

Revisión

El microbioma como herramienta emergente en la identificación humana: Perspectivas y aplicaciones forenses

The microbiome as an emerging tool in human identification: Forensic perspectives and applications

Luis Alberto Loyola ^{1,*}, Patricia Guevara-Ramírez ² y Emanuel Emilio Valera-Hurtado ³

¹ Universidad Católica de Cuenca, Unidad Académica de Criminología y Ciencias Forenses, Azogues 030101, Ecuador; <https://orcid.org/0009-0001-7966-1981>

² Universidad UTE, Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo, Centro de Investigación Genética y Genómica, Quito 170129, Ecuador; <https://orcid.org/0000-0002-4829-3653>; patyguevara28@gmail.com

³ Universidad Católica de Cuenca, Unidad Académica de Criminología y Ciencias Forenses, Azogues 030101, Ecuador; <https://orcid.org/0000-0003-3557-9799>; emanuel.valera@ucacue.edu.ec

Cita: Loyola, L. A., Guevara-Ramírez, P., & Valera-Hurtado, E. E. (2026). El microbioma como herramienta emergente en la identificación humana: Perspectivas y aplicaciones forenses. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 4(1), 166-187. <https://doi.org/10.70881/mc/v4/n1/117>

Recibido: 20/12/2025

Revisado: 22/01/2026

Aceptado: 25/01/2026

Publicado: 29/01/2026



Copyright: © 2026 por los autores. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la [Licencia Creative Commons, Atribución-No Comercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

* Correspondencia: luis.loyola@ucacue.edu.ec

 <https://doi.org/10.70881/mcj/v4/n1/117>

Resumen: En genética forense, los avances en biología molecular han permitido la identificación de sospechosos de un delito mediante el análisis de microsatélites. Sin embargo, cuando no se dispone de evidencia biológica humana para identificar al autor, la investigación tiene un alcance limitado. El microbioma humano se ha convertido en una nueva herramienta forense mediante el análisis de los perfiles microbianos característicos de cada individuo, según su ubicación dentro del cuerpo. Las técnicas de secuenciación empleadas son clave para determinar con mayor precisión las firmas microbianas utilizando plataformas y marcadores universales, como las regiones de ARN ribosómico 16S y las regiones espaciadoras transcritas internas (ITS). Las firmas microbianas pueden depositarse por contacto y persistir en el tiempo en condiciones ambientales que pueden influir en el análisis metagenómico y su interpretación. Por lo tanto, las aplicaciones del microbioma pueden abarcar desde la identificación de un sospechoso tras tocar un objeto o persona hasta su vinculación con la escena del crimen e incluso determinar su ubicación geográfica.

Palabras clave: microbioma humano; genética forense; secuenciación de próxima generación; ARN ribosómico 16S

Abstract: In forensic genetics, advances in molecular biology have enabled the identification of criminal suspects through microsatellite analysis. However, when human biological evidence is unavailable to identify the perpetrator, the investigation is limited. The human microbiome has become a new forensic tool through the analysis of microbial profiles characteristic of each individual, based on their location within the body. The sequencing techniques employed are key to more accurately determining microbial signatures using universal platforms and markers, such as 16S ribosomal RNA regions and internal transcribed spacer (ITS) regions. Microbial signatures can be deposited through contact and persist over time under environmental conditions that can influence metagenomic analysis and its

interpretation. Therefore, microbiome applications can range from identifying a suspect after they touch an object or person to linking them to a crime scene and even determining their geographic location.

Keywords: human microbiome; forensic genetics; next-generation sequencing; 16S ribosomal RNA

1. Introducción

La identificación forense tradicional, particularmente a través del análisis del ADN nuclear tiene sus inicios a mediados de los años 80 en Estados Unidos y Reino Unido como herramienta importante para la ciencia forense (Bukyia et al., 2021). Desde entonces el ADN como fuente de prueba en el ámbito penal ha sido la principal herramienta estándar para la individualización de personas con el fin de exonerar inocentes o condenar culpables, identificar cadáveres en desastres masivos y de individuos desaparecidos, en asuntos civiles como la herencia y la reunificación de niños huérfanos con otros familiares (Udogadi et al., 2020)

El ADN proporciona un perfil genético estadísticamente viable cuando se emplea un número suficiente de marcadores genéticos, excepto en el caso de gemelos monocigóticos que pueden distinguirse con información genética adicional (Gutiérrez-Hurtado et al., 2025). El método predominante del análisis forense del ADN son las repeticiones cortas en tándem (STRs) debido a que varían de un individuo a otro individuo en una población. La robustez de los marcadores STRs se fundamenta en la baja probabilidad de coincidencia aleatoria (PMR), que expresa la posibilidad de que dos individuos no relacionados compartan el mismo perfil genético, así como en su alto poder de discriminación, el cual mide la probabilidad de que dos perfiles genéticos seleccionados al azar en una población sean diferentes (J. M. Butler, 2011, 2023; Castillo-Ortiz et al., 2025).

La identificación de restos óseos es un paso crítico en la investigación forense, de hecho, la mayoría de los casos sin resolver involucran restos desconocidos. Según datos del Sistema Nacional de Personas Desaparecidas y No Identificadas (NAMUS) hasta marzo de 2024 se han reportado más de 24000 personas desaparecidas y 14600 personas no identificadas en los Estados Unidos, la mayoría de los casos sin resolver involucran restos óseos fragmentados, quemados, en descomposición o esqueletizados (Adserias-Garriga et al., 2024). Por otro lado, en el Ecuador el SNMLCF ha reportado avances relevantes en la consolidación de una base de datos nacional de perfiles genéticos, según su informe de rendición de cuentas de 2023 se identificó a 65 cadáveres, 12 piezas anatómicas y 10 presuntos desaparecidos tras el deslizamiento de tierra ocurrido en Alausí, estos resultados evidencian la capacidad del sistema forense para responder a desastres masivos. Además, hasta marzo de 2024 se registraron 3.794 personas privadas de libertad que proporcionaron voluntariamente muestras de ADN para su incorporación en la base de datos nacional. Estos avances reflejan el desarrollo progresivo de la genética forense en el Ecuador, sin embargo, existen limitaciones cuando no se dispone de ADN humano (Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, 2023).

La Organización Internacional de Policía Criminal (INTERPOL) establece como identificadores primarios a las huellas dactilares, la odontología y el ADN. Sin embargo, cuando los identificadores primarios no se pueden aplicar se recurren a una combinación de identificadores secundarios como la descripción de un perfil antropológico y los hallazgos médicos (Adserias-Garriga et al., 2024). Una de las limitaciones del ADN humano en contextos penales es la recuperación de las trazas de ADN dejadas por el perpetrador en el lugar de los hechos. En cuyo caso, la microbiología forense podría ser considerada como una herramienta complementaria cuando no hay ADN humano disponible, dando paso al uso del microbioma humano para la

identificación humana (Robinson et al., 2021). Como lo define Lederberg el microbioma humano representa una comunidad ecológica de microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que comparten nuestro cuerpo, incluidos bacterias, hongos, protozoos y virus. Estos microorganismos se distribuyen en diferentes sitios anatómicos que constituyen varios taxones (Franceschetti et al., 2024).

Los reportes de microbioma humano en varios países de América del Norte, Europa y Asia han contribuido hacia la investigación y desarrollo del microbioma como nueva herramienta emergente, sin embargo, en el Ecuador al momento no se han reportado investigaciones previas (Bisker et al., 2021; Lei et al., 2025a; Procopio et al., 2024). Las comunidades microbianas de la piel presentan rasgos individuales y estabilidad temporal suficiente para permitir trazabilidad sobre superficies y objetos. No obstante, la falta de estandarización metodológica, la variabilidad ambiental y la ausencia de estudios poblacionales locales limitan su validación judicial, por ello se requieren protocolos robustos y tasas de error definidas (Cho & Eom, 2021; Suvitha et al., 2025).

El objetivo de esta revisión es poner en consideración los alcances desarrollados, sus aplicaciones y limitaciones que pueden servir como recurso valioso para los profesionales forenses.

2. Materiales y Métodos

Se realizó una revisión narrativa de la literatura siguiendo las recomendaciones generales del método PRISMA para garantizar la transparencia y reproductibilidad del proceso de selección de estudios (Page et al., 2021). La búsqueda de artículos se llevó a cabo en las bases de datos de Scopus, PubMed y Google Scholar utilizando la siguiente combinación de palabras: (“human” AND “identification”) AND (“forensic” OR “forensics”) AND (“microbiome” OR “microbial”).

Como resultado inicial se identificaron 138 artículos potencialmente relevantes. El proceso de selección consistió en dos etapas: en primer lugar, se realizó una revisión meticulosa de los títulos y resúmenes para evaluar la pertinencia temática de cada estudio. Posteriormente, los artículos seleccionados fueron analizados mediante lectura completa del texto.

