

NOTA TÉCNICA N°21

Febrero 2026



Metagenómica en salmonicultura: Principios, aplicaciones, muestreo y flujo analítico

Área Asistencia Técnica & Área I+D+i

Resumen



La metagenómica es una técnica de secuenciación que permite caracterizar la diversidad y función de comunidades microbianas directamente desde muestras complejas (agua, biofilm, sedimento, heces y tejidos), **sin cultivo previo**. En entornos productivos, esta técnica complementa los resultados de qPCR/cultivo al ampliar el panorama etiológico (permite determinar co-infecciones, viroma y resistoma/viruloma), y habilita la vigilancia temprana del microbioma ambiental y del holobionte pez, entendiéndose este último como la simbiosis entre el animal y los microorganismos que aloja. Una de las principales ventajas es que **no requiere del conocimiento previo** de los agentes a identificar.

Este documento establece definiciones operativas, un flujo *end-to-end* (muestreo, concentración, extracción, secuenciación y análisis), junto con recomendaciones de protocolos por objetivo y comparativa de técnicas.



Definiciones y alcances

Amplicón (también Metabarcoding 16S/18S/ITS): Determina el perfil de composición taxonómica con alta multiplexación; es limitado para identificar virus/AMR y sujeto a sesgos de PCR.

Shotgun: Secuenciación de ADN total; detecta taxones (incluido viroma) y funciones (resistoma/viruloma), con opción de ensamblaje (MAGs o *Metagenome-assembled genomes*).

Metatranscriptómica: Prioriza procesos activos (ARN) y expresión funcional; mayor complejidad logística.



Figura 1. Equipo secuenciador Illumina, serie NextSeq.



Cuadro comparativo de técnicas metagenómicas

Criterio	Metabarcoding 16S	Shotgun	Metatranscriptómica (RNA)
Objetivo típico	Cribado y vigilancia bacteriana a bajo costo; comparar comunidades bacterianas	Etiología desconocida, resistoma, virus, eucariotas; MAGs	Actividad/expresión de patógenos y microbiota; respuesta a tratamientos
Resolución taxonómica	Género–especie (variable según región 16S y base de datos)	Especie/cepa (cuando cobertura suficiente); MAGs	Similar a Shotgun si el ARN permite inferencia taxonómica
Funciones (AMR/virulencia)	Indirectas/limitadas	Sí (genes AMR, virulencia, metabolismo)	Sí, genes expresados (actividad)
Virus	Generalmente no (salvo coamplificaciones específicas)	Sí (ADN/ARN tras RT)	Sí (ARN viral activo)
Sesgos	PCR, <i>primers</i> , <i>copy-number</i> rRNA	Menos sesgo por PCR; sesgo por extracción y cobertura	Sesgo por estabilidad ARN y rRNA <i>depletion</i>
Costo relativo	Bajo	Medio–Alto	Alto
Tiempo de respuesta	Rápido (5–10 días)	Medio (15–30 días)	Medio–Alto (30–45 días)
Salida típica	Alfa/beta diversidad, taxones bacterianos, diferenciales	Taxonomía + funciones (AMR/virulencia), MAGs, diferenciales	Perfiles de expresión microbiana/viral
Cuándo usar	Vigilancia rutinaria, comparación de centros, cambios ambientales	Brote sin etiología clara, búsqueda de virus/AMR, caracterización profunda	Confirmar actividad, monitorizar respuesta a tratamientos o estados agudos

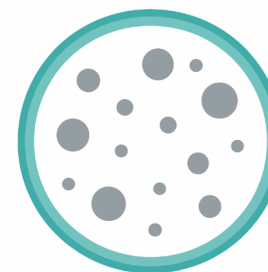
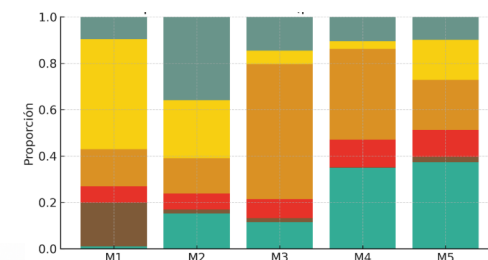
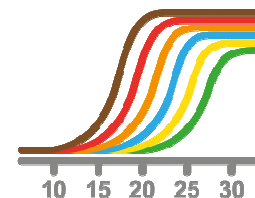


Relación con qPCR y otras técnicas

qPCR/RT-qPCR: Método óptimo para detección rápida y específica, cuantificación relativa (Ct) y confirmación de identidad de agente. Para revisar en detalle, referirse a Nota Técnica N° 16.

