



HAL
open science

Étude prospective comparative entre deux méthodes de dépistage du Streptocoque B chez la femme enceinte : sensibilité et spécificité de la culture antepartum versus PCR perpartum

Fayçal Khizar

► **To cite this version:**

Fayçal Khizar. Étude prospective comparative entre deux méthodes de dépistage du Streptocoque B chez la femme enceinte : sensibilité et spécificité de la culture antepartum versus PCR perpartum. Gynécologie et obstétrique. 2014. dumas-01025778

HAL Id: dumas-01025778

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01025778>

Submitted on 18 Jul 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



SICD1
Bibliothèques
de l'UJF et de Grenoble INP

**Université
Joseph Fourier** 
GRENoble
MEDECINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
U.F.R DE MEDECINE DE GRENOBLE
DEPARTEMENT DE MAIEUTIQUE

***Etude prospective comparative entre deux
méthodes de dépistage du Streptocoque B chez
la femme enceinte : sensibilité et spécificité de la
culture antepartum versus PCR perpartum***

Mémoire soutenu le 20 Juin 2014

Par KHIZAR Fayçal

Né le 5 Juillet 1989

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de Sage-Femme

2014

Remerciements

Je remercie les membres du jury :

M. Thierry Debillon, PU-PH en Réanimation Néonatale et Néonatalogie au CHU de Grenoble, Président du Jury ;

Mme. Chantal Seguin, Directrice du Département de Maïeutique de Grenoble ;

Mme. Camille Véran, Gynécologue Obstétricien au Groupement Hospitalier Mutualiste des Eaux Claires ;

M. Charles-Antoine Vergez, Sage-Femme au CHU de Grenoble ;

M. Lionel Di Marco, Sage-Femme Enseignant à l'Ecole de Sage-Femme de Grenoble.

Je remercie plus particulièrement,

M. Xavier Douysset, Assistant – Chef de clinique en Gynécologie-Obstétrique au
CHU de Grenoble ;

Mme. Maryline Biot-Defez, Interne en Gynécologie-Obstétrique au CHU de
Grenoble ;

M. Vivien Sutura, Ingénieur hospitalier en Bactériologie au CHU de Grenoble ;

M. Rémi Béranger, Sage-Femme, Doctorant au Centre Léon Bérard et au Centre
international de Recherche sur le Cancer ;

M. José Labarere, PU-PH en Epidémiologie au CHU de Grenoble ;

M. Fabrice Sergent, PU-PH en Gynécologie-Obstétrique au CHU de Grenoble ;

M. Lionel Di Marco, Sage-Femme Enseignant à l'Ecole de Sage-Femme de Grenoble ;

Mme Lisa Capdeville, Etudiante Sage-Femme à l'Ecole de Sage-Femme de Grenoble ;

L'équipe du Département de Maïeutique de Grenoble.

Je remercie plus personnellement,

Mes parents et ma famille ;

Mes amis ;

L'équipe obstétricale de l'Hôpital Couple-Enfant de Grenoble ;

Le Bureau de l'Anesf 2012-2013 ;

La promotion 2010-2014 de l'Ecole de Sage-Femme de Grenoble.

« Nous avons des idées arrêtées dès lors que nous cessons de réfléchir. »

Ernest Renan, Philosophe Français du XIXème siècle.

Table des matières

Abréviation.....	1
Introduction	2
Matériel et méthodes	4
Population.....	4
Méthode de réalisation des techniques	4
Analyse statistique.....	6
Résultats	7
Population.....	7
Performance du test de culture antepartum	11
Performance du test de RT-PCR	12
Comparaison des performances de la culture antepartum vs RT-PCR	13
Discussion	15
Conclusion.....	18
Bibliographie.....	19
Annexes.....	25
Annexe I : Fiche de renseignement protocole GeneXpert	25
Annexe II : Illustration des techniques employées dans la culture du SGB	26
Annexe III : Illustration du matériel employé dans la RT-PCR du SGB.....	27
Résumé.....	28

Abréviation

SGB : Streptocoque du Groupe B

ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé

SA : Semaine d'aménorrhée

RT-PCR : Polymerase Chain Reaction en temps réel

IC95 : Intervalle de confiance à 95%

Se : Sensibilité. La sensibilité d'un test est la probabilité qu'un test soit positif lorsque le patient est réellement positif.

Sp : Spécificité. La spécificité d'un test est la probabilité qu'un test soit négatif lorsque le patient est réellement négatif.

Introduction

Le *Streptococcus agalactiae* du groupe B est un germe fréquemment retrouvé dans le tube digestif à partir duquel s'effectue la colonisation des voies génitales chez la femme enceinte [1,2]. La colonisation maternelle des populations nord-américaines et européennes varie entre 5 et 40% [3-6], la prévalence est estimée à 10% en France [7].

Les complications de la colonisation maternelle sont graves : menace d'accouchement prématuré, chorioamniotite, infection néonatale (méningite, pneumonie, sepsis) [8].

L'infection à Streptocoque B représente 30 à 40% des infections bactériennes néonatales [9]. Lorsqu'il y a une colonisation maternelle à la naissance, 70 à 75% des nouveau-nés seront colonisés, et 1 à 2% de ces nouveau-nés colonisés développeront une infection néonatale à Streptocoque B [10-11].

Des recommandations pour la prévention des infections néonatales à SGB ont été publiées en 2001 par l'ANAES [7]. Ainsi il est recommandé de réaliser un dépistage systématique entre 34 et 38 semaines d'aménorrhée par une technique de culture sur gélose au sang, dont le résultat est rendu entre 18 et 72 heures. Dans le cas où le résultat est positif, il est recommandé de réaliser une antibioprofylaxie antibactérienne durant le travail. La même antibioprofylaxie est réalisée sur facteur de risque materno-fœtal (prématurité, hyperthermie maternelle, ou rupture des membranes supérieure à 12 heures). Ceci a permis de diminuer l'incidence de ces infections à 0,23 pour 1000 naissances vivantes en 2006 [12].

Néanmoins, les accouchements prématurés, représentant un risque plus élevé d'infection néonatale à SGB, ne peuvent entrer dans le cadre de ce dépistage systématique. Par ailleurs, il existe des femmes enceintes qui n'ont pas bénéficié de ce dépistage et dont le statut de colonisation au SGB est inconnu au moment du début du travail. Ces patientes échappant au dépistage sont estimées à 8-15% des parturientes [13-15]. La limite de ce dépistage, se situe dans la variabilité de la colonisation au cours de la grossesse : 30 à 40% des femmes colonisées en début de grossesse le restent de façon stable jusqu'à l'accouchement [2].

