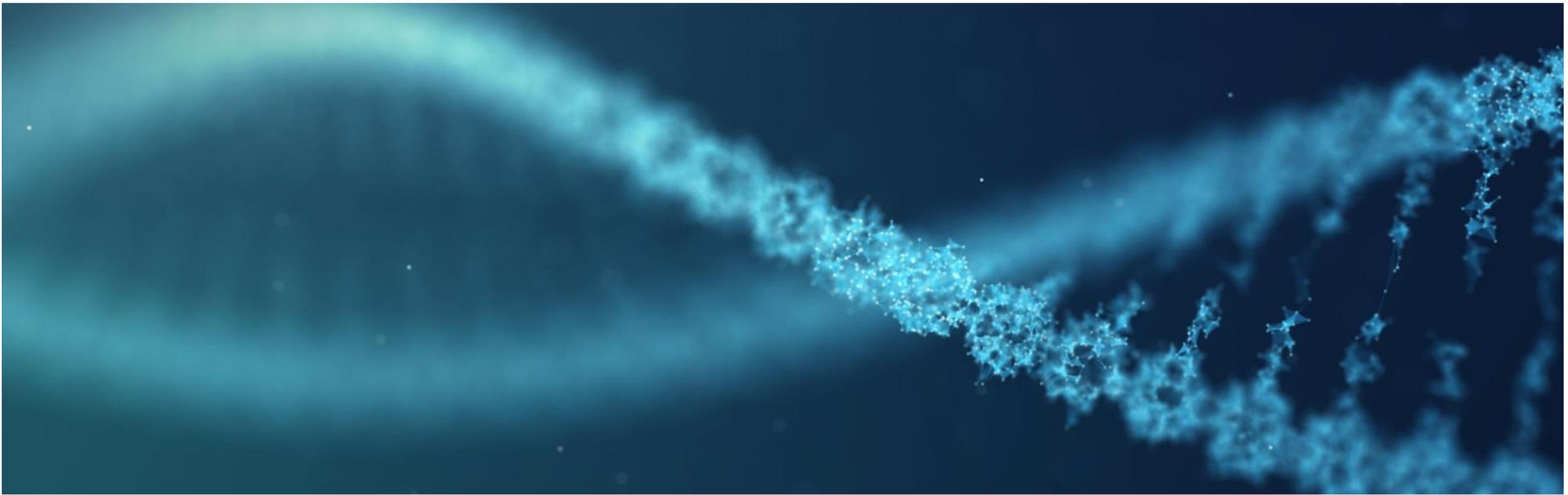


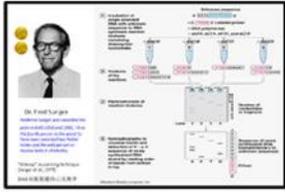
---

# Aplicaciones de la secuenciación a la microbiología clínica

Ana Fernández González  
FEA Servicio de Microbiología  
CHUAC



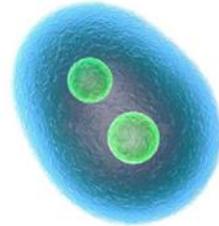
# INTRODUCCIÓN A LA SECUENCIACIÓN GENÓMICA



Sanger method



Human Genome Project



Complete eukaryotic genome



Second generation sequencer: 454 GS20



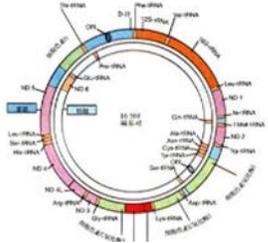
Research Human Microbiome Project



Nanospace sequencing

1977

Human mitochondrial genome sequence



1981

1990

Complete cell genome



1995

Complete the Human Genome Project



2001

2005

Second generation sequencer: Genetic Analyzer 2



2007

2008

Third generation sequencer: PacBio RS



2011

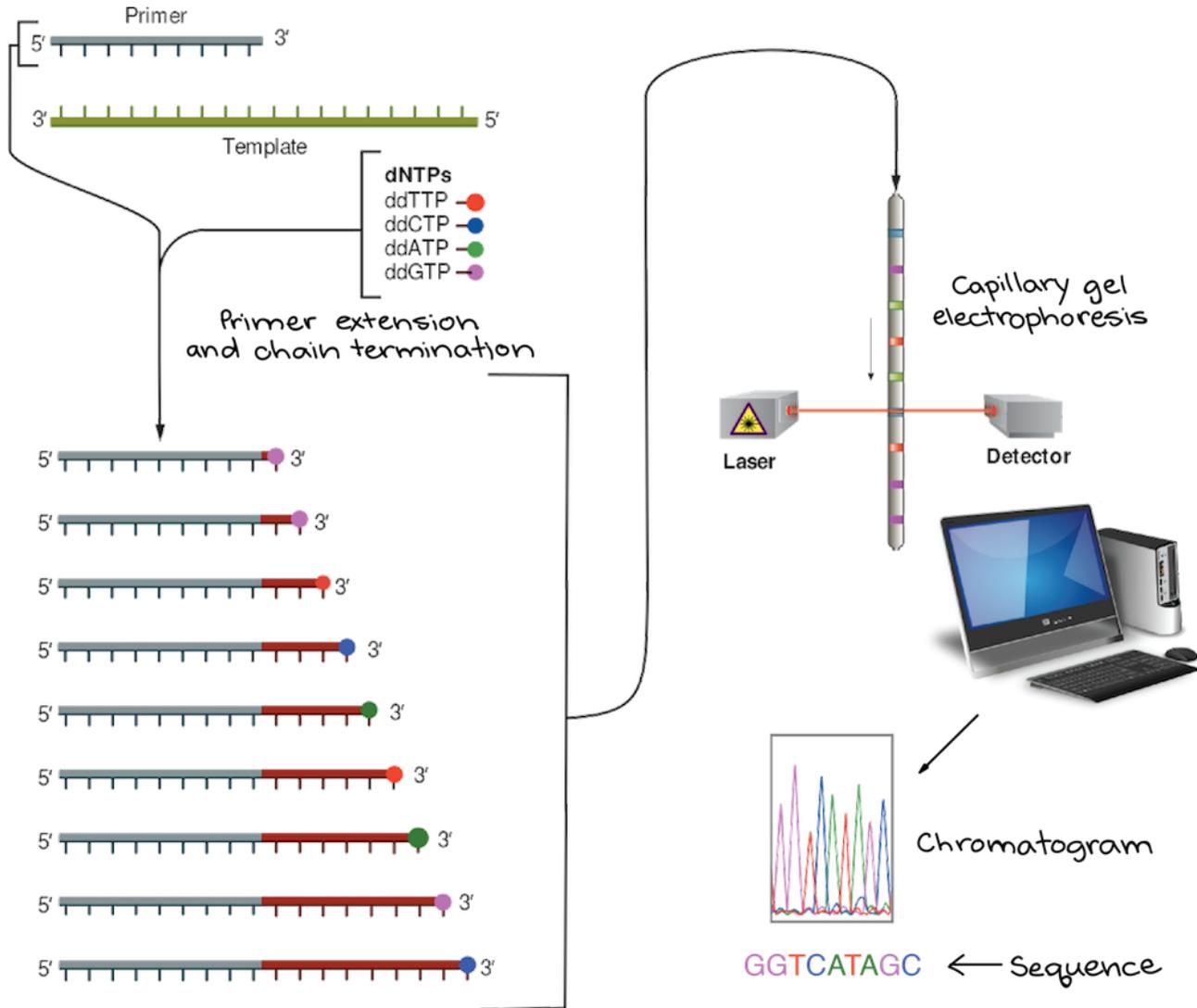
2014

The third stage Human microbiome project



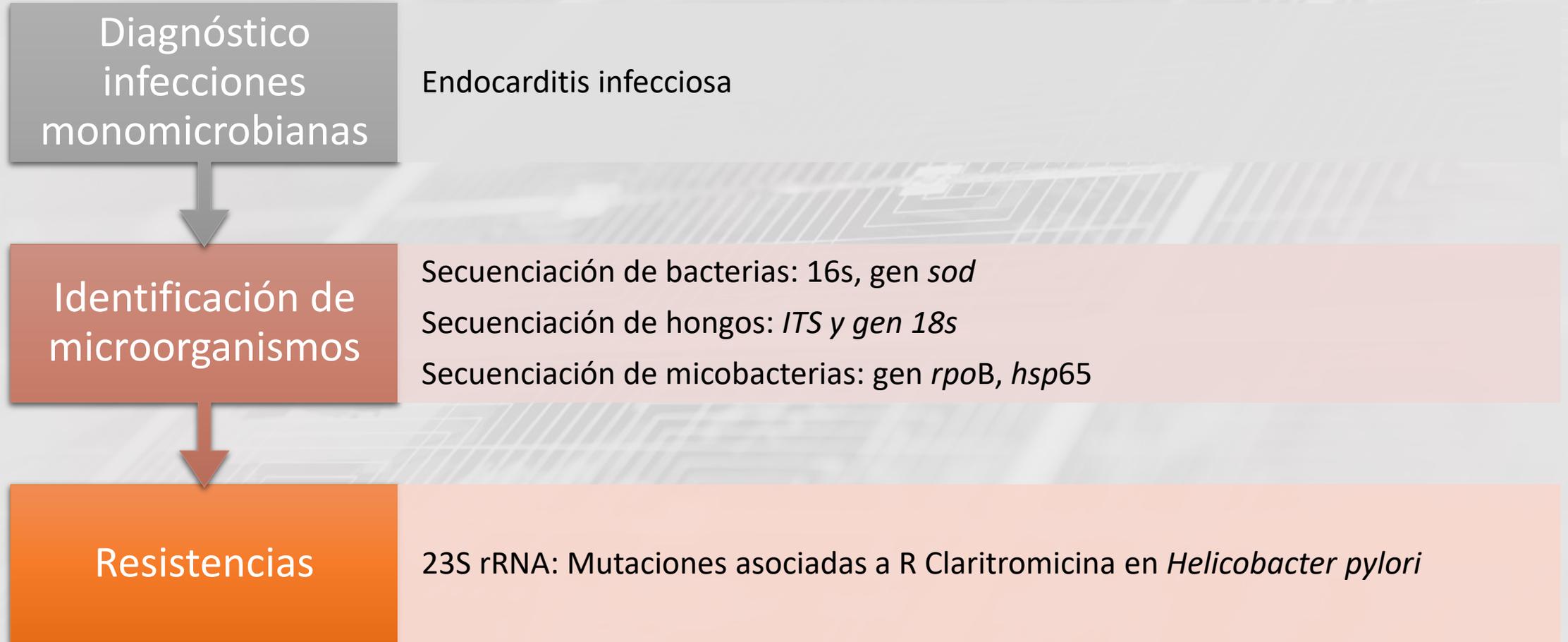
2019

# Secuenciación de Sanger



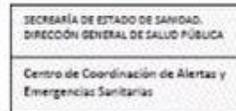
- Gran exactitud 99,99 % (gold standard)
- Tamaños amplicón 800-900 pb
- Más barata si tienes que secuenciar menos de 20 fragmentos de ADN
- Más rápida si tienes pocos fragmentos

# Aplicaciones en microbiología de la secuenciación de Sanger





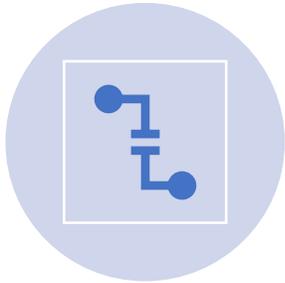
# INTRODUCCIÓN DE LAS TECNOLOGÍAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA (NGS) EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA



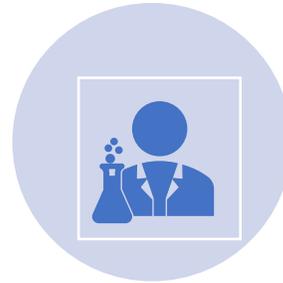
INTEGRACIÓN DE LA SECUENCIACIÓN GENÓMICA EN LA  
VIGILANCIA DEL SARS-CoV-2

22 de enero de 2021

# Secuenciación masiva (NGS)



**Altamente paralelas:** ocurren muchas reacciones de secuenciación al mismo tiempo.



**Microescala:** las reacciones son diminutas y se pueden hacer muchas a la vez en un chip.



**Rápidas:** puesto que las reacciones se realizan en paralelo, los resultados están listos mucho más rápido.



**Más secuenciación por menos dinero:** secuenciar un genoma es más barato que con la secuenciación de Sanger.

# Secuenciación masiva (NGS)

## Secuenciadores de segunda generación ó de cadena corta



## Secuenciadores de tercera generación ó de cadena larga

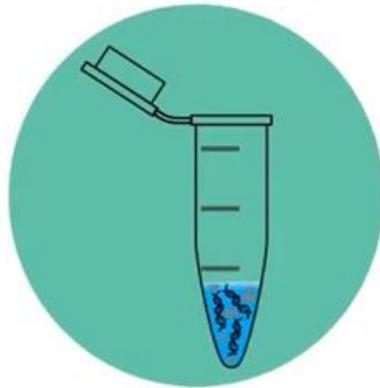




NGS

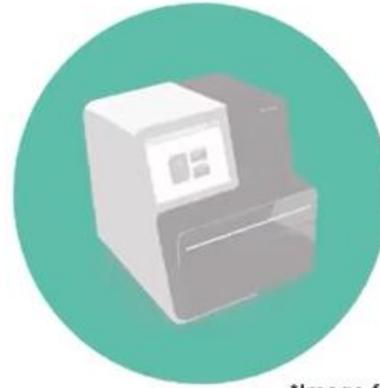
# FLUJO DE TRABAJO

Step 1



Library prep

Step 2



\*Image from Illumina

Sequencing

Step 3



Data analysis

# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



**EPIDEMIOLOGÍA:**  
SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS  
Bacterias



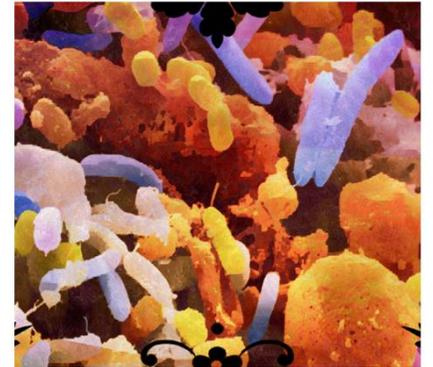
**ESTUDIO DE  
RESISTENCIAS:**  
Bacterias: EPC, Pa MR...  
Virus: VIH, SARS-CoV-2



**CARACTERIZACIÓN DE  
MICROORGANISMOS**



**DIAGNÓSTICO  
ENFERMEDADES  
INFECCIOSAS**



**ESTUDIO DE  
MICROBIOMA**

## Secuenciación dirigida



WGS

Amplicones



### EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



### ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

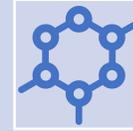
Bacterias: EPC, Pa MR...

