

**Katarzyna Zakrzewska**

*Centrum Nauk Sądowych, Uniwersytet Warszawski*

ORCID 0000-0002-4962-8662

## MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA ANALIZY MIKROBIOMÓW W KRYMINALISTYCE

### **Streszczenie**

W artykule przybliżono możliwości zastosowania mikrobiologii sądowej w sprawach innych niż zagrożenie biologiczne i bioterroryzm. Zastosowania ograniczono do drobnoustrojów obecnych praktycznie wszędzie, w charakterystycznych zbiorowiskach, nazywanych mikrobiomami. Zaprezentowano zagadnienie identyfikacji osobniczej, rozszerzone o analizę „bakteryjnych odcisków palców”, czyli charakterystycznych dla każdego człowieka zbiorowisk bakterii. Omówiono potencjał lokalizacji przestępstw, w tym typowania miejsc ukrycia zwłok na podstawie badań glebowych mikrobiomów. Scharakteryzowano związane z tym możliwe sposoby eliminacji podejrzanych, a także opisano metodę szacowania czasu zgonu na podstawie badań mikrobiomów zwłok i gleby w bezpośrednim ich sąsiedztwie. Praca przeglądowa miała na celu zestawienie najczęstszych badań zagranicznych, prowadzonych pod kątem wykorzystania społeczności drobnoustrojów w praktyce sądowej, i próbę przedstawienia obiecujących perspektyw na łamach polskiego czasopisma kryminalistycznego, gdyż w naszym kraju temat wydaje się niedostatecznie zgłębiany.

**Słowa kluczowe:** mikrobiom, drobnoustroje, identyfikacja osobnicza, miejsce zdarzenia, czas zgonu

### **Wprowadzenie**

Mikrobiologia jest nauką, którą zestawia się z kryminalistyką dużo rzadziej niż inne dziedziny (np. genetykę czy chemię). Jej najbardziej rozpowszechnione i prawdopodobnie pierwsze zastosowanie na szeroką skalę w naukach penalnych dotyczy zwalczania bioterroryzmu, szczególnie wymienia się tutaj incydent z 2001 r. w Stanach Zjednoczonych. Do kilku miejsc zostały wysłane paczki zawierające laseczki wąglika w charakterze broni biologicznej. Skutkiem tych działań była śmierć pięciu osób i zainfe-

kowanie siedemnastu, w związku z czym FBI otworzyło śledztwo i zwróciło się o pomoc do Instytutu Badań Genomowych (ang. The Institute of Genomic Research) w Rockville w celu analizy śladów mikrobiologicznych. Przebadane zarodniki zostały po latach powiązane z naukowcem pracującym w rządowym laboratorium w Maryland, który popełnił samobójstwo, gdy tylko stał się podejrzany<sup>1</sup>. Z kolei w standardowo prowadzonych dochodzeniach i śledztwach mikrobiologia sądowa ustępuje dziedzinom, które na tej płaszczyźnie zyskały dużo większą przydatność i pewność informacyjną, tak jak np. wspomniana na początku genetyka. Istotą zastosowania danej dyscypliny w kryminalistyce jest możliwość uzyskania dzięki niej informacji, które mogą zostać wykorzystane w postępowaniach sądowych. Wskazuje się tutaj na wartość diagnostyczną i idącą za nią wartość dowodową. Aby zaproponowana metoda badawcza miała wysoką wartość diagnostyczną, powinna się charakteryzować trafnością i rzetelnością, co ustala się na podstawie wyników badań eksperymentalnych. Metody trafne to takie, które dostarczają pożądaną informację, a rzetelne – odznaczają się dokładnością. Ekspertyzy sądowe wykorzystujące metody o wysokiej wartości diagnostycznej i zaaprobowane przez wymiar sprawiedliwości są z punktu widzenia kryminalistyki badaniami o wysokiej wartości dowodowej<sup>2</sup>. Mimo mniejszej popularności badania mikrobiologiczne, ze względu na obiecującą wartość dowodową, mogą się okazać w przyszłości znacząco bardziej przydatne.

Zostawiając temat bioterroryzmu, sądowe wykorzystanie mikrobiologii można odnieść do pojęcia mikrobiomu. Ów termin został po raz pierwszy użyty przez Joshuę Lederberga. Za jego pomocą opisał ekologiczny system mikroorganizmów przebywających w ludzkim organizmie<sup>3</sup>. Dzisiaj mikrobiomem nazywa się ogół drobnoustrojów zasiedlających dane środowisko. Należą do nich bakterie, grzyby, wirusy i archeony. Tworzą go również wzajemne powiązania i interakcje ze środowiskiem, w którym bytują drobnoustroje, a także ich charakterystyczne genomy i proteomy. Jest to uwarunkowane ewolucyjnym zasiedlaniem przez mikroorganizmy coraz to nowszych niszy ekologicznych, które dzięki temu cechują się indywidualnym zbiorem mikroflory. Różnorodności mikrobiomów ludzi i innych zwierząt

<sup>1</sup> National Institute of Justice, *The Forensic Microbiome: The Invisible Traces We Leave Behind*, June 7, 2021, <https://nij.ojp.gov/topics/articles/forensic-microbiome-invisible-traces-we-leave-behind> (dostęp: 30.01.2023 o godz. 14.00).

<sup>2</sup> A. Domin-Kuźma, *Wartość diagnostyczna i wartość dowodowa badań DNA*, „Przegląd Bezpieczeństwa Wewnętrznego” 2012, nr 4(7), s. 77–78.

