

Rôle du laboratoire dans le diagnostic d'une infection urinaire

Par : **Dr AA.Bentorki**
Maître-assistant
Laboratoire de Microbiologie, CHU
Dorban
aimenbentorki@gmail.com

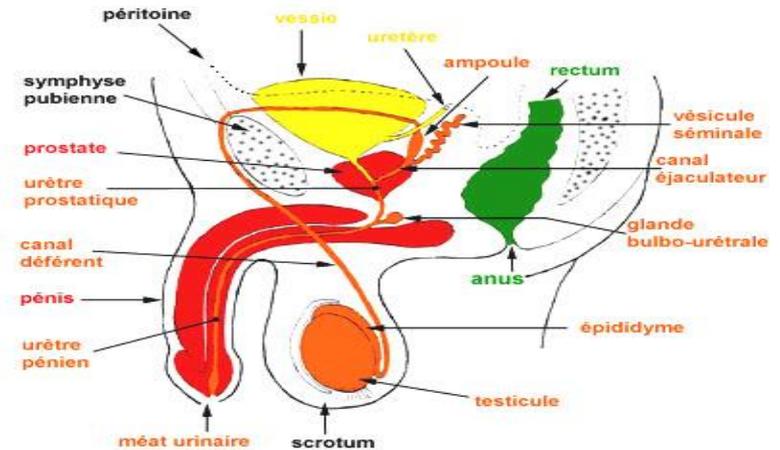
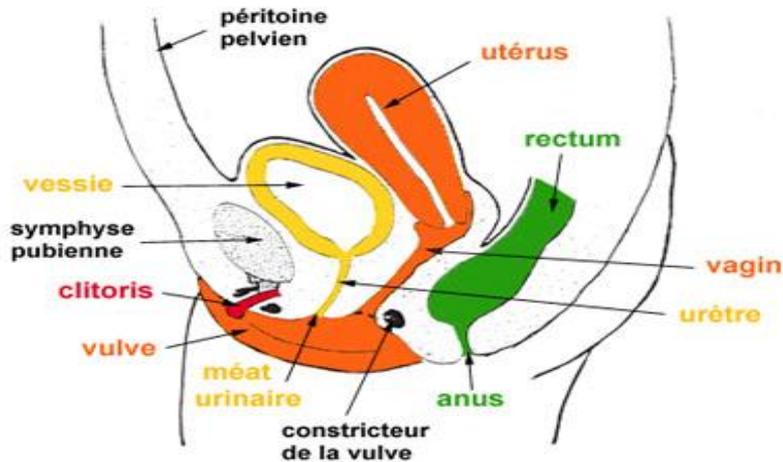
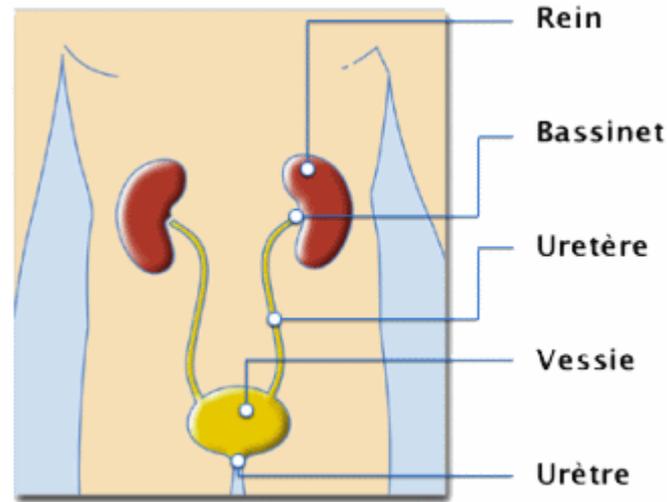
Plan

- **Objectifs**
- **Rappel anatomique**
- **Définitions**
- **physiopathologie**
- **Diagnostic au laboratoire:**
 1. **Bandelette urinaire**
 2. **Examen microscopique**
 3. **Uroculture**
 4. **Interprétation**
 5. **Situations particulières**
- **Antibiogramme - Traitement**

Objectifs

- Connaitre les principales bactéries responsables d'infections urinaires **communautaires** chez le nourrisson, l'enfant et l'adulte
- Connaitre les principales bactéries responsables d'infections urinaires associées aux soins (le **sujet sondé, immunodéprimé...**)
- Savoir **interpréter** un examen cyto-bactériologique des urines (ECBU).

Rappel anatomique



Différences entre l'appareil génital masculin et féminin

Définitions

- L'**infection urinaire** se définit par une **agression** d'un tissu de l'arbre urinaire par **un** ou **plusieurs** micro-organismes générant une **réponse inflammatoire** et des **symptômes cliniques** de nature et d'intensité variables selon le terrain (AFSSAPS, 2007)
- La **colonisation** correspond à la présence d'un ou plusieurs **micro-organismes** dans l'arbre urinaire (donc dans l'urine) **sans** manifestations cliniques

Définitions (2)

- **Infection urinaire simple** : IU survenant chez des patients sans facteur de risque de complication
- **Infection urinaire à risque de complication** : IU survenant chez des patients ayant au moins un **facteur de risque** pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus compliqué (SPILF, 2015)

Facteurs de risque de complication

- Anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire (résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent.....)
- Sexe masculin
- Grossesse
- Sujet âgé plus de 75 ans
- Immunodépression grave (Immunosup, cirrhose.....)
- IRC sévère (clairance < 30 ml/min)

Définitions (3)

- **IU graves** : Pyelonephrite et les IU masculines associées à :
 - ✓ un sepsis grave
 - ✓ Choc septique
 - ✓ Une indication de drainage chirurgical ou interventionnel

Physiopathologie

- L'infection aiguë est caractérisée par une **pullulation bactérienne dans l'urine atteignant des concentrations 10^5 UFC/ml** : bactériurie significative
- L'infection urinaire résulte de l'introduction des bactéries à travers l'urètre par **voie ascendante**/voie descendante.
- Les **femmes** sont fréquemment infectées que les hommes à cause de leur **urètre plus court** et plus à proximité des surfaces cutanées et des muqueuses colonisées.

- La bactériurie significative peut aboutir à deux situations cliniques :
 - Infection urinaire banale sans invasion des tissus : **cystite**
 - L'infection peut s'aggraver par atteinte des tissus du tractus urinaire et principalement le rein (**pyélonéphrite**).