Metagenómica: Amplía el panorama etiológico (esperado e inesperado), aportando contexto comunitario y funcional.

Cultivo: Permite conservar aislados para pruebas fenotípicas/antibiogramas y validaciones.



Diferencia entre Metabarcoding y Shotgun

La figura 2 muestra la diferencia entre el metabarcoding 16S y “shotgun”. En el caso de este último, el proceso de secuenciación ocurre para “todo” el ADN presente en la muestra.

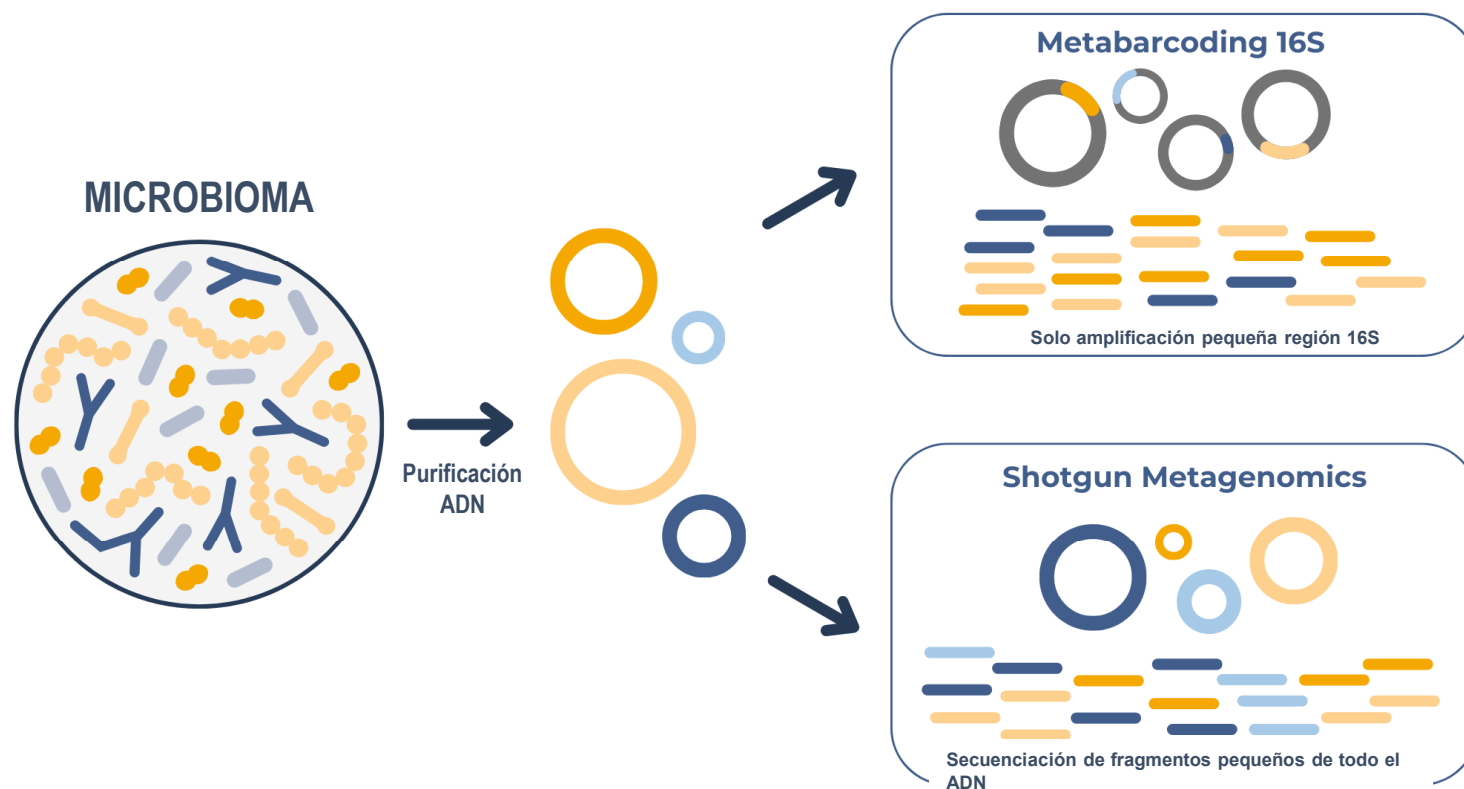


Figura 2. Diferencia conceptual entre las aproximaciones metagenómicas más populares.