Se priorizaron estudios originales y de alta calidad metodológica, principalmente de carácter experimental, publicados mayoritariamente en inglés. Se excluyeron aquellos artículos a los que no se tuvo acceso al texto completo, así como los estudios que no abordaban de manera directa la identificación humana en el contexto forense a partir de microbioma.

3. Resultados

3.1. El microbioma como huella biológica

Esta revisión permitió identificar un conjunto de estudios experimentales y observacionales que evalúen el potencial del microbioma humano como herramienta forense. Los trabajos analizados indicaron que el microbioma humano se refiere a la diversa comunidad microbiana que habita en el cuerpo humano y su variabilidad se encuentra estrechamente relacionado con el lugar anatómico en el que se desarrollen, como la piel, la cavidad oral, el intestino, y los órganos sexuales (Ghemrawi et al., 2021). Esta variabilidad está modulada también por factores individuales y ambientales, incluyendo género, edad, ubicación geográfica del donante, entorno, higiene, dieta e incluso las interacciones con miembros del hogar y mascotas (Noyes et al., 2018).

Desde el punto de vista metodológico la mayoría de estudios para caracterizar la composición microbiana emplearon marcadores moleculares como el ARN ribosómico 16S (ARNr) para bacterias y las regiones transcritas internas (ITS) para hongos (Parfrey et al., 2014). En bacterias el ARNr 16S es un polirribonucleótido de 1500 nucleótidos (nt) aproximadamente codificado por el gen ADN ribosomal 16S (ADNr 16S) (Kimura et al., 2006; Schuwirth et al., 2005). Además, el ARNr cistronómico nuclear eucariótico en hongos consta de los genes 18S, 5.8S y 28S., los cuales por procesos post-transcripcionales generan dos espacios transcritos internos conocidos como regiones ITS1 e ITS2, siendo su tamaño aproximado de 650 pb. Para la clasificación filogenética de hongos se emplean primers universales (ITS1 e ITS4) y primers del gen ARNr 18S (Nilsson et al., 2009; Schoch et al., 2012).

En el ámbito forense, el microbioma ha emergido como una herramienta clave para desarrollar nuevas técnicas de identificación de individuos con aplicaciones que incluyen la transferencia por contacto de microorganismos en agresión sexual, cálculo del intervalo post mortem, identificación de fluidos corporales y determinación de la localización geográfica (J. M. Butler, 2023). La identificación por contacto a partir de objetos tocados por un individuo es posible por la transferencia, persistencia y recuperación del ADN microbiano depositado en superficies, sin embargo, este tipo de evidencia puede verse afectado por variables como el tiempo, la temperatura, la humedad y otras condiciones ambientales. Aun así, las investigaciones indican que la identificación basada en la transferencia microbiana de piel palmar a objeto tiene mayor precisión en comparación con otras partes del cuerpo (Schmedes et al., 2017). Según los estudios reportados el microbioma palmar mostró una precisión mayor para la identificación individual a partir de firmas microbianas transferidas a objetos como teclados y ratones, en comparación con el microbioma oral y nasal que alcanzó niveles más bajos. Las investigaciones se limitan a simular escenarios reales de casos criminales que están sujetos a variables como el entorno que puede influir en la caracterización microbiana (Cho & Eom, 2021; Lei et al., 2025b; Wang et al., 2022)

Por otro lado, la geolocalización forense evidenció que se puede vincular a un sospechoso con un lugar específico mediante el análisis del microbioma del suelo, ya que las comunidades microbianas presentan patrones asociados con una región geográfica determinada. Además, permite relacionar ciertos géneros y especies bacterianas presentes en el suelo adherido a los zapatos de un individuo, constituyendo una evidencia adicional de asociación geográfica (van Oorschot et al., 2021)

También, el estudio del microbioma del cadáver se ha convertido en un recurso valioso para la determinación del intervalo post mortem (IPM). Después de la muerte el cuerpo atraviesa procesos de autólisis, putrefacción y descomposición, durante los cuales se han desarrollado métodos estandarizados para el cálculo del IPM temprano (Pittner et al., 2020). Sin embargo, no existen métodos validados para estimar el IPM intermedio y tardío, por lo tanto, el uso del microbioma podría ser una herramienta para estimar la data de la muerte, debido a que se asocia el número de taxones que aumentan con las etapas de descomposición cadavérica mientras que la diversidad de especies por el contrario disminuye (DeBruyn & Hauther, 2017).

En casos de agresión sexual, los estudios indicaron que el microbioma puede ser complementario y aportar información adicional sobre los hechos. Estudios realizados en parejas heterosexuales han reportado alteraciones de la diversidad microbiana tras el contacto sexual, incluso en participantes que usaron preservativo durante el coito. Particularmente, el microbioma femenino constituye una evidencia valiosa, ya que presenta mayor abundancia de ciertas especies bacterianas como *Lactobacillus* que se transfieren al pene durante la relación sexual. Además, la caracterización microbiana de semen, saliva y fluido vaginal representa una metodología complementaria cuando las

pruebas bioquímicas se invalidan ante fluidos degradados y presencia de mezclas. Por lo tanto, el análisis de taxones microbianos en la identificación de fluidos es útil para estimar el tiempo de deposición (TsD), cuando el fluido ha abandonado su lugar de origen (Franceschetti et al., 2024).

Así mismo, las investigaciones en la transferencia microbiana después del contacto sexual muestra resultados prometedores para la identificación del agresor en delitos sexuales. En la mayoría de los estudios se logra detectar alteraciones del microbioma en ambos sexos después del coito, sin embargo, al momento no se cuenta con biomarcadores universales y la resolución del ARNr 16S es baja. Además, se encontró que el tamaño de la muestra es poco representativo y en algunos casos los fluidos fueron caracterizados individualmente. En uno de los experimentos se reportó un análisis de fluido vaginal y seminal con proporciones iguales, estos no son escenarios forenses reales ya que las proporciones son desiguales en su mayoría (Dixon et al., 2025; Gouello et al., 2024; Zhang et al., 2024)

En este contexto, el microbioma humano presenta una variabilidad interindividual significativa, lo que permite identificar firmas microbianas asociadas a cada persona, constituyendo una huella microbiana única. En la tabla 1 se observa una síntesis de los estudios que han evaluado esta interindividualidad mediante distintas metodologías de análisis microbianas como secuenciación masiva, secuenciación de escopeta y metagenómica utilizando plataformas como Illumina e Ion Torrent, así como también los resultados más relevantes y limitaciones de cada estudio. Esta síntesis permite visualizar de manera comparativa la evidencia disponible y las diferencias metodológicas entre las investigaciones reportadas hasta el momento sobre el microbioma.

Tabla 1.
Resumen de las técnicas y resultados de secuenciación del microbioma humano según el sitio corporal o fluido biológico

Estudio	Tipo de muestra	Número de participantes	Lugar	Técnica usada	Resultados relevantes	Limitaciones
(Cho & Eom, 2021)	Saliva, piel, fluidos vaginales y heces.	129 muestras	35 países participant es	Secuenciación de ADN de alto rendimiento o NGS	Difiera según la parte del cuerpo y la ubicación geográfica.	-Falta de protocolo estandarizado. -Las bases de datos microbianas disponibles son inadecuadas bajo diversas condiciones. -El microbioma cambia con el tiempo en un individuo.
(Dou et al., 2023)	Saliva y heces	50 individuos sanos: 30 estudiantes y 20 obreros	China	Secuenciación metagenómica	Las comunidades microbianas orales e intestinales de los estudiantes y trabajadores son significativamente diferentes.	-Tamaño de muestra pequeño. -Se deben incluir diversos grupos ocupacionales.
(Lei et al., 2025a)	Saliva, mucosa nasal y piel	220 individuos	Cuatro regiones de China	Secuenciación del gen ARNr 16S de longitud completa	El microbioma palmar mostró un efecto predictivo superior en comparación con el oral y el nasal.	-Los factores geográficos tuvieron un impacto menor en las bacterias nasales.
(Wang et al., 2022)	Saliva y mucosa bucal	50 participantes	China	Secuenciación de ARNr 16S de la región	El modelo de bosque aleatorio clasificó el	-Las especies bacterianas de poca abundancia

