

Atividade Final de Bioinformática Aplicada à Genômica Médica

Análise Metagenômica

O time



Amanda Figueiredo



José Filho

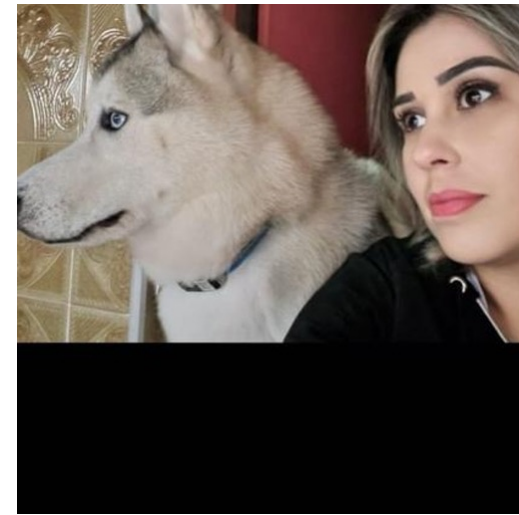


Caio Elias

O time



Gabriel Oliveira



Lucilene Santana

Sobre o que vamos
conversar?

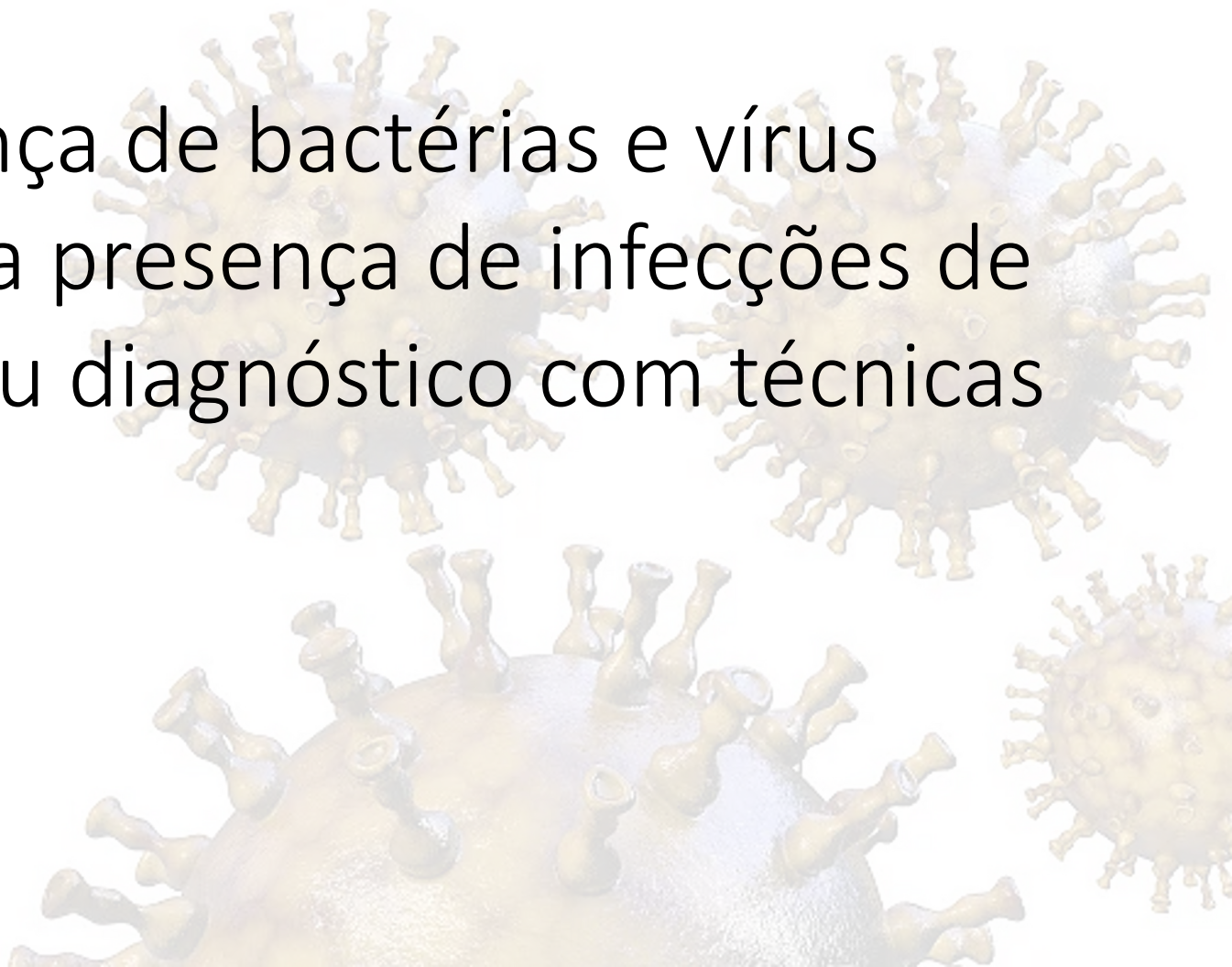
Sobre o que vamos conversar?

- Introdução
- As análises 16s e ITS
- Perguntas a serem respondidas
- Metodologia utilizada
- Resultados
- Conclusões

Introdução

Introdução

Historicamente, a presença de bactérias e vírus esteve relacionada com a presença de infecções de carácter patológico e o seu diagnóstico com técnicas dependentes de cultivo.



