

解决法医学问题的新工具：微生物群落

黎伟涵¹, 邓世雄^{*1,2}

1 重庆医科大学法医学教研室, 重庆 400016

2 重庆医科大学法医学与生物医学信息研究室, 重庆 400016

黎伟涵, 邓世雄. 解决法医学问题的新工具：微生物群落[J]. 微生物学通报, 2022, 49(11): 4860-4868

Li Weihang, Deng Shixiong. A new tool for tackling challenges in forensic medicine: microbial community[J]. Microbiology China, 2022, 49(11): 4860-4868

摘要：生物痕迹往往成为刑事侦查案件中的突破口，比如在涉及个人识别、嫌疑人追踪或者死亡时间(postmortem interval, PMI)等法医学问题上，生物源性证据往往发挥着至关重要的作用。目前，许多传统的法医学方法仍在沿用，但研究者们试图发现新的法医学工具，以此来弥补传统方法的不足或者为法医学实践增加新的思路和方法。得益于测序技术的发展，研究者们发现机体内外的微生物数量要远远超过细胞的数量，它们在地点溯源、个人识别、死亡时间的推断、生物犯罪及环境保护等方面均有着不小的应用价值。本文对这方面的研究进展进行了介绍。

关键词：法医学；高通量测序；微生物群落；肠道微生物

A new tool for tackling challenges in forensic medicine: microbial community

LI Weihang¹, DENG Shixiong^{*1,2}

1 Department of Forensic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

2 Laboratory of Forensic Medicine & Biomedical Informatics, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: Biometric traces are regularly utilized as a breakthrough in criminal investigations, such as the forensic challenges concerning personal identification, suspect tracking, or postmortem interval (PMI), and biogenic evidence is frequently used. In spite of the numerous conventional techniques in forensic medicine, scholars have been sparing no efforts to create new instruments in light of the

基金项目：重庆市自然科学基金(cstc2021jcyj-msxmX0485)

Supported by: Chongqing Natural Science Foundation (cstc2021jcyj-msxmX0485)

*Corresponding author: E-mail: dengshixiong@cqmu.edu.cn

Received: 2022-04-10; Accepted: 2022-06-09; Published online: 2022-08-03

limitations of available methods or for the benefit of practitioners in this field. Thanks to the advancement of sequencing technology, it has been found that the microorganisms inside and outside the body far outnumber the cells, which have high value in location tracing, personal identification, inference of PMI, biocrime, and environmental protection. In this paper, the research progress in this area is described.

Keywords: forensic medicine; high-throughput sequencing; microbial community; gut microbes

得益于测序技术的发展, 人们逐渐发现无论是海洋^[1]、陆地^[2]、动物^[3]还是植物^[4], 都存在着大量的微生物, 它们具有漫长的发展历史, 在地球上已经发展了大约 40 亿年^[5], 甚至细菌被很多研究认为是真核细胞的祖先, 而且人类的大部分基因组也是起源于微生物^[6-7]。微生物不仅数量庞大, 而且功能多样, 无时无刻不在影响着动植物的生命活动^[8-9], 而且与它们的营养、代谢、免疫、疾病等有着密切的联系^[10-13]。例如, 研究发现幽门螺旋杆菌的活动变化与胃部炎症、胃癌等消化道疾病密切相关^[14-15]。据估计, 人体内的微生物数量超过 100 万亿, 绝大部分储存在消化道中, 比人类细胞数量多 10 倍以上, 而且它们编码的基因比人类基因组多 100 倍以上^[16-17]。微生物数量如此庞大, 并且在地球的每一个角落都能存在, 甚至见证了真核生命的更迭、进化与发展, 从某种意义上讲, 微生物是这个星球上当之无愧的“统治者”。

自 Sanger 在 1975 年第一次介绍了测序的概念^[18], 测序技术已经发展了 40 多年。当年, Sanger 和 Coulson 首次引入了一种利用 DNA 聚合酶来确定单链 DNA 的核苷酸序列的测序技术^[19], 此方法中的 DNA 聚合酶是来自肠杆菌的 DNA 聚合酶 I 和噬菌体 T4 的 DNA 聚合酶, 并同时通过丙烯酰胺凝胶离子电泳对产物进行分离, 用该方法可以确定一种噬菌体 DNA 中的两条序列。1977 年, Maxam 等介绍了一种利用化学程序和聚丙烯酰胺凝胶电泳读取 DNA 核

