

Mycobacterium chimaera: cosa cambia con la nuova circolare ministeriale del 10 Aprile 2019

Mycobacterium chimaera: what changes with the new ministerial circular dated 10 April 2019

Il 10 aprile 2019 il Ministero della Salute ha pubblicato la circolare “Indicazioni operative riguardanti gli aspetti di laboratorio in merito ai casi di infezione da *Mycobacterium chimaera* in Italia e aggiornamento delle informazioni disponibili”, che fa seguito a quella emanata il 9 Gennaio 2019.

La nuova circolare fornisce alcune indicazioni finalizzate ad uniformare, sul territorio nazionale, le procedure operative per la diagnosi e l’identificazione del *M. chimaera*, migliorando la capacità di individuazione dei casi e dei dispositivi che sono stati contaminati e pure finalizzate a limitare il verificarsi di ulteriori infezioni.

A tal riguardo, viene descritta l’attuale situazione epidemiologica relativa alle infezioni da *M. chimaera* in Italia: ad oggi sono stati segnalati 8 casi di infezione invasiva, inclusi 7 decessi, in 3 regioni, e 55 dispositivi HCU sono risultati contaminati in 8 regioni italiane.

Nel nuovo documento vengono aggiornate le definizioni di caso, integrando i criteri clinici e di esposizione, oltre a indicare il caso possibile e il caso escluso. Per i criteri clinici, aggiornandoli alla letteratura più recente, vengono aggiunti criteri che nel documento ECDC non erano inclusi e tantomeno nella precedente circolare ministeriale; tra queste sono comprese, nelle manifestazioni di infezione disseminata, le spondilodisciti, le manifestazioni del SNC, gli ascessi settici, le sarcoidosi, le emolisi, la rottura del rene e le epatiti.

Per quanto attiene l’aggiornamento dei criteri di esposizione, la circolare estende l’intervallo di riferimento da 5 a 6 gli anni, tra l’effettuazione di un intervento chirurgico a torace aperto con ricorso a circolazione extracorporea e HCU e l’insorgenza dei sintomi dell’infezione, per coerenza con le più recenti evidenze scientifiche.

Nella definizione di caso possibile si fa riferimento ai pazienti che soddisfano i criteri clinici e di esposizione per i quali non siano ancora disponibili i risultati di analisi microbiologiche; con la definizione di caso escluso si indica un caso probabile o possibile per il quale il

laboratorio Nazionale o Regionale di riferimento identifichi un micobatterio differente da *M. chimaera*.

Per la diagnosi di laboratorio vengono identificati come campioni clinici di elezione da utilizzare per la ricerca di micobatteri solo per pazienti sintomatici, l’emocoltura e la biopsia. Non sono, invece, ritenuti idonei ai fini della sorveglianza i campioni di origine respiratoria. Vengono fornite informazioni più dettagliate circa l’identificazione degli isolati, richiedendo espressamente che questa venga effettuata con metodo molecolare, utilizzando il sequenziamento dell’intero genoma (Whole-Genome Sequencing, WGS) o utilizzando i kit di ibridazione molecolare qui di seguito indicati. Il WGS e la successiva analisi filogenetica sono il metodo più accurato per verificare se un ceppo clinico è direttamente correlato ad un definito evento epidemico o cluster di infezione associato ad una medesima fonte. I kit di ibridazione da utilizzare sono il GenoType CM, AccuProbe Intracellulare o AccuProbe MAC, INNO LiPA Mycobacteria, GenoType NTM-DR. In base al tipo di kit utilizzato, viene indicato come refertare il risultato ottenuto:

1. In caso di impiego di AccuProbe Intracellulare o di AccuProbe MAC, sono da considerare sospette le colonie identificate come *M. Intracellulare* o come MAC rispettivamente, che devono essere refertate come *M. avium* complex. In questo caso, si rende pertanto indispensabile la differenziazione mediante altri metodi.
2. In caso di impiego di INNO LiPA Mycobacteria, la positività con la sonda MIN2 identifica direttamente *M. chimaera* e non occorre procedere ulteriormente.
3. In caso di impiego di GenoType NTM-DR, *M. chimaera* viene identificato direttamente come tale e non occorre procedere ulteriormente.
4. In caso di impiego di GenoType CM sono da considerare sospette le colonie identificate come *M. intracellulare* che devono essere refertate come *M. avium* complex. Si rende pertanto indispensabile la differenziazione mediante altri metodi.