Introdução

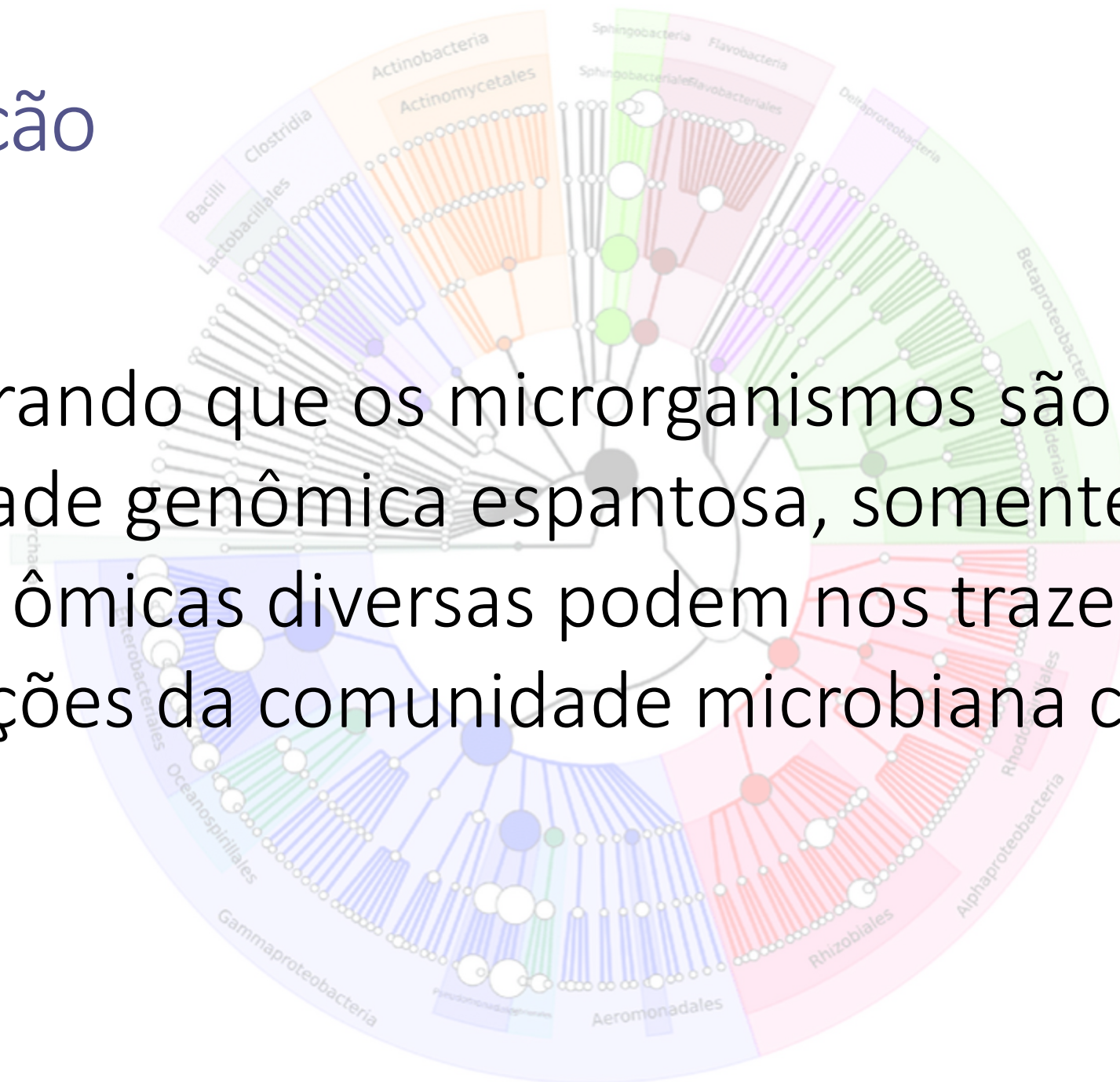
Hoje, sabemos que o microbioma humano influencia funções como:

- A digestão, absorção de nutrientes e produção de vitaminas
- O desenvolvimento e regulação do sistema imunológico
- A proteção contra distúrbios intestinais
- A inibição do crescimento de patógenos



Introdução

Considerando que os microrganismos são de uma diversidade genômica espantosa, somente o uso de técnicas ômicas diversas podem nos trazer informações da comunidade microbiana como um todo.