Soixante et un pourcents des nouveau-nés à terme présentant une infection à SGB étaient issus d'une grossesse avec un résultat négatif pour la culture du SGB [14]. Selon la littérature, il y a une faible corrélation entre le dépistage systématique et la colonisation perpartum avec une valeur prédictive positive retrouvée entre 60 et 85% [5, 16-18].

Les faux positifs et faux négatifs conduisent ainsi à un mésusage des antibiotiques, avec l'absence d'administration alors qu'il y existe une colonisation maternelle, ne luttant pas contre la colonisation néonatale ; mais aussi l'usage de l'antibioprophylaxie en l'absence de colonisation maternelle. L'antibioprophylaxie étant un traitement, il existe des effets iatrogènes comme les rashes cutanéomuqueux, les chocs anaphylactiques, ou encore la genèse de résistances bactériennes [19-22]. Les chocs anaphylactiques ont une incidence d'environ 0,01% et leur apparition met en danger la vie maternelle et fœtale [20]. Ces éléments sont d'autant plus importants lorsque l'antibioprophylaxie a été réalisée à tort.

C'est dans ce contexte que l'on voit émerger la technique de détection du SGB par *Polymerase Chain Reaction* en temps réel (RT-PCR) permettant d'obtenir des résultats en environ deux heures [35]. Ainsi, il serait possible de s'affranchir de la variabilité de la colonisation maternelle, et de l'échappement des patientes, afin de réaliser l'antibioprophylaxie au plus près du résultat du test, en début de travail.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la performance diagnostique des deux techniques de dépistage que sont la culture entre 34-38SA et la RT-PCR en perpartum. Chaque technique sera comparée à la culture perpartum (gold standard) afin d'en calculer sa sensibilité et sa spécificité. Puis les sensibilités et les spécificités seront comparées entre elles. Les deux techniques de dépistage auront la même performance diagnostique si leurs sensibilités et leurs spécificités ne sont pas statistiquement significatives (H0).

Matériel et méthodes

Population

Cette étude prospective monocentrique de performance diagnostique a été réalisée dans la maternité de type 3 du CHU de Grenoble entre le 19 septembre 2012 et le 18 Octobre 2012, selon les recommandations STARD [23] (Standards for the reporting of diagnostic accuracy studies).

La population source comprend toutes les patientes ayant accouché au CHU de Grenoble entre le 19 septembre 2012 et le 18 Octobre 2012.

Les critères de non inclusion sont : l'absence de passage par l'accueil des urgences obstétricales (mutation d'un autre service, césarienne prophylactique), la prise en charge rapide (travail avancé, urgence maternelle ou fœtale), la réalisation d'une antibiothérapie dans la semaine précédant le prélèvement, l'accouchement sous X, l'interruption médicale de grossesse, l'impossibilité à obtenir le consentement de la patiente ou son refus, la non réception des prélèvements par le laboratoire.

Les critères d'exclusion sont l'état de colonisation antepartum au SGB inconnu, la culture antepartum réalisée en dehors de 34-38SA, le manque d'information. Une fiche d'information (Annexe I) est remplie en amont du prélèvement pour la RT-PCR et pour la culture perpartum, l'ensemble est envoyé au laboratoire. Les données ont été complétées via le dossier médical informatisé CristalNet™.

Méthode de réalisation des techniques

Les patientes font l'objet de deux prélèvements : le premier entre 34-38SA et le second en début de travail.

Les prélèvements sont uniquement vaginaux et ont été effectués par la sage-femme ou l'obstétricien en consultation entre 34-38SA et à l'accueil des urgences obstétricales en début de travail. Ils concernent la culture antepartum lorsqu'ils sont réalisés entre 34-38SA.

Lorsqu'ils sont réalisés en perpartum, ils concernent la RT-PCR et la culture perpartum, et sont réalisés en même temps.

Les écouvillons utilisés pour la culture antepartum sont des écouvillons à tige simple de bois (avec milieu stérile - 150C, Copan™) transportés à température ambiante au laboratoire de bactériologie lorsqu'ils ont été réalisés au CHU de Grenoble. Les modalités de prélèvement mises en œuvre dans les laboratoires de ville, autres que celui de bactériologie du CHU de Grenoble, ne sont pas connues.

Les écouvillons utilisés pour la RT-PCR et la culture perpartum sont des écouvillons à double tige en plastique (avec un milieu liquide Amies, Copan™) et transportés à température ambiante au laboratoire de bactériologie du CHU de Grenoble. Un écouvillon était destiné à la RT-PCR, l'autre était destiné à la culture.

Technique de réalisation de la culture

La technique de dépistage du SGB par culture, entre 34 et 38SA, ainsi que celle réalisée en perpartum, et constituant la technique de contrôle (gold standard) ont été réalisées en utilisant 3 milieux solides : Chocolate-PolyViteX (PVX, BioMérieux®, Marcy l'Etoile, France), Columbia agar avec une supplémentation de 5% de sang de mouton (COS, BioMérieux®) et Chocolate-PolyViteX supplémenté avec un antibactérien et antifongique sélectif pour *Neisseria gonorrhoeae* & *Neisseria meningitidis* (VCA3, BioMérieux®). Illustration en Annexe II.

Les milieux de cultures ont incubé à 37°C pendant 72 heures en atmosphère anaérobie supplémentée avec 5% de CO₂. Les milieux de culture ont été vérifiés chaque 24 heures par les biologistes afin de détecter les germes pathogènes des infections génitales et materno-fœtales. Concernant le SGB, les colonies suspectes (présentant une β-hémolyse associée à une coloration jaune) ont été identifiées par technique automatique biochimique (Vitek® card, BioMérieux®) et par immunologie, via la détection des antigènes spécifiques des groupes de Lancefield par technique d'agglutination de particules de latex sensibilisées (Pastorex™ Strep, Bio-Rad®, Marnes-les-Coquette, France).

La sensibilité aux antibiotiques de ces souches est déterminée en milieux liquides par techniques automatisées (Carte AST-P631, Vitek, BioMérieux®).

La même technique a été réalisée pour les cultures perpartum et antepartum, quand ces dernières ont été réalisées au CHU de Grenoble. Les techniques mises en œuvre dans les laboratoires de ville, autres que celui de bactériologie du CHU de Grenoble, ne sont pas connues. Le délai pour l'obtention des résultats de culture varie entre 18 et 72 heures.