Facteurs favorisant les infections :

facteurs liés aux patients

- Âge avancé > 50 ans
- Le sexe féminin.
- Immunité basse
- Enfant avec reflux vésico-urétral

facteurs extrinsèques :

- Le sondage urinaire : les germes le plus souvent endogène colonisent la vessie par voie ascendante.
- Les manoeuvres instrumentales :
cystoscopie, résection endoscopique de prostatite....
- Facteurs de virulence liés aux germes : adhésines pour ***E coli. S.saprophyticus***

Indice de fréquence des germes uropathogenes

Bactéries	%communautaire	%hospitalière
E. coli	60 - 90	60 - 70
Proteus .sp	3-4	9-10
Klebsiella .sp	2	8-10
Staphylocoque.sp	2-3	4-5
Streptocoque/entérocoque	1	2-4
Autres bactéries gram négatif	1.5	5-6
Candida albicans	1	2

Diagnostic biologique IU:

❖ MÉTHODE DE DEPISTAGE

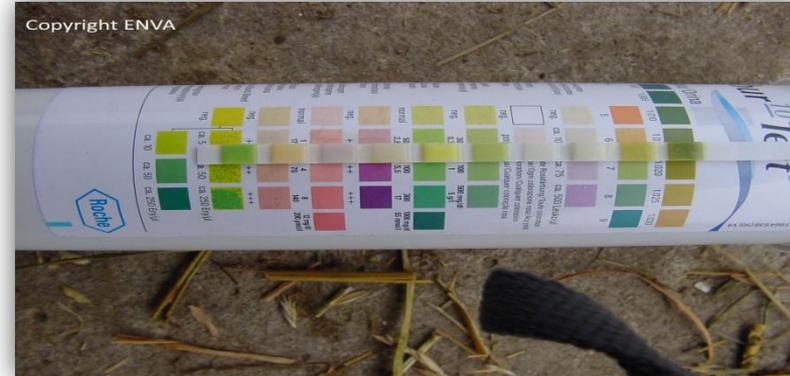
❖ ECBU

A-MÉTHODE DE DÉPISTAGE OU DE SCREENING:

➤ LA BANDELETTE URINAIRE (BU):

→ Intérêt:

- Dépistage rapide des IU
- Faisabilité à domicile, en consultation, ou au lit du malade
- En terme d'économie; l'usage de BU permet de réduire le 1/3 d'ECBU réalisés
- Permet aussi la surveillance après traitement
- Sa valeur prédictive négative \nearrow \Rightarrow 95% pour la cystite simple.
- Sa valeur prédictive positive est médiocre \sim 40 à 51%

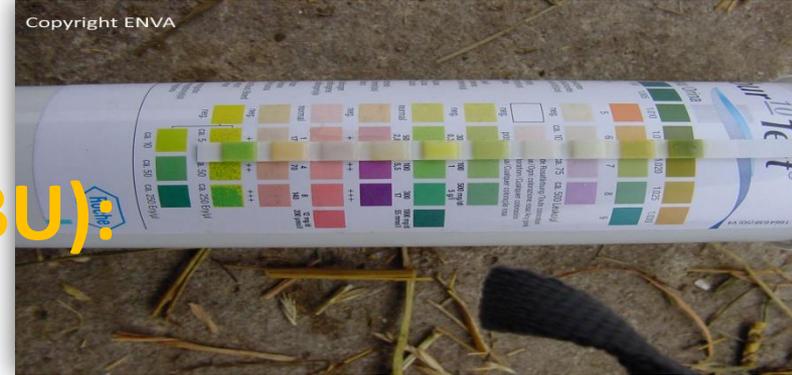


Situations ou la BU est utilisée

- Dépistage chez la femme enceinte à partir du 4eme mois (Haute Autorité de Santé HAS, France)
- Cystite aigue simple
- Homme symptomatique permet de conforter l'orientation diagnostique (Bonne VPP, mais mauvaise VPN)
- Nourrisson à partir de un mois

A-MÉTHODE DE DÉPISTAGE OU DE SCREENING:

➤ LA BANDELETTE URINAIRE (BU):



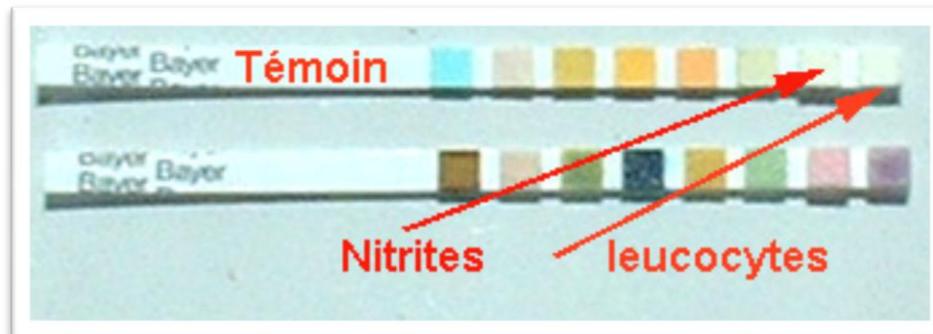
→ Réalisation:

🌸 La bandelette urinaire réactive immergée brièvement dans l'urine ; fraîchement émise; est ensuite lue par le praticien en la comparant à une échelle colorimétrique.

Selon la quantité de réactifs, elle peut permettre de déterminer le pH et de rechercher la présence dans les urines de glucose, de corps cétoniques, de leucocytes, de nitrites, de protéines, de sang, d'urobilinogène et de bilirubine.



Le Clinitek Status est un analyseur d'urine automatisé



- ✓ En matière d'IU; les bandelettes réactives détectent :
 - + **la leucocyte estérase** produite par les polynucléaires neutrophiles → la réaction de l'hôte contre l'infection...
 - = Le seuil de sensibilité est de **10⁴ leucocytes/ml** .
 - + **les nitrites** qui témoignent de la présence de bactéries, essentiellement les entérobactéries, ayant une nitrate réductase capable de transformer les nitrates en nitrites (en revanche absence de nitrite pour les CGP (sauf le staphyloque : *S saprophyticus* excepté) et certains BGN comme le *Pseudomonas*)...

- ✓ En matière d'IU; les bandelettes réactives détectent :
- ✓ **Hématurie**: Elle correspond à la présence d'hématies dans les urines ↪ action de l'activité peroxydasique de l'hémoglobine.

Limites de la BU

1. Faux positifs en cas de contamination par la flore et la présence par exemple de *Trichomonas vaginalis* (leucocyte +) ou présence de tumeurs

2. Faux négatifs :

❑ **Les nitrites:**

❖ Test de nitrite négatif en cas de: Enterocoque, *Pseudomonas spp*, *S saprophyticus*, Streptocoque du groupe B, *Acinetobacter spp*.

❑ **Les leucocytes:**

❖ Sujets neutropéniques

IMPORTANT !

Une BU négative (Ni - et LE -) correctement réalisée permet d'exclure avec une excellente probabilité le diagnostic d'IU.

Une BU positive (Ni + et /ou LE +) ne permet pas d'affirmer le diagnostic d'infection urinaire mais elle a une excellente valeur d'orientation.

Situations ou la BU ne doit pas être utilisée

- Patients porteurs de **DEU**
- Patients avec **vessie neurogene**
- Patients sous certains traitements **médicamenteux**
- **Nouveau né** et nourrisson **< 1 mois** ou **neutropénique**

B-L'ECBU :

**EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES
URINES :**

↳ l'examen clé.

LE PRÉLEVEMENT :

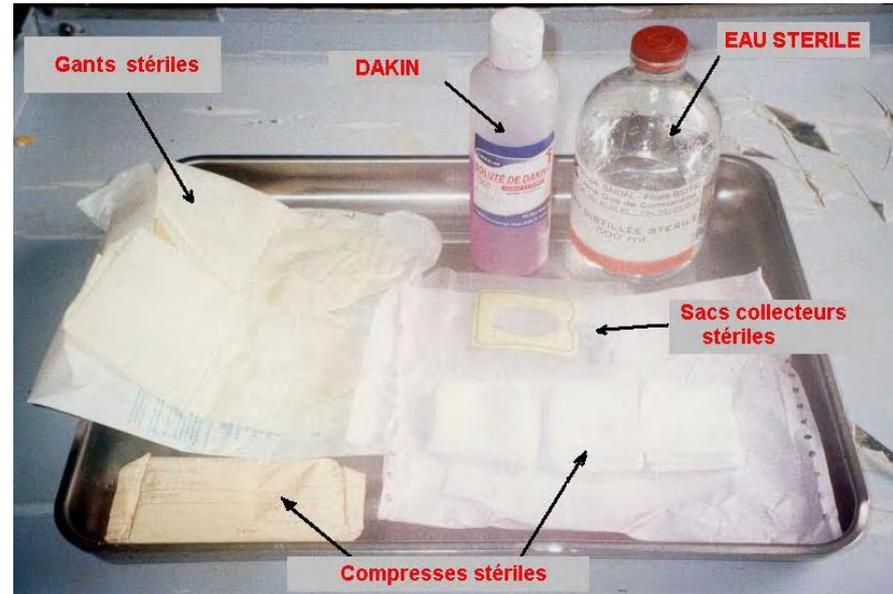
<<un bon prélèvement correspond à un bon diagnostic>>

il faut respecter toutes les étapes pour éviter toute contamination vaginale ou urétrale .

