

Mapa del microbioma d'una ciutat: el Barcelona MicroBioMap

Arianna Bruguera, Núria Conde-Pueyo

Persones

En ciència sempre hi ha una tècnic a la base de la feina realitzada. Però la nostra veu no és mai la que explica els resultats. Tanmateix, al ser un projecte per i per a la ciutadania, l'Arianna, tècnic del laboratori de Sistemes Complexos de la UPF-IBE, ha estat l'encarregada principal de fer-ne divulgació.

Aquesta oportunitat és el resultat d'una cadena de respecte en la feina realitzada sense perjudici de qui la realitza; Els caps Dr. Ricard Solé (UPF) i Dr. Xavier Rodó (ISG), han confiat plenament en les seves directores de projectes experimentals: Dra Núria Conde (UPF) i Dra Sílvia Borràs (ISGlobal), i les tècnics Lúcia Cañas (ISG), Dra Sofya Pozdniakova (ISGlobal) i jo mateixa, creant un equip en femení i interdisciplinar que amb la col·laboració del FabLab, presenta la visualització dels resultats de forma didàctica i divulgativa convertint el BCN MicroBioMap en accessible per tothom.

La divulgació per mi és un gaudi perquè com a tècnic em sento en formació constant tot interpretant el món (procediments del laboratori) de manera senzilla i concreta. Als disset anys vaig prendre la decisió d'estudiar ciències ambientals amb un afany megalòman de salvar el món que m'havia tocat viure. Decidida, vaig escollir l'itinerari de biotecnologia ambiental per formar-me cap aquesta via de salvadora del planeta, treballant amb bacteris i abraçant la biologia molecular. Amb el projecte de determinació del mapa del microbioma de la ciutat de Barcelona (BCN MicroBioMap), tot va prendre sentit.

Esperem que amb les properes línies quedi palès com hem elaborat aquest projecte.

Microbioma

Els microorganismes són éssers microscòpics però amb un gran poder metabòlic, és a dir, amb capacitat de degradar o sintetitzar components de manera òptima i generalitzada. Els microbis son part essencial de la producció agroalimentària actual i sintetitzen molts dels compostos que usem en la vida quotidiana. Es troben a tots els entorns de

la Terra; i son participants essencials en els cicles de la Terra. De fet, el nostre planeta va passar de tenir una atmosfera reductora (sense oxigen) a una atmosfera oxidant (amb oxigen) gràcies a les cianobacteries i la seva capacitat d'alliberar oxigen gas a partir de diòxid de carboni i aigua amb l'energia del sol com a catalitzador. Això va passar fa uns dos-mil cinc-cents milions d'anys, molt abans que cap planta. Els microorganismes són la clau per remeiar la situació greu ambiental. Ells tenen la capacitat metabòlica per degradar contaminants i fixar diòxid de carboni de l'atmosfera, i per tant, evitar les conseqüències catastròfiques del canvi climàtic i en general, contrarestant l'empremta destructiva humana.

Aleshores què entenem per microbioma? Es defineix com microbioma el conjunt de microorganismes (bacteris, arqueobacteris, fongs, virus, algues i petits protists) que es relacionen entre ells per viure en comunitat.

El microbioma, com qualsevol ecosistema, serà específic i està associat a les condicions del seu micro-habitat, per exemple: la ubicació, les característiques del material o superfície, les hores d'insolació, la temperatura, el grau d'humitat i qualsevol altre paràmetre ambiental. Un exemple clar d'aquest efecte, el trobem en el rizoma, la zona del sòl propera a les arrels dels arbres, on els microorganismes presents (on n'hi ha entre deu i cinquanta vegades més que a la resta de sòl) afavoreixen l'absorció de nutrients fent-los disponibles per a la seva fixació a través de les arrels.

Tanmateix, les comunitats microbianes no són fixes, per exemple; és possible que determinades espècies de bacteris siguin predominants a l'estiu mentre d'altres siguin predominants a la tardor on hi ha un major grau d'humitat.

