae sudoriferae minores*), apokrinní žlázy (*glandulae sudoriferae apocrinae*) a mazové žlázy (*glandulae sebaceae*).

### 3.2.1 Kožní žlázy

Ekrinní žlázy se nacházejí po celém těle, ale existují specifická místa, kde je koncentrace těchto žláz vyšší. Mezi tato místa patří dlaně rukou, chodidla a čelo. Jedná se o pravé potní žlázy, které mají sekreční část uloženou hluboko ve škáře a ústí na pokožku (Čihák, 2004). Ekrinní pot se skládá především z vody, glykoproteinů, kyseliny mléčné, cukrů, aminokyselin a elektrolytů (Gallagher et al., 2008). Mají exkreční a termoregulační funkci a vytvářejí důležitou ochrannou bariéru (Čihák, 2004). Na dlaních se vyskytují pouze ekrinní žlázy. Právě prostřednictvím rukou přichází člověk do kontaktu se svým okolím nejvíce.

Apokrinní žlázy jsou uloženy a silně koncentrovány na rozhraní podkožního vaziva a škára především v podpaží, na prsou v okolí bradavek, v okolí konečnicku a

pohlavních orgánů. Tyto žlázy jsou vázány na terciární ochlupení výše jmenovaných oblastí a ústí do pochev těchto chlupů. Žlázy začínají secernovat v pubertě (Čihák, 2004). Produkt apokrinních žláz je sekret bohatý na bílkoviny. Tyto žlázy se z velké části podílejí na lidském pachu, jsou také nazývány aromatickými potními žlázami a hrají důležitou roli v chemické signalizaci (Gallagher et al., 2008).

Mazové žlázy se nacházejí především na ochlupených místech včetně pokožky hlavy. Jedná se o holokrinní žlázy tvořící maz (*sebum*). Kapénky lipidů postupně vyplňují cytoplasmu buňky až dojde k její apoptóze a celá buňka se tak stane sekretem. Tyto žlázy ústí do chlupových folikulů. Maz chrání kůži proti smáčení a zvláčňuje ji (Čihák, 2004). Kožní maz je složen především z lipidů, jako cholesterol, esterů cholesterolu, triglyceridů a dlouhých řetězců volných mastných kyselin (Curran et al., 2005). Tyto lipidy slouží také jako výživa pro kožní mikroorganismy, které se rovněž podílejí na tvorbě pachu (Gallagher et al., 2008).

Všechny tyto žlázy se podílejí na tvorbě lidského pachu. Změny v pachu mohou být zapříčiněny nástupem puberty, menstruačním cyklem nebo nemocí. Tyto faktory však více ovlivňují apokrinní žlázy. Mazové žlázy a žlázy ekrinní se zdají být v tomto ohledu mnohem stabilnější oproti apokrinním (Curran et al., 2007).

### 3.2.2 Podstata individuálního lidského pachu

Curran et al. (2005) rozděluje lidský pach podle faktorů, které jej ovlivňují: Primární pach je zapříčiněn geneticky a předpokládá se, že je stabilní po celý život jedince. Sekundární pach ovlivňují vnitřní podmínky jako dieta, onemocnění, věk, menstruační cyklus. Terciární pach je pak ovlivňován vnějšími faktory, se kterými daný jedinec přišel do styku. Toto zahrnuje používání hygienických a kosmetických prostředků, prostředí, ve kterém se osoba pohybuje nebo pachy jiných osob a živočichů.

Primární pach neboli individuální lidský pach je charakterizován těkavými organickými látkami (VOC - volatile organic compounds), které secernuje kůže a jsou v čase stabilní (DeGreef et al., 2011). Jako metoda k analýze a extrakci těkavým organických látek z lidského pachu slouží mikroextrakce tuhou fází - plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (SPME-GC/MS). SPME-GC/MS

extrahuje, separuje a identifikuje těkavé organické látky (Hudson et al., 2009). Tato metoda je používána nejen pro kvalitativní stanovení vzorku, ale i kvantitativní. Mikroextrakce tuhou fází je jednoduchá a rychlá sorpčně-desorpční technika, která slouží k zakoncentrování analytického vzorku (Procházková, 2002). Takto obohacený vzorek pak může dále být analyzován plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií, které by předtím nebyly schopné vzorky analyzovat, kvůli jejich nízké koncentraci. Těkavé organické látky, sloužící jako odoranty, mají totiž hmotnost menší než 400 Da. GC/MS identifikuje a určuje kvantitu pachových molekul, je vysoce selektivní citlivá a rychlá, což je využíváno jak v medicíně, tak ve forenzních vědách, kde se používá k analýze drog, výbušnin, ethanolu i rakovinných buněk. Tato metoda tak poskytuje vhled do práce služebního psa a může pomoci zjistit, na co psi reagují (Rudnicka et Buszewski, 2016).

Těkavé organické látky extrahované z lidského pachu náleží na základě funkčních skupin mezi kyseliny, alkoholy, aldehydy, uhlovodíky, estery, ketony a látky obsahující dusík (Curran et al., 2007).

Většina kyselin, alkoholů a aldehydů pochází pravděpodobně ze vzájemného působení mazových žláz a bakterií, žijících na povrchu těla. Anaerobní bakterie, které žijí v chlupovém váčku či kanálcích mazových žláz používají lipázy k přeměně triglyceridů na dlouhé řetězce mastných kyselin, které dále zpracovávají aerobní bakterie na povrchu a metabolizují je na nasycené i nenasycené kyseliny, menší těkavé kyseliny, aldehydy a alkoholy (Bernier et al., 2000; Gallagher et al., 2008). Některé těkavé organické látky mají hojnější zastoupení ve vzorcích odebraných v zimním období, ale u většiny látek se relativní poměr v průběhu ročních období nemění (Gallagher et al., 2008). Stáří vzorku pachu hraje také významnou roli. Čím čerstvější pachový vzorek je, tím je větší pravděpodobnost zachycení látek s vyšší těkavostí. Ve starších vzorcích mohou některé komponenty úplně vytékat či mohou být pozměněny mikrobiální činností, jako například vznik metyl esterů z karboxylových kyselin (Curran et al., 2007).

Kvalitativní zastoupení těkavých organických látek se u různých jedinců mnoho neliší, ovšem kvantitativní rozložení těchto látek udává jedinečnost pachu (Brown et al., 2013). Analýzou potu z podpaží u mužů a u žen byla zjištěna kvalitativní podobnost těkavých organických kyselin u obou pohlaví. To naznačuje, že mechanismy

zapříčiňující vznik pachu v podpaží jsou u mužů i u žen stejné (Zeng et al., 1996).

Lidský pach není po celém těle stejný, ale na různých částech těla se může lišit kvalitativně i kvantitativně, a to i z tak od sebe málo vzdálených míst jako je například ruka a loket. Což je dáno především rozdílností žlázné sekrece a přítomnosti jiné mikrobioty na různých částech těla (Gallagher et al., 2008; Brisbin et Austad, 1991; Jenkins, 2004). Rozdílnost pachu na různých částech těla může mást psy, kteří byli cvičeni k rozpoznávání pachu pouze z jedné části těla (Jeziński, 2016). Schoon et DeBruin (1994) se domnívají, že snížená schopnost amerických psů rozpoznat lidský pach z různých částí těla ve studii Brisbina et Austada (1991) je zapříčiněna právě tréninkem zaměřeným pouze na pachy odebrané z ruky.

Rozdíly v lidském pachu se také vyskytují u jedinců různého věku. Gallagher et al. (2008) zjistili větší hojnost dimetylsulfonu, benzothiazolu a nonanalů u lidí staršího věku, ale sami konstatují, že rozdíly zde jsou pouze minimální. Rozdílnost pachu na základě těkavých organických látek lze také nalézt u jedinců odlišného pohlaví a různé etnicity (Colón-Crespo et al., 2016).

Významnou roli v lidském pachu také hrají kožní lipidy produkované mazovými žlázami. Jen drobné změny ve složení směsi mastných kyselin zapříčiňují jedinečnost individuálního lidského pachu (Nicolaidis, 1974).

Čich psů je však mnohem citlivější než dnešní metody analytické chemie, a tak mnoho tisíců molekul o nižší koncentraci, které se nacházejí pod detekční hranicí těchto přístrojů, jsou psi schopni rozpoznat (Doležal et al., 2017).

### 3.2.3 Distribuce lidského pachu do okolí

Nejběžnější teorie, jak vzniká lidský pach, je spjatá s bakteriemi na povrchu lidského těla, které produkují pach svou činností na kožních buňkách a sekretech vyprodukovaných kůží (Curran et al., 2005). Téměř 40 000 odumřelých kožních buněk odpadne z jedince během jedné minuty a jsou nabírány prouděním vzduchu (DeGreef et al., 2011). Kolem každého člověka se vyskytuje proud teplého vzduchu, který obsahuje až pětkrát více bakterií než se nachází jinde v místnosti. Tyto bakterie pocházejí právě z odumřelých kožních buněk a s nimi se dostávají do vzduchového proudění. Větší



částice spadají rovnou k zemi, ale menší se dostávají do toku proudění a takto se lidský pach dostává do prostředí (Curran et al., 2005). Pachy jsou rozšiřovány advekcí. Přenos odorantů v prostředí je závislý na proudění vzduchu a fyzických objektech, které se zde vyskytují. Vzhledem k této závislosti mají jednotlivé odoranty jedinečné vlastnosti, co se šíření týče. To zahrnuje rozprostření v prostoru, kolísání koncentrace a větší či menší meandrování v proudění (Moore, 2016).

Ve vnitřním prostředí záleží na větrání a izolaci. Experimentálně bylo zjištěno, že pouhým držením ruky nad textilií ve výšce 5 cm je možné identifikovat danou osobu podle pachového spadu (Vyplelová et al., 2013).

Lidský pach tvoří kombinace různých látek, které se liší poměrem u každého jedince, zároveň však se u různých jedinců objevují specifické látky, které se u jiných neobjevují (Curran et al., 2005). Pach však ještě zdaleka není dokonale prozkoumán, a tak i další faktory a látky s relativně nízkou těkavostí nebo ty, které jsou přítomny pouze ve velmi nízké koncentraci mohou hrát větší či menší roli v lidském pachu (Prada et al., 2010).

