

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona



Microbiota comensal y expresión inmune basal en ratas de diferente origen comercial

S. Barbosa, M. Ferrer, S. Traserra, R. Riquelme, M. Aguilera, P. Vergara

Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia Facultat de Veterinària UAB

Objetivos

- **TESIS:** “Caracterización de la microbiota intestinal e influencia en modelos experimentales de roedor”



Primer Trabajo realizado

Caracterización microbiota en rata Sprague Dawley (SD) de diferentes orígenes comerciales

- Estudio de la microbiota adherida en colon y lumen cecal
- Estudio de la expresión de Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR's)

Material y Métodos



- Animales
 - Ratas SPF outbred stock SD (4 machos + 4 hembras)
 - 4 proveedores comerciales diferentes (Charles River, Envigo, Janvier y Taconic)
- Eutanasia y recogida de muestras a la recepción
 - Tejido colon → Fijación en Carnoy
 - Contenido cecal fresco
 - Pared colon fresca
- Caracterización de la microbiota adherida a mucosa de colon y luz intestinal
 - FISH (Fluorescent *in situ* Hybridization)
 - Secuenciación masiva (*Illumina MiSeq*)
- Expresión en colon de Toll-like Receptors (TLR's) y NOD-Like Receptors (NLR's) mediante RT-qPCR.

Material y Métodos



- Proveedores oficiales de roedor más demandados
- Comercialización de roedores Specific Pathogen Free (SPF)

Guías de
FELASA

SPF

Animales criados para experimentación
libres de **determinados patógenos.**

TABLE 2. Strains examined in this study

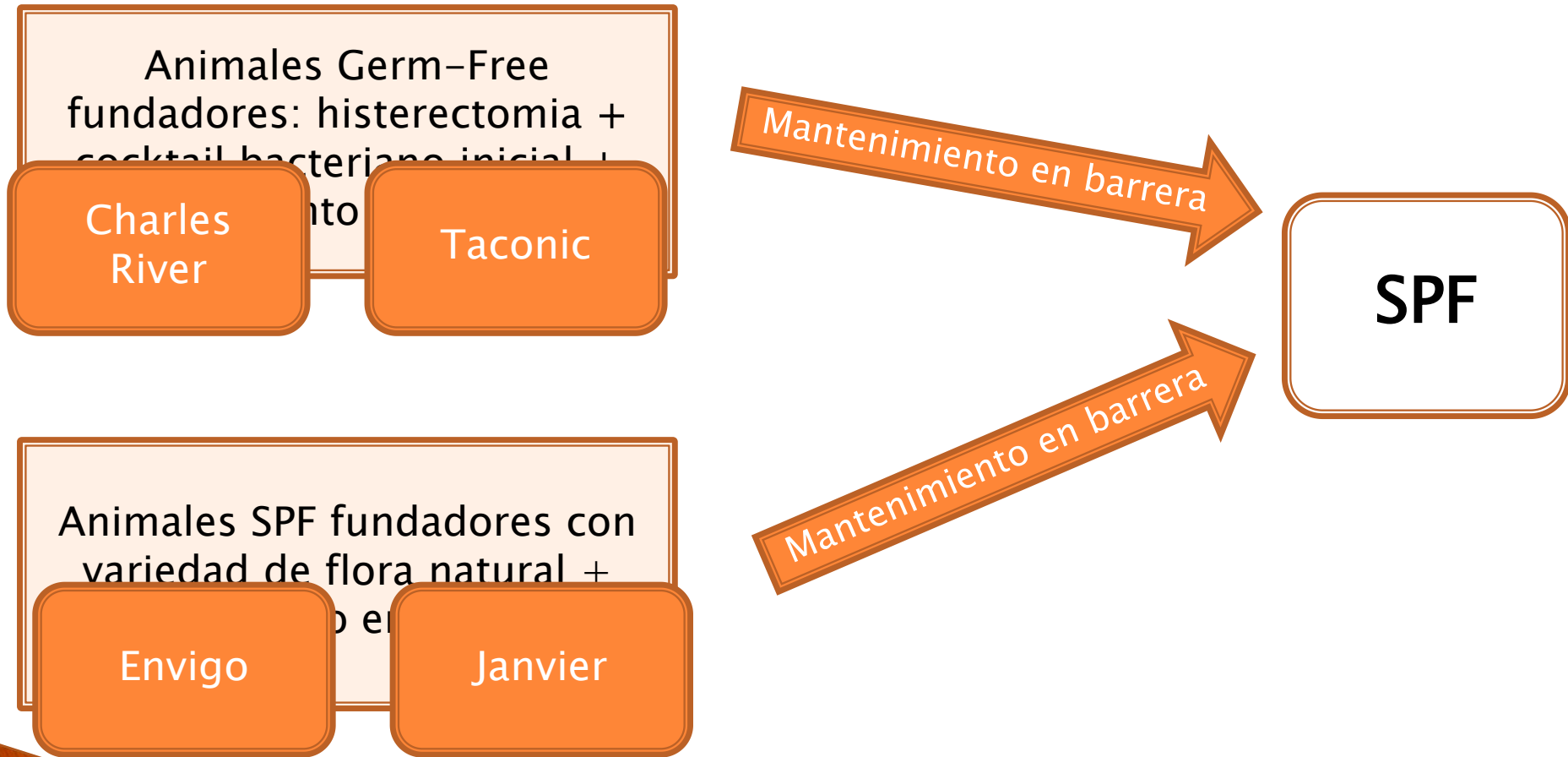
Taxon	Strain	Identity	Sequence accession no
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ASF 360	<i>Lactobacillus</i> sp.	AF157050
<i>Lactobacillus salivarius</i>	ASF 361	<i>L. murinus-L. animalis</i>	AF157049
<i>Bacteroides distasonis</i>			AF157056
Spiral-shaped organism			AF157055
Fusiform EOS bacteria			AF157052
Fusiform EOS bacteria			AF157054
Fusiform EOS bacteria			AF157053
Fusiform EOS bacteria			AF157051
[<i>Bacteroides</i>] <i>forsythus</i>			L16495
[<i>Bacteroides</i>] <i>merdae</i>			X83954
[<i>Bacteroides</i>] <i>distasonis</i>			M86695
<i>Acetitomaculum ruminis</i>			M59083
<i>Catonella morbi</i>			X87151
CDC group DF-3			1355
<i>Clostridium neopropionicu</i>			1356
<i>Clostridium piliforme</i>			
<i>Clostridium propionicum</i>			
<i>Deferribacter thermophilus</i>			
<i>Eubacterium contortum</i>			
<i>Eubacterium plexicaudatu</i>			
<i>Flexistipes sinusarabic</i>			
<i>Flexistipes</i> phylum Colobu			
<i>Flexistipes</i> phylum Rodent			
<i>Flexistipes</i> phylum Rodent			
<i>Flexistipes</i> phylum Rodent			
<i>Geovibrio ferrireducens</i>			AF059189
<i>Johnsonella ignava</i>			X95744
<i>Lactobacillus acidophilus</i>			X87152
<i>Lactobacillus animalis</i>			M58802
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	ATCC 35040		M58807
<i>Lactobacillus mali</i>	ATCC 12315 ^T		M58823
<i>Lactobacillus murinus</i>	ATCC 27053 ^T		M58824
<i>Lactobacillus salivarius</i>	ATCC 35020 ^T		M58826
<i>Roseburia cecicola</i>	ATCC 11741 ^T		AF089108
<i>Ruminococcus gnavus</i>	ATCC 33874 ^T		L14676
	ATCC 29149 ^T		X94967