Virus: VIH, SARS-CoV-2



### CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

## Secuenciación no dirigida



Metagenómica



16s metabarcoding

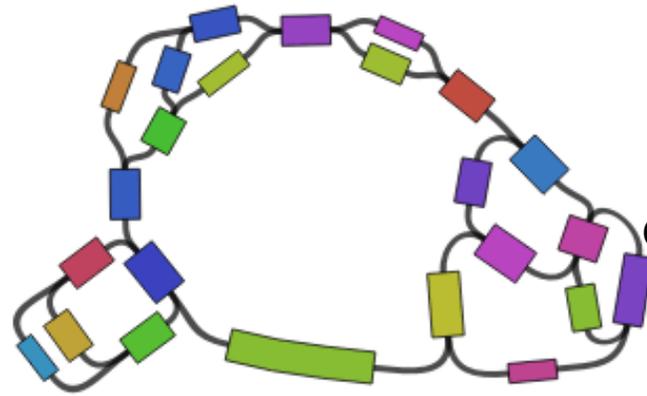


### DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



### ESTUDIO DE MICROBIOMA

# Tecnologías disponibles

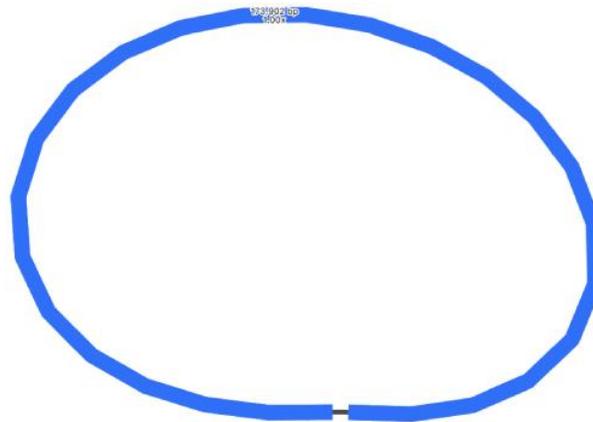


**LECTURA CORTA (Illumina)**

**ALTA CALIDAD (pocos errores)**

**GENOMA "TROCEADO" EN MÚLTIPLES TROZOS (CONTIGS)**

**MiSeq Illumina**



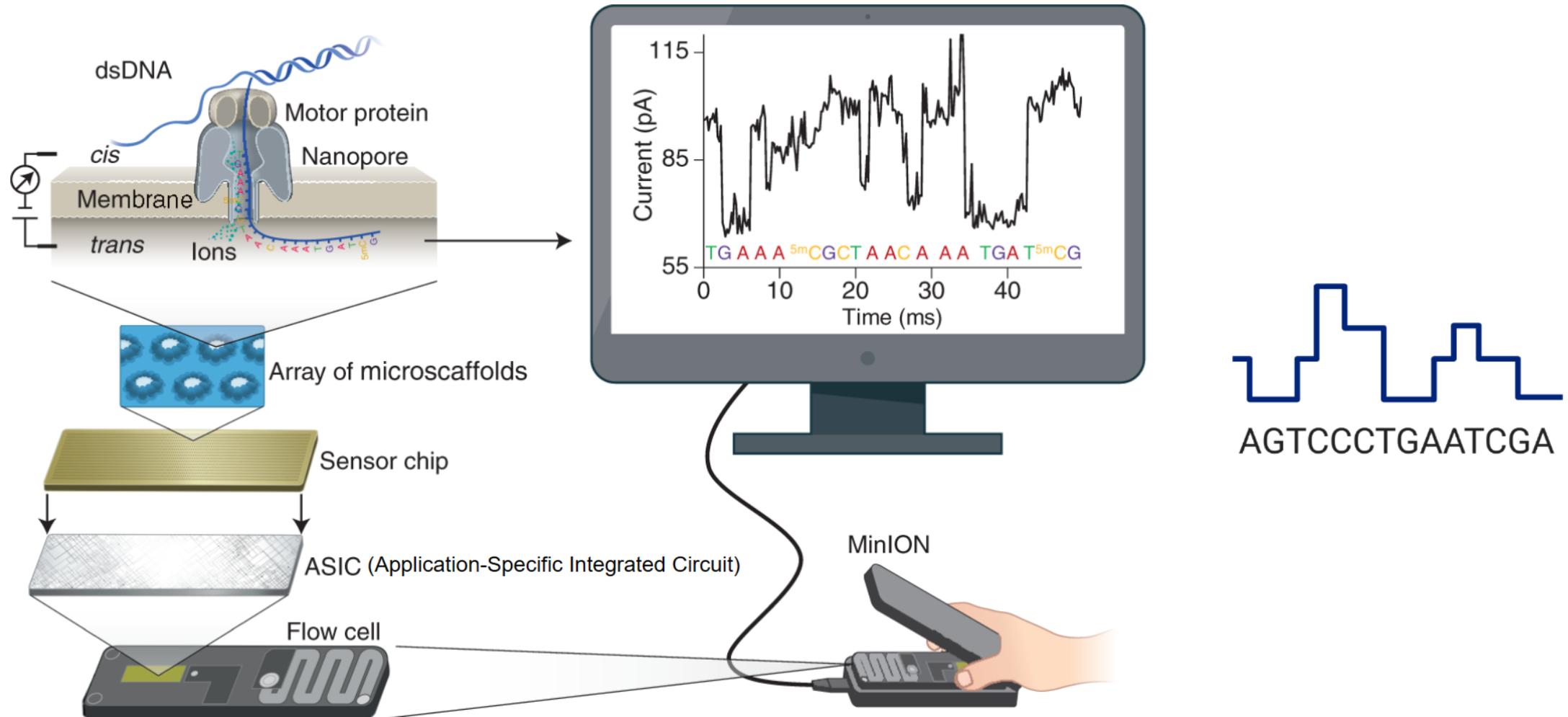
**LECTURA LARGA (MinION, PacBIO)**

**CALIDAD "BAJA"**

**FRAGMENTOS GENÉTICOS GRANDES**

**Minion Oxford Nanopore**

# Tecnología secuenciación Oxford Nanopore



# Tecnología de secuenciación Illumina



## MiSeq

### Core Consumables Version 2 Nano

- 500 cycles (Nano)
- 300 cycles (Nano)

### Core Consumables Version 2 Micro

- 300 cycles (Micro)

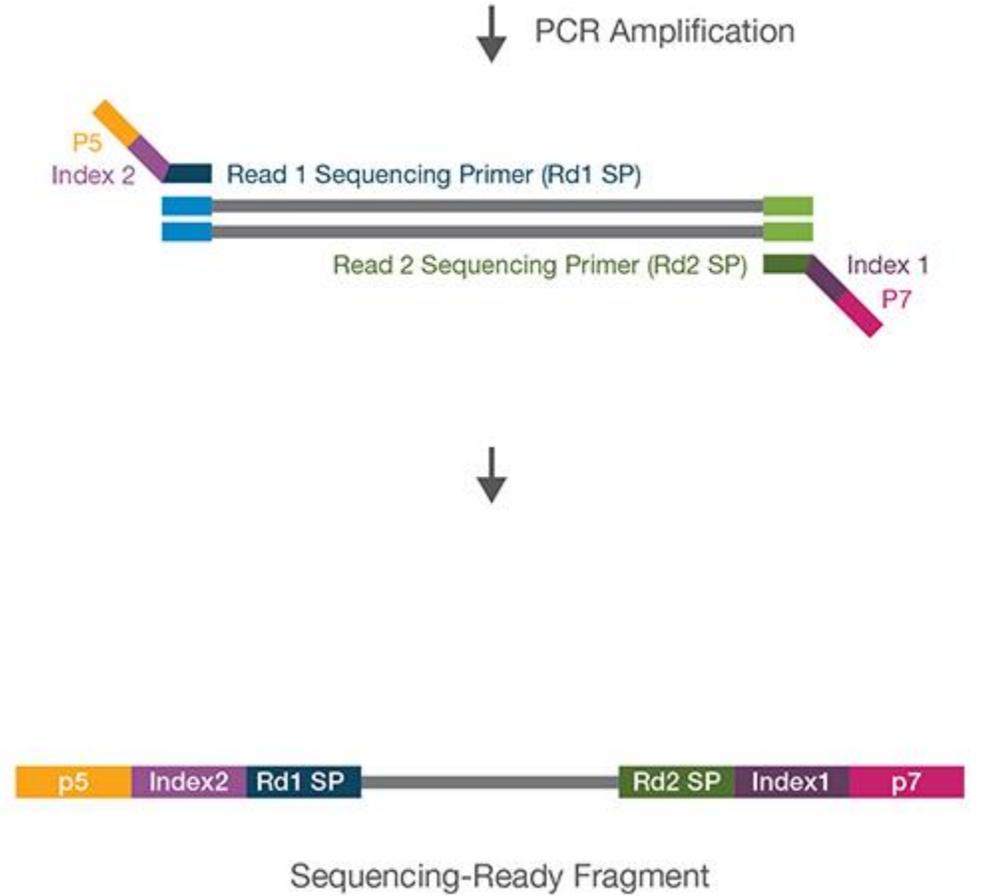
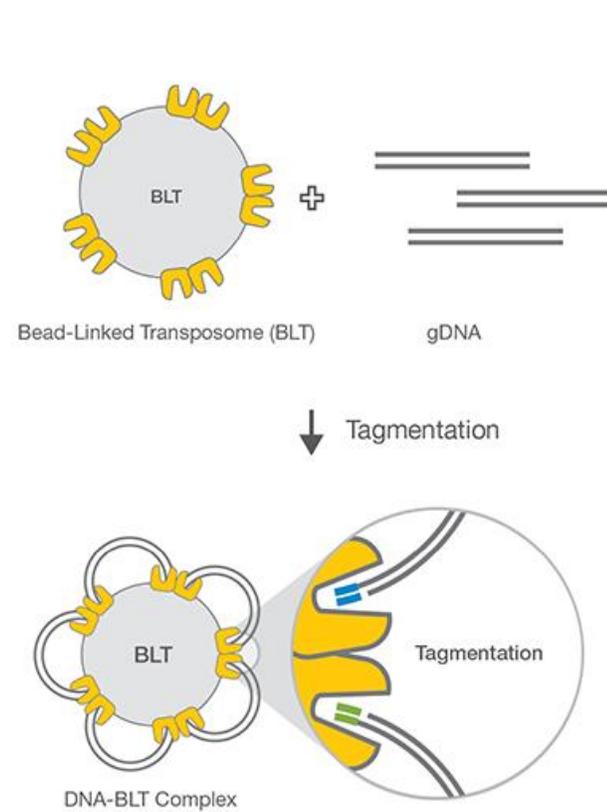
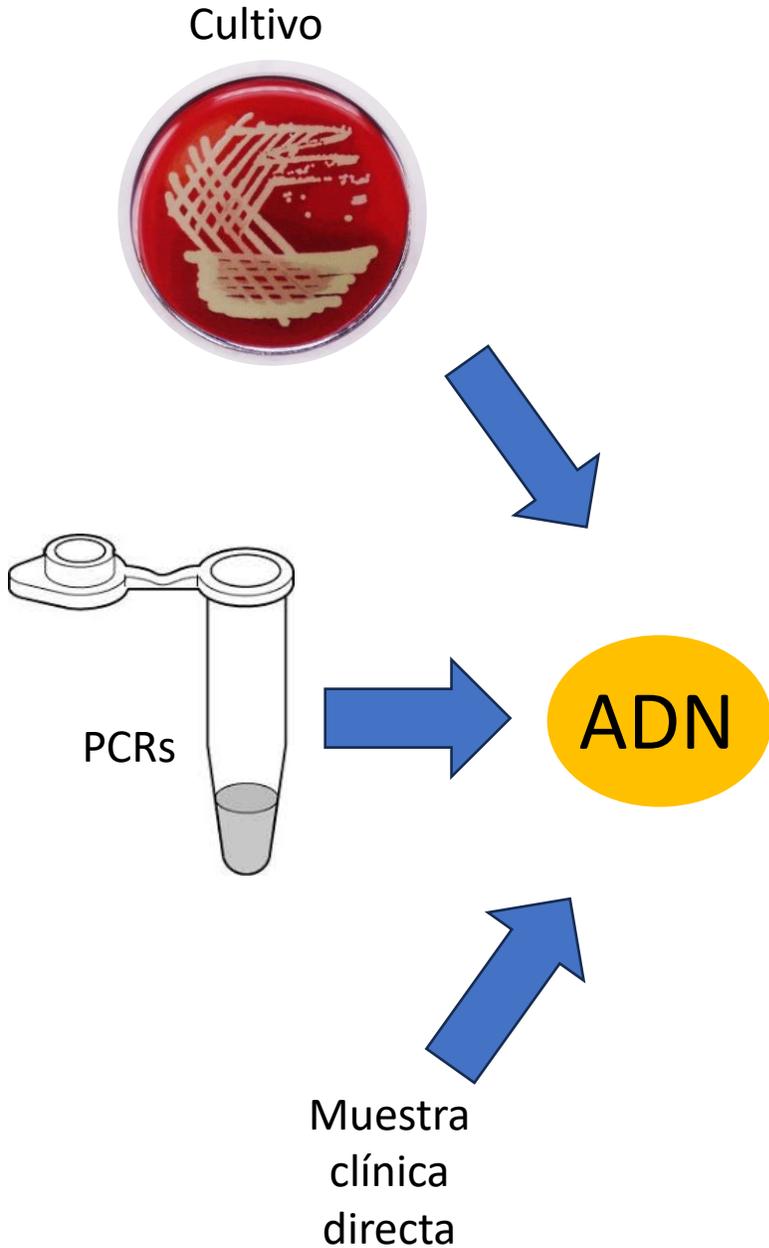
### Core Consumables Version 2