Ejemplo (Metabarcoding)

Dado lo extenso del tema, en esta nota **abordaremos solo el Metabarcoding 16S**. La figura 3 muestra un resultado típico. A través de un algoritmo (por lo general DADA2) y la búsqueda de coincidencias con bases de datos, a cada secuencia 16S se le asigna un “taxón” o categoría taxonómica. A veces, no es posible asignar un taxón a la secuencia, la que pasa a ser “*unclassified*”. Para aquellas secuencias de baja abundancia (< 1%), se suelen “colapsar” en una categoría “Otros”.

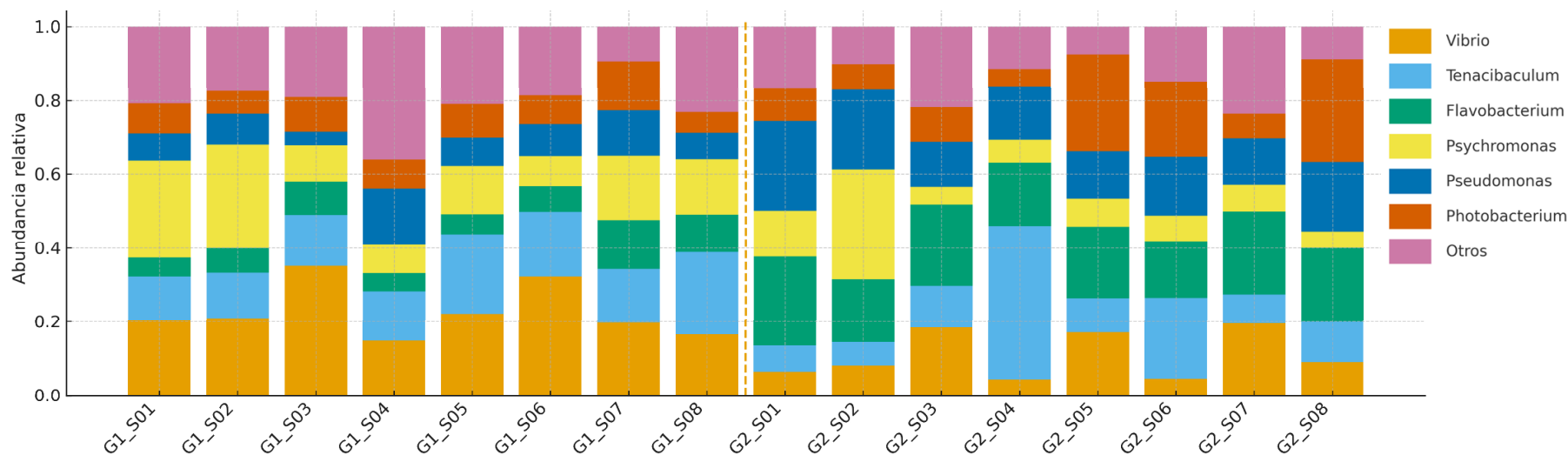


Figura 3. Barplot apilado que muestra las abundancias de los distintos géneros bacterianos detectados en dos grupos de muestras (G1 y G2). Cada barra representa una muestra y cada color un género bacteriano, mientras que el tamaño del recuadro en la barra está en directa relación con la abundancia.

Ejemplo

En la figura anterior, a simple vista, es difícil distinguir patrones y reconocer si hay bacterias que son más abundantes en uno u otro grupo de muestras, G1 o G2. Para profundizar en el análisis, se requiere aplicar un tratamiento de datos adicional, como la normalización de las abundancias y determinar el cambio de dicha variable entre grupos (figura 4).