Malgrat la seva importància, encara queda per estudiar a quines escales afecta l'entorn (fulla, parc, districte) o com es relaciona un microbioma amb un altre (sòl, fulla, pols, aire...). Des del punt de vista biomèdic també és interessant conèixer el microbioma de la ciutat i com es relaciona amb el microbioma dels seus habitants.

Microbioma urbà

Per a repensar la interacció entre humans i microbis, cal entendre la ciutat com un sistema complex multi escala, que com nosaltres, posseeix comunitats microbianes, amb funcionalitats que son part essencial de la nostra salut i la de la ciutat. El microbioma urbà és un ingredient clau però molt poc conegut encara. Saber-ne la composició, les relacions ecològiques, localització i estacionalitat, permetrà dissenyar intervencions per millorar la salut dels ciutadans preservant, recuperant o introduint microorganismes beneficiosos.

El que és determinant del BCN Microbiommap és l'esforç que s'empra en detectar aquestes diferències entre microbiomes així com la relació entre l'humà i l'entorn responnent als següents ambiciosos plantejaments:

1. Podem identificar signatures del microbioma urbà? Com són les comunitats microbianes, en relació a la seva abundància i diversitat, quan s'observen diferents hàbitats microbians urbans com ara l'aire atmosfèric, les fulles de les plantes, els sòls o la pols de les superfícies dels edificis? Quines espècies són presents en tots els substrats i quines són substrat-específiques?
2. Com es distribueixen les comunitats microbianes per la ciutat tenint en compte la pressió demogràfica de barris, la circulació de vehicles, zones de vigilància ambiental, escoles o zones verdes? Podent respondre preguntes concretes com: els patis de l'escola o els voltants tenen diferents signatures de microbioma respecte la resta de la ciutat?
3. Quins mecanismes climàtics controlen les signatures i la dinàmica d'aquest microbioma? Hi ha estacionalitat en les comunitats microbianes (diferents comunitats associades a les estacions humides i càlides respecte les estacions seques i fredes)?
4. Com afecten el canvi climàtic, la contaminació de l'aire i els antibiòtics la biodiversitat del microbioma urbà?
5. Els microbiomes urbans estan perdent diversitat? Quines són les funcions biològiques i ecològiques dels microbiomes urbans?

Tot i que son preguntes bàsiques, encara no han estat abordades en cap altre projecte de l'estudi

del microbioma d'una ciutat. A data d'avui els estudis més complets que analitzen aquestes qüestions son el repositori de microbiomes de transports públics de 60 ciutats del món: MetaSUB Map i el repositori col·laboratiu Earth Microbiome Project (un projecte massiu que pren per objectiu caracteritzar tota la vida microbiana del planeta). També hi ha molts estudis que relacionen la salut humana amb el microbioma dels espais interiors (un bon exemple és aquest article publicat a Science Advances).

Making-off

Aquest projecte respon les qüestions anteriors gràcies a l'esforç interdisciplinari que ha permès crear un mapa de la biogeografia dels microbiomes urbans de Barcelona. El mapa inclou tots els barris de la ciutat, i cobreix zones d'alta densitat poblacional, escoles, parcs, vies de trànsit alt i punts de lectura de qualitat de l'aire. Per cada localització es disposa del microbioma aeri, foliar, de pols de façana i de terra, així com de la diferent composició que presenten a finals d'estiu (temporada seca i calurosa) o a la tardor (humida i freda).

El projecte doncs, informa de la ecologia microbiana i de la seva dinàmica espacial i temporal. La tecnologia emprada per a seqüenciar les mostres de microbioma ("shotgun") no només permet saber la composició poblacional obtinguda a nivell d'espècie sinó que permet l'anàlisi dels gens funcionals presents (per poder estudiar la resistència a antibiòtics i/o de resistència a l'estrès hídric).