Estudio	Tipo de muestra	Número de participantes	Lugar	Técnica usada	Resultados relevantes	Limitaciones
				V3-V4 en la plataforma Illumina Novaseq	origen de la muestra (saliva o mucosa bucal) en el 93.3% de las muestras de prueba.	son susceptibles a perderse del microbiota original. -Los factores ambientales que afectan la abundancia bacteriana son impredecibles en la práctica forense real.
(Fierer et al., 2010)	Piel: punta de dedos, palma de la mano dominante y superficie de la piel de la axila derecha. Objetos: ratones/teclado	11 individuos	EE. UU.	Extracción: kit MO BIO PowerSoil DNA Isolation Secuenciación: pirosecuenciación del ARNr 16S Análisis Filogenético: Metrica UniFrac Análisis estadístico: Análisis de similitudes	Las comunidades bacterianas de la piel son altamente personalizadas y estables, mostrando gran variabilidad interindividual (solo ~13% de los filotipos se comparten entre dos personas). Obtuvieron vinculación alta entre ratones de computadora con la mano de su propietario frente a una base de datos de 270 individuos.	-Se requiere investigación adicional para evaluar la precisión de la técnica. Además, se debe evaluar otros objetos de diferentes materiales o superficies.
(Schmedes et al., 2017)	Piel: 14 sitios corporales (mejilla, palma hipotenar, pliegue inguinal, manubrio, fosa poplítea, antebrazo volar, entre otro)	12 individuos sanos	EEUU	Usaron conjuntos de datos de metagenomas de escopeta Clasificación Taxonómica: usaron MetaPhlan2	El estudio clasificó microbiomas cutáneos a sus donantes con precisiones de hasta el 100% en varios sitios corporales, demostrando la estabilidad individual hasta por casi 3 años. Los sitios de mayor relevancia forense fueron manubrio y la palma hipotenar mostrando altas tasas de clasificación precisa (97% y 96%, respectivamente)	-Tamaño muestral. -No probado en escenarios forenses reales -Requiere validación con ensayos multiplex
(Tozzo et al., 2020)	Microbiom a cutáneo Objetos: teclados/teclados/léfonos/superficies	18 estudios experimentales	Italia	Secuenciación: 16S ARNr Análisis Filogenético: Metrica UniFrac/ PCoA	-El microbioma de piel es personalizado y diferente entre individuos que dentro de un mismo individuo en el tiempo. -La variabilidad espacial por sitio corporal y la variabilidad temporal son	-Heterogeneidad metodológica (muestreo, extracción, pipelines) que impide comparaciones cuantitativas. -Tamaños muestrales pequeños y escasez de casos forenses reales.

Estudio	Tipo de muestra	Número de participantes	Lugar	Técnica usada	Resultados relevantes	Limitaciones
(Yilmaz et al., 2024)	Dedos índices de la mano derecha y barras espaciadas de 6 teclados	10 individuos adultos	Estambul	Amplificación de los genes 16S y 23S del ARNr y reacciones con enzimas de restricción. Análisis filogenético con el programa MEGA 7.	altas, pero la señal interpersonal persiste y puede distinguir individuos. -Las firmas cutáneas se transfieren a objetos y pueden vincularse al donante.	-Falta de estándares/validación y bases de datos de referencia comparables.
(Phan et al., 2020)	Hisopados de cartas de juego tocadas por mano derecha e izquierda	45 individuos	Australia	Amplificación de la región V4 del gen ARNr 16S. Secuenciación mediante la plataforma MiSeq (Illumina) Análisis informático mediante herramienta Qiime pipeline	Se encontraron correlaciones entre el perfil bacteriano y el género, etnia, tipo de dieta y uso de desinfectante de manos.	-Tamaño de muestra pequeño y distribución desigual dentro de los factores examinados. -Es probable que las bacterias examinadas provengan del microbioma transitorio en lugar del microbioma central.
(Benschop et al., 2012)	Hisopos vaginales vs muestras no vaginales	Exploración NGS: 240 muestras vaginales Validación de microarreglos: 43 muestras vaginales / 25 no vaginales	Países bajos	Amplicones 16S ARNr por NGS (caracterización inicial) + microarreglo dirigido (389 sondas a nivel de género/especie).	Alta heterogeneidad interpersonal del microbioma vaginal; no existe un único taxón que identifique todas las muestras vaginales y excluya todas las no vaginales.	-Ausencia de biomarcadores universales; solapamiento con sitios anatómicos cercanos. -Necesidad de modelos probabilísticos y paneles combinados; profundidad de secuenciación limitada para cepas.
(Dixon et al., 2025)	Hisopos de piel del pene e hisopos vaginales bajos	12 parejas heterosexuales con relaciones monógamas (más de 12 meses)	Australia	Secuenciación de genes de ARNr 16S de longitud completa mediante técnica PacBio para resolución a nivel de especie/subespecie	Se observó la transferencia de taxones únicos entre parejas durante el coito.	-Poca resolución a nivel de cepa con el gen ARNr 16S.
(Zhang et al., 2024)	Hisopos de saliva, semen, secreción vaginal y sangre menstrual	192 muestras de manchas de fluidos corporales	China	Secuenciación de alto rendimiento de la región variable 4 del gen 16 ARNr. Se usó la plataforma Illumina Novaseq para la secuenciación.	Las precisiones de identificación alcanzaron un valor alto incluso sin conocer el tiempo desde la deposición.	-Falta de muestras de casos forenses simulados. -No se incluyeron fluidos corporales mixtos.
(Ghemrawi et al., 2021)	Hisopos penianos y vaginales	10 participantes	EEUU	Secuenciación metagenómica de escopeta mediante ION Torrent S5XL. Para el análisis bioinformático se utilizó el CosmosID.	De las 199 cepas detectadas, 146 fueron exclusivas de muestras masculinas y 27 fueron exclusivas de	-Pequeño tamaño de la muestra.

Estudio	Tipo de muestra	Número de participantes	Lugar	Técnica usada	Resultados relevantes	Limitaciones
(Gouello et al., 2024)	Fluidos biológicos solos (saliva, fluido vaginal, sangre, semen e hisopos cutáneos digitales) y mezclados en proporción 1:1	30 participantes sanos (22 mujeres y 8 hombres)	Francia	NGS empleando enfoque metagenómico. Se amplificaron 7 regiones hipervariables. Se analizó alfa y beta diversidad	Los fluidos aislados revelaron una firma microbiana individual. La predominancia de los microbiomas oral y vaginal dificultó la detección de órdenes o géneros bacterianos de otros fluidos.	-Todos los fluidos se mezclaron en una proporción 1:1 para evitar sesgos de interpretación.

4. Discusión

4.1. Identificación de contacto y transferencia microbiana

La evidencia sintetizada en la Tabla 1 respalda de manera consistente que el microbioma humano presenta una variabilidad interindividual para ser considerado una huella biológica complementaria en el ámbito forense. Este principio es particularmente evidente en el microbioma cutáneo que emerge de forma recurrente como el compartimento con mayor potencial discriminatorio frente a otros microbiomas corporales. Los avances en genética forense han permitido obtener perfiles a partir de cantidades mínimas de material biológico. Esto ha ampliado el rango de superficies y objetos que pueden analizarse en una escena, pero también ha cambiado la pregunta clave de “¿A quién pertenece el ADN?” a “¿Cómo y cuando llegó el material biológico aquí?” (J. M. Butler, 2023; van Oorschot et al., 2021).

Esto se debe a que el ADN humano no solo se transfiere por contacto directo, sino también a través de diversas vías indirectas que incluyen cadenas de transferencia persona-persona-objeto y, persona-objeto-persona. Como resultado, los perfiles recuperados suelen ser mixtos y contener ADN preexistente depositado previamente en la superficie (J. M. Butler, 2023). En este contexto, el microbioma ha comenzado a explorarse como un complemento potencial a la genética tradicional en estudios de transferencia. Por ejemplo, Gosch et al. observaron en superficies de armas de fuego que la composición del ADN humano varía significativamente según la condición de manipulación, el tipo de arma y la superficie muestreada (Gosch et al., 2020). De manera similar, diversos estudios han confirmado que las comunidades microbianas de la piel pueden transferirse a objetos tras el contacto y permanecer detectables, incluso cuando el material biológico es mínimo, llegando a mantenerse hasta por dos semanas en condiciones específicas a diferencia del ADN humano que tiende a degradarse en condiciones ambientales de temperatura y humedad (Dass et al., 2025).

Aunque estas firmas están influenciadas por el sitio anatómico, el tipo de objeto y factores individuales como género, dieta, etnia y hábitos de higiene, presentan mayor estabilidad intrapersonal que interpersonal (Tozzo et al., 2020). Esto significa que la variación entre individuos puede ser más marcada que los cambios temporales dentro de una misma persona, lo que abre la posibilidad de vincular perfiles microbianos a un

individuo o compararlos con bases de datos de microbioma forense (J. M. Butler, 2023; Tozzo et al., 2020).

