

Los microbios en la unidad de cuidados intensivos neonatales se asemejan a los encontrados en el intestino de los bebés prematuros

Brandon Brooks, Brian A Firek, Christopher S Miller, Itai Sharon,
Brian C Thomas, Robyn Baker, Michael J Morowitz y Jillian F
BanfieldEmail autor

Microbiome20142: 1

INTRODUCCION

Desde el nacimiento hasta la muerte, los seres humanos pasan aproximadamente el 90% de su tiempo en el interior. Esto, junto con los avances en las tecnologías de secuenciación de ADN, ha generado un nuevo interés en estudiar los edificios como ecosistemas. Así definen entorno construido BE (built environment) para describir tanto las características bióticas como las abióticas de un edificio. Diversas comunidades microbianas han sido descubiertas en una variedad de BEs y sorprendentemente, en sitios diseñados para ser estériles o casi estériles, como salas limpias de la NASA y de alto riesgo en los hospitales. Además, estudios recientes han revelado tendencias generales que sugieren que la función o arquitectura de una habitación dicta el microbioma de la BE. Otros experimentos intra-constructivos en hospitales han corroborado, que las áreas de uso general, tales como salas de espera y vestíbulos, tienen una comunidad microbiana diferente en comparación con zonas hospitalarias más restrictivas como las unidades de cuidados intensivos.

En este trabajo, se buscó caracterizar la interacción entre el microbioma de la BE y el microbioma humano mediante el estudio de los neonatos de muy bajo peso al nacer (VLBW, <1.500 g) alojados en una unidad de cuidados intensivos. En el útero, los bebés están en un ambiente casi estéril, por lo que comienzan a adquirir el microbioma al nacer. Existen evidencias que la UCI sirve como un reservorio de patógenos clínicamente relevantes. (incubadoras, tubuladuras, desagües, dispensadores de jabón, etc).

Es evidente que existe una necesidad creciente de realizar estudios sobre el entorno construido para comprender mejor el proceso de migración de los microorganismos.

METODOS

El análisis utilizó la secuenciación metagenómica de las muestras fecales y EMIRGE, método iterativo o sea repetitivo, basado en el algoritmo de maximización de expectativas, que reconstruye las secuencias de genes de subunidad pequeña de longitud completa y proporciona estimaciones de la abundancia relativa de taxones del medio ambiente

Hipótesis que el BE, específicamente las superficies de la habitación con frecuencia tocado por los seres humanos, es una fuente predominante de microbios colonizadores en el tracto GI de los prematuros.

Métodos

- Muestras fecales cada 3 días, a partir del 3er día de vida, durante 1 mes de dos bebés
- Criterios de inclusión de los bb, menos de 31 semanas de gestación, peso menor a 1250 g
- Alojados en el mismo lugar físico dentro de la UCIN
- Recolección de las muestras fecales por estimulación perianal
- Almacenamiento, a -80°C durante 10 minutos
- Por cada muestra fecal se tomaron 33 hisopos de 6 áreas
- Las muestras de la habitación se recolectaron simultáneamente con las anteriores y abarcaron 4 puntos (9, 12, 13, 16 hs), en 6 áreas, lavamanos, tubuladuras, manos del personal de salud y de los padres, incubadora, electrónicos y tuberías de desagüe.
- La toma de muestra se realizó con hisopos de espuma sobre las superficies y un tampón de muestreo de NaCl 0,15 M y tween20 al 0,1%, a -80°C

Extracción de ADN y amplificación por PCR

Ensamblaje metagenómico EMIRGE del gen 16S rRNA.

CARACTERISITICAS	INFANTE 1	INFANTE 2
EDAD GESTACIONAL	26 SEMANAS y 3/7	28 SEMANAS y 2/7
PESO AL NACER	951 gr	1148 gr
GESTA MULTIPLE	NO	SI MELLIZOS
TIPO DE PARTO	VAGINAL	VAGINAL
COMIENZO Y DURACION DE TTO ATB		
del 1 al 7mo día	AMPICILINA/ GENTAMICINA	AMPICILINA/GENTAMICINA
OTROS ATB del 14 al 16		VANCOMICINA/CEFOTAXIMA
INICIO ALIMENTACION	DIA 3 PECHO	DIA 8 FORMULA MATERNIZADA

Infant 1

Infant 2



FIGURA 1

RESULTADOS

Los datos se procesaron por EMIRGE utilizando una plataforma Illumina. Se produjeron mas de 24000 secuencias de rRNA 16s, generando 12000 unidades taxonomicas operativas (OTU) por cada par infant-sala.