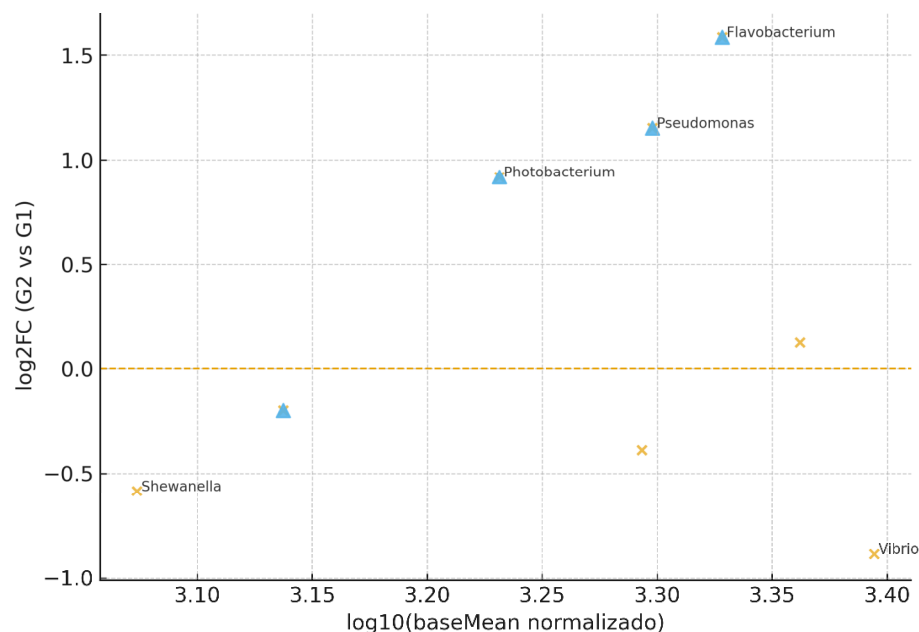


Figura 4. Diagrama tipo MA. La dispersión de las abundancias de los distintos géneros en relación a los grupos de muestras. Log2FC > 0 indica abundancia de especies en G2, mientras que valores < 0 son aquellas especies más abundantes en G1. Los taxa más significativos se indican con triángulos.

Ejemplo

Otra métrica importante en este tipo de análisis es la diversidad de especies, la cual se mide a través del cálculo de distintos índices. Uno de los más populares es Shannon. Un microbioma “saludable” se suele asociar a una mayor diversidad. Por lo tanto, la detección de una disbiosis, es decir, una perturbación en el microbioma, se puede realizar a través de este análisis. La figura 5 muestra los valores calculados para las muestras de ambos grupos.

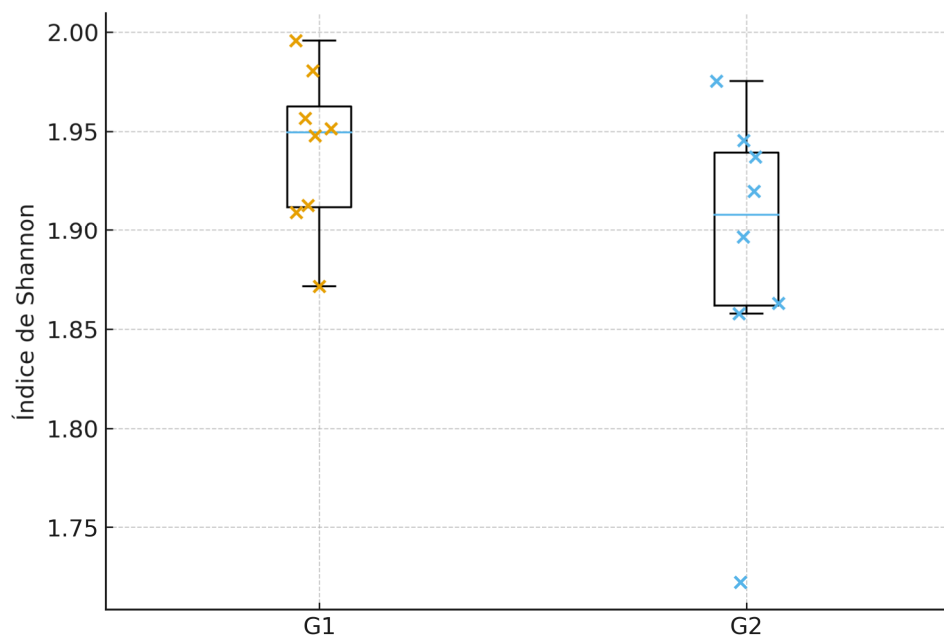


Figura 5. Gráfico “whisker” para el índice de Shannon.

