

Estudios de microbiota y microbioma en Argentina: ¿Dónde estamos y hacia dónde vamos?

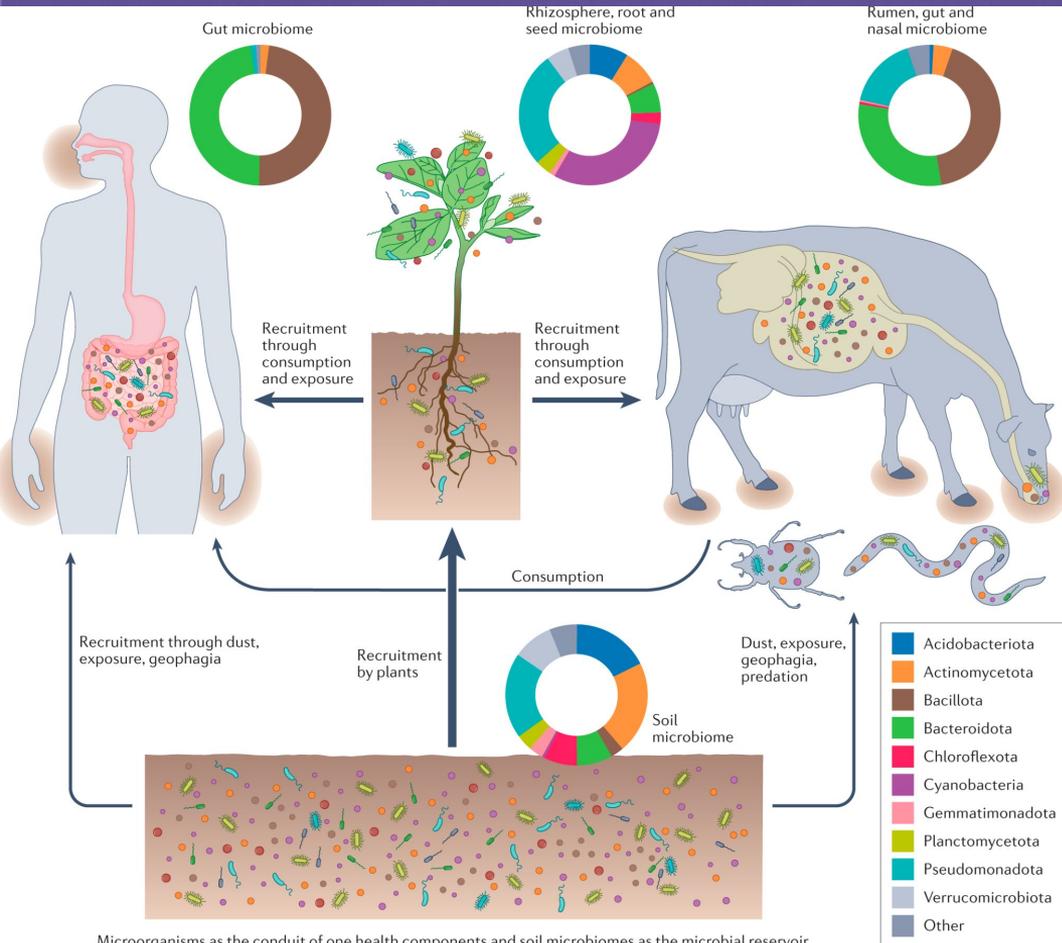


Dr. Juan Bustamante

Investigador Principal MicrobiAr
Investigador CONICET en FI-UA
Profesor y Dir. Académico en Ing. Biomédica FI-UA
Profesor en FI-UNER



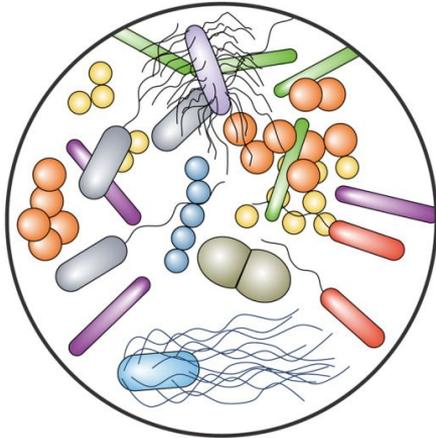
II Jornadas de Genómica Clínica



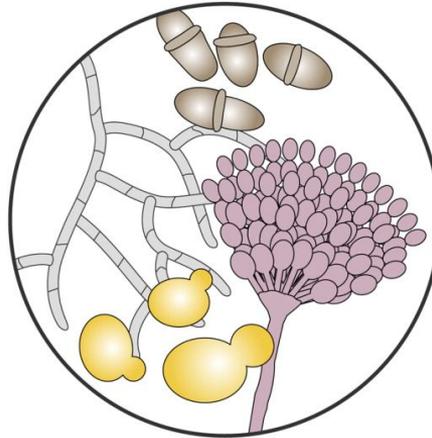
Microorganisms as the conduit of one health components and soil microbiomes as the microbial reservoir

Microbiota intestinal

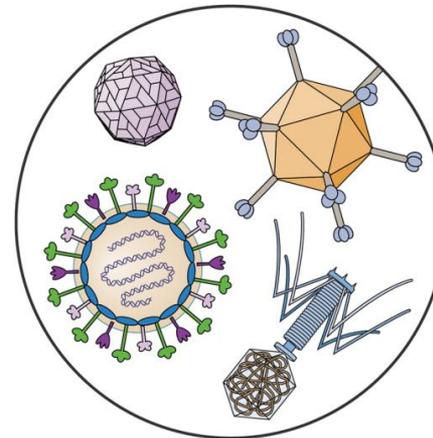
Bacterial Microbiota:
 10^{13} – 10^{14}
(Bacteriome)



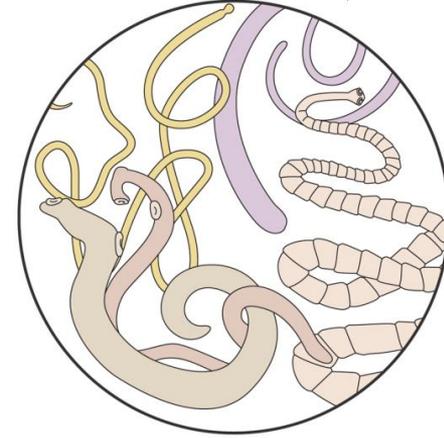
Fungal Microbiota:
 10^{12} – 10^{13}
(Mycobiome)



Viral Microbiota:
 10^{14} – 10^{15}
(Virome)



Helminths:
 0 – 10^4
(Macrobiota)