### **3.3 Využití čichu psa**

Lidé využívají psí čich již po tisíciletí (DeGreef et al., 2012; Johnen et al., 2013). Od počátků své domestikace byli psi využíváni jako pomocníci při vyhledávání kořisti (Georgevsky et al., 2006) a byli selektováni na základě jejich vynikající čichové percepce, což zdokonalovalo tento smysl (Quignon et al., 2012).

Dnes jsou psi využíváni k detekci a identifikaci nespočtu různých objektů a substancí v nejrůznějších oborech (DeGreef et al., 2012). Podle studií je psí čich vhodný k odhalení nádorového bujení. Psi byli schopni čichem rozeznat tkáň zhoubného nádoru, který byl vyoperován, dokonce však byli schopni rozpoznat zhoubný nádor přímo z ležícího člověka s rakovinou. Zároveň však různé typy nádorů mohou být detekovány z biologických materiálů jako je moč či dech nemocného pacienta (Moser et McCulloch, 2010; Taverna et al., 2015).

V zemědělství je psí čich využíván k vyhledávání různých produktů, ale i

například k detekci estru hospodářských zvířat z poševních sekretů nebo moči (Fischer-Tenhagen et al., 2011). Psi mohou být také využíváni v průmyslu například k detekci skryté koroze (Schoon et al., 2014). Záchranářští psi jsou naučeni hledat pach člověka v lavinách či v neprostupných terénech (Mochalski et al., 2015), avšak po skonu člověka se pach velmi rychle začíná měnit a tito psi nejsou naučeni rozpoznávat tento pach. Z tohoto důvodu jsou cvičeni i psi na detekci lidských ostatků, a to i jen částí těla, tkání, kostí, krve a dekompozičních tekutin (Agapiou et al., 2015; DeGreef et al., 2012).

Služební psi se učí rozpoznávat různé chemické substance jako jsou drogy nebo výbušniny, jsou využíváni k vyhledávání bankovek, ilegálně dovážených živočichů a rostlin etc. (Eastwood, 1990; Lazarowski et Corman, 2014). Psi mohou být naučeni rozpoznat čichem téměř cokoliv, co dokáže vyvolat čichový vjem (Walczak et al., 2012).

### **3.3.1 Identifikace lidského individuálního pachu**

Důležitou oblastí psích čichových schopností je schopnost rozpoznávání individuálního lidského pachu především v kriminalistice. Vzorky DNA a otisky prstů, jsou-li nalezeny na místě činu, patří mezi důležité nástroje k identifikaci osoby. Zanechání těchto stop se však lze vyvarovat, je-li osoba konající trestný čin obezřetná. Lidský pach na druhou stranu nemůže být nijak zadržen a je produkován do prostředí neustále (Cuzuel et al., 2017).

V Evropě se psi k identifikaci osob pro potřeby policejního pátrání využívají již přes 100 let (Stockham et al., 2004). Na Britských ostrovech byli psi trénováni k vyhledávání lidského pachu nejprve jako zábava pro aristokratickou společnost. To mělo za následek počátky sestavování rodokmenů v polovině 19. století. Tehdejší policie chodila k majitelům psů cvičených na vyhledávání lidského pachu pro rady, v některých případech se sami majitelé stávali pomocníky při vyhledávání pachové stopy. Na přelomu 19. a 20. století byli psi v Evropě, ale i v Americe běžně využíváni policií při vyhledávání lidského pachu (Pemberton, 2013). Identifikace podezřelého tehdy probíhala tak, že pes načichal pach z předmětu doličného a identifikoval konkrétní osobu stojící v místnosti. Tato metoda byla označována jako pachová rekognice.

V roce 1983 vydal rakouský soudce Hans Gross knihu *Handbuch für Untersuchungsrichter als System der Kriminalistik*, ve které jako první navrhuje ukládání malých předmětů z místa činu, na kterých by mohly být pachové stopy, do uzavíratelných nádob, což v budoucnu vedlo k vývoji pachových konzerv (Straus et Kloubek, 2008).

V průběhu let byly psí olfaktorické schopnosti zneužívány politickými režimy a koloniální nadvládou k potlačování svých oponentů, které byly často spojovány s agresí nebo jako nástroj neustálého dohledu. Jako příklad může sloužit využívání psů Stasi, tajnou policií NDR, která nechávala tajně odebírat pachové vzorky od lidí, kteří nebyli režimu vyhovující (Pemberton, 2013; Straus et Kloubek, 2008).

### 3.3.2 Odběr lidského pachu

Od šedesátých let se v Evropě opět začalo uvažovat o zavírání pachové stopy do uzavíratelných nádob. K tomuto účelu se začaly používat skleněné sterilní sklenice a s doličnými předměty se manipulovalo se sterilními nástroji. Takto vznikla metoda pachových konzerv. Princip této metody spočívá v uložení pachu do sklenic, kde již nebude docházet k další kontaminaci. Tato sklenice pak může být kdykoliv otevřena a poskytnuta ve vhodnou dobu k identifikaci. Později se začalo využívat sterilních textilií k otírání předmětů doličných a samy textilie byly uzavírány do pachových konzerv jako nositelé pachu. Dnes je prováděna komparace pachu odebraného z místa činu s pachy odebranými z těla podezřelého a nedochází tak ke kontaktu psa s konkrétní osobou (Straus et Kloubek, 2008).

Lidský pach může být psovi prezentován v několika formách. Jednou z nich je přímé vystavení předmětu, na kterém se nacházejí pachové stopy, ale tato metoda se příliš často nepoužívá kvůli možné kontaminaci předmětu pro další investigativní účely. Pach může být z předmětu odebrán speciálními sterilními textilií (DeGreef et al., 2011; Stockham et al., 2004). Těkávé organické látky pocházející z lidského pachu mají tendenci být dobře uchovávány v textiliích díky jejich pórovitosti. Míra této schopnosti zachytávat VOC závisí na typu použitého materiálu. FBI v USA používá gázu od Johnson and Johnson, v Nizozemí je používána textilie od King's Cotton, v některých

studiích je pro sběr lidského pachu používána gáza značky Dukal (DeGreef et al., 2011; Hudson et al., 2009). V České republice je však používán textilní sorbent obchodní značky ARATEX® (Straus et Kloubek, 2008), která je tvořena ze 75 % bavlnou a z 25 % viskózou. Tato textilie však sama o sobě obsahuje nečistoty, které mohou překrýt pachové molekuly (Doležal et al., 2016). Kromě odběru na textilní sorbent lze však odebírat pach i na kovové či keramické válečky nebo na skleněné kuličky (Kloubek et al., 2015).

K odběru pachu z předmětů doličných se v jiných zemích používají i další metody. V Rusku existuje šest metod odběru pachové stopy určených pro odběr z různých objektů. Mezi tyto patří odpařování pachu za pomoci ohřátí předmětu ve speciálním přístroji, smytí pachu organickými rozpouštědly, propaření pachu pomocí horké páry na textilní sorbent nebo přenesení pachu vzduchovým proudem laboratorním vysavačem (Straus et Kloubek, 2008). V USA je používáno speciální zařízení STU-100 (Scent Transfer Unit), neboli jednotka přenosu pachu. Jde o přenosný, v terénu využívaný, "vysavač" sloužící ke kontaktnímu i nekontaktnímu odběru pachové stopy. Zařízení saje pachovou stopu na textilní sorbent, který pak může být prezentován psovi nebo uskladněn (DeGreef et al., 2011). Toto zařízení může být použito dokonce k získání pachu osoby z místnosti, kde osoba pobývala (Cuzuel et al., 2017).

### 3.3.3 Čichové schopnosti psa a odolnost lidského pachu

V mnoha studiích byla prokázána vysoká odolnost lidského pachu vystaveného různým fyzikálním vlivům. Lidský pach byl vystaven různým povětrnostním podmínkám po dobu půl roku v letních a zimních měsících. Po uplynulé době byli psi stále schopni identifikovat pach ponechaný venku v zimních měsících, ale pach ponechaný venku v letních měsících již ne. Na kvalitu vzorků mělo negativní vliv především sluneční záření (Machová, 2016). V další studii byla ověřována schopnost vody odstranit lidský pach. Předmět držení po dobu 1 minuty v dlaních byl ponořen do vodního toku, a zde byl ponechán po dobu jedné hodiny. Psi byli schopni pach sejmutý z tohoto předmětu identifikovat (Santariová et al., 2012).

Kloubek et al., (2015) zjistili, že parní sterilizace při teplotě 125 °C po dobu 30

minut není dostačující pro zneškodnění individuálního lidského pachu. Lidský pach dokáže odolat i explozi improvizovaných výbušnin. Z úlomků výbušniny po výbuchu je možné identifikovat individuální lidský pach jedince, který s výbušninou před výbuchem manipuloval (Curran et al, 2010). Ve studii Santariové et al., (2016), kde byla zkoumána odolnost lidského pachu vůči vysoké teplotě, bylo zjištěno, že někteří speciálně cvičení psi dokáží identifikovat individuální lidský pach, který byl vystaven teplotě až 900 °C. Žádný ze psů však nebyl schopen identifikovat pach vystavený teplotě 1000 °C.

### 3.3.4 Metoda pachové identifikace

Metoda pachové identifikace osob (MPI) je metodou, při níž speciálně cvičení psi porovnávají pach, který dostanou k načichání s pachem pocházejícím od stejného jedince. Hledaný pach je umístěn v řadě pachových konzerv mezi pachy jiných osob (Marchal et al., 2016; Schoon, 2005). Pes obvykle načichává pach získaný z místa činu, který následně porovnává s pachy v řadě 6 sklenic, kde pouze jedna obsahuje pach podezřelého (Jeziarski, 2016), který se shoduje s načichávacím pachem a ostatní pachy jsou pachy klamně neboli doplňkové. Pes postupně přichází k jednotlivým pachovým konzervám a čichá. Při správném určení pachu v řadě naznačuje správnou pozici naučeným způsobem, a to sednutím či lehnutím (Marchal et al., 2016). K učení psů identifikovat lidský pach je využíváno operantního podmiňování. V tomto ohledu se na psa nekladou nároky pouze na používání jeho čichového smyslu, ale i na schopnost vytvoření pevné asociace mezi cílovým pachem a odpovědí, která je podpořena odměnou (Jeziarski, 2016). Při tréninku dostává pes odměnu za správně identifikovaný pach, v případě špatné identifikace nedostává nic, což ale není při vyšetřování možné (Marchal et al., 2016).