Adicionalmente, estudios en tejidos y superficies textiles han demostrado que diferentes composiciones materiales (algodón, mezclas o poliéster) conservan firmas microbianas transferidas por contacto, reforzando el potencial de este enfoque para escenarios donde los perfiles genéticos convencionales son insuficientes o no concluyentes (Lee et al., 2016). Asimismo, investigaciones que usaron secuenciación del gen ARNr 16S han reportado correlaciones entre la composición bacteriana de la piel y las características del donante, como el sexo, el origen étnico, el tipo de dieta y el uso de desinfectantes para manos. Por ejemplo, la presencia de bacterias como *Lactococcus* indicó dieta China, mientras que *Alloicoccus* se asoció a mujeres asiáticas usuarias de desinfectante (Phan et al., 2020). No obstante, la convivencia y el intercambio microbiano entre individuos pueden generar similitudes, limitando la discriminación absoluta (Hampton-Marcell et al., 2020).

Otros estudios involucran el uso del panel hidSkinPlex que contiene 286 marcadores. Las muestras se recolectaron de cuatro hombres y cuatro mujeres tomando 3 réplicas por cada sitio corporal incluyendo un manubrio, la palma de la mano no dominante y del pie. La precisión para la identificación individual fue del 100% para la mano, 96% para el manubrio y 92% para el pie, sin embargo, hubo casos en los que el algoritmo clasificó erróneamente una muestra (Schmedes et al., 2018). Similarmente, se ha reportado una mejora del panel hidSkinPlex+ con 365 marcadores que logró clasificar 459 muestras del microbioma de la piel con una precisión del 95% convirtiéndolo en una herramienta forense robusta (Sherier et al., 2022)

Aunque estas investigaciones muestran que los seres humanos dejan patrones microbianos detectables en ambientes y objetos, la aplicación forense aún está en desarrollo. Existen desafíos importantes, como la variabilidad natural entre individuos, la influencia del entorno y la necesidad de bases de datos amplias y estandarizadas. Por ahora, la evidencia indica que el microbioma puede complementar la genética forense tradicional, pero todavía no ofrece el nivel de especificidad y certeza requerido para su uso como herramienta independiente en investigaciones criminales.

4.2. Estimación del intervalo post mortem

Otro campo de aplicación con resultados prometedores es la estimación del intervalo post mortem que juega un papel clave en la ciencia forense, ya que permite reconstruir la cronología de los hechos, verificar coartadas y orientar la identificación de los restos humanos. Los métodos clásicos como el livor, algor y rigor mortis o el análisis entomológico han sido pilares en la estimación temporal de la muerte. Sin embargo, su precisión puede verse afectada por factores ambientales, fisiológicos y de conservación, especialmente en escenarios complejos o avanzados de descomposición (Anders et al., 2013; Shrestha et al., 2023)

En los últimos años, el microbioma post-mortem ha emergido como un indicador biológico complementario con alto potencial para el cálculo del tiempo transcurrido desde la muerte. Tras la muerte, el organismo pierde su homeostasis interna, iniciando una secuencia ecológica de proliferación microbiana conocida como necrobioma, donde participan microorganismos endógenos (propios del cuerpo) y exógenos (provenientes del ambiente) (Kaszubinski et al., 2020; Y & Isukapatla, 2025). Los estudios sugieren que estas comunidades siguen patrones ecológicos predecibles en función del tipo de tejido, el tiempo de descomposición y el ambiente, ofreciendo una oportunidad para

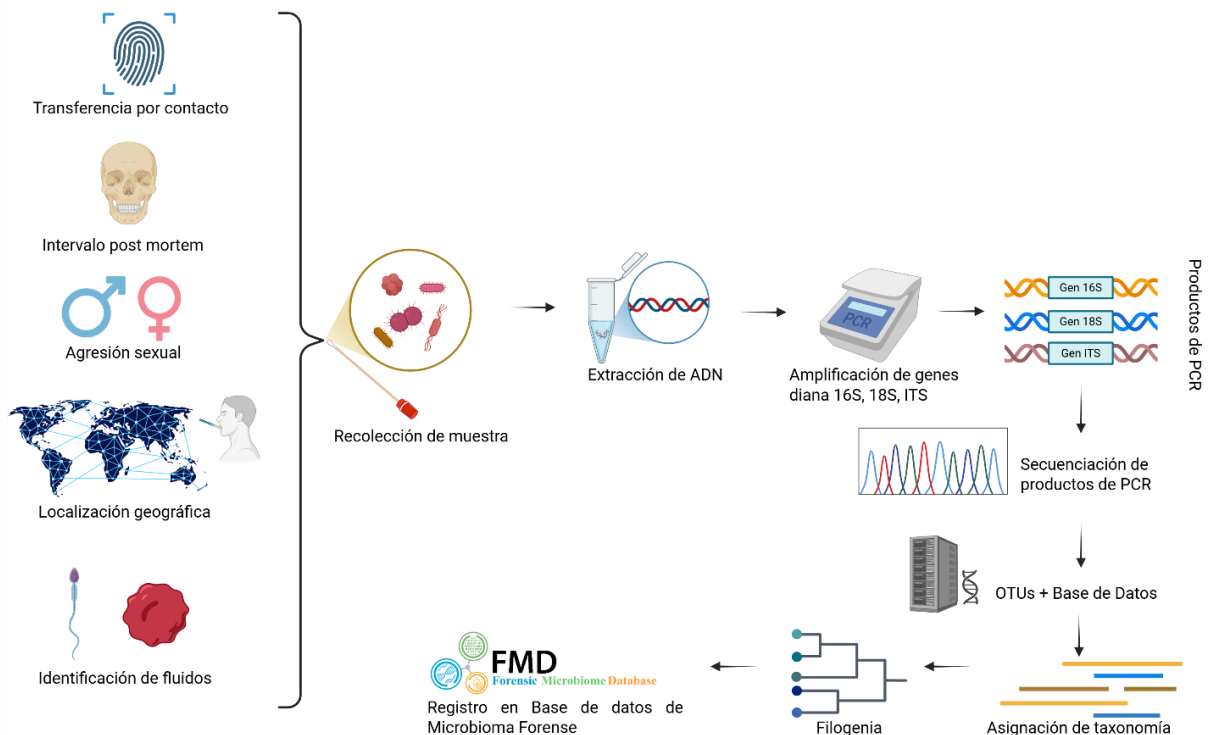
modelar el tiempo transcurrido desde la muerte mediante cambios microbianos (Moitas et al., 2023).

La tecnología de secuenciación de nueva generación aplicadas a regiones del ARNr 16S han permitido caracterizar las firmas microbianas de distintos tejidos y fluidos, demostrando que incluso muestras almacenadas durante largos periodos mantienen firmas biológicas útiles.(Sguazzi et al., 2022). En estudios experimentales, el análisis del microbioma ha mostrado alta correlación entre la composición bacteriana y el tiempo transcurrido desde la muerte, alcanzando errores promedio de predicción tan bajos como 1.7 días al analizar los primeros 25 días de descomposición mediante modelos de regresión (Belk et al., 2018)

Además, se ha explorado la utilidad de biomodelos animales, especialmente en roedores, que han confirmado patrones predictivos consistentes. En un modelo con ratas enterradas durante 60 días, se analizó la sucesión microbiana en suelo, recto y piel mediante secuenciación ARNr 16S. Se observaron cambios consistentes en la estructura bacteriana a lo largo de la descomposición, con una reducción de la diversidad en fases tardías. La composición microbiana mostró correlación significativa con el tiempo post-mortem, indicando un patrón sucesional predecible. Los modelos de *random forest* explicaron entre ~82 % y ~87 % de la variación y lograron errores promedio cercanos a 2 días, lo que confirma que tanto tejidos internos como el entorno externo pueden apoyar estimaciones del IPM en cadáveres enterrados con alta precisión (Zhang et al., 2021).

Figura 1.

El microbioma humano como herramienta forense.



Nota: aplicaciones del microbioma para la identificación de individuos mediante firmas microbianas **Fuente:** Creado en BioRender. LOYOLA, L. (2025) <https://BioRender.com/k840q7u>

De manera complementaria, estudios realizados con cadáveres humanos han confirmado la aplicabilidad del microbioma como estimador temporal, aunque con limitaciones debido al tamaño muestral. Un estudio realizó una evaluación multimodal de descomposición en cuerpos humanos enterrados en Europa. Se analizaron dos exhumaciones completas y ocho parciales, combinando métodos clásicos (evaluación morfológica, degradación proteica muscular y presencia de insectos necrófilos) con caracterización microbiana mediante secuenciación ARNr 16S. Se observaron cambios post-mortem detectables en cada enfoque, aunque su aplicabilidad estuvo condicionada por factores como la profundidad del entierro, la composición del suelo y las condiciones ambientales locales. El análisis microbiano reveló variación temporal asociada al IPM, pero evidenció la necesidad de ampliar la base de datos de referencia para restos enterrados, dada la limitada disponibilidad de muestras humanas y la alta influencia de variables contextuales (Pittner et al., 2020)

En conjunto, los estudios en modelos animales y humanos indican que las firmas microbianas ofrecen una vía prometedora para la datación post-mortem, especialmente cuando los biomarcadores tradicionales como los fenómenos cadavéricos y marcadores entomológicos pierden precisión a medida que aumenta el tiempo de muerte; no obstante, su implementación forense exige estandarización, datos ampliados en contextos reales y consideraciones ecológicas específicas del lugar del hallazgo.