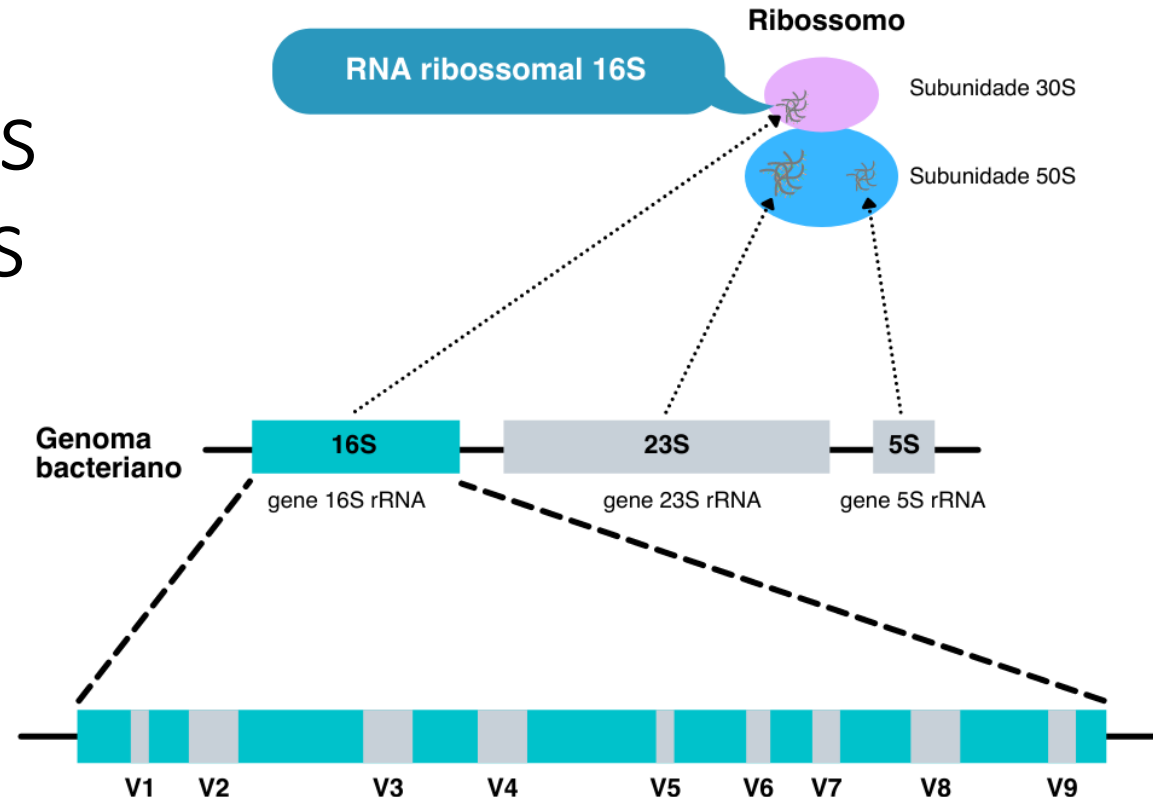


As análises 16s e ITS

As análises 16s e ITS

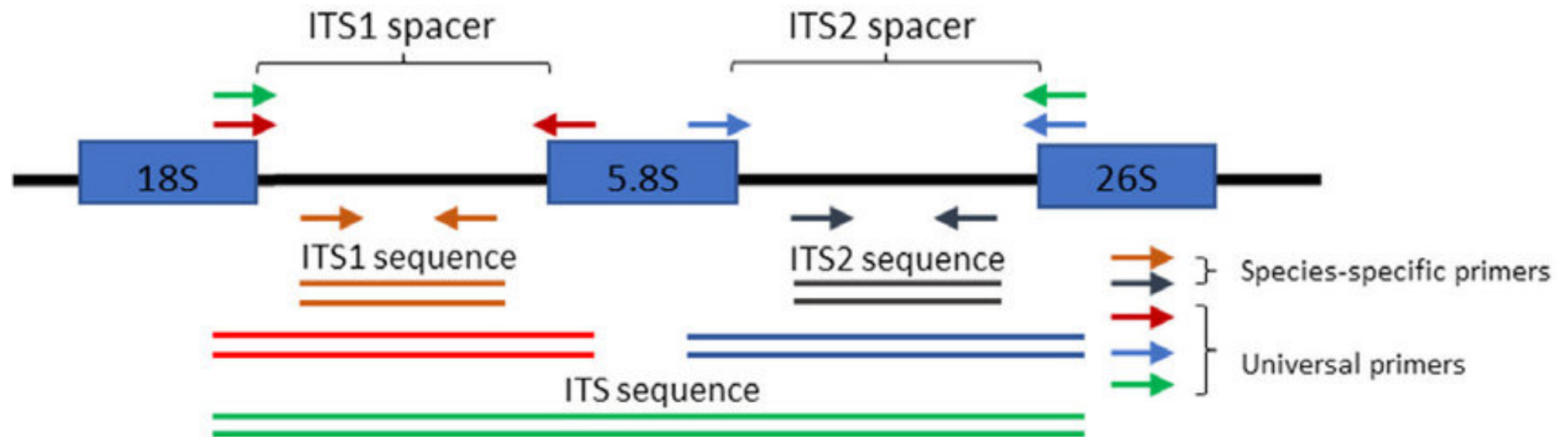
Em 1980, pesquisadores observaram que regiões estáveis do genoma poderiam estar associadas com a filogenia de bactérias.

16S rRNA e regiões hipervariáveis



As análises 16s e ITS

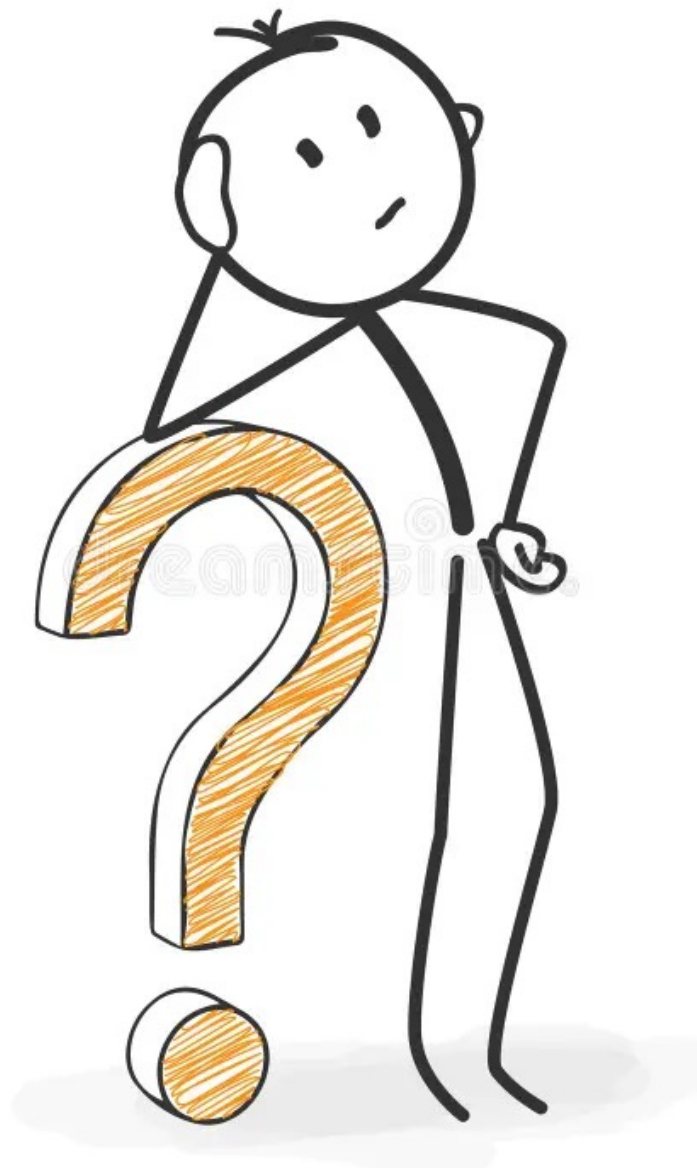
A alta variabilidade nas regiões ITS1 (localizado entre os genes 18S e o 5.8S) e ITS2 (que separa os genes 5.8S e 28S), permite a discriminação entre diferentes espécies de fungos.



Perguntas a serem
respondidas

Perguntas a serem respondidas

1. Qual o *microrganismo celular mais abundante* na amostra segundo estimativas pela análise do amplicon **16S**? Isso pode ter alguma *implicação clínica*?
2. Qual o *microrganismo celular mais abundante* na amostra segundo estimativas pela análise do amplicon **ITS**? Isso pode ter alguma *implicação clínica*?



Metodologia utilizada

Metodologia utilizada

Análise direcionada

Esse tipo de análise permite apenas a identificação de tipos específicos de microrganismos.

Por este motivo, foram realizadas duas análises diferentes: 16s (para bactérias e arqueias) e ITS (para fungos).

Metodologia utilizada

Passo 1:

Preparação do ambiente e download do banco de dados.