Flora

^a *E. plexicaudatum* type strain ATCC 27514 is not available because it was found to be nonviable.

Material y Métodos

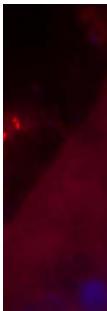
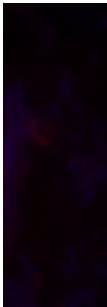


Resultados

Distribución de bacterias en la mucosa

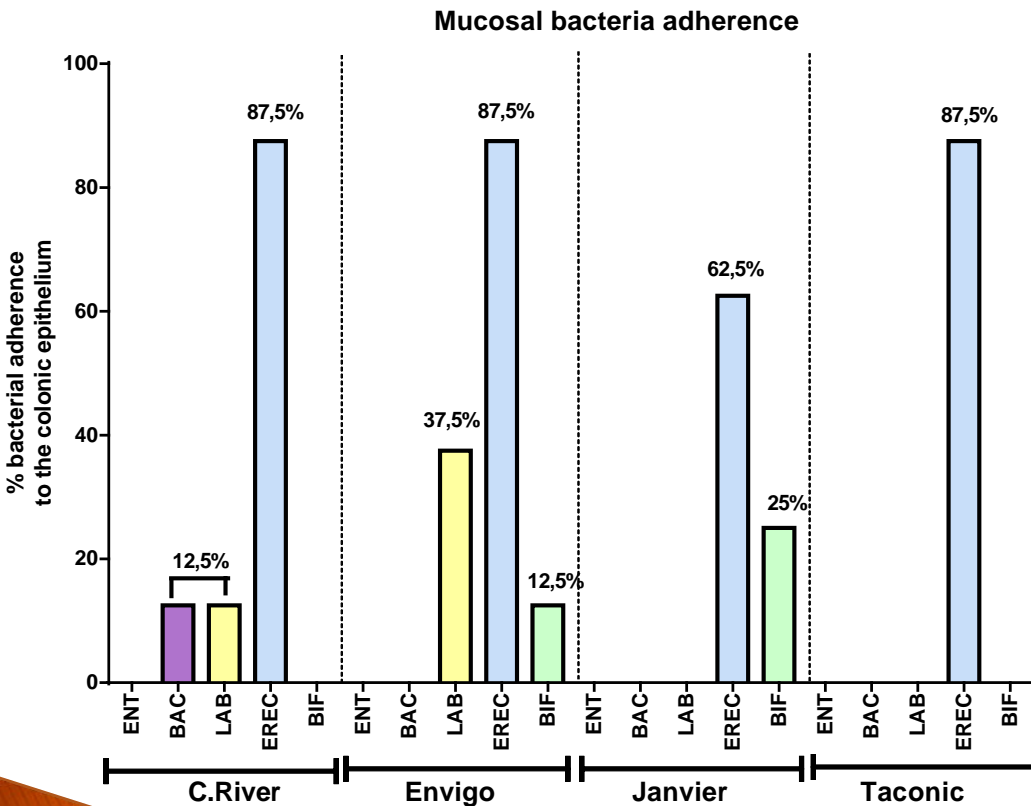
% bacterial adherence
to the colonic epithelium