4.3. Determinación de la localización geográfica

Por otro lado, el microbioma humano y ambiental puede reflejar características geográficas y culturales, lo que ha llevado a explorar su utilidad en la inferencia de procedencia en contextos forenses. En un estudio realizado en cuatro regiones de China, se recolectaron 220 muestras de la piel palmar, cavidad oral y nasal para un análisis comparativo basado en diferencias climáticas, dietarias y de estilo de vida. La secuenciación del gen completo 16S identificó taxones predominantes en cada región, incluyendo *Cutibacterium* en Shanghai y Kuming, mientras que *Psychrobacter* y *Psychrobacillus* dominaron Chifeng y Urumqi, respectivamente. Para la predicción geográfica se usó un modelo de aprendizaje automático utilizando el algoritmo de random forest, los resultados mostraron que el modelo pudo distinguir y predecir el origen geográfico de los individuos a partir de las muestras tomadas de la piel palmar (Lei et al., 2025b).

De manera complementaria, investigaciones del microbioma procedente del suelo en 61 distritos de 10 ciudades chinas mostraron una disminución de la similitud de las comunidades microbianas en relación a la distancia geográfica. Además, se observaron agrupaciones diferentes en la composición de las comunidades microbianas por ciudad o región cuando las ciudades estaban separadas por más de 1265 km, relacionando las ciudades y distritos con las comunidades microbianas con una precisión del 90% y 66.7% respectivamente. Este análisis proporciona una base para correlacionar los perfiles microbianos del suelo con bacterias adheridas a objetos, como los zapatos de un individuo para determinar su procedencia geográfica (Zhang et al., 2023)

Otro estudio reveló que la agrupación de huellas bacterianas en función del tipo de dieta estaba influenciada por la presencia o ausencia de ciertas unidades taxonómicas operacionales (OTUs). Por ejemplo, la ausencia de *Lactococcus* podría ser un indicador de patrones dietarios chinos, probablemente relacionados con un consumo reducido de productos lácteos. Mientras que la ausencia de *Alloicoccus* indicaba género femenino, origen étnico asiático e incluso uso de desinfectante de manos (Phan et al., 2020).

Sin embargo, no todos los estudios han encontrado señales geográficas claras. En Italia, un análisis de 50 muestras orales no mostró diferencias significativas en la diversidad alfa asociados a hábitos de vida como la dieta, la edad, la región de nacimiento, consumo de tabaco y alcohol o el uso de antibióticos. No obstante, una comparación entre microbiomas oral y cutáneo en un subgrupo (11 participantes) reveló mayor diversidad y riqueza en la piel, lo que sugiere que el microbiota cutáneo podría ofrecer mayor resolución para estudios de procedencia (Lovisolo et al., 2022).

En conjunto, estas investigaciones indican que, aunque existen patrones geográficos detectables en microbiomas humanos y ambientales, su aplicabilidad forense aún depende del desarrollo de bases de referencia amplias y estandarizadas, así como de modelos que consideren influencias ambientales, culturales y conductuales.

4.4. Transferencia del microbioma en casos de agresión sexual e identificación de fluidos

En el contexto de delitos sexuales el microbioma genital humano representa una prueba valiosa en casos de agresión sexual cuando la evidencia biológica masculina carece de espermatozoides, rastros de células epiteliales y sangre. En este contexto, las comunidades microbianas del tracto genital pueden actuar como “huellas microbianas” que reflejan contacto sexual, identidad individual y dinámica temporal de los fluidos biológicos (Ghemrawi et al., 2021).

Para que un perfil microbiano sea útil en la práctica forense, debe ser transferible, específico del sitio corporal (genitales), específico del sexo y mostrar estabilidad temporal (Ghemrawi et al., 2021). Las investigaciones han descrito que el microbioma vaginal se caracteriza por una estructura relativamente estable, dominada por *Lactobacillus spp.*, con fluctuaciones asociadas al ciclo menstrual, la edad, la etnia, los niveles hormonales y el uso de anticonceptivos (Ghemrawi et al., 2021; Noyes et al., 2018). Por el contrario, los mismos estudios reportaron bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Anaerococcus*, demostrando que el microbioma peneano presenta mayor diversidad y heterogeneidad. Estas características han revelado que la secuenciación metagenómica de escopeta tiene la ventaja de identificar taxones a nivel de especie, subespecie y cepa sin sesgos de amplificación, superando las limitaciones taxonómicas del análisis parcial del gen 16S ARNr (Ghemrawi et al., 2021).

También se ha investigado la transferencia de microbioma durante el coito de 12 parejas monógamas heterosexuales, los resultados han revelado que las comunidades bacterianas secuenciadas antes y después de las relaciones sexuales cambiaron significativamente con y sin el uso de preservativo. La transferencia de bacterias de los géneros *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* y *Prevotella corporis.*, desde la vagina hacia el pene fueron las más evidentes, mientras que del hombre a la mujer fueron escasas. Estos resultados muestran que la transferencia microbiana es detectable y que los taxones bacterianos tomados después del coito podrían utilizarse como marcador en casos de agresión sexual (Dixon et al., 2025)

La caracterización de los fluidos biológicos recolectados de una escena del crimen tradicionalmente se realiza mediante pruebas bioquímicas y la estimación del tiempo desde la deposición (TsD) requiere de métodos químicos como la cromatografía, sin embargo, en casos de fluidos biológicos transparentes como la saliva, semen y las secreciones vaginales presentan limitaciones. Se ha observado que las comunidades microbianas en los fluidos cambian con el tiempo tras la deposición, influenciadas por el entorno y la proliferación de microorganismos ambientales. Para una estimación precisa del TsD es fundamental identificar el tipo de fluido corporal, estos estudios son

herramientas complementarias para que los forenses reconstruyan los hechos a partir del análisis de manchas biológicas (Zhang et al., 2024).

A pesar de los avances recientes, el uso del microbioma en la práctica forense sigue enfrentando desafíos conceptuales, metodológicos y éticos. La primera limitación importante es la alta variabilidad temporal y espacial del microbioma humano y ambiental (Haarkötter et al., 2021; Zhang et al., 2022). La composición microbiana difiere entre individuos, entre regiones anatómicas, entre superficies tocadas y entre escenarios ecológicos. Además, el microbioma puede cambiar en pocas horas debido a clima, dieta, higiene, contacto interpersonal o exposición ambiental (Franceschetti et al., 2024b; Zhang et al., 2022). Esta variabilidad complica la identificación de perfiles microbianos estables para identificación individual, estimación del IPM o análisis de interacciones persona-objeto. Incluso sin modelos que integren esta variabilidad natural, la reproducibilidad de los estudios y la validez jurídica pueden verse limitadas (Gouello et al., 2024b).

La contaminación ambiental y la degradación molecular son limitaciones clave en el uso forense del microbioma. Los microorganismos exógenos del suelo, aire, agua o superficies pueden alterar el perfil microbiano del cuerpo u objeto analizado, especialmente en muestras degradadas o de baja biomasa (Cho & Eom, 2021). Aunque los algoritmos actuales ayudan a distinguir señales endógenas de contaminantes, aún no existe consenso sobre umbrales de autenticidad, controles negativos ni profundidad mínima de secuenciación para garantizar evidencia confiable (Cho & Eom, 2021; Selway et al., 2020).

Otra limitación es la disponibilidad de bases de datos poblacionales representativas. Si bien la Forensic Microbiome Database (FMD) (FMD: Forensic Microbiome Database, 2016.) constituye un recurso valioso para comparar datos del ARNr 16S y desarrollar modelos de geolocalización microbiana, su cobertura geográfica aún es parcial. Actualmente, incorpora datos de múltiples sitios corporales y se encuentra en proceso de expansión mediante la inclusión de muestras orales y fecales de mujeres adultas sanas de Hong Kong, Barbados, Chile y dos regiones de Sudáfrica. Estas ampliaciones ayudarán a corregir el sesgo hacia otras poblaciones; sin embargo, regiones como Latinoamérica continúan subrepresentadas. Sin bases de datos locales, las inferencias forenses pueden presentar errores de clasificación o predicciones sesgadas en escenarios reales (Nodari et al., 2024; Selway et al., 2020).