<sup>3</sup> J. Lederberg, A.T. McCray, *Ome Sweet 'Omics – A genealogical treasury of words*, „The Scientist” 2001, nr 15(7), s. 8.

sprzyja bezpośrednie oddziaływanie poszczególnych gatunków między sobą, a także z terenem, na którym bytują<sup>4</sup>.

Mówiąc o człowieku, nie można określać całego ciała jako jednej niszy ekologicznej. Poszczególne jego części i organy wewnętrzne stwarzają diametralnie różne warunki, które sprzyjają zasiedlaniu odmiennych gatunków drobnoustrojów. Zazwyczaj wyróżnia się mikrobiom skóry, jamy ustnej, układu oddechowego, przewodu pokarmowego i moczowo-płciowego. Już sama skóra na określonych jej częściach charakteryzuje się swoistą różnorodnością. Obecność wybranych gatunków warunkują różnice anatomiczne, poziom wilgotności czy rozmieszczenie gruczołów łojowych. Obszary takie jak pachwiny charakteryzują się wyższą temperaturą i wilgotnością, co sprzyja występowaniu drobnoustrojów rozwijających się w warunkach typowych dla pałeczek Gram-ujemnych czy *Staphylococcus aureus*. Z kolei skóra twarzy i pleców, bogata w gruczoły łojowe, jest środowiskiem dla bakterii lipofilnych, np. *Propionibacterium* spp. Warto również nadmienić, że części ciała „odsłonięte” i podatne na różnego rodzaju działania atmosferyczne, czyli ramiona i nogi, nie są w takim samym stopniu bogate w mikroorganizmy<sup>5</sup>.

W artykule omówiono potencjał mikrobiomów w kontekście poszerzenia badań kryminalistycznych, skupiono się na identyfikacji osobniczej, lokalizowaniu miejsc przestępstw na podstawie śladów mikrobiologicznych i metodzie szacowania czasu zgonu. Celem pracy było zestawienie najczęściej wymienianych w literaturze zagranicznej zastosowań analizy mikrobiomów w naukach sądowych i próba spopularyzowania ich w Polsce, gdyż badania tego typu nie są prowadzone na szeroką skalę w naszym kraju.

### **Bakteryjny odcisk palca**

W ujęciu kryminalistycznym szczególną uwagę należy poświęcić mikrobiomowi skóry, który jest charakterystyczny dla każdego człowieka<sup>6</sup>. Ten fakt może sprzyjać poszerzeniu badań prowadzących do jeszcze efektywniejszej identyfikacji indywidualnej. Najbardziej rozpowszechnionymi badaniami tego typu są badania genetyczne; w ich ramach identyfikacja osobnicza oparta jest na analizie krótkich fragmentów DNA, tzw. sekwencji

<sup>4</sup> Z. Gliński, K. Kostro, *Mikrobiom – charakterystyka i znaczenie*, „Życie Weterynaryjne” 2015, nr 90(07), s. 446.

<sup>5</sup> M. Malinowska, B. Tokarz-Deptuła, W. Deptuła, *Mikrobiom człowieka*, „Postępy Mikrobiologii” 2017, nr 56(1), s. 34.

<sup>6</sup> P. Tozzo, G. D’Angiolella, P. Brun, I. Castagliuolo, S. Gino, L. Caenazzo, *Skin microbiome analysis for forensic human identification: what do we know so far?*, „Microorganisms” 2020, nr 8(6), s. 2.

mikrosatelitarnych (STR), zlokalizowanych w chromosomach autosomalnych. Przeprowadza się również analizę zmienności chromosomu X lub Y oraz rutynowo mitochondrialnego DNA<sup>7</sup>. Na miejscu zdarzenia potencjalny sprawca niejednokrotnie pozostawia po sobie ślady biologiczne w postaci materiału genetycznego, który może być ujawniony, zabezpieczony i przebadany przez biegłych, a następnie wykorzystany w danej sprawie. Na podobnej zasadzie odbywa się pozostawianie śladów mikrobiologicznych. Nisza ekologiczna, jaką jest ludzka skóra, miesza się z otoczeniem. Przykładowo po dotknięciu jakiejś powierzchni na miejscu zdarzenia mikroby bytujące dotychczas na ciele potencjalnego sprawcy zostają na danej powierzchni, a te pozostające dotąd na miejscu zdarzenia przenoszą się na jego ciało. Udowodnili to między innymi Meadow i in., porównując próbki pobrane od osób biorących udział w badaniu z próbkami pozyskanymi z przedmiotów na sali lekcyjnej<sup>8</sup>. Ten mechanizm przywodzi na myśl zasadę wymiany Edmonda Locarda, a wręcz książkowo ją przedstawia.

Różnice w mikrobiomach między ludźmi wynikają z cech osobniczych takich jak wiek i płeć, np. odmiennosc między kobietami a mężczyznami jest skutkiem różnego rodzaju hormonów wydzielanych przez ich organizmy<sup>9</sup>. Jako istotne czynniki wymienia się także obecność lub brak chorób i ogólną kondycję zdrowotną<sup>10</sup>. Oprócz predyspozycji osobniczych wpływ mają również warunki środowiskowe, czyli dieta, relacje międzyludzkie, zawód danej osoby, stosowane przez nią kosmetyki czy noszona odzież. Zwraca się też uwagę na przyjmowane leki, przede wszystkim antybiotyki, które mają działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne<sup>11</sup>. Jak już wcześniej zostało wspomniane, w zróżnicowaniu wykazano wpływ dwukierunkowy; podczas gdy drobnoustroje środowiskowe mogą wpływać na mikrobiom ludzi spędzających czas w danym miejscu, ludzie także pozostawiają mikroby bytujące na powierzchni ciała w otaczającym ich środowisku, zmieniając przy tym jego mikrobiom<sup>12</sup>.