Pes identifikuje člověka na základě aktivní pachové signatury. Jedná se o skupinu molekul v lidském pachu, různí psi však pravděpodobně používají jiné soubory molekul k pachové identifikaci (Lněničková et al., 2017). Na základě pachové signatury je pes schopný rozlišit pachy z různých částí těla (Settle et al., 1994).

Jeziarski (2016) rozděluje pach v odebraném pachovém vzorku na čtyři složky.

První tři složky jsou obdobné jako u rozdělení pachu podle faktorů, které ovlivňují individuální lidský pach od Curran et al. (2005). Čtvrtou složkou je pak pachové pozadí, externí pachová složka, která pochází z materiálu, který byl použit na sejmutí pachové stopy a z prostředí, kde byl pachový vzorek nabírán.

Psi by se měli ideálně zaměřit na individuální genetickou složku pachu a přehlížet ostatní složky a přidružené pachy. Pachy v řadě při metodě pachové identifikace by měly být uniformní a neměly by se od sebe odlišovat. Klamné pachy by měly být odebírány od lidí stejného pohlaví, stejné věkové skupiny, celkově by měly být odebírány za stejných podmínek jako pach cílový - ve stejné místnosti, stejnou osobou, používající sterilní náčiní a rukavice. Vzorky by měly být stejně staré, v ideálním případě by osoby poskytující klamné pachy měly používat stejné hygienické produkty a jíst stejné jídlo jako osoba, poskytující cílový pach (Jeziarski, 2016).

Různí psi používají k identifikaci osob jiný soubor molekul, na základě něhož ztotožňují jim předložené pachy. To bylo potvrzeno experimentem Lněničkové et al. (2017), ve kterém byl lidský pach chemicky rozdělen do tří odlišných frakcí a testován psy speciálně cvičenými na metodu pachové identifikace. Psi byli schopni identifikovat lidský pach na základě různých souborů molekul.

V metodě pachové identifikace se nejčastěji používají dva typy nosičů pachu, z kterých pes identifikuje pach. Jedním typem je textilní sorbent v pachové konzervě a druhým jsou kovové válečky, které jsou umístěny do speciálních podstavců na zemi. Kovové trubičky jsou používány především v Nizozemí (Schoon, 1996) a textilní sorbent se používá v České republice, Polsku Maďarsku nebo Rusku (Straus et Kloubek, 2008; Jeziarski, 2016). Ať už je použito kovových válečků či textilního sorbentu, použité vzorky v metodě pachové identifikace nesmějí být použity znovu a musejí být odstraněny. Důvodem je kontaminace vzorků slinami a pachem psa během komparace vzorků. Kovové válečky se umývají a sterilizují a mohou být použity znovu k odebírání pachu, ale textilní sorbenty se po použití likvidují a nemohou být použity znovu kvůli své pórovitosti a zatím nedostatečné znalosti, jak z nich individuální lidský pach odstranit (Jeziarski, 2016).

Při pachové identifikaci je nutno brát v potaz chemické a fyzikální vlastnosti pachu, ale i vlivy, které mohou pachovou stopu změnit (Kloubek et al., 2015). Není známo, na které látky individuálního pachu psi reagují a používají je k diskriminaci, ani

to, zda každý pes rozpoznává pach stejným způsobem (Schoon, 1996). Změny pachu vlivem stárnutí pachu musí být brány v potaz při metodě pachové identifikace. Schoon (2005) tvrdí, že schopnost psů rozeznat pach, který byli schopni ztotožnit čerstvě odebraný v den odběru, se s časovým intervalem snižovala a byla velmi variabilní. Tato schopnost se však nesnižovala systematicky. Zdá se, že na začátku od odebrání dochází k jakémusi propadu ve schopnosti rozlišit pach, následně pak stárnutí odebrané pachové stopy již nesnižuje schopnost identifikovat pach tak výrazně. To může být zapříčiněno těkavostí organických látek, které individuální lidský pach obsahuje. Každá molekula obsažená v lidském pachu se odpařuje jinak. Nenasycené mastné kyseliny se při ponechání na vzduchu mění v nasycené a tato změna probíhá většinou do jednoho týdne. Uzavírání odebraného pachu do pachových konzerv umožňuje vytvoření stabilních podmínek, kde se míra odpařování látek sníží na minimum (Schoon, 2005).

Přestože jsou psi od počátku trénováni, aby přistupovali ke každé sklenici v řadě, někteří psi si mohou vytvořit zvyk čichat nepravidelně nebo přeskakovat některé pozice, což je nežádoucí (Jeziński, 2016).

Psi se často spoléhají na člověka v různých situacích. Při metodě pachové identifikace je důležité, aby psovod neznal správnou pozici cílového pachu v řadě a nemohl tak psovi naznačit, byť nechtěně, kde se cílový vzorek nachází. Neúmyslné napovězení nemusí pocházet jen ze strany psovoda, ale i od experimentátora, který staví řadu pachových konzerv. Proto často experimentátor sleduje ztotožňování přes monitor z jiné místnosti a například přes telefon ohlašuje správnou pozici, čímž se tak zvaný efekt chytrého Hanse odstraní. V těchto dvojité slepých testech není pes obvykle odměňován, a proto by se tyto slepé testy neměly provádět příliš často, kvůli motivaci psa (Jeziński, 2016).

Část populace může být označena za extrémní vylučovače, jedná se o lidi, kteří zanechávají vyšší míru svého individuálního pachu než jiní a mohou tak být forenzními techniky lépe detekovatelní. Předpokládá se, že i pro psy mohou být tyto osoby lépe identifikovatelné (Schoon, 2005).

Některé pachy mohou být pro psa atraktivní samy o sobě a tak je důležité, aby pes tyto vzorky neoznačoval pouze z atraktivity. Před samotným testem je vhodné provést test náhodné zajímavosti, při níž je umístěn cílový pach v řadě na pozici před kontrolním cílovým pachem. V případě, že pes cílový vzorek přejde, je vše v pořádku a

může se přistoupit k samotnému testu. Pokud jej pes označí, tak by k testování nemělo dojít, protože je pach pro psa atraktivní a došlo by ke zkreslení výsledků (Jeziarski, 2016).

Metoda pachové identifikace se používá v řadě evropských zemí (Jeziarski, 2016). Použití metody pachové identifikace v kriminalistickém vyšetřování musí provádět pouze ti psi, kteří jsou schopni provést ztotožnění s minimálními chybami (Stockham et al., 2004). U soudu je vyžadována téměř 100% spolehlivost, aby pachová identifikace byla brána v potaz jako důkaz (Jeziarski, 2016). Úspěšnost psa a psovoda by měla být hodnocena při tréninku. Psovod se svým psem, kteří nepředvádějí stabilní výkony, by neměli být používáni k ztotožňování pachů ve vyšetřování (Stockham et al., 2004).

Informace získané z metody pachové identifikace mohou s uvážlivostí sloužit jako cenný nástroj v trestním stíhání (Stockham et al., 2004). Navzdory vynikající schopnosti psů identifikovat pachy, která je dnes doložena mnohými studiemi, není však tato metoda celosvětově uznávána jako důkazní prostředek (Marchal et al., 2016).

### **3.4 Sliny a bukalní stěry**

Orální sekret je vodnatý komplex obsahující sliny a buňky bukalní sliznice (Kusano et al., 2011), zároveň zde mohou být obsaženy sekrety horních cest dýchacích, gastrointestinální reflux, bakterie, viry, sulkulární tekutina, zbytky jídla a látky obsažené v krvi jako plasmatické proteiny, erytrocyty či leukocyty v případě zánětu (Chiappin et al., 2007).

#### **3.4.1 Sliny**

Sliny v dutině ústní produkuje několik typů slinných žláz. Po celé dutině ústní se nacházejí malé slinné žlázy (*glandulae salivariae minores*), které jsou v oblasti tváře



(*glandulae buccales*) zapuštěny v podslizničním vazivu a některé zasahují až k snopcům tvářového svalu (*m. buccinator*). Tyto slinné žlázy secernují svůj sekret stále bez stimulace. Kolem dutiny ústní se nachází tři velké párové slinné žlázy. Největší slinnou žlázou je žláza příušní (*glandula parotidea*), dále pak žláza podčelistní (*glandula submandibularis*) a třetí velkou slinnou žlázou je žláza podjazyková (*glandula sublingualis*) (Čihák, 2002). Žláza příušní je pouze serózní žlázou, v jejím sekretu chybí mucin. Ostatní velké slinné žlázy jsou žlázami smíšenými nebo seromucinózními (Chiappin et al., 2007). Sliny obsahují vodu, proteiny, mastné kyseliny, aminokyseliny, lipidy, glukosu, hormony etc. Průměrná denní produkce slin činí u člověka od 0,5 do 1,5 litru. Největší poměr na sekreci žláz u nestimulovaného organismu má podčelistní žláza tvořící 65-70 % slin. Příušní žláza tvoří 20 %, podjazyková 7 - 8 % a malé žlázy méně než 10 %. Při stimulaci organismu tvoří příušní žláza přes 50 % sekretovaných slin (Brown et al., 2013).

Sliny obsahují anorganické i organické sloučeniny. Složení slin je rozdílné u slin stimulovaných a nestimulovaných. Největší zastoupení iontů tvoří  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{HPO}_3^{2-}$ . Iontové složení slin ovlivňuje několik faktorů, mezi něž patří i složení potravy. Příjem kyselého jídla zvyšuje v porovnání s nestimulovanými slinami koncentrace sodíku, chloridu a uhličitanu a snižuje draslík a fosforečnan.

Z organických látek sliny obsahují kyselinu močovou, bilirubin a kreatin, dále pak glukózu, aminokyseliny, z lipidů cholesterol a mono- či diglyceridy. Sliny obsahují vysoké zastoupení proteinů z nichž nejhojněji je zastoupena amyláza, IgA, a uhličitá anhydráza. Mezi další složky obsažené ve slinách patří například hormony.