Segun Figura 1

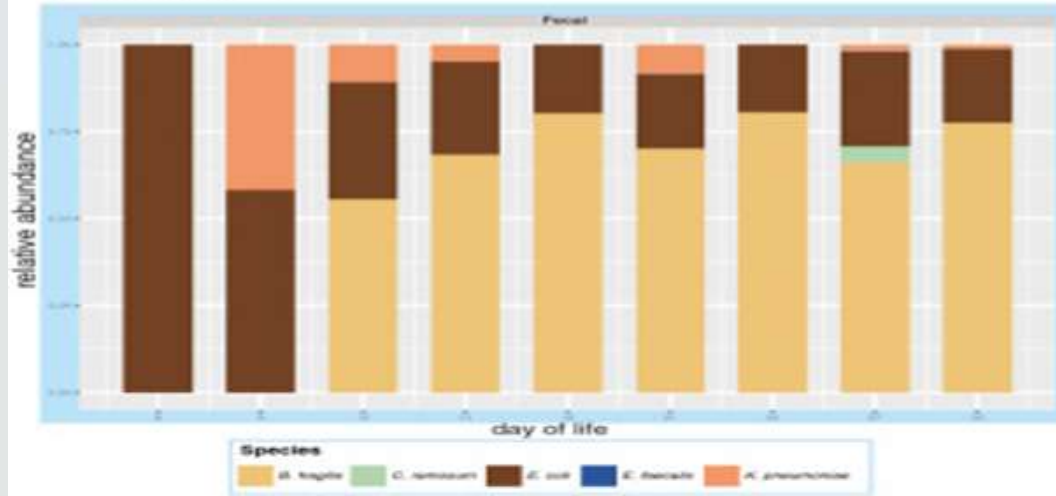
- Las bacterias que dominan los ambientes son del filo **ACTINOBACTERIAS, FIRMICUTES Y PROTEOBACTERIAS**, encontrados en la electronica, las manos , las superficies y las incubadoras de los dos BB. Especialmente de las familias de streptococcaceae, staphylococcaceae, enterobacteriaceae, propionibacteriaceae, corynebacteriaceae y pasteurellaceae. En las rejillas de desague de los dos infantes, se encontraron bacterias del filo **PROTEOBACTERIAS**, de la familia de las pseudomonadaceae y enterobacteriaceae, igual que en las tubuladuras del infant 1. En cambio en las tubuladuras del infante 2 se encontraron bacterias del filo **FIRMICUTES**, de la familia staphyleaceae, streptococcaceae y gemellaceae.

Segun figura 2

- Las comunidades microbianas del tracto gastrointestinal de BB1 son claramente distintas a las del BB2
- Los anaerobios facultativos (E. Coli, Staphylococcus e.) dominan la colonización en fase temprana mientras que los colonizadores en etapa tardía son principalmente anaerobios obligados (Clostridium r. y Bacteroides f.) en el infante 1.
- Los dos colonizadores intestinales mas abundantes del infante 2, Staphylococcus sp. y E. Faecalis, son las dos OTU que ocurren mas frecuentemente en el ambiente.
- Para ambos niños, la electronica tenia la menor abundancia de organismos detectados en el intestine, mientras que las tubuladuras tenian los mas altos.