苷酸序列的方法^[20]。后来经过一系列的自动化乃至商业化的发展^[21-23], 第一代测序技术日渐成熟并被用于重要的测序工作, 其中具有代表性的便是高达 29.1 亿碱基对的人类常染色体基因组序列的测定^[24]。后来, 基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术来扩增 DNA 片段可以放大 DNA 片段的荧光标记信号, 二代测序技术逐渐代替了之前的测序技术。测序通量从之前的一个反应只能得到一个读长的序列飞涨到数亿个碱基的原始序列, 又被称为高通量测序, 代表性的有 Illumina 的 MiSeq/HiSeq 测序平台等^[25], 极大程度地提高了测序效率并降低了测序成本。目前, 第三代测序已经实现可以对单个 DNA 分子直接测序, 而且不再需要 PCR 扩增^[26]。

1 微生物的法医学用途

法医学侦查过程中常需要寻找关键的生物痕迹来追踪与案件相关的嫌疑人, 如指纹、混合斑, 或者与嫌疑人相关的印痕等。根据目前已有的研究结果, 微生物在法医学的人体生物样本溯源、个人识别、追踪人员活动环境、死亡原因及死亡时间(postmortem interval, PMI)推断等方面都有重要的应用潜力^[27-29]。在传统手段基础上, 微生物为法医学应用补充了新的技术和方法。

1.1 微生物与案发地点的溯源

在某些固定的机体或者环境中, 微生物群

落似乎存在某些核心的特征, 这些特征与微生物宿主的饮食、作息或者生存环境密切相关, 抑或是某些环境中的特定因素造就了具有地点分布特征的微生物群落^[30]。这些微生物群落在与“外来者”相交互动后在新的机体或环境中被保存下来, 并在一段时间内于新的生存环境中保留自身原来的特征^[28]。上述微生物特性如果被系统化地利用, 那么在刑事案件的侦查中, 若在嫌疑人身上发现了与案发现场类似的微生物群落特征, 在一定程度上可以合理猜想嫌疑人到过案发现场。另外, 比如水中打捞起的尸体, 通过分析其体内外的浮游微生物特征, 与不同水域之间的微生物特征比对, 可以获取其溺死的具体位置信息。曾经有研究在广州珠江水域建立不同的采样点, 利用高通量测序技术并结合动物实验, 结果证明水域中不同采样地点的微生物构成存在差异, 动物实验发现肺组织和水样中硅藻的一致性虽然不足以成为诊断溺死的必要条件, 但对推断溺死的地点具有重要的价值^[31]。因此可以推测, 在寻找无名尸体或者非第一案发现场尸体的第一案发现场案例中, 微生物可能具有重要的应用潜力。

1.2 微生物与个人识别

法医学中个人识别主要依靠生物样本, 如指纹、毛发、体液及组织等。目前最常用的方法是提取生物检材中的 DNA 信息, 然后与相关人员的 DNA 信息进行比对, 以此确认生物检材的来源个体。生物检材多种多样, 微生物自然也不例外。不同人群和地点的微生物群落组成和功能存在差异, 接触过程中都可能发生微生物的交换, 而独特的微生物类群可能与个人身份相关, 可以用来识别其来源宿主, 这表明了其在法医个人识别鉴定中的巨大潜力^[32-33]。2015年, Franzosa 等的一项研究发现, 个人的微生物组可以在超过 100 人的群体中特异性地

识别出其来源宿主, 并且肠道微生物组的表现非常稳定, 可以在一年以后仍然精准定位超过 80% 的个体^[34]。

2017年, Schmedes 等介绍了一种使用皮肤微生物组标记开发的名为“hidSkinPlex”的目标测序方法用于个人识别, 采用“hidSkinPlex”对 8 个人体的 3 个部位(足、手和胸骨柄)的皮肤微生物群落进行分析, 并溯源其宿主, 结果准确率高达 92% (足)、96% (手)和 100% (胸骨柄); 所有的样本, 无论来自哪个部位都能以 94% 的准确度正确分类, 并且预测身体部位来源的准确度达到了 86%^[35]。另外, 在前不久的一项研究中, 研究者采集了 50 名年龄在 20-50 岁之间且 2 个月内无抗生素使用史参与者的唾液和口腔黏膜样本, 利用 16S rRNA 基因测序, 发现 93.3% 的测试样本可以根据微生物差异采用随机森林模型进行正确分类, 52% 的实验参与者可以通过种分类水平上独特的低丰度细菌来进行区分, 研究结论认为每个人都有独特的细菌群落模式, 并且独特的细菌和口腔微生物群的核心组成差异是法医个人鉴别的关键点^[36]。

