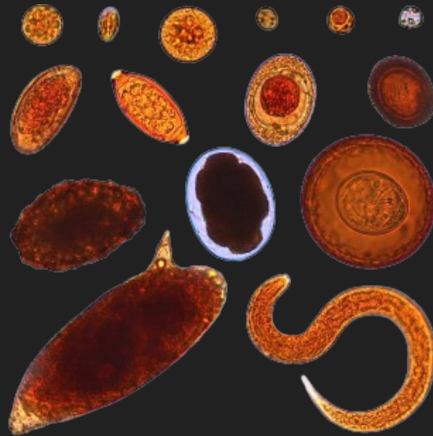


Alteración de la composición del bacterioma intestinal humano por parasitosis intestinales



Miguel Ángel Rodríguez Feregrino
Ivan Oseas Jacobo Cruz
Santiago Figueroa D'egremy

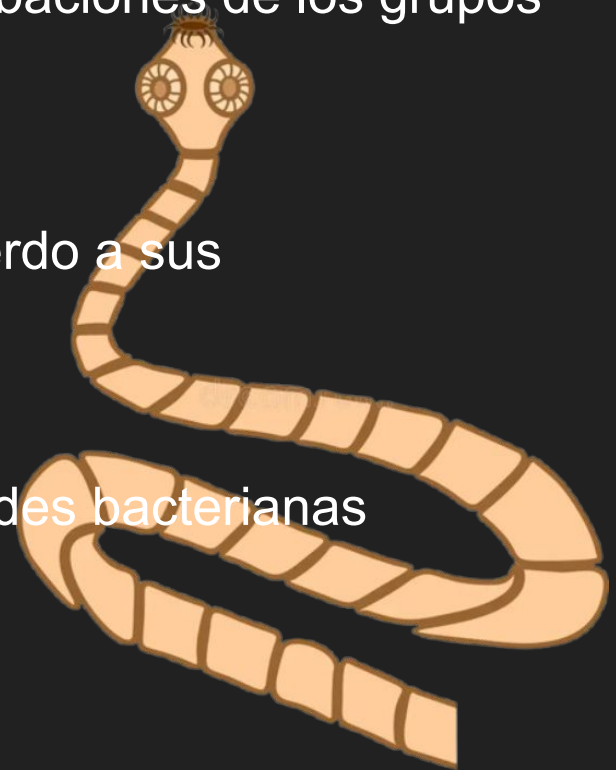
Introducción

Las parasitosis son el resultado de la infección y colonización de un diverso grupo de organismos a los que denominamos parásitos. Estos cuentan con características morfológicas, fisiológicas y conductuales específicas que les permiten ejecutar una invasión exitosa, ocasionando alteraciones en el hospedante, entre estas en la microbiota bacteriana.

Como parte de este proyecto descargamos datos de WGS de humanos parasitados y analizamos cómo variaron de acuerdo al parásito en cuestión.

Objetivo

- Buscar relaciones entre parásitos y sus perturbaciones de los grupos bacterianos en el intestino humano.
- Evaluar las relaciones entre parásitos de acuerdo a sus características biológicas
- Evaluar las diversidades alfa de las comunidades bacterianas resultantes de parasitosis intestinales



Metodología

1. Descarga de datos.
 - Desde bash. txt con accesions: SRR
 - prefetch para obtener los archivos raw SRA.
 - fasterq-dump para obtener los fastq a partir de los archivos raw.
2. Generar objeto phyloseq a partir de los datos.
 - Recortar por calidad phred y filtrar errores con learnErrors
 - Remover quimeras y unir F y R.
 - Asignar metadatos y asignar taxonomía con assignTaxonomy.
 - Usar DNASTringSet para asignar ASV a cada secuencia.
 - Exportar como RDS.

