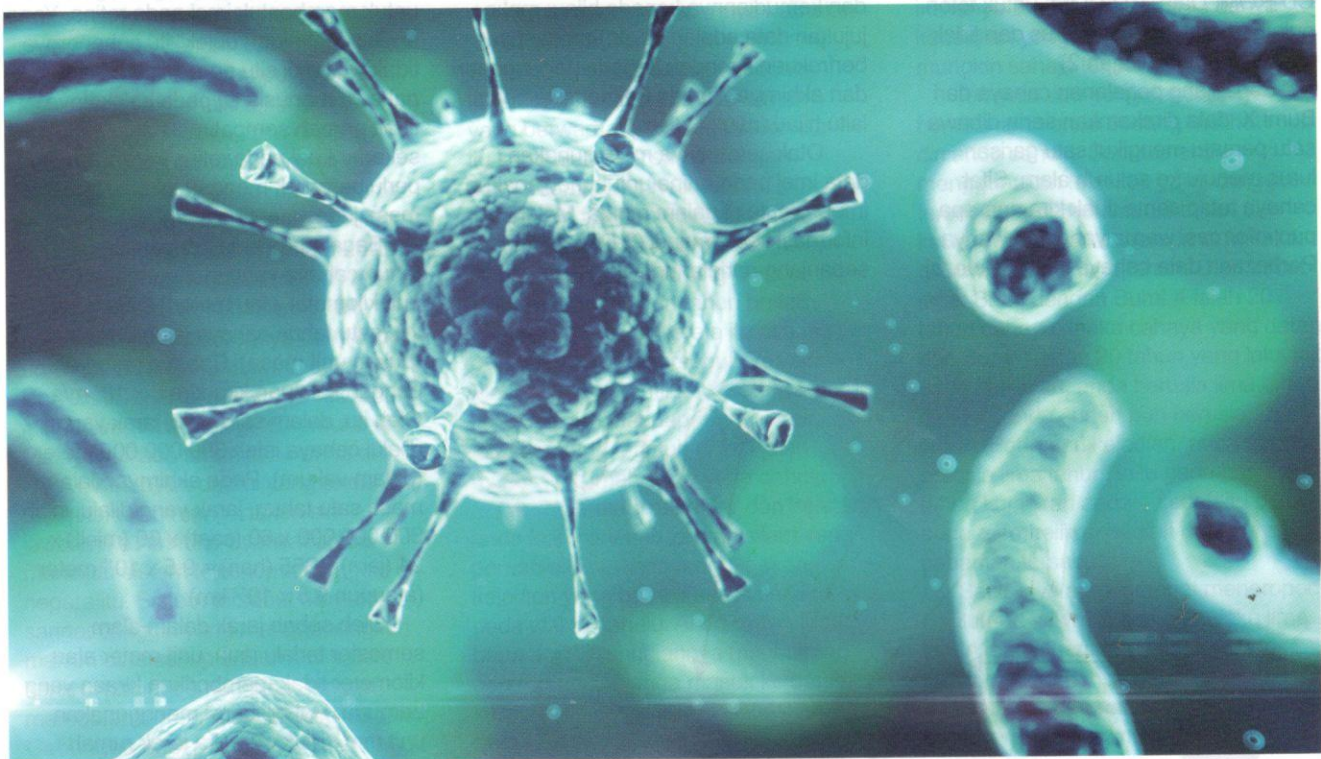


Mikrobiologi dalam Forensik



DEWAN KOSMIK BIL. 1 2020

Kajian daripada Projek Mikrobiom Manusia menunjukkan bahawa mikroorganisma yang hidup di atas dan dalam tubuh manusia, misalnya dalam usus, melebihi jumlah sel badan manusia sebanyak 10 kali ganda. Hal ini bererti kita diliputi penuh oleh mikroorganisma

di luar dan dalam tubuh. Soalnya di sini, siapakah sebenarnya kita? Adakah sebahagian besar kita terdiri daripada mikroorganisma?

Mikrobiologi merupakan bidang sains yang mengkaji benda hidup (organisma) yang bersaiz kecil dan selalunya tidak

dapat dilihat (bersifat mikroskopik) oleh mata kasar. Organisma kecil yang dimaksudkan termasuklah bakteria, virus dan kulat. Kajian tentang bakteria dikenali sebagai bakteriologi, kajian tentang virus ialah virologi, dan kajian tentang kulat dikenali sebagai mikologi.