- 500 cycles
- 300 cycles
- 150 cycles

### Core Consumables Version 3

- 600 cycles
- 150 cycles

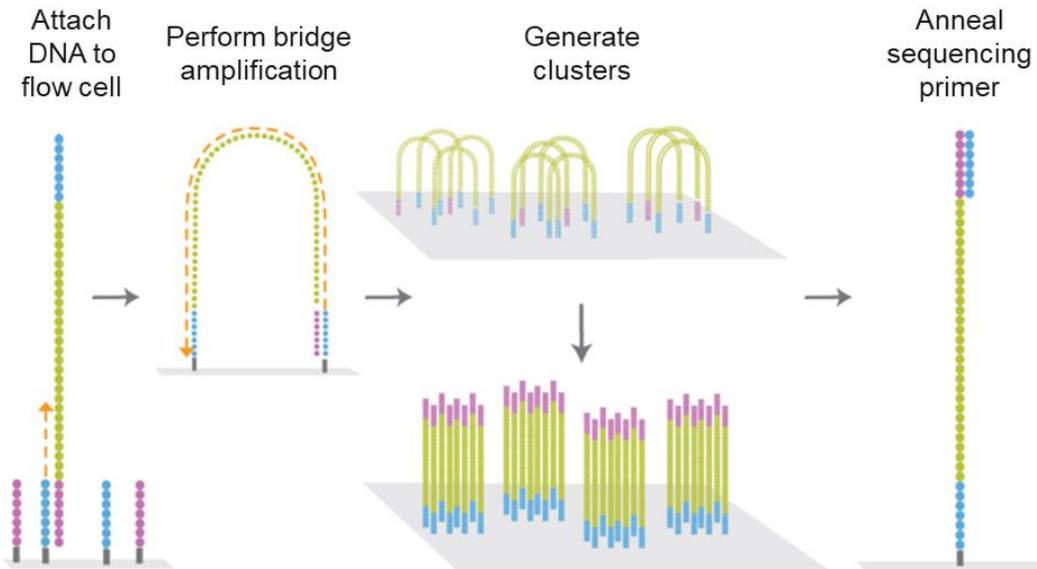
# Illumina DNA Prep



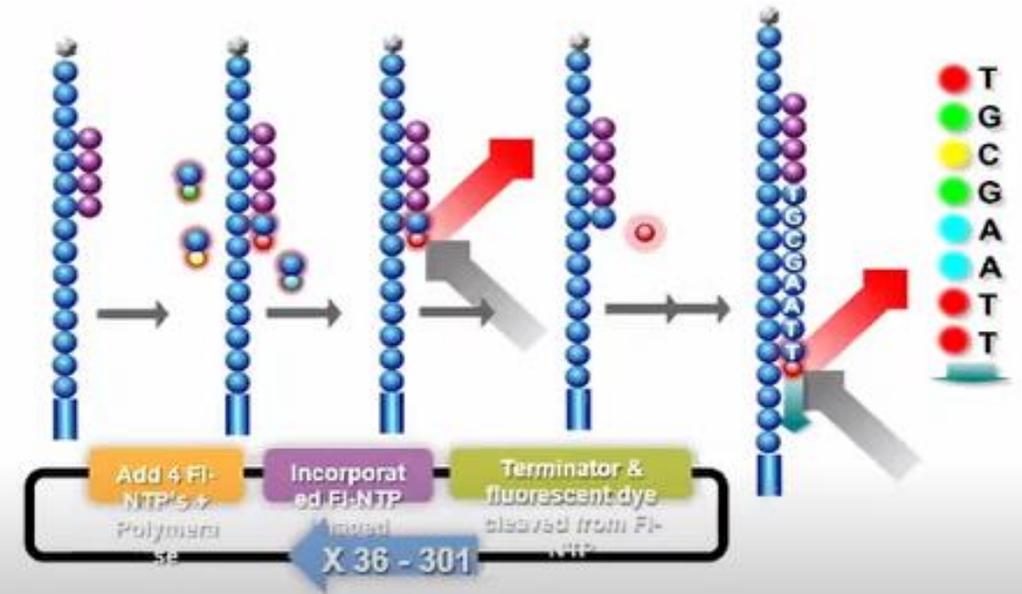
# Tecnología de secuenciación Illumina



## Generación de clusters



## Secuenciación por síntesis

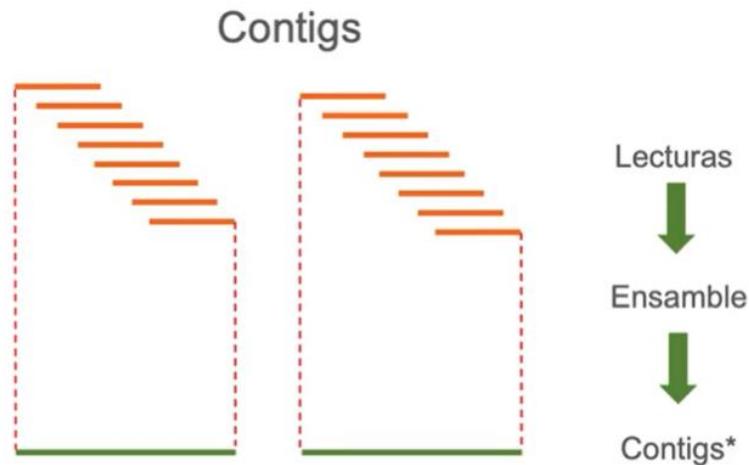


# Formato FASTQ

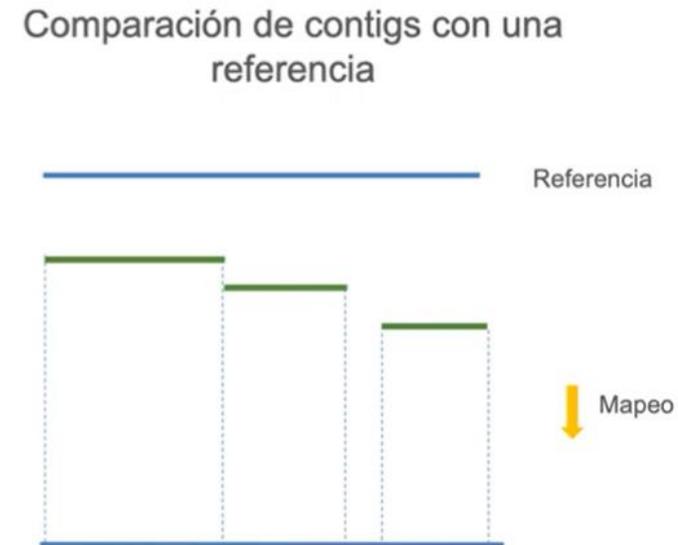
- Encabezado: @Identificador de la secuencia
- Secuencia: Compuesta por A, G, C y T y N cuando el secuenciador no es capaz de asignar
- Indicador del fin de secuencia +
- Parámetros de calidad de la secuencia en código ASCII

```
View - EPICHUAC11458_S7_L001_R2_001.fastq
Fichero Edición Ver Ayuda
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:14701:2012 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TTGTAACATTAGGGAGGACTTGAAGAGCCACCACATTTTCACCTACAGTGAACAATGCTAGGGAGAGCTGCCTATATGGAAG
+
1>13@1BF11111111ABF1111000A0A0A0FGHH22AAF1B1AE112A1BFFCF10/0///AFFFG1F1F21110
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:16764:2043 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TTTGCTATGCTGCTTTTGAATGATGTTTGTCAAACATAAGCATGCAATTTCTCTGTTTTGTTTACCTTCTCTTGCACCTGAGCTTATTTAATATGGTCTATATGCCTGCTAGTTGGGTGATGCGTATTATGACATGGTTGGATT
+
1>A11B3D1D@D1AGGGG1A33F11BBGGHFGF333B0F11A1F1A1DFHDDGGHFFHHBGCCHG?GH2A1DGEHFFH1AA1FGBG22AGHFGGHHBFB2GG1GDGBFB2@F1BF11BF11/?//B21/E/EG2B22B1B10GG?/1B1
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:14083:2045 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TTACCATGCTTAAGTTCATACTGAGCAGGTGCTGACATCATAACAAAAGGTGACTCCTGTTGACTAGATATTTTGTAGCTGTTTACCACACGTACAAGTATCTGAACACCTTTCTTAAATTGTTTAAAGAGTGTGCCCATGT
+
1>1>>1B1@FF311BGG3G3AF331A100FC0E0DG11A1D11F22B11000/B11BFEFG1FG1FAFGD11GEGHHHDG22AFBGGHEDG1F/?EGE/F11/BDFDG22@@@0>FGHFFHB21BG1FG>FF2211101B>FB1BF1F0B
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:14459:2049 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TGTTGAGATAAATTTAAACAATTTCCCAACCGTCTCAAGAACTCTACACCTTCTTAACTCTCTTCAAGCAATCAAGGACGGGTTTGGATTTTTTATAAACAGTGCACAAAGATGTTAGTTAGCCACTGCGAAGTCAACTGAACAACA
+
11>AA311D111BFG33B31BGHFAF1BEE0EEGGH21A110AFFG1B1ABGHHAGH11BFHEHFGFD12BA00BB11110A>///FE/B/FGHGF2GF21B10B11B11000B1FGE1GHF2B>1EG11/@//?>B2BG011BDC</
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:16101:2049 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TTTATGTGATGTTGTAGACGGTGTGAATTCATCAACTTGTATGATGTTTACAACCTAATAGACCAACAAGAGTCAATGTACAACCTATTGTTAATGGTGTAGAAGTCTTTTATGTCTATGCTAATGGAGTAAAGGCTTTTGCAA
+
1>A1A3B3D3B3FG3G33A11BF0E33DGE3DA31BFG1F1F22D2D1DG2A11B/F00BA211D10B0/000DF///B1F2A21BF1DF1DFB2GB1DGGEBD1210GF1GGHBF2FGH2B21B22BF110/?12121<FHHHD12>
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:17489:2052 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
CTATATTGCTTCGTGGACATCTTCGATTGCTGGCTTTCCCTCATCAGTGTAGCGAACAGTCAAGAAATTCAACTCCATGCAGCAGTAAACGAACCTTCTCTGCTAGAATGGCTGGCAATGGCGGTTTTGCTTCTTTCTTTCTTCTT
+
111>1BD3DFFD1B11B1BAFG30B0BG3AF11AFGFDAGF1FD2B/F00FA/A///00DFE222100DF12DFFC111111@00D122B///>FGEHFFHBEGB111B11>F//E01B11>///</?01111112@122@1211221
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:16127:2053 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
CTGTTATCCGATTTACAGGATTTGAAATGGGCTAGATTCCCTAAGAGTGTAGGAACTGTTATTTATACAGAACTGGAACACCCTTGTAGG
+
1>1AA3DFF@1>EGFG3111BFB311DDBAAGAG1DGGFEG10011F1D21011B10FBAG2FHHHEHBF111AF1001BF0AFGHFGH1
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:11638:2058 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
TCCAATTCAGTTGTTCTTCTTATTTGACATGAGTAAATTTCCCTTAAATTAAGGGTACTGCTGTTATGTCTTTAAAAGAAGTCAAATCAATGATATGTTTATCTCTTCTTAGTAAAGTACTTATAATAGAGAAAA
+
>>>>3BDD5DF5FFGGFDG5FHDGH5GH6BAF444D555DFGFEAFGHFB5FG35322B2BG55G3GG55GGHH5F5551131BG355FB3FGFGGG5FGHFFHHHHGHGH44FD44@BDGF3BGHFF44FGD3434B30
@M06398:451:000000000-GJF2Y:1:1101:18611:2062 2:N:0:CGGAGCCT+TTATGCGA
```

- Las lecturas se ensamblan superponiendo las secuencias y forman los Contigs.



- Alineamiento: Mapeamos las lecturas con el genoma de referencia.
- Variant calling: Se analizan las lecturas mapeadas buscando las diferencias respecto al genoma de referencia.



# Calidad de las secuencias

Run Name

**CHUAC232COVID10102023**

Run Status

**Completed**

%≥Q30

**92.96%**

%PF

**93.7%**

%Aligned to PhiX

**1.38%**

Yield

**1.83 Gbp**



Flow Cell ID

**000000000-GJK3Y**

Run ID

**231010\_M06398\_0456\_000000000-GJK3Y**

## Escala Phred

La calidad de las lecturas es la probabilidad de que cada una de las bases sea incorrecta

$$Q = -10 \log_{10} p$$

Q = valor de calidad PHRED

p = probabilidad de que la base en la secuencia sea incorrecta

Q (Qual)	P	Probabilidad de que la base sea correcta
10	1 en 10	90 %
20	1 en 100	99 %
30	1 en 1,000	99.9 %
40	1 en 10,000	99.99 %
50	1 en 100,000	99.999 %

0.1% Probabilidad de base incorrecta

QUAL: Valor de calidad de la variante de acuerdo a la escala Phred. A mayor valor de este campo, mayor calidad

# PF: passing filter

Run Name

**CHUAC232COVID10102023**

Run Status

**Completed**

%≥Q30

**92.96%**

%Aligned to PhiX

**1.38%**

Yield

**1.83 Gbp**

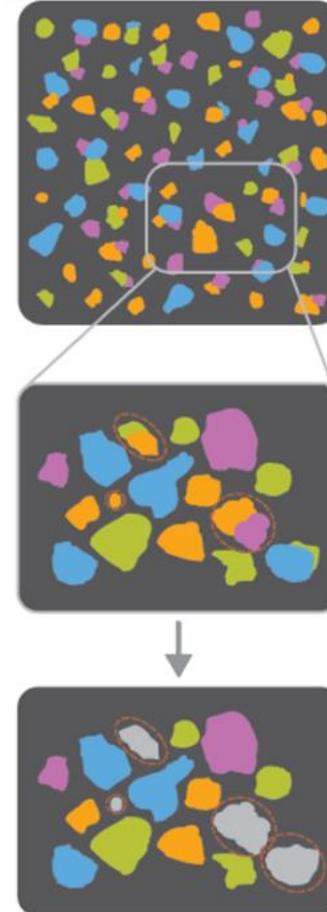
Flow Cell ID

**000000000-GJK3Y**

Run ID

**231010\_M06398\_0456\_000000000-GJK3Y**

%PF  
**93.7%**

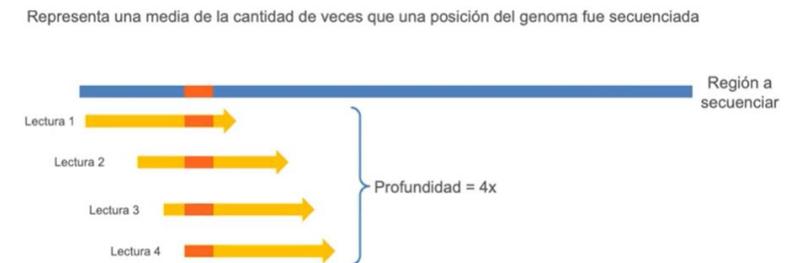


Sample	% of non-N bases (Coverage >= 10x)	Coverage >= 30x	Median Coverage
EPICHUAC11532	NC_045512.2: 97.5%	NC_045512.2: 94.64%	NC_045512.2: 893(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11533	NC_045512.2: 97.19%	NC_045512.2: 95.91%	NC_045512.2: 910.5(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11534	NC_045512.2: 98.16%	NC_045512.2: 95.94%	NC_045512.2: 953(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11535	NC_045512.2: 97.6%	NC_045512.2: 94.96%	NC_045512.2: 1124(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11536	NC_045512.2: 98.11%	NC_045512.2: 96.74%	NC_045512.2: 936(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11537	NC_045512.2: 96.13%	NC_045512.2: 94.57%	NC_045512.2: 1014(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11538	NC_045512.2: 94.69%	NC_045512.2: 94.52%	NC_045512.2: 1095(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11539	NC_045512.2: 94.06%	NC_045512.2: 93.18%	NC_045512.2: 953(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11540	NC_045512.2: 94.29%	NC_045512.2: 92.28%	NC_045512.2: 864.5(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11541	NC_045512.2: 97.36%	NC_045512.2: 94.59%	NC_045512.2: 963(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11542	NC_045512.2: 98.13%	NC_045512.2: 96.37%	NC_045512.2: 1085(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11543	NC_045512.2: 97.88%	NC_045512.2: 94.95%	NC_045512.2: 951(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11544	NC_045512.2: 96.28%	NC_045512.2: 95.07%	NC_045512.2: 841(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11545	NC_045512.2: 96.39%	NC_045512.2: 94.83%	NC_045512.2: 1059(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11546	NC_045512.2: 98.06%	NC_045512.2: 96.13%	NC_045512.2: 991(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11547	NC_045512.2: 93.02%	NC_045512.2: 90.45%	NC_045512.2: 803(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11548	NC_045512.2: 97.62%	NC_045512.2: 95.63%	NC_045512.2: 749(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11549	NC_045512.2: 93.09%	NC_045512.2: 91.88%	NC_045512.2: 828(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11550	NC_045512.2: 95.65%	NC_045512.2: 94.93%	NC_045512.2: 943(coverage)(amplicon depth)
EPICHUAC11551	NC_045512.2: 97.54%	NC_045512.2: 96.69%	NC_045512.2: 860(coverage)(amplicon depth)

## Cobertura



## Profundidad



# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



## EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

Bacterias: EPC, Pa MR...

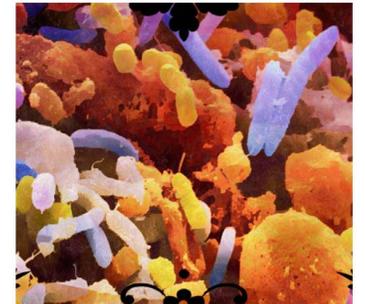
Virus: VIH, SARS-CoV-2



## CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



## DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



## ESTUDIO DE MICROBIOMA



# EPIDEMIOLÓGÍA SARS-CoV-2

EPIDEMIOLÓGÍA:

Secuenciación protocolo ARTIC Primers v.4 → v.5.3.2.

illumina

HOME RUNS

 DRAGEN COVID Lineage v4.0.3  
BaseSpace Labs

microlab

SERVIZO GALEGO de SAÚDE | Área Sanitaria da Coruña e Cee

CHUAC224COVID18092023 Fecha de carrera: 2023-09-13

Secuenciación SARS-CoV-2

23C 9 - 23F 9 - 23A 1 - 23B 1 DV.7.1 9 - EG.5.1.1 6 - EG.5.1 3 - XBB.1.5 1 - HF.1 1

Buenas: 9 Mediocres: 11 Malas: 0

Resumen Estadísticas NGS Nextclade iVar (VAFs) Mutaciones impropias

Resumen

Show 25 entries Search:

sample	clade	lineage	qc





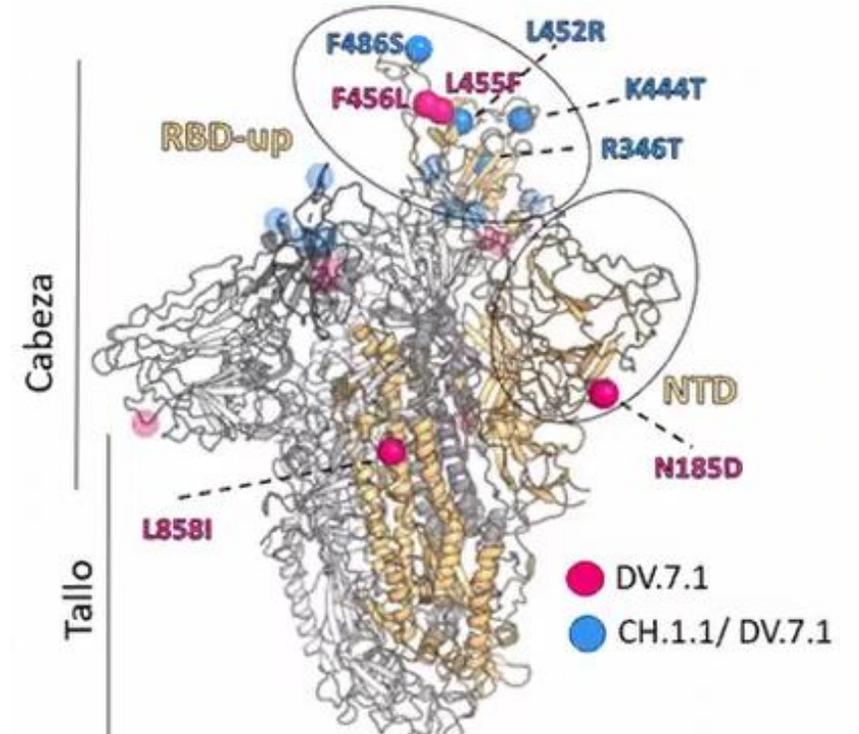
# EPIDEMIOLOGÍA SARS-CoV-2

## DESCRIPCIÓN NUEVAS VARIANTES:

- Facilidad de propagación
- Gravedad de la enfermedad
- Eficacia de vacunas, tratamientos
- Impacto en las herramientas de diagnóstico

