

# VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL SISTEMA HGGBSR -HIBERGENE NELLO SCREENING DI GBS IN GRAVIDANZA

Cancian Giulia<sup>2</sup>, Magnis Ilaria<sup>2</sup>, Falanga Emanuele<sup>1</sup>, Arzese Alessandra<sup>1,2</sup>

1. SOC Microbiologia, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata di UDINE, 33100 UDINE

2. Dipartimento di Area Medica – DAME -, Università degli Studi di Udine, 33100 UDINE

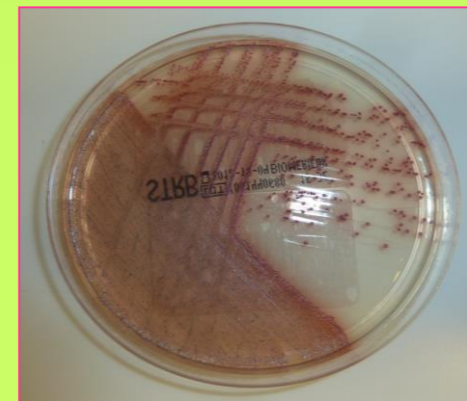
**INTRODUZIONE** - Lo streptococco beta-emolitico di gruppo B (GBS) è noto come responsabile di gravi infezioni nel neonato, con accertata colonizzazione in circa metà dei casi per trasmissione verticale al momento del parto; in assenza di profilassi antibiotica fino al 2% dei nati sviluppa infezioni gravi (meningite, sepsi, polmonite, infezioni focali dell'apparato osteo-articolare), entro 24h dal parto sino a 90 giorni di vita.

Il tasso di colonizzazione in Europa tra le donne in gravidanza varia dal 4 ad oltre il 30%. Risulta essenziale quindi disporre in laboratorio di protocolli di screening rapidi ed efficaci, pari o superiori per parametri analitici e turn around time (TAT) all'esame colturale convenzionale per ricerca GBS da tampone vagino-rettale prelevato in 35°-37° settimana di gravidanza. Sono attualmente disponibili in commercio metodologie molecolari che per sensibilità e rapidità risultano più adeguate del colturale standard, anche in casi di emergenza (minaccia parto pre-termine, controllo peri-partum).

**Obiettivo dello studio** è stato quindi valutare l'applicabilità routinaria a tamponi vagino-rettali per ricerca GBS di metodologia molecolare LAMP (amplificazione isoterma con loop) del sistema HGGBSR (Hibergene Diagnostics Ltd., Dublino, IRL) verso standard colturale- semina su terreno cromogenico selettivo (Biomerieux), inoculo in Todd-Hewitt broth (Becton-Dickinson) e risemina dopo 24 h a 37°C CO2 5% da Todd-Hewitt su agar cromogenico.

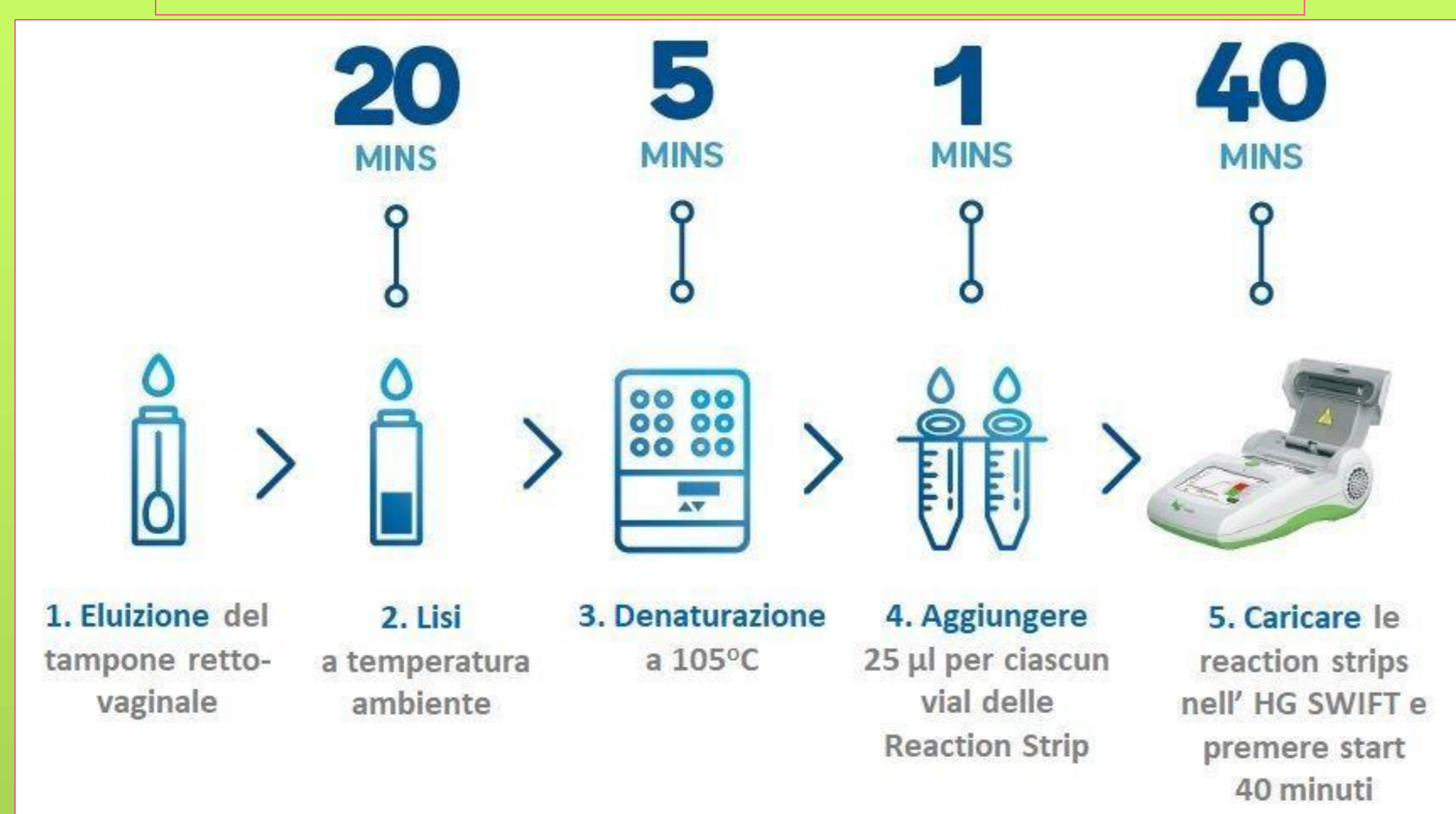
**MATERIALI E METODI** - Sono stati esaminati retrospettivamente 115 tamponi vagino-rettali, incluso un ceppo di controllo interno per GBS del circuito UK-NEQAS da pazienti afferenti all'ASUIUD nel periodo maggio-settembre 2017 e processati secondo lo standard colturale. Se l'esito del colturale risulta di dubbia interpretazione, viene aggiunto uno step di tipizzazione sierologica/identificazione biochimica (VITEK II, Biomerieux).