<sup>7</sup> B. Hołyst, *Kryminalistyka*, wyd. 13, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2018, s. 460–462.

<sup>8</sup> J.F. Meadow, A.E. Altrichter, S.W. Kembel, M. Moriyama, T.K. O'Connor, A.M. Womack, G.Z. Brown, J.L. Green, B. Bohannan, *Bacterial communities on classroom surfaces vary with human contact*, „Microbiome” 2014, nr 2(7), <https://link.springer.com/article/10.1186/2049-2618-2-7> (dostęp: 05.02.2023 o godz. 15.40).

<sup>9</sup> M. Malinowska, B. Tokarz-Deptuła, W. Deptuła, op. cit., s. 34.

<sup>10</sup> R.C. Casarin, A. Barbagallo, T. Meulman, V.R. Santos, E.A. Sallum, F.H. Nociti, P.M. Duarte, M.Z. Casati, R.B. Gonçalves, *Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis*, „Journal of Periodontal Research” 2013, nr 48, s. 30–36.

<sup>11</sup> M. Malinowska, B. Tokarz-Deptuła, W. Deptuła, op. cit., s. 34.

<sup>12</sup> S. Fujiyoshi, D. Tanaka, F. Maruyama, *Transmission of airborne bacteria across built environments and its measurement standards: A review*, „Frontiers in Microbiology” 2017, nr 8, s. 2336.

Z uwagi na te przesłanki analiza mikrobiologiczna może pozwolić na zróżnicowanie ludzi na podstawie ich mikrobiomów i przyczynić się do indywidualnej identyfikacji człowieka. Zdecydowanie mogą w tym pomóc badania nad zbiorowiskami drobnoustrojów związanych z człowiekiem, takie jak *Human Microbiome Project*<sup>13</sup>. Wykazano, że nawet bliźnięta jednojajowe są siedliskiem zasadniczo różnych społeczności drobnoustrojów<sup>14</sup>, co sugeruje, że zbiorowe genomy mikroorganizmów zasiedlających ludzkie ciało mogą pozwolić na dokonanie bardziej sprecyzowanej identyfikacji niż indywidualne DNA. Stopień zróżnicowania mikrobiomu skóry zależy jednak od selektywności taksonomicznej przeprowadzanej analizy. U wszystkich ludzi można zidentyfikować charakterystyczne gromady występujące na skórze, co nie jest szczególnie pomocne w kwestii rozróżniania poszczególnych osób. Gdy jednak weźmie się pod uwagę rodzaj, gatunek i szczep populacji, indywidualizacja jest na tyle wysoka, że dorównuje badaniom daktyloskopijnym<sup>15</sup>.

Na przestrzeni lat badacze starali się wykazać możliwość powiązania podejrzanego z dowodem w śledztwie na podstawie molekularnej analizy materiału mikrobiologicznego pobranego od typowanej osoby i z powierzchni badanego przedmiotu. Jak wykazali Ziemińska-Buczyńska i Kraśnicki, w 9 na 14 badanych przez nich przypadków próbki mikrobiomu pobranego z urządzenia mobilnego były podobne do próbek pozyskanych z naskórka od ich użytkowników (współczynnik Dice'a >70%)<sup>16</sup>. Podobne doświadczenia przeprowadzili Fierer i in., którzy opisali wysokie podobieństwo między bakteriami obecnymi na klawiaturach używanych przez badane osoby i na opuszkach ich palców. Udowodnili również, że przedmiot należący do właściciela (w tym przypadku mysz komputerowa) zasiedlają bakterie, które są właściwe w głównej mierze jemu. W tym celu użyli bazy danych mikrobiomów z dłoni 240 osób; spośród 9 pobranych z przedmiotów próbek wszystkie wykazały największe podobieństwo z próbkami pobranymi od ich właścicieli<sup>17</sup>.

<sup>13</sup> P.J. Turnbaugh, R.E. Ley, M. Hamady, C.M. Fraser-Liggett, R. Knight, J.I. Gordon, *The Human Microbiome Project*, „Nature” 2007, nr 449.7164, s. 804–810.

<sup>14</sup> P. J. Turnbaugh, M. Hamady, T. Yatsunenko, B.L. Cantarel, A. Duncan, R.E. Ley, M.L. Sogin, W.J. Jones, B.A. Roe, J.P. Affourtit, M. Egholm, B. Henrissat, A.C. Heath, R. Knight, J.I. Gordon, *A core gut microbiome in obese and lean twins*, „Nature” 2009, nr 457, s. 480–484.

<sup>15</sup> M. Oliveira, A. Amorim, *Microbial forensics: New breakthroughs and future prospects*, „Applied Microbiology and Biotechnology” 2018, nr 102, s. 10385.

<sup>16</sup> A. Ziemińska-Buczyńska, K. Kraśnicki, *Zastosowanie metody PCR-DGGE w mikrobiologii sądowej*, „Problemy Kryminalistyki” 2016, nr 292, s. 15–21.