Secara umumnya, bidang mikrobiologi adalah sangat penting kerana organisma kecil ini memainkan peranan dari pelbagai aspek kehidupan manusia, antaranya termasuklah kepentingan dari segi perubatan (sama ada sebagai penghasil antibiotik ataupun sebagai agen penyebab penyakit), industri makanan (proses penapaian untuk cuka, keju, yogurt). Bakteria juga memainkan peranan yang penting dalam bidang bioteknologi sebagai pengangkut DNA untuk proses modifikasi genetik, klon, atau dalam terapi gen untuk rawatan kanser. Begitu juga, mikrobiologi penting dalam proses penghasilan asid amino, biopolimer dan pengurai bahan cemar industri (biodegradasi).

Istilah forensik dalam bahasa Latin bermaksud perbincangan atau debat umum. Walau bagaimanapun, dalam konteks yang lebih moden, aplikasi forensik digunakan dalam mahkamah atau sistem kehakiman. Apabila forensik bergabung dengan sains menjadi sains forensik yang bermaksud penggunaan kaedah dan proses saintifik untuk menyelesaikan kes jenayah. Saintis forensik mengumpul, memelihara, dan menganalisis bukti saintifik semasa menjalankan tugas siasatan. Selain itu,

Sejak belakangan ini, ilmu pengetahuan mikrobiologi berkembang dengan pesat disebabkan oleh kemajuan teknologi seperti teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan penjujukan DNA. Ahli mikrobiologi telah pun tahu bahawa komuniti mikrobiota (gabungan mikroorganisma) menduduki organ yang berlainan di tubuh manusia dan memainkan peranan dalam pengawalan keseimbangan antara kesihatan dengan penyakit.

Sementara itu, bidang yang agak baharu, iaitu mikrobiologi forensik, mula diperkenalkan dalam penyelidikan. Oleh sebab perubahan komuniti mikrobiota yang berlaku selepas kematian masih belum diketahui secara mendalam, maka saintis berminat untuk mengkaji komposisi thanatomikrobiom (mikrobiom di dalam darah dan organ selepas kematian berlaku) dan komuniti mikrobial epinektotik (mikroorganisma yang berada di atas permukaan luar mayat), serta potensi aplikasinya dalam penyiasatan forensik.

Organ dalaman manusia biasanya tidak mempunyai bakteria, contohnya seperti otak, jantung, darah dan hati. Apabila kematian berlaku, maka tiada lagi sistem imun dan rintangan fizikal yang berkesan, maka bakteria akan

semasa proses kematian); (iii) translokasi post-mortem (pemindahan bakteria dari permukaan mukosa ke dalam darah dan organ dalaman selepas kematian); dan (iv) pencemaran/kontaminasi (sebaran bakteria luar ke dalam sampel mayat apabila diperoleh dengan menggunakan alat tidak steril atau beroperasi dalam persekitaran yang tidak steril). Dalam keadaan patogenik bakteria didapati positif daripada sampel mayat, maka hal ini menunjukkan sama ada patogen ini sebagai penyebab penyakit yang menyebabkan kematian mangsa ataupun sebagai faktor penyumbang kepada kematiannya.

Apabila kematian berlaku, kegagalan sistem imun dan kehilangan keupayaan rintangan fizikal menggalakkan pembiakan bakteria di seluruh badan, bermula dari kawasan usus dan menyebarkan ke hati, limpa, jantung dan otak. Istilah thanatomikrobiom bermaksud semua mikrob yang terdapat dalam organ dalaman dan cecair badan selepas kematian berlaku. Oleh sebab mikrob ini boleh terdiri daripada flora normal (mikroorganisma yang dapat ditemukan pada tubuh manusia tanpa menyebabkan penyakit), bakteria daripada persekitaran atau bakteria patogenik, maka penentuan komposisi thanatomikrobiom memerlukan suatu prosedur piawai yang dapat mengurangkan pencemaran sampel. Sejarah klinikal yang lengkap bersama-sama pemeriksaan histologi adalah perlu untuk menentukan sama ada pengasingan mikrob daripada sampel mayat adalah sebahagian daripada flora post-mortem ataupun sebagai patogen yang menyebabkan atau menyumbang kepada kematian.

Mikrob yang selalu dijumpai pada mayat yang mati akibat bakteremia (kehadiran bakteria di dalam darah), termasuklah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* dan ahli dalam Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*,

Ahli mikrobiologi telah pun tahu bahawa komuniti mikrobiota (gabungan mikroorganisma) menduduki organ yang berlainan di tubuh manusia dan memainkan peranan dalam pengawalan keseimbangan antara kesihatan dengan penyakit.

saintis forensik juga berperanan sebagai saksi pakar dalam kes jenayah dan sivil.