3. Filtrar y mejorar metadatos.

- Buscar metadatos exactos de cada muestra para saber cuales estaban infectadas y de qué parásito.
- Editar metadatos

```
43 dim(psH1_meta)
44
45 v <- c(psH1_meta$SampleName2)
46
47 library(stringr)
48
49 for (i in 1:93) {
50   a <- as.character(psH1_meta$SampleName[i])
51   psH1_meta$"Ordenado"[which(str_detect(psH1_meta$SampleName2, a))] <- row.names(psH1_meta$SampleName[i])
52 }
53
54 x <- 0
55 for (i in 1:93) {
56   a <- as.character(psH1_meta$SampleName[i])
57   if (all((psH1_meta$Ordenado == rownames(psH1_meta$SampleName[i])) == FALSE)){
58     x <- x + 1
59   } else{
60     psH1_meta$Ordenado2[which(psH1_meta$SampleName == a)] <- v[which(str_detect(psH1_meta$SampleName2, a))]
61   }
62 }
63 psH1_meta
64
65 nueva <- data.frame(
66   Parasitos = c(rep(0, 93)),
67   Sample = c(rep(0, 93))
68 )
69 for (i in 1:93) {
70   if (psH1_meta$Ordenado2[i] == 0){
71     x <- x + 1
72   } else {
73     nueva$Parasitos[i] <- datos2$Groups.by.PCR.or.KK[which(datos2$Sample.id == psH1_meta$Ordenado2[i])]
74     nueva$Sample[i] <- datos2$Sample.id[which(datos2$Sample.id == psH1_meta$Ordenado2[i])]
75   }
76 }
77
78 nueva
79 nueva2 <- as.data.frame(sample_data(psH1))
80 all(row.names(nueva2) == row.names(nueva))
81
82 row.names(nueva) <- row.names(nueva2)
```

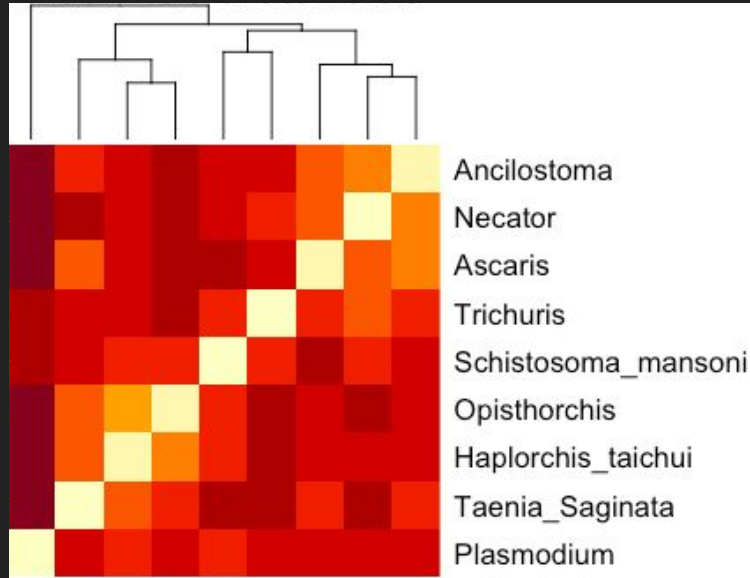
4. Unir otu_tables de phyloseqs con la función bindrows de tidyverse.
5. agregar una columna específica de cada parasitosis. Promediar las abundancias por ASV para cada parasitosis.

1.1 Calcular dist y cor de esta base de datos y construir red a partir de un umbral.

1.2 Construir base de datos con los datos de diversidad y generar una red a partir de dist y cor.

1.3 Construir una base de datos con datos biológicos de cada parásito y construir una matriz de adyacencia de cada variable biológica y generar la red.