<sup>17</sup> N. Fierer, C.L. Lauber, N. Zhou, D. McDonald, E.K. Costello, R. Knight, *Forensic identification using skin bacterial communities*, „Proceedings of the National Academy of Sciences” 2010,

Sądowa analiza mikrobiologiczna może nieść więcej potencjalnych korzyści niż analiza daktyloskopijna czy sekwencjonowanie DNA, np. ślad w postaci linii papilarnych nie zawsze może być wartościowym dowodem, a czasem w ogóle nie jest obecny (stosowanie rękawiczek, zacieranie śladów). Rozmazane lub tylko częściowe odbitki nieraz utrudniają analizę, a nawet mogą ją całkowicie przekreślić. Z podobnych powodów analiza mikrobiomów może uzupełniać klasyczne badania genetyczne. Gdy dostępne są tylko próbki o niskiej biomasy lub zdegradowane, uniemożliwiające uzyskanie pełnego profilu STR, być może łatwiej wyizolować DNA bakterii pochodzących od potencjalnego sprawcy niż jego własne DNA. Assenmacher, Fields i Crupper udowodnili w swoich badaniach, że śladowe ilości bakteryjnego DNA z odcisków palców są wystarczające do analizy mikrobiomu<sup>18</sup>.

Ślady mikrobiologiczne są obiecującym źródłem spekulacji pozwalających na identyfikację osoby, która miała styczność z miejscem zdarzenia. Jak już wcześniej zostało wspomniane, na mikrobiom wpływa szereg czynników zarówno środowiskowych, jak i osobniczych. Ten fakt może zostać wykorzystany do wytypowania osoby mającej kontakt z powierzchnią, z której została pobrana próbka. Ying i in. wykazali, że na podstawie próbek pobranych z różnych części ciała badanych można wnioskować o wieku, płci i o tym, czy dana osoba mieszka w środowisku wiejskim lub miejskim<sup>19</sup>.

Zebrane w ten sposób informacje mogłyby pomóc w wykluczeniu podejrzanych i nakierowaniu śledztwa lub dochodzenia na właściwe tory. Perspektywa rozwoju nowej techniki identyfikacyjnej, która byłaby wiarygodna w takim samym stopniu jak obecnie cieszące się zaufaniem badania, jest istotną kwestią zarówno dla wymiaru sprawiedliwości, jak i dla samej kryminalistyki.

### **Mikrobiom środowiskowy**

Badania w zakresie mikrobiologii środowiskowej wykazały, że istnieje wiele drobnoustrojów, które są powszechne w wodzie i glebie, a ich gatunki

---

nr 107(14), s. 6477–6481.

<sup>18</sup> D.M. Assenmacher, S.D. Fields, S.S. Crupper, *Comparison of commercial kits for recovery and analysis of bacterial DNA from fingerprints*, „Journal of Forensic Sciences” 2020, nr 65(4), s. 1310–1314.

<sup>19</sup> S. Ying, D.-N. Zeng, Y. Tan, C. Galzote, C. Cardona, S. Lax, J. Gilbert, Z.X. Quan, *The influence of age and gender on skin-associated microbial communities in urban and rural human populations*, „PloS one” 2015, nr 10(10), e0141842. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0141842> (dostęp: 09.02.2023 o godz. 20.00).

i szczepy różnią się w zależności od regionu<sup>20</sup>. Analiza gleby, polegająca na rozpoznaniu jej składu zarówno pod kątem materii nieożywionej, jak i ożywionej, może dostarczyć wielu wartościowych dowodów. Zaletą gleby jest bowiem jej zdolność przylegania i utrzymywania się na wielu powierzchniach, np. butach, oponach czy narzędziach. Tak samo jak w przypadku próbek pochodzących od człowieka, glebę można badać pod kątem profilu jej mikrobiomu, którego struktura jest zdeterminowana przez kilka czynników, np. typ gleby, zmienność sezonową, pokrywę roślinną i warunki środowiskowe<sup>21</sup>.

Finley i in. wykazali, że mikrobiom gleby ulega zmianie w sąsiedztwie rozkładających się zwłok. Różnorodność taksonomiczna próbek gleby dla zwłok rozkładających się na powierzchni wzrasta wykładniczo, podczas gdy ten sam trend dla próbek z gleby, w której zwłoki zostały zakopane, przybiera kształt litery U. Ponadto badacze ci potwierdzili, że *Proteobacteria* to najliczniejsza gromada we wszystkich próbkach gleby grobowej, a w próbkach powierzchniowych, wraz z postępującym rozkładem, zmniejsza się liczebność *Acidobacteria*, wzrasta zaś *Firmicutes*<sup>22</sup>. Zmiany te można wykorzystać jako biologiczne wskazówki w lokalizowaniu potencjalnych miejsc pochówku poprzez badanie gleby na wytypowanym obszarze. W związku z tym lepsze zrozumienie struktury społeczności drobnoustrojów glebowych i ich zmian w czasie rozkładu może być istotne dla kryminalistyki.

Badania wskazują także, że próbki z różnych lokalizacji można odróżnić od siebie na podstawie ich mikrobiomów. W ostatnich latach Habtom i in. wykorzystali polimorfizm długości końcowych fragmentów restrykcyjnych (TRFLP) do scharakteryzowania profili DNA drobnoustrojów w trzech rodzajach gleby, w skali lokalnej i regionalnej (2 m – 260 km). Wykazali, że profile DNA drobnoustrojów glebowych pozwalają na wyciągnięcie wniosków na temat położenia geograficznego źródła próbki w przybliżeniu do co najmniej 25 m niezależnie od rodzaju gleby i warunków środowiskowych. Stwierdzili także, że dla zróżnicowania mikrobiomu położenie geograficzne

<sup>20</sup> J. Zhang, W. Liu, H. Simayijiang, P. Hu, J. Yan, *Application of microbiome in forensics*, „Genomics, Proteomics & Bioinformatics” 2022, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1672022922000961> (dostęp: 10.10.2023 o godz. 8.20).