Ada banyak cabang dalam sains forensik, antaranya termasuklah antropologi, toksikologi, DNA, entomologi (kajian serangga), odontologi (bukti dental), patologi dan forensik hidupan liar.

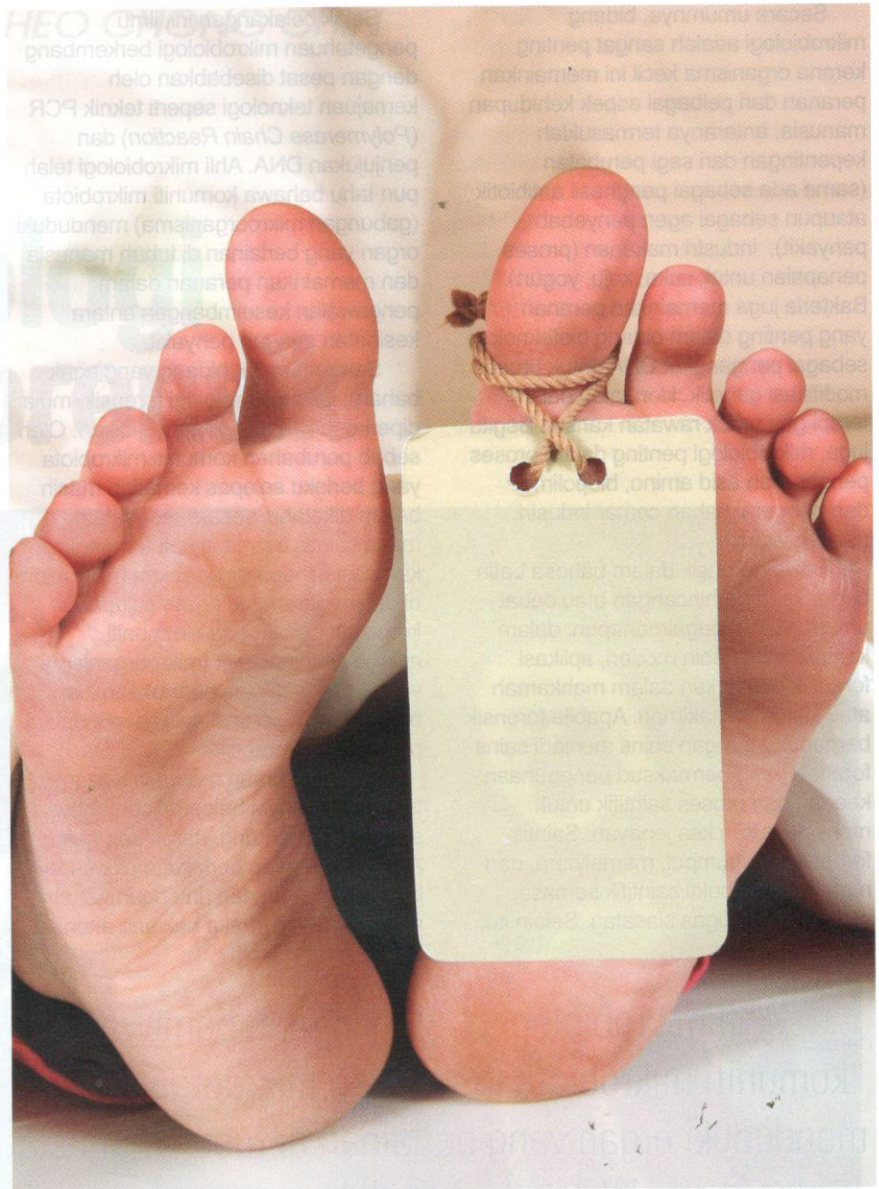
tumbuh di seluruh badan, biasanya bermula daripada usus manusia. Jika sampel daripada mayat diambil, pertumbuhan bakteria di atas sampel boleh disebabkan oleh beberapa faktor, iaitu (i) pertumbuhan yang asli; (ii) sebaran agoni (sebaran bakteria yang berlaku

Neisseria gonorrhoeae, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Candida* spesies selain *C. albicans* dan *Cryptococcus neoformans*. Sementara itu, bakteria seperti *Corynebacterium* dan *Bacillus* spesies lain daripada *B. anthracis* dan *Propionibacterium acnes* jarang-jarang dijumpai.