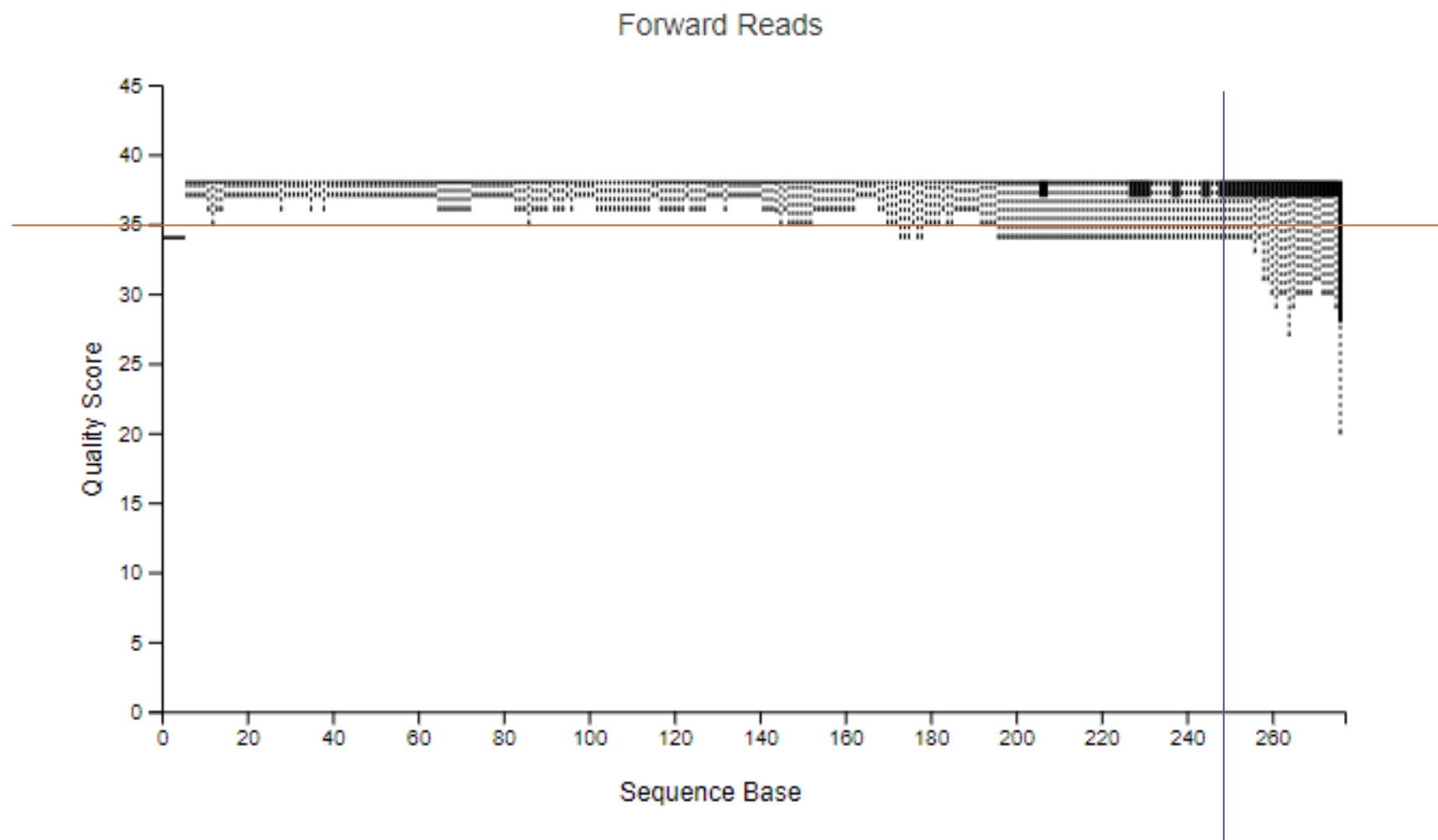
Metodologia utilizada

Passo 2:

Verificação da qualidade das sequências.

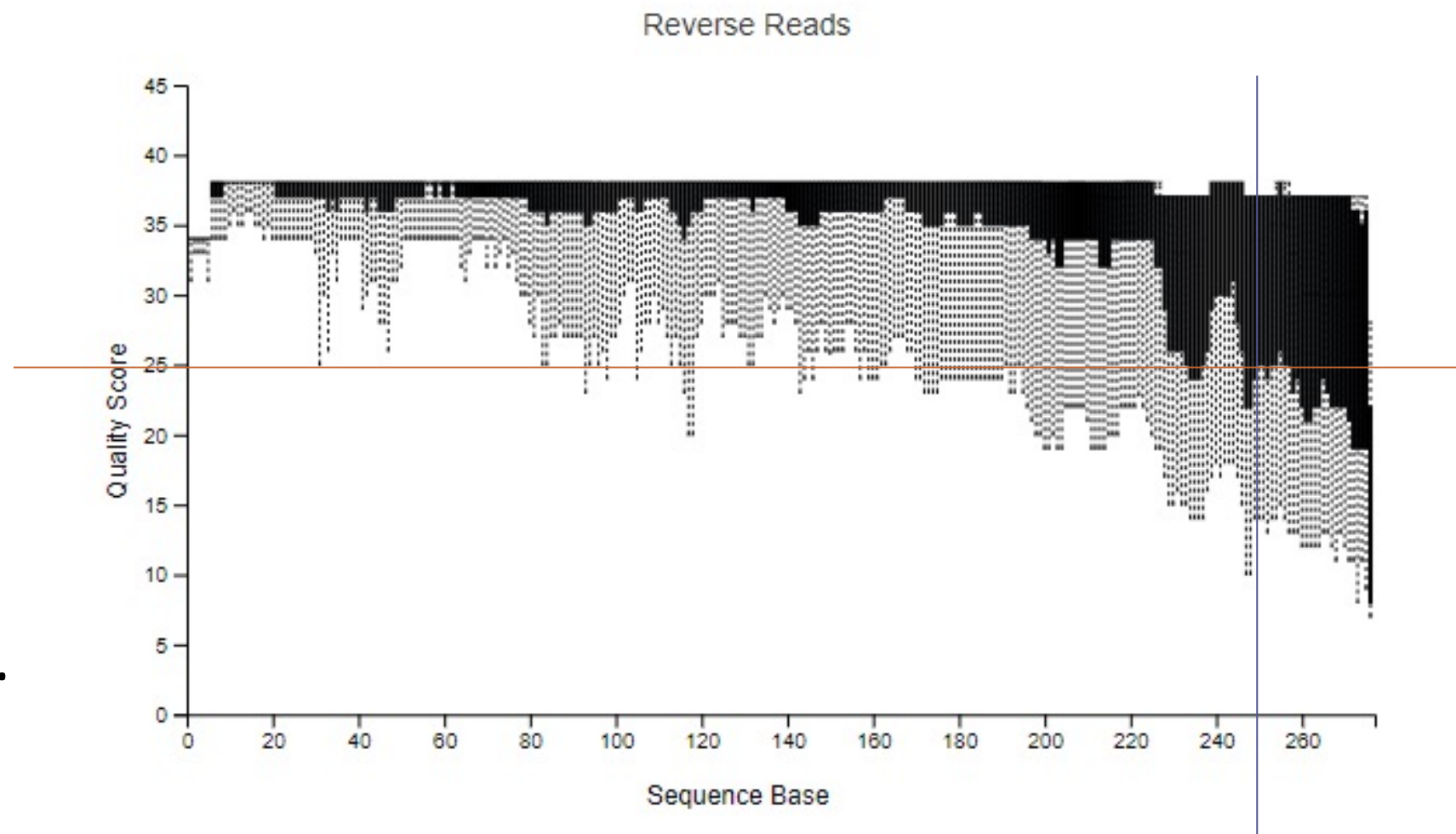
Metodologia utilizada

A maior parte das bases das reads 3'-5' apresentam um score de qualidade próximo de 35.