Selecció del la localització dels punts de mostreig

S'han establert un total de cinquanta llocs de mostreig (Figura 1) que abracen els deu districtes diferents que configuren la ciutat de Barcelona. Tenint en compte que Barcelona és una ciutat complexa pel que fa a les condicions orogràfiques (serres de Collserola i Montjuïc juntament amb influències del mar Mediterrani), es van considerar diferents desnivells abans de seleccionar els llocs de mostreig: horitzontal (carrer esquerra/dreta), vertical (carrer muntanya/mar), i la diagonal. Un cop considerats els paràmetres anteriors, un total de deu (un per districte) corresponen a zones verdes. La resta, quaranta localitzacions de mostreig, corresponen a zones urbanes. S'han avaluat sis corresponents a estacions de control ambiental (XVPCA) i set escoles (Refugis climàtics a les escoles, Projecte ISGlobal), dotze corresponents a

diferents intensitats de circulació de vehicles (Barcelona Open Data) i quinze corresponents a la densitat residencial (Barcelona Open Data).

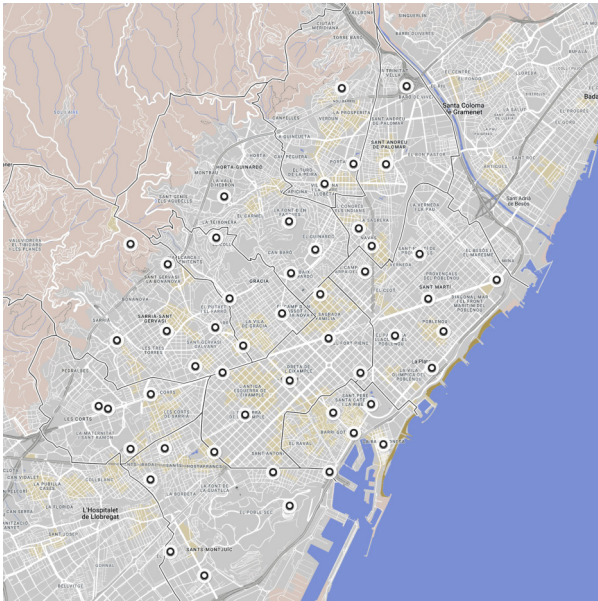


Figura 1: Mapa de mostreig al voltant dels deu districtes de la ciutat de Barcelona.

Per tal de detectar els canvis estacionals en les comunitats dels microbiomes, varem realitzar dues campanyes de mostreig una a l'estiu, considerada època càlida i seca (del 23 de juliol al 3 d'agost de 2020) i l'altra a l'hivern, considerada època humida i freda (de l'1 a l'11 de desembre de 2020).

Matrius de mostreig

De cada localització, es varen obtenir mostres de microbioma d'aire, de pols acumulada a superfícies com ara reixes de ventilació, de superfície de fulla i del sòl a prop de les arrels. Del mateix arbre agafàvem una mostra d'uns vint-i-cinc grams de fulles i una mostra de sòl. La selecció de les espècies d'arbres es va basar en la ubiqüitat a diferents barris i parcs de la ciutat, l'accessibilitat i que fossin de fulla perenne.

Al portal de dades obertes de Barcelona, ens vàrem informar que la troana (*Lingustrum ovalifolium*) i el lledoner (*Celtis australis*) eren les espècies arbòries més comunes i omnipresents a la ciutat. No obstant això, en alguns llocs de mostreig aquestes espècies no estaven presents, i la selecció d'arbres es va ampliar, incloent l'arbre de l'acàcia japonesa (*Styphnolobium japonicum*), l'arbre de la tipa (*Tipuana tipu*) i el llorer (*Laurus nobilis*).

La obtenció de les mostres d'aire es va fer de forma "activa" usant una màquina Coriolis, que

xucla aire i el fa passar per una solució salina creant un remolí. Cada mostra correspon a 20 minuts de funcionament de la màquina.