Les cultures sont réalisées et interprétées indépendamment des techniques de RT-PCR.

Technique de réalisation de la RT-PCR

La RT-PCR perpartum a été réalisée via le système GeneXpert Dx® (Cepheid®), intégrant la totalité du procédé d'extraction, d'amplification et de détection de l'ADN de manière automatisée.

La séquence cible employée dans la cartouche GBS Xpert ® (Cepheid®) était une région 3'OH adjacente de la région du gène *cfb* du SGB. Le procédé était également borné par plusieurs séquences de contrôle réalisées à chaque nouveau test : une séquence de contrôle de la sonde avant de démarrer l'étape de PCR par mesure du signal de fluorescence ; une séquence de contrôle du traitement de l'échantillon (utilisant *B. globigii* sous forme de bille de réactif) permettant de valider l'extraction et l'amplification de l'ADN et une séquence de contrôle interne permettant d'évaluer la présence d'inhibiteur de la réaction. Les données sont analysées en temps réel par l'ordinateur et retransmettent les courbes de fluorescence. Le résultat est négatif si l'on obtient zéro cycle seuil ou plus de 42 cycles seuils. Le résultat est positif entre ces bornes. Illustration en Annexe III.

Analyse statistique

Les variables quantitatives continues ont été décrites par la moyenne.

Les variables qualitatives l'ont été par la fréquence et le pourcentage.

Nous avons utilisé le test-T de Student pour comparer les moyennes.

Nous avons utilisé le test du χ^2 , éventuellement remplacé par la probabilité exacte de Fisher (en cas d'effectif attendus inférieur à 5), pour comparer les variables qualitatives.

Nous avons utilisé le test de McNemar avec correction continue de Yates, pour comparer les sensibilités et les spécificités des tests diagnostiques. Le seuil de signification statistique retenu était de 0,05. Les intervalles de confiance ont été calculés à 95% selon la méthode de Wilson. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Statview®.

Résultats

Population

Nous avons étudié prospectivement 124 femmes enceintes pendant leurs prises en charge en salle de naissance dans la période du 19 Septembre 2012 au 18 Octobre 2012 au CHU de Grenoble.

Le diagramme d'inclusion en Figure-1 présente la sélection de la population d'étude. 248 patientes ont accouché durant la période d'étude.

Quatre-vingts dix patientes n'ont pas été incluses pour les motifs suivant : 22 patientes ont fait l'objet d'une mutation du service de Grossesse à Haut-Risque à la salle d'accouchement ou au bloc opératoire (non passage par l'accueil des urgences obstétricales), 17 patientes pour césarienne prophylactique (non passage par l'accueil des urgences obstétricales), 16 patientes ont eu un travail avancé à l'arrivée à l'accueil des urgences obstétricales (prise en charge rapide), 4 patientes faisait l'objet d'une urgence materno-fœtale (prise en charge rapide), deux patientes ont reçu une antibiothérapie dans la semaine précédant leurs venues, 2 patientes ont été prélevées mais le prélèvement n'a pas été réceptionné par le laboratoire, une patiente a accouché sous X, une patiente a eu une interruption médicale de grossesse, une patiente ne parlait pas français (impossibilité à obtenir le consentement), et pour 24 patientes le motif de non inclusion n'a pas été retrouvé. Cent cinquante-huit patientes étaient éligibles.

Trente-quatre patientes ont été exclues. Onze ont été exclues pour colonisation antepartum au SGB inconnue, 22 ont été exclues pour statut antepartum SGB déterminé en dehors des périodes de recommandation de l'ANAES 2001, et une patiente a été exclue pour manque d'information sur la période de culture antepartum au SGB.

Une culture perpartum et une RT-PCR ont été réalisées sur les prélèvements des 124 patientes.

Les caractéristiques de la population d'étude sont présentées dans le Tableau-I.