目前, 微生物用于个人识别的潜力已经得到证明。在生物痕迹的 DNA 被破坏或者难以找到 DNA 检材时, 微生物是一个很好的补充。问题在于微生物即使被证明在个人识别上有不低的准确度, 但是受限于标准不完善、不同环境下多变及方便快捷程度不足等原因, 目前还难以取代 DNA 鉴定的地位。另外, 在判断两个个体之间的亲缘关系如亲子鉴定时, 目前尚未发现微生物有明确的应用价值。

1.3 微生物与死亡时间的推断

在法医学问题中, 推断 PMI 是必须重视的问题。目前, PMI 的推断已经发展出了众多的工具和方向, 如尸体温度^[37]、体液^[38]、大分子物质(DNA、RNA、蛋白质等)^[39-40]及昆虫学^[41]

等。之前本课题组设计了一种生物传感器, 可以特异性检测尸体眼睛玻璃体液中的次黄嘌呤含量, 根据检测结果来预测 PMI, 结果显示该方法推测的 PMI 非常接近实际的 PMI^[42]。

确定 PMI 在命案侦查过程中极其重要, 一直都是法医学的重难点问题, 所以对于预测 PMI 的方法一直都在探索中, 微生物工具的出现给法医学推断 PMI 带来了新的方向^[43-44]。2019 年, Dong 等^[45]研究发现小鼠口腔微生物中特定的细菌和 PMI 显著相关, 包括变形菌门、 γ -变形菌纲、肠杆菌目、肠杆菌科及变形菌属, 并分别建立了回归模型, 其中 γ -变形菌纲和变形菌属是口腔微生物群落中估计 PMI 的最佳潜在候选者, 具体结果见表 1。

动物身上绝大部分微生物储存在消化道中, 这部分菌群可能因为机体组织的隔绝免受外界环境的干扰, 表现出较强的稳定性, 在 PMI 的预测上也表现出了巨大的潜力^[46-48]。研究发现, 不同物种间的肠道菌群及同物种不同肠段的菌群构成均有差异, 并且有不同的预测潜力。Li 等研究发现, 大鼠死后直肠菌群中属分类水平上的 7 个物种(肠球菌属、变形杆菌属、乳酸杆菌属、unidentified-Clostridiales、Vagococcus、

unidentified-Corynebacteriaceae 和 unidentified-Enterobacteriaceae)可以解释研究中 PMI 变化的 87.2%^[49]; 而 Liu 等利用大鼠盲肠的微生物数据建立了 PMI 预测模型, 在死后 24 h 内预测的平均绝对误差(mean absolute error, MAE)为 (1.5 ± 0.8) h, 死后 15 d 内 MAE 为 (14.5 ± 4.4) h^[50]。Zhang 等分析了大鼠死后直肠、尸体皮肤和埋葬处的土壤微生物, 结合随机森林算法来预测 PMI, 结果显示, 直肠、尸体皮肤和埋葬处土壤的微生物在大鼠死后 60 d 内, 预测的 MAE 分别为 2.06、2.13 和 1.82 d^[51]。总体而言, 通过上述动物实验发现, 死后肠道微生物在预测 PMI 上有着重要的价值。

在人体死后, 微生物预测 PMI 的潜力同样较大。在 2015 年的一篇报道中, Hauther 等利用 12 具死后的人类尸体研究近端大肠的微生物与 PMI 的变化关系, 发现拟杆菌属和乳酸杆菌属的相对丰度随着 PMI 增加而降低, 认为拟杆菌属和乳酸杆菌属的丰度可作为 PMI 的定量指标^[47]; 而在 2021 年, Deel 等利用 6 名人类遗体肋骨上的菌群并结合随机森林建立了 PMI 预测模型, 该模型在 9 个月的 PMI 内预测的准确度约为 ± 34 d^[52]。

