

BÖLÜM 5

ADLI MİKROBİYOLOJİ -GENEL PRENSİPLER-

Miraç ÖZDEMİR¹

GİRİŞ

Adli Bilimlerin alt disiplinlerinden olan Adli mikrobiyoloji, mikrobiyoloji biliminden faydalanılarak; biyolojik suç-terör, besin zehirlenmeleri ve ölüm sonrası incelemelerde ölüm nedenini ve zamanının tespitine yardımcı olmaya çalışan bir bilim dalıdır (1). Bu disiplinin çalışma alanı iki ana başlık altında toplanabilir. Birincisi mikroorganizmaların doğrudan kullanıldığı; biyolojik terör, suç, hata, ihmal veya kaza sebepli mikroorganizma toksin salınımları ile ortaya çıkan delillerin incelendiği çalışmalar, ikincisi ise hayvansal ve bitkisel besinlerde üreyen mikroorganizmalar veya toksinleri ile oluşan zehirlenmeler ve gıda ilişkili suç sayılan uygulamaların araştırılmasını içermektedir (2,3).

Biyolojik savaş; birbirinden farklı sebeplerle, mikroorganizmaların ya da biyolojik toksik maddelerin, bir ülkenin askeri birliklerinde, halkında, hayvanlarında veya bitkilerinde hastalık oluşturmak, öldürmek amacıyla kullanılmasıdır (3). Bu amaçla en sık kullanılan mikroorganizmaların; *B.anthraxis*, *Smallpox*, *C.botulinum*, *Salmonella* ve *Shigella* olduğu bilinmektedir (4).

Ölüm sonrası mikrobiyolojik incelemeler özellikle ölüm nedeninin patojen bir mikroorganizmaya bağlı olup olmadığının tespiti, yeni doğan ölümleri ve otopsi personelinin enfekte olma riski ile ilgilidir(5,6).

Mikroorganizmalardan faydalanılan alanlardan bir diğeri de ölüm sonrası aralığının (PMI) doğru bir şekilde tahmin edilmesine yönelik yapılan çalışmalardır (7).

Adli mikrobiyoloji ayrıca hayvansal ve bitkisel besinlerde üreyen mikroorganizmalar (*Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium* vd.) veya bunların toksinlerinin yenmesiyle oluşan zehirlenmelerde de gündeme gelmektedir. Ülkemizde bu bağlamda oluşan suçlar Türk Ceza Kanunu'nda halkın sağlığına, yenecek ve içilecek şeylere yönelik suçlar kapsamında değerlendirilmektedir (4).

¹ Uzm. Dr.,T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Adli Tıp Polikliniği, drozdemirac@gmail.com

Cinsel suçlarda, cinsel yolla bulaşan enfeksiyon varlığının saptanması da adli mikrobiyolojinin Klinik Adli Tıpta etkin kullanımı açısından önem taşımaktadır.

Mikroorganizmaların ya da toksinlerin, bireylere veya halka yönelik suçlarda silah olarak kullanılma potansiyeli, kazalara, ihmellere, hatalara veya çevresel koşulların olumsuzluğuna bağlı olarak mikrobiyal risklerin artması sonucu adli mikrobiyoloji bilimi daha da önem kazanmıştır (1).

Bu derlemede Adli Mikrobiyoloji ile ilgili uluslararası güncel literatürde gündemde olan; biyoterörizm, mikrobiyom ve adli toprak biliminden genel hatları ile bahsetmek amaçlanmıştır.

1. BIYOTERÖRİZM

Mikroorganizmalar ya da toksinlerinin canlıların ölümüne neden olmak, panik oluşturmak, hastalık oluşturmak gibi amaçlarla kişi veya gruplarca suç eylemi oluşturacak şekilde kullanılmasına biyoterörizm denilmektedir (8). Özellikle şarbon, çiçek hastalığı, veba, botulizm, tularemi ve viral hemorajik ateşler, olumsuz etki potansiyeli yüksek olan biyolojik etkenlerdendir (9). Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), terörist saldırılarda silah olarak kullanılacak biyolojik ajanları üç ana başlıkta sınıflandırmıştır (10). Bu sınıflandırma Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. CDC’ye göre Biyolojik Ajanların Kategorileri	
KATEGORİLER	MİKROORGANİZMALAR
KATEGORİ A Ulusal güvenlik ve halk sağlığı açısından en yüksek önceliğe sahip, Yüksek ölüm oranıyla kolayca bulaşan ve nadiren görülen patojenleri içerir.	<i>Bacillus anthracis</i> , <i>Yersinia pestis</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , ve <i>Francisella tularensis</i>
KATEGORİ B Orta derecede hastalık oranı ve düşük ölüm oranı gösteren patojenleri içerir.	<i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Brucella spp.</i> , <i>Rickettsia prowazekii</i> ve <i>Coxiella burnetii</i>
KATEGORİ C Gelecekte olası tehdit oluşturabilecek mevcut patojenler.	<i>İnfluenza virüsü</i> , <i>kuduz virüsü</i> ve <i>Coccidioides spp.</i>