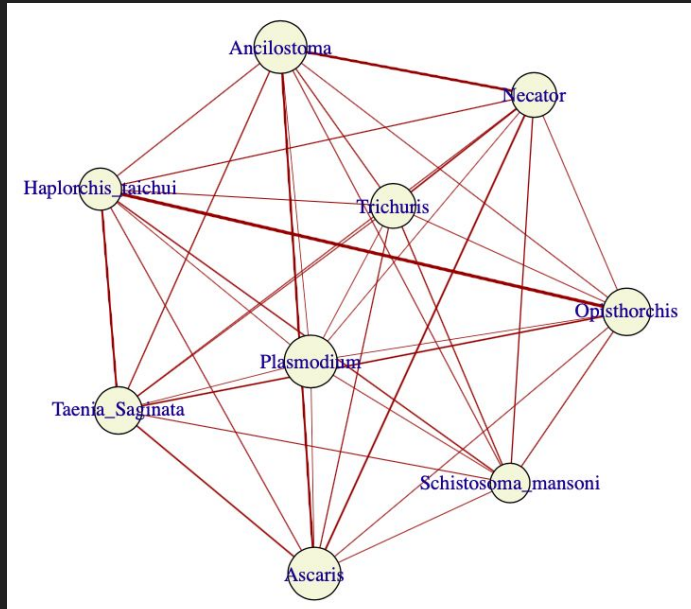
Resultados 1: Redes de las características de los parásitos utilizados



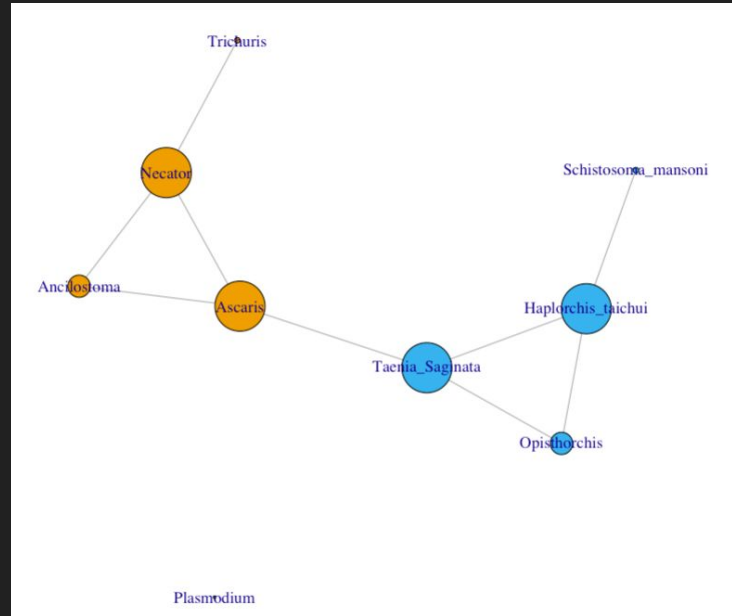
Algunas características tomadas en cuenta:

- Mecanismo de patogenicidad.
- Intracelular o extracelular.
- Localización anatómica.
- Tipo de parásito.
- Ciclo infeccionivo.
- Transmisión.
- Distribución.
- Zoonosis.

Resultados 1: Redes de las características de los parásitos utilizados



Red pesada, no dirigida de la matriz de distancias.



Red no pesada, no dirigida de la matriz booleana.

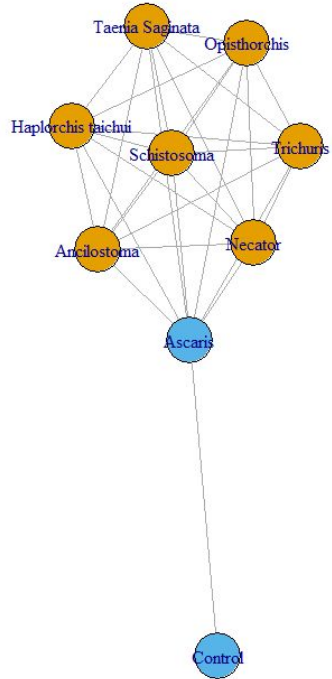
Degree - nodos.

Betweenness -
As, Ne, Ta, Ha.