① Le cas général habituel:

Le matériel: doit être stérile : pour ceci on utilise :

- Des **pots stériles** à usage unique ou des tubes à col large stériles.
- **Antiseptiques** non irritants (dakine ou chlorhexidine) ou savon neutre (savon de Marseille).
- **Compresse**s stériles ou une serviette propre
- **Gants stériles**



La technique du milieu du jet ou à la volée

- ✓ simple et réalisée chez des malades autonomes et coopératifs adultes et enfants de plus de deux ans. Elle consiste à éliminer le premier jet urinaire (20 ml)

Le sondage à demeure :

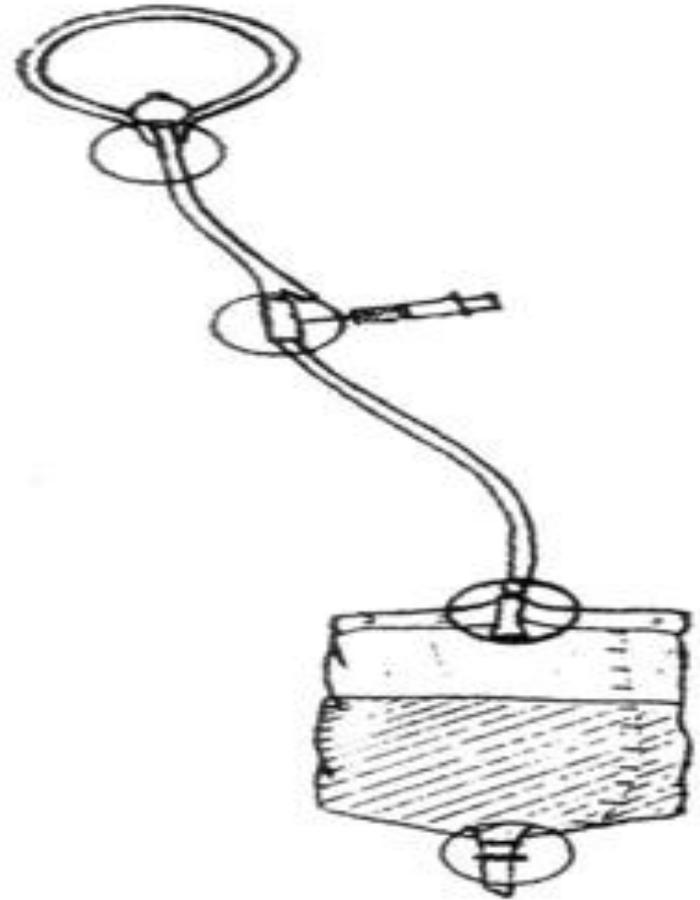
On privilégiera le prélèvement
juste après le changement de
la sonde

L'urine doit être prélevée au
niveau du site de prélèvement
sur la tubulure

de la poche après le clampage
pendant **10min** → laisser
l'accumulation

de l'urine **en amont** → puis l'urine
sera ponctionnée après sa
désinfection

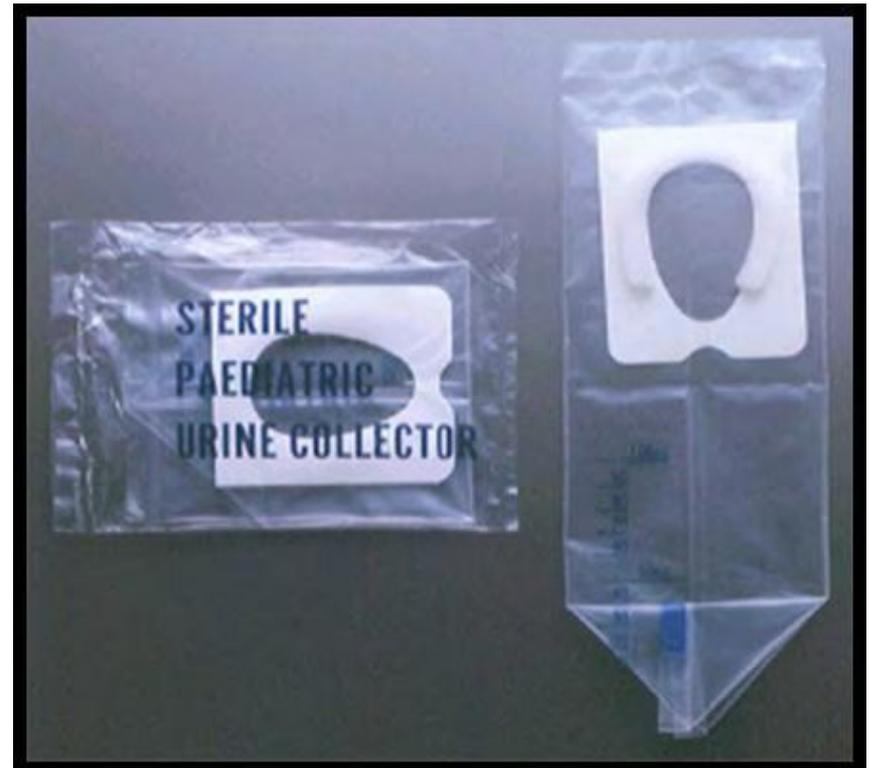
avec un antiseptique, à l'aide
d'une seringue stérile.



Chez le nourrisson

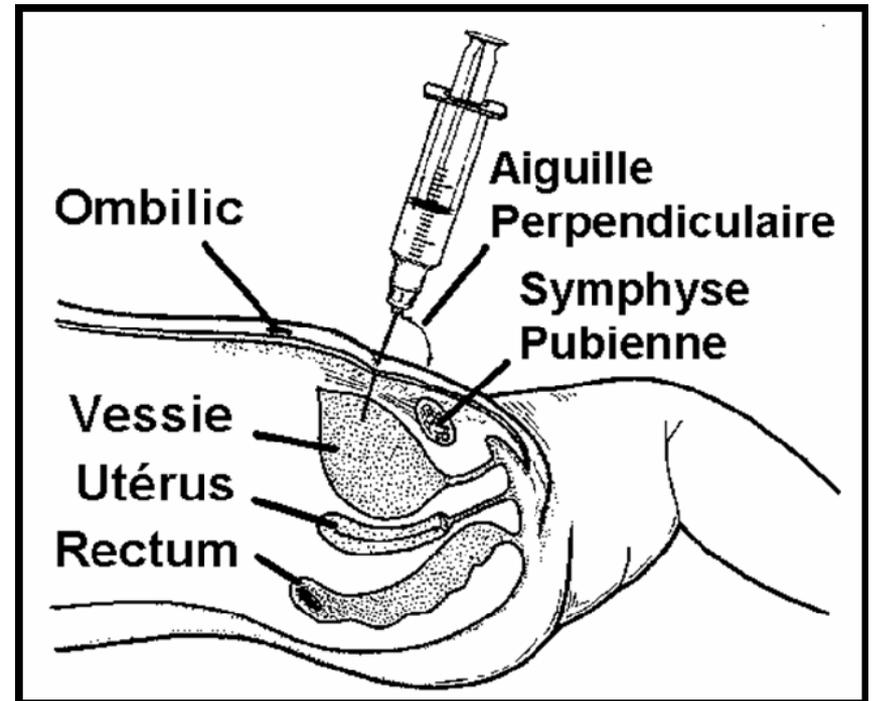
Chez le petit enfant on doit utiliser **un sachet collecteur** stérile spécifique.