Metodologia utilizada

A maior parte das bases das reads 5'-3' apresentam um score de qualidade próximo de 25.



Metodologia utilizada

Passo 3:

Filtragem das sequências de interesse.

Metodologia utilizada

Com a filtragem, reduzimos o número de sequências para 84,11% na análise 16s.

| sample-id | input | filtered | percentage of input passed filter |
|-------------|-----------|-----------|-----------------------------------|
| #q2:types ↓ | numeric ↑ | numeric ↑ | numeric ↑ |
| patient | 229388 | 192943 | 84.11 |

Metodologia utilizada

Passo 4:

Classificação das sequências filtradas.

Metodologia utilizada

| Taxon categorical | Confidence categorical |
|---|---------------------------|
| k__Bacteria; p__Bacteroidetes; c__Flavobacteriia; o__Flavobacteriales; f__Flavobacteriaceae; g__Zhouia; s__amylytica | 0.761240855403858 |
| k__Bacteria; p__Actinobacteria; c__Actinobacteria; o__Actinomycetales; f__Actinomycetaceae; g__Actinomyces; s__hyovaginalis | 0.9701955525851116 |
| k__Bacteria; p__Firmicutes; c__Bacilli; o__Bacillales; f__Planococcaceae; g__Staphylococcus; s__saprophyticus | 0.9959498565019392 |
| k__Bacteria; p__Firmicutes; c__Bacilli; o__Lactobacillales | 0.9996367663272545 |
| k__Bacteria; p__Firmicutes; c__Clostridia; o__Clostridiales; f__Lachnospiraceae | 0.8697811310764074 |

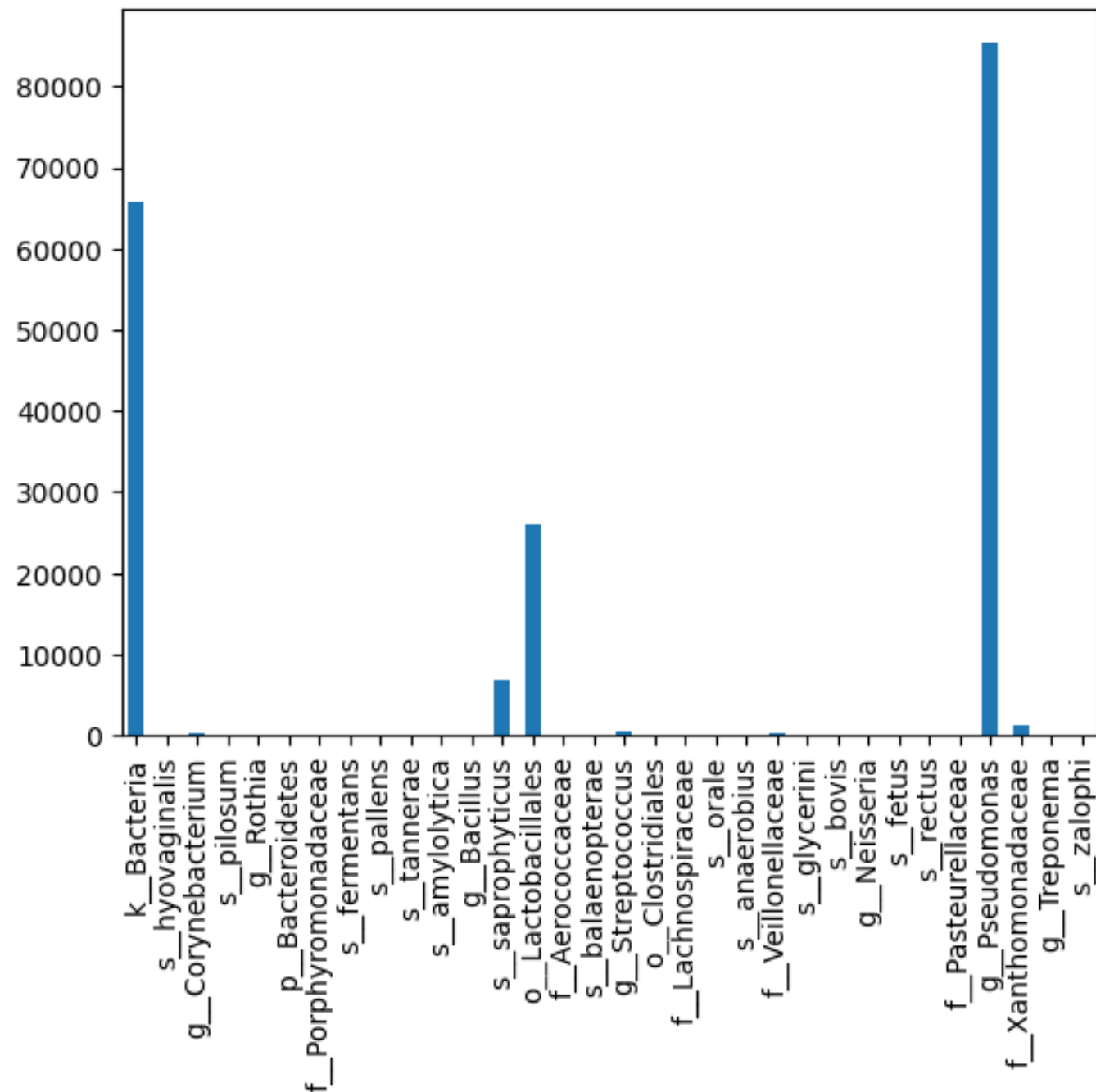
Metodologia utilizada

Já para a análise ITS, foi utilizado um banco de dados específico para fungos e o filtro foi alterado para selecionar sequências de tamanho de até 200pb.