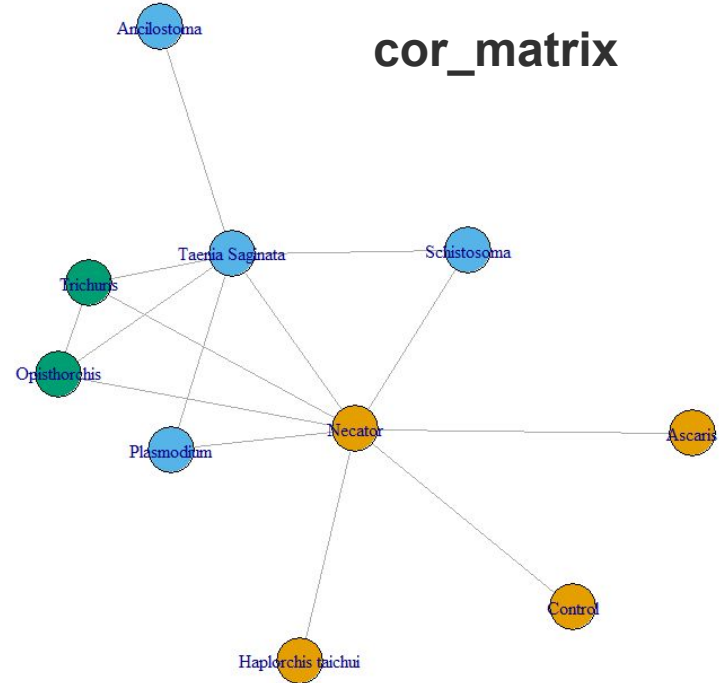
Eccentricity -
(+) Trichuris y
Schistosoma

Closeness -
(+) Ascaris y
Taenia

Resultados 2: Red de abundancias de ASV en microbiota post infección



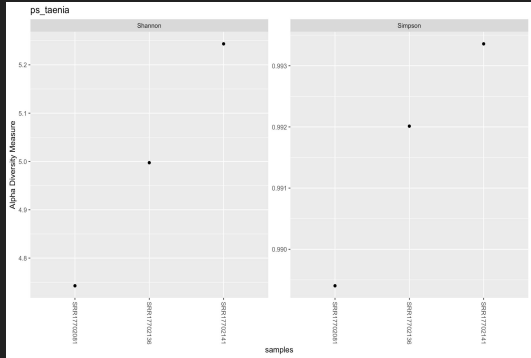
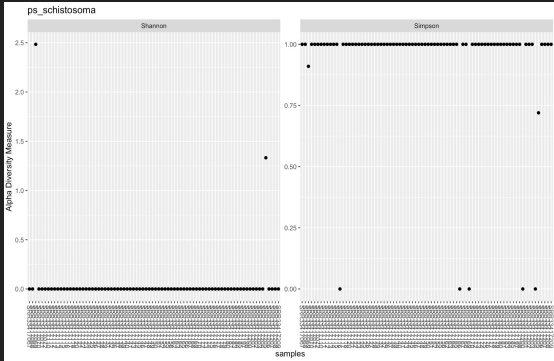
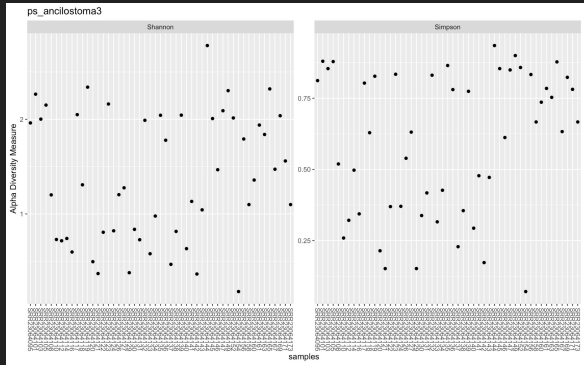
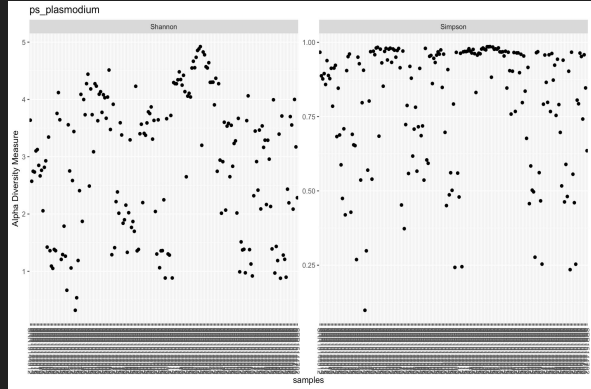
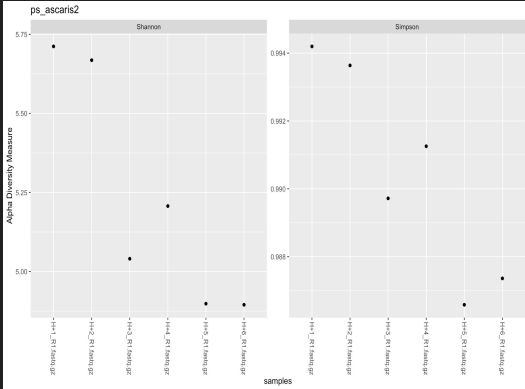
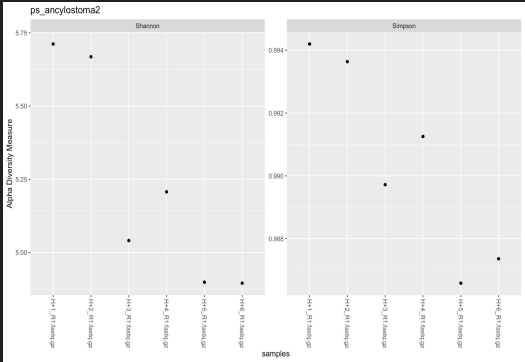
dist_matrix