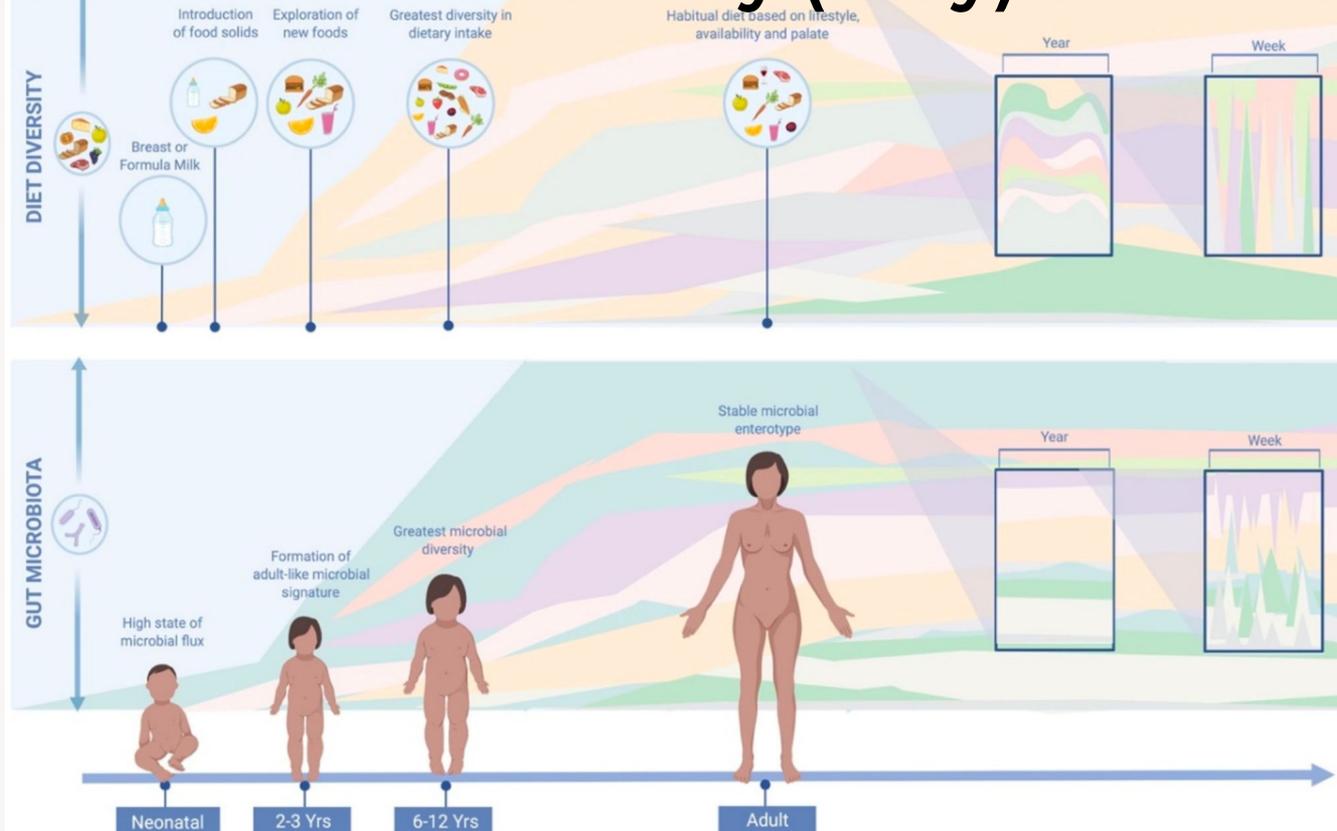


Hacia los ensayos clínicos: Consideraciones principales

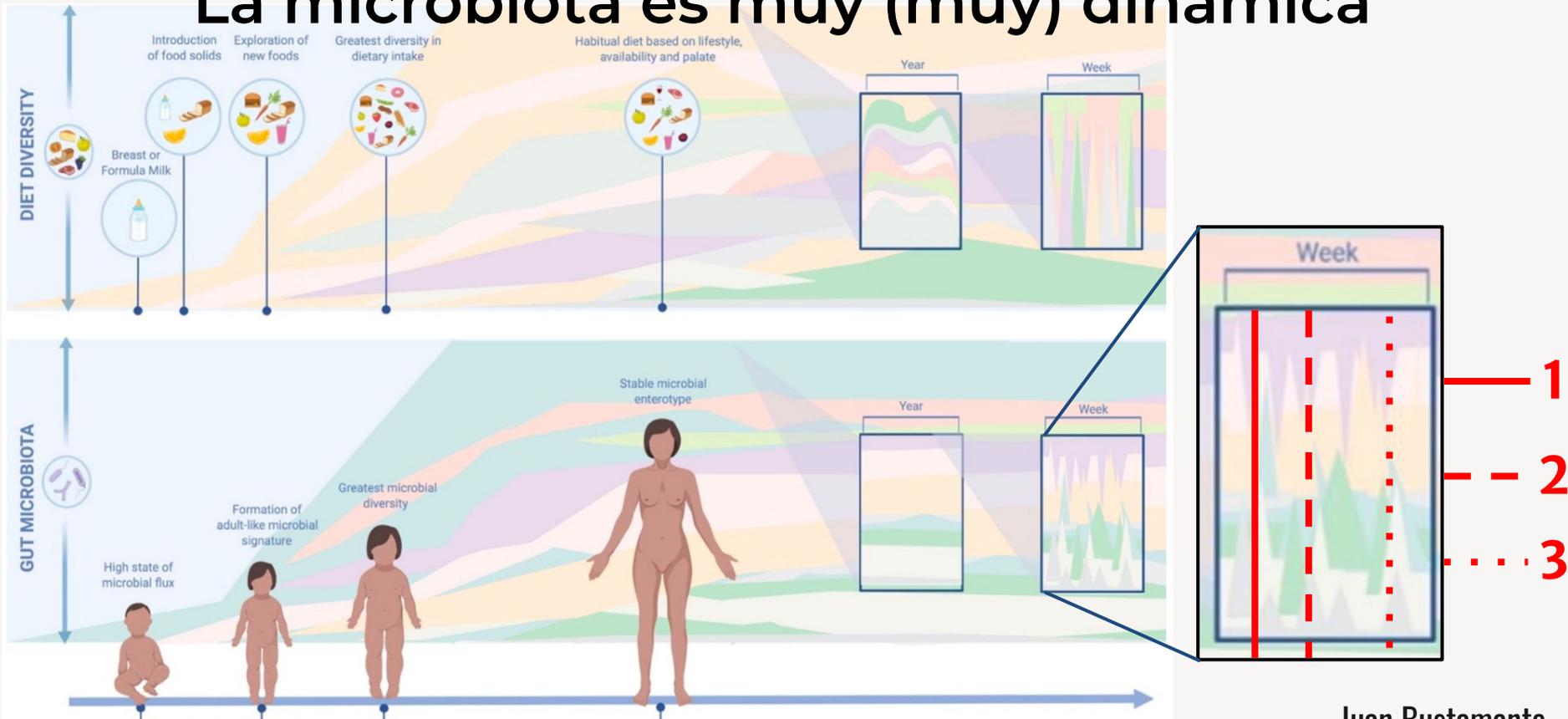
 **Características de la microbiota**

 **Protocolos metodológicos para muestrear
correctamente la microbiota presente**

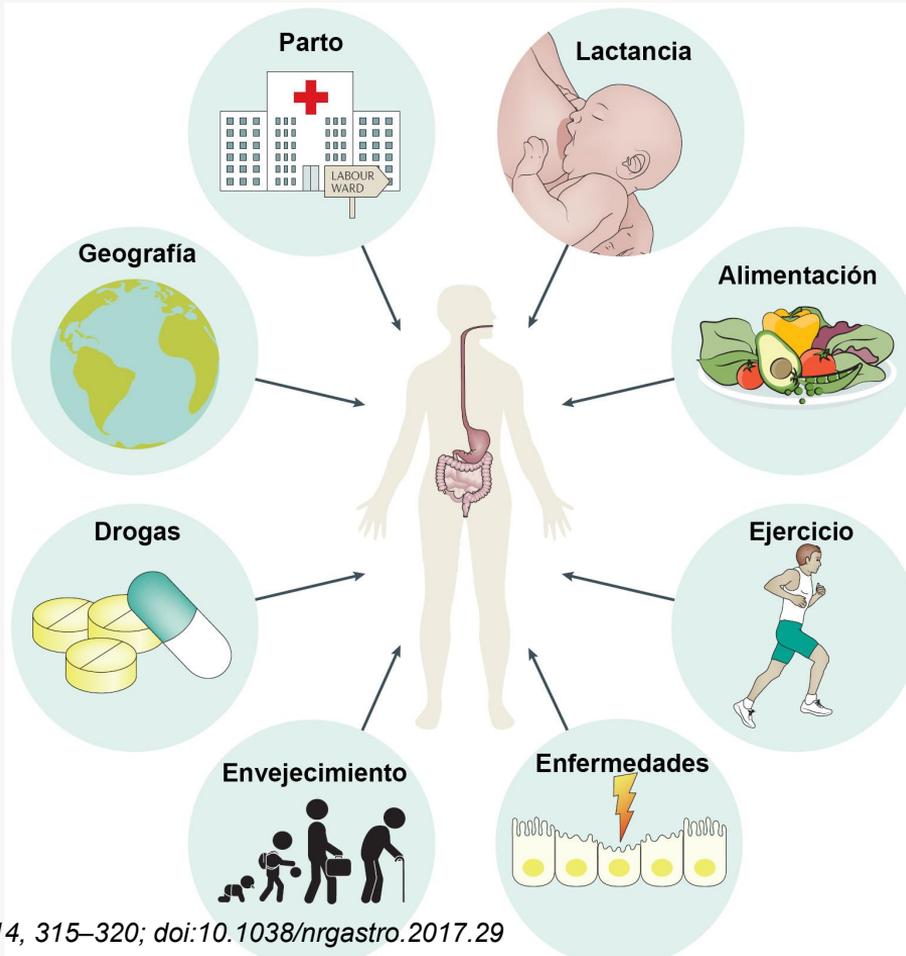
La microbiota es muy (muy) dinámica



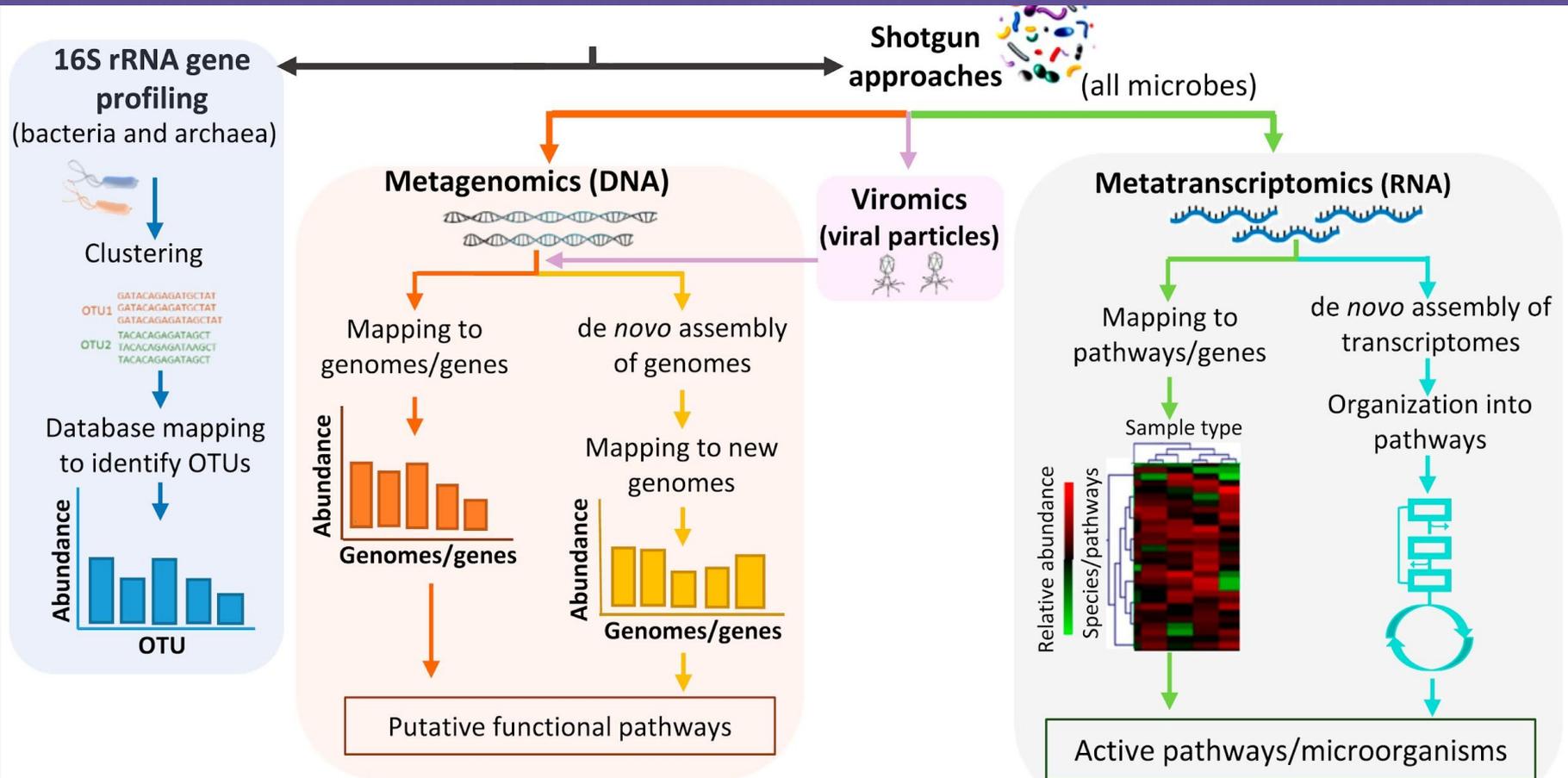
La microbiota es muy (muy) dinámica



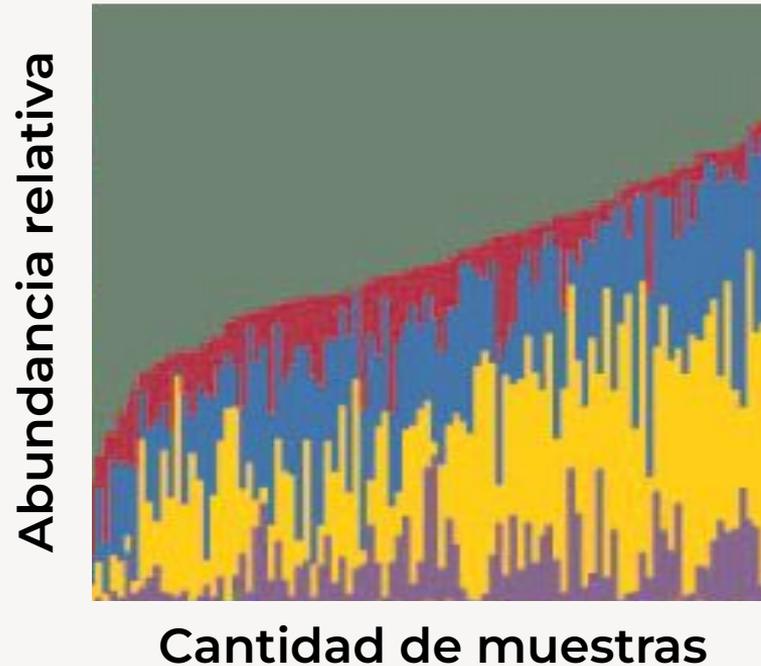
Factores que modifican/ modulan la microbiota