Ejemplo

Una forma más “amigable” de interpretar resultados de metabarcoding 16 es mediante la construcción de modelos de puntuación o *score*. Habitualmente, para evaluaciones de dietas de salmónidos u otro tipo de animal de producción, se pueden construir “índices de salud intestinal” (GHS) basados en la abundancia de taxa benéficas y en la diversidad de las comunidades detectadas en la muestra, penalizando a su vez la presencia de patógenos, como lo muestra la figura.

$$\text{GHS} \approx \underbrace{w_0}_{\text{Baseline Intercept}} + \underbrace{w_1 \cdot (\text{PSM})}_{\text{Beneficial Abundance}} - \underbrace{w_2 \cdot (\text{TPM})}_{\text{Pathogen Penalty}} + \underbrace{w_3 \cdot (\text{Diversity})}_{\text{Alpha Diversity}}$$

Treatment	Gut Health Score (0-100)	Conclusion
T0 (Initial)	78	Healthy Baseline
A	35	Worst Performance
B	92	Best Performance
C	81	Excellent Performance
D	68	Acceptable Performance

La tabla muestra el resultado de un estudio de evaluación de una dieta. T0 corresponde a los peces al inicio del estudio, mientras que A, B, C y D representan grupos de peces alimentados con diferentes dietas. El grupo A corresponde al control alimentado con dieta estándar. Durante el bioensayo, los peces recibieron, vía cohabitación, un desafío con un patógeno bacteriano. La “*performance*” en este caso está directamente relacionada con la tasa de sobrevivencia.

Flujo de trabajo (*end to end*)

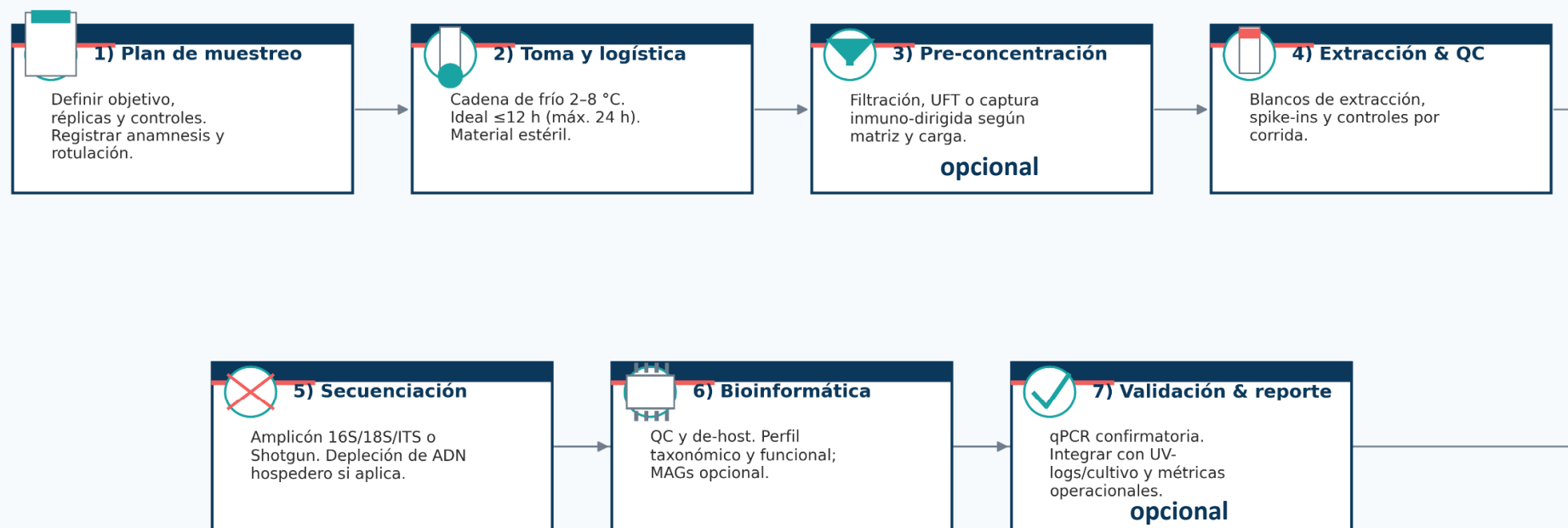


Figura 6. Flujo de trabajo. Existen pasos obligatorios y otros opcionales. Estos últimos dependen de las características de las muestras y del objetivo del estudio. En el caso del metabarcoding 16S, el paso 6 solo contempla la determinación de los perfiles taxonómicos de las muestras.