Produkce a složení slin je závislé na aktivitě autonomního nervového systému. Serózní části slinných žláz ovlivňuje sympatikus a mucinózní části ovlivňují jak sympatikus, tak parasympatikus. Parasympatická stimulace má za následek vyšší produkci slin s nízkou hladinou organických a anorganických složek. Produkce stimulovaná sympatikem obsahuje sliny bohaté na proteiny a iont  $\text{K}^+$  (Chiappin et al., 2007).

Sliny mají pH lehce kyselé až neutrální. Průměrné hodnoty pH v dutině ústní činí 6 - 7. K celkovému pH v ústech však přispívá i orální mikrobiota, nápoje a jídlo, které pH snižují. Na druhé straně produkce slin má velký vliv na změnu pH. Snížení produkce slin snižuje hodnotu pH, ale při zvýšené produkci slin může hodnota pH

dosáhnout až 7,8 (Brown et al., 2013).

Funkce slin zahrnuje udržování vlhkosti ústní sliznice, což umožňuje nižší citlivost při odstraňování mikroorganismů, odumřelých buněk a zbytků jídla při polykání. Mucin obsažený ve slinách tvoří slizký povrch celé ústní dutiny. Podporuje žvýkání, tvorbu sousta a polykání. Ve slinách jsou rozpouštěny pevné substance, které stimulují chuťové buňky. Sliny zároveň roznášejí tyto stimulanty po dutině ústní k chuťovým pohárkům. Hypotonické nestimulované sliny pomáhají chuťové rekognici. Slinné žlázy produkují amylázu, která je zapojena do metabolismu cukrů. Sliny ochraňují sliznici dutiny ústní, hltanu a jícnu při regurgitaci žaludečních kyselin. Sliny rovněž ochraňují zubní sklovinu před kyselinami tvorbou proteinového povlaku na jejím povrchu. Sliny podporují hojení zranění v dutině ústní a obsahují antibakteriální a antivirotické činitele, kteří upravují složení ústní mikrobioty (Dawes et al., 2015).

Analýza SPME na těkavé organické látky ze vzorků slin rozdělila identifikované látky do několika skupin: kyseliny, alkoholy, aldehydy, estery, heterocykly, uhlovodíky a ketony. Významnou roli z těchto látek hrají kyseliny, které určují mírnou kyselost pH v dutině ústní. Kyselina kapronová byla ve studii Brown et al. (2013) nalezena ve všech analyzovaných vzorcích. Ta se také nalézala ve vzorcích lidského pachu odebraného z kůže ve studiích Bernier et al. (2000), Gallagher et al. (2008) a Prada et al. (2011). Heterocyklická látka 2-pentyl-furan byla také identifikována ve všech salivárních vzorcích (Brown et al., 2013).

### **3.4.2 Odběry a analýza bukálních stěrů**

Analýza slin a bukální sliznice se dnes provádí za různými účely. Odběr slin patří mezi neinvazivní metody odběru a jedná se o bezpečný odběr pro odebíranou osobu i osobu, která vzorky odebírá. Další výhodou je jednoduché a finančně nenáročné skladování vzorků. Odebíraná osoba musí být seznámena s pravidly, které před odběrem musí dodržet. 30 až 60 minut před odběrem by neměla nic jíst ani pít, nežvýkat a neprovádět orální hygienu.

Diagnostika slin a bukálních stěrů je hojně využívána ve stomatologii za účelem zjištění orálních onemocnění (Chiappin et al., 2007) jako například periodontitida

(Kusano et al., 2011). Dále je využívána ke screeningu různých virových a bakteriálních infekcí k detekci protilátek, hormonálních změn, ale i rakoviny (Chiappin et al., 2007; Kusano et al., 2011). Analýza orální tekutiny je používá ke zjišťování požití drog a léků. Bukální stěry jsou ve forenzních vědách hojně používány k analýze DNA testováním buněk bukální sliznice (Kusano et al., 2011), které nahrazují tradiční používání krevních vzorků k analýze genomické DNA (Chiappin et al., 2007).

Vzorky slin, pokud nejsou okamžitě analyzovány, by měly být uskladněny v teplotě pod bodem mrazu, aby nebyla porušena celistvost vzorku. Ochlazování vzorku zabraňuje degradaci některých molekul, potlačuje růst bakterií a zároveň zastavuje bakteriální proteázy, které rozkládají mnohé proteiny obsažené ve slinách (Chiappin et al., 2007).

Dle studie Fischer-Tenhagen et al. (2013) mohou být psi využíváni za účelem zjištění estru u krav ze vzorků slin. Psi speciálně cvičení na metodu pachové identifikace jsou schopni ztotožnit odebraný vzorek bukálního stěru se vzorkem téže osoby odebraným z jiné části těla na základě aktivní pachové signatury (Doležal et al., 2016).

## 4 Materiál a metody

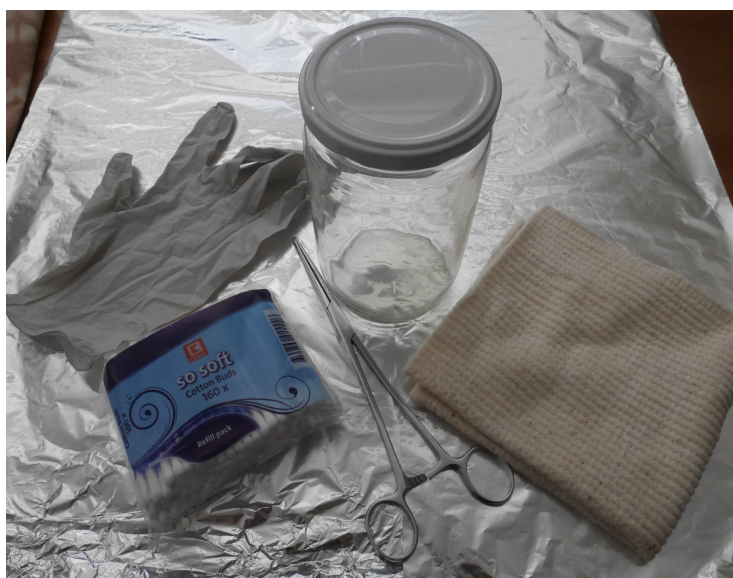
Experimentem byla zjišťována schopnost psů ztotožnit pach odebraný z rukou s pachem z bukálního stěru. Bukální stěry byly uskladněny dvěma různými způsoby. V prvním případě byl vzorek bukální sliznice umístěn do prázdné pachové konzervy a v druhém případě byl společně se vzorkem bukální sliznice umístěn v pachové konzervě textilní sorbent.

Vzorky odebrané z rukou byly předloženy psovi k načichání, a ten pak měl tento pach ztotožnit s pachem z bukálního stěru téže osoby v pachové řadě, kde kromě správného pachu byly umístěny pachy klamné, odebrané od jiných osob.

### 4.1 Použitý materiál

K odběru pachu bylo použito speciálního textilního sorbentu obchodní značky ARATEX<sup>®</sup>. Jedná se o netkanou bavlněnou textilií, která dobře zadržuje těkavé organické látky z lidského pachu. K uskladnění této textilie bylo použito vysterilizovaných sklenic se šroubovacím víčkem. Sklenice byly umyty v ultrazvukové čističce ve 4% roztoku detergentu při teplotě 70 °C po dobu 60 minut. Následně byly sušeny v horkovzdušném sterilizátoru, kvůli inaktivaci mikroorganismů.

Se sklenicemi bylo manipulováno pouze v latexových rukavicích. K přemísťování textilie byly použity sterilní peány. Při odběru pachu byl pro každou osobu určen jiný peán a osoba, která pach odebírala, používala jiné rukavice, aby se zamezilo kontaminaci vzorků. Pro případné odložení sklenic a peánů při odběru byla



Obr.č. 1: Pomůcky k odběru pachu (foto: autor, 2017).

použita aluminiová fólie.

K odběru bukalních stěrů bylo použito vatových tyčinek značky K-classic so soft. Každá osoba, které byl odebírán pach, měla přidělen neotevřený balíček vatových tyčinek, který byl otevřen odebírající osobou v latexových rukavicích až těsně před samotným odběrem, aby se co nejvíce zabránilo nechtěné kontaminaci.

## 4.2 Odběr vzorků

Odběry všech vzorků probíhaly na místech, kde bylo předpokládáno nejmenší riziko silného pachového pozadí, které by mohlo vzorky ovlivnit. Pachy byly odebírány v Centru pro výzkum chování psů v sále pro provádění MPI. Jedná se o desinfikovanou místnost s odvětráváním.

Kvůli jednotnosti pachů, byli vybráni z řad dobrovolníků pouze muži ve věku od 21 do 27 let. Nejprve bylo vybráno dvakrát po třech dobrovolnících, kteří v experimentu sloužili jako cílové osoby a byly od nich odebrány pachové vzorky z rukou. Každá osoba byla odebírána zvlášť, aby nedošlo ke kontaminaci vzorků. Dotyčná



Obr.č. 2: Odběr bukalního stěru (foto: autor, 2017).

osoba si omyla ruce až po lokty detergentem a horkou vodou a nechala ruce schnout po dobu třiceti minut, kvůli obnově sekrece pachových žláz. Během této doby již dotyčný na nic nesahal, aby nedošlo ke kontaminaci pachu. Po uplynulé době byl do každé ruky odebírané osoby umístěn sterilním nástrojem čistý textilní sorbent ze sterilní sklenice, který osoba držela v dlaních po dobu pěti minut. Poté byl stejným nástrojem textilní sorbent s pachem umístěn zpět do sklenice, která byla následně uzavřena, nadepsána speciálním kódem a uskladněna.

Takto bylo od každé osoby obdrženo pět pachových konzerv. Tyto pachy v experimentu sloužily jako pachy načichávací, tedy ty, podle kterého pes následně

identifikuje pach v řadě.

Zhruba s měsíčním odstupem došlo k odebrání vzorků bukální sliznice od týchž osob, které sloužily jako cílové vzorky v pachové řadě. Zároveň byly odebrány vzorky bukální sliznice od dalších lidí, jejichž vzorky byly umístěny do pachové řady jako klamné pachy. Vzorky bukální sliznice odebírala jiná osoba než vzorky z rukou, aby nedošlo k přenosu pachu odebírající osoby na vzorky a nedošlo pak k ztotožňování vzorků na základě pachu člověka, který vzorky odebíral.