Obtenció de DNA per seqüenciar i seqüenciació de les mostres

L'obtenció de l'ADN de cada mostra (aire, sòl, pols, superfície de fulla i líquen) es va realitzar seguint protocols de kits d'extracció comercial adaptats a les matrius treballades. Abans d'optimitzar cada protocol es van fer moltes proves per a poder tenir ADN de la màxima qualitat i en la màxima concentració possible.

El ADN obtingut s'ha enviat a una empresa especialitzada en la seqüenciació de ADN de microbiomes de mostres ambientals. La tècnica emprada, s'ha escollit per a poder distingir els microorganismes a nivell de espècie i fins i tot poder analitzar gens funcionals. Això és analitzar la presència i abundància de certs gens en concret dels que es coneix la funció. Per exemple, gens de resistència a antibiòtics o gens per a poder sobreviure a l'estrès hídric i/o l'augment de la temperatura.

Resultats i Conclusions

Els resultats demostren que les observacions generals es poden fer amb una profunditat de seqüenciació de 2 Milions de lectures, per tant, es pot realitzar un seguiment taxonòmic a nivell de filum dels microbiomes urbans (aire, sòl, fulles, pols) amb una seqüenciació poc profunda. Tanmateix, per realitzar una taxonomia a nivell d'espècie o/i una anàlisi de gens funcionals es requereix una profunditat de seqüenciació de lectura de 10 Milions.

També podem concloure que per controlar el microbioma urbà s'ha de tenir en compte l'estacionalitat i no es pot inferir que el mostreig actiu d'aire pugui substituir el mostreig passiu de superfícies de pols o fulles. També s'observa clarament que el microbioma de l'aire, la pols i les fulles d'una ciutat és heterogeni i es requereixen diversos punts de mostreig per entendre millor quina és l'exposició diària d'un ciutadà al microbioma urbà. Aquesta exposició té una importància crucial en els primers anys de vida des que la signatura del microbioma de l'individu està en desenvolupament, però també per a qualsevol habitant adult ja que la modulació del nostre microbioma està relacionada amb els processos immunoreguladors que poden provocar al·lèrgies i malalties inflama-

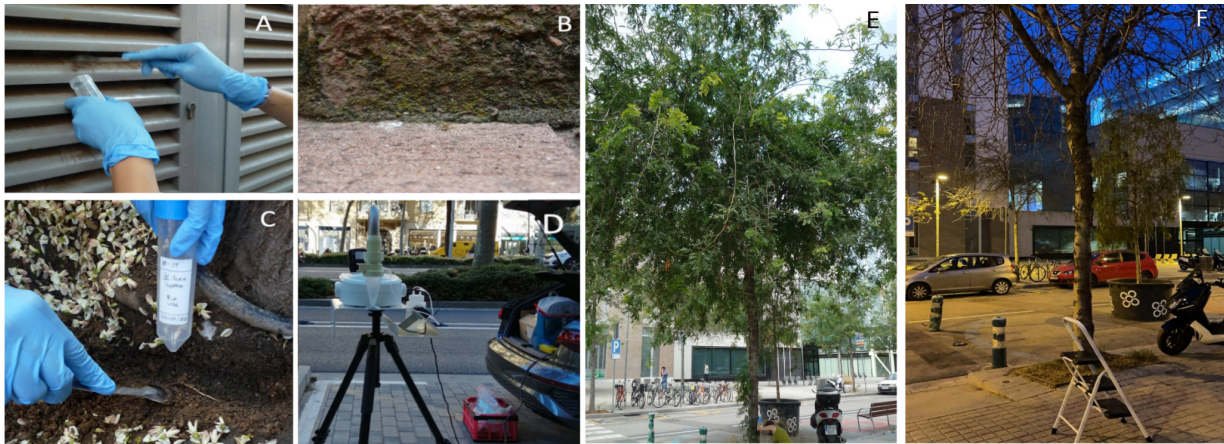


Figura 2: (A) Obtenció de pols al Mercat de la Barceloneta; (B) Primer pla d'un líquen al Mercat de Sarrià; (C) Obtenció de sòl al Mercat de la Barceloneta; (D) Equip Coriolis per a la presa de mostres d'aire a l'Avinguda Diagonal/C. Casanovas; Mostreig de fulles i sòl en una Superilla (C/Badajoz-Sancho d'Àvila) campanya juliol 2020 (E) i campanya desembre 2020 (F).

tòries. Calen més estudis per concloure com els diferents microbiomes de la ciutat interactuen entre ells i amb els habitants.