Resultados

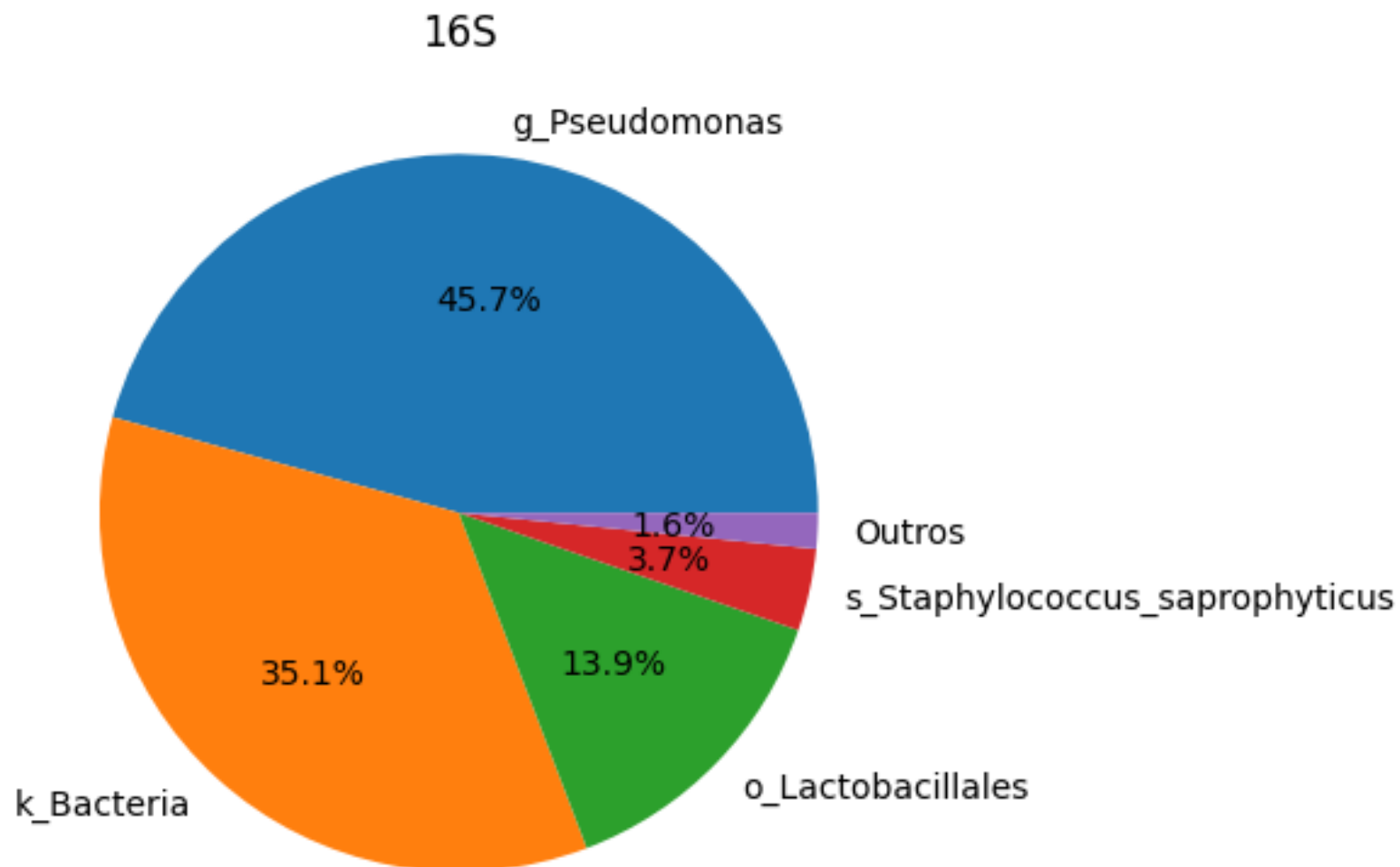
Resultados

A análise 16s identificou uma abundância preponderante de microrganismos do gênero *Pseudomona*.

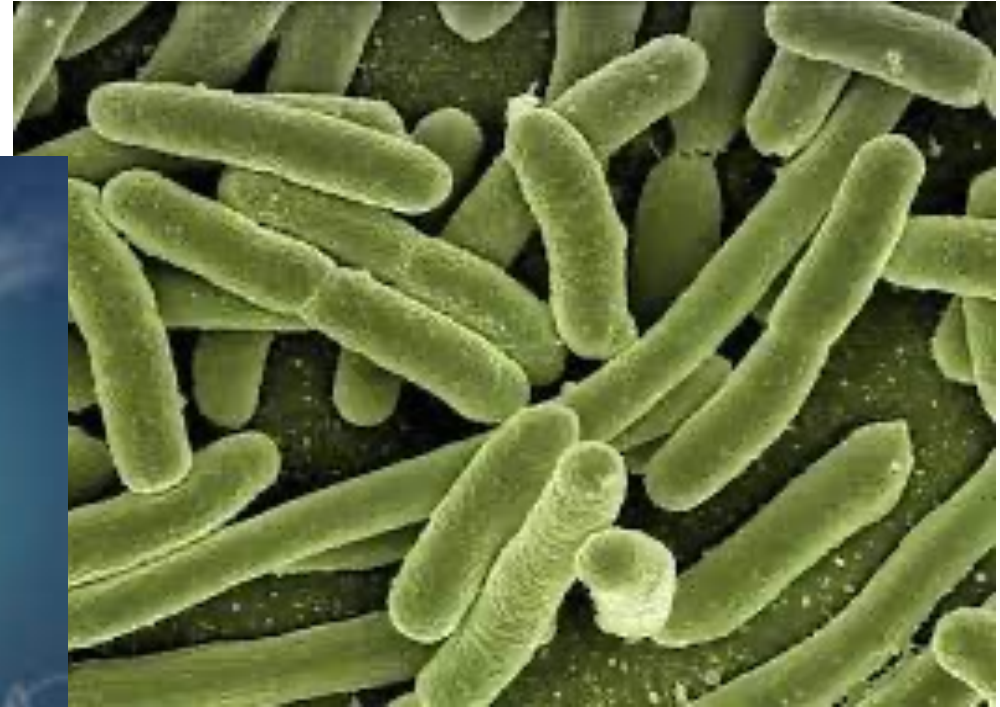
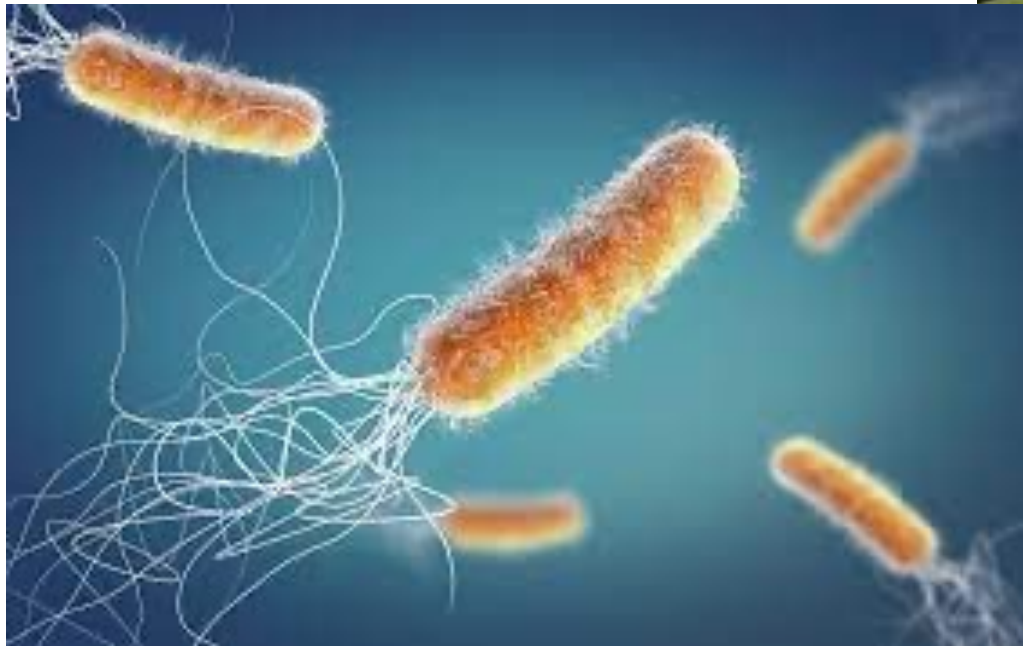