B. Casini - *Mycobacterium chimaera*: cosa cambia con la nuova circolare ministeriale del 10 Aprile 2019

L'identificazione di specie può essere fatta anche tramite amplificazione e sequenziamento delle regioni geniche ITS, r6S, rRNA, rpoB e hsp65, come riporta il protocollo ECDC .

Al fine di escludere e/o correlare l'infezione al dispositivo, viene sottolineata la necessità di effettuare le analisi anche sulle apparecchiature e nell'ambiente circostante, attraverso il campionamento dell'acqua contenuta nelle HCU e dell'aerosol prodotto dalle stesse. Circa le indicazioni riguardanti il campionamento ambientale, nella circolare viene fatto riferimento alle indicazioni presenti nel documento ECDC o alle istruzioni fornite dalle competenti strutture aziendali/regionali, in attesa di una nuova circolare ministeriale inerente tali aspetti, che il ministero ha in fase di realizzazione.

Nella circolare viene inoltre individuato come Laboratorio di Riferimento nazionale quello dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive (INMI) "L. Spallanzani", che ha il compito di confermare i casi, effettuare la diagnosi molecolare degli isolati di *M. chimaera*, la raccolta dei dati relativi alle diagnosi molecolari effettuate presso altri laboratori. Il laboratorio di riferimento è inoltre il centro di raccolta e conservazione dei ceppi clinici e ambientali. Per facilitare la raccolta e l'invio dei ceppi/campioni viene infatti raccomandato che ogni Regione individui un Laboratorio Regionale o Interregionale di riferimento. I laboratori che abbiano identificato *M. chimaera* da isolati umani o ambientali (incluse le apparecchiature in uso) devono inviare i ceppi/campioni al Laboratorio di Riferimento nazionale. Ciascun isolato/sequenza dovrà essere accompagnato da una relazione descrittiva del caso (come da Circolare Ministeriale del 9 gennaio 2019), dall'indicazione della data di raccolta del campione e della

tipologia del materiale biologico da cui è stato eseguito l'isolamento e, ovviamente per i soli isolati, il metodo di laboratorio utilizzato per l'identificazione di specie. Qualora il laboratorio abbia sequenziato il genoma del ceppo con metodica WGS, utilizzando il sistema NGS Illumina o Ion Torrent, ThermoFisher Scientific, può alternativamente, inviare i dati grezzi delle sequenze ottenute.

Come ricordato nella circolare del 9 gennaio 2019, le infezioni da micobatteri non tubercolari, incluso il *M. chimaera*, sono già soggette a notifica obbligatoria ai sensi del Decreto Ministeriale 15 dicembre 1990, secondo le modalità previste per la Classe terza. In aggiunta, i casi di infezione da *M. chimaera* in pazienti sottoposti a circolazione extra-corporea con impiego di HCU devono essere segnalati immediatamente al Ministero della Salute, inviando una relazione descrittiva del caso, relazione che dovrà accompagnare anche il campione clinico destinato al Laboratorio Nazionale di Riferimento. La relazione, anche preliminare, dovrà includere gli interventi di prevenzione e controllo messi in atto a livello locale/regionale e dovrà essere aggiornata quando ulteriori informazioni si rendano disponibili. In particolare, per i casi inizialmente classificati come "possibili" o "probabili" si richiede l'aggiornamento della segnalazione entro 7 giorni dal risultato degli accertamenti microbiologici eventualmente effettuati, al fine di poterli riclassificare come "confermati" o "esclusi". Inoltre, qualora si sospetti che un dispositivo HCU sia stato contaminato da *M. chimaera* o siano identificati casi coerenti con le definizioni di caso probabile o confermato, deve essere data tempestiva comunicazione al Ministero della Salute.

Beatrice Casini