Figure-1 : Diagramme d'inclusion

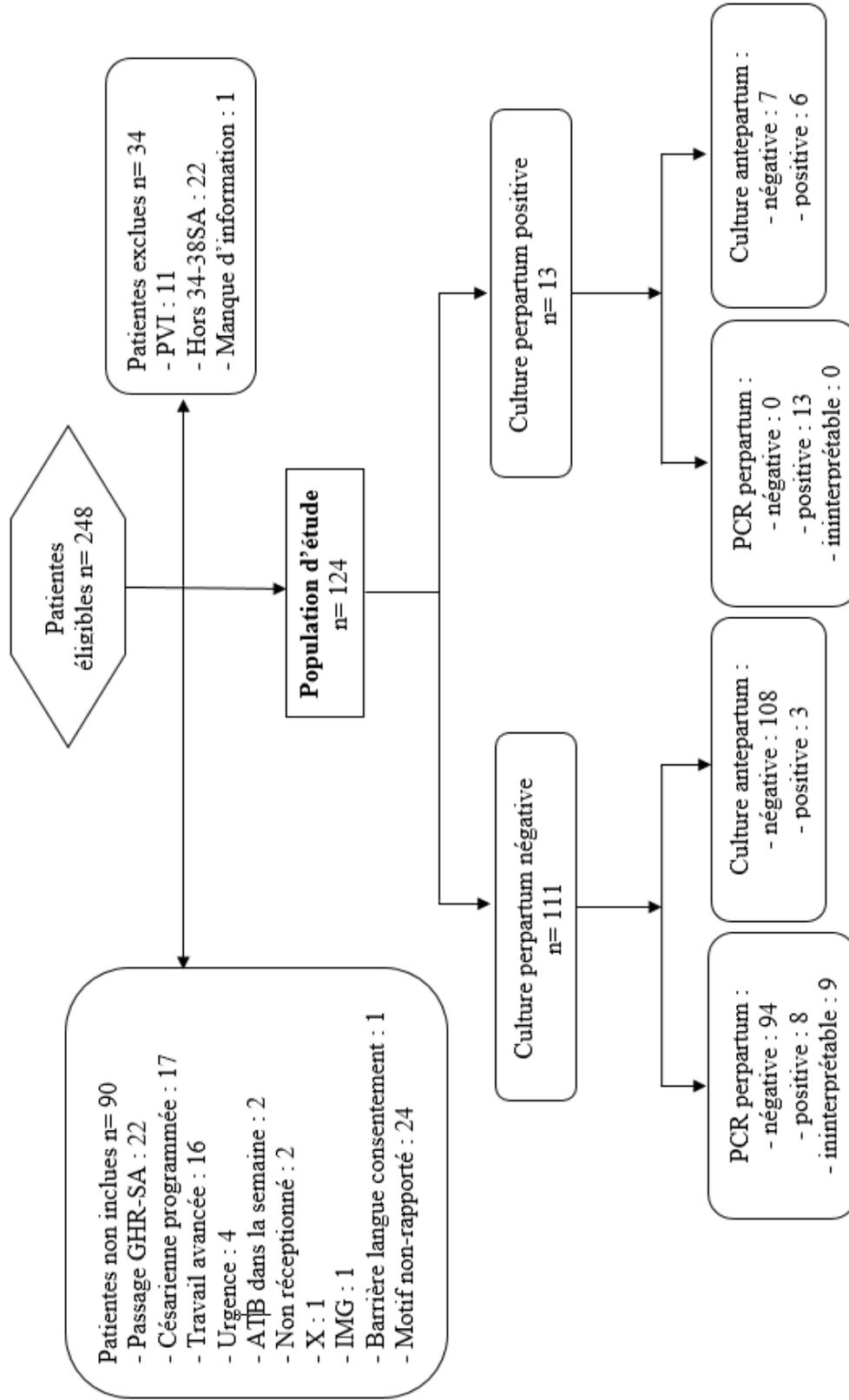


Tableau-I : Caractéristique de la population d'étude :

Paramètres	Valeur N = 124
Âge, années, m (σ) :	29,45 (5,46)
Âge gestationnel, en SA, m (σ) :	39,76 (1,17)
Parité, n (%) :	60 (48,38)
- Primipare	64 (51,62)
- Multipare	
Voie d'accouchement, n (%) :	107 (86,29)
- Voie basse	17 (13,71)
- Césarienne	
Accouchement <37SA, n (%) :	1 (0,806)
Grossesse gémellaire, n (%) :	4 (3,226)

Légende : N : effectif, m : moyenne, σ : écart-type, n : nombre, % : pourcentage.

Les patientes non-colonisées et colonisées en salle d'accouchement (statut déterminé par le gold standard), ne présentent pas de différences significatives sur leurs âges, âges gestationnels, parités, et voies d'accouchements (Tableau-II).

Tableau-II : Comparaison des patientes non-colonisées vs colonisées :

Paramètres	Colonisation en SA	Colonisation	P-value
	négative N = 111	en SA positive N = 13	
Âge, années, m (σ) :	29,27 (5,59)	31,00 (4,04)	0,28 (NS)
Âge gestationnel, en SA, m (σ) :	39,76 (1,08)	39,75 (1,81)	0,98 (NS)
Parité, n (%) :	55 (49,55)	5 (38,46)	0,56 (NS)
- Primipare	56 (50,45)	8 (61,54)	
- Multipare			
Voie d'accouchement, n (%) :	96 (86,49)	11 (84,61)	0,69 (NS)
- Voie basse	15 (13,51)	2 (15,39)	
- Césarienne			

Légende : N : effectif, m : moyenne, σ : écart-type, n : nombre, % : pourcentage, NS : Non significatif.

Performance du test de culture antepartum

Le Tableau-III présente la comparaison des résultats de culture antepartum et perpartum. La prévalence de la colonisation à SGB dépistée par culture antepartum est de 7,26%. La sensibilité est de 46,15% [IC95 : 23,21-70,86], la spécificité est de 97,30% [IC95% : 92,35-99,08], la valeur prédictive positive est de 66,67% [IC95% : 35,42-87,94], et la valeur prédictive négative est de 93,91% [IC95 : 87,86-97,52].

Tableau III : Tableau de contingence culture antepartum et culture perpartum :

Culture antepartum	Culture perpartum		Total
	Négative	Positive	
Négative	108	7	115
Positive	3	6	9
Total	111	13	124

Performance du test de RT-PCR

Le Tableau-IV présente la comparaison des résultats de RT-PCR et de culture perpartum. La prévalence de la colonisation à SGB dépistée en salle d'accouchement via la culture perpartum (gold standard) est de 10,48%. Les résultats ininterprétables dus à un message système de type « erreur » sont de 1,61%, et correspondaient à une présence excessive de sécrétions pour les deux échantillons concernés. Les résultats ininterprétables dus à un message système de type « invalide » sont de 5,65%, et correspondaient à une inhibition de la réaction pour six échantillons (85,71%), et à une rupture du réactif pour un échantillon (14,29%).

Ceci définit un rendement de la RT-PCR de 92,74% [IC95 : 86,67-96,63].

Ces échantillons ont été exclus du calcul de sensibilité, de spécificité, de valeur prédictive positive et négative.

La sensibilité est de 100% [IC95 : 77,19-100], la spécificité est de 92,16% [IC95% : 85,28-95,97], la valeur prédictive positive est de 61,90% [IC95% : 40,88-79,25], et la valeur prédictive négative est de 100% [IC95 : 96,07-100].

Tableau IV : Tableau de contingence RT-PCR perpartum et culture perpartum :

RT-PCR perpartum	Culture perpartum		
	Négative	Positive	Total
Négative	94	0	94
Positive	8	13	21
Subtotal	102	13	115
Erreur	2	0	2
Invalide	7	0	7
Total	111	13	124

Comparaison des performances de la culture antepartum vs RT-PCR

Le Tableau-V présente la comparaison statistique de la sensibilité et la spécificité des deux tests diagnostiques à l'aide du test de McNemar avec correction de continuité selon Yates pour rendre les résultats comparables [24].

La spécificité de la culture antepartum varie par rapport au résultat du Tableau-II puisque les patientes dont les résultats étaient ininterprétables ont été exclues afin de rendre les deux échantillons comparables. Pour rappel la spécificité de la culture antepartum avant exclusion était de 97,30% [IC95% : 92,35-99,08], après exclusion elle est de 97,06 [IC95% : 91,71-98,99].

Il existe une différence statistiquement significative entre les sensibilités de la RT-PCR et de la culture antepartum (100% vs 46,15%, $p = 0,023$), mais aucune différence statistiquement significative n'est retrouvée entre les spécificités de ces deux tests (92,16% vs 97,06%, $p = 0,182$).