La cohorte de bebes compartio solo un colonizador de intestinal, **E faecalis**

Infant 1



Infant 2

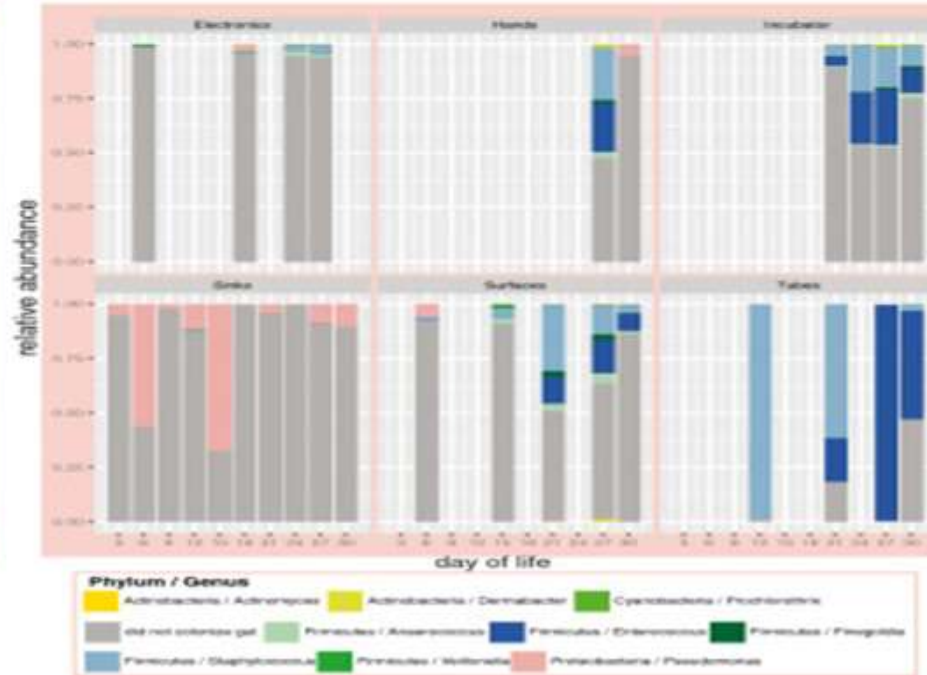
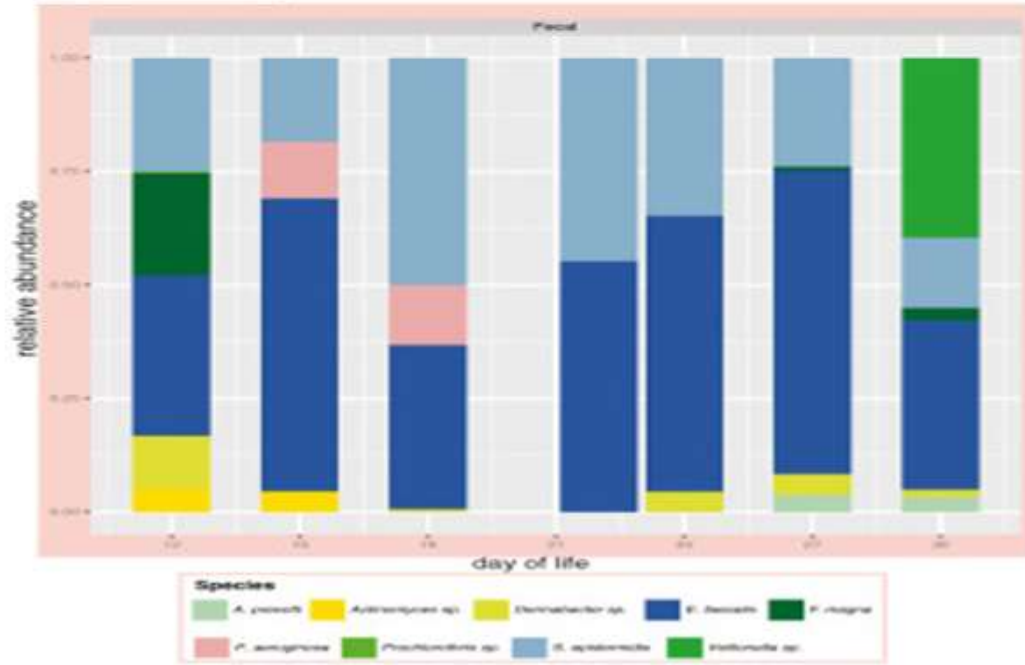