## CIRCULACIÓN

## CADENAS DE TRANSMISIÓN



# EPIDEMIOLOGÍA: circulación de variantes



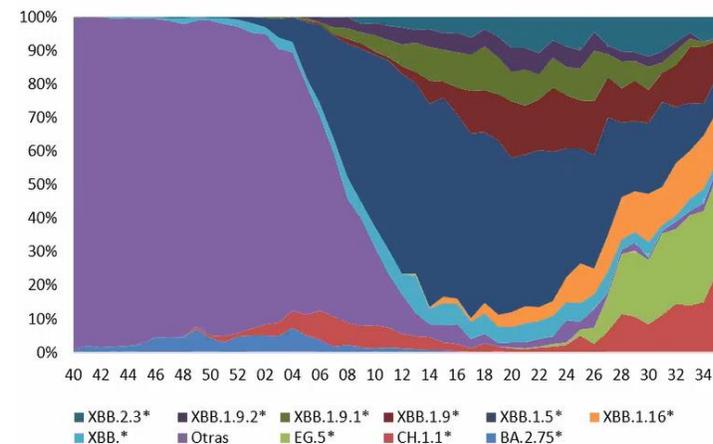
EPIDEMIOLOGÍA:

## • Regional: Circulación Galicia

Táboa 1: Número de mostras secuenciadas e porcentaxe que supón cada unha das liñaxes: Últimas cinco semanas, xunto a porcentaxe que supuxeron nesas semanas.

Liñaxe	número de mostras	%	Semana			
			35	36	37	38-39
EG.5.1	74	16%	19%	18%	22%	7%
DV.7.1	67	15%	16%	13%	20%	11%
DV.7	37	8%	11%	13%	6%	2%
XBB.1.5	33	7%	3%	10%	6%	11%
EG.5.1.1	21	5%	5%	3%	7%	5%
XBB.1.16.11	19	4%	3%	1%	1%	11%
FL.1.5.1	17	4%	2%	4%	7%	4%
EG.5.1.3	15	3%	7%	2%	0%	3%
XBB.1.16	13	3%	3%	4%	0%	5%
XBB.1.16.6	11	2%	1%	3%	0%	6%
XBB.1	10	2%	1%	1%	5%	4%
BA.2	10	2%	1%	3%	5%	2%
Todas cunha porcentaxe ≥ 2%	327	73%	70%	75%	79%	69%
<b>Mostras secuenciadas</b>	<b>449</b>	<b>100%</b>	<b>151</b>	<b>105</b>	<b>85</b>	<b>108</b>

## • Nacional: España SARS-CoV-2





EPIDEMIOLÓGÍA:

# EPIDEMIOLÓGÍA: circulación de variantes

## • Internacional



### Tracking of hCoV-19 Variants

VUM GRA (BA.2.86+BA.2.86.\*) first detected in ...

As of 12 October 2023 - 1327UTC, 29 countries shared 567 GRA (BA.2.86+BA.2.86.\*) genome sequences with unprecedented speed from sample collection to making these data publicly accessible via GISAID EpiCoV, in some cases within less than 24 hours.

### Map of tracked variant occurrence

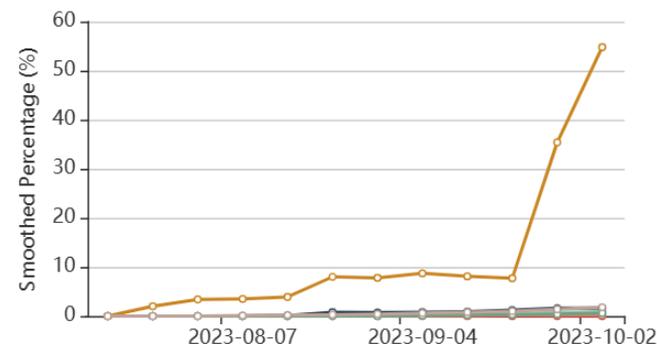
Circle size proportional to number of variant genomes, zoom into region for more detail. Color by recency with red being most recent.



### Relative Variant Genome Frequency per Region (exponentially smoothed alpha=0.3)

Click Legend to show/hide series

SouthAmerica Europe-UK Oceania 1/3



# EPIDEMIOLOGÍA SARS-CoV-2



EPIDEMIOLOGÍA:

## SARS-CoV-2 en aguas residuales



### Seguimiento

Desde abril de 2020, el equipo de COVIDBENS analiza la cantidad de virus presente en el agua residual de los municipios de A Coruña, Arteixo, Cambre, Culleredo y Oleiros



### Alerta temprana

COVIDBENS es una herramienta eficaz de alerta temprana para predecir brotes antes de su reflejo en cifras hospitalarias, lo que sitúa a Edar Bens como un centinela de la epidemia



### Estimación de infectados

Los modelos estadísticos aplicados por COVIDBENS permiten realizar una estimación del número de personas infectadas por coronavirus entre la población

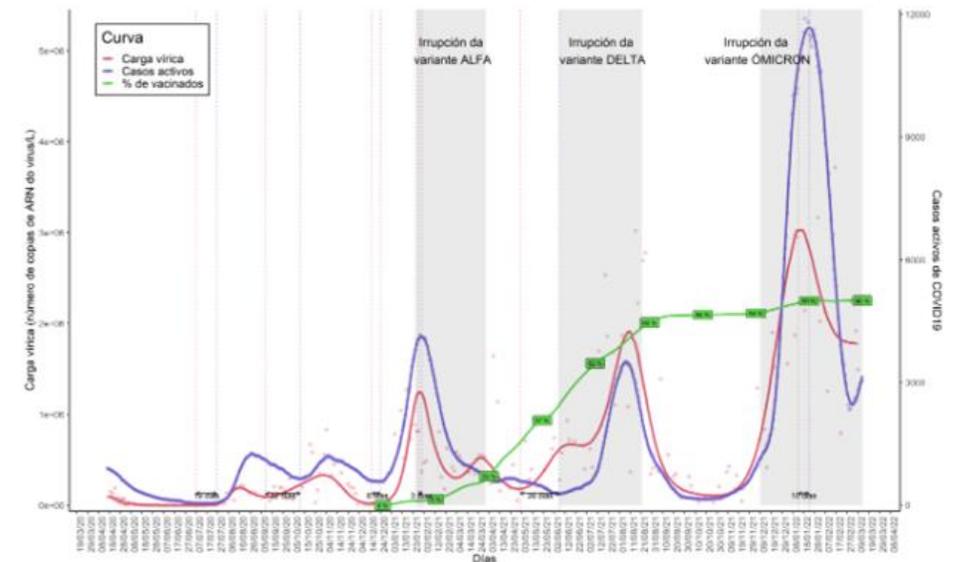


Environmental Science and Pollution Research (2023) 30:79315–79334  
<https://doi.org/10.1007/s11356-023-27877-3>

### RESEARCH ARTICLE

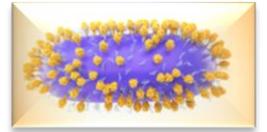
## Wastewater early warning system for SARS-CoV-2 outbreaks and variants in a Coruña, Spain

Noelia Trigo-Tasende<sup>1</sup> · Juan A. Vallejo<sup>1</sup> · Soraya Rumbo-Feal<sup>1</sup> · Kelly Conde-Pérez<sup>1</sup> · Manuel Vaamonde<sup>2</sup> · Ángel López-Oriona<sup>2</sup> · Inés Barbeito<sup>2</sup> · Mohammed Nasser-Ali<sup>1</sup> · Rubén Reif<sup>3</sup> · Bruno K. Rodiño-Janeiro<sup>4</sup> · Elisa Fernández-Álvarez<sup>5</sup> · Iago Iglesias-Corrás<sup>5</sup> · Borja Freire<sup>5</sup> · Javier Tarrío-Saavedra<sup>2</sup> · Laura Tomás<sup>6,7</sup> · Pilar Gallego-García<sup>6,7</sup> · David Posada<sup>6,7,8</sup> · Germán Bou<sup>1</sup> · Ignacio López-de-Ullibarri<sup>2</sup> · Ricardo Cao<sup>2</sup> · Susana Ladra<sup>5</sup> · Margarita Poza<sup>1</sup>





# Epidemiología GRIPE A/B y VRS



EPIDEMIOLOGÍA:



DIAGNÓSTICA  
**LONGWOOD**

Secuenciación gripe

DOCUMENTACIÓN TÉCNICA

## Protocolo secuenciación Influenza



🌐 Whole-Genome Amplification of Respiratory Syncytial Virus (RSV) using Illumina CovidSeq reagents for Next-Generation Sequencing V.2

DOI

[dx.doi.org/10.17504/protocols.io.eq2lyjzbrlx9/v2](https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.eq2lyjzbrlx9/v2)

Carlos Davina-Nunez<sup>1,2</sup>, Sonia Perez-Castro<sup>1,3</sup>,  
Montse Godoy-Diz<sup>3</sup>, Benito Regueiro-Garcia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Microbiology and Infectology Department, IIS Galicia Sur;

<sup>2</sup>Universidade de Vigo, Vigo, Spain;

<sup>3</sup>Microbiology Department, Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (CHUVI), Spain

VERSION 2 ▾

AUG 02, 2023

↪ SHARE

WORKS FOR ME

1



Carlos Davina-Nunez

Microbiology and Infectology Department, IIS Galicia Sur,  
Un...

Epidemiología  
bacterias



## Relación epidemiológica

- Enterobacterias
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Legionella pneumophila*
- *Listeria monocytogenes*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus lugdunensis*



Caracterización  
bacterias y  
mecanismos R

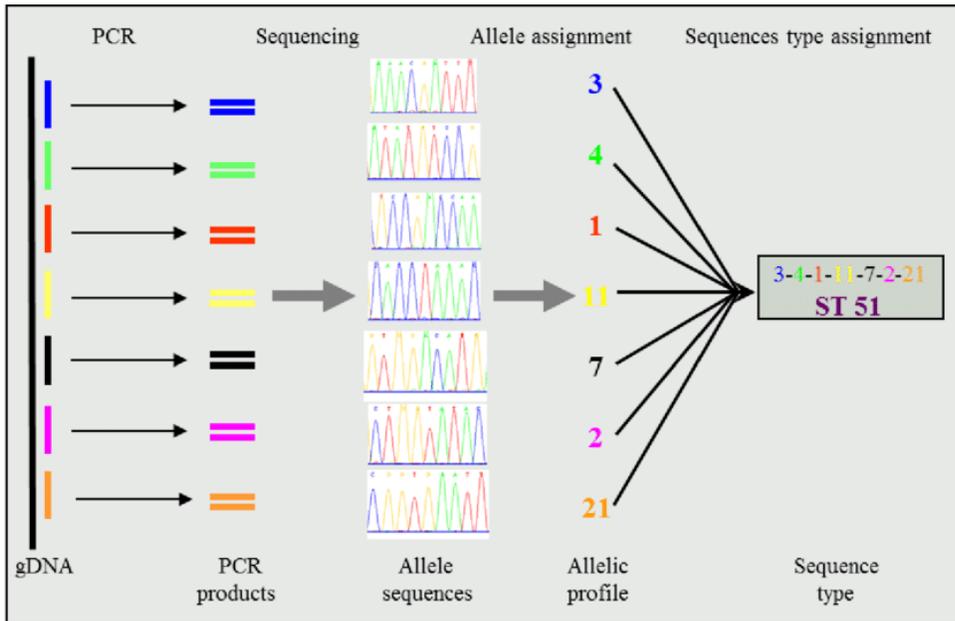
## Caracterización bacterias

- Enterobacterias: *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter sp*, *Serratia marcescens*, *Proteus sp*
- *P. aeruginosa*
- *Enterococcus faecalis*
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Neisseria meningitidis*
- *Clostridium difficile*



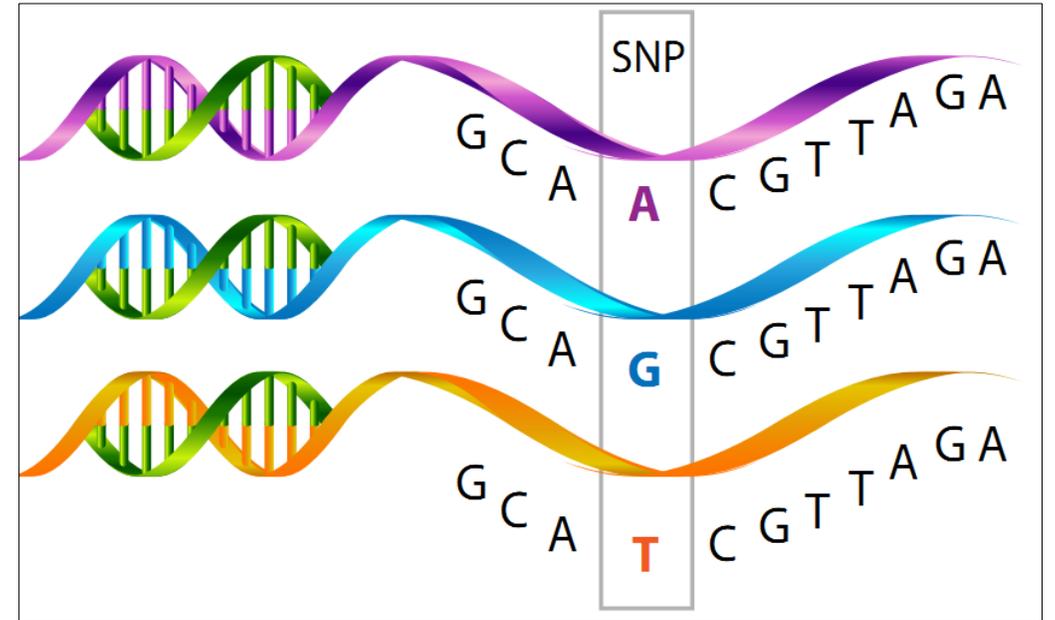
# EPIDEMIOLOGÍA BACTERIAS

EPIDEMIOLOGÍA:



**MLST**

**VIGILANCIA GLOBAL  
TRAZABILIDAD DE CLONES A GRAN ESCALA**



**Aproximaciones basadas en SNPs  
(Single nucleotide polymorphism)**

+

**VIGILANCIA LOCAL  
ESTUDIO DE PROCESOS MICROEVOLUTIVOS EN CORTOS  
PERIODOS (BROTOS)**



# EPIDEMIOLOGÍA BACTERIAS: SNPs

## EPIDEMIOLOGÍA:

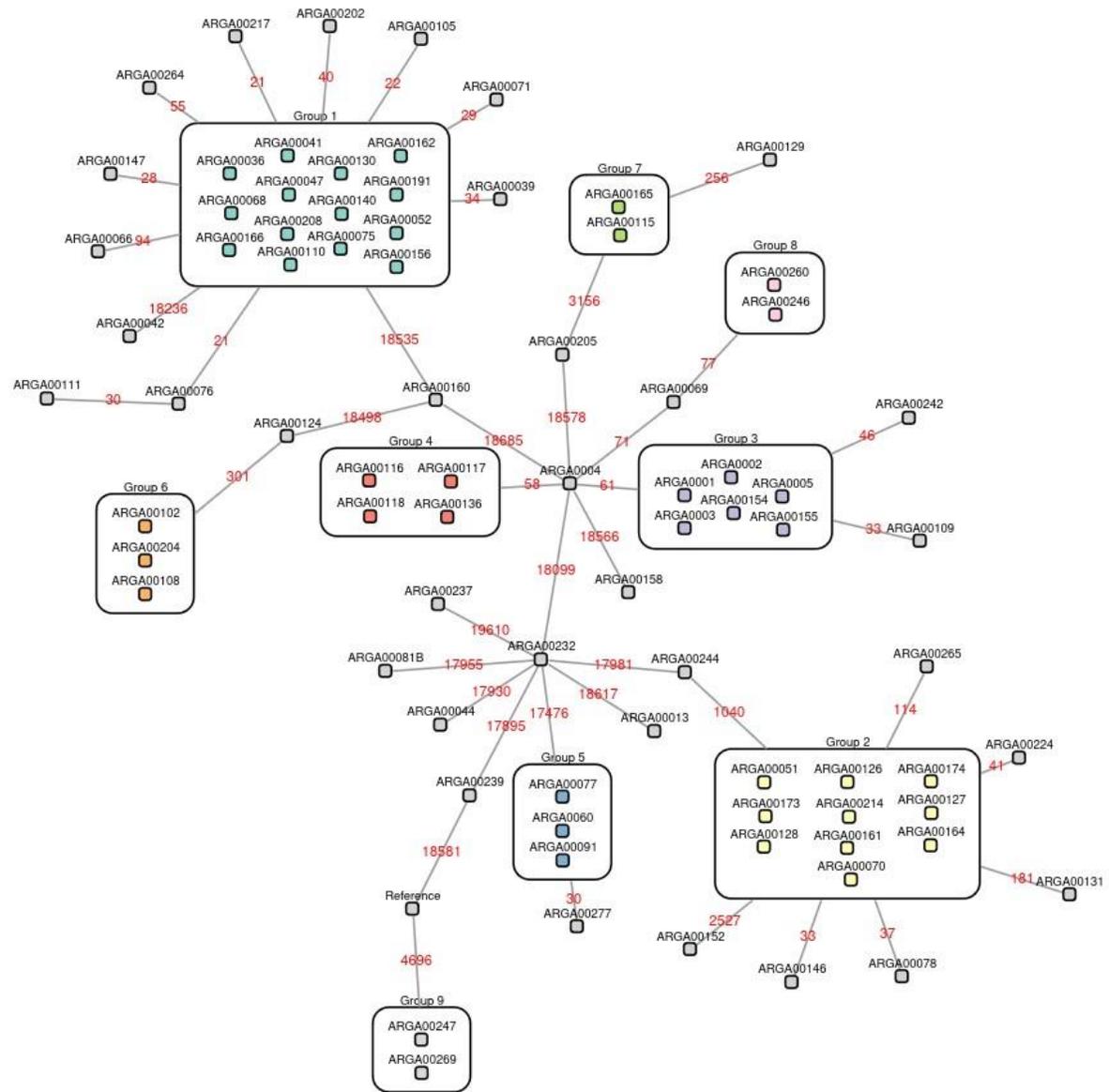
Organism	Relatedness threshold	Reference
<i>A. baumannii</i>	≤3	Halachev MR et al, Genome Med 2014
<i>C. coli, C. jejuni</i>	≤15	Llarena AK et al, J Clin Microbiol 2017
<i>C. difficile</i>	≤4	Kumar N et al, Clin Infect Dis 2016
<i>E. faecium</i>	≤16	de Been M et al. J Clin Microbiol 2015
<i>E. coli</i>	≤10	Roer L et al, J Antimicrob Chemother 2017
<i>F. tulariensis</i>	≤2	Afset J et al, Euro Surveill 2015
<i>K. pneumoniae</i>	≤18	Snitkin ES et al, Sci Transl Med 2012
<i>L. pneumophila</i>	≤15	David S et al, J Clin Microbiol 2016
<i>L. monocytogenes</i>	≤3	Kvistholm JA et al, Clin Infect Dis 2016
<i>M. abscessus</i>	≤30	Trovato A et al, Int J Mycobacteriol 2017
<i>M. tuberculosis</i>	≤12	Kohl T et al, J Clin Microbiol 2014
<i>N. gonorrhoeae</i>	≤14	De Silva D et al, Lancet Infect Dis 2016
<i>P. aeruginosa</i>	≤37	Snyder LA et al, Euro Surveill 2013
<i>S. enterica</i>	≤4	Bekal S et al, J Clin Microbiol 2016
<i>S. typhimurium</i>	≤2	Phillips A et al, BMC Microbiol 2016
<i>S. aureus</i>	≤15	Bartels MD et al, Euro Surveill 2015

# Ejemplo acumulación de casos

N.º AISLADO	1 (ARGA00126)	2 (ARGA00127)	3 (ARGA00128)	4 (ARGA00129)	5 (ARGA00131)
IDENTIFICACIÓN MOLECULAR	<i>K. pneumoniae</i>				
SECUENCIOTIPO	ST147	ST147	ST147	ST17	ST147

1, 2 y 3 diferencia de 1 SNP entre ellos → son el mismo

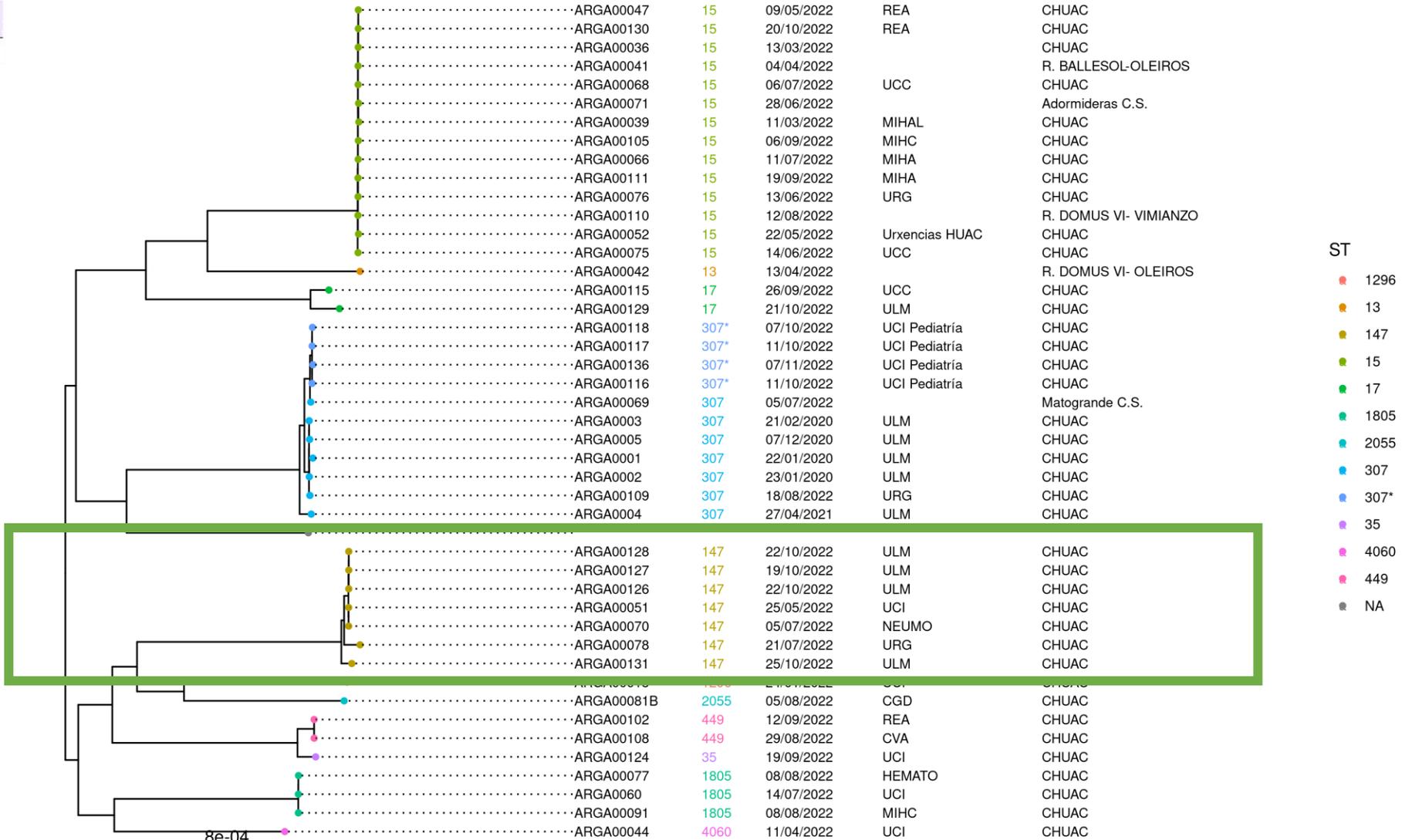
Aislado 5 > 20 SNPs (media 480 SNPs) → No pertenece al mismo clon





# *Klebsiella pneumoniae*

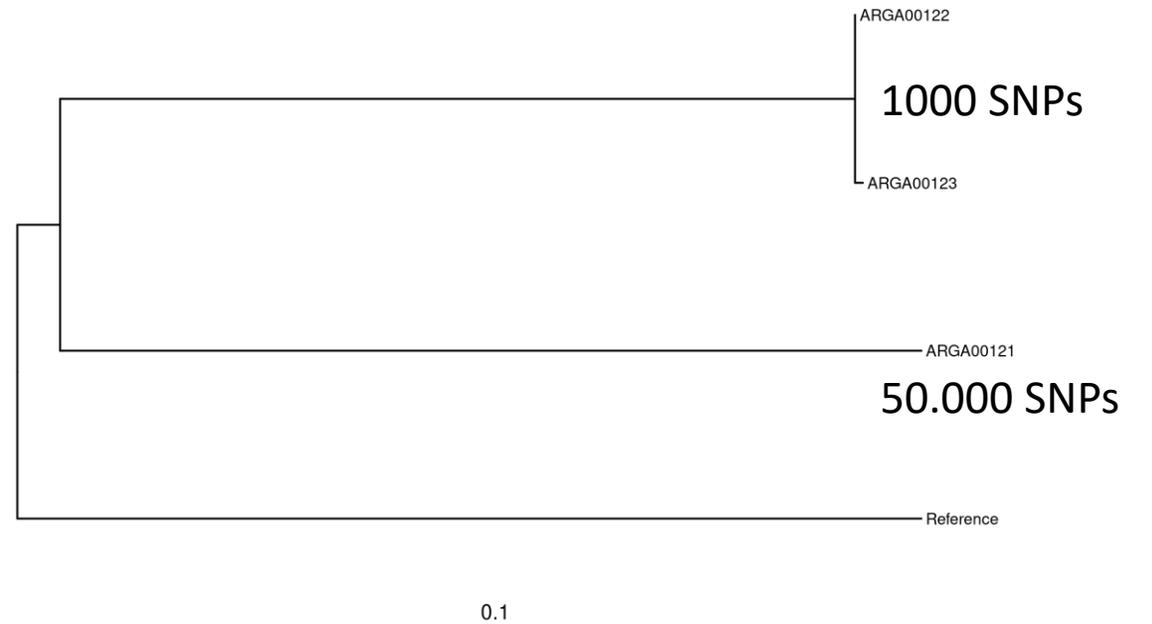
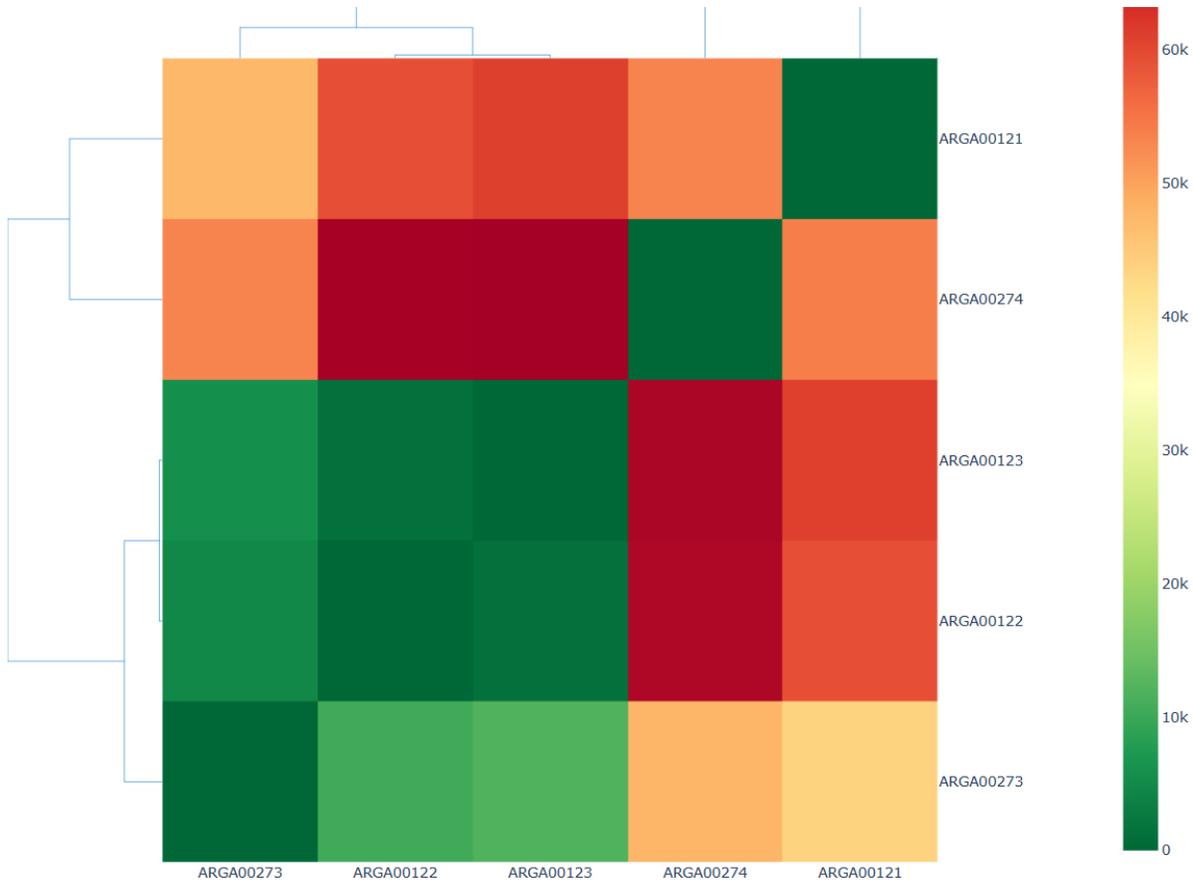
## EPIDEMIOLOGÍA:



# Acumulación casos *Legionella pneumophila*



EPIDEMIOLOGÍA:



# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



## EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

Bacterias: EPC, Pa MR...

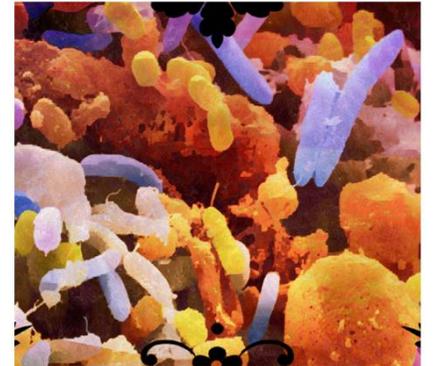
Virus: VIH, SARS-CoV-2



## CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



## DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



## ESTUDIO DE MICROBIOMA



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

- Objetivo: lograr un diagnóstico microbiológico completo y de calidad, integrando la secuenciación genómica en todos los casos de infección/colonización por microorganismos resistentes a los antibióticos.
- El laboratorio de microbiología del CHUAC forma parte del centro coordinador de la plataforma de análisis bioinformático de microorganismos multirresistentes del CIBER de enfermedades infecciosas.

Red de Laboratorios para la Vigilancia de los Microorganismos Resistentes (RedLabRA)





## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

# ENTEROBACTERIAS

## CARD

Use or Download Copyright & Disclaimer

Help Us Curate: [github.com/arpcard/amr\\_curation](https://github.com/arpcard/amr_curation)

## The Comprehensive Antibiotic Resistance Database

A bioinformatic database of resistance genes, their products and associated phenotypes.

