



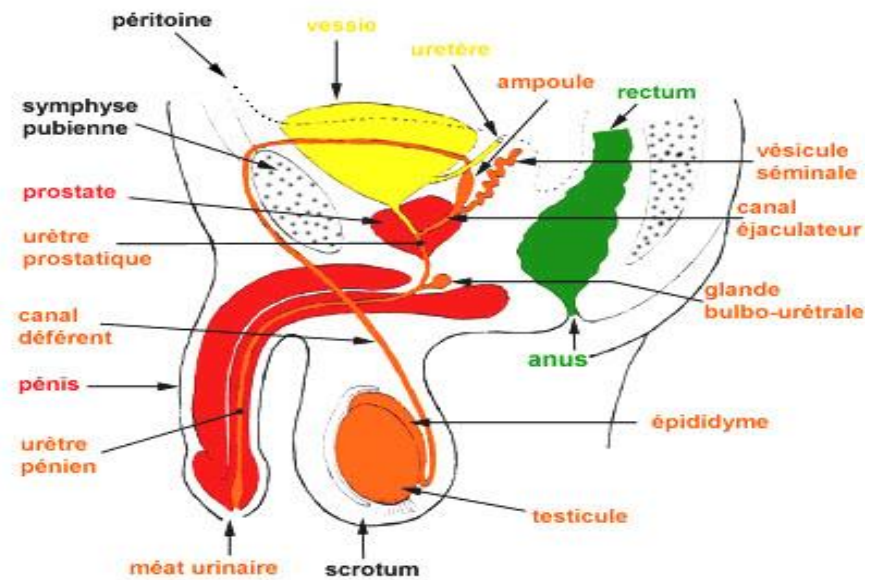
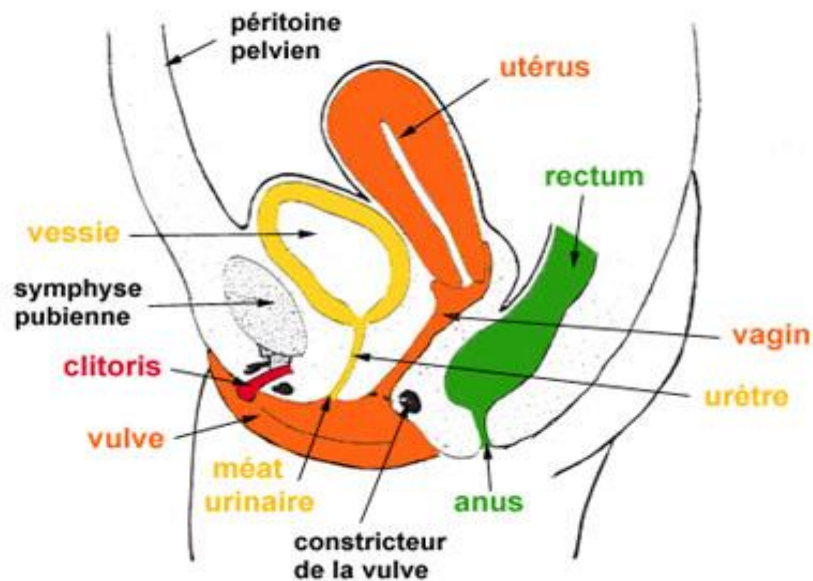
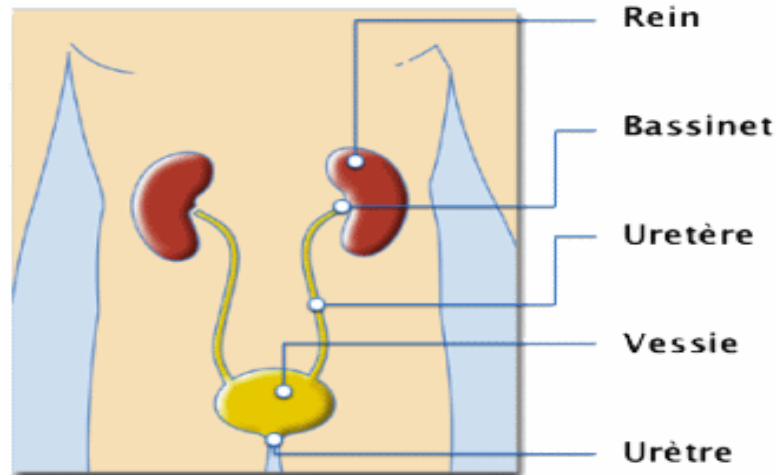
Département de médecine
4^{ème} année médecine
Module des maladies infectieuses