Resultados

Abundância relativa - Bactérias



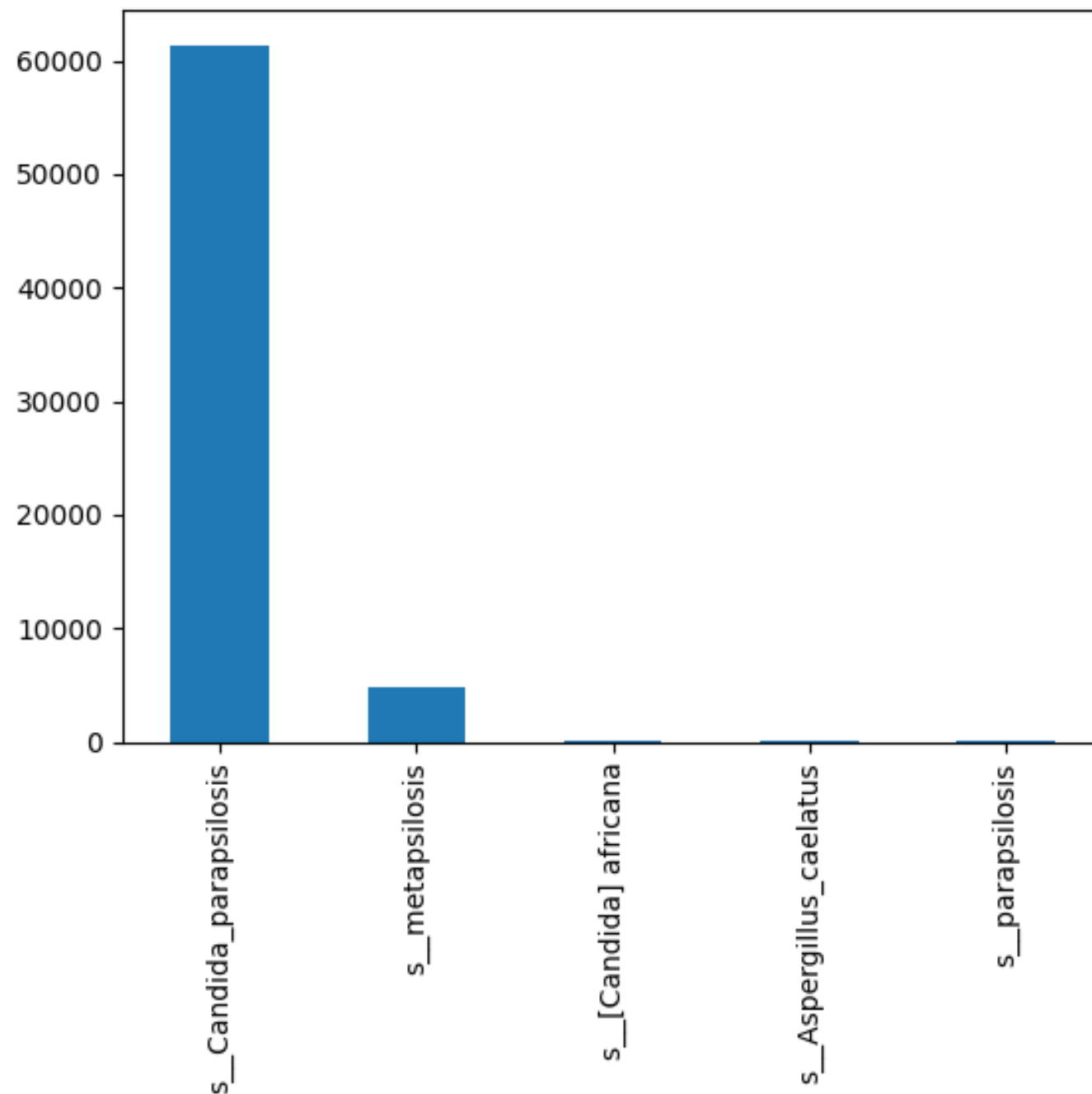
Resultados



Imagens de microrganismos Pseudomona.