<sup>21</sup> N.S. Grantham, B.J. Reich, K. Pacifici, E.B. Laber, H.L. Menninger, J.B. Henley, A. Barberán, J.W. Leff, N. Fierer, R.R. Dunn, *Fungi identify the geographic origin of dust samples*, „PloS one” 2015, nr 10(4), e0122605. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0122605> (dostęp: 10.10.2023 o godz 10.20).

<sup>22</sup> S.J. Finley, J.L. Pechal, M.E. Benbow, B.K. Robertson, G.T. Javan, *Microbial signatures of cadaver gravesoil during decomposition*, „Microbial Ecology” 2016, nr 71, s. 524–529.

jest ważniejsze niż rodzaj gleby<sup>23</sup>. Podobne badania również sugerują, że drobnoustroje glebowe mogą dostarczyć wskazówek co do źródła zabezpieczonych próbek. Yang i in. za pomocą sekwencjonowania genu 16S rRNA w 529 próbkach pobranych z 61 dystryktów dziesięciu głównych miast w Chinach określili profile mikrobiomów, które następnie przypisali do określonych dzielnic i miast z dokładnością wynoszącą odpowiednio 66,7% i 90%<sup>24</sup>. Tego typu wnioski są niezwykle obiecujące w kontekście poszerzania badań kryminalistycznych. Przykładowo pobranie wymazów z łopaty, która mogła posłużyć za narzędzie przy przestępnym grzebaniu zwłok, pozwoli uzyskać ślad mikrobiologiczny; ten zaś po analizie zostanie powiązany z miejscem ukrycia ciała.

Tworzenie wielu baz danych mikrobiomu glebowego i opracowywanie algorytmów uczenia maszynowego mogłoby zapewnić dużo efektywniejsze rezultaty. Obiecujący wydaje się *The Earth Microbiome Project* (EMP), który ma na celu normalizację metod badawczych i gromadzenie danych dotyczących próbek z różnych typów gleby zebranych na całym świecie<sup>25</sup>. Z kolei przykładem zastosowania uczenia maszynowego są badania Granthama i in., którzy użyli algorytmu DeepSpace do analizy bazy danych zawierającej ponad 1300 profili mikrobiomów kurzu. Swoje badania odnieśli do rozważań wcześniej wspomnianego Edmonda Locarda, który już w latach trzydziestych ubiegłego wieku interesował się tym zagadnieniem. Analizując tylko grzyby zawarte w kurzu, przedstawiony przez nich algorytm wytypował lokalizację kraju próbki z dokładnością sięgającą prawie 90%<sup>26</sup>.

Przegląd dotychczasowych prac badawczych skupionych na mikrobiomie środowiskowym i powiązaniu ich z bazami danych pozwala wysnuć wniosek, że stwarzają one nowe możliwości co do ustalenia lokalizacji przestępstw wszelkiego rodzaju.

<sup>23</sup> H. Habtom, Z. Pasternak, O. Matan, C. Azulay, R. Gafny, E. Jurkevitch, *Applying microbial biogeography in soil forensics*, „Forensic Science International: Genetics” 2019, nr 38, s. 195–203.

<sup>24</sup> T. Yang, Y. Shi, J. Zhu, C. Zhao, J. Wang, Z. Liu, X. Fu, X. Liu, J. Yan, M. Yuan, H. Chu, *The spatial variation of soil bacterial community assembly processes affects the accuracy of source tracking in ten major Chinese cities*, „Science China Life Sciences” 2021, nr 64, s. 1546–1559.

<sup>25</sup> J.A. Gilbert, J.K. Jansson, R. Knight, *The Earth Microbiome project: Successes and aspirations*, „BMC Biology” 2014, nr 12, s. 69.

<sup>26</sup> N.S. Grantham, B.J. Reich, E.B. Laber, K. Pacifici, R.R. Dunn, N. Fierer, M. Gebert, J.S. Allwood, S.A. Faith, *Global forensic geolocation with deep neural networks*, arXiv, 2019, 1905.11765, <https://arxiv.org/abs/1905.11765> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 10.00).



### Szacowanie czasu zgonu

W sprawach dotyczących śmierci człowieka istotne z punktu widzenia kryminalistyki, oprócz rozpoznania zdarzenia i generalnie odpowiedzi na wszystkie „siedem złotych pytań” (co? gdzie? kiedy? w jaki sposób? dlaczego? jakimi środkami? kto?), jest ustalenie czasu, jaki minął od zgonu do znalezienia zwłok. Ta informacja jest jedną z kluczowych dla ustaleń wersji śledczych i zajmuje się nią w głównej mierze medycyna sądowa. Do określenia tego przedziału czasowego stosuje się szereg cenionych i wystandaryzowanych metod. Prym wiedzie pomiar temperatury zwłok, badanie plam opadowych i stężenia pośmiertnego. Wymienione sposoby znajdują zastosowanie krótko po śmierci, gdyż z czasem dokonanie tych analiz staje się niemożliwe lub informacje wynikające z nich są zupełnie nieprzydatne<sup>27</sup>. Powodem jest fakt, że zwłoki stopniowo rozkładają się pod wpływem bakterii, na ogół saprofitycznych. Ten proces zaliczany jest do późnych znamion pośmiertnych i określany mianem gnicia. Równocześnie w tkankach stopniowo gromadzą się gazy, które są produktami procesu rozkładu (dwutlenek węgla, siarkowodór, metan, amoniak). Rozpoznanie czasu śmierci w późnych stadiach gnicia może być znacząco utrudnione lub nawet niemożliwe<sup>28</sup>. Kolejną przeszkodą jest niezdatność innych technik szacowania czasu zgonu, np. entomologii sądowej w przypadku znalezienia zwłok w środowisku, w którym owady nie występują ze względu na nieprzyjazne dla nich warunki<sup>29</sup>. Nasuwa to potrzebę wyodrębnienia innych metod, które będą mogły dopełniać lub nawet zastępować te stosowane dotychczas.