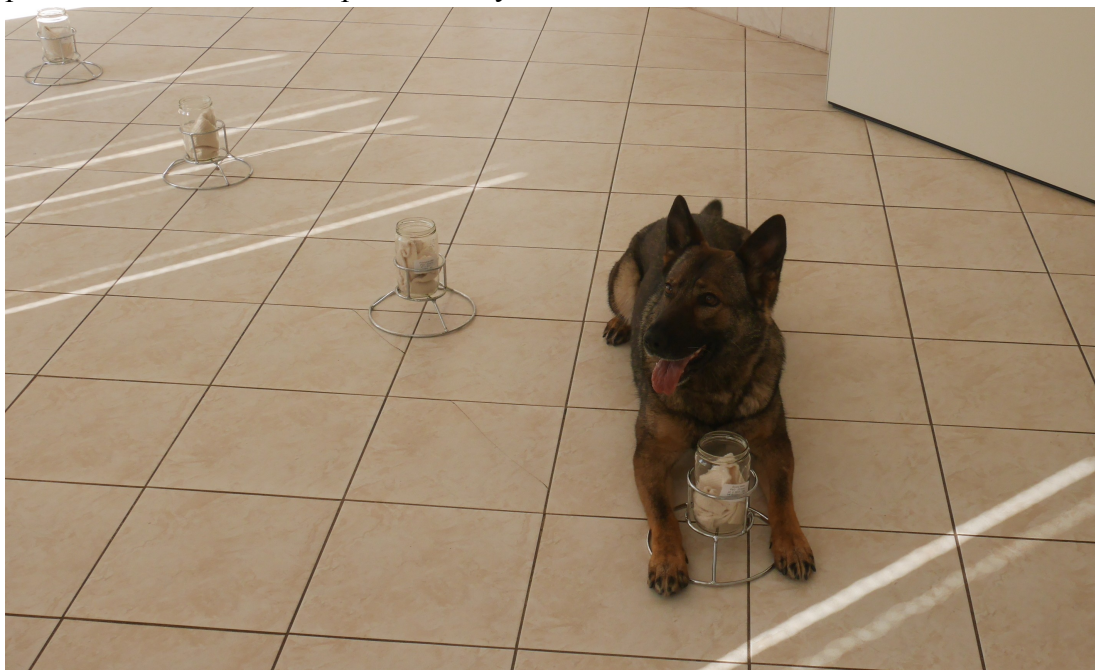
Pro testování obou metod byly vzorky uskladňovány dvěma následujícími způsoby. Od jedné trojice byly vzorky bukální sliznice umístěny do prázdné sterilní uzavíratelné sklenice a od druhé byly vzorky umístěny do sklenice společně s čistým textilním sorbentem. Sklenice byly řádně označeny, aby nedošlo k záměně. Dobrovolníci, od kterých byly klamné pachy nabírány, byli rovněž rozděleni do dvou skupin, a vzorky byly uloženy stejným způsobem.

Odběr vzorku bukální sliznice probíhal vždy stejně a každá osoba byla odebírána zvlášť. Osoba, od které byly získávány bukální stěry, hodinu před odběrem nejedla, nepila, nekouřila, nežvýkala ani neprováděla ústní hygienu. Každé odebírané osobě byl přidělen nový neotevřený balíček vatových tyčinek. Osoba odebírající bukální stěry měla vždy na sobě latexové či nitrilové rukavice. Vatová tyčinka byla umístěna na povrch bukální sliznice a pomalými pohyby byla otáčena po dobu jedné minuty tak, aby byla využita celá plocha vatové tyčinky. Stěry byly odebírány z obou tváří. Po odběru byl konec vatové tyčinky, na kterém byly vzorky bukální sliznice, odstřižnuto sterilními nůžkami, takže v pachové konzervě byl umístěn pouze konec tyčinky s pachovým vzorkem, a ne zbytek tyčinky, který by mohl vzorek kontaminovat. Vzorky byly umístovány do sklenic s textilním sorbentem či bez něj, podle toho, do jaké skupiny byl dobrovolník na počátku zařazen.

Všechny odebrané vzorky byly uskladněny při pokojové teplotě v místnosti s omezeným přístupem světla.

## 4.3 Vlastní experiment

K experimentu byly použity čtyři feny speciálně cvičené na metodu pachové identifikace z Centra pro výzkum chování psů. Konkrétně se experimentu zúčastnily Helga, Freny, Kora a Ivka. Všechny feny byly plemene německý ovčák. Čichání probíhalo v sále, dezinfikované a dobře odvětrávané místnosti. Při čichání nesměla být fena rušena, v místnosti byli přítomni pouze psovod a experimentátor, který stavěl pachovou řadu. V době experimentu byl na chodbách dodržován režim ticha.



Obr.č. 3: Zalehnutí pachové konzervy fenou Ivkou při ztotožnění vzorku v řadě (foto: autor, 2017).

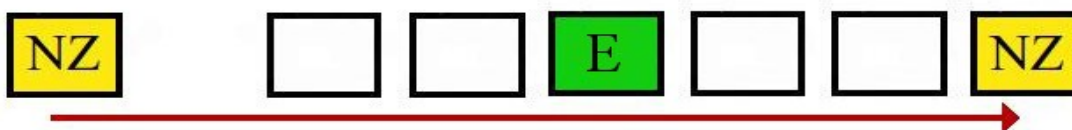
Na podlahu bylo rozmístěno šest kovových stojanů, do kterých se umisťují pachové konzervy. Mezi pachovými konzervami byl vždy 1 cílový vzorek, který měli psi označit a 5 klamných vzorků. Když byly pachové konzervy rozmístěny, experimentátor všechny postupně otevřel a mohlo dojít k vlastnímu čichání. Tři feny takto čichaly řadu o šesti pachových konzervách, pouze jedna - Helga je cvičena na tzv. carousel, kde jsou pachové konzervy umístěny do speciálního kruhového stojanu pro osm sklenic. Pachová řada se tak skládala z osmi pachových konzerv, kde pouze jedna obsahuje cílový pach.

Před každým experimentem byl proveden test náhodné zajímavosti. Tento test ověřuje, zda pes je v dobré kondici a čichá a také jestli samotný pach, který bude pes



následně ztotožňovat, není pro něj atraktivní sám o sobě. V případě označení experimentálního vzorku v testu náhodné zajímavosti nemůže dojít k vlastnímu experimentu, neboť by byly zkresleny výsledky. Test probíhá tak, že v pachové řadě je umístěn experimentální vzorek před vzorkem pro náhodnou zajímavost, který má pes ztotožnit. Pes by si neměl experimentálního vzorku všimnout.

Obr.č. 4: Diagram znázorňující test náhodné zajímavosti.



Vysvětlivky: *E* označuje experimentální vzorek, který musí pes v testu náhodné zajímavosti přejít. *NZ* znázorňuje testovací vzorek pro náhodnou zajímavost, který má pes označit (autor, 2017).

Po kladně splněném testu náhodné zajímavosti byl v pachové řadě vyměněn vzorek pro náhodnou zajímavost za další klamný pach a mohlo dojít k vlastnímu experimentu. Pes dostal k načichání pachový vzorek experimentální osoby odebraný z rukou a porovnával cílový vzorek téže osoby z bukálního stěru, který byl umístěn v pachové řadě. Každá fena procházela řadu ve třech obměnách, kdy pozice cílového vzorku byla vždy změněna. Klamné pachy byly rovněž po každém pokusu proházeny.

Psi reagovali v pachové řadě třemi různými způsoby: 1. Správně označili cílový pach. 2. Cílový pach neoznačili a prošli pachovou řadu. 3. Označili jiný pach než cílový (falešné značení). Druhý a třetí způsob byl posuzován jako neztotožnění.

Po skončení čichání daným psem byly všechny použité vzorky zlikvidovány a nebyly použity už jiným psem. Každý pes ztotožňoval každou osobu pouze jednou, aby nemohlo dojít k zapamatování pachu.

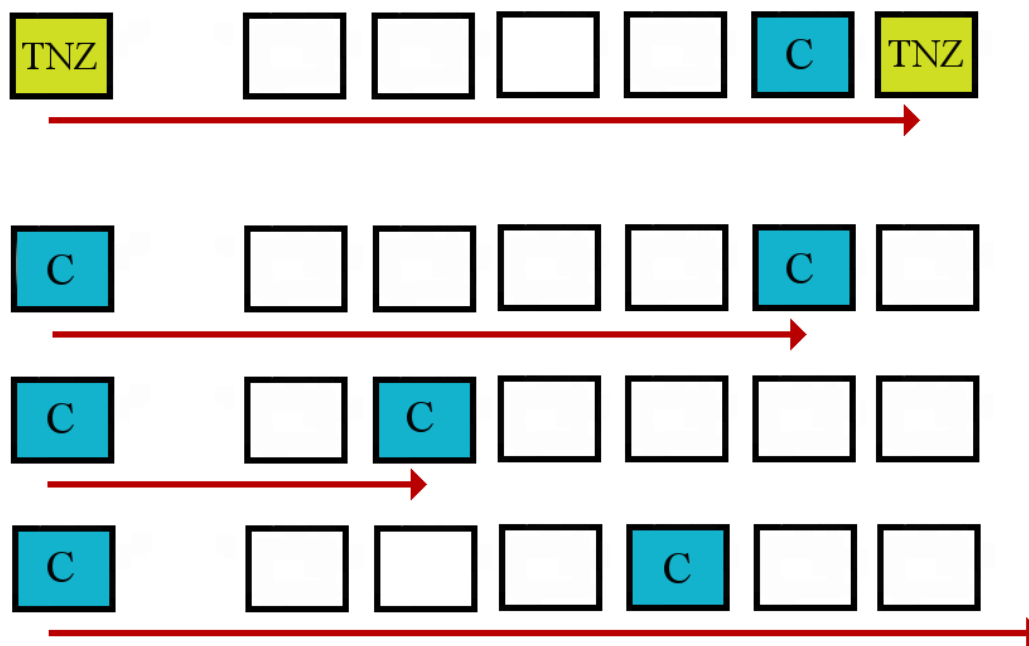
Postup experimentu byl totožný v obou porovnávaných metodách.