Biyoterörizmin asıl amacı; toplumda kargaşa yaratmaktır. Ayrıca devlete olan güvenin kaybedilmesi, üretim merkezlerinin kapatılması, iş kaybı ve üretim faaliyetlerinde aksaklıklar, acil yardım sisteminde ortaya çıkacak zafiyetler, ekonomik kayıplar ile toplu ölüm ve yaralanmalara yol açmaktadır (11). Bir biyoterörizm saldırısı gerçekleştiğinde hızlıca yanıt oluşturmada ve oluşturulacak yanıtın ne olacağına karar vermede halk sağlığı sürveyans sistemleri kullanılır (8).

Bununla birlikte olası bir saldırının tespitinde modern mikrobiyolojik analiz ve değerlendirme süreçleri de kullanılmaktadır. Adli tıp uzmanları, mikrobiyologlar ve patoloğların yer aldığı multidisipliner bir ekiple şüpheli enfeksiyonun belirlenmesi için klinik ve adli otopsiler yapılmaktadır (12).

1998 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bünyesinde oluşturulan Özel Grup tarafından bir salgının ne zaman olağan dışı kabul edileceğine dair kriterler geliştirilmiştir (13):

- Hastalığın o bölgede ilk kez bildirilmesi ve hiç endemik olmaması,
- Normalde beklenen mevsimin dışında gelişmesi,
- Nadir veya olağan dışı bir yolla iletilmiş gibi görünmesi,
- Epidemiyolojisinin organizma virülansında artış ortaya koyması, kuluçka süresinin anormal bir kısalma göstermesi,
- Etkenin, olumsuz çevre koşullarına yüksek direnç göstermesi,
- Sürekli bulaşmayı kolaylaştıracak yeni doğal rezervuarlar sağlayabilmesi,
- Aşı sayesinde bağışıklık sağlanmış bir popülasyonda etkenin değişikliğe uğradığının gösterilmesi,
- Hastalığa olağan dışı bir popülasyon alt kümesine sahip ya da beklenmeyen bir yaş grubu içindeki etkenin yol açması,
- Etkenin özelliklerinin, o bölgede geçerli bilinen özelliklerinden farklılık göstermesi.

Etkin bir salgın soruşturma ekibi oluşturulmalı, epidemiyolojik analizler gerçekleştirilmelidir. Hastalık paternlerinin zaman içindeki ve coğrafi dağılıma ilişkin analizleri gerçekleştirilir. Epidemiyolojik saha incelemesi, görüşmeler yapılır. Antemortem ve postmortem mevcut klinik bulgular değerlendirilir. Canlılardan ve çevreden gerekli örnekler toplanır. Bu örnekler eğer zorunluluksa uygun bir ortamda 4-6 santigrat derecede saklanır. Standardize edilmiş reaktifler ile kalibre edilmiş ekipmanlar kullanılarak laboratuvar analizleri gerçekleştirilir. Enfeksiyöz etkenlerle çalışanlar, bu patojenlere maruz kalmalarını engelleyecek/en aza indirecek ve mikroorganizmaların çevreye salınımını önlemek için CDC tarafından geliştirilen Biyogüvenlik Standartlarını iyi bilip uygulamalıdır (2).

2.MİKROBİYOM

Son yıllarda yapılan metagenomik çalışmalar, adli olayların açığa çıkarılmasında faydalı olabilen mikrobiyal genetik araştırmaları, öne çıkarmaktadır. Bu çalışmalarda, insanların vücut alanını paylaşan kommensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğu olarak belirtilen mikrobiyomlar ile yapılan DNA araştırmaları önemli bir yer tutmaktadır (13).