Diagnostic des infections urinaires
(ECBU)

Pr AMOURA Kamel
amouradz@yahoo.fr

- I. Introduction rappel anatomique
- II. Terminologie
- III. Facteurs favorisants
- IV. Diagnostic biologique:
 - 1. Méthode de dépistage
 - 2. ECBU
 - 3. Interprétation

Anatomie appareil urinaire



INTRODUCTION

- L'infection des voies urinaires (IVU) est une pathologie fréquente,
- Le principal motif d'exploration microbiologique (l'ECBU représente plus de la moitié des examens bactériologiques),
- La 2ème pathologie infectieuse rencontrée en pratique extra hospitalière et nécessite un traitement antibiotique, d'où des conséquences sur le coût des soins et le développement des résistances.

INTRODUCTION

- L'ECBU permet un diagnostic formel de toute infection,
- Sa qualité est conditionnée par:
 - Un bon prélèvement,
 - Une technique rigoureuse au laboratoire et
 - L'utilisation de critères d'interprétation reconnus.

INTRODUCTION

L'infection urinaire est la présence significative de germes dans l'urine.

Selon l'organe touché on parle de :

- **La Cystite** : si elle est limitée à la vessie.
- **La pyélonéphrite** : lorsqu'elle affecte le rein.
- **La prostatite**.

INTRODUCTION

- Les infections aiguës sont caractérisées 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.
- 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.

Terminologie

1. infection urinaire simple et compliquée :

Pour décrire les infections urinaires, les qualificatifs : basse ou haute, primitive ou secondaire sont abandonnés ; car ils sont source de confusion.

On parle actuellement d'infection urinaire simple et compliquée.

Terminologie

La distinction des IU en IU simples et IU compliquées a une incidence sur :

- La prise en charge
- Le traitement.
- et elle a pour but de prendre en compte les facteurs de risque de complication.

Terminologie

Les facteurs de risque de complication qui sont :

- **Physiologique** : grossesse, sexe, âge avancé.
- **Mécanique** : sonde à demeure ou transitoire en place, intervention urologique récente.
- **Pathologique** :
 - une pathologie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire (résidu vésical, reflux, lithiase,.....),
 - diabète,
 - ID,
 - infections récidivantes (≥ 4 épisodes/an),
 - traitement ATB récent,
 - histoire ancienne d'infection, calcul,.....

Terminologie

Les IU dites simples	Les IU dites compliquées
IU sans facteur de risque de complication	IU avec un ou plusieurs facteur(s) de risqué de complication(physiologique, pathologique ou mécanique).
les cystites aiguës simples,	les cystites compliquées
les pyélonéphrites aiguës simples.	les pyélonéphrites compliquées
Certaines pyélonéphrites « simples »	les prostatites
peuvent être d'évolution sévère, par exemple avec sepsis grave.	

Terminologie

2. Cystite récidivante :

Sont qualifiées de récidivantes les cystites qui se répètent avec une fréquence particulièrement élevée :

- Au moins 4 épisodes consécutifs par an
- ou**
- Dernier épisode datant de moins de 3 mois.

Le caractère récidivant étant l'indication d'une prise en charge particulière.

Terminologie

3. COLONISATION URINAIRE /BACTERIURIE ASYMPTOMATIQUE

La colonisation urinaire correspond à une situation de portage, c'est-à-dire à la mise en évidence d'un micro-organisme, lors d'un prélèvement urinaire correctement réalisé, sans manifestations cliniques.

L'abstention thérapeutique est la règle sauf en cas de contexte clinique à risque : grossesse, neutropénie, immunodépression, manœuvres urologiques.

L'urine d'un homme sain et stérile, en revanche son transport et son long acheminement peuvent entraîner des contaminations accidentelles.

- Chez la femme l'urétrocystite est l'infection la plus fréquente, non traitée elle évolue vers la pyélonéphrite.
- Les *Enterobacteries :E coli, Klebsiella sp* sont les bactéries les plus retrouvées.
- Chez l'homme, l'infection urinaire survient sous forme de prostatite chronique. La stérilisation des urines par les antibiotiques est difficile et les récurrences sont fréquentes.
- *E coli et Klebsiella* sont les bactéries responsables de ces infections.