Ce dispositif à usage unique adapté, se pose après désinfection soigneuse et ne peut être laissé en place plus de 30 min.



Ponction sus pubienne

- La ponction de vessie est un acte médical invasif, réalisée chez les nourrissons fébriles nécessitant une antibiothérapie en urgence, ainsi que devant des résultats douteux sur plusieurs prélèvements réalisés par voie basse.

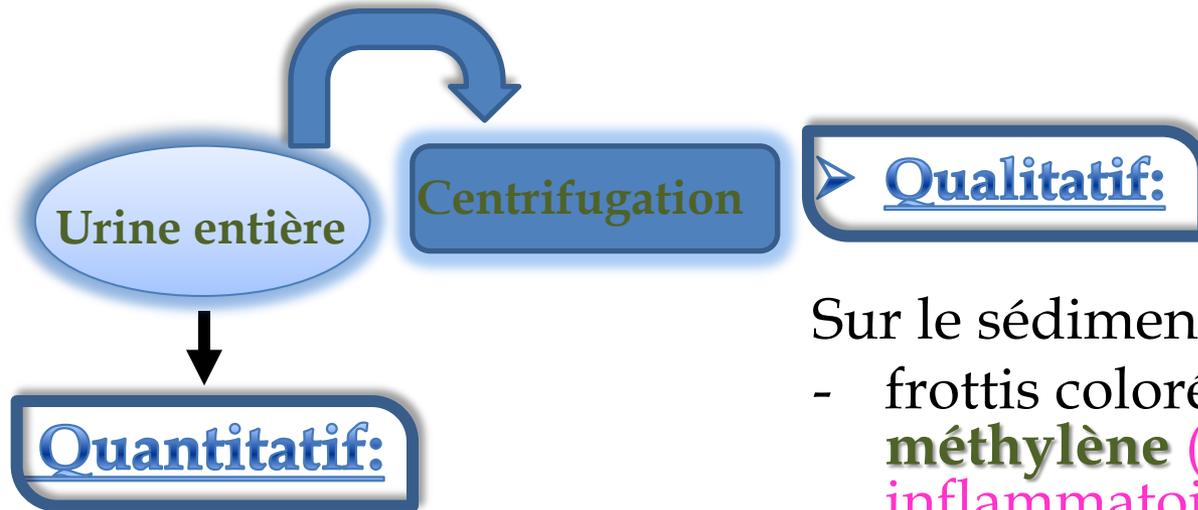


EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE

Procédés de laboratoire



c- Examen Microscopique à J1
Etude: cytologique+bactériologique
Etude: qualitative+quantitative



Sur urine homogénéisée:

☐ Sur cellule **Nageotte** de préférence ou **Malassez** (à défaut de ces cellules → entre **lame et lamelle**)

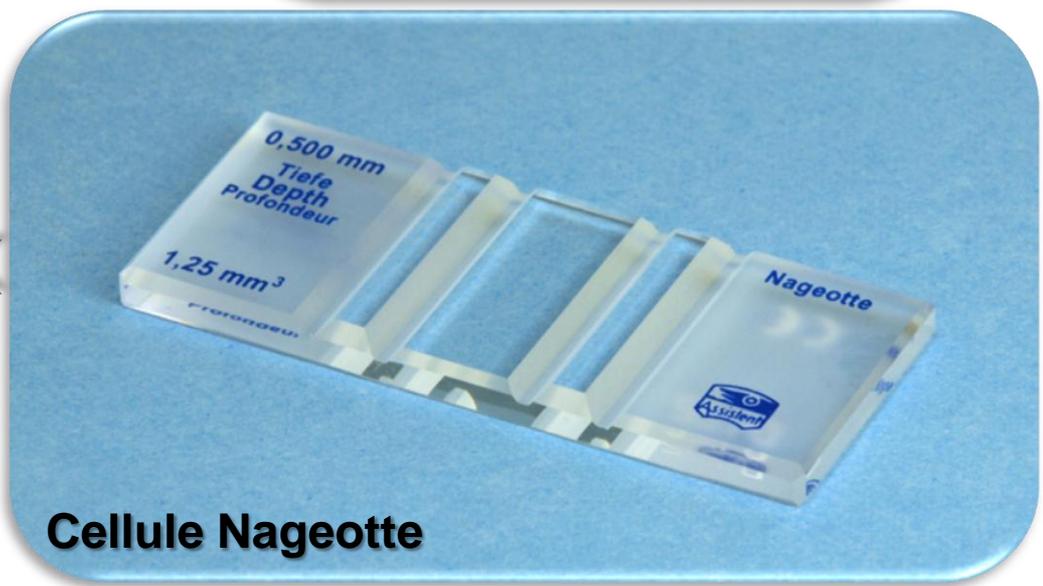
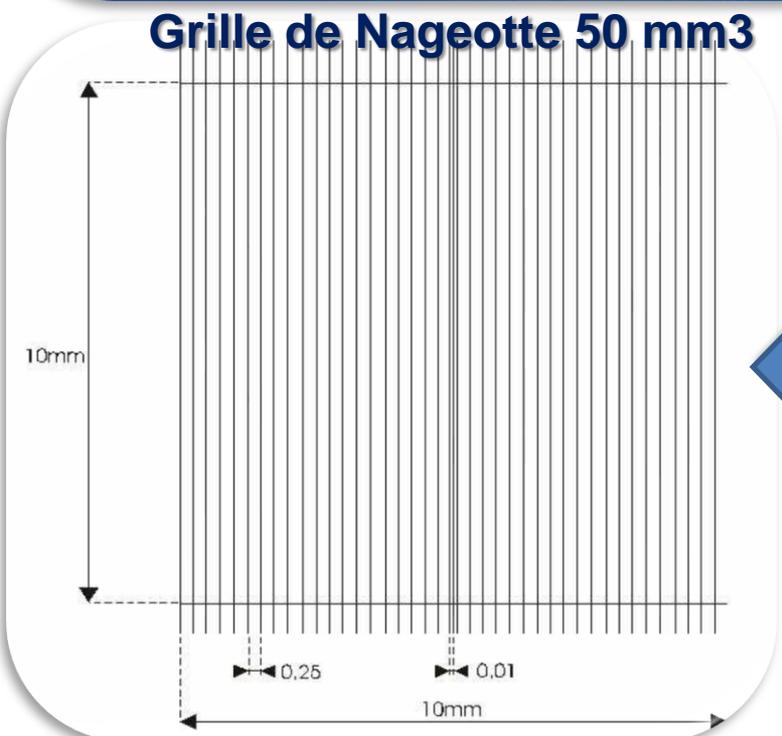
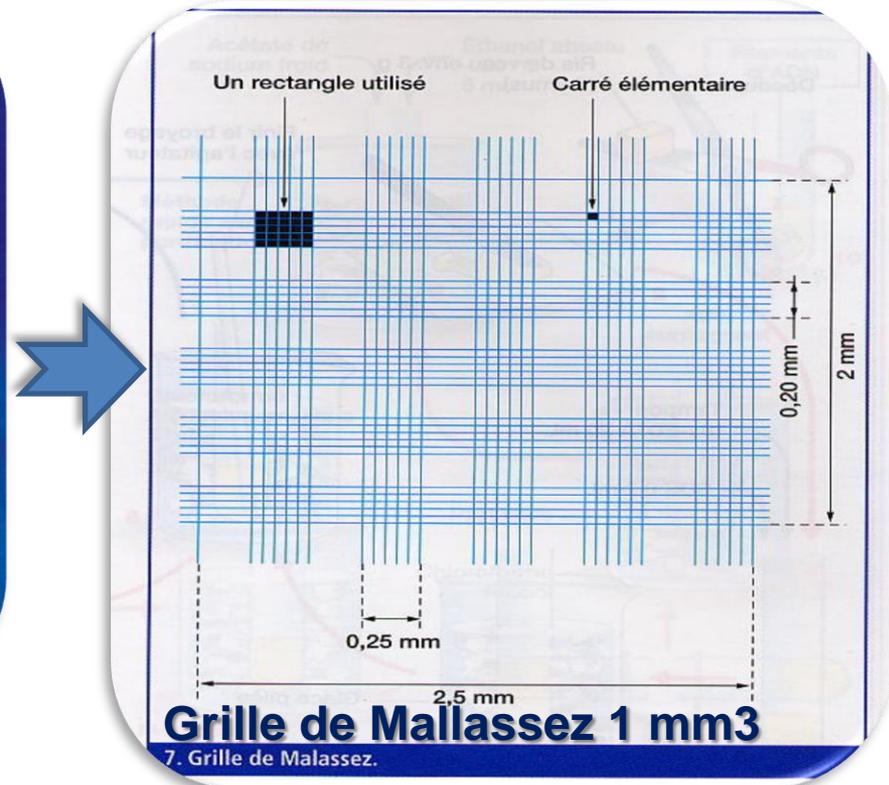
*Numération des leucocytes