Probe	Bacterial family
EUB 338	Total Bacteria
BAC 303	<i>Bacteroides</i> spp.
EREC 482	Clostridium cluster XIVa
LAB 158	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.
ENT-D	Enterobacteria
BIF 164	<i>Bifidobacterium</i> spp.
NON 338	Non-specific binding

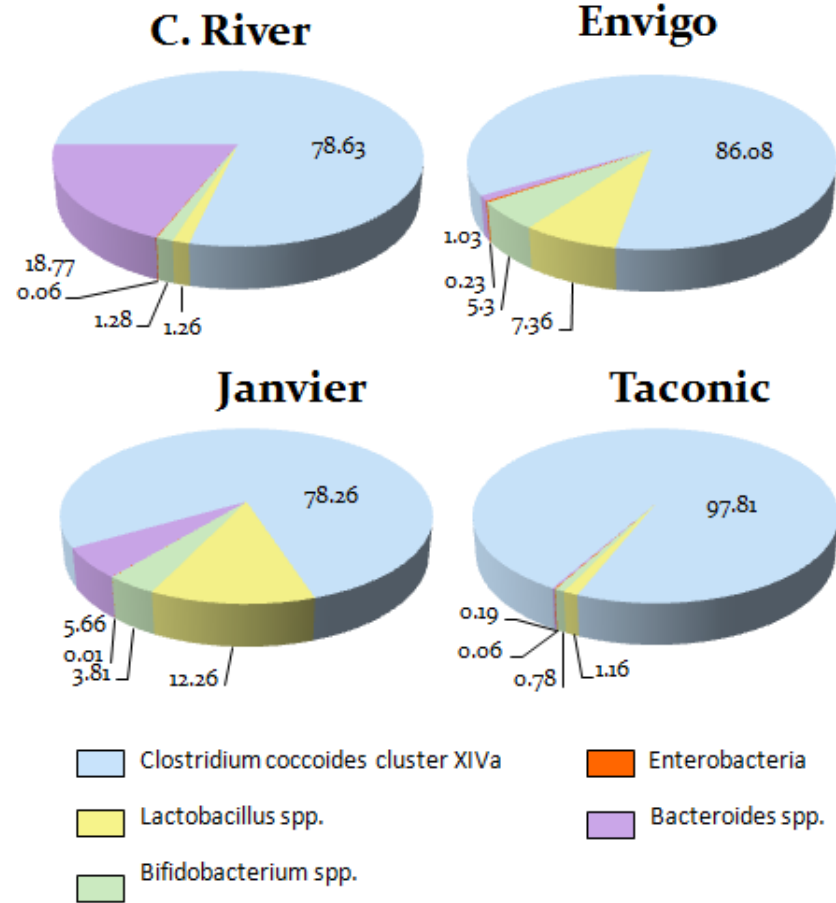


bacteria
oides spp.