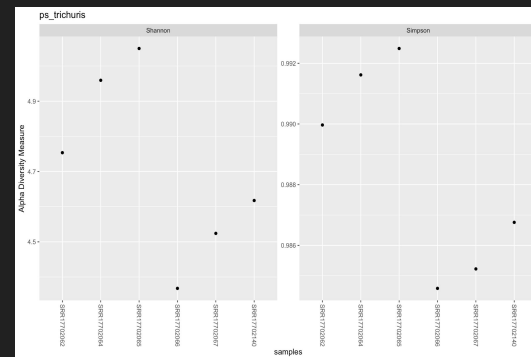
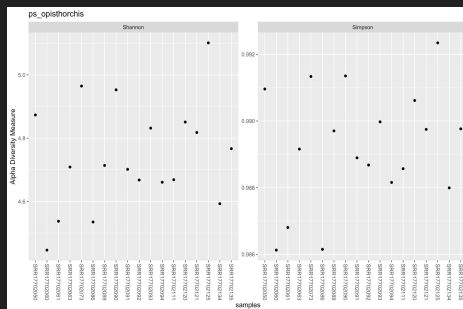
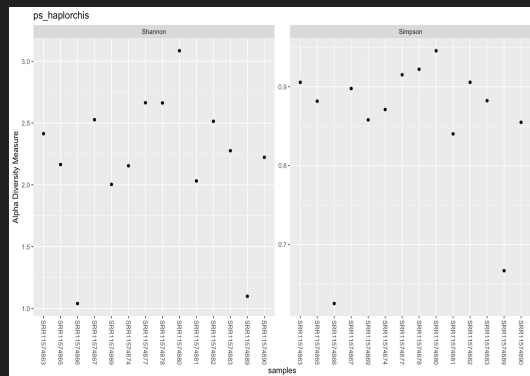
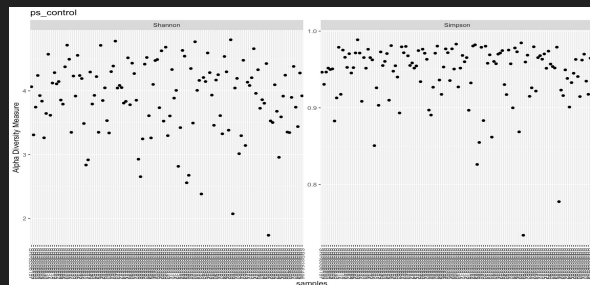
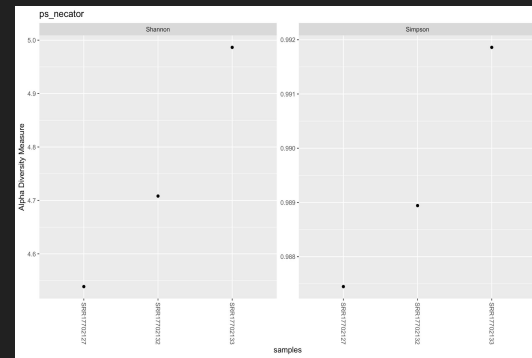
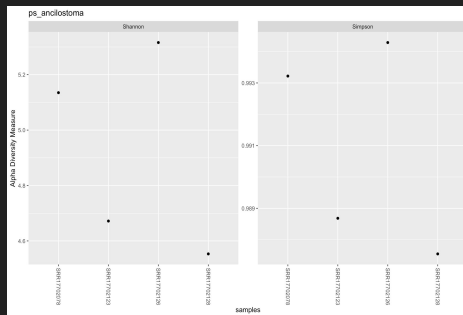
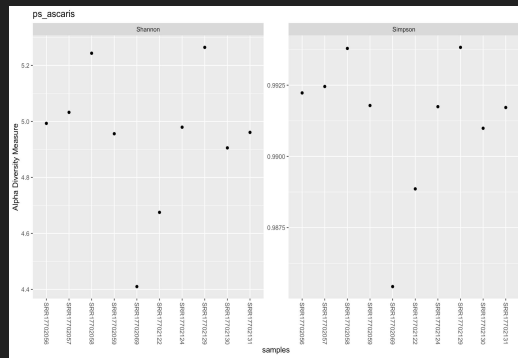
cor_matrix