*hématurie *cylindres*levures*cristaux

Sur le sédiment :

- frottis coloré au **bleu de méthylène** (la nature des cellule inflammatoire+forme de bactéries)
- frottis coloré au **Gram:** (observation de bactéries)
- frottis coloré **au Ziehl Neelsen:** (recherche mycobactéries)

À la demande



INTERPRETATION DE L'EXAMEN MICROSCOPIQUE

10 leucocytes / mm³ $\Leftrightarrow 10 \cdot 10^3 \text{L/ml} = 10^4$

Leuc/ml \rightarrow URINE

PATHOLOGIQUE \Leftrightarrow **Leucocyturie >**
10⁴/ml ou **> à 10 leucocytes / mm³**

Si la numération se fait entre lame et lamelle \rightarrow semi quantitative:

❖ **1 L** tous les 1 à 2 champs = **5-10 L**
/mm³

❖ **1 à 2 L/ champ** = **10-25 L/mm³**

- **Description des éléments de l'urine sur une préparation à l'état frais:**

1- Les leucocytes

- Leur présence ↪ réaction inflammatoire sauf si : (foyer inflammatoire bien circonscrit, dilution des urines, lyses des leucocytes dans l'échantillon)

2- Les hématies :

- Leur présence ↪ une lésion des muqueuses de l'appareil urinaire.

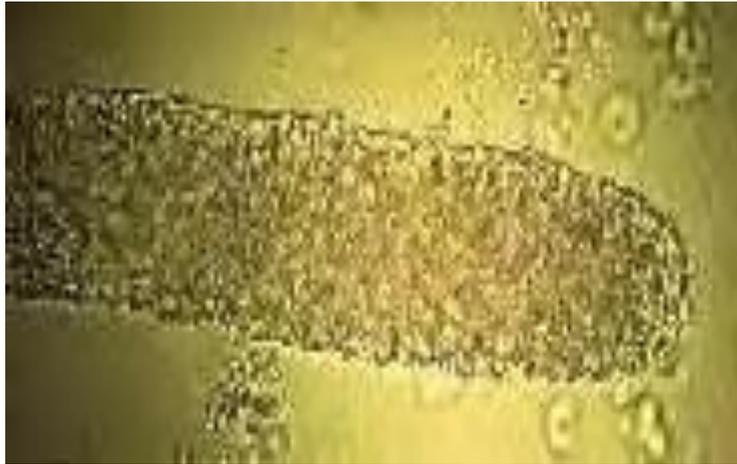
3- Les cellules épithéliales :

Des cellules **rénales**, **urétérales**, **vésicales** et **urétrales**.

4- Les cylindres

- Cylindres hyalins (protéiques) ⇨ atteinte tubulaire
- Cylindres granuleux: rare (dégénérescence de cellules épithéliales) ⇨ Néphrite grave

5- Les cristaux urinaires



6- Les bactéries :

On peut apprécier la présence d'éventuelle bactéries, leurs formes et leur mobilité.

7- Les parasites :

- ❑ *Trichomonas vaginalis*
- ❑ Oeufs de *Schistosoma haematobium*.

8- Autres éléments :

- ❑ **Levures** : Elles sont sphérique ou ovalaire, de taille variable (5 à 12 mm).
- ❑ **Spermatozoïdes** (leur présence est anormale
↳ refaire le prélèvement)