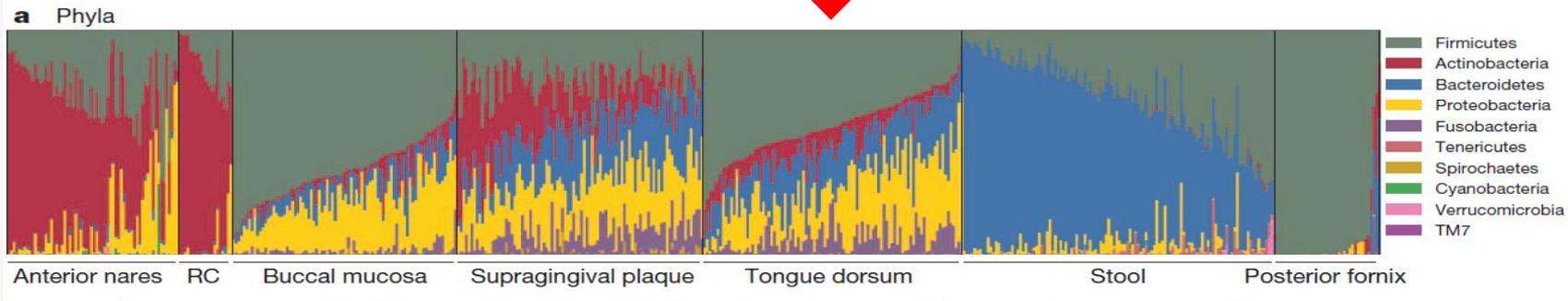
II Jornadas de Genómica Clínica



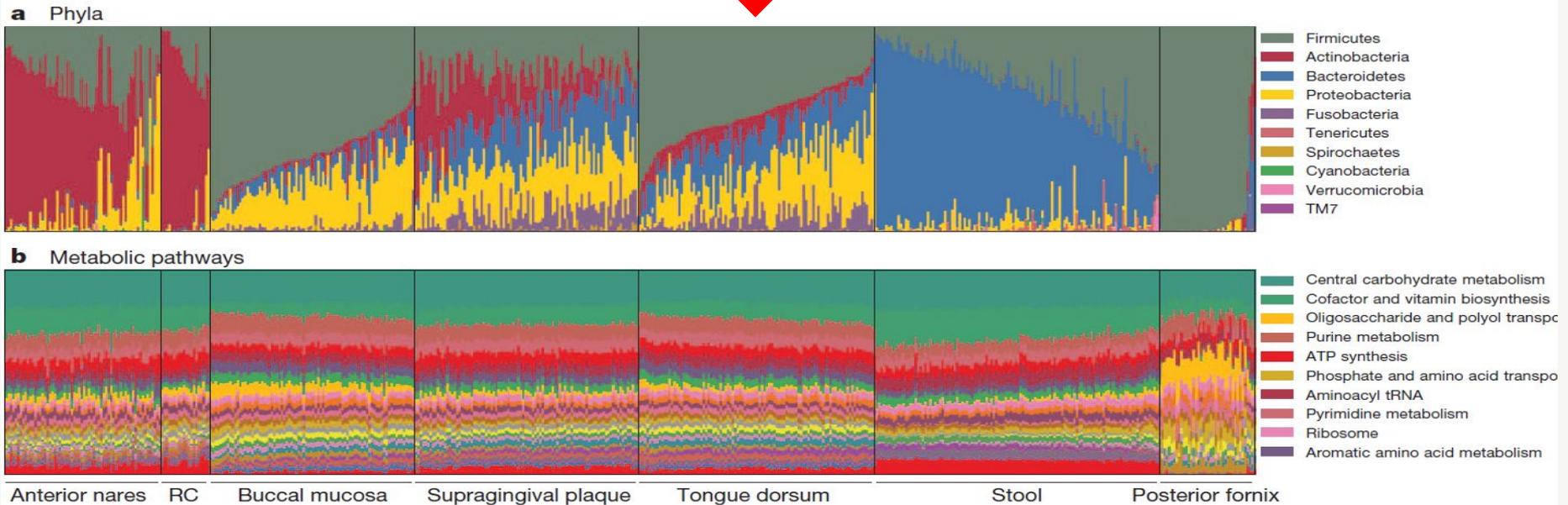
Identificación taxonómica vs Funcionalidad

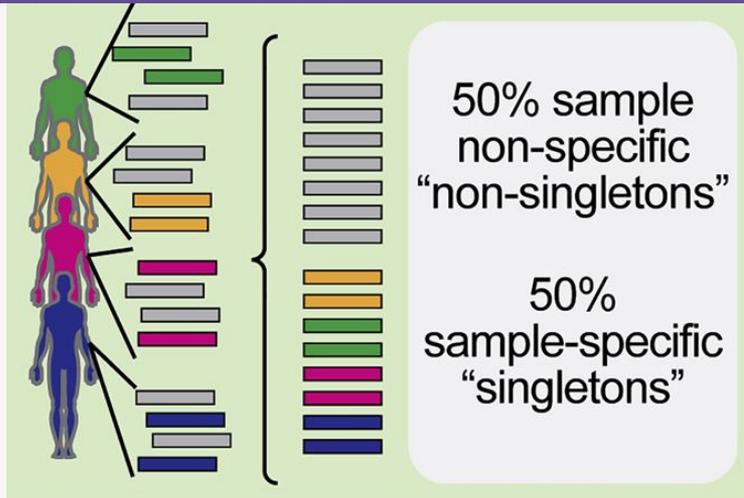


Identificación taxonómica vs Funcionalidad



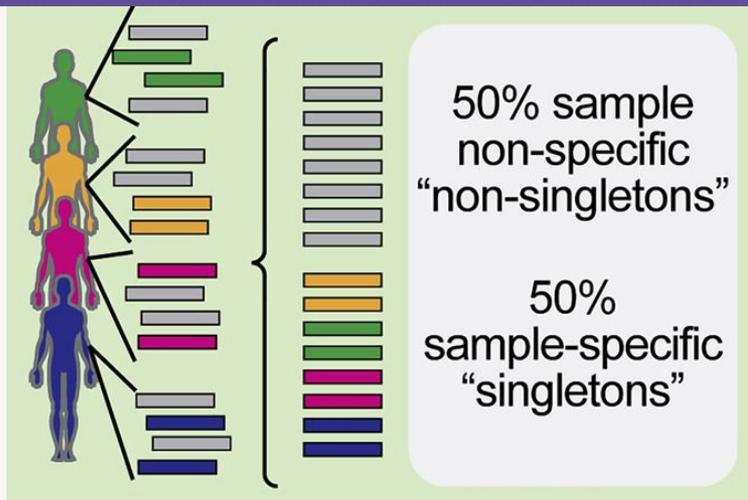
Identificación taxonómica vs Funcionalidad





~50%

de los genes en una muestra son
únicos de cada individuo



~50%

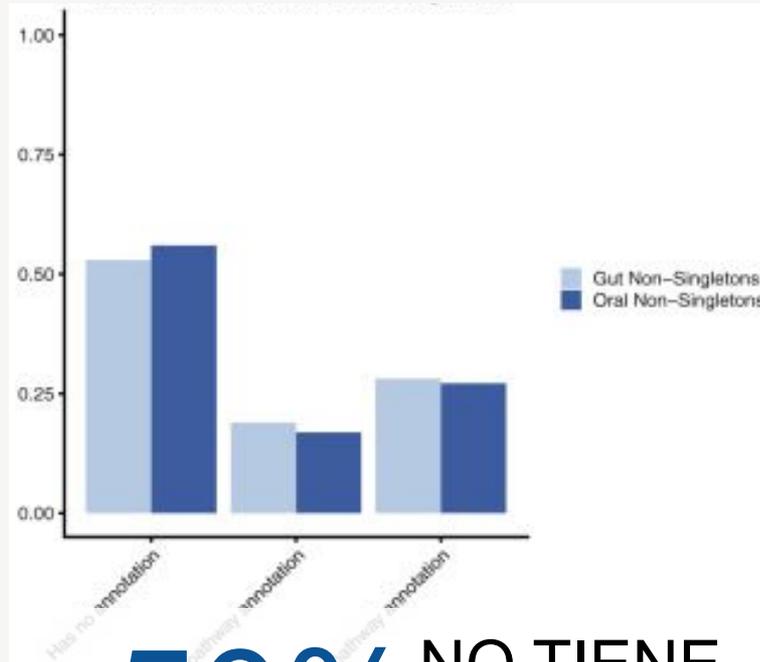
de los genes en una muestra son
únicos de cada individuo

La microbiota individual
es una

huella digital

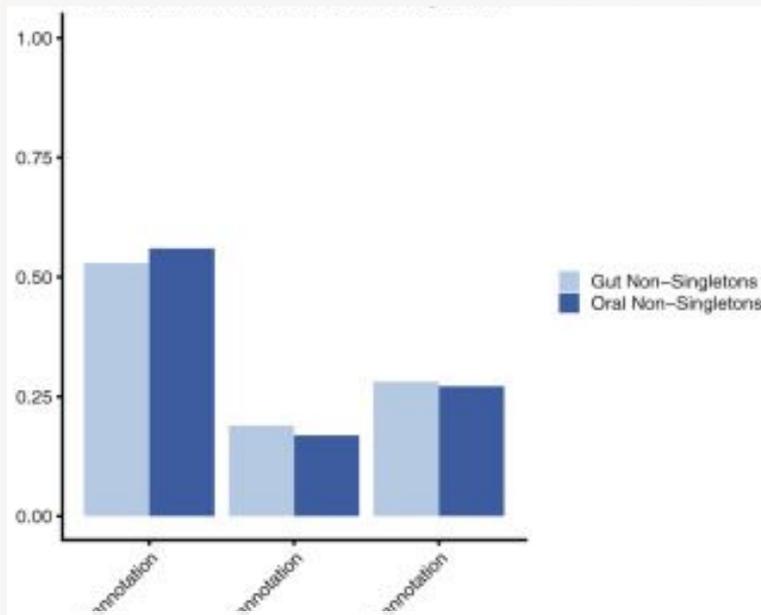
a través de microbios "raros", poco
frecuentes y/o únicos