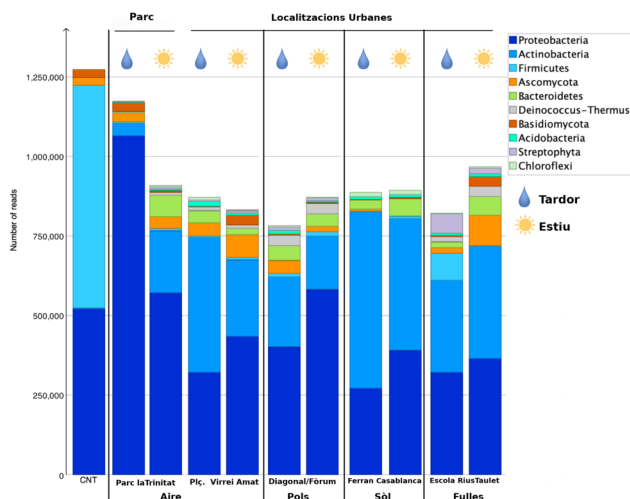


Figura 3: Els 10 filum més abundants en diferents localitzacions. La primera mostra és un control per poder assegurar que no hi ha biaix.

Els nostres resultats també mostren que hi ha un augment dels gens de resistència als antibiòtics durant la tardor. Aquest augment és una tendència general i es fa evident en comparar la mateixa localització i tipus de mostra recollida a l'estiu amb la de tardor. Es necessiten anàlisis addicionals per desxifrar si la major abundància de gens de resistència als antibiòtics a la pols en comparació amb les mostres d'aire o de sòl és estadísticament rellevant. Per fer aquesta anàlisi hem utilitzat una base de dades (ARIBA) però estem

ampliant la cerca.

A més, el nostre assaig preliminar demostra que el gens de resistències cobreix tot l'espectre d'antibiòtics. Tanmateix, sembla que les resistències a les tetraciclins i les sulfonamides són les abundants, seguides de les resistències als macròlids, les lincosamides, i els aminoglucòsids. De nou, estem realitzant més anàlisis per refinar la base de dades d'antibiòtics i la seva classificació. Sorprenentment, les resistències a la betalactamasa no van ser les més abundants tot i l'ús excessiu d'amoxicil·lina. Esperem poder determinar si hi ha una diferència estadísticament significativa entre les resistències d'estiu i de tardor, però també entre el tipus de resistències que es troben en els diferents tipus de microbiomes (aire, sòl, pols i fulles).

Decisions i Futur

A partir d'ara, qualsevol ciutadà de Barcelona està a un clic de distància per saber quins microbis viuen al seu entorn: microbio.fablabbcn.org. Això ja és un privilegi que només tenen els barcelonins, ja que altres ciutats ofereixen aquest coneixement només pel seu sistema de trànsit urbà, i Nova York només amplia aquest coneixement pel seu canal i poques zones propenses a inundacions.

Tot i que encara es pot aprofundir més en l'anàlisi dels resultats de seqüenció, les dades generades per aquest projecte creiem que:

- i assenyalen la necessitat de tenir en compte la superfície foliar a l'hora de seleccionar nous arbres per a la ciutat;