Tableau-V : Sensibilité et Spécificité comparée de la RT-PCR et de la culture antepartum

Test	Nombre de test				Mesure de performance	
	Vrai Positif	Faux Négatif	Vrai Négatif	Faux Positif	Sensibilité	Spécificité
RT- PCR	13	0	94	8	100 (77,19-100)	92,16 (85,28-95,97)
Culture Antepartum	6	7	99	3	46,15 (23,24-70,86)	97,06 (91,71-98,99)
P-value					p = 0,023	p = 0,182

Discussion

Les critères d'exclusion relatifs à la culture antepartum selon les recommandations ont permis d'éviter des biais. En effet, des cultures antepartum réalisées après 38SA et proches de la date d'accouchement, ou avant 34SA et donc très éloignées, auraient augmenté ou diminué artificiellement la sensibilité et la spécificité du test. La réalisation d'une antibiothérapie une semaine avant l'accouchement était également un critère de non intégration dans la population éligible puisque cela aurait pu influencer les résultats de la culture antepartum en faisant intervenir une caractéristique susceptible de modifier le résultat, mais aucune des 124 patientes n'étaient concernées.

La méthode de réalisation des techniques peut induire un biais notamment en ce qui concerne la culture antepartum. Même si la méthode était maîtrisée pour la RT-PCR et pour la culture perpartum, la culture antepartum pouvait faire l'objet de divergences. En effet après interrogation de certains laboratoires de ville, l'écouvillon permettant la réalisation de la culture antepartum n'est pas toujours identique à celui utilisé lorsqu'il a été réalisé au CHU de Grenoble. Certains écouvillons (comme celui employé au CHU de Grenoble) sont stériles et sans milieu de culture, alors que d'autres laboratoires emploient des milieux de cultures de Stuart favorisant le maintien de la prolifération bactérienne. Par ailleurs, le milieu de Stuart utilisé en antepartum dans certains laboratoires est également différent de celui utilisé pour la culture perpartum sur tous les échantillons : le milieu Amies. Celui-ci est une modification du milieu de Stuart permettant d'augmenter la survivabilité des bactéries et donc possiblement de modifier les résultats en défaveur de la culture antepartum [25]. Par ailleurs, il existe une variabilité entre les opérateurs vis-à-vis de la technique de prélèvement, en effet la consigne était de prélever comme indiqué dans les recommandations de 2001, c'est-à-dire que le prélèvement intéresse la moitié inférieure des parois vaginales jusqu'au vestibule et à la vulve. Mais aucun contrôle n'a été réalisé et ceci constitue un nouveau biais.

Le rendement de la RT-PCR est de 92,74% [IC95 : 86,67-96,63], El Helali [26] retrouve un rendement à 89,2% et expose le fait que des opérateurs entraînés peuvent améliorer ce résultat. C'est ainsi que Poncelet-Jasserand [27] justifie son rendement à 99,11%. En effet les deux échantillons « erreur » ainsi que les six échantillons « invalide » auraient pu être évités par évacuation de l'excès de sécrétions.

Ceci nécessite l'apprentissage de l'utilisation du système de de RT-PCR automatisé, dont l'équipe de biologie n'a pu bénéficier.

Nous retrouvons une différence statistiquement significative sur la sensibilité entre la culture antepartum et la RT-PCR (46,15% vs 100%, $p = 0,023$), ainsi nous rejetons l'hypothèse H_0 au profit de l'hypothèse H_1 : la RT-PCR présente une meilleure sensibilité que la culture antepartum, à spécificité égale, au risque α de 5%. Dans la méta-analyse de Honest [28], les taux de sensibilité et de spécificité de la RT-PCR sont relativement homogènes et comparables à notre étude (Sensibilité variant entre 94-100% et spécificité variant entre 90-100%). La sensibilité et la spécificité de nos cultures antepartum se rapprochent de celles d'autres études comme Rallu [29] qui retrouve 42,3% de sensibilité et 100% de spécificité [27, 30, 31]. Néanmoins comme exposé plus haut, nous ne pouvons pas infirmer le fait que cette différence statistiquement significative n'est pas due à la différence de milieu de transport.

Que signifie cette sensibilité significative pour le praticien ?

La sensibilité consiste en le fait que le test soit positif lorsque la patiente est colonisée. Par extension il correspond au fait que la patiente sera traitée par antibioprofylaxie lorsqu'elle est colonisée. Aussi, nous avons donc 46,15% des patientes colonisées qui seront traitées lorsqu'elles sont colonisées sur la base de la culture antepartum, alors que nous avons 100% des colonisées qui seront traitées dans le cadre d'un dépistage par RT-PCR. *A contrario* nous auront un taux comparable de patientes non-traitées lorsqu'elles ne sont pas colonisées.

Les faux positifs de la RT-PCR peuvent s'expliquer par le principe même de la technique et par le mécanisme de mort de la bactérie. En effet la destruction de la bactérie entraîne l'extériorisation de son matériel génétique, et potentiellement des séquences cibles de la RT-PCR, qui peuvent être recueillies par écouvillonnage. Ainsi cette séquence peut-être amplifiée et donner un résultat positif là où la culture perpartum ne retrouvera aucune colonie bactérienne car aucune multiplication cellulaire n'aura eu lieu. D'autres techniques basées sur la RT-PCR mais associant des milieux de cultures différents ou des séquences cibles différentes sont en études [29].

Il n'en demeure pas moins que, si nous avons pris nos décisions d'instiller une antibioprofylaxie auprès de nos patientes sur la base du résultat de la RT-PCR, nous aurions donc traité 100% des patientes colonisées à SGB.

On note cependant qu'aucun enfant de cet étude n'a été atteint d'infection materno-fœtale à SGB.

Il est nécessaire de compiler l'ensemble de ces études afin de conforter cette plus-value diagnostique confirmée actuellement sur de faibles échantillons de population. D'autant plus qu'une méta-analyse a déjà été effectuée mais celle-ci tient compte des études effectuées avant 2006 [28]. De plus des éléments majeurs et annexes sont également à discuter, autres que la performance diagnostique et jouant aussi sur la faisabilité de la RT-PCR dans la pratique clinique de routine.