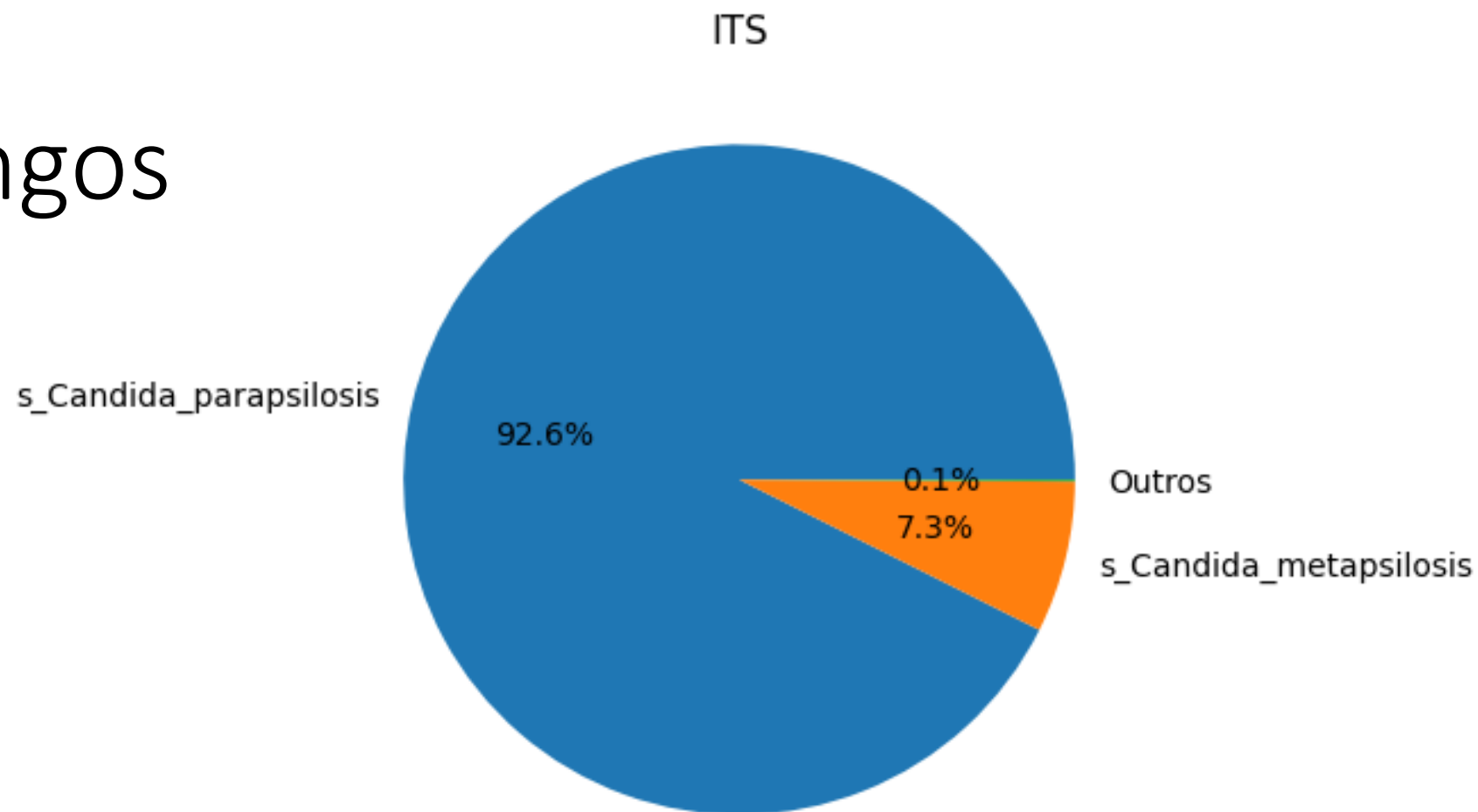
Resultados

A análise ITS identificou uma abundância preponderante de microrganismos da espécie *Candida parapsilosis*.

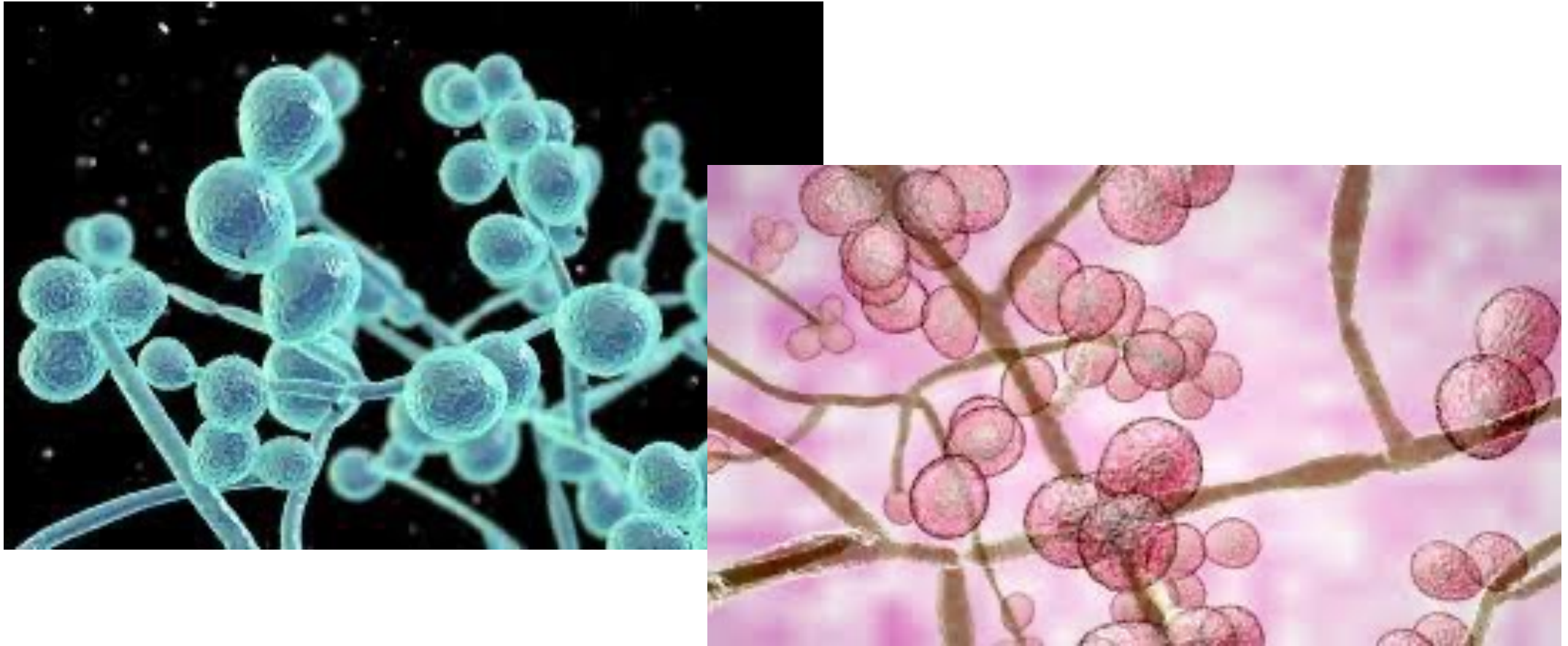


Resultados

Abundância relativa - Fungos



Resultados



Imagens de microrganismos Candida.

Conclusões

Conclusões

A abundância preponderante de poucos tipos de microrganismos pode ser uma consequência do uso de antibióticos e antiparasitários como Azitromicina e Ivermectina.

Conclusões

A síndrome respiratória aguda não pode ser explicada somente pelos microrganismos encontrados nas análises, mas infecções oportunistas podem aumentar o dano tecidual.

Dúvidas?