## 5 Výsledky

Pach každé osoby byl ztotožňován třemi fenami, které cílovou osobu identifikovaly ve třech opakováních. Každá jednotlivá identifikace psa byla zakreslena do diagramů a následně celkové výsledky všech psů do tabulek. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

Každý pes musel před samotnou identifikací projít testem náhodné zajímavosti. Nebyl-li tento test pozitivně splněn, nemohlo dojít ke ztotožňování experimentu.



Obr.č. 5: Diagram znázorňující průběh čichání. Vysvětlivky: TNZ: test náhodné zajímavosti, C: cílový pach, šipka protažená až za poslední pole znázorňuje neztotožnění cílového pachu (autor, 2017).

V uvedených tabulkách jsou uvedeny všechny výsledky získané z dílčích částí experimentu. Všechny feny prošly testem náhodné zajímavosti. Pouze v jednom případě se stalo, že fena označila experimentální vzorek v testu náhodné zajímavosti, a proto nemohlo dojít ke ztotožňování.

<b>osoba</b>	<b>fena</b>	<b>ztotožnění</b>
Osoba č. 1	Helga	- - -
	Freny	+ + +
	Kora	- - -
Osoba č. 2	Helga	- - -
	Freny	+ + -
	Kora	- + +
Osoba č. 3	Helga	+ - +
	Freny	+ + +
	Ivka	- + +

*Tabulka 1: Výsledky všech čichání varianty bez textilního sorbentu. Výsvětlivky: + označuje pokus, při kterém fena správně označila cílový pach; - označuje pokus, při kterém fena neztotožnila cílový pach (autor, 2017).*

<b>osoba</b>	<b>fena</b>	<b>ztotožnění</b>
Osoba č. 1	Helga	+++
	Freny	+++
	Kora	---
Osoba č. 2	Helga	---
	Freny	--+
	Ivka	--+
Osoba č. 3	Helga	++-
	Freny	++-
	Ivka	+++

*Tabulka 2: Výsledky všech čichání varianty s textilním sorbentem. Výsvětlivky: + označuje pokus, při kterém fena správně označila cílový pach; - označuje pokus, při kterém fena neztotožnila cílový pach (autor, 2017).*

Celkově proběhlo v obou variantách uskladnění 54 ztotožňování a obě varianty byly testovány rovnoměrně - tedy každá metoda uskladnění byla testována psy v 27 pachových řadách. Při čichání varianty s textilním sorbentem bylo fenami správně ztotožněno 55,5 % případů a bez textilního sorbentu tomu tak bylo v 51,8 % případů.

K falešnému značení došlo v případě varianty s textilním sorbentem v 5 případech z celkového počtu 12 neztotožněných řad. V testování varianty bez textilního sorbentu došlo k falešnému značení v 8 případech z celkového počtu 13 neztotožněných řad.

## 5.1 Statistické zhodnocení výsledků

Při vyhodnocení experimentu byly brány v potaz pouze dvě možné varianty řešení při pachové identifikaci a to, zda pes cílový vzorek ztotožnil či neztotožnil. Přičemž do varianty neztotožnění cílového vzorku jsou započítány reakce, při kterých pes neoznačil žádnou z pachových konzerv a nebo označil špatnou pachovou konzervu. Počet možných výběrů se rovnal celkovému počtu postů v řadě. K statistickému vyhodnocení bylo použito binomické rozdělení. Pravděpodobnost náhodného označení správného pachu psem byla  $1 / X$ , kde  $X$  je definován jako počet postů + 1, neboť hledaný pach byl v pachové řadě vždy přítomen. Stejně tak pravděpodobnost nesprávné odpovědi byla  $(X - 1) / X$ , kde číselník označuje počet distraktorů a je dělen celkovým počtem postů (Rosner, 2006). Pravděpodobnost menší než 0,01 byla považována za významně odlišnou od náhody. K statistické analýze byl použit program Exact Binomial Probability Calculator (Lowry, 2013).

Vypočítaná pravděpodobnost byla menší než 0,01, a tedy se při ztotožňování nejednalo o náhodu. Byla tak potvrzena hypotéza, že psi jsou schopni ztotožnit pach cílové osoby z bukálních stěrů mezi klamnými.

K vyhodnocení, zda existuje rozdíl mezi vzorky uskladněnými s textilním sorbentem či bez něj byla použita procedura FREQ v programu SAS 9.4. Při výpočtu  $\chi^2$  testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  byla testována nulová hypotéza, která zní tak, že neexistuje rozdíl mezi porovnávanými metodami.

Hodnota  $\chi^2$  testu vychází 0,0745. Výsledná hodnota  $\chi^2$  testu byla porovnána s tabulkovou hodnotou pro stupně volnosti  $sv = 1$  a hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$ . Vypočítaná hodnota  $\chi^2$  testu byla menší než tabulková hodnota, a proto nelze zamítnout nulovou hypotézu. Nebyl tedy prokázán rozdíl v úspěšnosti ztotožnění mezi oběma metodami uskladnění. Základní hypotéza, že psi budou mít větší úspěšnost při ztotožňování cílového pachu, který byl uskladněn s textilním sorbentem v pachové konzervě, byla tak vyvrácena.

U dat uspořádaných v kontingenční tabulce lze vypočítat charakteristiku zvanou poměr šancí (odds ratio). Při výpočtu poměru šancí, bylo zjištěno, že šance psa ztotožnit pach z bukálního stěru, který byl uskladněn na textilním sorbentu byla 1,1607x větší než šance ztotožnit pach z bukálního stěru samostatně uskladněného v pachové

konzervě.

statistika	stupně volnosti	hodnota	pravděpodobnost
$\chi^2$ test	1	0,0745	0,7849
$\phi$ koeficient		0,0371	
poměr šancí		1,1607	

*Tabulka 3: Statistická tabulka vytvořená dle programu SAS 9.4 (autor, 2017).*

## 6 Diskuze

V tomto experimentu byly poprvé použity vzorky bukálních stěrů jako zdroj pachu v řadě. V předchozích experimentech, které se zabývaly bukálním stěrem jako zdrojem individuálního pachu, byly bukální stěry vždy použity pouze jako načichávací pachy a byly komparovány s pachy odebranými z těla.

Tyto experimenty potvrdily, že bukální stěry lze využívat jako zdroj individuálního pachu pro psy speciálně cvičené na metodu pachové identifikace osob, což bylo potvrzeno i tímto experimentem.

Vzorky bukálních stěrů byly od cílových osob nabírány přibližně s měsíčním odstupem, aby byly minimalizovány vlivy terciárních a sekundárních pachů.

Identifikace cílového pachu ze vzorků bukálních stěrů byla pro psy ve většině případů velice náročná. Byl zpozorován trend, při němž u prvních pokusů psi, kteří měli ztotožňovat pach z rukou s pachem z bukálního stěru, dopadli spíše neúspěšně. V mnoha případech bylo patrné jak velmi se snažili najít v řadě pachových konzerv správný pach, ale byli neúspěšní. V takto neúspěšných případech bylo zapotřebí po samotném experimentu, pro správné motivování psa, umístit do řady pach odebraný z těla nebo rukou, tedy odebraný takovým způsobem, na který jsou z tréninku zvyklí, a tudíž je pro ně snadněji identifikovatelný. V tomto případě doposud neúspěšný pes uspěl a mohl být tak odměněn. Je nutné podotknout, že v prvních fázích experimentu byli někteří psi po pachové komparaci bukálních stěrů znatelně vyčerpáni. Je tedy zřejmé, že se v případě tohoto experimentu jedná o experiment s vyššími nároky, které jsou na psy vynakládány.

Při druhém, případně třetím ztotožňování již byly výsledky psů podstatně lepší, ale přesto žádný z nich nedokázal ztotožnit všechny následující pachy bez chyb. Nikdy však nenastala situace, kdy by cílová osoba nebyla ztotožněna ani jedním psem. Jedna cílová osoba, jejíž bukální stěr byl uskladněn na textilním sorbentu, byla ztotožněna pouze ve dvou řadách z celkových devíti. Dva psi ji byli schopni ztotožnit pouze při třetím opakování a jednomu psu se ztotožnění nepodařilo vůbec. Mohlo se tedy jednat o osobu slabě vylučující individuální pach.

Na druhou stranu se v obou variantách uskladnění vyskytla vždy jedna cílová

osoba, která byla ztotožněna v sedmi případech z devíti. Tyto osoby mohou být tedy naopak považovány za extrémní vylučovače pachu.

V okamžiku, kdy psi nebyli schopni ztotožnit pach, se v mnoha případech stávalo, že u posledních sklenic v pachové řadě si zkoušeli sedat a označit pach v řadě. Předpokládá se, že když pes neví, na jakém postu se hledaný pach nachází, zkouší někdy označovat poslední sklenice v řadě, proto aby dostal odměnu.

Dvě ze čtyř fen nedokázaly ztotožnit v polovině případů pach cílové osoby ani v jednom ze tří opakování. Na druhou stranu další dvě ztotožnily každou cílovou osobu minimálně v jednom opakování. Každý pes pravděpodobně využívá jiný soubor molekul k individuální identifikaci. Tento fenomén je označován jako multiplicita pachové signatury (Lněničková et al., 2017). V tomto případě se tedy nabízí otázka, zda u neztotožněných cílových osob pes používal k identifikaci cílového vzorku soubor molekul z pachu z rukou, který se ve vzorku bukálního stěru nenacházel. To je doloženo studií Brown et al. (2013), která tvrdí, že molekuly pachu odebraného z rukou a ze slin jsou specifické pro daný vzorek a od sebe se výrazně odlišují.

Ostatní dvě feny, které cílovou osobu ztotožnily alespoň v jednom případě, mohou využívat soubor molekul k identifikaci individuálního pachu, který se vždy nalézá jak ve vzorcích odebraných z rukou, tak v bukálních stěrech.

Psi si museli na nízkou koncentraci pachu z bukálních stěrů pravděpodobně zvykat, a to především při čichání varianty, v níž byly bukální stěry samy v pachové konzervě. Bukální stěr samostatně uskladněný v pachové konzervě byl v poměru k velikosti pachové konzervy značně malý, pro tento účel uskladnění by stačila mnohem menší sklenice, například taková, která slouží k uskladnění skleněných kuliček. Z malých sklenic jsou psi schopni načichávat, ale doposud nebyli nikdy cvičeni na pachovou komparaci pachových vzorků umístěných v malých sklenicích v řadě. Dále by bylo nutné nechat vyrobit nové speciální stojany na tyto malé sklenice. Z tohoto důvodu byla zvolena metoda uskladnění bukálního vzorku ve velkých pachových konzervách.