7105 Ontology Terms, 5188 Reference Sequences, 2000 SNPs, 3252 Publications, 5236 AMR Detection Models  
Resistome predictions: 381 pathogens, 24291 chromosomes, 2662 genomic islands, 48212 plasmids, 172216 WGS assemblies, 276270 alleles

## ResFinder

### Version

4.3.3

52188484

NHC-1

Tipo de muestra: SANGRE

Fecha muestra: 13/10/21

Unidad: DIGESTIVO

Cultivo: nan

Escherichia coli ST: 533 CARD: 22 Resfinder: 18

Resumen

Resistencias

Virulencias

Identificación

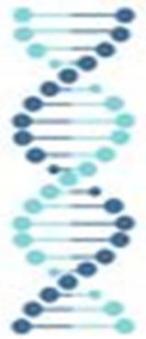
Secuenciación

### Resultados

Principales resultados extraídos del análisis.

Petición	Det. genómica	ST	CARD (perfect match)	Resfinder
52188484	Escherichia coli	533	AcrE, CTX-M-65, DfrA36, Escherichia coli acrA, H-NS, OXA-10, QnrS1, SAT-2, TolC, acrB, arr-2, baeR, emrB, emrR, emrY, evgA, marA, mdtG, mdtH, mdtN, msbA, sul2	ARR-2, aadA1, ant(3'')-Ia, blaCTX-M-65, blaOXA-10, cmlA1, dfrA1, dfrA14, dfrA36, floR, formA, mdf(A), qnrS1, sul2, tet(A)

Activar Windows



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

### CARACTERIZACIÓN GENÓMICA

N.º AISLADO	1 (ARGA00126)	2 (ARGA00127)	3 (ARGA00128)	4 (ARGA00129)	5 (ARGA00131)
IDENTIFICACIÓN MOLECULAR	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
SECUENCIOTIPO	ST147	ST147	ST147	ST17	ST147
<b>DETERMINANTES DE RESISTENCIA</b>					
<b>β – LACTÁMICOS</b>	CTX-M-15, SHV-11	CTX-M-15, SHV-11	CTX-M-15, SHV-11	TEM-1, SHV-11, CTX-M-186-like	DHA-1, OXA-1, SHV-11
<b>QUINOLONAS</b>	OqxAB	OqxAB	OqxAB	OqxAB	OqxAB
<b>AMINOGLUCÓSIDOS</b>	RmtF, Aac(6′)-Ib9	RmtF, Aac(6′)-Ib9	RmtF, Aac(6′)-Ib9	Aac(3′)-Ile, Aph(6)-Id, Aph(3′′)-IB	Aac(6′)-Ib9, Aac(3)-Ib/Aac(6′)-Ib
<b>OTROS</b>	OmpK35 (Ala285Stop)	OmpK35 (Ala285Stop)	OmpK35 (Ala285Stop)	-	-



# *Pseudomonas aeruginosa*: RESISTOMA MUTACIONAL (mutaciones cromosómicas)

ESTUDIO DE  
RESISTENCIAS:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1	CHROM	POS	TYPE	REF	ALT	EVIDENCE	FTYPE	STRAND	NT_POS	AA_POS	EFFECT	LOCUS_TAG	GENE	PRODUCT	
2	3553	NC_00251	885453	snp	G	A	A:20 G:0	CDS	+	655/768	219/255	missense_variant c.655G>A p.Ala219Thr	PA0807	ampDh3	protein A
3	4163	NC_00251	1044387	snp	G	C	C:13 G:0	CDS	-	928/1332	310/443	frameshift_variant Gln310_fs	PA0958	oprD	porin D
4	4165	NC_00251	1044414	complex	GA	CG	CG:13 GA:CDS	-	901/1332	300/443	missense_variant c.900_901delITCinsCG p.Gln301	PA0958	oprD	porin D	
5	4167	NC_00251	1044429	snp	T	G	G:15 T:0	CDS	-	886/1332	296/443	missense_variant c.886A>C p.Lys296Gln	PA0958	oprD	porin D
6	4171	NC_00251	1044463	complex	AGTGTAG	GGTATAC	GGTATAC	CDS	-	852/1332	281/443	missense_variant c.842_852delCAGCCTACACTin:	PA0958	oprD	porin D
7	4174	NC_00251	1044516	snp	C	A	A:16 C:0	CDS	-	799/1332	267/443	missense_variant c.799G>T p.Ala267Ser	PA0958	oprD	porin D
8	4175	NC_00251	1044526	complex	ATCGTTT	GTCGGTG	GTCGGTG	CDS	-	789/1332	261/443	missense_variant c.783_789delAAACGATinsCAC	PA0958	oprD	porin D
9	4180	NC_00251	1044596	snp	C	G	G:16 C:0	CDS	-	719/1332	240/443	missense_variant c.719G>C p.Ser240Thr	PA0958	oprD	porin D
10	4182	NC_00251	1044627	complex	CGAGTTC	TCAGCTCT	TCAGCTCT	CDS	-	688/1332	227/443	missense_variant c.681_688delCGAACTCGinsAG	PA0958	oprD	porin D
11	4186	NC_00251	1044682	complex	CCCAATG	GCCAGCG	GCCAGCG	CDS	-	633/1332	208/443	missense_variant c.624_633delITTTATTGGGinsC	PA0958	oprD	porin D
12	4188	NC_00251	1044711	complex	CGCCT	GGCCG	GGCCG:18	CDS	-	604/1332	200/443	missense_variant c.600_604delAGGCGinsCGGCC	PA0958	oprD	porin D
13	4196	NC_00251	1045132	complex	GTCCCCG	ATCACCC	ATCACCC	CDS	-	183/1332	57/443	missense_variant c.169_183delAGCGGCAGCGGG	PA0958	oprD	porin D
14	4197	NC_00251	1045188	complex	CG	TC	TC:16 CG:CDS	-	127/1332	42/443	missense_variant c.126_127delCGinsGA p.Asp43	PA0958	oprD	porin D	
15	18997	NC_00251	4594341	snp	A	G	G:20 A:0	CDS	+	313/1194	105/397	missense_variant c.313A>G p.Thr105Ala	PA4110	ampC	beta-lact
16	19003	NC_00251	4594767	snp	G	A	A:20 G:0	CDS	+	739/1194	247/397	conservative_inframe_deletion Δ203-E219	PA4110	ampC	beta-lact
17	19702	NC_00251	4780467	snp	C	T	T:20 C:0	CDS	-	151/4074	51/1357	missense_variant c.151G>A p.Val51Ile	PA4270	rpoB	DNA-dire
18	21407	NC_00251	5150273	snp	T	C	C:20 T:0	CDS	-	800/1440	267/479	missense_variant c.800A>G p.Gln267Arg	PA4597	oprJ	multidru
19	21409	NC_00251	5150868	complex	TGT	CGC	CGC:19 TG	CDS	-	205/1440	68/479	missense_variant c.203_205delACAAinsGCG p.Asp	PA4597	oprJ	multidru
20	21415	NC_00251	5152712	snp	T	G	G:20 T:0	CDS	-	1498/3132	500/1043	missense_variant c.1498A>C p.Lys500Gln	PA4598	mexD	resistanc

- Aproximación mediante alineamiento de lecturas frente a genoma de cepa de referencia sensible
- Más complejo a nivel computacional



**ESTUDIO DE  
RESISTENCIAS:**

<b>N.º AISLADO</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>IDENTIFICACIÓN MOLECULAR</b>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<b>SECUENCIOTIPO</b>	ST274	ST274	ST274	ST274	ST274
<b>DETERMINANTES DE RESISTENCIA</b>					
<b>β – LACTÁMICOS</b>	OprD: W277 <sub>stop</sub> MexZ: E120 <sub>stop</sub> NalC: R7* AmpD: R11L	OprD: W277 <sub>stop</sub> MexR: Q106 <sub>stop</sub> AmpD: R11L			
<b>QUINOLONAS</b>	GyrA: T83I ParC: S87L	-	-	-	-
<b>AMINOGLUCÓSIDOS</b>	Aph-(3')-IIb	Aph-(3')-IIb	Aph-(3')-IIb	Aph-(3')-IIb	Aph-(3')-IIb

\***asterisco:** indica mutación inactivante con cambio de pauta de lectura



# ESTUDIO DE RESISTENCIAS SARS-CoV-2

ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

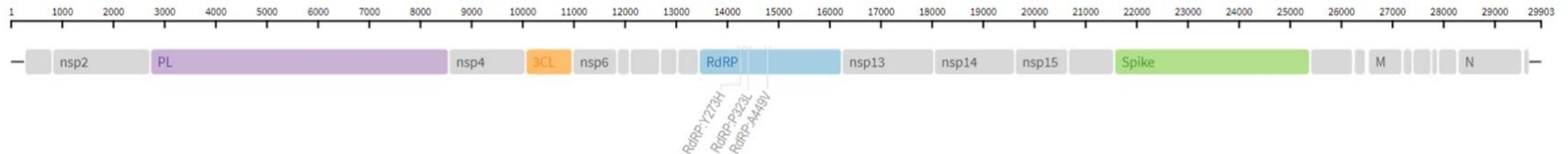
## • RESISTENCIA A REMDESIVIR

Mutation	RDV	in patient	in vitro	Prevalence
V166A			1	0.0008%
V166L		1	1	0.004%
N198S			1	0.01%
R285C		2		0.006%
A376V				0.00002%
A449V		2		0.07%
F480L			1	0.0002%
D484Y		1		0.0008%
A526V			1	0.04%
V557L			1	0.0003%
S759A			1	0%
V792I		3	1	0.002%
E796G			1	0.0007%
C799F			2	0.0009%
C799R			1	0.00006%
E802A				0.0002%
E802D		1	1	0.002%
M924R			2	0.003%

- A449V: Se ha descrito en 2 pacientes con baja respuesta a RDV pero no hay estudios específicos de sensibilidad.

- P323L: No se ha descrito por conferir resistencia a RDV pero sí por conferir ventaja en la transmisión.

Stanford University  
**CORONAVIRUS ANTIVIRAL & RESISTANCE DATABASE**  
 A Stanford HIVDB team website. Last updated on 9/19/2023, 7:25:32 PM.





ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

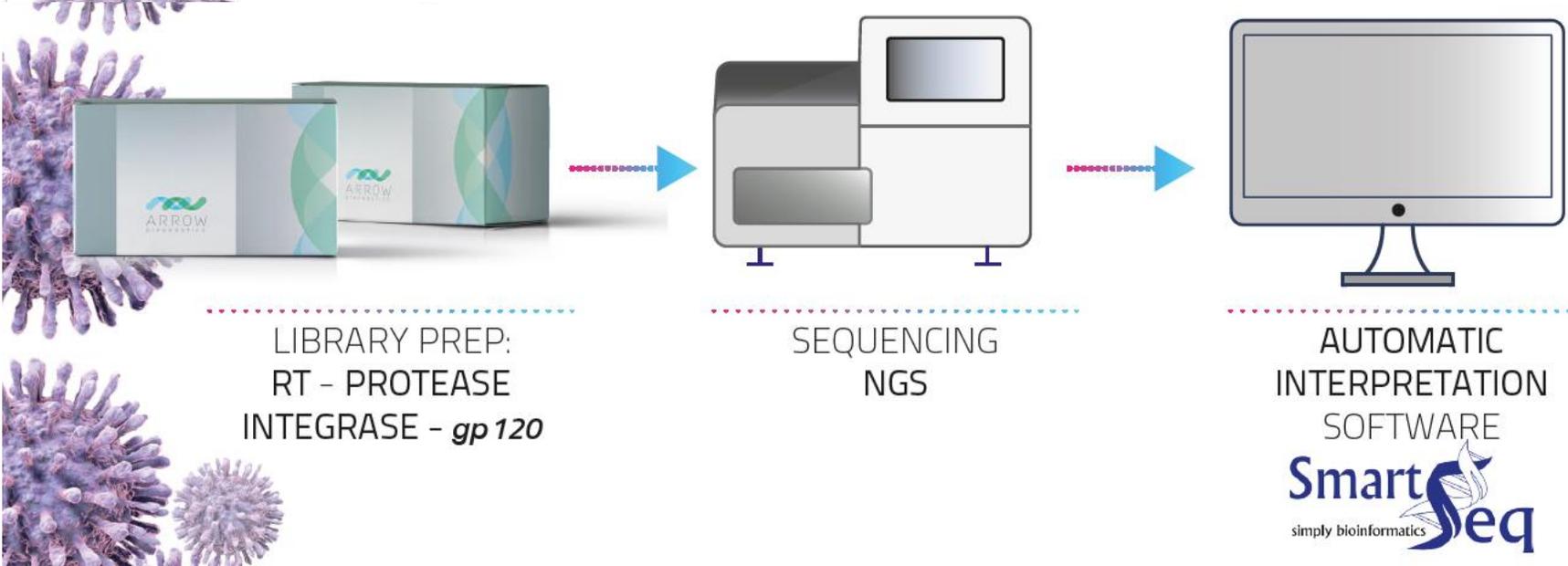
# ESTUDIO RESISTENCIAS VIH



**ARROW**  
DIAGNOSTICS  
DIAGNOSTIC SOLUTIONS IN MOLECULAR BIOLOGY



## HIV-1 Solution v2





ESTUDIO DE  
RESISTENCIAS:

## HIV-1 KIT WORKFLOW



## SEQUENCING INFORMATION

illumina® Kit	Number of samples	Sequencing Time <small>illumina® official data</small>
MiSeq™ Reagent Nano Kit v2 (500-cycles)	8	~ 28 h
MiSeq™ Reagent Micro Kit v2 (300-cycles)	16	~ 19 h
ISeq™ 100 i1 Reagent (300-cycles)	16	~ 17 h

# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



## EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

Bacterias: EPC, Pa MR...