然而在本课题组之前的一项研究中, 我们跟随重庆医科大学法医学教研室在尸检过程中收集了部分冷冻保存在重庆市各殡仪馆中尸体的阑尾内容物样本, 通过研究人体阑尾菌群推测 PMI 的可行性。该研究中, 我们利用随机森林算法在阑尾菌群的科分类水平上建立了 PMI 的预测模型, 该预测模型在死后 8 d 内预测的 MAE 为 (25.97 ± 0.43) h^[53]。

综合上述研究, 微生物用于预测 PMI 的研究结果总结在表 2 中。

总之, 微生物用于预测 PMI 的潜力巨大, 但如今尚处于试验阶段。由于其检测手段主要

表 1 口腔微生物中相对丰度与 PMI 显著相关的物种及对应的线性回归方程^[45]

Table 1 A remarkable link between relative abundance and PMI in oral bacteria, and the corresponding linear regression equations^[45]

Bacteria	Linear regression equation	R ²
<i>Proteobacteria</i>	$Y=0.0017X+0.4547$	0.94
<i>Gammaproteobacteria</i>	$Y=0.0021X+0.3558$	0.99
<i>Enterobacteriales</i>	$Y=0.0035X+0.0504$	0.96
<i>Enterobacteriaceae</i>	$Y=0.0035X+0.0504$	0.96
<i>Proteus</i>	$Y=0.0033X-0.0444$	0.99

注: Y: PMI (h); X: 物种的相对丰度(%)

Note: Y: PMI (h); X: Relative abundance of the species (%).

表 2 微生物用于预测 PMI 的部分研究结果归纳

Table 2 The summary of selected research using microorganisms to predict PMI

Researcher	Species	Sampling site	Conclusion
Dong et al. ^[45]	Mouse	Oral cavity	<i>Gammaproteobacteria</i> and <i>Proteus</i> were the best potential candidates for predicting PMI
Li et al. ^[49]	Rat	Rectum	Seven genera of bacteria could explain 87.2% of the variation in PMI in the study
Liu et al. ^[50]	Rat	Cecum	The MAEs for predicting PMI were (1.5±0.8) h within 24 h postmortem and (14.5±4.4) h within 15 d postmortem
Zhang et al. ^[51]	Rat	Rectum, skin and soil of the burial site	Within 60 days after death, the MAEs for predicting PMI were 2.06, 2.13 and 1.82 d, respectively
Hauther et al. ^[47]	Human	Proximal large intestine	Abundance of <i>Bacteroides</i> and <i>Lactobacillus</i> could be used as quantitative indicators of PMI
Deel et al. ^[52]	Human	Rib	The accuracy of prediction was about ±34 d within the 9 month PMI
Hu et al. ^[53]	Human	Appendix	The MAE for predicting PMI was (25.97±0.43) h within 8 d after death

依赖于高通量测序，对仪器要求较高，截至目前，尚未利用微生物原理研发出一种便捷的预测工具应用到实践中。如果将来要应用到实际工作中，需要有更先进、便捷的检测技术支持。

1.4 微生物与死亡原因分析

在某些特定的因素下，死亡后会有一些特定的“微生物证据”遗留在尸体上，对死亡原因给出一定的“暗示”，这在法医学应用中并不陌生，常见的就是采用硅藻检验判断溺死^[54]，这是利用水中的浮游微生物判断死因的应用。Palmiere 等利用 100 个医学解剖案例，对所有解剖案例进行了一系列分析，其中包括对心血进行血培养来分析血液中的微生物组成；这项研究的结果表明，死后菌群的特点提供了与死亡原因有用的信息，特别是在与感染相关的死亡案例中，如在急性腹膜炎和肠道坏死的死亡个体血培养中通常会发现肠球菌科菌^[55]。类似于上述研究，从更长远的角度来看，微生物，特别是某些致病菌的存在往往暗示着某些疾病的发生，机体死亡后这些致病菌的存在对于生前疾病的诊断具有重要的意义。另外，上述研究的结果也发现，由于机体死亡后免疫、屏障