Anotaciones funcionales

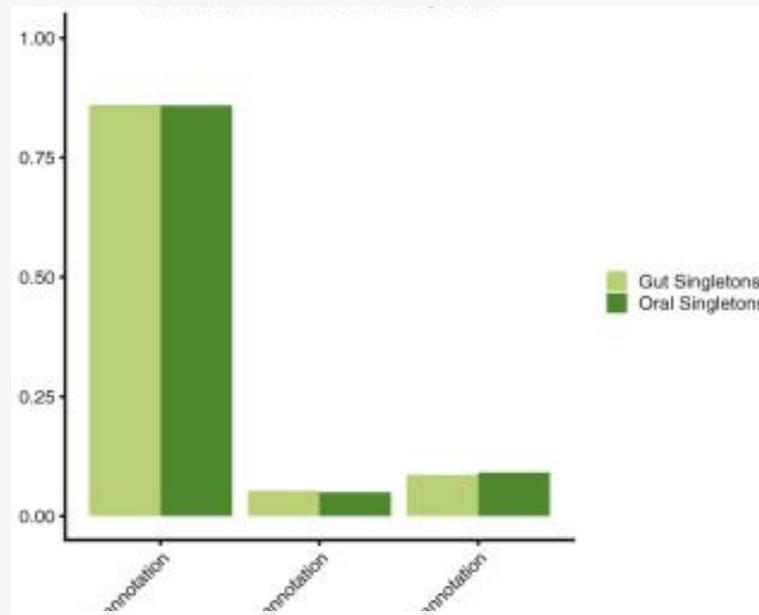


~50% NO TIENE
anotación
genes detectados en más de una muestra de
metagenómica

Anotaciones funcionales



~50% NO TIENE anotación
genes detectados en más de una muestra de metagenómica



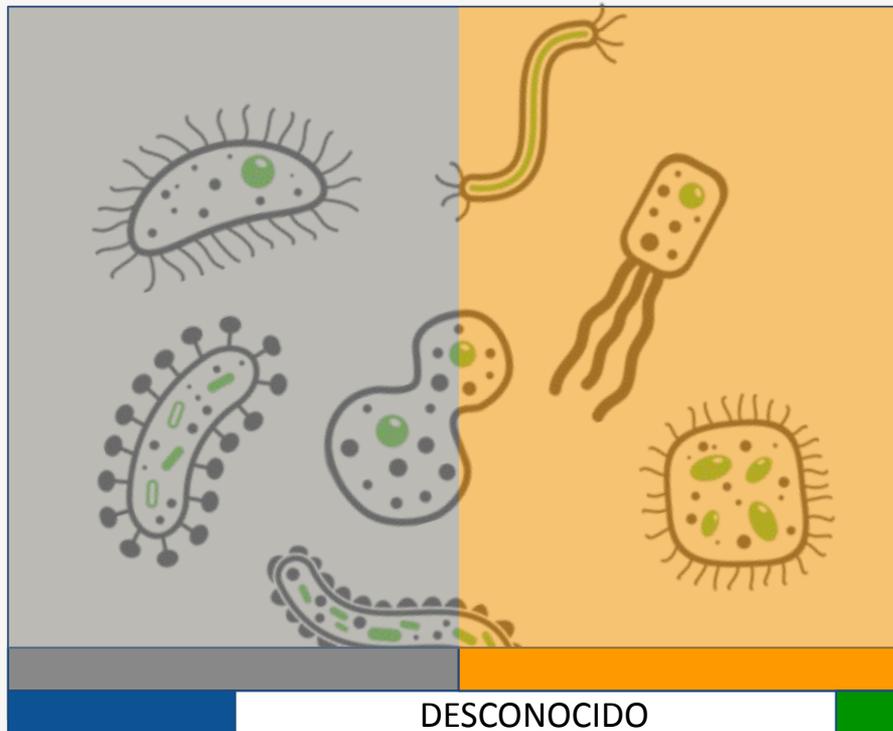
~85% NO TIENE anotación
genes detectados en **solo** una muestra de metagenómica

Genes compartidos

50%

25%

Anotaciones conocidas

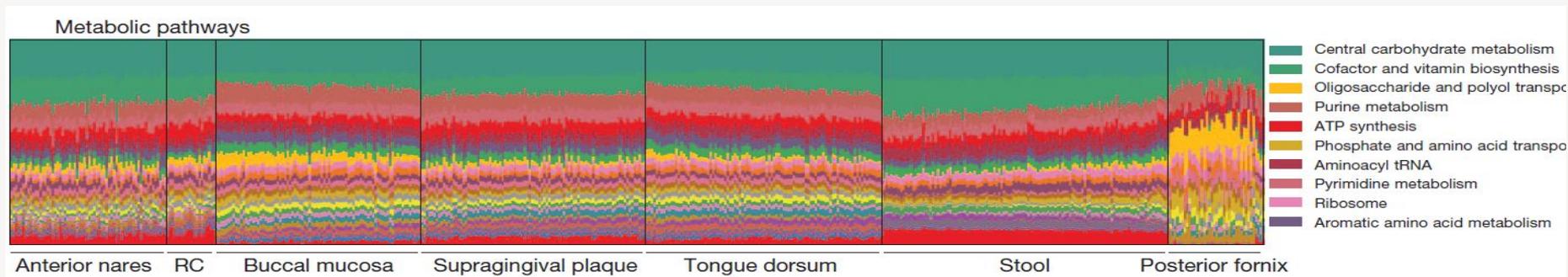


Genes únicos

50%

15%

Anotaciones conocidas



Asumir una redundancia funcional absoluta es parcialmente cierto

Degradación de oxalato 🦠 *Oxalobacter formigenes*

Degradación de almidón resistente 🦠 *Ruminococcus bromii*

Tierney BT et al. *Cell Host & Microbe* 2019.

A.W. Walker & L. Hoyles. *Human microbiome myths and misconceptions. Nature Microbiology* 2023.

Daniel, S. L. et al. *Forty years of Oxalobacter formigenes, a gutsy oxalate-degrading specialist. Appl. Environ. Microbiol.* 2021.

Ze, X., Duncan et al. *Ruminococcus bromii is a keystone species for the degradation of (...). ISME J.* 2012.

Comparando resultados de publicaciones de ensayos clínicos en microbiota...

... y la metodología utilizada???

**“You’re benchmarking what the analysis is doing,
not necessarily what’s in the community”**

Lynn Schriml of the University of Maryland Institute for Genome Sciences

¿Qué sucede con controles de referencia? (llamados “sanos”)



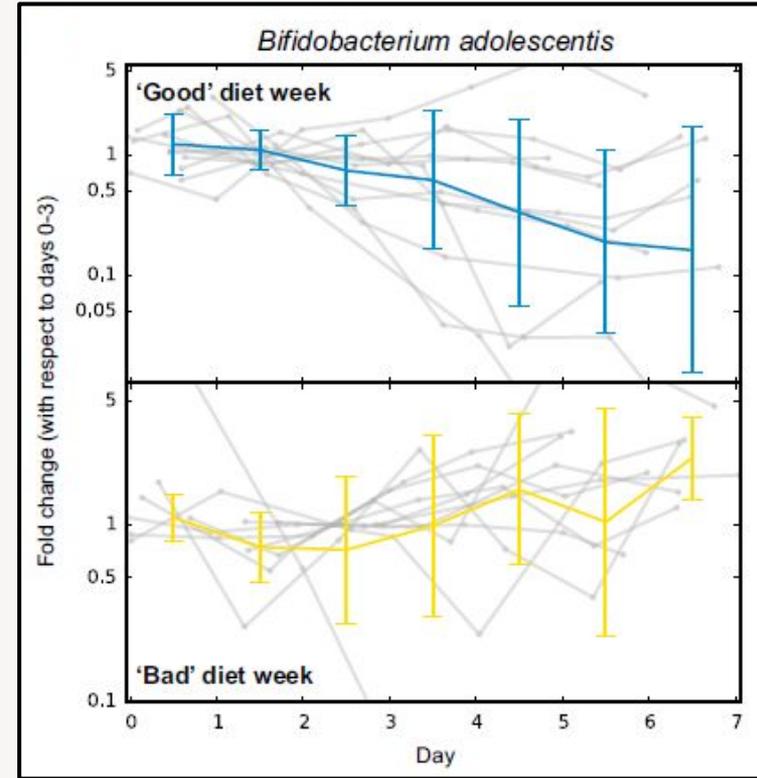
Los controles de referencia **no pueden ser usados como universales;**



Los controles **dependen de la naturaleza de la variable o conjunto de variables a estudiar;**



Los controles requieren de un **muestreo convergido.**



Paper A

Paper B

¿Conclusión?

1

↑ *Clostridium hathewayi*

↓ *Clostridium hathewayi*

↓ *Clostridium*

↓ *Clostridium hathewayi*

2

↑ *Escherichia coli*

↓ *Escherichia coli* O157

Paper A

Paper B

¿Conclusión?

DEPENDE (...)

Depende de variables medidas, de diseño experimental, método de muestreo, resolución técnica de identificación de microbios, recolección de las muestras, momento de recolección de las muestras, (falta de) convergencia de las variables medidas, (falta de) muestreo, reproducibilidad, ...