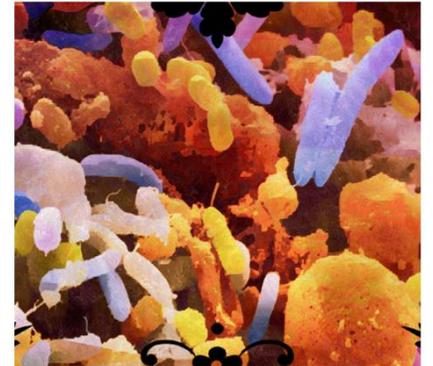
Virus: VIH, SARS-CoV-2



## CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



## DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



## ESTUDIO DE MICROBIOMA



CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

# Caracterización bacterias: *Streptococcus pyogenes* M1UK

SECUENCIA	SERVICIO	MUESTRA	FECHA	ST	GEN PROT M
ARGA00230	UCI	BAS	24/04/23	ST-28	EMM.1.0
ARGA00235	CCA	Válvula	26/04/23	ST-28	EMM.1.0
ARGA00249	URG	Sangre	08/03/23	ST-28	EMM.1.40
ARGA00250	URG	Sangre	13/03/23	ST-28	EMM.1.0
ARGA00251	URG	Sangre	03/03/23	ST-28	EMM.1.0
ARGA00252	URG	Sangre	14/02/23	ST-242	EMM.12.37
ARGA00253	URG	Sangre	05/02/23	ST-458	EMM.28.0
ARGA00254	URG	Sangre	18/01/23	ST-242	EMM.12.37
ARGA00255	UCIC	CATÉTER	07/05/23	ST-28	EMM.1.0
ARGA00256	PAC	EX FARINGEO	16/05/23	ST-62	EMM.87.0
ARGA00257	URG	Sangre	09/06/23	ST-28	EMM.1.40
ARGA00258	URG	Sangre	16/02/23	ST-28	EMM.1.0

POSITION	LOCUS_TAG	GENE	PRODUCT	REFERENCE	M1UK	EFFECT_IN_M1U	ST28				
							EMM.1.0				
							ARGA00230	ARGA00235	ARGA00250	ARGA00251	ARGA00255
115646	M5005_Spy010	rofA	Transcriptional regulator	C	T	ns	T	T	T	T	T
116162	M5005_Spy010	rofA	Transcriptional regulator	AC	CA	ns	CA	CA	CA	CA	CA
250832	M5005_Spy0243		ABC transporter-associated protein	T	C	s	C	C	C	C	C
513254	M5005_Spy0525		Galactose-6-phosphate isomerase LacB	G	T	ns	T	T	T	T	T
528360			-	A	T	-	T	T	T	T	T
563631	M5005_Spy056	sagE	Streptolysin S putative self-immunity protein	G	A	ns	A	A	A	A	A
613633	M5005_Spy0609		Phosphoglycerol transferase	T	C	ns	C	C	C	C	C
626494	M5005_Spy0623		Methyltransferase	G	A	s	A	A	A	A	A
661707	M5005_Spy065	trmD	tRNA (guanine-N (1-)-methyltransferase)	G	A	ns	A	A	A	A	A
730823	M5005_Spy072	recJ	ssDNA-specific exonuclease	C	T	ns	T	T	T	T	T
784467	M5005_Spy0779		Putative membrane spanning protein	T	C	s	C	C	C	C	C
819098	M5005_Spy082	murB	UDP-N-acetylenolpyruvoylglucosamine reductase	G	A	ns	A	A	A	A	A
923079	M5005_Spy0933		Putative NADH-dependent flavin oxidoreductase	G	A	ns	A	A	A	A	A
942633	M5005_Spy095	pstB	Phosphate transport ATP-binding protein	G	T	ns	T	T	T	T	T
983438			-	G	C	-	C	C	C	C	C
1082253	M5005_Spy110	metK2	S-Adenosylmethionine synthetase	C	T	ns	T	T	T	T	T
1238124	M5005_Spy128	msrA	Peptide methionine sulphoxide reductase	G	A	ns	A	A	A	A	A
1238673	M5005_Spy128	tipA	Thiol:disulphide interchange protein	G	A	ns	A	A	A	A	A
1251193	M5005_Spy1293		Hypothetical protein	G	A	ns	A	A	A	A	A
1373176	M5005_Spy1400		PTS system, galactose-specific IIB component	C	A	ns	A	A	A	A	A
1407497	M5005_Spy1439		Portal protein	C	T	ns			T	T	T
1446116	M5005_Spy1490		3-Oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase	C	T	s	T	T	T	T	T
1535209			-	A	G	-	G	G	G	G	G
1702540	M5005_Spy174	gldA	Glycerol dehydrogenase	C	T	STOP	T	T	T	T	T
1734749	M5005_Spy1772		Glutamate formimidoyltransferase	G	A	ns	A	A	A	A	A
1828734	M5005_Spy1860		Putative membrane spanning protein	G	A	ns	A	A	A	A	A



# Caracterización bacterias: *Neisseria meningitidis*

CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

meningotype

Public

In silico serotyping, finotyping and Bexsero antigen sequence typing of *Neisseria meningitidis*

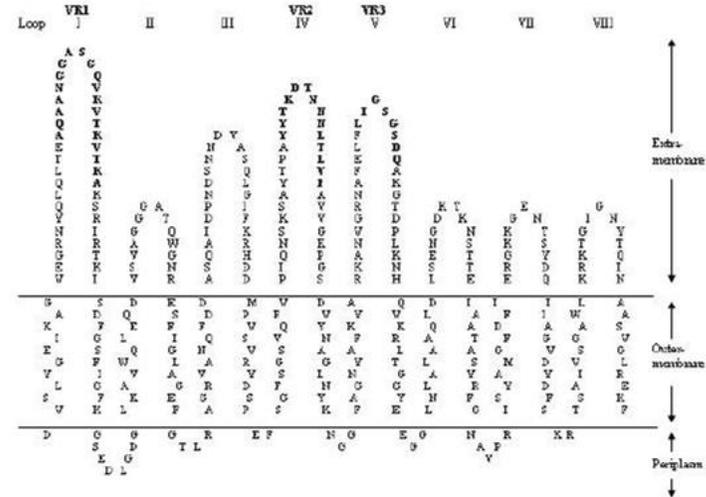
Python 9 6



Microbiological Diagnostic Unit Public Health Laboratory

Australian national reference laboratory for Salmonella, Listeria and EHEC.

17 followers Melbourne, AUSTRALIA <http://www.mduphl.unimelb.edu.au/>



SECUENCIA	PETICIÓN	NHC	SERVICIO	MUESTRA	FECHA	ST	Serotipado	Genotipado
ARGA00220	51616881	5024246	URX PED	SANGRE	09/03/16	11	W	VR1:5; VR2:2
ARGA00221	52308901	4488643	UCI	SANGRE	26/01/23	11	W	VR1:5; VR2:2

# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



## EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

Bacterias: EPC, Pa MR...

Virus: VIH, SARS-CoV-2



## CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



## DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



## ESTUDIO DE MICROBIOMA

## Secuenciación dirigida



WGS

Amplicones



### EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



### ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

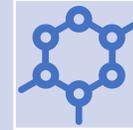
Bacterias: EPC, Pa MR...

Virus: VIH, SARS-CoV-2



### CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

## Secuenciación no dirigida



Metagenómica



16s metabarcoding



### DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



### ESTUDIO DE MICROBIOMA

# Metagenómica secuenciación Monkey Pox

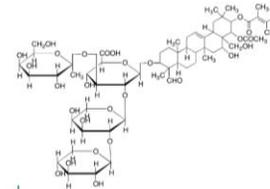
Viruela del mono: Julio 2022 y mayo de 2023 → Emergencia de Salud Pública

## Estrategia de Enriquecimiento



Saponina (2.2%)

NaCl (5.5 M)



Rompe células eucariotas pero no virus/bacterias/hongos

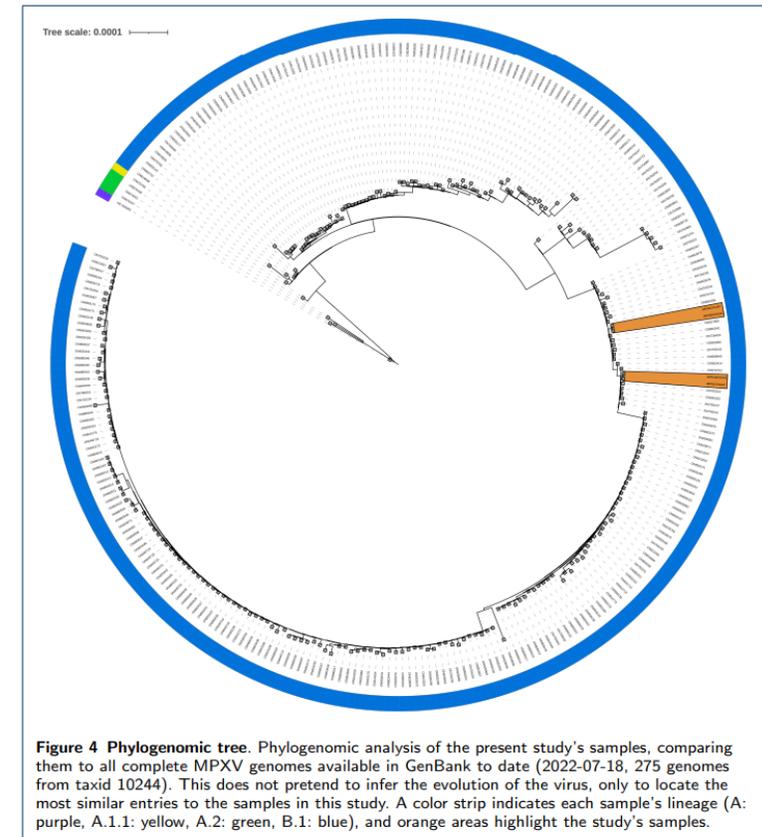
HL-SAN: endonuclease halotolerante

Degrada el DNA y RNA eucariota liberado

## METHODOLOGY ARTICLE

## A new and efficient enrichment method for metagenomic sequencing of monkeypox virus

Pablo Aja-Macaya<sup>1†</sup>, Soraya Rumbo-Feal<sup>1†</sup>, Margarita Poza<sup>1,2</sup>, Angelina Cañizares<sup>1</sup>, Juan A. Vallejo<sup>1\*</sup> and Germán Bou<sup>1\*</sup>



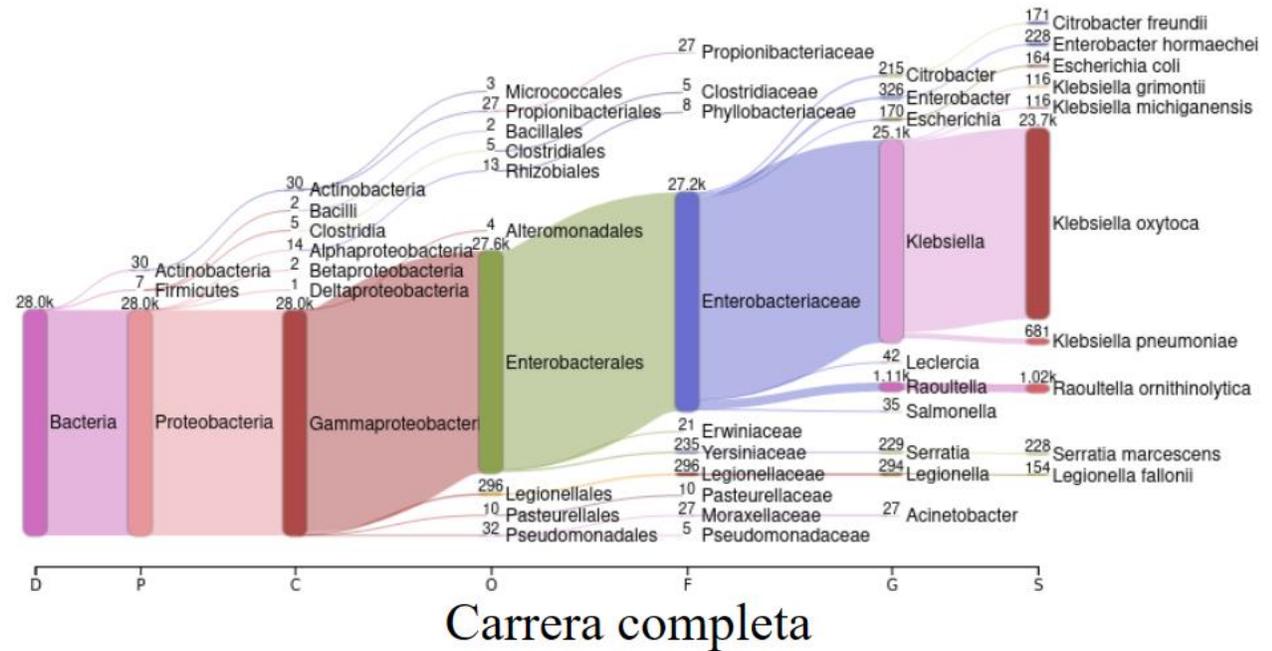
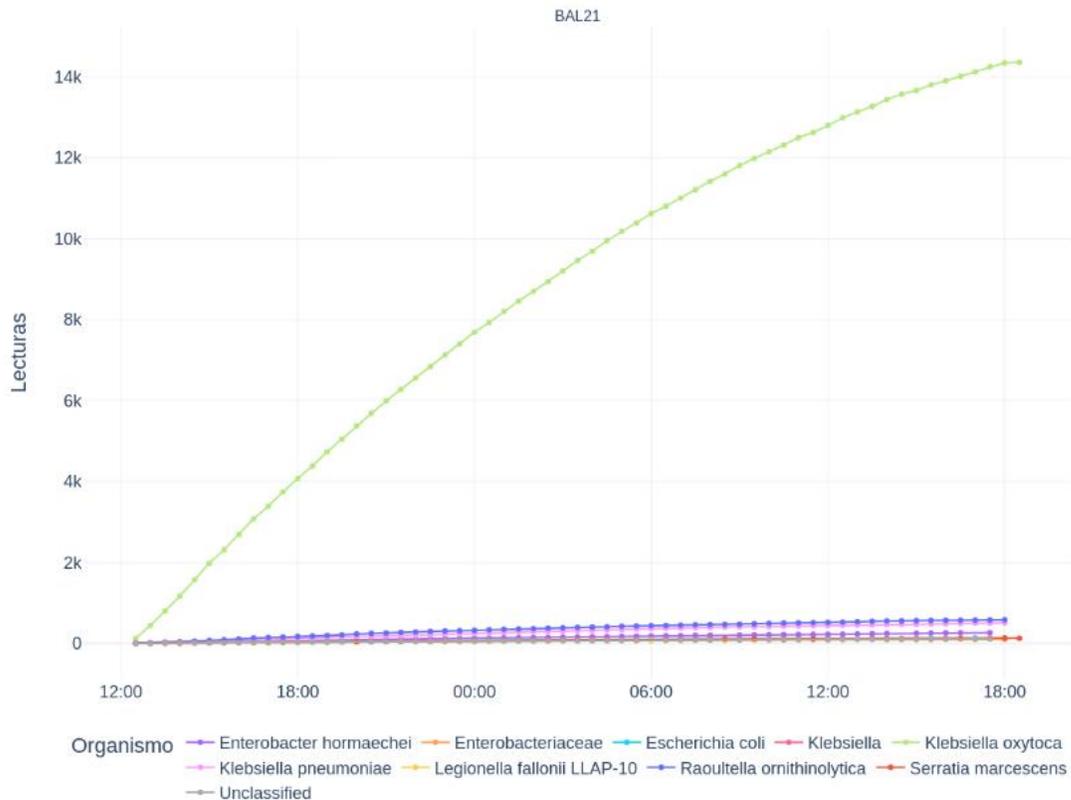
# Metagenómica en el diagnóstico enfermedades infecciosas

Diagnóstico  
ultrarrápido de  
patologías infecciosas.

Metagenómica en  
tiempo real del/los  
microorganismos y  
genes de resistencia y  
virulencia asociados.

# METAGENÓMICA BAL

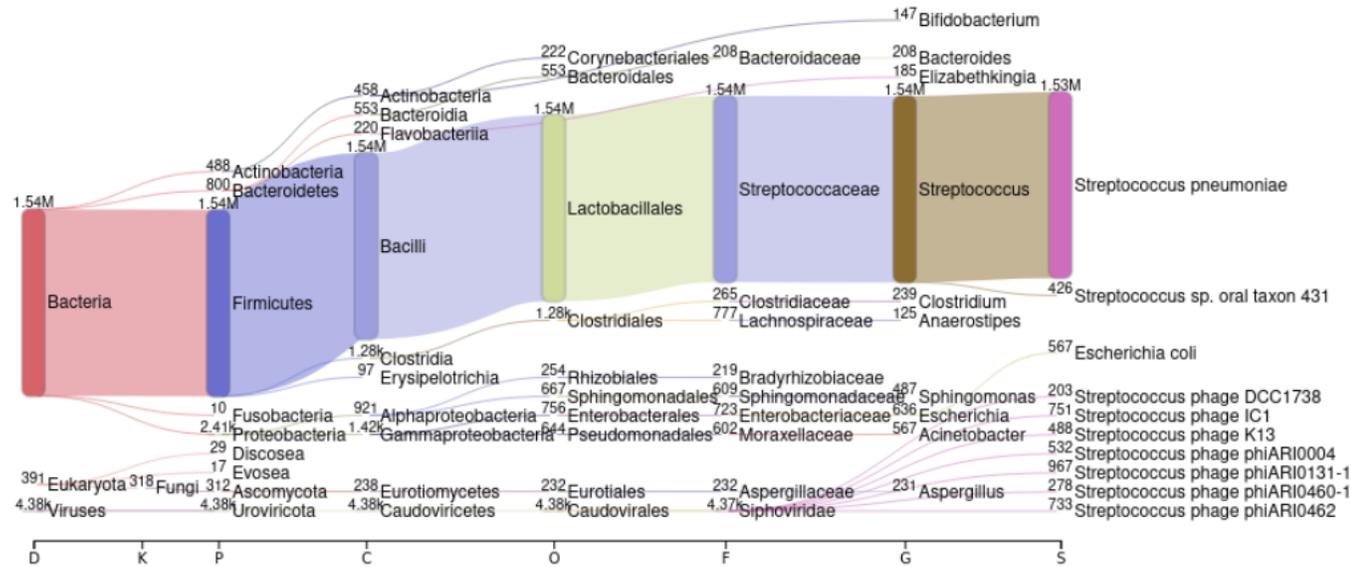
*Klebsiella oxytoca* - BAL



**Cultivo:** *K. oxytoca*

**Resultado:** *K. oxytoca* ST2929\*

# METAGENÓMICA LCR



Carrera completa

Antibiotic	S. pneumoniae	CMI	Explicado por genotipo
Penicilina	Resistente	0.12	PBP2x conferring resistance to amoxicillin
Clindamicina	Resistente	>0.5	RlmA(II)
Eritromicina	Resistente	>0.5	RlmA(II)
Azitromicina	Resistente	>2	RlmA(II)
Claritromicina	Resistente	>2	RlmA(II)
Minociclina	Resistente	>2	tet(O/M/O)
Tetraciclina	Resistente	>4	tet(O/M/O)

**Cultivo:** *Streptococcus pneumoniae* (qPCR and culture)

**Resultado:** *Streptococcus pneumoniae*

# APLICACIONES SECUENCIACIÓN MASIVA



## EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



## ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

Bacterias: EPC, Pa MR...