Le coût est un élément majeur de la médecine moderne. Une culture antepartum coûte 16,20€ (cotation B60) si la demande est spécifiquement orientée sur la recherche du streptocoque B. De plus la prescription avec réalisation en ville répond à un acte de prélèvement facturé à 7,11€ (cotation KB3) [7]. Une RT-PCR à SGB est estimée à 69,40€/patiente [27] et le module atteint les 20 000€. Le tarif d'une prise en charge pour infection materno-fœtale par SGB chez un enfant né à terme est de 3241€ de base avec un forfait journalier de 308€ (DIM du CHU de Grenoble) et ne tiens pas compte de la prise en charge des séquelles liées aux méningites et aux septicémies. Certaines études montrent que la prise en charge en terme économique, tenant compte du coût des risques de sepsis évités (coût d'hospitalisation en néonatalogie et éventuelles séquelles) serait neutre ou en faveur de la RT-PCR [27,32-34].

Un élément important reste la disponibilité du matériel pour assurer la réalisation du test par RT-PCR. La réalisation de la RT-PCR peut-elle, être réalisée et interprétée par les sages-femmes et les obstétriciens en salle de naissance, ou faire l'objet d'un traitement par l'équipe du laboratoire de nuit. En effet, pour permettre de valoriser cette performance sur le dépistage, le test doit être réalisé en temps réel et non sur les horaires ouvrés, incompatibles avec les pratiques de salle de naissance.

Si on reprend les critères définis par l'OMS [36] auquel doit répondre un test de dépistage, nous retrouvons bien la gravité de l'infection materno-fœtale à SGB, dont la physiopathologie est connue, ainsi que l'existence d'un traitement efficace.

La différence réside dans le fait que la culture antepartum répondait bien à une avancée dans le dépistage du SGB en phase où la prévention est possible (avant l'accouchement), mais que sa réalisation entre 34-38SA laisse place à une incertitude (à cause de son long temps de rendu de résultat, de la variabilité de la colonisation qui peut intervenir, et de la date incertaine d'accouchement). Incertitude que la RT-PCR peut aujourd'hui résoudre par son faible temps de rendu de résultat et sa réalisation au moment de l'accouchement).

L'examen de dépistage par culture était efficace car il a montré sa valeur face à l'absence d'une technique de dépistage, mais la RT-PCR consiste en la réalisation d'un nouveau pas en avant dans ce dépistage. On note tout de même que le critère du coût de la recherche de la colonisation, qui ne doit pas être disproportionné par rapport à au coût global des soins médicaux doit continuer d'être étudié. Et que la RT-PCR doit être réalisable en continu, sans quoi son intérêt est perdu.

Enfin, les recommandations de l'HAS devront faire l'objet d'une révision afin d'améliorer les pratiques cliniques fonctions des techniques actuelles et de leurs faisabilités.

Conclusion

Le test de dépistage de colonisation à SGB à partir d'une RT-PCR perpartum a montré un avantage significatif en termes de sensibilité (100% vs 46,15%, $p=0,023$), et une équivalence en termes de spécificité diagnostique par rapport à la culture antepartum selon les recommandations en vigueur (92,16% vs 97,06%, $p=0,182$). La RT-PCR montre une amélioration diagnostique intéressante notamment dans l'administration d'une antibioprofylaxie plus ciblée. Elle doit faire l'objet d'études sur la faisabilité en pratique quotidienne, ainsi que d'autres études médico-économiques, mais ces résultats pourraient permettre d'inclure cette technique de dépistage dans de nouvelles recommandations, et ainsi d'améliorer la prise en charge des patientes et des nouveau-nés afin de diminuer encore plus l'incidence des infections materno-fœtales à Streptocoque B, dont les conséquences sont graves (septicémie, méningite).

Bibliographie

1. **Persson K.M.S., et al.**
Faecal carriage of group B streptococci
Eur J Clin Microbiol. 1986 Apr;5(2):156-9
2. **Dillon H.C., et al.**
Anorectal and vaginal carriage of streptococci during pregnancy.
J Infect Dis. 1982 Jun;145(6):794-9.
3. **Dillon H.C., et al.**
Group B streptococcal carriage and disease: a 6-year prospective study.
J Pediatr. 1987 Jan;110(1):31-6.
4. **Baker C.J.**
Groupe B streptococcal infections.
Clin Perinatol. 1997 Mar;24(1):59-70.
5. **Lejeune C., et al.**
Conduite à tenir face à une colonisation materno-infantile à streptocoques du groupe B.
Médecine thérapeutique / Pédiatrie .1999; 2(1):47-54.
6. **Barcaite E., et al.**
Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries.
Acta Obstet Gynecol Scand. 2008;87(3):260-71.
7. **Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé**
Prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce.
Recommandation pour la pratique clinique. 2001.

8. Schrag SJ., *et al.*

A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates.

N Engl J Med. 2002 Jul 25;347(4):233-9.

9. Lejeune C., *et al.*

Incidence des infections néonatales bactériennes en soin intensifs et/ou unités de néonatalogie.

Pediatric. 1986 Mar;41(2):95-104.

10. Canadian Paediatric Society

The prevention of early-onset group B streptococcal infections in the newborn, consensus statement

Can J Infect Dis. 1994 Nov-Dec; 5(6): 251–256.

11. Boyer KM., *et al.*

Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. I. Epidemiologic rationale.

J Infect Dis. 1983 Nov;148(5):795-801.

12. Jourdan-Da Silva N., *et al.*

Infections néonatales à streptocoque B en France données d'incidence de 1997 à 2006 et pratique de prévention en maternité.

InVS BEH du 8 Avril 2008 n°14-15.

13. Puopolo K., *et al.*

Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening.

Pediatrics. 2005 May;115(5):1240-6.

14. Van Dyke M.K., *et al.*

Evaluation of universal antenatal screening for group B Streptococcus.

N Engl J Med. 2009 Jun 18;360(25):2626-36.

15. Thibaudon Baveux C., et al.

Prevention of early-onset group B Streptococcus neonatal diseases. The 2005 experience of the Lille university health center.

J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2008 Jun;37(4):392-9

16. Goodman JR., et al.

Longitudinal study of group B Streptococcus carriage in pregnancy.

Infect Dis Obstet Gynecol. 1997;5(3):237-43.

17. Hansern SM., et al.

Dynamics of streptococcus agalactiae colonization in women during and after pregnancy and in their infants.

J Clin Microbiol. 2004 Jan;42(1):83-9.

18. Yancey M., et al.

The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery.

Obstet Gynecol. 1996 Nov;88(5):811-5.

19. Dunn AB., et al.

Anaphylaxis in labor secondary to prophylaxis against group B Streptococcus. A case report.

J Reprod Med. 1999 Apr;44(4):381-4.

20. Berthier A., et al.

Antibiotiques en fin de grossesse. À propos de cinq réactions allergiques sévères.