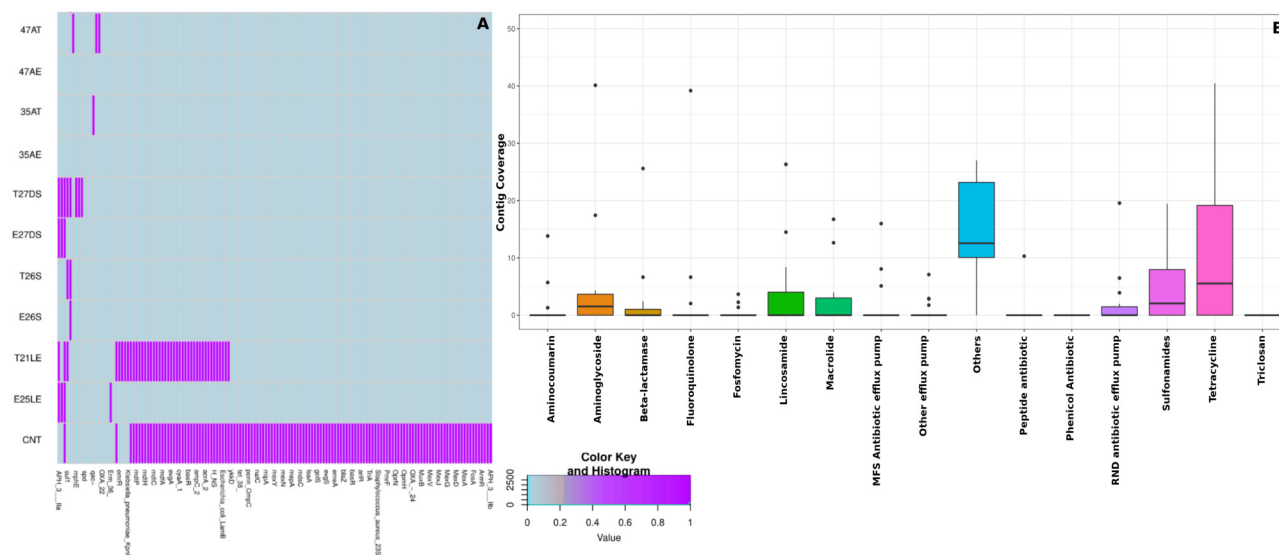


Figura 4: A) Presència de resistències en diferents mostres. Exemplifica la major abundància en les mostres "T" de tardor. B) Distribució de les resistències per tipus d'antibiòtic.

- ii suggereixen la necessitat d'implementar mesures per millorar el microbioma dels patis escolars i no només la qualitat de l'aire;
- iii consells per a una qualificació de les "zones verdes" de la ciutat tenint en compte l'exposició al microbioma que ofereixen i
- iv indiquen que el seguiment del microbioma urbà informa sobre la presència, estacionalitat i dinàmica de resistències als antibiòtics.

Esmentar també que, aquest projecte s'ha dut a terme amb el recolzament econòmic i la iniciativa científica de La Caixa i de l'Ajuntament de Barcelona. La seva confiança en les tres institucions: Universitat Pompeu Fabra, Institut de Salut Global de Barcelona i FabLab, han permès que el BCN MicroBioMap sigui ara una realitat que fa un temps semblava un ambiciós desig.

Informació de les autores

Arianna Bruguera—ICREA-Complex Systems Lab, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Espanya; Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF), Barcelona, Espanya;
E-mail: arianna.bruguera@upf.edu

Núria Conde-Pueyo—ICREA-Complex Systems Lab, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Espanya; Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF), Barcelona, Espanya;
E-mail: nuria.conde@upf.edu.

Participants del projecte

Ricard Solé—ICREA-Complex Systems Lab, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Espanya; Institut de Biologia Evolutiva (CSIC-UPF), Barcelona, Espanya; Santa Fe Institute, Santa Fe, New Mexico 87501, United States.

Xavier Rodó—Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Espanya; Climate & Health Program (CLIMA), Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), Barcelona, Espanya.

Sílvia Borràs—Climate & Health Program (CLIMA), Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), Barcelona, Espanya.

Lídia Cañas—Climate & Health Program (CLIMA), Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), Barcelona, Espanya.

Sofya Pozdniakova—Climate & Health Program (CLIMA), Institut de Salut Global de Barcelona (ISGlobal), Barcelona, Espanya.