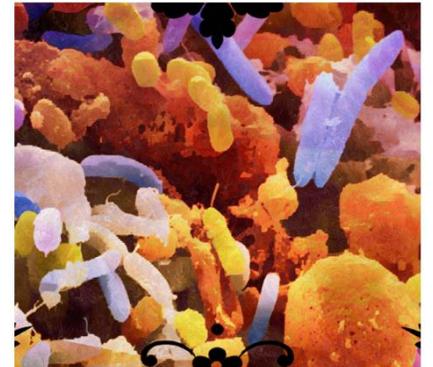
Virus: VIH, SARS-CoV-2



## CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS



## DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



## ESTUDIO DE MICROBIOMA

## Secuenciación dirigida



WGS

Amplicones



### EPIDEMIOLOGÍA:

SARS-CoV-2, Gripe A y B,  
VRS

Bacterias



### ESTUDIO DE RESISTENCIAS:

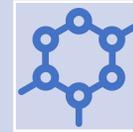
Bacterias: EPC, Pa MR...

Virus: VIH, SARS-CoV-2



### CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

## Secuenciación no dirigida



Metagenómica



16s metabarcoding

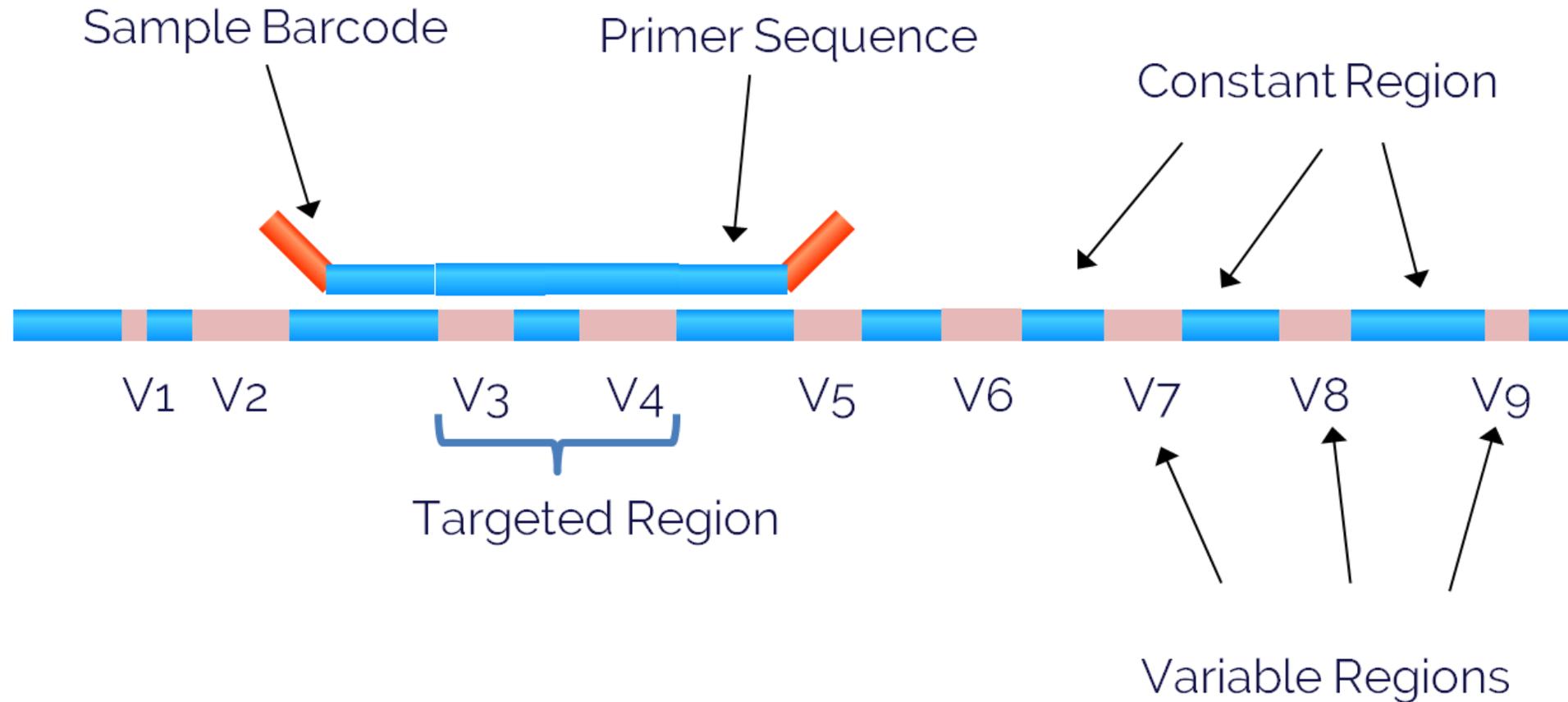


### DIAGNÓSTICO ENFERMEDADES INFECCIOSAS



### ESTUDIO DE MICROBIOMA

# Técnica 16s metabarcoding





# ESTUDIOS MICROBIOMA CHUAC

## CARDIOLOGÍA

- Muestras estudiadas: Heces y Saliva
- Dos grupos: Control e intervencionista
- Seguimiento durante 1 año
- 51 participantes



## ONCOLOGÍA DIGESTIVO

- Muestras estudiadas: Heces, saliva, líquido subgingival, tumores y metástasis
- Dos grupos: Sanos y Pacientes con Cáncer Colorrectal
- Seguimiento 3 años
- Aproximadamente 150 participantes



Saliva (S) and feces (F)  
(self-collected samples)



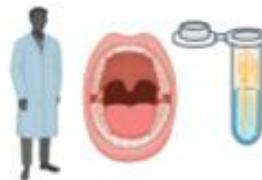
Tissues samples  
(collection during colon resection surgery)



Adenocarcinoma  
(Ac)

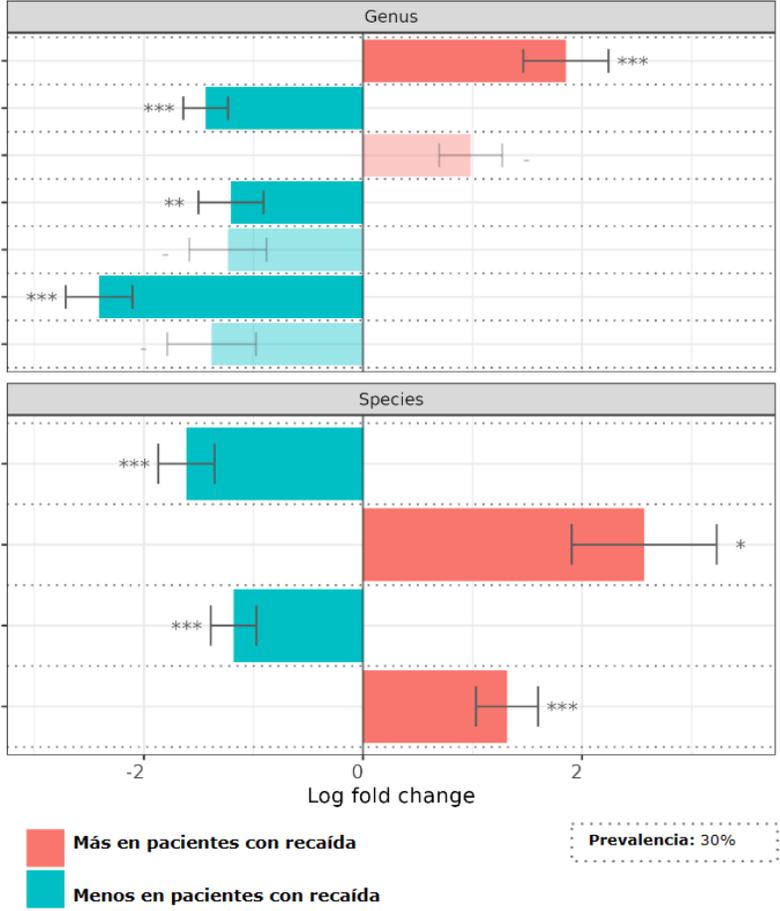
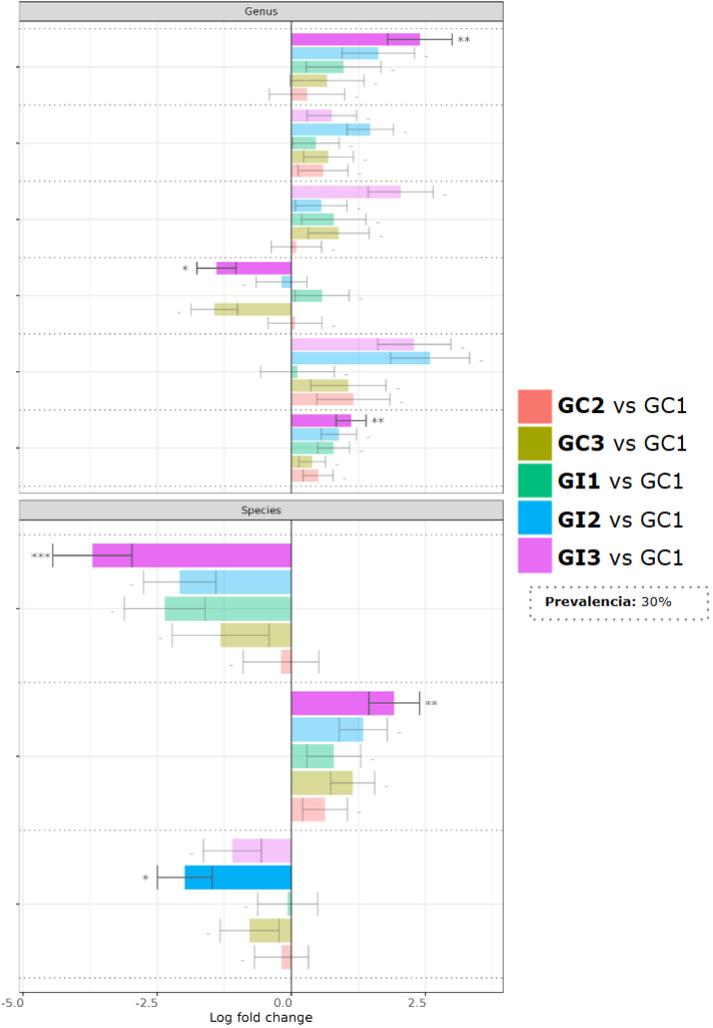


Normal colon mucosa  
(NM)

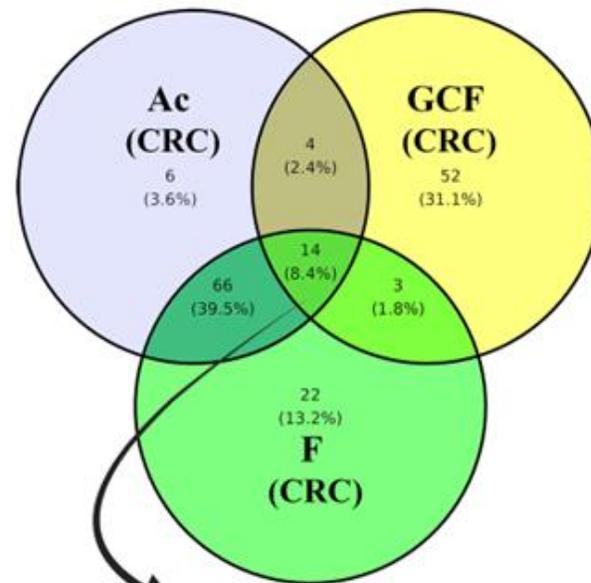
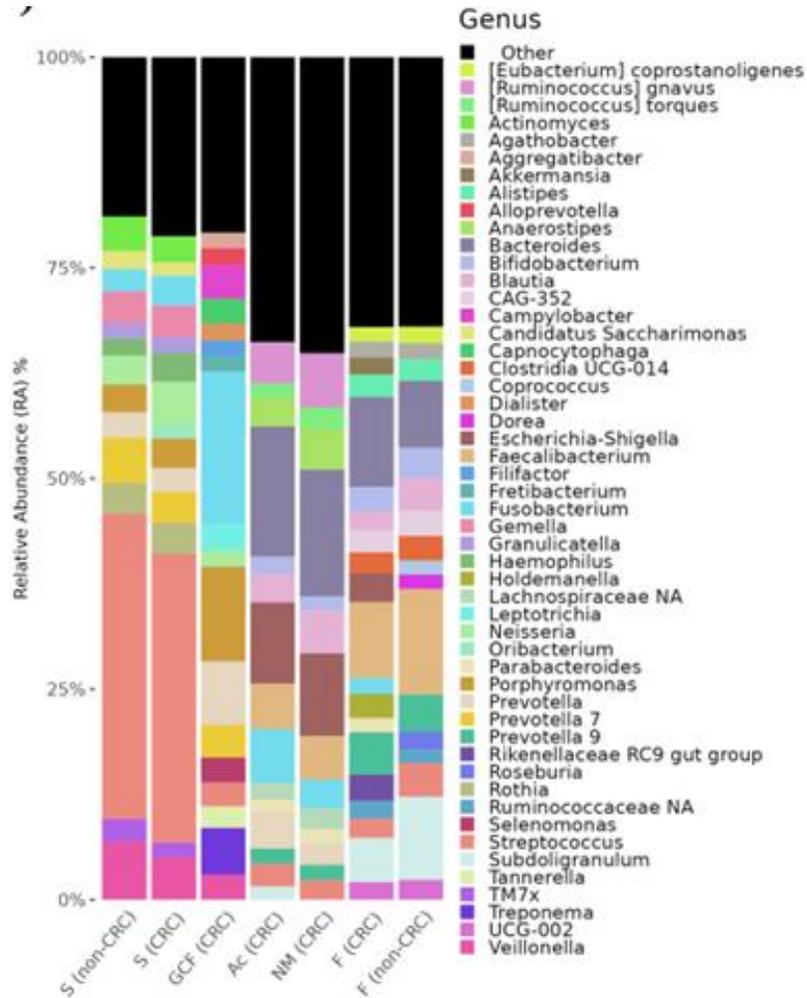


Gingival crevicular fluid (GCF)  
(collection during oral examination)

# RESULTADOS MICROBIOMA CARDIOLOGÍA



# RESULTADOS MICROBIOMA ONCOLOGÍA DIGESTIVA



## ORAL CAVITY RELATED GENERA

*Actinomyces*  
*Bifidobacterium*  
*Dialister*  
*Fusobacterium*  
*Haemophilus*  
*Parvimonas*  
*Peptococcus*  
*Streptococcus*  
*Veillonella*

- Bacterias que podrían usarse como BIOMARCADORES de cancer colorrectal no invasivos (heces)
- Descripción de Bacterias protectoras que podrían usarse como probióticos.



SERVIZO  
GALEGO  
de SAÚDE

Área Sanitaria da Coruña e Cee

Agradecimientos:  
Servicio de Microbiología del CHUAC

# Agradecimientos



Área Sanitaria da Coruña e Cee



- María José Muíño
  - Iria Sendón
- María Neiva Barroso
  - Pablo Aja
  - Soraya Rumbo
  - Juan Vallejo
  - Jorge Arca
- Roberto Estévez



Muchas  
gracias por  
vuestra  
atención