1

↑ *Clostridium hathewayi*

↓ *Clostridium hathewayi*

↑ *Clostridium*

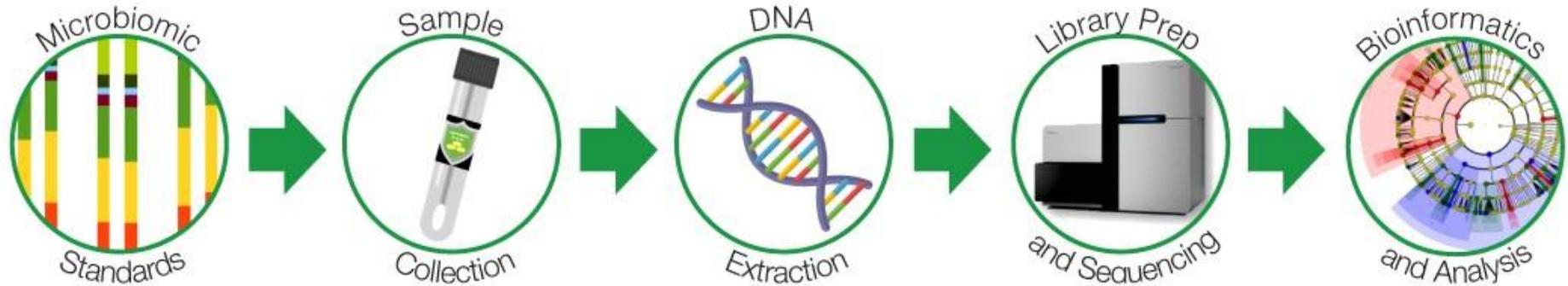
↓ *Clostridium hathewayi*

2

↑ *Escherichia coli*

↓ *Escherichia coli* O157

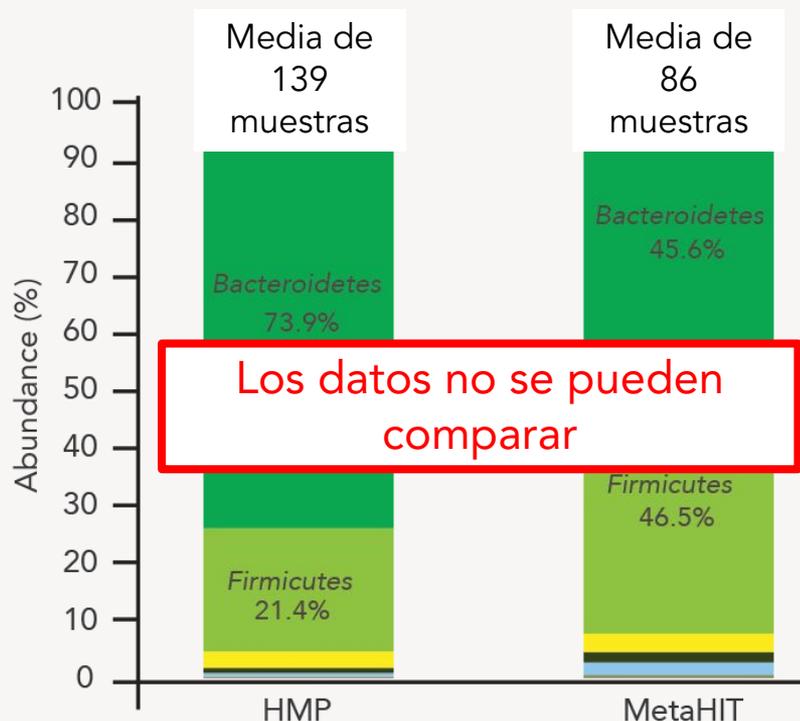
Estándares para procesamiento y análisis de microbiota y microbioma



La taxonomía identificada depende de la región secuenciada

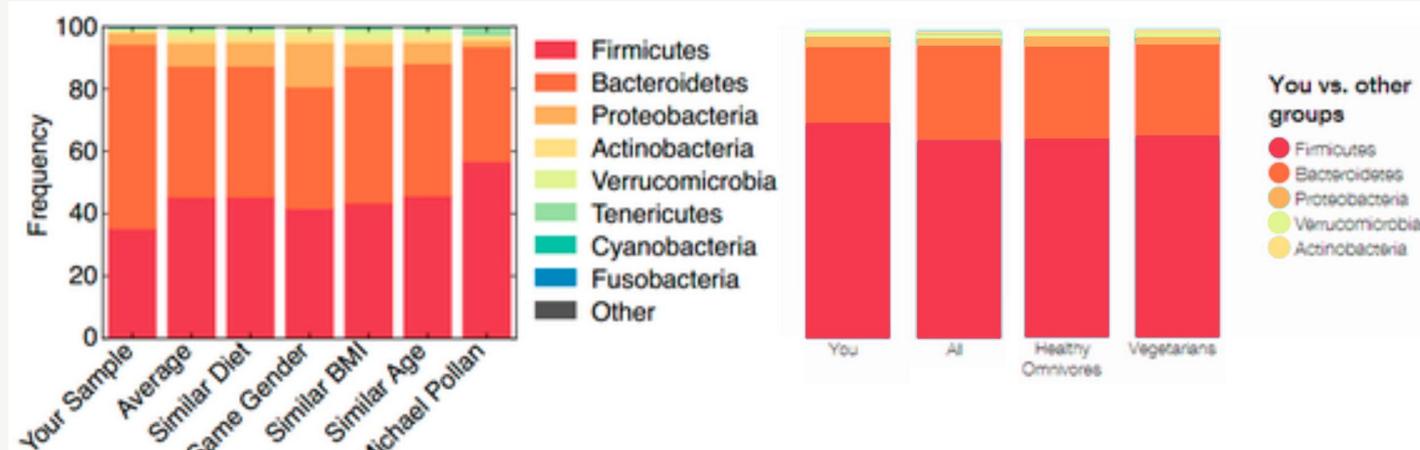


HMP y MetaHIT

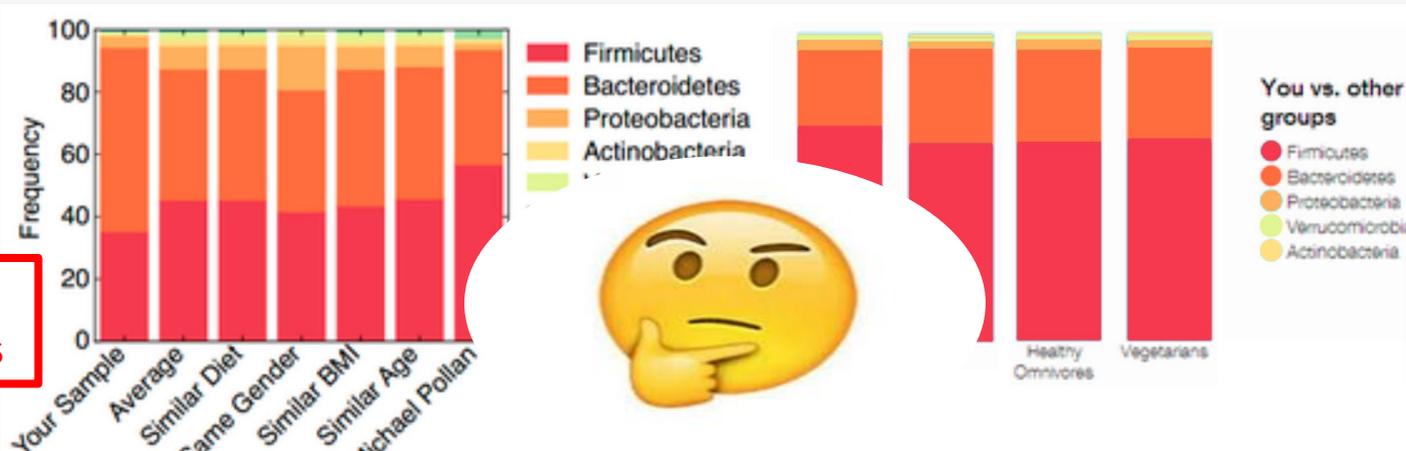


¿Las diferencias son **biológicas** o **técnicas**?

American Gut vs uBiome Results



American Gut vs uBiome Results

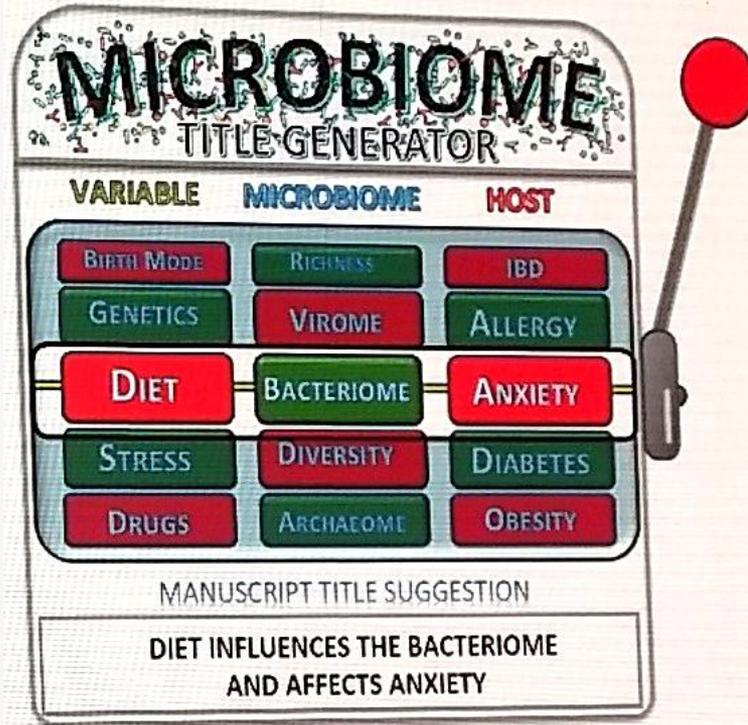


35%
Firmicutes

75%
Firmicutes

¿Las diferencias son **biológicas** o **técnicas**?

¿Estamos descubriendo relaciones y causalidades? ...
o las estamos inventando???



Collin Hill @ Gut Microbiota for Health - Madrid 2020

Microbiota y microbioma en Argentina (y el mundo): ¿dónde estamos?



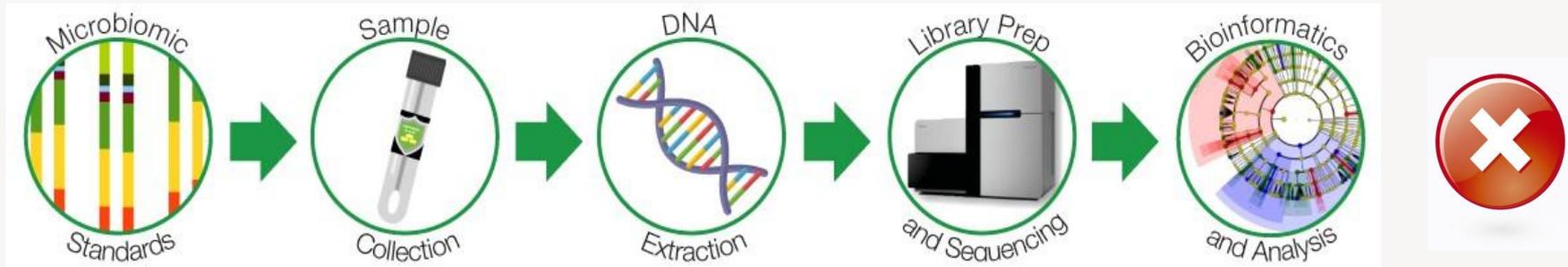
Ensayos clínicos de caracterización y de intervención



Transversales y longitudinales



En muchos casos, **sin estandarización metodológica**, con falta de representatividad y métricas difíciles de comparar



Microbiota y microbioma en Argentina (y el mundo): ¿dónde estamos?



Ensayos clínicos de caracterización y de intervención



Tratamiento de infecciones por *C. difficile*



Suplemento de probióticos



Tests de microbiota



Lejos de aportar accionables
diferenciales al
acompañamiento tanto
médico como nutricional



Microbiota y microbioma en Argentina: ¿hacia dónde vamos o dónde deberíamos ir?



Ensayos clínicos con diseños experimentales estandarizados, reproducibles y trazables. **Comparables**. Sin sesgos no reportados.