Además, las limitaciones metodológicas y tecnológicas implican ausencia de protocolos estandarizados en las diferentes etapas del proceso tales como muestreo, almacenamiento de muestras, extracción de ADN, regiones del gen 16S utilizadas, plataformas de secuenciación y pipelines bioinformáticos (I. Butler et al., 2025; Davidson et al., 2024). Incluso diferencias pequeñas en estos pasos pueden generar variaciones significativas en la composición microbiana reportada, dificultando la comparación entre estudios y la construcción de bases de datos globales. Además, muchos análisis se basan en correlaciones y no en causalidades, lo que exige precaución al interpretar resultados en contextos legales (Lyte et al., 2025; Selway et al., 2020).

Por otro lado, deben considerarse las implicaciones éticas asociadas al uso del microbioma en investigación y práctica forense. Los perfiles microbianos pueden revelar información altamente sensible, incluyendo datos sobre estado de salud, hábitos personales, enfermedades, dieta, exposición ambiental e incluso aspectos relacionados con la actividad sexual (Ma et al., 2018). Esta información genera importantes desafíos en términos de privacidad, consentimiento informado y uso secundario de datos, dado que los perfiles microbianos pueden revelar aspectos biológicos sensibles. Además, la capacidad de vincular microbiomas con individuos o con espacios privados refuerza la

necesidad de marcos regulatorios robustos, protocolos transparentes de gestión de datos y criterios estrictos para su buen uso en procesos judiciales (Ma et al., 2018; McGuire et al., 2008).

A pesar de estas limitaciones, las perspectivas futuras son altamente prometedoras. Avances en metagenómica, metatranscriptómica, proteómica y metabolómica podrían facilitar la caracterización microbiana, una caracterización más profunda y resolutive de las comunidades microbianas, abriendo nuevas posibilidades para diferenciar individuos, estimar intervalos temporales, identificar fluidos biológicos y reconstruir interacciones en escenarios forenses complejos (Fu et al., 2025; Liu et al., 2024; Secco et al., 2025). Paralelamente, la integración de estos datos con modelos de aprendizaje automático e inteligencia artificial promete predicciones más precisas, robustas y ajustables a condiciones ambientales diversas (Sreekutti et al., 2025).

El desarrollo de estas herramientas podría depender de la disponibilidad de biobancos regionales y bases de datos representativas, que permitan contextualizar los perfiles microbianos en función de la geografía, el clima y la diversidad poblacional. La consolidación de estos repositorios reducirá los sesgos de clasificación, fortalecerá los modelos predictivos y permitirá aplicaciones forenses más precisas en escenarios reales (Caenazzo & Tozzo, 2021).

Finalmente, será indispensable desarrollar estudios longitudinales de gran escala, incorporar cohortes de regiones tropicales y rurales subrepresentadas, y establecer protocolos internacionales estandarizados que aborden explícitamente escenarios de mezcla, degradación progresiva y condiciones de baja biomasa. La articulación de estos esfuerzos apunta hacia una evolución necesaria: la adopción de un marco interdisciplinario robusto, en el que confluyan la ciencia de datos, la ecología microbiana, la biología molecular y los principios de la medicina legal.

5. Conclusiones

Los estudios del microbioma han revelado que las técnicas de secuenciación de próxima generación son herramientas clave para el análisis de las comunidades microbianas, entre ellas la secuenciación metagenómica de escopeta y la secuenciación con plataformas Illumina presentan mayor eficiencia para identificar firmas microbianas.

El microbioma de la piel ha permitido inferir que la diversidad microbiana funciona como una huella biológica en un individuo tras tocar objetos o personas, sin embargo, hace falta simular escenarios criminales reales que pueden influir en la transferencia y persistencia de las comunidades microbianas cuando las muestras o evidencias son expuestas a la contaminación ambiental.

Los estudios también muestran resultados prometedores para la estimación del intervalo post mortem, pero hay que considerar que los biomodelos de predicción empleados deben ajustarse a las condiciones ambientales propias de cada nicho ecológico debido a que la mayoría son desarrollados en función de su lugar de origen geográfico.

Para la identificación de personas en casos de delitos sexuales hace falta estudios con muestras más representativas y bases de datos regionales que permitan una comparación precisa para diferenciar los perfiles individuales después del contacto sexual. En el caso de la geolocalización geográfica los resultados son débiles debido a que se ven afectados por los hábitos de vida de cada región a excepción de cuando las muestras procedían de la región palmar que muestran una precisión mayor, así mismo cuando se analizaban muestras procedentes del suelo de una región geográfica.

Es necesario fortalecer la investigación del microbioma mediante una estandarización de protocolos con más biomarcadores y biomodelos que se ajusten a los factores abióticos de cada región geográfica, así como también investigaciones con muestras más representativas y en escenarios reales. Si bien el microbioma puede ser una herramienta complementaria, no es una herramienta sustitutiva de la identificación forense tradicional especialmente cuando el ADN humano es escaso o degradado.

Agradecimientos: Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Católica de Cuenca y a la Universidad Tecnológica Equinoccial por proporcionar el tiempo académico y el entorno institucional necesarios para la preparación y redacción de este trabajo científico.

Contribución de los autores: Conceptualización, LA-L-E y AP-G-R; análisis formal, LA-L-E y AP-G-R; investigación, LA-L-E y AP-G-R; recursos, LA-L-E y EE-V-H; redacción del borrador original, LA-L-E y AP-G-R; redacción, revisión y edición, LA-L-E y AP-G-R; visualización, LA-L-E; AP-G-R y EE-V-H; supervisión, AP-G-R. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no ha recibido financiación externa.

Declaración de disponibilidad de datos: Los datos están disponibles previa solicitud a los autores de correspondencia: luis.loyola@ucacue.edu.ec

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Referencias Bibliográficas

- Adserias-Garriga, J., Feirstein, S., Bell, D., Skropits, H., & Dirkmaat, D. C. (2024). Human identification through forensic skeletal analysis: Three case reviews. *Forensic Sciences Research*, 9(3). <https://doi.org/10.1093/fsr/owae053>
- Anders, S., Kunz, M., Gehl, A., Sehner, S., Raupach, T., & Beck-Bornholdt, H. P. (2013). Estimation of the time since death-reconsidering the re-establishment of rigor mortis. *International Journal of Legal Medicine*, 127(1), 127–130. <https://doi.org/10.1007/S00414-011-0632-Z>
- Belk, A., Xu, Z. Z., Carter, D. O., Lynne, A., Bucheli, S., Knight, R., & Metcalf, J. L. (2018). Microbiome data accurately predicts the postmortem interval using random forest regression models. *Genes*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/genes9020104>
- Benschop, C. C. G., Quaak, F. C. A., Boon, M. E., Sijen, T., & Kuiper, I. (2012). Vaginal microbial flora analysis by next generation sequencing and microarrays; can microbes indicate vaginal origin in a forensic context? *International Journal of Legal Medicine*, 126(2), 303–310. <https://doi.org/10.1007/S00414-011-0660-8>
- Bisker, C., Taylor, G., Carney, H., & Ralebitso-Senior, T. K. (2021). A Combined Application of Molecular Microbial Ecology and Elemental Analyses Can Advance the Understanding of Decomposition Dynamics. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.605817>

- Bukyya, J. L., Tejasvi, M. L. A., Avinash, A., P., C. H., Talwade, P., Afroz, M. M., Pokala, A., Neela, P. K., Shyamilee, T. K., & Srisha, V. (2021). DNA Profiling in Forensic Science: A Review. *Global Medical Genetics*, 08(04), 135–143. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1728689>
- Butler, I., Turner, O., Mohammed, K., Akhtar, M., Evans, D., Lambourne, J., Harris, K., O'Sullivan, D. M., & Sergaki, C. (2025). Standardization of 16S rRNA gene sequencing using nanopore long read sequencing technology for clinical diagnosis of culture negative infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1517208. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2025.1517208/FULL>
- Butler, J. M. (2011). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2011-0-04189-3>
- Butler, J. M. (2023). Recent advances in forensic biology and forensic DNA typing: INTERPOL review 2019–2022. *Forensic Science International: Synergy*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2022.100311>
- Caenazzo, L., & Tozzo, P. (2021). Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification. *Healthcare*, 9(10), 1371. <https://doi.org/10.3390/HEALTHCARE9101371>
- Castillo-Ortiz, J., Salinas-Pineda, L., Huerta-Pacheco, N. S., & Guardado-Estrada, M. (2025). Foren-STR: a comprehensive tool for rapid calculation of forensic parameters from autosomal STR data. *International Journal of Legal Medicine*, 139(6), 2675–2679. <https://doi.org/10.1007/s00414-025-03540-z>
- Cho, H. W., & Eom, Y. Bin. (2021). Forensic Analysis of Human Microbiome in Skin and Body Fluids Based on Geographic Location. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 695191. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.695191>
- Dass, M., Abbai, N. S., & Ghai, M. (2025). The human skin microbiome: factors affecting individuality and application in forensic investigations. *International Journal of Legal Medicine* 2025, 1–18. <https://doi.org/10.1007/S00414-025-03610-2>
- Davidson, I. M., Nikbakht, E., Haupt, L. M., Ashton, K. J., & Dunn, P. J. (2024). Methodological approaches in 16S sequencing of female reproductive tract in fertility patients: a review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 42(1), 15. <https://doi.org/10.1007/S10815-024-03292-6>
- DeBruyn, J. M., & Hauther, K. A. (2017). Postmortem succession of gut microbial communities in deceased human subjects. *PeerJ*, 2017(6). <https://doi.org/10.7717/peerj.3437>
- Dixon, R., Egan, S., Payne, M., Mullally, C., & Chapman, B. (2025). Bacterial transfer during sexual intercourse as a tool for forensic detection. *IScience*, 28(2). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.111861>