Mikrobiyom; sınırları belli bir ortamda yaşayan mikroorganizmalara denilmekte iken Mikrobiyota ise daha sınırlı bir alanda yaşayan ve bazı ortak çevresel faktörlere sahip mikroorganizmalara denilmektedir (14). Bir adli olayda şüpheli DNA'sı, gündelik temasından tespit edilemediğinde, şüphelinin spesifik mikrobiyom profili aracılığıyla tanımlanması sağlanabilir. Olay yerinde bulunan biyolojik materyallerin analizleri, suçlu veya suçluların tanımlanmasında güçlü kanıtlar oluşturabilmektedir (15,16).

Tükürük, bir olay yerinden delil olarak toplanabilen bir vücut sıvısı olduğundan, bu sıvının mikrobiyal analizi ile bireylerin, mağdurların ve/veya şüphelilerin suç eylemi ile ilişkilendirilebileceğine yönelik çalışmalar son yıllarda artmıştır. Adli kimliklendirme amacıyla yeni nesil dizileme (YND) analizi ile elde edilen tükürüğün mikrobiyom profili, saldırganın DNA'sının, mağdurun DNA'sı ile tam olarak ayırt edilemediğinde, DNA izleri tam ve güvenilir bir genetik profili belirlemek için yetersiz olduğunda faydalı olabilir (17). Tükürük mikrobiyomunun bileşimi; bireyin yaşına, sirkadiyen ritmine, yaşam tarzına, beslenmesine, birlikte yaşadığı diğer canlıların varlığına, sigara alışkanlığına, öpüşme gibi etkileşimlere göre değişebilmektedir (18). Yapılan çalışmalarda tükürükte en yaygın bulunan filumun, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Fusobacteria* olduğu gösterilmiştir (17).

Özellikle cinsel saldırılarda, mağdurun vücudundaki ısırık izlerinde tespit edilebilen tükürükte tespit edilebilecek metagenomik etiketler şüpheliyi suçla ilişkilendirebilir. Mikrobiyal DNA bunun yanında, şüphelinin etnik kökenini tanımlayan atalarına ait genomik geçmişle ilişkisini gösterebilir (19).

Prokaryotik bakteri hücrelerini koruyan hücre duvarı ve sahip oldukları dairesel DNA, ökaryotik hücrelere göre daha uzun süre kalıcı olabilir, bu da onları adli tıp için insan DNA'sından daha uzun süre değerli kılar (13).

Şüpheliden alınan numunedeki oral mikrobiyomun, olay yerindeki bir numunedekiyle eşleşip eşleşmediğini belirlemek için standardize sistemlerin dünya genelini kapsayacak şekilde geliştirilmesi gerekmektedir.

3. ADLİ TOPRAK BİLİMİ

Adli vakaların aydınlatılmasında olay yeri inceleme sonrasında elde edilen fiziksel deliller de büyük önem taşımaktadır. Günümüzde; kriminal olayların çözülmesinde suçludan delile değil, delilden suçluya gitme yöntemi uygulanmaktadır. Olay yeri-suç-mağdur ve suçlu arasındaki mevcut ilişkinin anlaşılabilmesini sağlayan fiziksel delillerden biri de topraktır (20,21). Adli toprak bilimi, şüpheli veya mağdura toprağın nereden bulaştığı, olay yerinden önce nerelerde bulunmuş

olabilecekleri gibi sorularda cevaba yardımcı olabilir. Fiziksel bulgularda olduğu gibi toprak analizi de karşılaştırmayı gerektirir ve şüphelinin ikametgâhında tespit edilen toprak olay yerinden ve yakın çevresinden elde edilen toprak numuneleri ile karşılaştırılır.

Toprak, tüm ekosistemler içinde en fazla mikroorganizma çeşitliliğine sahip olandır. Karasal mikroorganizmaların en önemli habitatı olup bunların üremesi için de çok uygun bir ortamdır. Mikroorganizmalar, özellikle organik madde bakımından zengin olan yüzey katmanlarda gelişirler (22).