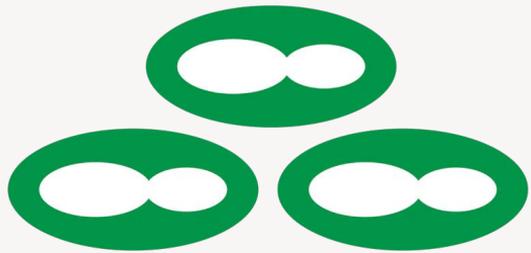
Identificación de accionables concretos como complemento a prevención, diagnóstico y tratamiento de desórdenes, trastornos y afecciones.



Servicios especializados (*y mejorados*)

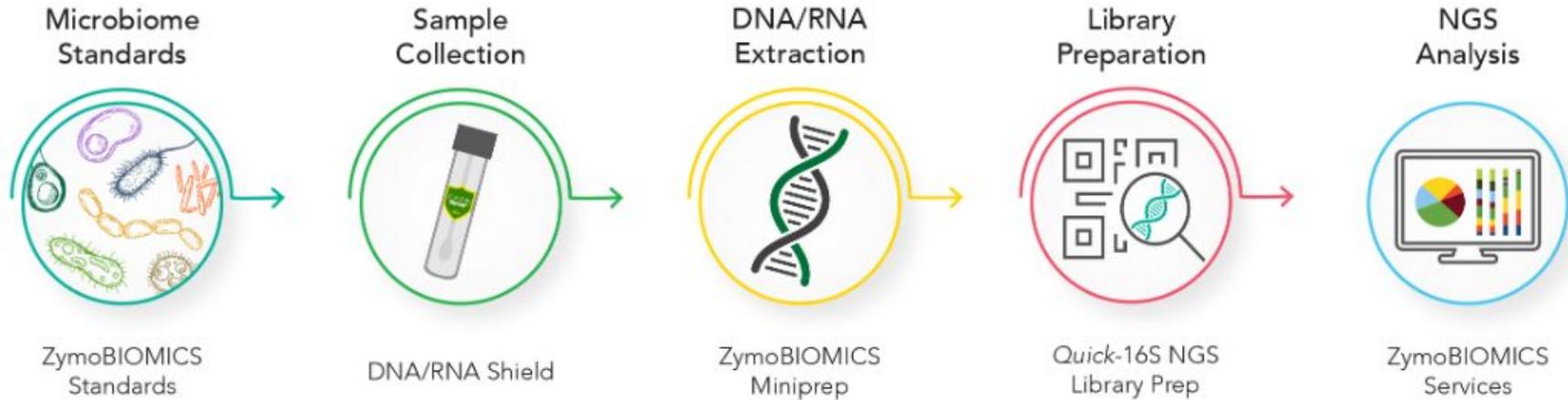
Proceso hacia la excelencia técnica y científica

 illumina®


ZYMO RESEARCH

 **MicrobiAr**

II Jornadas de Genómica Clínica



Caracterización y seguimiento de microbioma e indicadores de salud en cohortes con obesidad, prediabetes y diabetes tipo 2 bajo una dieta basada en plantas e intervención de estilo de vida



UNIVERSIDAD
AUSTRAL
INGENIERÍA



Universidad Nacional
de Entre Ríos

I B B



I I M T



Caracterización y seguimiento de microbioma e indicadores de salud en cohortes con obesidad, prediabetes y diabetes tipo 2 bajo una dieta basada en plantas e intervención de estilo de vida



ZYMO RESEARCH

The Beauty of Science is to Make Things Simple

illumina[®]

CONICET



UNIVERSIDAD
AUSTRAL

INGENIERÍA



MicrobiAr

- 1 Recipientes específicos con buffers para mejorar la **conservación**, minimizando **contaminación**, maximizando **representatividad** y considerando **otros bias técnicos**.
- 2 Muestras de ZymoBIOMICS Gut Microbiome Standard samples para chequeos de **LOD** y microbios a partir de spikes. LOD: Limit of detection.
- 3 Muestras de ZymoBIOMICS Fecal Reference with TRUMatrix Technology para **estandarización** de **protocolos** y **corridas de secuenciación** para 16S + MG + MT.
- 4 Análisis enfatizando en función versus taxonomía.
- 5 Métricas de alfa diversidad de acuerdo a la naturaleza de las muestras y diversidad basada en aplicaciones prácticas ϕ

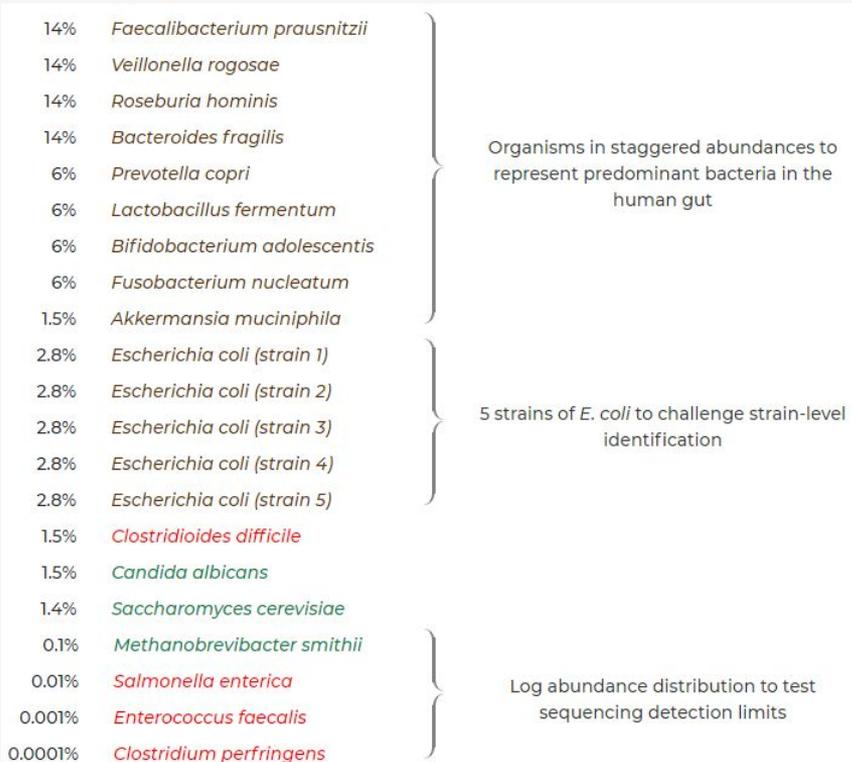


ZYMO RESEARCH

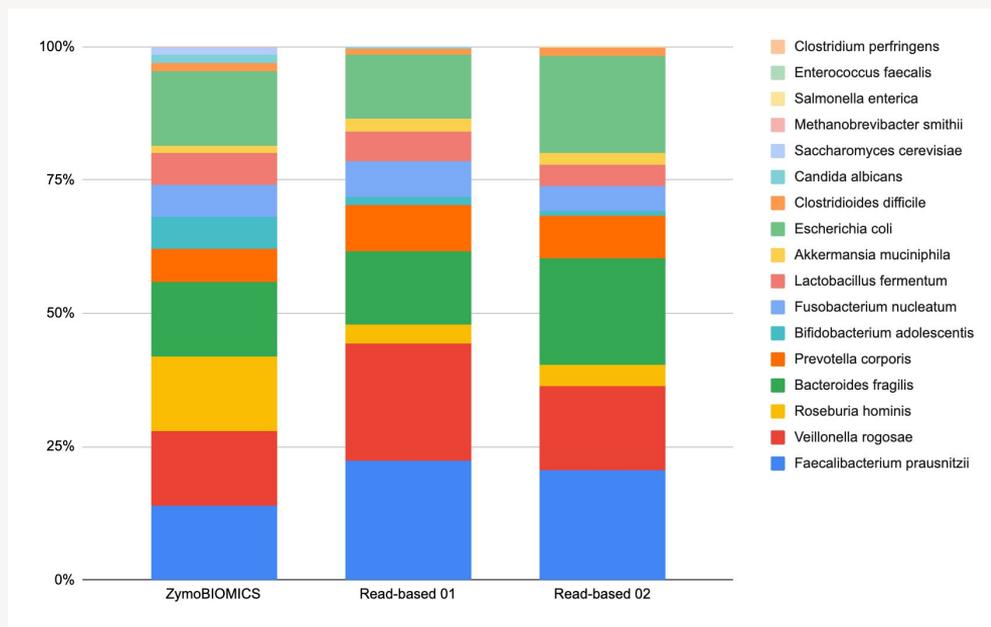


MicrobiAr

ZymoBIOMICS Gut Microbiome Standard

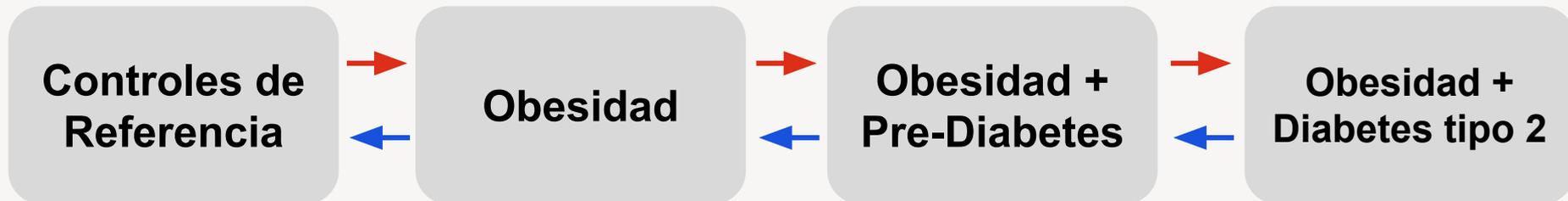


21 organismos en abundancias escalonadas para simular el microbioma intestinal humano





22% aumento
luego de 2 años, de acuerdo al
Programa de Prevención en Diabetes



hasta 100%* remisión

* medicina de estilo de vida (actividad física +
alimentación + seguimiento personalizado)

Etapa transversal

120 como referencia
120 con obesidad (ob)
120 con ob &
pre-diabetes
120 con ob &
diabetes tipo 2

Mediciones

Microbiota | Microbioma | Alimentación | Biomarcadores | Análisis clínicos | Metabolitos
16S + MG | MG + MT

Protocolo A

Protocolo B

Etapa transversal

120 como referencia
120 con obesidad (ob)
120 con ob & pre-diabetes
120 con ob & diabetes tipo 2