Cuadro comparativo de técnicas y su complementariedad



Objetivo	Amplicón o Metabarcoding 16S/ITS/18S	Shotgun	qPCR / RT-qPCR	Cultivo
Diversidad / monitoreo	Excelente, eficiente	Excelente (más costo/profundidad)	Dirigida (limitada)	Limitado
Brote desconocido	Buena (hipótesis)	Excelente (descubrimiento)	Excelente para confirmar	Útil (aislados)
AMR / virulencia	Parcial (inferencias)	Excelente (genes/función)	Dirigida (paneles definidos)	Fenotipo (antibiograma/CIM)
Viroma	No recomendado	Bueno–Excelente	Dirigida (genes virales)	Cultivo celular
Tiempo de respuesta	Rápido	Medio	Muy rápido	Lento (depende de la velocidad de crecimiento del microorganismo)

Aplicaciones en centros y laboratorios (más comunes)

Vigilancia de sistemas (flujo abierto/RAS): Determinación de dinámica de comunidades microbianas y verificación de la eficiencia de la desinfección con reducciones log10 de UV.

Brote de etiología desconocida: Detección de amplio espectro (parásitos, viroma y co-infecciones) y priorización para confirmación posterior con ensayo molecular (qPCR).

Riesgo AMR/virulencia: Resistoma/viruloma para soporte terapéutico y bioseguridad.

Microbioma del pez (heces/mucosas): Asociaciones con bienestar y desempeño productivo. Evaluación de dietas y aditivos alimentarios.

Trazabilidad ambiental: Perfil de comunidades microbianas en zonas de cultivo y alrededores (biofilms y sedimentos).



Limitaciones y mitigaciones



Inhibidores/complejidad: Como todo método basado en secuenciación, la *performance* del proceso depende de una muestra libre de inhibidores de polimerasas. Cuando se trata de matrices muy diluidas, como agua, se requiere concentrar (filtración) y optimizar extracción de ADN (revisar Nota Técnica N° 18).

Contaminación baja/“kitome”: Se incluyen blancos y controles de lote por cada corrida de secuenciación. No obstante, la contaminación por manipulación de especímenes es frecuente. Se minimiza el impacto filtrando secuencias contaminantes mediante herramientas bioinformáticas.

Resolución taxonómica: Depende del método y base de datos. Por lo general, para el protocolo más común (metabarcoding 16S), se obtiene una alta resolución a nivel de género bacteriano

Viabilidad: El ADN detectado no implica organismos viables; la interpretación se complementa con cultivo y datos operacionales.



Metagenómica como apoyo al diagnóstico e investigación



La metagenómica no reemplaza al qPCR/cultivo, sino que ambos se complementan para robustecer decisiones clínicas y operacionales (en notas previas hemos enfatizado la complementariedad diagnóstica entre técnicas). La secuenciación de nueva generación, NGS, tecnología en la que se basa el análisis metagenómico, es una herramienta flexible que puede utilizarse para diferentes objetivos e investigaciones de mediana-alta complejidad. Se requiere no solo de equipamiento específico, sino también de un conocimiento profundo de la química del ADN, así como del flujo de trabajo bioinformático (algoritmos) más adecuado para una correcta aplicación e interpretación.

En ADL, a través de la asesoría personalizada y acorde a los requerimientos de nuestros clientes, ofrecemos esta línea de servicios de secuenciación, buscando optimizar la relación costo/beneficio. Además, por medio de nuestros convenios con diferentes entidades, hemos acelerado la entrega de resultados. Dependiendo del tipo de proyecto, podemos comprometer un tiempo de respuesta que va entre 10-30 días calendario.

Referencias

Callahan, B., McMurdie, P., Rosen, M. *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data (2016). *Nat Methods* 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., et al. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS* 108(Supplement 1), 4516-4522. DOI: 10.1073/pnas.1000080107

De Albuquerque, G. E., Moda, B. S., Serpa, M. S., Branco, G. P., Defelicibus, A., Takenaka, I., et al. (2022). Evaluation of bacteria and fungi DNA abundance in human tissues. *Genes*. (Basel) 13, 237. doi:10.3390/genes13020237

Goodrich, J. K., Di Rienzi, S. C., Poole, A. C., et al. (2014). Conducting a microbiome study: Sample collection, DNA extraction, and upstream bioinformatics. *Nature Protocols*, 9(11), 2720-2738. DOI: 10.1038/nprot.2014.180

Marchukov D, Li J, Juillerat P, Misselwitz B and Yilmaz B (2023) Benchmarking microbial DNA enrichment protocols from human intestinal biopsies. *Front. Genet.* 14:1184473. doi: 10.3389/fgene.2023.1184473