Son yüzyıl; toprak ekolojisi, biyokimyası ve mikrobiyolojisinde önemli değişikliklerin yaşandığı bir dönem olup toprak farklılandırılması için mikroorganizmaların biyoçeşitliliği kullanılmaya başlanmıştır. Kültür yöntemi mikroorganizmaların miktarını ve tanımlanmasını sağlamak için yıllardır kullanılmaktadır ancak sadece uygun büyüme koşulları altındaki mikroorganizmalar gelişebilmektedir. Bu durum adli amaçlar için bakteri kültürü yöntemlerini sınırlasa da moleküler metotlar sayesinde bu sorun çözülmeye başlanmıştır (23). Teknolojinin gelişmesi ile birlikte moleküler biyolojideki ilerlemeler, polimeraz zincir reaksiyonunun yöntemindeki gelişmeler, restriksiyon enzimlerinin kullanımı ve genetik belirleyiciler ile mikroorganizmaların dizi farklılıkları gösterilebilmektedir (24). Toprakta bulunan başlıca bakteri grupları Tablo2'de verilmiştir (25).

Tablo 2. Topraktaki Başlıca Bakteri Grupları		
Şube – Alt Şube	Oran	Örnekler
α Proteobakteri	19	<i>Sphingomonas, Rhizobium, Mesorhizobium, Bradyrhizobium, Methylobacter, Methylophilus</i>
β Proteobakteri	10	<i>Burkholderia, Alcaligenes, Acidovorax, Collimonas, Nitrosospira</i>
γ Proteobakteri	8	<i>Pseudomonas, Xanthomonas, Azotobacter, Thiocapsa, Chromatium</i>
δ Proteobakteri	2	<i>Desulfovibrio, Bdellovibrio</i>
ε Proteobakteri	<1	<i>Helicobacter, Campylobacter</i>
Acidobacteria	20	<i>Acidobacterium</i>
Actinobacteria	13	<i>Arthrobacter, Rhodococcus, Streptomyces, Mycobacterium, Rubrobacter, Terrabacter, Acidimicrobium</i>
Verrucomicrobia	7	<i>Chthoniobacter, Opitutus</i>
Bacteroidetes	5	<i>Chitinophaga</i>
Firmicutes	2	<i>Clostridium, Bacillus, Lactobacillus</i>

Adli soruşturmalarda önemli yeri olan mantarlar arasında; *Claterosporium flexum*, *Pseudovalsella* spp., *Pestalotiopsis funereal*, *Camposporium cambrense*,

Periconia byssoides, *Melanospora* sp. bulunmaktadır (26). Geçmiş literatür incelendiğinde ekosistemlerin olgunlaşmasıyla birlikte, hakimiyetin bakterilerden mantarlara doğru değiştiğini görülmüştür (27).

SONUÇ

Biyoterörizm eylemlerinden, diğer suçlardan veya farklı amaçlar ile kasıtsız bir şekilde mikroorganizma veya toksin salınımı ile elde edilen delillerin analizi ile ilgilenen bir bilimsel disiplin olan Adli Mikrobiyolojinin önemi giderek artmaktadır.

Teknolojideki ilerlemeler kuşkusuz birçok hastalık için daha iyi tedavi edici uygulamaların geliştirilmesini sağlarken aynı teknolojiler kötü amaçlarla silah olarak da kullanılabilir. Adli Mikrobiyoloji, patojenleri bulmak, tanımlamak ve bu biyosilahları kullanan kişileri saptamak için gerekli olan araçları sağlar. Devlet kuruluşlarının, akademik organizasyonların ve özel sektörün bir araya gelerek gelişmiş bir bilgi tabanı ile güçlü bir Adli Mikrobiyoloji alanı geliştirmesi suçun önlenmesi ve adaletinin daha hızlı ve etkin tesisi adına önem arz etmektedir.