Etapa longitudinal

2 años de seguimiento

Intervención nutricional bajo
recomendaciones de la ADA*

60 con obesidad
60 con ob & pre-diabetes
60 con ob & diabetes tipo 2

Intervención nutricional con
hincapié en ABP^φ y coaching nutricional

60 con obesidad
60 con ob & pre-diabetes
60 con ob & diabetes tipo 2

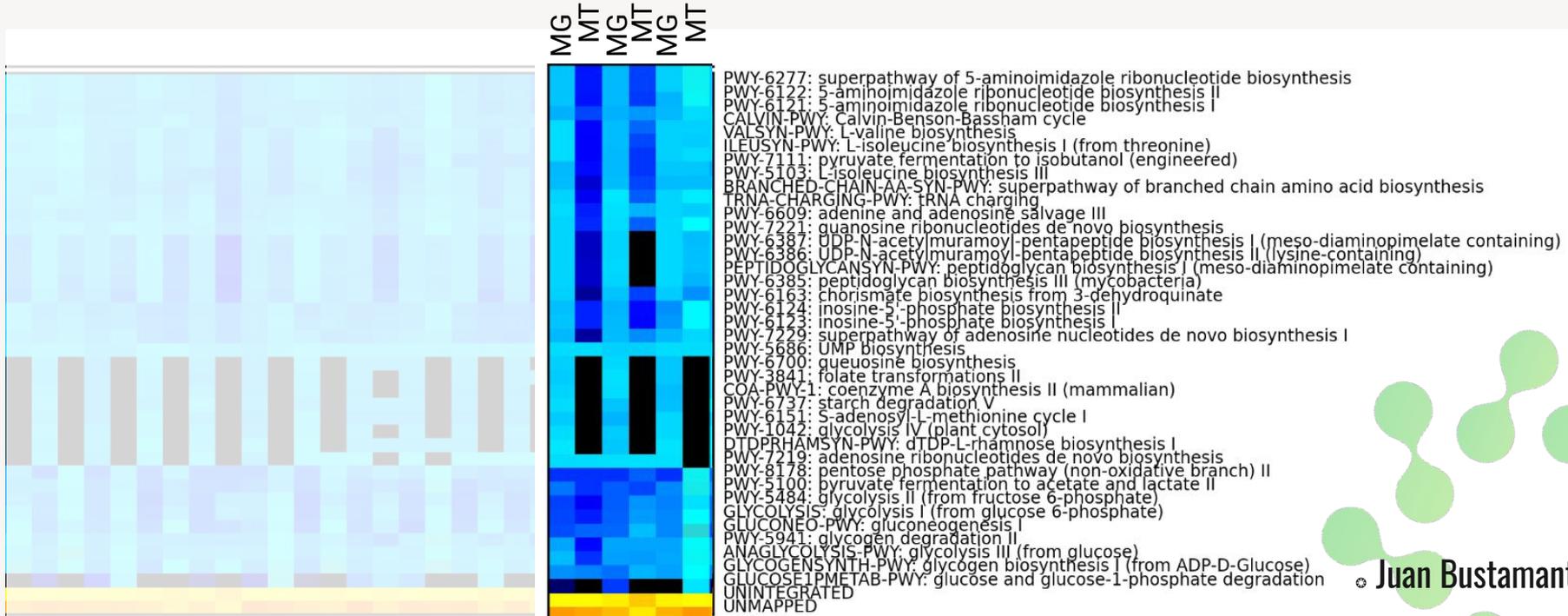
Mediciones

Microbiota | Microbioma | Alimentación | Biomarcadores | Análisis clínicos | Metabolitos
16S + MG | MG + MT

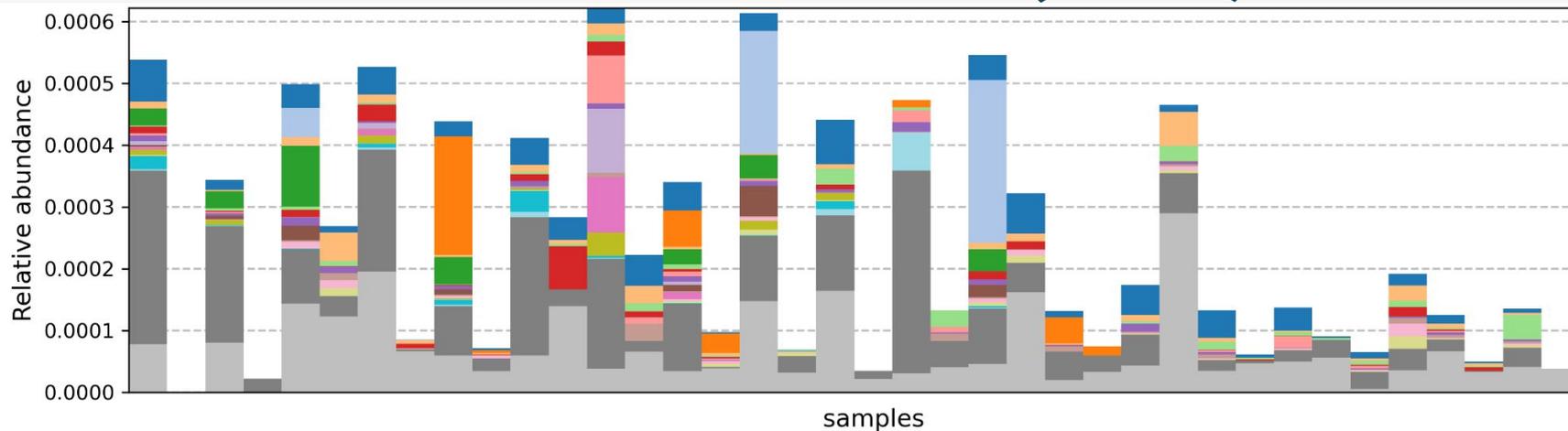
*ADA: Asociación Americana de Diabetes

^φABP: Alimentación basada en plantas

Metagenomics (MG) vs Metatranscriptomics (MT) *entre falsos positivos y asignaciones erróneas*



Producción de SCFAs (AGCC)



Stratified contributions:

- | | |
|---|--|
|  <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> |  <i>Prevotella copri</i> |
|  <i>Prevotella sp AM42 24</i> |  <i>Dorea longicatena</i> |
|  <i>Escherichia coli</i> |  <i>Bacteroides plebeius</i> |
|  <i>Ruminococcus torques</i> |  <i>Catenibacterium mitsuokai</i> |
|  <i>Prevotella copri CAG 164</i> |  <i>Ruminococcus bromii</i> |
|  <i>Roseburia faecis</i> |  <i>Roseburia hominis</i> |
|  <i>Eubacterium rectale</i> |  <i>Bacteroides vulgatus</i> |
|  <i>Bifidobacterium adolescentis</i> |  <i>Bacteroides uniformis</i> |
|  <i>Blautia wexlerae</i> |  other |
|  <i>Bacteroides plebeius CAG 211</i> |  unclassified |

¿ Cuán interdisciplinario es el trabajo en MicrobiAr ?

Médicas/os

Biotecnólogas/os

Diseñadora/os

Nutricionistas

Binformáticas/os

Comunicadoras/os

Especialistas en
estadística, diabetes,
remisión de diabetes,
coaching nutricional y
emocional

Bioingenieras/os

Investigadoras/es

Atletas

Técnicas/os de lab

Biólogas/os moleculares

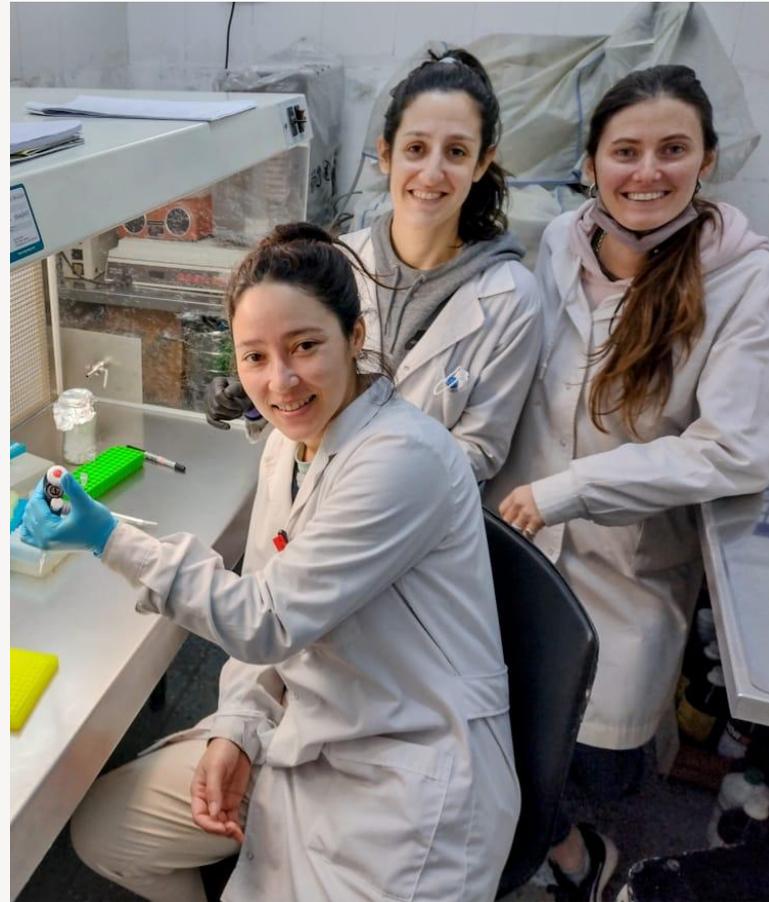
Abogadas/os

Escritoras/es

estudiantes grado + posgrado + profesionales



II Jornadas de Genómica Clínica



Algunos números actuales en MicrobiAr

+190 / 480 Participantes reclutados;

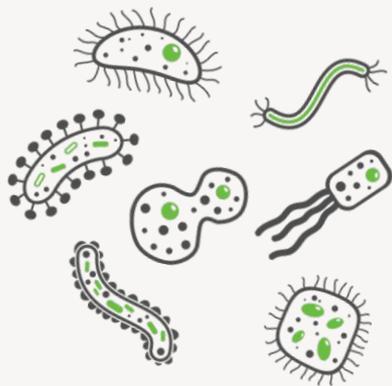
+18 Talleres para un grupo de pacientes/consultantes;

+12 Seminarios para profesionales y estudiantes de
MicrobiAr + SAMEV;

+800 / 10.000 Muestras para analizar, siendo procesadas;

+650 Formularios completados de historias clínicas,
alimentación, actividad física, sueño, ...;

+15 Grupos interdisciplinarios de trabajo.



¡¡Muchas gracias!! ¿Preguntas?

