P097

BATTERIOLOGIA

MYCOBACTERIUM CHIMAERA, PROBLEMA EMERGENTE: IDENTIFICAZIONE E TIPIZZAZIONE

J. Bagnarino [2], V. Monzillo [3], D. Barbarini [3], A. Piralla [3], A. Ghodousi [1], E. Tortoli [1], D.M. Cirillo [1], P. Marone [3]
[1]*IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano*
[2]*Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Pavia, Pavia*
[3]*U.O.C. Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia*

INTRODUZIONE

Mycobacterium chimaera è un microrganismo diffuso in natura, patogeno opportunista, produttore di biofilm e intrinsecamente resistente a numerose classi di antibiotici. Descritto nel 2004, ha provocato outbreak in diversi paesi a causa della contaminazione dei serbatoi di acqua degli scambiatori di calore (HCUs) utilizzati durante gli interventi chirurgici a cuore aperto. Le infezioni invasive provocate dalla formazione di aerosols da parte di HCUs contaminati da M. chimaera, sono caratterizzate da una prognosi sfavorevole con un tasso di mortalità di circa il 50%. In Italia ad oggi sono stati segnalati 18 casi di infezione invasiva da M. chimaera con 7 decessi, mentre gli HCUs contaminati sono circa 55.
In questo studio abbiamo voluto indagare mediante l'analisi genotipica l'esistenza di una correlazione tra i ceppi isolati dagli HCUs di centri diversi. A tal proposito sono stati processati campioni di acqua provenienti da strumenti di 5 diversi Ospedali da cui sono stati isolati e identificati gli stipiti di M. chimaera. Parallelamente è stata eseguita un'indagine retrospettiva, a partire dal 2015, su ceppi di M. chimaera isolati da campioni clinici.

METODI

L'acqua raccolta dagli HCUs è stata processata, come suggerito dalle linee guida ECDC, mediante filtrazione, decontaminazione e semina del campione. Sui campioni positivi è stata eseguita l'identificazione sia mediante sonde a DNA (GenoType CM/NTM-DR) che mediante Whole Genome Sequencing (WGS) utilizzando una piattaforma Illumina NextSeq. Per ciascun isolato sono state mappate le sequenze mediante BWA utilizzando il genoma di riferimento del ceppo M.chimaera DSM4462. La ricerca dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) è stata condotta mediante i programmi GATK e Samtools. L'insieme dei SNPs rilevato è stato utilizzato per ricostruire l'albero filogenetico. Inoltre sugli stipiti è stata eseguita l'identificazione mediante spettrometria di massa (Maldi-Tof).

RISULTATI

Dei 40 campioni esaminati, 28 (70%) sono risultati positivi per M. chimaera mediante GenoType NTM-DR, e di questi 20 sono stati sequenziati: 12 appartengono al sottogruppo 1.1, 4 al sottogruppo 1.8, gli altri 4 sono più distanti filogeneticamente. Un solo ceppo dei 5 campioni clinici sequenziati appartiene al sottogruppo 1.1 ed è correlato al clone degli HCUs. L'analisi spettrometrica pur identificando i ceppi come M.chimaera non permette la discriminazione con certezza da M. intracellulare, e sono in corso ulteriori approfondimenti.

CONCLUSIONI

La maggior parte dei ceppi isolati da HCUs e sequenziati con WGS è risultata appartenere al sottogruppo 1.1 (ceppi altamente correlati fra loro, differendo per un numero di SNP <10) da cui si deduce che appartengono allo stesso clone responsabile degli outbreak verificatisi a livello globale.