Esito dell'esame colturale su terreno cromogenico per GBS: colonie di colore selettivo rosso mattone intenso.



Agli stessi tamponi/brodi Todd-Hewitt conservati a - 20°C entro le 48h è stato applicato il sistema HGGBSR (Hibergene):  
 1° step: inoculo in vial con soluzione di lisi/estrazione DNA  
 2° step: denaturazione a 95°C  
 3° step: amplificazione isoterma con loop (LAMP) con report a visore dello strumento, o trasferimento in LIS

## WORKFLOW SISTEMA HGGBS - HIBERGENE



ASPETTI EPIDEMIOLOGICI DELLA POPOLAZIONE IN STUDIO		
PERIODO DI OSSERVAZIONE	MAGGIO - SETTEMBRE 2017	
ETA' MEDIA (anni ± SD)	32,71 ± 5,37	
N.° TOTALE INDAGINI PER GBS 35 - 37 settimana	1288	
N.° GRAVIDE GBS POSITIVE	198	15,37%
N.° INDAGINI IN CORSO DI MPP o MDA	67	
N.° GRAVIDE GBS POSITIVE in corso di MPP o MDA	14	20,89%

## RISULTATI

		RICERCA GBS COLTURALE			
		POSITIVI	NEGATIVI		
RICERCA GBS HGGBS	POSITIVI	58	3	TOTALI	61
	NEGATIVI	5	49		54
		TOTALI			
		63	52		

La comparazione tra procedura standard colturale e metodologia HGGBS-HIBERGENE ha evidenziato sensibilità = 92% e specificità = 94%.

Sono stati evidenziati 8 campioni con risultati discordanti, ai quali è stato applicato un sistema in real-time PCR esterno di conferma (RealCycler SAGA-UX, Progenie Molecular, E).

		RICERCA GBS RealCycler SAGA-UX - Progenie Molecular			
		POSITIVI	NEGATIVI		
RICERCA GBS HGGBS	POSITIVI	3	1	TOTALI	4
	NEGATIVI	1	3		4
		TOTALI			
		4	4		

Pertanto, entrambi i parametri di sensibilità e specificità di HGGBS sono risultati complessivamente pari a 98%.

Il TAT del sistema HGGBS è risultato circa 1 h (66 min) contro 24h per 88%, 48h per 8%, 72h per il 4% dei campioni con metodo colturale e saggi di conferma convenzionali

## CONCLUSIONI

Il sistema HGGBSR - HIBERGENE per parametri analitici e TAT appare adeguato all'applicazione routinaria di screening di carriers di GBS in gravidanza; in virtù del ristretto TAT, è applicabile con maggior efficacia diagnostica e profilassi mirata in casi critici come il parto pre-termine, o qualora vi sia necessità di screening peri-partum, anche in considerazione dell'apparente maggiore incidenza rilevabile in questi casi dalla casistica in studio.