FIGURA 2

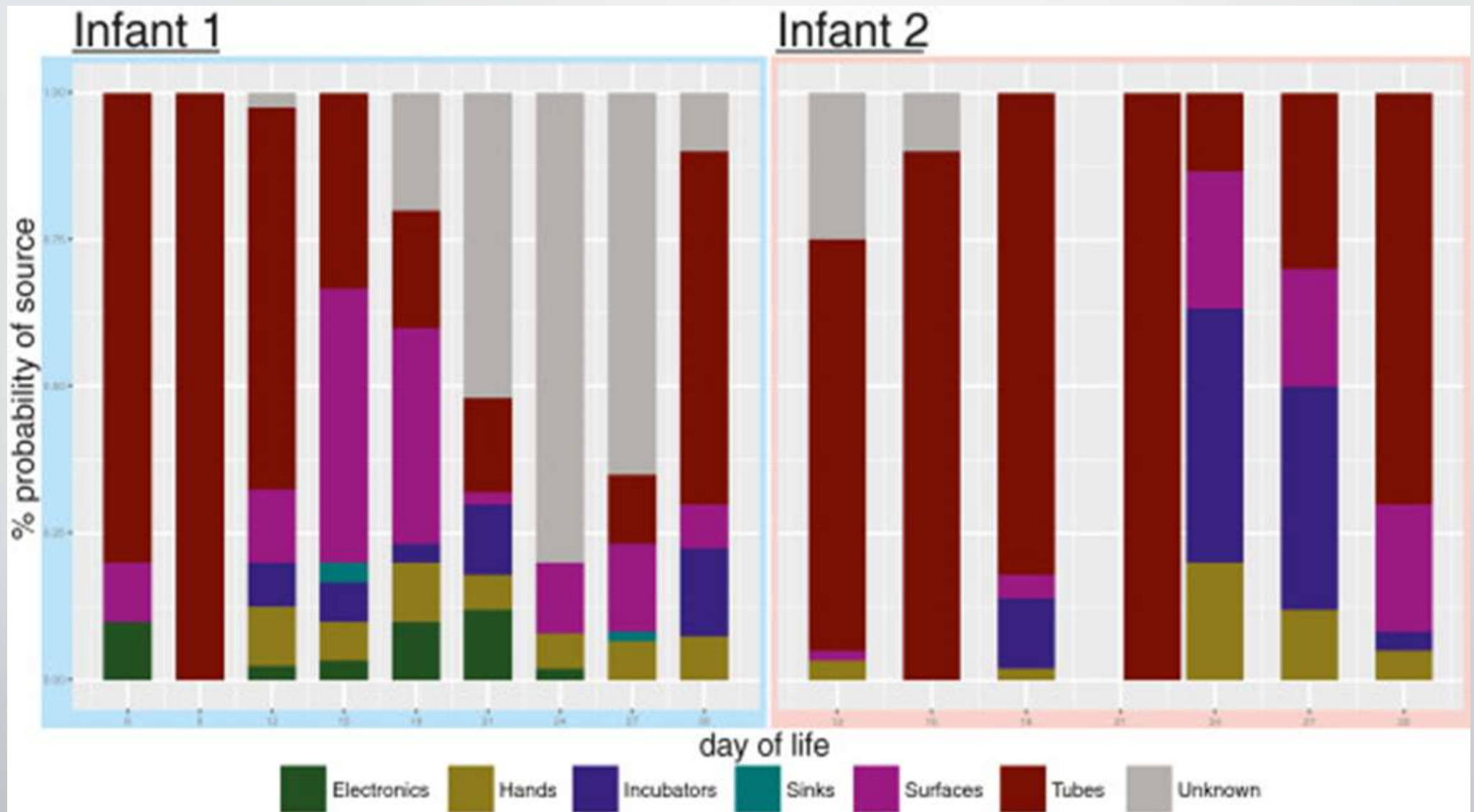


FIGURA 3

DISCUSION

- Los resultados sugieren que el depósito de habitación más probable para los colonizadores intestinales es el tubo seguido de superficies, incubadoras y manos.
- Las incubadoras de ambos infantes también parecen reflejar los patrones de sucesión en el GIT del recién nacido
- La observación de que las manos tienden a mostrar una cantidad variable de colono fecal potencial es probablemente debido a la variabilidad en el muestreo y la higiene de las manos, ya que las muestras de mano fueron tomadas antes y después de los niños recibieron atención médica
- Si el medio ambiente es un reservorio para los microbios que colonizan el intestino en nuestra cohorte, entonces es probable que los bebés alojados en estrecha proximidad compartan la misma cepa
- El análisis de genomas reconstruidos para microorganismos intestinales puede aportar pistas sobre cómo los organismos detectados en el GIT y el ambiente ambiente pueden persistir en la NICU, la cual está sometida a una limpieza / esterilización regular. Numerosos genes de resistencia a los antibióticos se encontraron en los genomas de microorganismos en muestras fecales de ambos lactantes. Una gran parte de ellos eran bombas de eflujo, que además de los antibióticos, estas bombas pueden expulsar compuestos de amonio cuaternario (QACs), el biocida activo en el detergente usado para limpiar las superficies del hospital durante el estudio. Otras observaciones notables fueron la presencia de genes formadores de biofilm .
- Los enterococos son resistentes y capaces de persistir en las superficies y equipos médicos por su plasticidad genómica y su capacidad de adquirir nuevos genes. Son capaces de soportar cloro, calor y alcohol, como también ciertos antibióticos.
- Los colonos intestinales soportan dos presiones selectivas dentro y fuera del intestino, la acción de la limpieza y la de los antibióticos, el mal uso de cualquiera de ellos lleva a la resistencia cruzada de biocidas y antibióticos. La bomba de eflujo y la formación de biofilm, explican dicha resistencia.

CONCLUSIONES

- A través de un análisis de series de tiempo utilizando secuencias de genes de rRNA de longitud completa, hemos establecido que los organismos que aparecen en el tracto gastrointestinal en la primera fase de colonización tienen reservorios en el ambiente ambiente. Los hallazgos apuntan a un escenario en el cual los microbios intestinales se introducen de fuentes de habitación, prosperan en el intestino, y se diseminan al ambiente inmediato, creando un ciclo de colonización de habitación a niño. La investigación también pone de relieve el valor de las comparaciones extensas del genoma para vincular a los colonos de diferentes individuos, un enfoque que en el futuro también puede apuntar a las poblaciones de la muestra directamente de los depósitos de la sala.