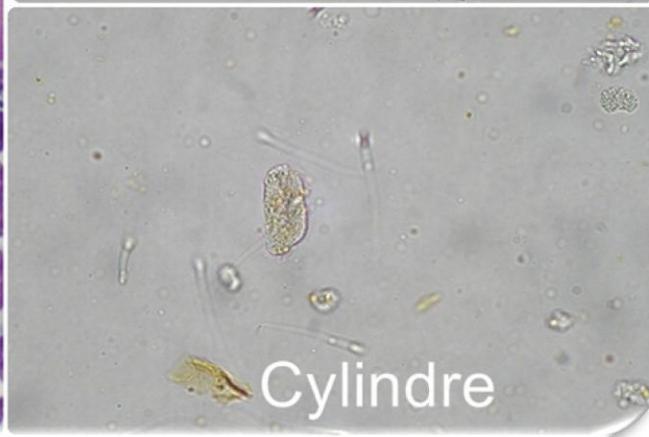
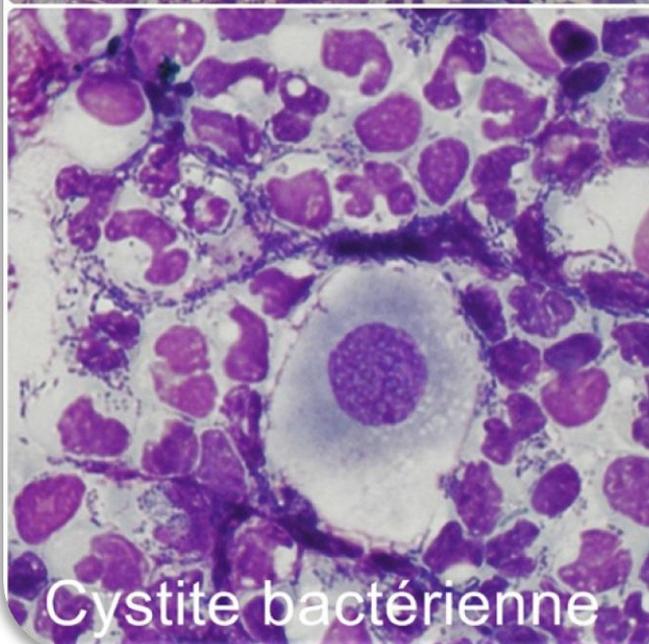
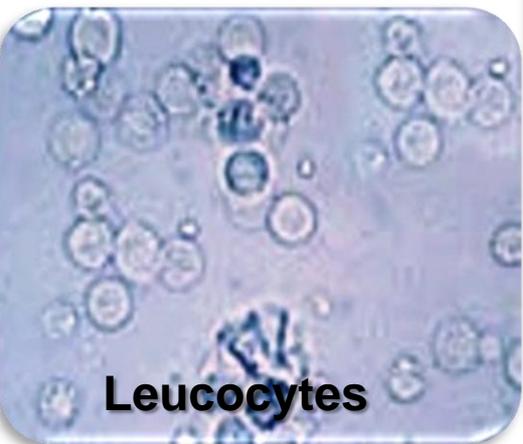
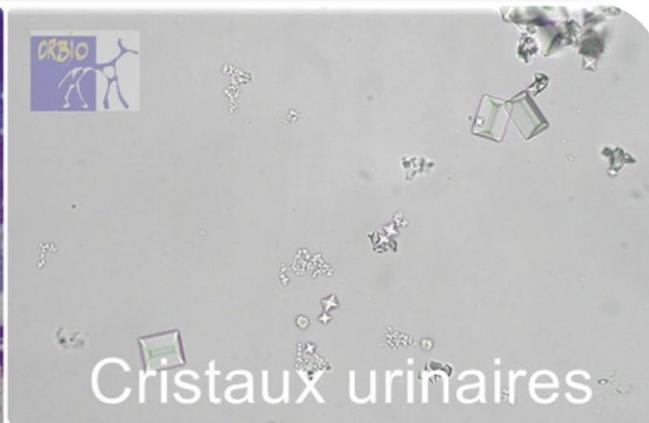
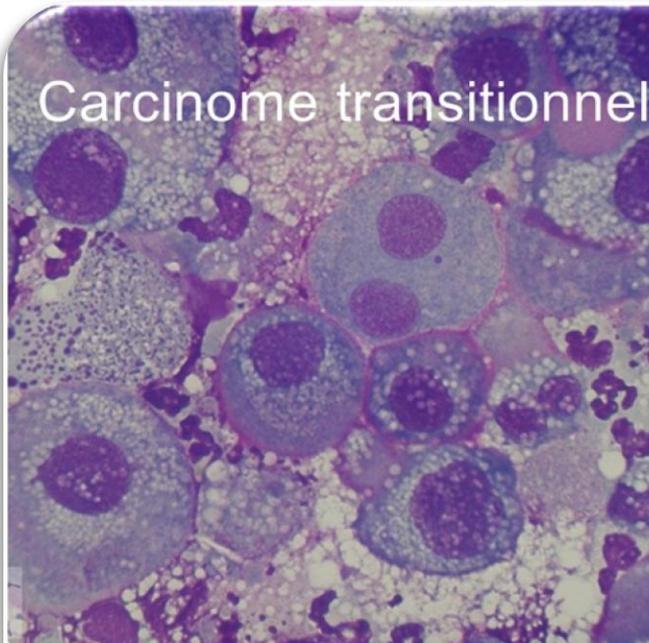
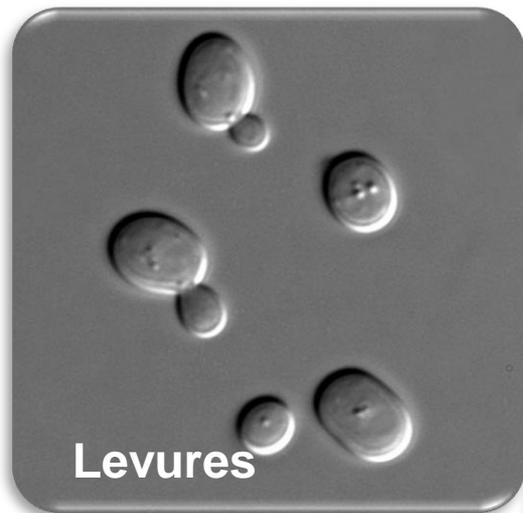
Examen direct après coloration

Le Bleu de méthylène (BM): permet;

- ✓ La différenciation des leucocytes (aspect morphologique)
- ✓ Visualiser la disposition des bactéries dans les cellules (intra ou extra \emptyset)

Le GRAM

- ❖ Aspect morpho-tinctorial +++
- ❖ Le seuil de détection est de $5 \times 10^4/\text{ml}$ (l'absence de bactérie à l'examen direct n'exclut nullement le diagnostic)



d- LA CULTURE ET INCUBATION:

□ Les méthodes d'ensemencement:

1-MÉTHODE ORIGINELLE DE KASS :

- ° faire des dilutions en séries de 10 en 10.
- ° volume connu de chaque dilution est étalé sur une boîte de pétri.

2-MÉTHODE DE VERON : ou

Méthode de KASS modifiée :

- Description de la technique

0.1 ml d'urine bien mélangée est diluée dans **9.9 ml** d'eau distillée stérile à l'aide d'une pipette calibrée à 0.1 ml puis **0.1 ml** de cette dilution est ensuite aussitôt étalée sur une Gélose Nutritive avec un râteau préalablement stérilisé.

→ moins de manipulation ,le risque de contamination persiste mais moindre.

- **Lecture** : La numération se fait selon la formule de Kass :

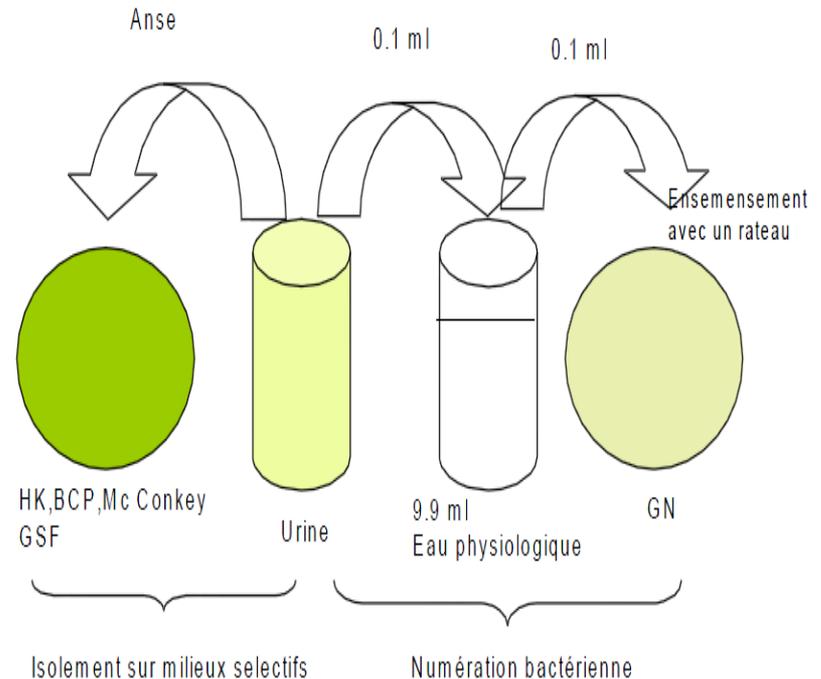
$N = n \cdot 10^2 \cdot 10$ bactérie / ml Où : n :

Nombre de colonie sur la boîte.