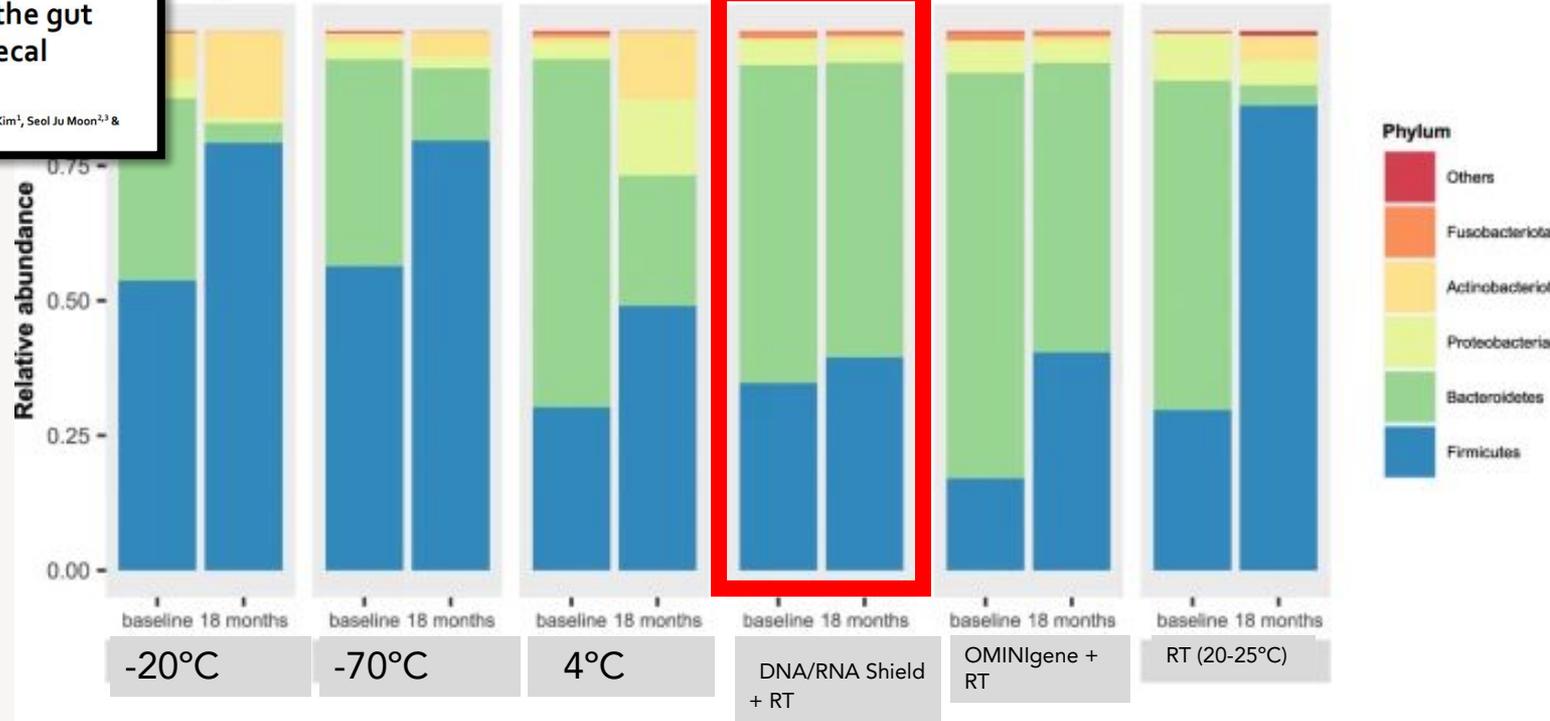
 bustamante.bio@gmail.com

 [bustamante.jp](https://www.instagram.com/bustamante.jp)

 info@microbiar.com

Long-term taxonomic and functional stability of the gut microbiome from human fecal samples

Jae Hyun Kim^{1,5}, Ji-Young Jeon^{2,5}, Yong-Jin Im², Na Ha³, Jeon-Kyung Kim¹, Seol Ju Moon^{2,3} & Min-Gul Kim^{2,3,4,6}



DNA/RNA Shield™

Toalla Bunny – Dispositivo para la Recolección de Muestras de Heces
REF R1133

Instrucciones para el Usuario

Favor de leer estas instrucciones antes de recoger las muestras



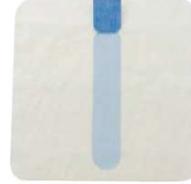
Estuche del Kit/Soporte para Tubos



Tubo Transportador



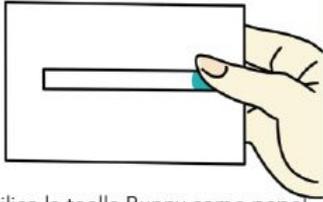
Bolsa para las Muestras



Toalla Bunny

5

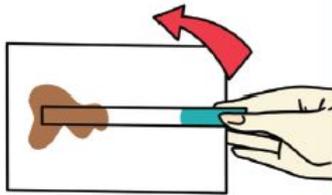
Límpiese



Utilice la toalla Bunny como papel higiénico normal. Asegúrese de haber depositado parte de la muestra fecal sobre la tira de transferencia (con pestaña azul) que está sobre la toalla.

6

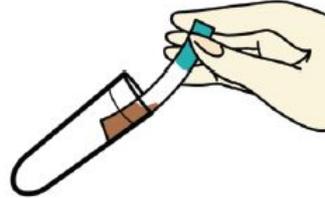
Despegue la tira



Despegue la tira de papel usando la pestaña azul.

7

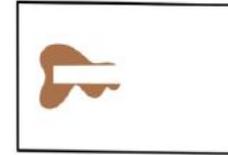
Deposítela dentro del Tubo Transportador



Deposítela dentro del Tubo Transportador.

8

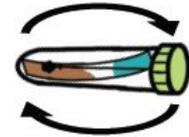
Esta toalla se disuelve 100% en el agua.



Descarte el resto de la toalla en el inodoro. Termine de limpiarse con papel higiénico normal cuanto sea necesario.

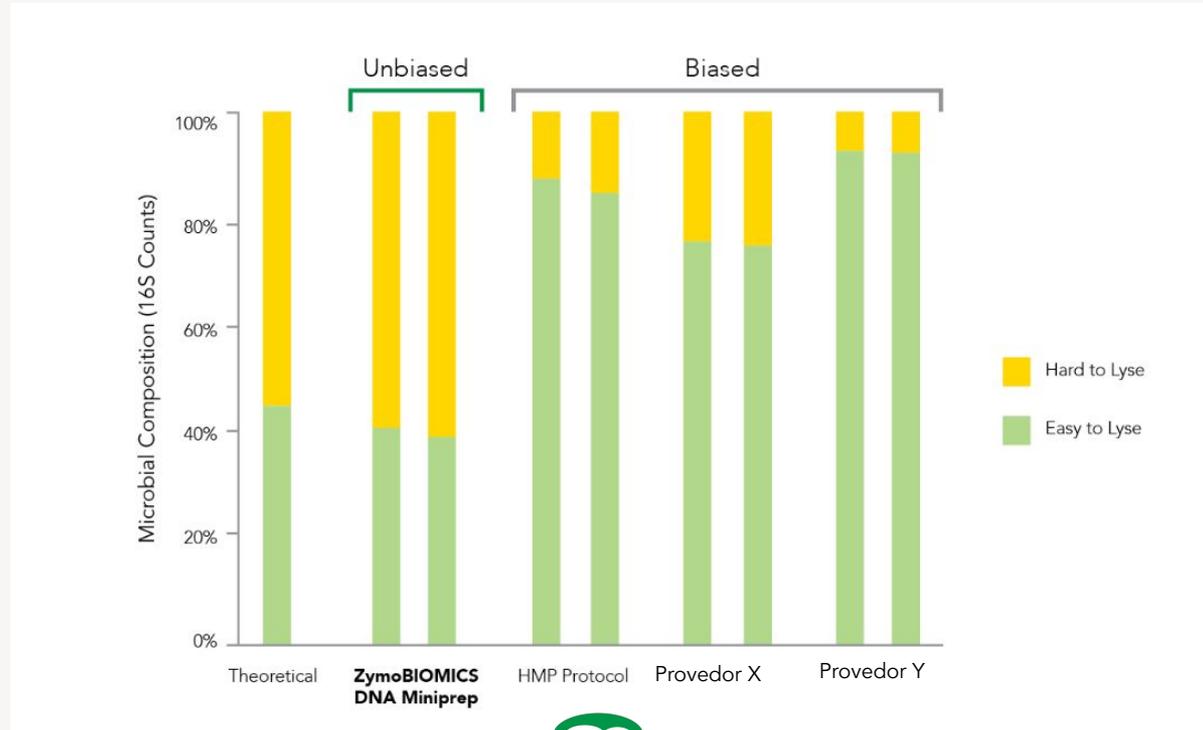
9

Cierre bien el tubo transportador.

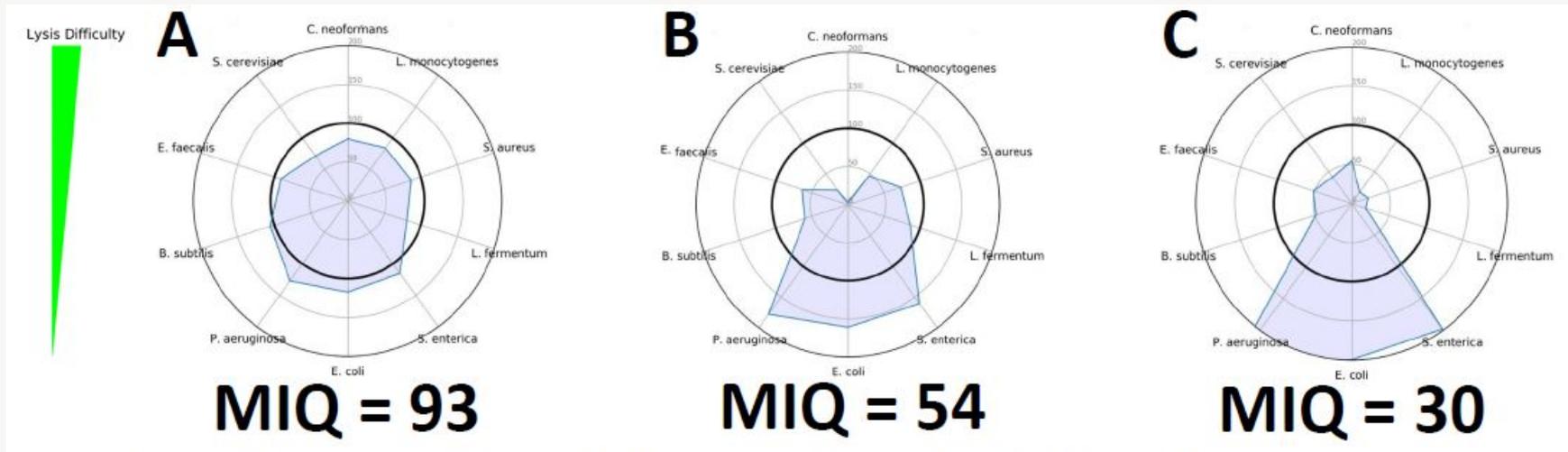


Cierre bien el tubo transportador e invierta el tubo 10 veces para mezclar bien el contenido. Coloque el tubo en una bolsa de muestras. Cierre la bolsa.

Extracción de ácidos nucleicos



MIQ (Measurement Integrity Quotient) Score System



ZymoBIOMICS Fecal Reference with TruMatrix™ Technology