等功能丧失，代表性细菌或者致病菌可以从组织中蔓延至血液中，因此可以通过血培养发现端倪。

然而，利用微生物判断死因是在特定条件下使用的，并非所有案例都适用。一般在某些死因会造成一些特殊的微生物现象的案例中比较适用，比如上面提到的因溺水或者感染造成的死亡。

1.5 微生物与生物犯罪

生物犯罪，顾名思义，就是利用相关生物知识或者手段进行的违法行为。在科技高度发达的今天，生物犯罪手段层出不穷，除了有害的生物试剂，一些致病细菌也成为生物犯罪的重要工具。比如美国历史上骇人听闻的“炭疽攻击事件”^[56]：2001 年，有犯罪分子把含有炭疽杆菌的信件寄给多个美国新闻媒体办公室，导致 17 人感染、5 人死亡，而主要嫌疑犯在 2008 年才被查出。由此可见生物犯罪的危害之大。更重要的是这类致病菌导致的生物犯罪发生时由于肉眼不可识别，它们可以在空气中无差别传播，往往在造成重大危害之后才被察觉，这也给生物犯罪的防范增加了难度。

严重的生物攻击会给人类健康及社会稳定带来巨大冲击, 对危险的致病菌要采取严格的手段予以检查, 对于生物犯罪中生物检材的收集、保存及分析手段也需进一步完善^[57]。

1.6 微生物与环境的监测和治理

高通量测序技术的成熟使得一定区域内微生物的构成和特点被放大在人们眼前, 同时用微生物工具来检测环境污染变成了可能。而且, 在某些微生物的“指引”下, 寻找环境污染的源头类似于之前提到的利用微生物溯源地点。另外, 一些特定细菌的出现或者含量的变化可能代表着环境中某些性质发生了改变, 利用这些微生物特性或许可以对环境污染做出预警和检测。比如在中国的《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)将大肠菌群作为检测水质的指标^[58], 还有研究指出拟杆菌目可能是检测水体中病毒污染的补充指标^[59]。除此之外, 微生物在环境治理上也有不俗的表现, 目前已经有多种微生物菌剂被用来治理环境污染^[60-61], 比如利用微生物降解塑料^[62]。在未来, 微生物在环境的监测和治理上仍然有巨大的潜力有待开发。

2 总结及展望

综合现有的研究结果和研究技术的成熟, 微生物在法医学中的应用潜力正在逐渐被人们发掘, 成为法医学实践中不可忽视的生物学证据。此外, 它们还在调查传染病的传播、性侵害案件侦查、医疗事故鉴定及食品安全调查等方面都有着不俗的能力; 甚至人们不希望发生的生物战争, 都可能跟微生物的应用密不可分。

目前, 微生物很多的法医应用还处在实验室阶段, 测序技术虽然日益发达, 但其还无法便捷地运用到实践中。要将微生物技术成熟地运用到实践中去, 还需要更深入的研究和更先进、便捷的技术支持。或许在将来, 微生物能

够成为一项成熟的法医学技术, 解决更多的法医学难题。

REFERENCES

- [1] Hutchins DA, Fu FX. Microorganisms and ocean global change[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17058
- [2] Averill C, Werbin ZR, Atherton KF, Bhatnagar JM, Dietze MC. Soil microbiome predictability increases with spatial and taxonomic scale[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2021, 5(6): 747-756
- [3] Lu L, Luo T, Zhao Y, Cai CH, Fu ZW, Jin YX. Interaction between microplastics and microorganism as well as gut microbiota: a consideration on environmental animal and human health[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 667: 94-100
- [4] Li JT, Wang CY, Liang WX, Liu SH. Rhizosphere microbiome: the emerging barrier in plant-pathogen interactions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 772420
- [5] Dong YB, Li C, Kim K, Cui LW, Liu XM. Genome annotation of disease-causing microorganisms[J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2021, 22(2): 845-854
- [6] Cavalier-Smith T, Chao EEY. Multidomain ribosomal protein trees and the planctobacterial origin of neomura (eukaryotes, archaeobacteria)[J]. *Protoplasma*, 2020, 257(3): 621-753
- [7] Rook G, Bäckhed F, Levin BR, McFall-Ngai MJ, McLean AR. Evolution, human-microbe interactions, and life history plasticity[J]. *The Lancet*, 2017, 390(10093): 521-530
- [8] Chen YE, Fischbach MA, Belkaid Y. Skin microbiota-host interactions[J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 427-436
- [9] Schirawski J, Perlin MH. Plant-microbe interaction 2017-the good, the bad and the diverse[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(5): 1374
- [10] Altveş S, Yildiz HK, Vural HC. Interaction of the microbiota with the human body in health and diseases[J]. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2020, 39(2): 23-32
- [11] Zhang CX, Wang HY, Chen TX. Interactions between intestinal microflora/probiotics and the immune system[J]. *BioMed Research International*, 2019, 2019: 6764919
- [12] McCoy KD, Mager LF. Impact of the microbiome on tumor immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2021, 69: 39-46
- [13] Young VB. The role of the microbiome in human health