Zaobserwowano, że ilość bakterii gnilnych i produktów procesu rozkładu zmienia się w czasie według pewnych wzorców, co pozwala na oszacowanie momentu zgonu na podstawie składu mikrobiomu zwłok i gleby w bezpośrednim sąsiedztwie<sup>30</sup>. Wśród ssaków są one nieco podobne i powtarzalne<sup>31</sup>, stąd większość prac wykorzystuje modele zwierzęce do przeprowadzania badań. Między innymi zastosowali je Metcalf i in., którym za modele posłużyły myszy. Próbkę mikrobiomów zebrali z brzucha, grzbietu i głowy

<sup>27</sup> R. Prabucki, *Czas zgonu w kontekście nauk penalnych*, „Zeszyty Naukowe Ruchu Studenckiego” 2016, nr 1, s. 27–36.

<sup>28</sup> G. Teresiński, *Medycyna sądowa*, t. 1, PZWL, Warszawa 2019, s. 128–129.

<sup>29</sup> H. Volckaert, *Current applications and limitations of forensic entomology*, „Themis: Research Journal of Justice Studies and Forensic Science”, t. 8, Article 4, s. 9–10.

<sup>30</sup> J.L. Pechal, T.L. Crippen, M.E. Benbow, A.M. Tarone, S. Dowd, J.K. Tomberlin, *The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing*, „International Journal of Legal Medicine” 2014, nr 128, s. 193–205.

<sup>31</sup> J.L. Metcalf, *Estimating the postmortem interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption*, „Forensic Science International: Genetics” 2019, nr 38, s. 211–218.

zwierząt, a także z gleby w ich bezpośrednim sąsiedztwie. W ten sposób za pomocą analizy drobnoustrojów oszacowali czas zgonu ze średnim błędem bezwzględnym wynoszącym około trzech dni na przestrzeni 48 dni. Najniższy błąd uzyskali w przypadku próbek pobranych ze skóry głowy<sup>32</sup>. Inne badania, tym razem na czterech zwłokach ludzkich, przeprowadziły badaczki DeBruyn i Hauther, które w odstępach czasowych kilkakrotnie pobierały próbki z jelita ślepego. Sekwencjonowanie amplikonu genu 16S rRNA ujawniło, że z czasem liczba gatunków bakterii znacznie wzrosła, podczas gdy ich różnorodność się zmniejszyła i dominowały konkretne gatunki. Wyniki wykazały, że liczebność drobnoustrojów z rzędu *Bacteroidales* zmalała w czasie, przeciwnie do występowania przedstawicieli rzędu *Clostridiales* i klasy *Gammaproteobacteria*, którzy byli liczniejsi<sup>33</sup>. Już wcześniej podobną zależność zaobserwowali Hauther, Cobaugh, Jantz, Sparer i DeBruyn. Na podstawie próbek mikrobiomów jelitowych z 12 zwłok wykazali, że liczebność *Bacteroides* i *Lactobacillus* spada wykładniczo wraz z postępem rozkładu ciała, udowadniając w ten sposób potencjalną przydatność ilościowych badań bakterii z tego rodzaju do szacowania czasu zgonu<sup>34</sup>.

Perspektywa przytoczonych badań zdaje się obiecująca, ale na mikrobiom pośmiertny może mieć wpływ kilka czynników, które nie zostały jeszcze do końca przebadane, m.in. obecność owadów żerujących na zwłokach<sup>35</sup> czy pora roku<sup>36</sup>. W swoich wnioskach badacze są zgodni, że ta metoda szacowania czasu zgonu wymaga jeszcze doprecyzowania i dalszych analiz. Nie zmienia to faktu, że mikroorganizmy, podobnie jak owady żerujące na zwłokach, mogą być dobrym wskaźnikiem przy szacowaniu czasu zgonu.

<sup>32</sup> J.L. Metcalf, L. Wegener Parfrey, A. Gonzalez, C.L. Lauber, D. Knights, G. Ackermann, G.C. Humphrey, M.J. Gebert, W.V. Treuren, D. Berg-Lyons, K. Keepers, Y. Guo, J. Bullard, N. Fierer, D.O. Carter, R. Knight, *A microbial clock provides an accurate estimate of the post-mortem interval in a mouse model system*, „*elife*” 2013, nr 2, e01104, <https://elifesciences.org/articles/1104> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 12.03).

<sup>33</sup> J.M. DeBruyn, K.A. Hauther, *Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects*, „*PeerJ*” 2017, 5, e3437, <https://peerj.com/articles/3437/> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 14.00).