Remarques

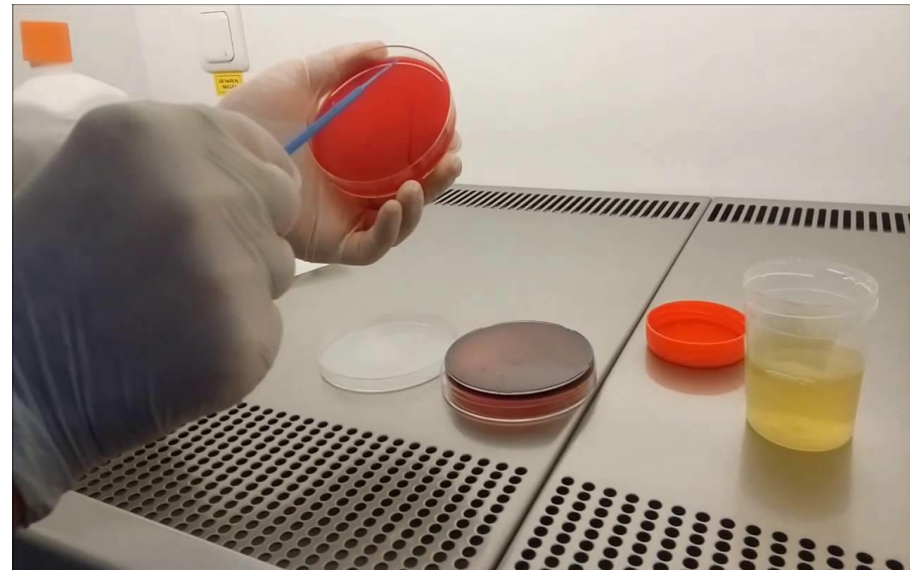
- L'infection urinaire peut survenir au cours de la septicémie grave par voie descendante.
- La persistance et les récurrences sont favorisées par :
 - La lithiase rénale et prostatique.
 - La prostatite chronique.
 - L'antibiothérapie inadéquate.

Diagnostic biologique IU

❑ Méthode de dépistage



❑ ECBU



Prélèvement

- Les prélèvements destinés à l'analyse Sont :
 - Urines fraîches du matin ou ayant séjourné quatre heures dans la vessie (prélèvement le plus utilisé).
 - Aspirations sus pubienne (nourrisson).
 - Urines de cathéter ou sonde urinaire.