Dalam sesetengah kes, mikrob yang terdapat pada mayat boleh memberitahu penyebab kematian. Sebagai contoh, dalam lapan kes mati lemas di air laut, bakteria seperti *Vibrio* spp. dikenal pasti dalam enam kes, manakala *Photobacterium* spp. pula dikenal pasti dalam lima kes. Bakteria ini lazim dijumpai di dalam air laut dan boleh digunakan sebagai penanda atau penunjuk kes mati lemas di laut.

Bakteria seperti *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus thailandicus* dan *Enterobacter cloacae* telah dikenal pasti di dalam darah dan cecair peritoneal si mati yang mempunyai kecederaan di bahagian usus besar akibat menjalankan pemeriksaan kolonoskopi. Kecederaan ini menyebabkan penyebaran flora normal daripada usus kepada cecair peritoneal. Walau bagaimanapun, punca kematian dalam kes ini bukanlah disebabkan oleh sepsis, iaitu keadaan yang mengancam nyawa akibat tindak balas imuniti manusia terhadap suatu jangkitan, tetapi kerana hentian kardiopulmonari.

Thanatomikrobiom juga berpotensi dalam penentuan waktu kematian (*Postmortem-Interval* atau PMI). Beberapa penyelidikan dijalankan dengan mengkaji perubahan dalam komuniti bakteria kulit atau perut rongga selepas kematian sebagai kaedah untuk menentukan PMI. Sebenarnya thanatomikrobiom di organ dalaman dan cecair badan harus dipilih untuk kajian lanjut kerana sampel ini kurang dipengaruhi oleh keadaan persekitaran, selain organ dalaman biasanya steril (tidak berkuman) sebelum kematian. Oleh sebab itu, kolonisasi mikrob yang terjadi selepas kematian berlaku



Mikrobiologi forensik dapat memberikan petunjuk tentang waktu, lokasi, kematian, punca dan cara kematian mayat.

mungkin memainkan peranan yang penting bagi memahami perubahan struktur komuniti mikrob semasa pereputan mayat.

Saintis di Amerika Syarikat berjaya mengumpulkan 19 sampel, termasuklah darah dan organ dalaman (otak, jantung, hati dan limpa) daripada 11 mayat yang

mati antara 20 jam hingga 240 jam. DNA mikrob diekstrak daripada setiap sampel dan hasil menunjukkan bahawa variasi ketara pada thanatomikrobiom dalam kalangan kes yang mempunyai waktu kematian yang berlainan, tetapi tiada perbezaan yang ketara antara organ yang berlainan pada mayat yang sama.

Ada tiga kumpulan mikrob khusus yang dikenal pasti, kumpulan pertama termasuklah bakteria daripada genera *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Streptococcus* dan *Gemella*, yang didapati dalam sampel daripada kes PMI antara 29.5 jam hingga 66 jam. Kumpulan kedua termasuklah *Clostridium sordellii*, *Clostridium difficile*, *Clostridium bartlettii*, *Clostridium lifermentans* dan *Clostridium limosum* yang didapati dalam sampel daripada kes dengan median waktu kematian sebanyak 58 jam. Kumpulan ketiga pula termasuklah *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium novyi*, *Escherichia coli* dan *Escherichia albertii* yang didapati dalam sampel daripada kes PMI yang lebih panjang (240 jam).

Sebagai kesimpulan, kajian ini menunjukkan bahawa thanatomikrobiom adalah serupa antara organ dengan sampel darah daripada mayat yang sama. Selain itu, bakteria anaerobik fakultatif (bakteria yang dapat hidup sama ada dengan bekalan oksigen ataupun tanpa oksigen), seperti *Lactobacillus*, adalah lebih dominan pada PMI yang lebih pendek, manakala bakteria anaerobik, seperti *Clostridium*, mendominasi mayat pada PMI yang lebih panjang.

Saintis di Amerika Syarikat juga mengumpulkan 66 sampel mayat termasuklah otak, jantung, hati, limpa, darah dan rongga mulut daripada 27 mayat dengan PMI antara 3.5 jam hingga 240 jam dan menggunakan teknologi penjujukan 16S rRNA untuk mengklasifikasikan mikrob yang berkaitan dengan organ mayat. Mereka mendapati bahawa perubahan komuniti mikrob juga bergantung pada jantina si mati. Genus bakteria yang dikenal pasti dalam organ dalaman adalah serupa antara organ yang bertalian dalam setiap jantina, tetapi tidak sama antara wanita dengan lelaki. Dalam mayat wanita, *Pseudomonas* dan Clostridiales adalah lebih dominan, manakala mayat lelaki mempunyai

lebih banyak *Clostridium*, Clostridiales dan *Streptococcus*. Genus bakteria paling banyak dalam kalangan mayat wanita ialah *Pseudomonas*, manakala bakteria *Rothia* hanya dikenal pasti mayat pada lelaki.