<sup>34</sup> K.A. Hauther, K.L. Cobaugh, L.M. Jantz, T.E. Sparer, J.M. DeBruyn, *Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities*, „*Journal of Forensic Sciences*” 2015, nr 60(5), s. 1234–1240.

<sup>35</sup> J.L. Pechal, T.L. Crippen, M.E. Benbow, A.M. Tarone, S. Dowd, J.K. Tomberlin, op. cit., s. 193–205.

<sup>36</sup> J.L. Pechal, T.L. Crippen, A.M. Tarone, A.J. Lewis, J.K. Tomberlin, M.E. Benbow, *Microbial community functional change during vertebrate carrion decomposition*, „*PloS one*” 2013, nr 8(11), e79035, <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079035> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 19.30).

Zdecydowanie wśród zalet można wymienić ich wszechobecność niezależnie od pory roku i przeżywalność w ekstremalnych warunkach.

### **Podsumowanie**

Drobnoustroje towarzyszą nam przez całe życie i były „świadkami” każdego przestępstwa; ten fakt sprzyja wykorzystaniu ich przez człowieka. W końcu, czy tego chcemy czy nie, jako ludzie dążymy do adaptacji naszego otoczenia na swoją korzyść. Naturalną koleją rzeczy jest rozwój w tym kierunku. Badania nad drobnoustrojami i perspektywa wdrożenia ich do codziennej praktyki kryminalistycznej jest zachęcająca, ale powszechne ich wykorzystanie wymaga większego nakładu pracy naukowców z całego świata.

Wyniki prowadzonych prac badawczych przedstawione statystycznie oraz dowody na to, że „bakteryjny odcisk palca” można zastosować do rozróżnienia osób, sugerują, iż w przyszłości możliwe będzie wykorzystanie tych profili do badań kryminalistycznych. Jednakże identyfikacja osobnicza na podstawie mikrobiomu nigdy nie powinna zastępować tradycyjnych technik profilowania DNA czy daktyloskopii, może ona jedynie pomóc rozszerzyć istniejące opcje dowodowe. Podobnie sprawa wygląda w kwestii analiz środowiska pod tym kątem czy szacowania czasu zgonu. Mikrobiologia sądowa nie może zastąpić badań fizykochemicznych, traseologicznych ani klasycznych metod medycyny sądowej. Powinna być ona traktowana jako rozszerzenie obecnych procedur, które samo z siebie ma już dużo zalet. Jak wiadomo – im więcej potwierdzających i zgodnych badań, tym wiarygodniejsza jest przedstawiona wersja. Zastępowanie sprawdzonych metod byłoby usprawiedliwione, a nawet pomocne, jedynie w przypadku braku innych śladów.

Po dokładnym zgłębieniu natury mikrobiomów i opracowaniu efektywnych metod należałoby pomyśleć o zastosowaniu ich w praktyce. Będzie to wymagało znacznych inwestycji w standaryzację i wdrożenie technik analizy profili mikrobiomów, a także rozwój technik ujawniania i zabezpieczania śladów mikrobiologicznych, które mogłyby zautomatyzować lub przyspieszyć profilowanie w ten sposób. Do badań porównawczych należałoby utworzyć nieustannie aktualizowane bazy danych. Mimo że jest wiele do zrobienia, wprowadzenie nowego typu badań może okazać się skuteczną metodą podwyższenia wskaźnika wyjaśnianych spraw i zmniejszenia liczby przestępstw w Polsce.

## Bibliografia

### Literatura

- Assenmacher D.M., Fields S.D., Crupper S.S., *Comparison of commercial kits for recovery and analysis of bacterial DNA from fingerprints*, „Journal of Forensic Sciences” 2020, nr 65(4).
- Casarin R.C., Barbagallo A., Meulman T., Santos V.R., Sallum E.A., Nociti F.H., Duarte P.M., Casati M.Z., Gonçalves R.B., *Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis*, „Journal of Periodontal Research” 2013, nr 48.
- Domin-Kuźma A., *Wartość diagnostyczna i wartość dowodowa badań DNA*, „Przegląd Bezpieczeństwa Wewnętrznego” 2012, nr 4(7).
- Fierer N., Lauber C.L., Zhou N., McDonald D., Costello E.K., Knight R., *Forensic identification using skin bacterial communities*, „Proceedings of the National Academy of Sciences” 2010, nr 107(14).
- Finley S.J., Pechal J.L., Benbow M.E., Robertson B.K., Javan G.T., *Microbial signatures of cadaver gravesoil during decomposition*, „Microbial Ecology” 2016, nr 71.
- Fujiyoshi S., Tanaka D., Maruyama F., *Transmission of airborne bacteria across built environments and its measurement standards: A review*, „Frontiers in Microbiology” 2017, nr 8.
- Gilbert J.A., Jansson J.K., Knight R., *The Earth Microbiome project: Successes and aspirations*, „BMC Biology” 2014, nr 12.
- Gliński Z., Kostro K., *Mikrobiom – charakterystyka i znaczenie*, „Życie Weterynaryjne” 2015, nr 90(07).
- Habtom H., Pasternak Z., Matan O., Azulay C., Gafny R., Jurkevitch E., *Applying microbial biogeography in soil forensics*, „Forensic Science International: Genetics” 2019, nr 38.
- Hauther K.A., Cobaugh K.L., Jantz L.M., Sparer T.E., DeBruyn J.M., *Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities*, „Journal of Forensic Sciences” 2015, nr 60(5).
- Holyst B., *Kryminalistyka*, wyd. 13, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2018.
- Lederberg J., McCray A.T., *Ome Sweet Omics – A genealogical treasury of words*, „The Scientist” 2001, nr 15(7).
- Malinowska M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W., *Mikrobiom człowieka*, „Postępy Mikrobiologii” 2017, nr 56(1).
- Metcalf J.L., *Estimating the postmortem interval using microbes: Knowledge gaps and a path to technology adoption*, „Forensic Science International: Genetics” 2019, nr 38.