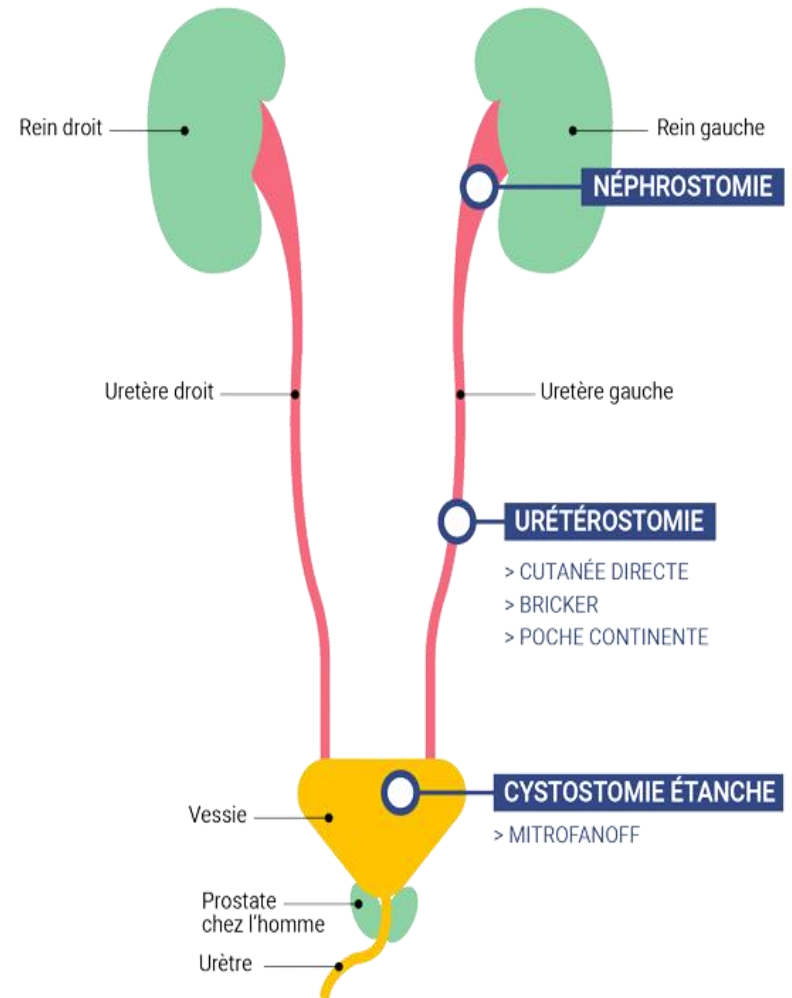


Figure 1: Sonde de Foley et pince de Kelly destinées à la CPC

Prélèvement

Dans tous les cas les urines doivent être travaillées dans une à deux heures qui suivent, sinon garder à plus 4 °C au maximum 24 heures.

Le diagnostic par cathétérisation vésicale est considéré comme le plus fiable et le plus sensible.



Prélèvement

Période du prélèvement :

- Urine fraîche ayant séjourné la veille dans la vessie, la concentration bactérienne est la plus élevée à cet instant.
- La technique du prélèvement par jet urinaire est la plus utilisée mais risque de contamination fréquent : surfaces cutanées, proximité du prépuce.....



Prélèvement des urines (récipient stérile)

Méthode de screening BU

➤ LA BANDELETTE URINAIRE (BU):

- Dépistage rapide des IU
- Faisabilité à domicile, en consultation, ou au lit du malade
- Permet de réduire le 1/3 d'ECBU réalisés
- Permet la surveillance après traitement
- Sa valeur prédictive négative ↗ :> 95% pour la cystite simple.
- Sa valeur prédictive positive est médiocre ~ 40 à 51%



Méthode de screening BU

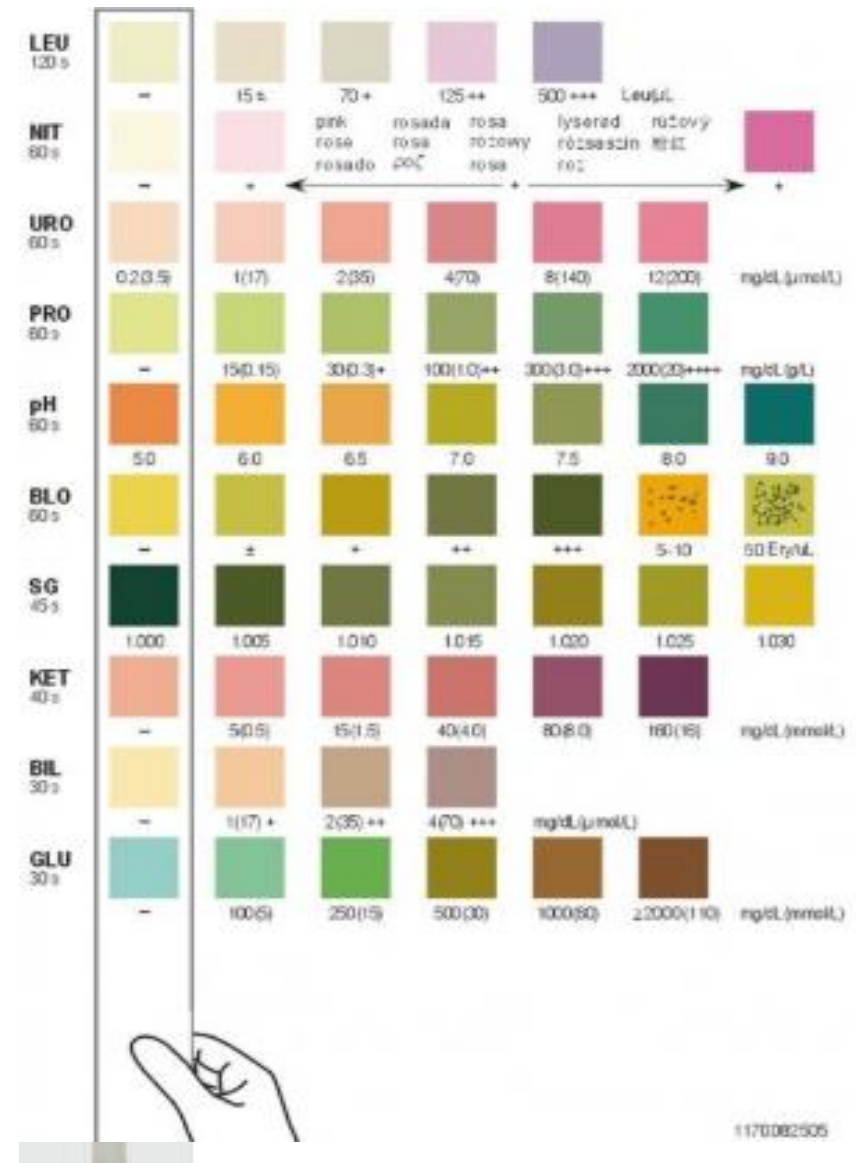
→ Réalisation:

La BU réactive immergée brièvement dans l'urine ;

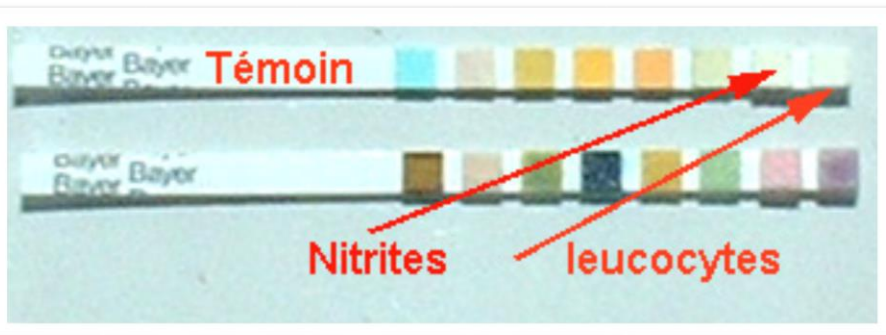
lecture (comparaison à une échelle colorimétrique).

elle peut permettre de déterminer:

- Leucocytes,
- Nitrites,
- pH
- glucose,
- Corps cétoniques,
- Protéines,
- Sang,
- Urobilinogène et de bilirubine.



Méthode de screening BU



Le Clinitek Status est un analyseur d'urine automatisé

Méthode de screening BU

les bandelettes réactives détectent :

La leucocyte estérase:

- Produite par les polynucléaires neutrophiles (de l'hôte contre l'infection)
- Le seuil de **sensibilité est de 10^4 leucocytes/ml**.

Les nitrites

- Témoin de la présence de bactéries (les entérobactéries+++)
- Absence de nitrite pour les CGP (sauf le staphyloque : *S saprophyticus* excepté) et certains BGN comme le *pseudomonas*)

Méthode de screening BU

Limites :

1. Faux positifs

- ✓ Contamination par la flore
- ✓ La présence 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.

EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES :

l' examen clé.

Quand demander un ECBU

Symptomatologie urinaire présente	Symptomatologie urinaire absente
<i>PATENTE</i> -dysurie -pollakiurie -pesanteur vésicale -hématurie macroscopique	<i>TROMPEUSE</i> -proteinurie -hyperthermie isolée -personne âgée - diabétique
<i>ÉVOCATRICE</i> -incontinence urinaire -douleurs lombaires -hyperthermie associée à un autre signe - l-Leucocyturie et/ou nitrite (BU)	<i>SYSTEMATIQUE</i> - femme enceinte -préopératoire urologique ou gynécologique -contrôle post-thérapeutique

L'ECBU n'est pas obligatoire en cas de cystite aiguë de la femme de moins de 65 ans sans antécédents, en dehors de la grossesse.