	Parasito	ASV1	ASV2	ASV3	ASV4	ASV5	ASV6	ASV7	ASV8	ASV9	ASV10	ASV11	ASV12	ASV13	ASV14	ASV15	ASV16
SRR11574890	Haplorchis taichui	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR11574890	Haplorchis taichui	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702078	Ancilostoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702123	Ancilostoma	132	0	0	0	116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	166	0
SRR17702126	Ancilostoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	288	0	0	0	0	0	0
SRR17702128	Ancilostoma	0	216	0	0	0	0	0	0	0	0	203	0	0	0	0	0
SRR17702056	Ascaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702057	Ascaris	0	294	0	0	67	0	0	261	0	0	340	0	0	0	0	0
SRR17702058	Ascaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702059	Ascaris	0	291	0	0	84	0	0	0	0	0	0	0	390	0	0	0
SRR17702069	Ascaris	0	0	0	0	0	254	0	0	0	0	387	0	0	0	299	0
SRR17702122	Ascaris	60	306	0	0	0	0	0	0	0	0	347	0	197	368	64	0
SRR17702124	Ascaris	297	0	0	0	174	0	0	0	0	0	0	0	0	0	249	0
SRR17702129	Ascaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702130	Ascaris	0	0	336	0	0	0	0	0	0	0	0	432	0	0	148	0
SRR17702131	Ascaris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702127	Necator	325	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702132	Necator	0	0	0	0	18	7	0	0	0	0	0	0	147	0	0	0
SRR17702133	Necator	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SRR17702050	Opisthorchis	0	0	0	521	0	0	0	0	0	23	0	0	0	0	0	315
V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15			
aplorchis taichui	1.785714	1.571429	1.857143	1.428571	1.714286	1.357143	0.7857143	1.428571	1.071429	1.285714	0.7857143	0.6428571	1.00000	1.142857	0.000000		
Ancilostoma	705.245902	210.213115	88.065574	73.131148	73.393443	64.983607	55.0655738	55.459016	52.573770	54.901639	51.3114754	47.3934426	45.83607	43.770492	42.229501		
Ascaris	431.312500	389.687500	294.312500	261.875000	267.000000	254.250000	209.5625000	224.750000	197.937500	189.875000	248.9375000	206.6250000	211.18750	188.937500	197.375000		
Necator	108.333333	0.000000	0.000000	0.000000	6.000000	2.333333	0.0000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.0000000	0.0000000	49.00000	0.000000	0.000000		
Opisthorchis	48.055556	22.833333	75.888889	80.277778	40.111111	44.944444	107.3333333	35.944444	53.222222	42.777778	0.0000000	16.0555556	37.61111	11.000000	2.055556		
Plasmodium	8645.790576	8131.612565	4665.534031	4034.801047	3005.141361	2167.507853	1669.5235602	1551.895288	1342.397906	1267.183246	933.1675393	920.2617801	912.38743	901.146597	873.858639		
Taenia Saginata	0.000000	114.666667	0.000000	0.000000	53.000000	122.333333	0.0000000	0.000000	85.000000	34.333333	0.0000000	0.0000000	15.66667	188.333333	99.666667		
Trichuris	214.500000	159.333333	0.000000	0.000000	101.166667	114.166667	0.0000000	40.666667	83.666667	43.666667	0.0000000	0.0000000	0.000000	42.500000	32.333333		
Control	1789.676923	1238.076923	1087.061538	613.792308	543.592308	393.276923	375.4000000	362.792308	277.753846	236.930769	223.2692308	195.5538462	182.31538	192.215385	178.061538		
Schistosoma	0.000000	0.037500	0.025000	0.000000	0.000000	0.000000	0.0250000	0.025000	0.025000	0.025000	0.0125000	0.0000000	0.000000	0.000000	0.000000		