10^2 : Inverse de la dilution..... 10 :

Inverse de l'inoculum.

Méthode de KASS modifiée:



d- LA CULTURE ET INCUBATION:

10^2 : Inverse de la dilution.....10 : Inverse de l'inoculum.

Nombre de colonie : 1-9 : 10^3 Bact/ml \Leftrightarrow Numération négative
10-99 : 10^4 Bact/ml \Leftrightarrow Numération douteuse
+ 100 : 10^5 Bact/ml \Leftrightarrow Numération positive

- Interprétation :

- **UFC**=Unités formant colonie
- Une bactériurie significative est considérée devant une numération **> 100 colonies** sur GN \Leftrightarrow **> 10^5 UFC / ml.**

3- Méthode de l'anse calibrée

(avec ou sans milieu chromogène)

- Description de la technique

Une anse calibrée à **10 µl** →ensemencer sur GN et G sélectives.

- Avantages

Simplifie la technique de Kass en évitant les dilutions de l'urine.

Cette technique permet de bien séparer les colonies pour ensuite bien les compter.

Diminution du coût.

- Inconvénients

Dans le cas de l'utilisation d'une anse calibrée en fil de platine, le volume délivré par celle ci doit être régulièrement contrôlé

En effet après un grand nombre d'utilisation la calibration de l'anse peut être modifiée.

- Interprétation

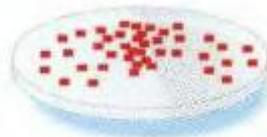
Chaque colonie isolée correspond à une concentration de 10^2 UFC / ml urine.



10^3



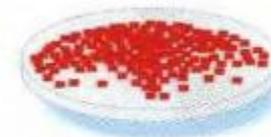
10^4



10^5

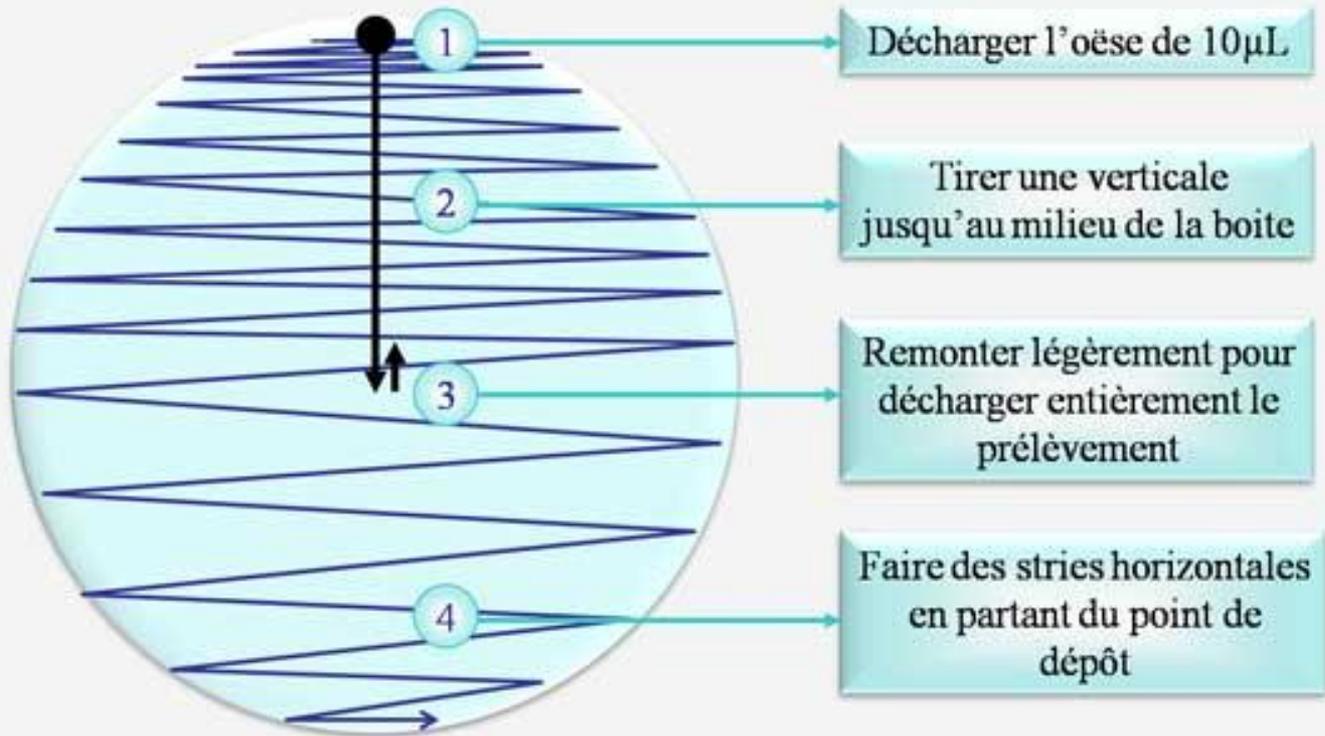


10^6



10^7

Ensemencement d'une urine



Mettre à l'étuve 37°C pendant 18-24H

Choix d'un milieu de culture pour les urines

1- Milieux non chromogènes

GN: milieu non sélectif, sans indicateur coloré.

TCS (Trypsine – Caseine – Soja)

- Milieu non sélectif, non inhibiteur, sans indicateur coloré.

C.L.E.D (Cystine – Lactose – Electrolyte – Deficient)

- Milieu peu sélectif- Indicateur coloré Bleu de Bromothymol.

BCP (Gélose lactosée au BromoCrésol Pourpre)

- Milieu non sélectif, non inhibiteur.

- Les germes sont reconnus par une coloration jaune témoin de l'acidification du milieu.

Gélose Drigalski· Gélose lactosée au bleu de bromothymol.

- Milieu peu sélectif, inhibant l'envahissement par *Proteus* du milieu et inhibant la pousse des bactéries à Gram positif /cristal violet

- Orientation étiologique après virage de l'indicateur coloré (fermentation du lactose).