KAYNAKÇA

1. Tuğ A, Adli bilimler ve mikrobiyoloji. *Adli Tıp Dergisi*. 2009;23(1): 47-55.
2. Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE. Microbial forensics. Anđ Ö. (Çeviri ed). *Adli Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2011. p. 1-9.
3. Budowle B, Schutzer SE, Burans J. et al. Quality sample collection, handling, and preservation for an effective microbial forensics program. *Applied and environmental microbiology*. 2006;72(10): 6431-6438. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01165-06>
4. Hancı İH. *Adli Tıp ve Adli Bilimler*. Seçkin Yayıncılık; 2002. p. 463 – 467.
5. Çakan H. Adli Bilimlerde Mikrobiyota. 16. *Adli Bilimler Kongresi*. 2019 Nis 4-7, İzmir.
6. Schmedes SE, Sajantila A, Budowle B. Expansion of microbial forensics. *Journal of clinical microbiology*. 2016;54(8):1964-1974. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00046-16>
7. Erkol Z, Gökdağ İİ, Erkol H, et al. Enjektörle HIV bulaştı: Modern çağın suç işleme yöntemi. *Adli Tıp Dergisi*. 2010; 24(3): 48-51.
8. Uludağ T, Aslan D. Halk Sağlığı Bakış Açısı ile Biyoterörizm. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. 2022;31(4): 299-306. DOI: <https://doi.org/10.17942/sted.904333>
9. WHO. *Public health response to biological and chemical weapons: WHO guidance*. 2004. (23.11.2022 tarihinde <https://www.who.int/publications/i/item/publichealth-response-to-biological-and-chemicalweapons-who-guidance> adresinden ulaşılmıştır).
10. González AA, Rivera-Pérez JJ, Toranzos GA. Forensic approaches to detect possible agents of bioterror. *Environmental Microbial Forensics*. 2018. p.191-214.
11. Kiremitçi İ. Küresel boyutta biyolojik terör tehdidi. *Savunma Bilimleri Dergisi*. 2014;13(2): 27-58.
12. Ziyade N. Postmortem Mikrobiyolojik Analizler Güncel Yaklaşım. *The Bulletin of Legal Medicine*. 2012;17(1): 32-42.
13. Karadayı Ş, Karadayı B. Tükürük mikrobiyomunun adli amaçlı kullanımı: Metagenomik analiz yöntemleri: Geleneksel derleme. *Türkiye Klinikleri Dergisi*. 2021;18(3):260-73. DOI: 10.5336/

- forensic.2021-84853
14. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 2014;89(1): 107-114.
 15. Fierer N, Lauber CL, Zhou N, et al. Forensic identification using skin bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(14): 6477-6481. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000162107>
 16. Karadayı B, Karadayı Ş, Sezgin N. Biyolojik delillerin tespitinde kullanılan tarama ve doğrulama testleri ve bu konudaki son gelişmeler. *J Forensic Med Forensic Sci*. 2018; 15(2): 80-92.
 17. Leake SL, Pagni M. The salivary microbiome for differentiating individuals: proof of principle. *Microbes and infection*. 2016;18(6):399-405.
 18. Nasidze I, Li J, Quinque D, et al. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome research*, 2009;19(4): 636-643. DOI: 10.1101/gr.084616.108
 19. Clarke TH, Gomez A. Integrating the microbiome as a resource in the forensics toolkit. *Forensic Science International: Genetics*. 2017;30:141-147.
 20. Polat O. *Kriminoloji ve Kriminalistik Üzerine Notlar*. 1. baskı. Seçkin Yayıncılık; 2004. p. 209-247.
 21. Çakır İ. *Adli Jeoloji-Adli Toprak Bilimi*. Karakuş O (Ed.) Adli Bilimler. Adalet Yayınevi; 2011. p. 439-459.
 22. Asan A. Toprak Oluşumunda Biyolojik Faktörler. *Ekoloji, Temmuz-Ağustos-Eylül*. 1993;(8): 36-38.
 23. Jesmok EM, Hopkins JM, Foran DR. Next-generation sequencing of the bacterial 16S rRNA gene for forensic soil comparison: a feasibility study. *Journal of forensic sciences*. 2016;61(3): 607-617. DOI: <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13049>
 24. Pietraszkiewicz BU. *Exploring soil bacterial communities for forensic applications: a genomics approach*. Washington, DC: U.S. Department of Justice; 2009-IJ-CX-0021 Report, 2012.
 25. Janssen PH. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*. 2006;72(3):1719-1728.
 26. Santiago-Rodriguez TM, Cano RJ. Soil microbial forensics. *Environmental Microbial Forensics*. 2018. P. 143-171. DOI: <https://doi.org/10.1128/9781555818852.ch7>
 27. Vary PS, Biedendieck R, Fuerch T, et al. *Bacillus megaterium*—from simple soil bacterium to industrial protein production host. *Applied microbiology and biotechnology*. 2007;76(5):957-967.