Zdá se, že obě porovnávané metody uskladnění neměly větší význam na výkonnost psů. V obou případech byla úspěšnost psů při ztotožnění lehce nadpoloviční. Hypotéza, že vzorky uskladněné s textilním sorbentem budou psy lépe ztotožněny se tak nepotvrdila. To však mohlo být zapříčiněno nedostatečným rozsahem statistických dat.

Dle výsledků této studie bylo potvrzeno, že psi jsou schopni ztotožnit pachové

vzorky bukálních stěrů s pachovým vzorkem z rukou. Výsledky by však nebyly dostačující, kdyby mělo jít o důkaz u soudu. V tomto případě je vyžadována téměř 100% úspěšnost při identifikaci všech vzorků, aby důkaz obstál (Jezierski, 2016).

Využití bukálních stěrů v pachové řadě je pro psy mnohem náročnější než použití bukálních stěrů při načichání. Při pachové komparaci musí mít pes načichaný pach uložen v paměti a porovnat ho s každým pachem v řadě pachových konzerv. Při využití pachů se slabší intenzitou v řadě jsou pak nároky na psa kladené vyšší než v případě použití pachů odebraných z těla, na které jsou psi zvyklí.

Ač je na psy a jejich čichové schopnosti vyvíjen neustálý tlak při vykonávání veškerých experimentů, lze konstatovat, že tento byl extrémně náročný. V případě opakování tohoto experimentu by bylo zapotřebí, aby si psi delší dobu zvykali na pach bukálních stěrů v pachové řadě. Při častějším trénování a tím pádem opětovném setkávání psů s takto slabým zdrojem pachu, by bylo možné, že by psi dosahovali vyrovnanějších výsledků.

V tomto experimentu byly použity pro jednotnost pachů vzorky odebrané pouze od mužů stejné věkové kategorie. Zopakování experimentu se vzorky odebranými od žen by mohlo přinést jiné výsledky, neboť složení těkavých organických látek ve vzorcích slin je u mužů a u žen rozdílné (Brown et al., 2013).

Výkonnost psů při pachové identifikaci prováděné na vzorcích bukálních stěrů by mohlo vylepšit předchozí vysušení či zamražení daných vzorků, které by pach mohlo lépe uchovat a zabránit degradaci pachu. Zamražení vzorků slin zabraňuje degradaci molekul a bakteriálnímu růstu (Chiappin et al., 2007).

Kvůli vysoké náročnosti kladené na psy při pachové komparaci bukálních stěrů v pachové řadě v tomto experimentu lze doporučit, aby bukální stěry byly využívány pouze jako načichávací vzorky.



## 7 Závěr

Psi speciálně cvičení na metodu pachové identifikace byli schopni ztotožnit pach odebraný z rukou se vzorky bukálních stěrů, které byly umístěny v pachové řadě. Bylo tedy potvrzeno, že bukální stěry osob jsou dostatečně intenzivním zdrojem individuálního lidského pachu, aby mohly sloužit k pachové identifikaci.

Mezi dvěma porovnávanými způsoby uskladnění bukálních stěrů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Vzorky uskladněné společně s textilním sorbentem byly ztotožněny v 55,5 % případů a vzorky, které byly uskladněny bez textilního sorbentu byly ztotožněny v 51,8 % případů. Je tedy na první pohled viditelné, že oba porovnávané soubory od sebe nevykazovaly větší rozdíl. Hypotéza číslo 1 byla tedy potvrzena, avšak hypotéza číslo 2 byla vyvrácena.

Přestože pach bukálního stěru umístěného v řadě je dostatečně intenzivním zdrojem pachu k pachové identifikaci, byl tento experiment pro psy velmi náročný. Pro případné další experimenty je tedy třeba doporučit, aby pach bukálního stěru byl psům prezentován spíše jako načichávací vzorek. Zároveň by bylo dobré otestovat úspěšnost psů speciálně cvičených na metodu pachové identifikace při ztotožňování zamražených bukálních stěrů.

## 8 Seznam použité literatury

- Agapiou, A., Zorba, E., Mikedi, K., McGregor, L., Spiliopoulou, C. 2015. Analysis of Volatile Organic Compounds Released from the Decay of Surrogate Human Models Simulating Victims of Collapsed Buildings by Thermal Desorption–Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography–Time of Flight Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 883, 99–108.
- Auffarth, B. 2013. Understanding smell - The olfactory stimulus problem. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37, 1667–1679.
- Bainbridge, D. 2016. The Anatomy of the Canine Nose. In: Jezierski, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 5-16. ISBN: 978-1-4822-6027-4.
- Barrios, A. W., Sánchez-Quinteiro, P., Salazar, I. 2014. Dog and Mouse: Toward a Balanced View of the Mammalian Olfactory System. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8(106), 1-7.
- Bernier, U. R., Kline, D. L., Bernard, D., Schreck, C., Yost, R. A. 2000. Analysis of Human Skin Emanations by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 72, 747-756.
- Breer, H., Fleischer, J., Strotmann, J. 2006. The Sense of Smell: Multiple Olfactory Subsystems. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63, 1465-1475.
- Brisbin, I. R., Austad, S. N. 1991. Testing the Individual Odour Theory of Canine Olfaction. *Animal Behaviour*, 42, 63-69.
- 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*, 226, 173–182.
- Chamanza, R., Wright, J. A., 2015. A Review of the Comparative Anatomy, Histology, Physiology and Pathology of the Nasal Cavity of Rats, Mice, Dogs and Non-human Primates. Relevance to Inhalation Toxicology and Human Health Risk Assessment. *Journal of Comparative Pathology*, 153, 287-314.
- Chiappin, A., Antonelli, G., Gatti, R., De Palo, E. F. 2007. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta* 383, 30 – 40.
- Colón-Crespo, L. J., Herrera-Hernández, Holness, H., Furton, K. G. 2016. Determination of VOC Marker Combinations for the Classification of Individuals by Gender and Race/Ethnicity. *Forensic Science International*, xxx, xxx–xxx.
- Curran, A. M., Rabin, S. I., Furton, K. G. 2005. Analysis of the Uniqueness and

Persistence of Human Scent. *Forensic Science Communications*, 7(2), 1-20.

Curran, A. M., Ramirez, C. F., Schoon, A. A., Furton, K. G. 2007. The frequency of occurrence and discriminatory power of compounds found in human scent across a population determined by SPME-GC/MS. *Journal of Chromatography B*, 846, 86–97.

Curran, A. M., Prada, P. A., Furton, K. G. 2010. Canine human scent identifications with post-blast debris collected from improvised explosive devices. *Forensic Science International* 199, 103–108.

Cuzuel, V., Cognon, G., Rivals, I., Sauleau, C., Heulard, F., Thiébaud, D., Vial, J. 2017. Origin, Analytical Characterization, and Use of Human Odor in Forensics. *Journal of Forensic Science*.  
doi: 10.1111/1556-4029.13394.

Čihák, R. 2002. *Anatomie 2*. Grada Publishing. Praha. p. 488. ISBN: 80-247-0143-X.

Čihák, R. 2004. *Anatomie 3*. Grada Publishing. Praha. p. 692. ISBN: 80-247-1132-X.

Dawes, C., Pedersen, A. M. L., Villa, A. Ekström, J. Proctor, G. B., Vissink, A. Aframian, D. McGowan, R., Aiko, A., Narayana, N., Sia, Y. W., Joshi, R. K., Jensen, S. B., Kerr, A. R., Wolff, A. 2015. The Functions of Human Saliva: A Review Sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Archives of Oral Biology*, 60, 863 – 874.

DeGreef, E. L., Curran, A. M., Furton, K. G. 2011. Evaluation of selected sorbent materials for the collection of volatile organic compounds related to human scent using non-contact sampling mode. *Forensic Science International*, 209, 133 - 142.

DeGreef, E. L., 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.

DeMaria, S., Ngai, J., 2010. The cell biology of smell. *The Journal of Cell Biology*, 191(3), 443-452.

Dennis, J. C., Allgier, J. G., Desouza, L. S., Eward, W. C., Morrison, E. E. 2003. Immunohistochemistry of the Canine Vomeronasal Organ. *Journal of Anatomy*, 202, 515-524.

Doležal, P., Cinková, P., Benediktová, K., Urban, Š., Lněničková, J., Pinc, L. 2016. Molekulová skladba pachové signatury člověka. *Kriminalistika*, 3, 200-210.

Eastwood, B., 1990. Beagles beg contraband foodstuffs. *Dog World*, 75 (8), 144-149.

Fischer-Tenhagen, C. F., Wetterholm, L. Tenhagen, B. A., Heuwer, W. 2011. Training Dogs on a Scent Platform for Oestrus Detection in Cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 131, 63–70.

Fischer-Tenhagen, C., Tenhagen, B. A., Heuwieser, W. 2013. Short Communication: Ability of Dogs to Detect Cows in Estrus from Sniffing Saliva Samples. *Journal of Dairy Science* 96, 1081–1084.

Fuss, S. H., Omura, M., Mombaerts, P. 2005. The Grueneberg Ganglion of the Mouse Projects Axons to Glomeruli in the Olfactory Bulb. *European Journal of Neuroscience*, 22, 2649–2654.

Gallagher, M., Wysocki, C. J., Leyden, J. J., Spielman, A. I., Sun, X., Preti, G. 2008. Analyses of Volatile Organic Compounds from Human Skin. *British Journal of Dermatology*, 159, 780–791.

Georgevsky, D., Carrasco, J. J., Valenzuela, M. McGreevy, P. D. 2006. Domestic Dog Skull Diversity across Breeds, Breed Groupings, and Genetic Clusters. *Journal of Veterinary Behavior*, 9, 228-234.

Haberly, L. B. 2001. Parallel-distributed Processing in Olfactory Cortex: New Insights from Morphological and Physiological Analysis of Neuronal Circuitry. *Chemical Senses*, 26(5), 551-576.

Horowitz, A., Hecht, J., Dedrick, A. 2013. Smelling More or Less: Investigating the Olfactory Experience of the Domestic Dog. *Learning and Motivation*, 44, 207– 217.