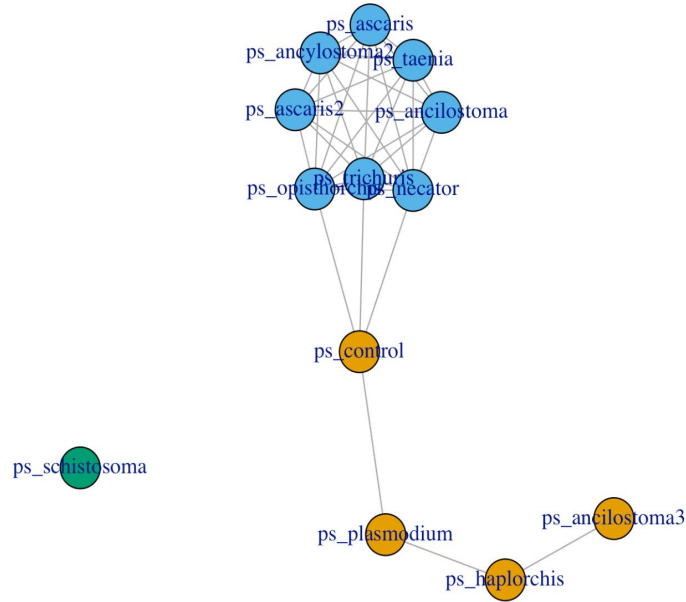
Resultados 3: Diversidades



Resultados 3: Diversidades



Resultados 3: Diversidades



Resultados 3: Diversidades

```
> summary(Shannova)
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
tipo_parasito	3	11.67	3.889	1.393	0.314
Residuals	8	22.34	2.792		

```
> TukeyHSD(Shannova)
```

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