Examen microscopique

Etude:

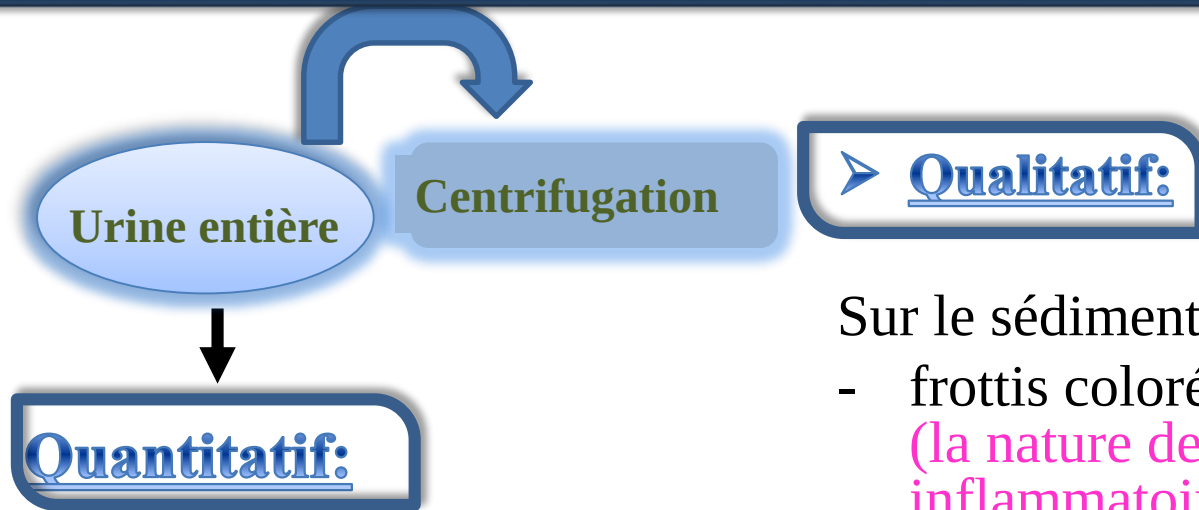
❑ Cytologique

❑ Bactériologique

- Etude qualitative
- Etude quantitative



ECBU



Sur urine homogénéisée:

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

*Numération des leucocytes

*hématurie

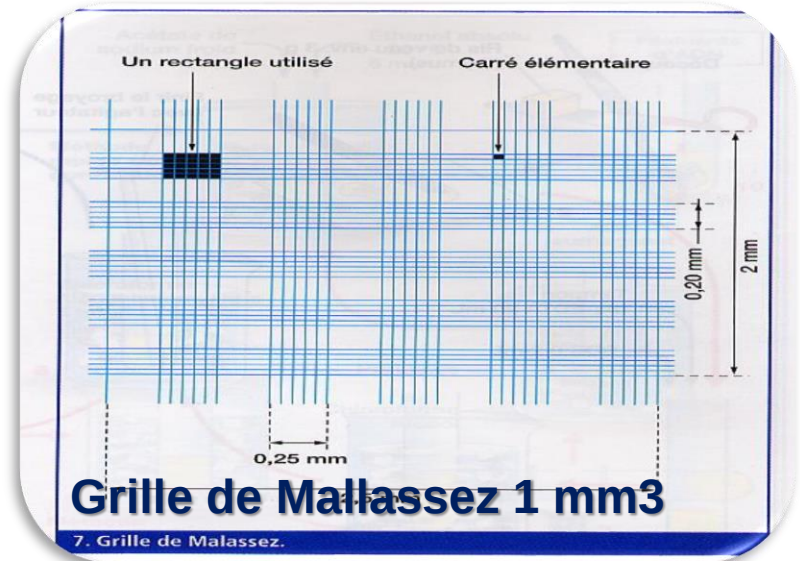
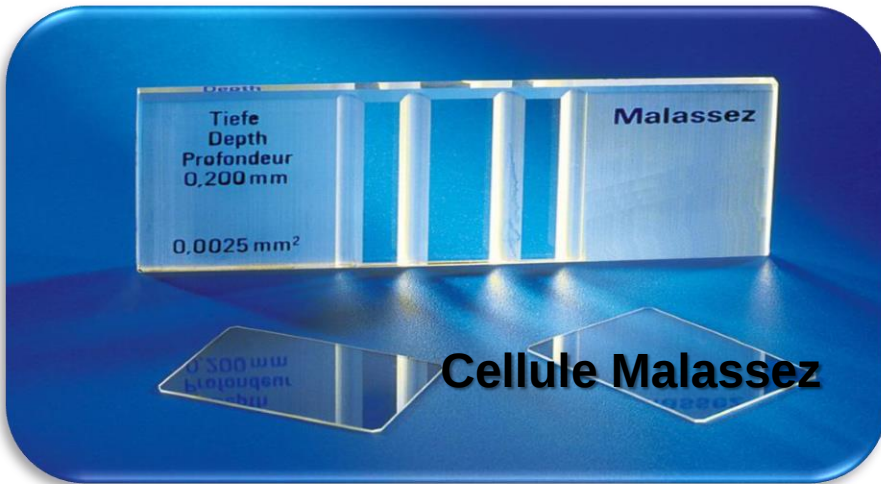
*cylindres*levures*cristaux