- Dou, S., Ma, G., Liang, Y., Fu, G., Shen, J., Fu, L., Wang, Q., Li, T., Cong, B., & Li, S. (2023). Preliminary exploratory research on the application value of oral and intestinal meta-genomics in predicting subjects' occupations—A case study of the distinction between students and migrant workers. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1330603>
- Fierer, N., Lauber, C. L., Zhou, N., McDonald, D., Costello, E. K., & Knight, R. (2010). *Forensic identification using skin bacterial communities*. *107*(14), 6477–6481. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000162107>
- FMD: Forensic Microbiome Database. (n.d.). Retrieved September 17, 2025, from <http://fmd.jcvi.org/>
- Franceschetti, L., Lodetti, G., Blandino, A., Amadasi, A., & Bugelli, V. (2024a). Exploring the role of the human microbiome in forensic identification: opportunities and challenges. In *International Journal of Legal Medicine* (Vol. 138, Issue 5, pp. 1891–1905). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00414-024-03217-z>
- Franceschetti, L., Lodetti, G., Blandino, A., Amadasi, A., & Bugelli, V. (2024b). Exploring the role of the human microbiome in forensic identification: opportunities and challenges. *International Journal of Legal Medicine*, *138*(5), 1891–1905. <https://doi.org/10.1007/S00414-024-03217-Z>
- Fu, J., Song, B., Qian, J., Cheng, J., Chiampanichayakul, S., Anuchapreeda, S., & Fu, J. (2025). Exploring the Post Mortem Interval (PMI) Estimation Model by circRNA circRnf169 in Mouse Liver Tissue. *International Journal of Molecular Sciences* *2025*, Vol. *26*, Page *1046*, *26*(3), 1046. <https://doi.org/10.3390/IJMS26031046>
- Ghemrawi, M., Torres, A. R., Duncan, G., Colwell, R., Dadlani, M., & McCord, B. (2021). The genital microbiome and its potential for detecting sexual assault. *Forensic Science International: Genetics*, *51*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102432>
- Gosch, A., Euteneuer, J., Preuß-Wössner, J., & Courts, C. (2020). DNA transfer to firearms in alternative realistic handling scenarios. *Forensic Science International: Genetics*, *48*. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2020.102355>
- Gouello, A., Henry, L., Chadli, D., Salipante, F., Gibert, J., Boutet-Dubois, A., & Lavigne, J. P. (2024a). Evaluation of the Microbiome Identification of Forensically Relevant Biological Fluids: A Pilot Study. *Diagnostics*, *14*(2). <https://doi.org/10.3390/diagnostics14020187>
- Gouello, A., Henry, L., Chadli, D., Salipante, F., Gibert, J., Boutet-Dubois, A., & Lavigne, J. P. (2024b). Evaluation of the Microbiome Identification of Forensically Relevant Biological Fluids: A Pilot Study. *Diagnostics* *2024*, Vol. *14*, Page *187*, *14*(2), 187. <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS14020187>
- Gutiérrez-Hurtado, I. A., García-Acéves, M. E., Puga-Carrillo, Y., Guardado-Estrada, M., Becerra-Loaiza, D. S., Carrillo-Rodríguez, V. D., Plazola-

- Zamora, R., Godínez-Rubí, J. M., Rangel-Villalobos, H., & Aguilar-Velázquez, J. A. (2025). Past, Present and Future Perspectives of Forensic Genetics. In *Biomolecules* (Vol. 15, Issue 5). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biom15050713>
- Haarkötter, C., Saiz, M., Gálvez, X., Medina-Lozano, M. I., Álvarez, J. C., & Lorente, J. A. (2021). Usefulness of Microbiome for Forensic Geolocation: A Review. *Life* 2021, Vol. 11, Page 1322, 11(12), 1322. <https://doi.org/10.3390/LIFE11121322>
- Hampton-Marcell, J. T., Larsen, P., Anton, T., Cralle, L., Sangwan, N., Lax, S., Gottel, N., Salas-Garcia, M., Young, C., Duncan, G., Lopez, J. V., & Gilbert, J. A. (2020). Detecting personal microbiota signatures at artificial crime scenes. *Forensic Science International*, 313. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110351>
- Kaszubinski, S. F., Pechal, J. L., Smiles, K., Schmidt, C. J., Jordan, H. R., Meek, M. H., & Benbow, M. E. (2020). Dysbiosis in the Dead: Human Postmortem Microbiome Beta-Dispersion as an Indicator of Manner and Cause of Death. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.555347>
- Kimura, H., Sugihara, M., Kato, K., & Hanada, S. (2006). Selective phylogenetic analysis targeted at 16S rRNA genes of thermophiles and hyperthermophiles in deep-subsurface geothermal environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(1), 21–27. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.21-27.2006>
- Lee, S. Y., Woo, S. K., Lee, S. M., & Eom, Y. Bin. (2016). Forensic analysis using microbial community between skin bacteria and fabrics. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 8(3), 263–270. <https://doi.org/10.1007/S13530-016-0284-Y>
- Lei, Y., Li, M., Zhang, H., Deng, Y., Dong, X., Chen, P., Li, Y., Zhang, S., Li, C., Wang, S., & Tao, R. (2025a). Comparative analysis of the human microbiome from four different regions of China and machine learning-based geographical inference. *MSphere*, 10(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00672-24>
- Lei, Y., Li, M., Zhang, H., Deng, Y., Dong, X., Chen, P., Li, Y., Zhang, S., Li, C., Wang, S., & Tao, R. (2025b). Comparative analysis of the human microbiome from four different regions of China and machine learning-based geographical inference. *MSphere*, 10(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00672-24>
- Liu, Z., Liu, J., Geng, J., Wu, E., Zhu, J., Cong, B., Wu, R., & Sun, H. (2024). Metatranscriptomic characterization of six types of forensic samples and its potential application to body fluid/tissue identification: A pilot study. *Forensic Science International: Genetics*, 68. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2023.102978>
- Lovisolò, F., Ogbanga, N., Sguazzi, G., Renò, F., Migliario, M., Nelson, A., Procopio, N., & Gino, S. (2022). Oral and skin microbiome as potential tools

- in forensic field. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 8, 65–67. <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2022.09.024>
- Lyte, J. M., Seyoum, M. M., Ayala, D., Kers, J. G., Caputi, V., Johnson, T., Zhang, L., Rehberger, J., Zhang, G., Dridi, S., Hale, B., De Oliveira, J. E., Grum, D., Smith, A. H., Kogut, M., Ricke, S. C., Ballou, A., Potter, B., & Proszkowiec-Weglarz, M. (2025). Do we need a standardized 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis protocol for poultry microbiota research? *Poultry Science*, 104(7), 105242. <https://doi.org/10.1016/J.PSJ.2025.105242>
- Ma, Y., Chen, H., Lan, C., & Ren, J. (2018). Help, hope and hype: ethical considerations of human microbiome research and applications. *Protein & Cell* 2018 9:5, 9(5), 404–415. <https://doi.org/10.1007/S13238-018-0537-4>
- McGuire, A. L., Colgrove, J., Whitney, S. N., Diaz, C. M., Bustillos, D., & Versalovic, J. (2008). Ethical, legal, and social considerations in conducting the Human Microbiome Project. *Genome Research*, 18(12), 1861. <https://doi.org/10.1101/GR.081653.108>
- Moitas, B., Caldas, I. M., & Sampaio-Maia, B. (2023). Microbiology and postmortem interval: a systematic review. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 20(2), 696. <https://doi.org/10.1007/S12024-023-00733-Z>
- Nilsson, R. H., Ryberg, M., Abarenkov, K., Sjökvist, E., & Kristiansson, E. (2009). The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies. *FEMS Microbiology Letters*, 296(1), 97–101. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01618.x>
- Nodari, R., Arghittu, M., Bailo, P., Cattaneo, C., Creti, R., D'Aleo, F., Saegeman, V., Franceschetti, L., Novati, S., Fernández-Rodríguez, A., Verzeletti, A., Farina, C., & Bandi, C. (2024). Forensic Microbiology: When, Where and How. *Microorganisms* 2024, Vol. 12, Page 988, 12(5), 988. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12050988>
- Noyes, N., Cho, K. C., Ravel, J., Forney, L. J., & Abdo, Z. (2018). Associations between sexual habits, menstrual hygiene practices, demographics and the vaginal microbiome as revealed by Bayesian network analysis. *PLoS ONE*, 13(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191625>
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. In *BMJ* (Vol. 372). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
- Parfrey, L. W., Walters, W. A., Lauber, C. L., Clemente, J. C., Berg-Lyons, D., Telling, C., Kodira, C., Mohiuddin, M., Brunelle, J., Driscoll, M., Fierer, N., Gilbert, J. A., & Knight, R. (2014). Communities of microbial eukaryotes in the mammalian gut within the context of environmental eukaryotic diversity. *Frontiers in Microbiology*, 5(JUN). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00298>