Gynecol Obstet Fertil. 2007 May;35(5):464-72.

21. Baltimore RS., et al.

Early Onset Neonatal Sepsis in the era of Group B Streptococcal prevention.

Pediatrics. 2001 Nov;108(5):1094-8.

22. Reisner DP., et al.

Performance of a group B streptococcal prophylaxis protocol combining high-risk treatment and low-risk screening.

Am J Obstet Gynecol. 2000 Jun;182(6):1335-43.

23. Coordinateur STARD, Nynke Smidt

Stard checklist, consulté le 5 Septembre 2013

Disponible sur : <http://www.stard-statement.org/>

24. Hawass NED., et al.

Comparing the sensitivities and specificities of two diagnostic procedures performed on the same group of patients.

Br J Radiol. 1997 Apr;70(832):360-6.

25. Copan®

Amies Media, consulté le 8 Mai 2014

Disponible sur : <http://www.copanusa.com/products/amies/>

26. El Helali N., et al.

Diagnostic accuracy of a rapid real-time polymerase chain reaction assay for universal intrapartum group B streptococcus screening.

Clin Infect Dis. 2009 Aug 1;49(3):417-23.

27. Poncelet-Jasserand E., et al.

Reduction of the use of antimicrobial drugs following in the vagina at delivery by real-time PCR assay.

BJOG. 2013 Aug;120(9):1098-108.

28. Honest H., et al.

Rapid tests for group B streptococcus colonization in laboring women : A systematic review.

Pediatrics. 2006 Apr;117(4):1055-66.

29. Rallu F., *et al.*

Sensitivities of antigen detection and PCR assays greatly increased compared to the standard culture method for screening for group B streptococcus carriage in pregnant women.

J Clin Microbiol. 2006 Mar;44(3):725-8.

30. Boyer KM., *et al.*

Selective intrapartum chemoprophylaxis of neonatal group B streptococcal early-onset disease. II. Predictive value of prenatal cultures.

J Infect Dis. 1983 Nov;148(5):802-9.

31. Schrag SJ.

The past and future of perinatal group B streptococcal disease prevention.

Clin Infect Dis. 2004 Oct 15;39(8):1136-8.

32. El Helali N., *et al.*

Cost and effectiveness of intrapartum group B streptococcus polymerase chain reaction screening for term deliveries.

Obstet Gynecol. 2012 Apr;119(4):822-9.

33. Haberland CA., *et al.*

Perinatal screening for group B streptococci: cost-benefit analysis of rapid polymerase chain reaction.

Pediatrics. 2002 Sep;110(3):471-80.

34. Akker-van Marle ME., *et al.*

Cost-effectiveness of different treatment strategies with intrapartum antibiotic prophylaxis to prevent early-onset group B streptococcal disease.

BJOG. 2005 Jun;112(6):820-6.

35. Cepheid®

Guide d'utilisation Xpert GBS®, Cepheid®, consulté le 7 septembre 2014.

Disponible sur :

http://www.diagnosticttechnology.com.au/persistent/catalogue_files/products/xpertgbs_pi.pdf

36. Wilson JMG., et al.

Principles and practice of screening for disease, WHO, 1968, Public health paper n°34

Disponible sur : http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37650/1/WHO_PHP_34.pdf

Annexes

Annexe I : Fiche de renseignement protocole GeneXpert

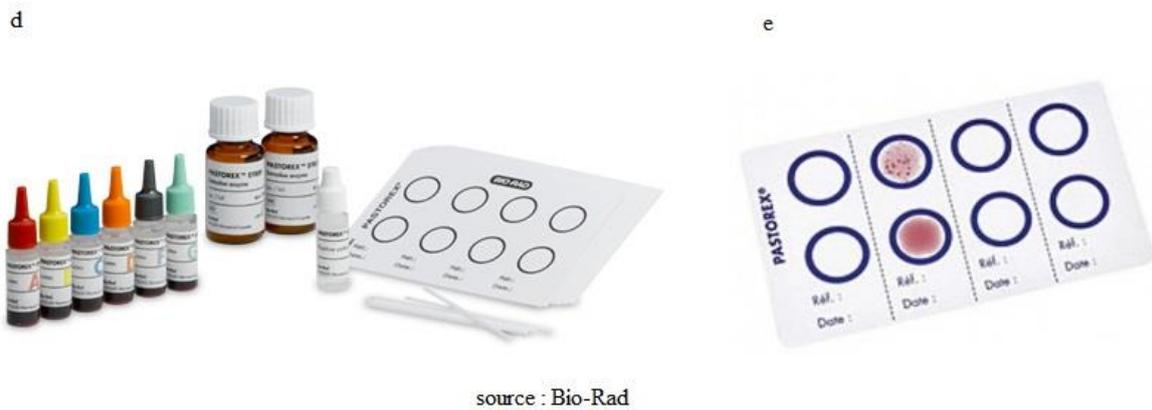
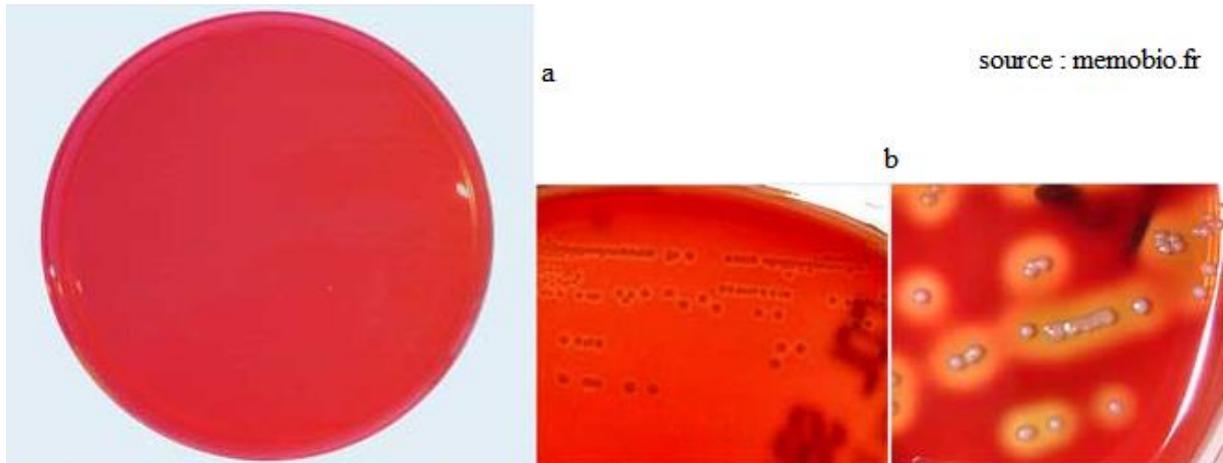
ANNEXE I