- Oliveira M., Amorim A., *Microbial forensics: New breakthroughs and future prospects*, „Applied Microbiology and Biotechnology” 2018, nr 102.
- Pechal J.L., Crippen T.L., Benbow M.E., Tarone A.M., Dowd S., Tomberlin J.K., *The potential use of bacterial community succession in forensics as described by high throughput metagenomic sequencing*, „International Journal of Legal Medicine” 2014, nr 128.
- Prabucki R., *Czas zgonu w kontekście nauk penalnych*, „Zeszyty Naukowe Ruchu Studenckiego” 2016, nr 1.
- Tozzo P., D’Angiolella G., Brun P., Castagliuolo I., Gino S., Caenazzo L., *Skin microbiome analysis for forensic human identification: What do we know so far?*, „Microorganisms” 2020, nr 8(6).
- Teresiński G., *Medycyna sądowa*, t. 1, PZWL, Warszawa 2019.
- Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenکو T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I., *A core gut microbiome in obese and lean twins*, „Nature” 2009, nr 457.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I., *The Human Microbiome Project*, „Nature” 2007, nr 449.7164.
- Volckaert H., *Current applications and limitations of forensic entomology*, „Themis: Research Journal of Justice Studies and Forensic Science”, t. 8, Article 4.
- Yang T., Shi Y., Zhu J., Zhao C., Wang J., Liu Z., Fu X., Liu X., Yan J., Yuan M., Chu H., *The spatial variation of soil bacterial community assembly processes affects the accuracy of source tracking in ten major Chinese cities*, „Science China Life Sciences 2021, nr 64.
- Ziemińska-Buczyńska A., Kraśnicki K., *Zastosowanie metody PCR-DG-GE w mikrobiologii sądowej*, „Problemy Kryminalistyki” 2016, nr 292.

### **Źródła internetowe**

- DeBruyn J.M., Hauther K.A., *Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects*, „PeerJ” 2017, 5, e3437, <https://peerj.com/articles/3437/> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 14.00).
- Grantham N.S., Reich B.J., Laber E.B., Pacifici K., Dunn R.R., Fierer N., Gebert M., Allwood J.S., Faith S.A., *Global forensic geolocation with deep neural networks*, arXiv, 2019, 1905.11765. <https://arxiv.org/abs/1905.11765> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 10.00).
- Grantham N.S., Reich B.J., Pacifici K., Laber E.B., Menninger H.L., Henley J.B., Barberán A., Leff J.W., Fierer N., Dunn R.R., *Fungi identify the geographic origin of dust samples*, „PloS one” 2015, nr 10(4), e0122605,

- <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0122605> (dostęp: 10.10.2023 o godz. 10.20).
- Meadow J.F., Altrichter A.E., Kembel S.W., Moriyama M., O'Connor T.K., Womack A.M., Brown G.Z., Green J.L., Bohannon B., *Bacterial communities on classroom surfaces vary with human contact*, „Microbiome” 2014, nr 2(7), <https://link.springer.com/article/10.1186/2049-2618-2-7> (dostęp: 05.02.2023 o godz. 15.40).
- Metcalf J.L., Wegener Parfrey L., Gonzalez A., Lauber C.L., Knights D., Ackermann G., Humphrey G.C., Gebert M.J., Treuren W.V., Berg-Lyons D., Keepers K., Guo Y., Bullard J., Fierer N., Carter D.O., Knight R., *A microbial clock provides an accurate estimate of the postmortem interval in a mouse model system*, „eLife” 2013, nr 2, e01104. <https://elifesciences.org/articles/1104> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 12.03).
- National Institute of Justice, *The Forensic Microbiome: The Invisible Traces We Leave Behind*, June 7, 2021, [nij.ojp.gov](https://nij.ojp.gov/topics/articles/forensic-microbiome-invisible-traces-we-leave-behind), <https://nij.ojp.gov/topics/articles/forensic-microbiome-invisible-traces-we-leave-behind> (dostęp: 30.01.2023 o godz. 14.00).
- Pechal J.L., Crippen T.L., Tarone A.M., Lewis A.J., Tomberlin J.K., Benbow M.E., *Microbial community functional change during vertebrate carrion decomposition*, „PloS one” 2013, nr 8(11), e79035, <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079035> (dostęp: 13.02.2023 o godz. 19.30).
- Ying S., Zeng D.-N., Tan Y., Galzote C., Cardona C., Lax S., Gilbert J., Quan Z.X., *The influence of age and gender on skin-associated microbial communities in urban and rural human populations*, „PloS one” 2015, nr 10(10), e0141842. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0141842> (dostęp: 09.02.2023 o godz. 20.00).
- Zhang J., Liu W., Simayijiang H., Hu P., Yan J., *Application of microbiome in forensics*, „Genomics, Proteomics & Bioinformatics” 2022, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1672022922000961> (dostęp: 10.10.2023 o godz. 8.20).

**Konflikt interesów**

Brak

**Źródło finansowania**

Brak