- Phan, K., Barash, M., Spindler, X., Gunn, P., & Roux, C. (2020). Retrieving forensic information about the donor through bacterial profiling. *International Journal of Legal Medicine*, 134(1), 21–29. <https://doi.org/10.1007/s00414-019-02069-2>
- Pittner, S., Bugelli, V., Eric Benbow, M., Ehrenfellner, B., Zissler, A., Campobasso, C. P., Oostra, R. J., Aalders, M. C. G., Zehner, R., Lutz, L., Monticelli, F. C., Staufer, C., Helm, K., Pinchi, V., Receveur, J. P., Geißenberger, J., Steinbacher, P., & Amendt, J. (2020). The applicability of forensic time since death estimation methods for buried bodies in advanced decomposition stages. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243395>
- Procopio, N., Sguazzi, G., Eriksson, E. V., Ogbanga, N., McKell, F. C., Newton, E. P., Magni, P. A., Bonicelli, A., & Gino, S. (2024). Transferability of Human and Environmental Microbiome on Clothes as a Tool for Forensic Investigations. *Genes*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/genes15030375>
- Robinson, J. M., Pasternak, Z., Mason, C. E., & Elhaik, E. (2021). Forensic Applications of Microbiomics: A Review. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.608101>
- Schmedes, S. E., Woerner, A. E., & Budowle, B. (2017a). *Forensic Human Identification Using Skin Microbiomes*. <https://doi.org/10.1128/AEM>
- Schmedes, S. E., Woerner, A. E., & Budowle, B. (2017b). *Forensic Human Identification Using Skin Microbiomes*. <https://doi.org/10.1128/AEM>
- Schmedes, S. E., Woerner, A. E., Novroski, N. M. M., Wendt, F. R., King, J. L., Stephens, K. M., & Budowle, B. (2018). Targeted sequencing of clade-specific markers from skin microbiomes for forensic human identification. *Forensic Science International: Genetics*, 32, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.10.004>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K. D., Bai, F. Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M. J., Blackwell, M., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Schuwirth, B. S., Borovinskaya, M. A., Hau, C. W., Zhang, W., Vila-Sanjurjo, A., Holton, J. M., & Cate, J. H. D. (2005). Structures of the bacterial ribosome at 3.5 Å resolution. *Science*, 310(5749), 827–834. <https://doi.org/10.1126/science.1117230>
- Secco, L., Palumbi, S., Padalino, P., Grosso, E., Perilli, M., Casonato, M., Cecchetto, G., & Viel, G. (2025). “Omics” and Postmortem Interval

- Estimation: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 1034. <https://doi.org/10.3390/IJMS26031034/S1>
- Selway, C. A., Eisenhofer, R., & Weyrich, L. S. (2020). Microbiome applications for pathology: challenges of low microbial biomass samples during diagnostic testing. *The Journal of Pathology: Clinical Research*, 6(2), 97. <https://doi.org/10.1002/CJP2.151>
- Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. (2023). *Informe Preliminar de Rendición de Cuentas*. chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://www.cienciasforenses.gob.ec/wp-content/uploads/2024/03/Informe-preliminar-de-Rendicio%CC%81n-de-Cuentas-2023-SNMLCF.pdf?utm_source
- Sguazzi, G., Mickleburgh, H. L., Ghignone, S., Voyron, S., Renò, F., Migliario, M., Sellitto, F., Lovisolo, F., Camurani, G., Ogbanga, N., Gino, S., & Procopio, N. (2022). Microbial DNA in human nucleic acid extracts: Recoverability of the microbiome in DNA extracts stored frozen long-term and its potential and ethical implications for forensic investigation. *Forensic Science International: Genetics*, 59. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2022.102686>
- Sherier, A. J., Woerner, A. E., & Budowle, B. (2022). Determining Informative Microbial Single Nucleotide Polymorphisms for Human Identification. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(7). <https://doi.org/10.1128/aem.00052-22>
- Shrestha, R., Kanchan, T., & Krishan, K. (2023). Methods of Estimation of Time Since Death. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549867/>
- Sreekutti, S., Ndomondo, S., Sharma, P., Patel, R., & Mevada, V. (2025). Forensic application of metagenomics: Methods and future directions. *Journal of Microbiological Methods*, 239. <https://doi.org/10.1016/J.MIMET.2025.107300>
- Suvitha, M. R., Sona, A. S. A., Jose, L., Priyatha, C. V., & Prasad, M. S. S. (2025). Application of Microbiome in Forensics: A Critical Review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 19(4), 2441–2456. <https://doi.org/10.22207/JPAM.19.4.37>
- Tozzo, P., D'angiolella, G., Brun, P., Castagliuolo, I., Gino, S., & Caenazzo, L. (2020). Skin Microbiome Analysis for Forensic Human Identification: What Do We Know So Far? *Microorganisms*, 8(6), 1–19. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8060873>
- Udogadi, N. S., Abdullahi, M. K., Bukola, A. T., Imose, O. P., & Esewi, A. D. (2020). Forensic dna profiling: Autosomal short tandem repeat as a prominent marker in crime investigation. In *Malaysian Journal of Medical Sciences* (Vol. 27, Issue 4, pp. 22–35). Penerbit Universiti Sains Malaysia. <https://doi.org/10.21315/mjms2020.27.4.3>

- van Oorschot, R. A. H., Meakin, G. E., Kokshoorn, B., Goray, M., & Szkuta, B. (2021). DNA transfer in forensic science: recent progress towards meeting challenges. In *Genes* (Vol. 12, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/genes12111766>
- Wang, S., Song, F., Gu, H., Wei, X., Zhang, K., Zhou, Y., & Luo, H. (2022). Comparative Evaluation of the Salivary and Buccal Mucosal Microbiota by 16S rRNA Sequencing for Forensic Investigations. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.777882>
- Y, K., & Isukapatla, A. R. (2025). Postmortem Microbiome dynamics: Review of forensic microbial clock. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 103024. <https://doi.org/10.1016/J.JFLM.2025.103024>
- Yılmaz, S. S., Kuşkucu, M. A., Çakan, H., & Aygün, G. (2024). Effective use of skin microbiome signatures for fingerprint identification. *Skin Research and Technology*, 30(9). <https://doi.org/10.1111/srt.70052>
- Zhang, J., Liu, W., Simayijiang, H., Hu, P., & Yan, J. (2022). Application of Microbiome in Forensics. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 21(1), 97. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2022.07.007>
- Zhang, J., Liu, W., Simayijiang, H., Hu, P., & Yan, J. (2023). Application of Microbiome in Forensics. In *Genomics, Proteomics and Bioinformatics* (Vol. 21, Issue 1, pp. 97–107). Beijing Genomics Institute. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.07.007>
- Zhang, J., Wang, M., Qi, X., Shi, L., Zhang, J., Zhang, X., Yang, T., Ren, J., Liu, F., Zhang, G., & Yan, J. (2021). Predicting the postmortem interval of burial cadavers based on microbial community succession. *Forensic Science International: Genetics*, 52. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102488>
- Zhang, J., Yu, D., Wang, T., Gao, N., Shi, L., Wang, Y., Huo, Y., Ji, Z., Li, J., Zhang, X., Zhang, L., & Yan, J. (2024). Body fluids should be identified before estimating the time since deposition (TsD) in microbiome-based stain analyses for forensics. *Microbiology Spectrum*, 12(4). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02480-23>