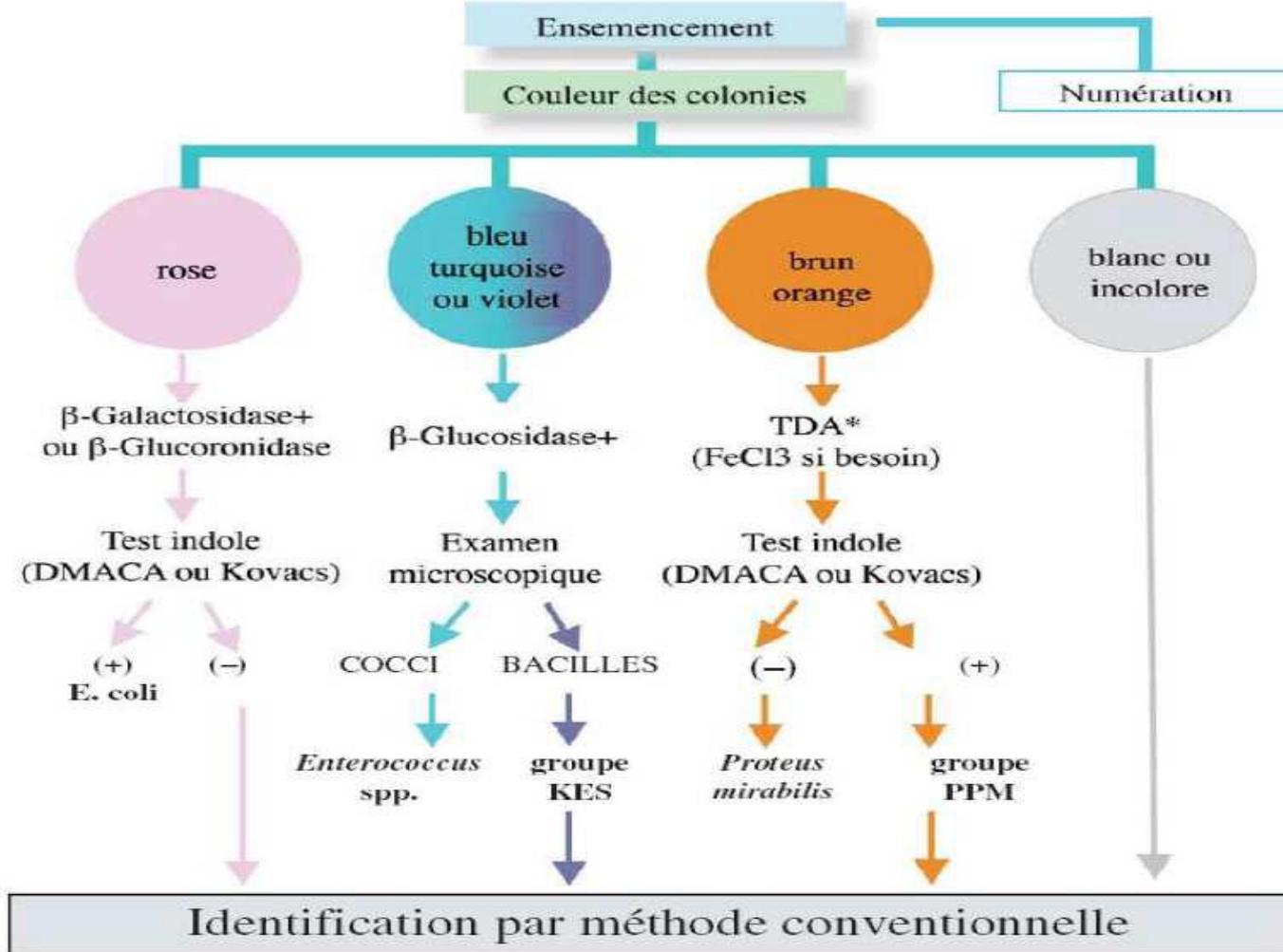
Gélose Mac Conkey

- Milieu sélectif.
- Gélose lactosée au rouge neutre mettant en évidence la fermentation du lactose par les bactéries.

Gélose au Sang

.

Gélose Loweinstein Jensen : mycobactéries



Mise en culture à J1

- Méthode de Veron: dilution 1/100 (2 gouttes d'urine (0.1ml) dans 9,9 ml d'eau distillée stérile)
- Ou par la méthode de l'anse calibrée ou la lame immergée.
- Ou à partir du culot de centrifugation si ↪ BAAR à l'ED (sur LJ)

* **Ensemencement** : sur

- GN (gélose nutritive) - GSF/GSC si cocci à l'examen direct ou en cas de cystite hémorragique (recherche de *C. urealyticum*)
- Lowenstein Jensen si présence de BAAR à l'ED
- ½ sabouraud si levures à l'ED.

* **Incubation**: 18 –24 heures à 37°C

e - Identification et antibiogramme à J3



E coli



Identification

- ❏ **Identification classique:** Oxydase/ catalase/ galerie biochimique
- ❏ **ou par (API system)**
- ❏ **Identification des colonies sur milieux chromogènes:**
- ❏ **Identification antigénique**
- Sérogroupage des streptocoques
- Sérotypage des *Pseudomonas aeruginosa*

ANTIBIOGRAMME:

- ✿ Un antibiogramme est réalisé par méthode de diffusion en disque selon les recommandations du CLSI pour chaque germe isolé
- ✿ Se fait sur milieux : **MUELLER HINTON** (MH)
Staphylocoque, Enterobactérie, Enterocoque, Pseudomonas, Acinetobacter..
- ✿ Si germe exigeant comme Streptocoque il se fait sur **gélose au sang à base de MH**

f- Interprétation de l'ECBU

+ Vu les risques de contamination de l'ECBU on associe:

une analyse quantitative de la culture urinaire

+

une analyse quantitative de la leucocyturie.

Les germes incriminés dans l'infection urinaire

➤ Groupes I

- Uropathogènes, reconnus à un taux $\geq 10^3$ UFC/ml
- *E.coli*, *S.saprophyticus* (♀),

➤ Groupe II

- Responsables d'IU nosocomiales; Le seuil proposé quand 1 seul type bactérien est isolé est de 10^3 UFC /ml chez l'homme et de 10^4 UFC /ml chez la femme. Il passe à 10^5 UFC /ml si 2 types bactériens sont isolés.
- Autres entérobactéries, *Entérocooccus.sp*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Corynebacterium urealyticum*.

Les germes incriminés dans l'infection urinaire

➤ **Groupe III**

- Leur implication exige un taux $\geq 10^5$ UFC/ml, une répétition de leur isolement sur au moins deux échantillons d'urines, +/- des critères cliniques ou d'inflammation
- *S.agalactiae*, *Candida spp*, autre SCN, *A.baumannii*, *Stenotrophomonas maltophila*, *Burkholderia cepatia*, *Oligella urethralis*, *Aerococcus urinae*

➤ **Groupe IV**

- Bactéries de la flore péri-urétrale et génitale, seul leur isolement à partir d'une ponction sus pubienne permet leur incrimination
- Streptocoque alpha haemolytique, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus spp*, bactéries coryneforme (autre que *C.urealyticum*)

REMIC 2015

Signes cliniques	Leucocyturie $\geq 10^4$ /ml	Bactériurie UFC/ml	Nbr d'espèces	Commentaire	Antibiogramme
+	+	$\geq 10^3$ groupe 1 $\geq 10^5$ autres	≤ 2	Infection urinaire cystite aigue	Oui
+	+	$< 10^3$		Inflammation sans infection Trt ATB Bactérie culture difficile Etiologie non infectieuse	Non applicable
+	-	$\geq 10^5$	≤ 2	Immunocompétant refaire ECBU (IU débutante) Immunodépression	Non Oui
-	variable	$10^3 - 10^4$	≥ 1	Contamination Mauvais prélèvement	Non
-	Variable	$> 10^5$	≥ 2	colonisation	Non
variable	-	$< 10^3$		Absence d'IU ou de colonisation	

ECBU: COMMENTAIRES

- Résultats définitifs avec commentaires clairement rédigés
 - Doivent susciter le dialogue avec le clinicien
 - Quelques remarques fréquentes:
 - Cas de souillure
 - Si interprétation litigieuse; demander un nouvel ECBU
 - Suspicion d'ITU iatrogène ; *Pseudomonas Acinetobacter*, *Serratia*
 - Antibiogramme à titre indicatif parfois
- Surveillance de ITU par le labo: un contrôle de ECBU n'est nécessaire que si évolution défavorable (reprise T° ou de douleurs..)