- and disease: an introduction for clinicians[J]. *BMJ: Clinical Research Ed*, 2017, 356: j831
- [14] Fischbach W, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection[J]. *Deutsches Arzteblatt International*, 2018, 115(25): 429-436
- [15] Gao JJ, Zhang Y, Gerhard M, Mejias-Luque R, Zhang L, Vieth M, Ma JL, Bajbouj M, Suchanek S, Liu WD, et al. Association between gut microbiota and *Helicobacter pylori*-related gastric lesions in a high-risk population of gastric cancer[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 202
- [16] Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848
- [17] Qin JJ, Li RQ, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 59-65
- [18] Sanger F. The croonian lecture, 1975 nucleotide sequences in DNA[J]. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 1975, 191(1104): 317-333
- [19] Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1975, 94(3): 441-448
- [20] Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74(2): 560-564
- [21] Ansoerge W, Sproat B, Stegemann J, Schwager C, Zenke M. Automated DNA sequencing: ultrasensitive detection of fluorescent bands during electrophoresis[J]. *Nucleic Acids Research*, 1987, 15(11): 4593-4602
- [22] Ansoerge W, Sproat BS, Stegemann J, Schwager C. A non-radioactive automated method for DNA sequence determination[J]. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 1986, 13(6): 315-323
- [23] Edwards A, Voss H, Rice P, Civitello A, Stegemann J, Schwager C, Zimmermann J, Erfle H, Caskey CT, Ansoerge W. Automated DNA sequencing of the human HPRT locus[J]. *Genomics*, 1990, 6(4): 593-608
- [24] Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, et al. The sequence of the human genome[J]. *Science*, 2001, 291(5507): 1304-1351
- [25] Comeau AM, Douglas GM, Langille MGI. Microbiome helper: a custom and streamlined workflow for microbiome research[J]. *mSystems*, 2017, 2(1): e00127-e00116
- [26] Schadt EE, Turner S, Kasarskis A. A window into third-generation sequencing[J]. *Human Molecular Genetics*, 2010, 19(R2): R227-R240
- [27] Hampton-Marcell JT, Lopez JV, Gilbert JA. The human microbiome: an emerging tool in forensics[J]. *Microbial Biotechnology*, 2017, 10(2): 228-230
- [28] 秦洁. 皮肤微生物群落与其影响因素的相互作用及其法医学应用[J]. *云南警官学院学报*, 2021(4): 124-128
- Qin J. Interaction between skin microbial community and its influencing factors and the forensic application of this interaction[J]. *The Journal of Yunnan Police College*, 2021(4): 124-128 (in Chinese)
- [29] Ventura Spagnolo E, Stassi C, Mondello C, Zerbo S, Milone L, Argo A. Forensic microbiology applications: a systematic review[J]. *Legal Medicine*, 2019, 36: 73-80
- [30] Cho HW, Eom YB. Forensic analysis of human microbiome in skin and body fluids based on geographic location[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 695191
- [31] 李欢. 珠江水体浮游生物多样性调查及其在溺死地点推断中的应用[D]. 重庆: 重庆医科大学硕士学位论文, 2021
- Li H. Investigation of plankton diversity in Pearl River and the application in drowning site inference[D]. Chongqing: Master's Thesis of Chongqing Medical University, 2021 (in Chinese)
- [32] Procopio N, Lovisolo F, Sguazzi G, Ghignone S, Voyron S, Migliario M, Renò F, Sellitto F, D'Angiolella G, Tozzo P, et al. "Touch microbiome" as a potential tool for forensic investigation: a pilot study[J]. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2021, 82: 102223
- [33] Caenazzo L, Tozzo P. Microbiome forensic biobanking: a step toward microbial profiling for forensic human identification[J]. *Healthcare: Basel, Switzerland*, 2021, 9(10): 1371
- [34] Franzosa EA, Huang K, Meadow JF, Gevers D, Lemon KP, Bohannan BJM, Huttenhower C. Identifying personal microbiomes using metagenomic codes[J]. *PNAS*, 2015, 112(22): E2930-E2938
- [35] Schmedes SE, Woerner AE, Novroski NMM, Wendt FR, King JL, Stephens KM, Budowle B. Targeted sequencing of clade-specific markers from skin microbiomes for forensic human identification[J]. *Forensic Science International Genetics*, 2018, 32: 50-61
- [36] Wang SS, Song F, Gu HY, Wei XW, Zhang K, Zhou YX, Luo HB. Comparative evaluation of the salivary and

