

CARATTERIZZAZIONE MEDIANTE NGS DI STIPITI DI LISTERIA MONOCYTOGENES ISOLATI IN PROVINCIA DI PAVIA NEL 2017

C. Merla², J. Della Rocca², M. Corbella², S. Gaiarsa³, E. Scaltriti¹, P. Cambieri², P. Marone²

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Risk Analysis and Genomic Epidemiology Unit, Parma, Italia

²UOC Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

³UOC Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia; Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia

INTRODUZIONE

Listeria monocytogenes (Lm) è un batterio ubiquitario che negli individui adulti sani causa una tossinfezione alimentare. In individui immunocompromessi, donne in gravidanza, neonati e anziani la malattia si manifesta nella forma invasiva con esito potenzialmente letale. In questi casi, Lm può superare la barriera intestinale, diffondere nell'organismo attraverso il torrente circolatorio e raggiungere il sistema nervoso centrale o il feto.

Scopo dello studio è stato caratterizzare mediante Next Generation Sequencing (NGS) gli stipiti di Lm isolati nel 2017 da liquor e sangue di pazienti residenti in provincia di Pavia per valutare l'appartenenza ad un unico clone e verificare l'eventuale correlazione tra i casi.

METODI

Nel periodo giugno–novembre 2017 sono stati diagnosticati 10 casi di listeriosi invasiva in pazienti residenti nella provincia.

I 10 isolati (9 da sangue, 1 da liquor) sono stati identificati tramite MALDI-TOF (Brucker Daltonics). L'antibiotico sensibilità è stata testata secondo le linee guida EUCAST versione 7.0 del 2017 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). I genomi sono stati sequenziati mediante Illumina MiSeq.

RISULTATI

Per 6/10 pazienti, 5 uomini e 5 donne, la listeriosi ha avuto esito fatale. 8/10 pazienti avevano più di 58 anni. L'età mediana era 66,5 anni (0-77 anni) e un paziente era neonato.

9/10 (90%) sono risultati multisensibili, 1 (10%) ha evidenziato resistenza alla penicillina.

L'analisi di MLST (Multi Locus Sequence Typing) in silico ha permesso di stabilire che 4/10 (40%) isolati appartenevano a ST1, 2/10 (20%) a ST2, 2/10 (20%) a ST37, 1/10 (10%) a ST8 e 1/10 (10%) a ST224. La valutazione della distanza genetica attraverso l'analisi dei coreSNPs ha mostrato che i 10 isolati erano geneticamente distanti tra loro.

Tutti i ceppi presentavano geni codificanti numerosi fattori di virulenza, come dimostrato anche dal fatto che siano stati infettati individui immunocompetenti. Non è stata riscontrata la presenza di alcun gene codificante meccanismi di resistenza conosciuti nel ceppo resistente alla penicillina.

CONCLUSIONI

L'elevato numero di casi in un periodo temporalmente circoscritto e in un'area ristretta ci ha indotti a sospettare un unico evento epidemico. L'analisi genomica mediante NGS ha permesso di affermare che i casi non sono tra loro correlati e non si può pertanto considerare l'evento un outbreak.

L'utilizzo delle tecniche basate sul WGS, unito all'analisi epidemiologica, è quindi importante per la rilevazione e lo studio di eventi epidemici e la sua implementazione può risultare utile per la sorveglianza epidemiologica.