Bagi tujuan mengenal pasti punca kematian, saintis di Amerika Syarikat juga mendapati bahawa bakteria seperti *Enterobacteriaceae* dan kumpulan *Enterococcus* dikenal pasti dalam kes peritonitis akut (peradangan pada lapisan dinding tipis dalam abdomen) dan kematian akibat nekrosis usus. Bakteria seperti *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* juga dikenal pasti dalam 15 kes jangkitan saluran pernafasan.

Sementara itu, saintis di Itali pula mengumpulkan sampel darah daripada 10 mangsa yang mati lemas (lima mangsa lemas di air tawar dan lima mangsa lagi lemas di air laut) dan tiga mayat yang dibuang ke dalam air selepas mati. Keputusan daripada kajian menunjukkan bahawa koliform (bakteria yang berasal daripada usus) dan streptococci dikenal pasti daripada mangsa yang lemas dalam air tawar dan air laut, tetapi tidak dijumpai pada mangsa yang dibuang ke dalam air selepas mati. Penemuan ini juga membuktikan bahawa koliform dan streptococci boleh digunakan sebagai penanda mati lemas.

Satu lagi keadaan yang sering bergantung pada mikrobiologi forensik ialah Sindrom Kematian Bayi Mendadak (*Sudden Infant Death Syndrome* atau SIDS), iaitu kematian bayi kurang daripada usia setahun yang tidak dijangka. Beberapa hipotesis dicadangkan untuk mengenal pasti punca penyebab SIDS, hal ini termasuk genetik, gangguan imunologi dan jangkitan atau sepsis. Hipotesis jangkitan/sepsis disokong oleh bukti apabila beberapa bakteria dan virus berjaya dijumpai di dalam sampel darah

dan tisu bayi. Kematian akibat SIDS mungkin dikaitkan dengan bakteremia atau toxemia yang berlaku pada bayi yang berumur 2–3 bulan kerana sistem imun yang tidak mencukupi untuk menentang jangkitan atau kegagalan bagi mengawal tindak balas imun. Dalam kes kematian bayi tidak dapat dijelaskan, bakteria seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteria utama yang dijumpai daripada sampel bayi. Selain bakteria, virus juga mempunyai potensi sebagai penyebab kematian bayi secara tiba-tiba. Virus yang dikenal pasti sebagai penyebab SIDS termasuklah adenovirus, HHV-6 (*Human Herpesvirus 6*), CMV (*Cytomegalovirus*), RSV (*Respiratory syncytial virus*), EBV (*Epstein-Barr virus*) dan Influenza virus.

Boleh disimpulkan di sini bahawa kajian mikrob yang berada di atas mayat ialah bidang penyelidikan yang relatif baharu dan berpotensi besar dalam aplikasi forensik. Demi perkembangan bidang ini, kaedah analisis yang betul dan tepat hendaklah dipatuhi. Hal ini termasuklah (i) penyimpanan mayat pada suhu 4°C untuk mengelakkan translokasi bakteria; (ii) pengumpulan sampel mayat harus dijalankan dalam tempoh 24 jam dan 48 jam selepas kematian; (iii) penggunaan alat yang betul dan steril, serta penggunaan media kultur yang sesuai, dan (iv) penghantaran segera sampel mayat ke makmal mikrobiologi untuk proses identifikasi.

Bidang mikrobiologi forensik masih baharu di Malaysia dan banyak lagi bakteria berasosiasi dengan mayat yang belum diteroka sepenuhnya dalam aplikasi forensik sebagai petunjuk waktu kematian, lokasi kematian, punca kematian dan cara kematian. Kajian lanjut harus dijalankan untuk mengenalpastikan jantina, umur, bangsa, keadaan kesihatan sebelum kematian, sejarah diet, persekitaran tempat duduk, hubungan antara manusia, serta infomasi yang lain dengan analisis thanatomikrobiom.

Dr. Heo Chong Chin, Pensyarah Kanan di Jabatan Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakulti Perubatan, UiTM.