- buccal mucosal microbiota by 16S rRNA sequencing for forensic investigations[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 777882
- [37] 杨安顺, 权国林, 高云贵, 汪君, 隋鹏, 黎光锋, 龙定峰, 林少磊, 吴锡福, 罗斌. 尸体肛温与死亡时间推断[J]. *法医学杂志*, 2019, 35(6): 726-732
Yang AS, Quan GL, Gao YG, Wang J, Sui P, Li GF, Long DF, Lin SL, Wu XF, Luo B. Rectal temperature of corpse and estimation of postmortem interval[J]. *Journal of Forensic Medicine*, 2019, 35(6): 726-732 (in Chinese)
- [38] De-Giorgio F, Ciasca G, Fecondo G, Mazzini A, De Spirito M, Pascali VL. Estimation of the time of death by measuring the variation of lateral cerebral ventricle volume and cerebrospinal fluid radiodensity using postmortem computed tomography[J]. *International Journal of Legal Medicine*, 2021, 135(6): 2615-2623
- [39] Pittner S, Bugelli V, Weitgasser K, Zissler A, Sanit S, Lutz L, Monticelli F, Campobasso CP, Steinbacher P, Amendt J. A field study to evaluate PMI estimation methods for advanced decomposition stages[J]. *International Journal of Legal Medicine*, 2020, 134(4): 1361-1373
- [40] Peng D, Lv ML, Li ZL, Tian H, Qu SQ, Jin B, Long B, Liang WB, Zhang L. Postmortem interval determination using mRNA markers and DNA normalization[J]. *International Journal of Legal Medicine*, 2020, 134(1): 149-157
- [41] Wang Y, Wang JF, Wang ZF, Tao LY. Insect succession on pig carcasses using different exposure time-a preliminary study in Guangzhou, China[J]. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2017, 52: 24-29
- [42] Liao LC, Xing Y, Xiong XL, Gan L, Hu L, Zhao F, Tong YQ, Deng SX. An electrochemical biosensor for hypoxanthine detection in vitreous humor: a potential tool for estimating the post-mortem interval in forensic cases[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 155: 104760
- [43] Lutz H, Vangelatos A, Gottel N, Osculati A, Visona S, Finley SJ, Gilbert JA, Javan GT. Effects of extended postmortem interval on microbial communities in organs of the human cadaver[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 569630
- [44] 符晓亮, 郭娟娟, 刘卓鹰, 沈肖, 蔡继峰. 高通量测序在尸体微生物及死亡时间推断中的应用[J]. *法医学杂志*, 2018, 34(5): 475-481
Fu XL, Guo JJ, Liu ZY, Shen X, Cai JF. Application of high-throughput sequencing in researches of cadaveric microorganisms and postmortem interval estimation[J]. *Journal of Forensic Medicine*, 2018, 34(5): 475-481 (in Chinese)
- [45] Dong KK, Xin Y, Cao FQ, Huang ZW, Sun J, Peng M, Liu WB, Shi P. Succession of oral microbiota community as a tool to estimate postmortem interval[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 13063
- [46] DeBruyn JM, Hauther KA. Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects[J]. *PeerJ*, 2017, 5: e3437
- [47] Hauther KA, Cobaugh KL, Jantz LM, Sparer TE, DeBruyn JM. Estimating time since death from postmortem human gut microbial communities[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2015, 60(5): 1234-1240
- [48] Dash HR, Das S. Thanatomicrobiome and epinecrotic community signatures for estimation of post-mortem time interval in human cadaver[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(22): 9497-9512
- [49] Li H, Zhang SR, Liu RN, Yuan L, Wu D, Yang E, Yang H, Ullah S, Ishaq HM, Liu HL, et al. Potential use of molecular and structural characterization of the gut bacterial community for postmortem interval estimation in Sprague Dawley rats[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 225
- [50] Liu RN, Gu YX, Shen MW, Li H, Zhang K, Wang Q, Wei X, Zhang HH, Wu D, Yu K, et al. Predicting postmortem interval based on microbial community sequences and machine learning algorithms[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(6): 2273-2291
- [51] Zhang J, Wang MC, Qi XQ, Shi LY, Zhang JR, Zhang XM, Yang TT, Ren JB, Liu F, Zhang GQ, et al. Predicting the postmortem interval of burial cadavers based on microbial community succession[J]. *Forensic Science International: Genetics*, 2021, 52: 102488
- [52] Deel H, Emmons AL, Kiely J, Damann FE, Carter DO, Lynne A, Knight R, Xu ZZ, Bucheli S, Metcalf JL. A pilot study of microbial succession in human rib skeletal remains during terrestrial decomposition[J]. *mSphere*, 2021, 6(4): e0045521
- [53] Hu L, Xing Y, Jiang P, Gan L, Zhao F, Peng WL, Li WH, Tong YQ, Deng SX. Predicting the postmortem interval using human intestinal microbiome data and random forest algorithm[J]. *Science & Justice*, 2021, 61(5): 516-527
- [54] 李鹏, 胡琨, 王萍, 袁明俊, 张以刚, 张秀秀, 张妍. 硅藻检验结论在判断死亡原因中的运用[J]. *中国法医学杂志*, 2021, 36(4): 419-422
Li P, Hu K, Wang P, Yuan MJ, Zhang YG, Zhang XX, Zhang Y. Application of diatom test conclusion in judging causes of death[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 2021, 36(4): 419-422 (in Chinese)