Resultados



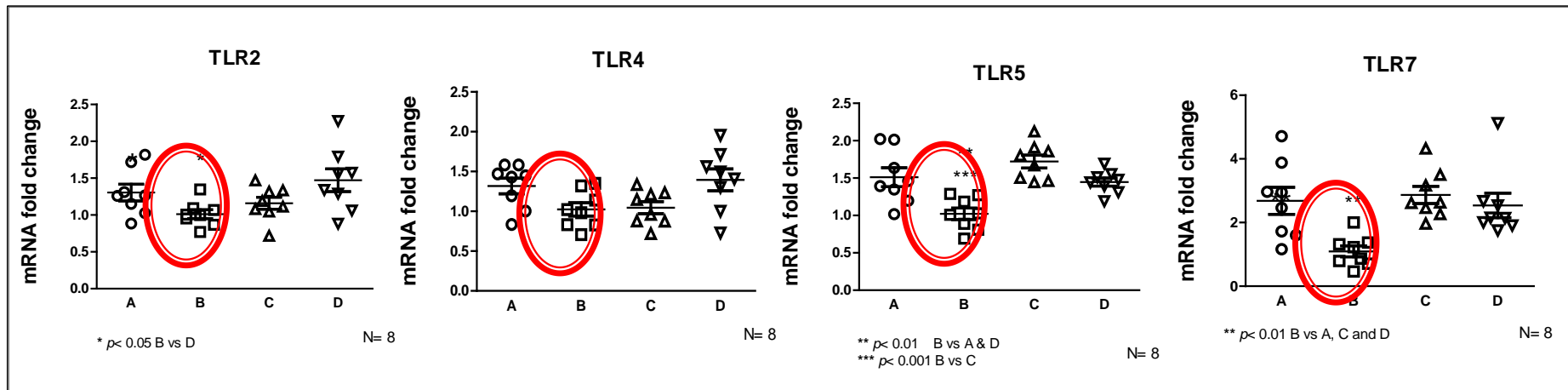
Cecal luminal bacteria



Resultados

Expression de TLR's en colon

- ▶ No se observaron diferencias en expresión de TLR 3 ni TLR 9.
- ▶ Envigo mostró una menor expresión de TLR 2, 4, 5 y 7.



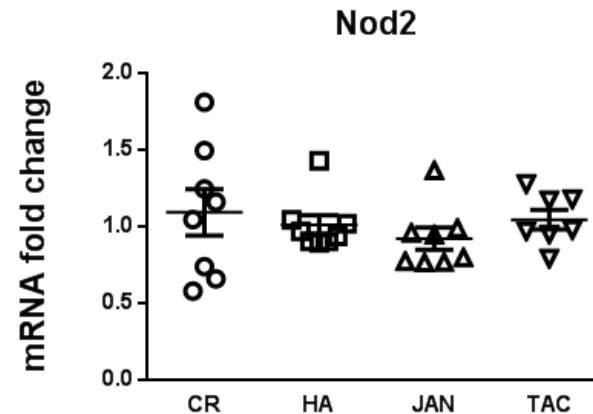
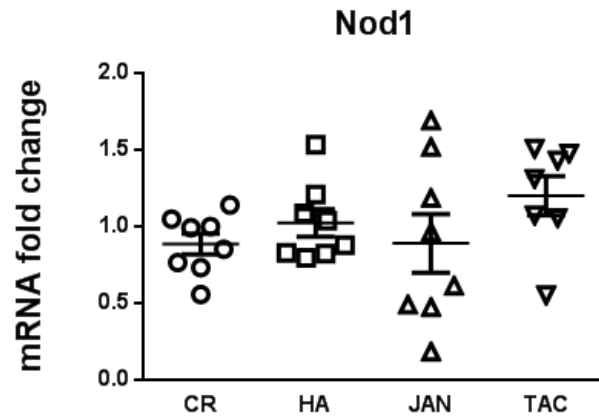
A: Charles River
B: Envigo

C: Janvier
D: Taconic

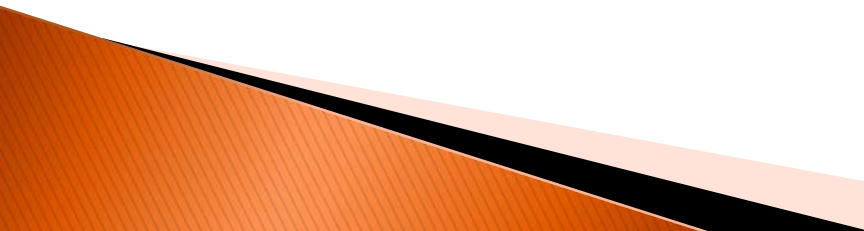
Resultados

Expression de NLR's en colon

- ▶ No se observaron diferencias en expresión de receptores Nod1 y Nod2.



Conclusiones

- ▶ Existen diferencias significativas entre proveedores en la composición de la microbiota analizada.
 - ▶ La microbiota encontrada adherida al epitelio intestinal correlaciona con los grupos de bacterias que presentan mayor abundancia en el lumen.
 - ▶ Se encontraron diferencias en la expresión basal de algunos receptores TLR.
 - ▶ Estos resultados sugieren que el origen de los animales destinados a experimentación animal y su microbiota asociada debería tenerse en cuenta en estudios en los que la microbiota y respuesta inmune intestinal son relevantes.
- 



¡Gracias!