```
Fit: aov(formula = Shannon ~ tipo_parasito, data = df_anova)
```

```
$tipo_parasito
```

	diff	lwr	upr	p adj
cestodo-apicomplexo	2.0945707	-5.472624	9.661765	0.8120980
nematodo-apicomplexo	1.5529880	-4.167273	7.273250	0.8203663
trematodo-apicomplexo	-0.5679346	-6.746523	5.610654	0.9904426
nematodo-cestodo	-0.5415827	-6.261844	5.178679	0.9895840
trematodo-cestodo	-2.6625054	-8.841094	3.516083	0.5437426
trematodo-nematodo	-2.1209227	-5.813336	1.571490	0.3236023

```
> summary(Simpsonova)
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
tipo_parasito	3	0.02054	0.006846	0.381	0.77
Residuals	8	0.14393	0.017991		

```
> TukeyHSD(Simpsonova)
```

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

```
Fit: aov(formula = Simpson ~ tipo_parasito, data = df_anova)
```

```
$tipo_parasito
```

	diff	lwr	upr	p adj
cestodo-apicomplexo	0.191476586	-0.4159746	0.7989278	0.7488142
nematodo-apicomplexo	0.133386107	-0.3258038	0.5925760	0.7901957
trematodo-apicomplexo	0.125635005	-0.3703468	0.6216168	0.8476186
nematodo-cestodo	-0.058090480	-0.5172804	0.4010995	0.9760350
trematodo-cestodo	-0.065841581	-0.5618234	0.4301402	0.9725360
trematodo-nematodo	-0.007751102	-0.3041569	0.2886547	0.9997708

Conclusiones

- Los grupos taxonómicos de los parásitos analizados no explicaron la variación de los cálculos de diversidades alfa.
- Al agrupar los parásitos por sus características biológicas, podemos apreciar una agrupación coherente con su taxonomía.
- Al analizar las abundancias bacterianas resultantes de distintas parasitosis intestinales (y *Plasmodium*) no se observan diferencias notables entre la mayoría de los parásitos, sin embargo, se notan diferenciadas del control (y *Plasmodium*).
- Una visión integral de los datos es indispensable para describir el impacto de parasitosis en la arquitectura de las comunidades bacterianas.

Bibliografía utilizada en este proyecto

Appiah-Twum, F., Akorli, J., Okyere, L., Sagoe, K., Osabutey, D., Cappello, M., & Wilson, M. D. (2023). The effect of singledose albendazole (400 mg) treatment on the human gut microbiome of hookworm-infected Ghanaian individuals. *Scientific Reports*, 13(1), 11302. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38376-3>

Easton, A. V., Quiñones, M., Vujkovic-Cvijin, I., Oliveira, R. G., Kepha, S., Odiere, M. R., Anderson, R. M., Belkaid, Y., & Nutman, T. B. (2019). The impact of anthelmintic treatment on human gut Microbiota based on cross-sectional and pre- and postdeworming comparisons in western Kenya. *mBio*, 10(2). <https://doi.org/10.1128/mBio.00519-19>

Gobert, G. N., Atkinson, L. E., Lokko, A., Yoonuan, T., Phuphisut, O., Poodeepiyasawat, A., ... & Adisakwattana, P. (2022). Clinical helminth infections alter host gut and saliva microbiota. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(6), e0010491.

Prommi, A., Prombutara, P., Watthanakulpanich, D., Adisakwattana, P., Kusolsuk, T., Yoonuan, T., ... & Chaisiri, K. (2020). Intestinal parasites in rural communities in Nan Province, Thailand: changes in bacterial gut microbiota associated with minute intestinal fluke infection. *Parasitology*, 147(9), 972-984.

Jenkins, T. P., Rathnayaka, Y., Perera, P. K., Peachey, L. E., Nolan, M. J., Krause, L., ... & Cantacessi, C. (2017). Infections by human gastrointestinal helminths are associated with changes in faecal microbiota diversity and composition. *PloS one*, 12(9), e0184719.