- [55] Palmiere C, Egger C, Prod'Hom G, Greub G. Bacterial translocation and sample contamination in postmortem microbiological analyses[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2016, 61(2): 367-374
- [56] Centers for Disease Control and Prevention. Update: investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for clinical evaluation of persons with possible anthrax[J]. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2001, 50(43): 941-948
- [57] 安志远, 张埕砢, 叶振, 刘锦媛, 赵东. 法医微生物学在应对生物犯罪中的研究及应用进展[J]. *中国法医学杂志*, 2019, 34(2): 173-176
An ZY, Zhang CF, Ye Z, Liu JY, Zhao D. Progress in research and application of forensic microbiology in dealing with biological crimes[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 2019, 34(2): 173-176 (in Chinese)
- [58] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. 地表水环境质量标准: GB 3838—2002[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002
State Environmental Protection Administration of the People's Republic of China, General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. *Environmental Quality Standards for Surface Water: GB 3838—2002*[S]. Beijing: China Environment Science Press, 2002 (in Chinese)
- [59] Zhou SQ, Yang D, Xu QY, Yang ZW, Jin M, Yin J, Wang HR, Zhou K, Wang LQ, Li JW, et al. Presence of bacteroidales as a predictor of human enteric viruses in Haihe River of Tianjin city, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(8): 8169-8181
- [60] 晏丽娟, 王玲, 张海芹. 微生物菌剂在环境污染治理中的研究和应用进展[J]. *广州化工*, 2022, 50(2): 24-26
Yan LJ, Wang L, Zhang HQ. Research and application progress on microbial agents in environment pollution treatment[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2022, 50(2): 24-26 (in Chinese)
- [61] Aghalari Z, Dahms HU, Sillanpää M, Sosa-Hernandez JE, Parra-Saldívar R. Effectiveness of wastewater treatment systems in removing microbial agents: a systematic review[J]. *Globalization and Health*, 2020, 16(1): 13
- [62] Yuan JH, Ma J, Sun YR, Zhou T, Zhao YC, Yu F. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 715: 136968