**FICHE DE RENSEIGNEMENTS PROTOCOLE GeneXpert :
Xpert GBS**

- Identité patient :
 - N° séjour :
 - Nom, Prénom :
 - Date de naissance : / /
 - Sexe :
- Informations générales *a priori* :
 - Service demandeur :
 - Date et heure d'entrée du patient à l'hôpital : le / / , à h
 - Date et heure d'arrivée dans le service demandeur : le / / , à h
 - Date et heure de départ de la demande : le / / , à h
 - Cause de la demande :
 - Accouchement prématuré avant le dépistage, cause :
 - Grossesse non suivie
 - Grossesse suivie : Statut Strepto B Positif / Négatif
- Informations générales *a posteriori* :
 - Date et heure de l'accouchement : le / / , à h
 - Mise en place d'un traitement antibiotique pour la prévention de la transmission materno-fœtale du Streptocoques β -hémolytique du groupe B **avec le résultat de PCR en temps réel** :
 - non
 - oui, lequel :
 - Mise en place d'un traitement antibiotique pour la prévention de la transmission materno-fœtale du Streptocoques β -hémolytique du groupe B **sans le résultat de PCR en temps réel** :
 - non
 - oui, lequel :
- Informations Analytiques (Réservé au laboratoire) :
 - Date et heure de réception de la demande : le / / , à h
 - PCR en temps réel :
 - Date et heure de réalisation de l'analyse : le / / , à h
 - Résultat :
 - Culture :
 - Date et heure d'ensemencement : le / / , à h
 - Date et heure de rendu de l'examen direct : le / / , à h
 - Résultats de l'examen direct :
 - Date et heure de rendu de l'identification : le / / , à h
 - Résultats de l'identification :
 - Date et heure de rendu de l'antibiogramme : le / / , à h
 - Résultats de l'antibiogramme :

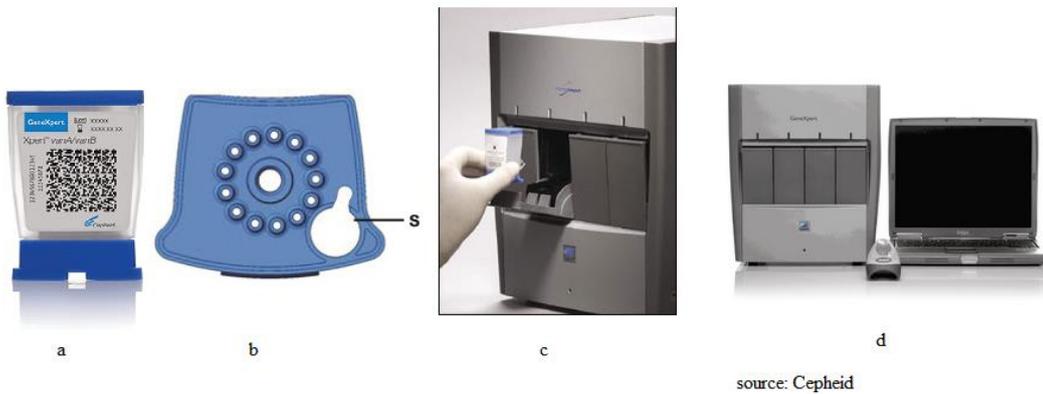
Etiquette patient

Annexe II : Illustration des techniques employées dans la culture du SGB



a : culture sur gélose au sang saine. b : culture sur gélose au sang présentant de petites hémolyses caractéristiques du SGB. c : automate lecteur de carte vitek permettant l'isolement et l'identification du germe. Une autre carte peut être utilisée afin de rechercher les sensibilités aux antibiotiques. d : kit d'identification par agglutination du SGB. e : exemple d'agglutination avec le réactif à SGB.

Annexe III : Illustration du matériel employé dans la RT-PCR du SGB



a : cartouche à usage unique permettant l'analyse du prélèvement. b : cartouche vue du dessus, l'emplacement indiqué S est là où s'introduit la tige en plastique ayant permis le prélèvement.

c : automate permettant la réalisation de l'ensemble de la PCR. d : traitement de l'information par ordinateur.

Résumé

Etude prospective comparative entre deux méthodes de dépistage du Streptocoque B chez la femme enceinte : sensibilité et spécificité de la culture antepartum versus PCR perpartum

Introduction : La technique de référence pour le dépistage du streptocoque B chez la femme enceinte est la culture antepartum entre 34 et 38 semaines d'aménorrhée. La RT-PCR en perpartum pourrait pallier à la variation de la colonisation des patientes au cours de la grossesse. L'objectif de cette étude est d'évaluer la performance diagnostique de ces deux techniques de dépistage. La sensibilité et la spécificité seront calculées par rapport à une culture perpartum (gold standard).

Matériel et méthode : Cette étude prospective monocentrique de performance diagnostique a été réalisée dans la maternité de type 3 du CHU de Grenoble entre le 19 septembre 2012 et le 18 Octobre 2012, selon les recommandations STARD. Pour chacune des patientes, une culture sur gélose au sang (COS, BioMérieux®) et un test de RT-PCR (Xpert GBS, Cepheid®) ont été réalisés à partir de prélèvements perpartum. Nous avons ensuite calculé et comparé les sensibilités et spécificités.

Résultats : Sur 124 patientes incluses, 9 résultats de RT-PCR était ininterprétables. La prévalence à l'accouchement est de 10,48%. Le rendement de la RT-PCR est de 92,74%. La sensibilité de la culture et de la RT-PCR est respectivement de 46,15% et de 100% ($p=0,023$). La spécificité de la culture et de la RT-PCR est respectivement de 97,06% et de 92,16% ($p=0,182$).

Conclusion : Le test de dépistage de colonisation à SGB à partir d'une RT-PCR perpartum a montré un avantage significatif en terme de sensibilité et une équivalence en terme de spécificité diagnostique par rapport à la culture antepartum selon les recommandations en vigueur. La RT-PCR montre une amélioration diagnostique intéressante notamment dans l'administration d'une antibioprofylaxie plus ciblée