Hudson, D. T., Curran, A. M., Furton, K. G. 2009. The Stability of Collected Human Scent Under Various Environmental Conditions. *Journal of Forensic Sciences*, 54(6), 1-8.

Jenkins, S. H. 2004. Can Police Dogs Identify Criminal Suspects by Smell? In: Jenkins, S. H. *How Science Works: Evaluating Evidence in Biology and Medicine*. Oxford University Press. pp. 36-52. ISBN: 0-19-515894-6.

Jia, H., Pustovyy, O. M., Waggoner, P., Beyers, R. J., Schumacher, J., Wildey, C., Barrett, J., Morrison, E., Salibi, N., Denney, T. S., Vodyanoy, V. J., Deshpande, G. 2014. Functional MRI of the Olfactory System in Conscious Dogs. *PLoS ONE* 9(1): e86362. doi:10.1371/journal.pone.0086362.

Jezierski, T. 2016. Scent Line-Ups: Variables in Procedures and Statistical Verification. In: Jezierski, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 71-86. ISBN: 978-1-4822-6027-4.

Johnen, D., Heuwieser, W., Fischer-Tenhagen. 2013. Canine scent detection - Fact or Fiction?. *Applied Animal Behaviour Science*, 148, 201 - 208.

Kloubek, M. Pinc., L. Santariová, M., Vyplelová, P., Čapková, Z. 2015. Parní sterilizace a lidský pach. *Kriminalistika*, 48 (4), 275 - 283.

Kusano, M., Mendez, E., Furton, K. G. 2011. Development of Headspace SPME Method for Analysis of Volatile Organic Compounds Present in Human Biological Specimens. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400, 1817–1826.

Lazarowski, L., Corman, D. C., 2014. Explosives detection by military working dogs: Olfactory generalization from components to mixtures. *Applied Animal Behaviour Science*, 151, 84–93.

Lněničková, J., Doležal, P., Cinková, P., Vypelová, P., Pinc, L., Vyhnálek, O., Škeříková, V., Urban, Š. 2017. Vlastnosti pachové stopy a multiplicita pachové signatury. *Kriminalistický sborník*, 2, 60-66.

Lowry, R. Appendix to Chapter 5: Exact to Binomial Probability Calculator [online]. 2013. [cit.2017-03-03]. Dostupné z <http://www.vassarstats.net/textbook/ch5apx.html>.

Machová, L. 2016. Schopnost speciálně vycvičených psů detekovat lidský pach dlouhodobě vystavený různým povětrnostním podmínkám. Diplomová práce. Česká Zemědělská Univerzita.

Marchal, S., Bregeras, O., Puaux, P., Gervais, R., Ferry B., 2016. Rigorous Training of Dogs Leads to High Accuracy in Human Scent Matching-To-Sample Performance. *PLoS ONE* 11(2): e0146963.  
doi:10.1371/journal.pone.0146963.

Mendoza, A. de, Sebé-Pedrós, A., Ruiz-Trillo, I. 2014. The Evolution of the GPCR Signaling System in Eukaryotes: Modularity, Conservation, and the Transition to Metazoan Multicellularity. *Genome Biology and Evolution*, 6(3), 606–619.

Mochalski, P., Unterkofler, K., Teschl, G., Amann, A. 2015. Potential of Volatile Organic Compounds as Markers of Entrapped Humans for Use in Urban Search-and-Rescue Operations. *Trends in Analytical Chemistry*, 68, 88–106.

Moore, P. A. 2016. Aerodynamics of Odor Plumes and Odor Plume Structures in Different Habitats. In: Jezierski, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 87-102. ISBN: 978-1-4822-6027-4.

Mori, K., Yoshihara, Y. 1995. Molecular Recognition and Olfactory Processing in the Mammalian Olfactory System. *Progress in Neurobiology*, 45, 585-619.

Moser, E., McCulloch, M., 2010. Canine Scent Detection of Human Cancers: A Review of Methods and Accuracy. *Journal of Veterinary Behavior*, 5, 145-152.

Najbrt, R., Červený, Č., Kaman, J., Mikyska, E., Štarha, O., Štěrba, O. 1980. *Veterinární Anatomie 1*. Státní Zemědělské nakladatelství. Praha. p. 524. ISBN: 07-097-80.

- Nicolaides, N. 1974. Skin lipids: Their biochemical uniqueness. *Science*. 186(4158): 19-26.
- Olender, T., Fuchs, T., Linhart, C., Shamir, R., Adams, M., Kalush, F., Khen, M., Lancet, D. 2003. The Canine Olfactory Subgenome. *Genomics*, 83, 361 – 372.
- Park, H. S., Shin, D. S., Cho, D. H., Jung, Y. W., Park, J. S. 2014. Improved Sectioned Images and Surface Models of the Whole Dog Body. *Annals of Anatomy*, 196, 352–359.
- Pemberton, N. 2013. The bloodhound's nose knows? dogs and detection in Anglo-American culture. *Endeavour* , Vol. 37 No. 4. 198- 208.
- Prada. P. A., Curran, A. M., Furton, K. G. 2010. Comparison of Extraction Methods for Removal of Volatile Organic Compounds (VOCs) Present in Sorbents Used for Human Scent Evidence Collection. *Analytical Methods*, 2(5), 470-478.
- Procházková, D. 2002. Mikroextrakce na tuhou fázi a stnovení obsahu analytů. *Chemické listy*, 96, 827-852.
- Quignon, P., Rimbault, M., Robin, S., Galibert, F. 2012. Genetics of Canine Olfaction and Receptor Diversity. *Mammalian Genome*, 23, 132-143.
- Quignon, P., Galibert, F. 2016. Genetics of Canine Olfaction. In: Jezierski, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 39-48. ISBN: 978-1-4822-6027-4.
- Rosner, B. (2006). *Fundamentals of Biostatistics*. Belmont, 7. ed. CA: Thomson – Books/Cole. pp. 868. ISBN: 10-0-538-73349-7.
- Rudnicka, J., Buszewski, B. 2016. The Development of Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Its Uses in Odor Analysis. In: Jezierski, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 71-86. ISBN: 978-1-4822-6027-4.
- Santariová, M., Písaříková, A., Kloubek, M., Vyplelová, P., Pinc, L. 2012. Schopnost psů identifikovat lidský pach poté, co byl vystaven působení proudící vody. *Bezpečnostní teorie a praxe*. Zvláštní číslo, 2. díl., s. 355-365
- Santariová M., Pinc L., Bartoš L., Vyplelová P., Gerneš J., Sekyrová V. 2016. Resistance of Human odours to extremely high temperature as revealed by trained dogs. *Czech Journal of Animal Science*, 61 (4), 172–176.
- Schoon, A., Fjellanger, R., Kjeldsen, M., Goss, K. U. 2014. Using Dogs to Detect Hidden Corosion. *Applied Animal Behaviour Science*, 153, 43-52.

- Schoon G. A. A., De Bruin, J. C. 1994. The ability of dogs to recognize and cross-match human odours. *Forensic Science International* , 69, 111-118.
- Schoon, G. A. A. 1996. Scent Identification Lineups by Dogs (*Canis familiaris*): Experimental Design and Forensic Application. *Applied Animal Behaviour Science* 49, 257-267.
- Schoon, G. A. A. 2005. The Effect of the Ageing of Crime Scene Objects on the Results of Scent Identification Line-ups Using Trained Dogs. *Forensic Science International* 147, 43–47.
- Schoon, G. A. A., Fjellanger, R., Kjeldsen, M., Goss, K. U. 2014. Using Dogs to Detect Hidden Corrosion. *Applied Animal Behaviour Science*, 153, 43–52.
- Settle, R. H., Sommerville, B. A., McCormick, J., Broom, D. M. 1994. Human Scent Matching Using Specially Trained Dogs. *Animal Behaviour*, 48, 1443-1448.
- Settles, G. S., Kester, D. A., Dodson-Dreibelbis, L. J. 2002. The External Aerodynamics of Canine Olfaction. In: Barth, F. G., Humphrey, J. A. C., Scomb, T. W. (eds.). *Sensors and Sensing in Biology and Engineering*. Springer. Vienna & NY. 1-13.
- Siniscalchi, M. 2016. Olfaction and Canine Brain. In: Jeziński, T., Ensminger, J., Papet, L. E. (eds.). *Canine Olfaction Science and Law*. CRC Press. p. 31-38. ISBN: 978-1-4822-6027-4.
- Stockham, R. A., Slavin, D. L., Kift, W. 2004. Specialized Use of Human Scent in Criminal Investigations. *Forensic Science Communications*, 6(3), 1-12.
- Straus, J., Kloubek, M. 2008. Aktuální otázky kriminalistické olfaktoriky. *Kriminalistika*. Roč. 41, č. 3, s. 204 - 221.
- Taverna, G., Tidu, L., Grizzi, F., Torri, V., Mandressi, A., Sardella, P., La Torre, G., Cociolone, G., Seveso, M., Giusti, G., Hurle, R., Santoro, A., Graziotti, P. 2015. Olfactory System of Highly Trained Dogs Detects Prostate Cancer in Urine Samples. *Journal of Urology*, 193(4), 1382-7.
- Vyplelová, P., Vokálek, V., Pinc, L., Pacáková, Z., Bartoš, L., Santariová, M., Čapková, Z. 2013. Individual Human Odor Fallout as Detected by Trained Canines. *Forensic Science International*, 234. 13-15.
- Walczak, M., Jeziński, T., Górecka-Bruzda, A., Sobczynska, M., Ensminger, J. 2012. Impact of individual training parameters and manner of taking breath odor samples on the reliability of canines as cancer screeners. *Journal of Veterinary Behavior*, 7, 283-294.
- Zeng, X. N., Leyden, J. J., Spielman, A. I., and Preti, G. 1996. Analysis of Characteristic Human Female Axillary Odors: Qualitative Comparison to Males. *Journal of Chemical Ecology*, 22(2), 237-257.

## 9 Seznam použitých zkratek

GPCR - G protein-coupled receptor (receptor spřažený s G proteinem)

MPI - metoda pachové identifikace

SPME-GC/MS - solid phase microextraction - gas chromatography/mass spectrometry  
(mikroextrakce tuhou fází - plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií)

VNO - vomeronasální orgán

VOC - volatile organic compound (těkavá organická látka)

TNZ - test náhodné zajímavosti