Sur le sédiment :

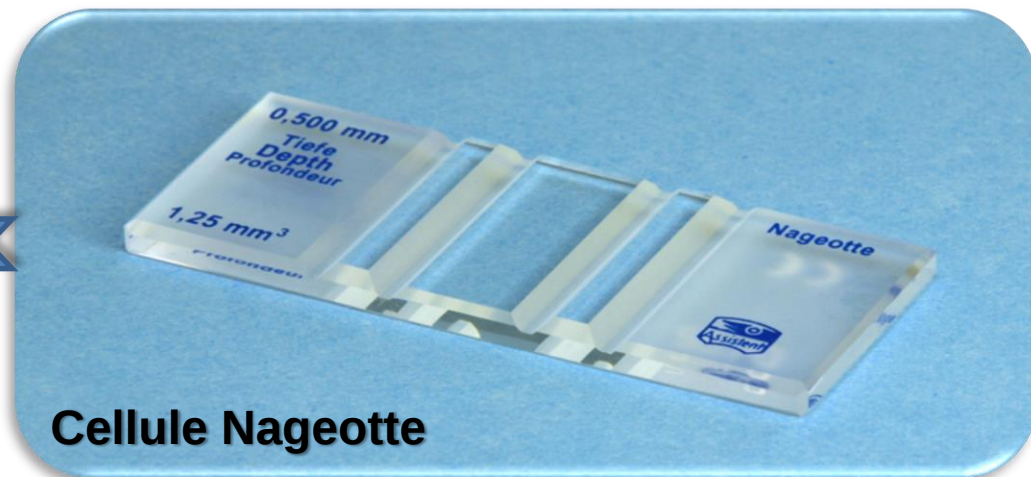
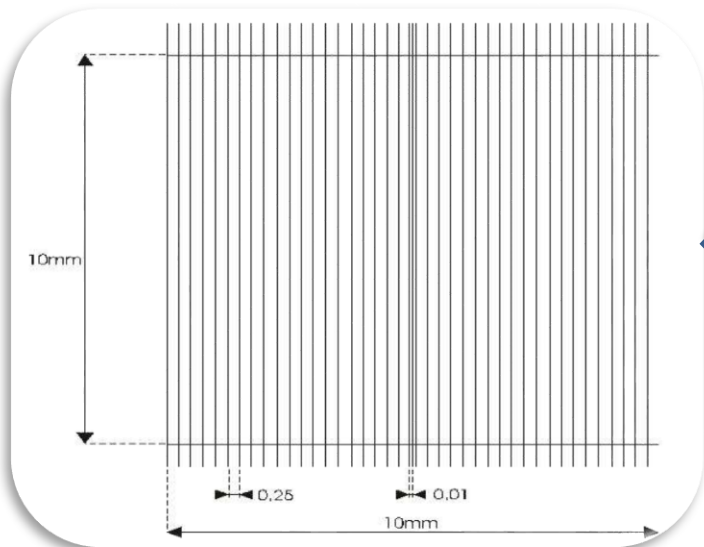
- frottis coloré au **bleu de méthylène**
(la nature des cellule
inflammatoire+forme de bactéries)
- frottis coloré au **Gram:** (observation
de bactéries)
- frottis coloré **au Ziehl Neelsen:**
(recherche mycobactéries)

À la demande

Quand demander un ECBU



Grille de Nageotte 50 mm³



Interprétation de l'examen microscopique

10 leucocytes / mm³ ↔

$10 \times 10^3 \text{ L/ml} = 10^4 \text{ L/ml}$

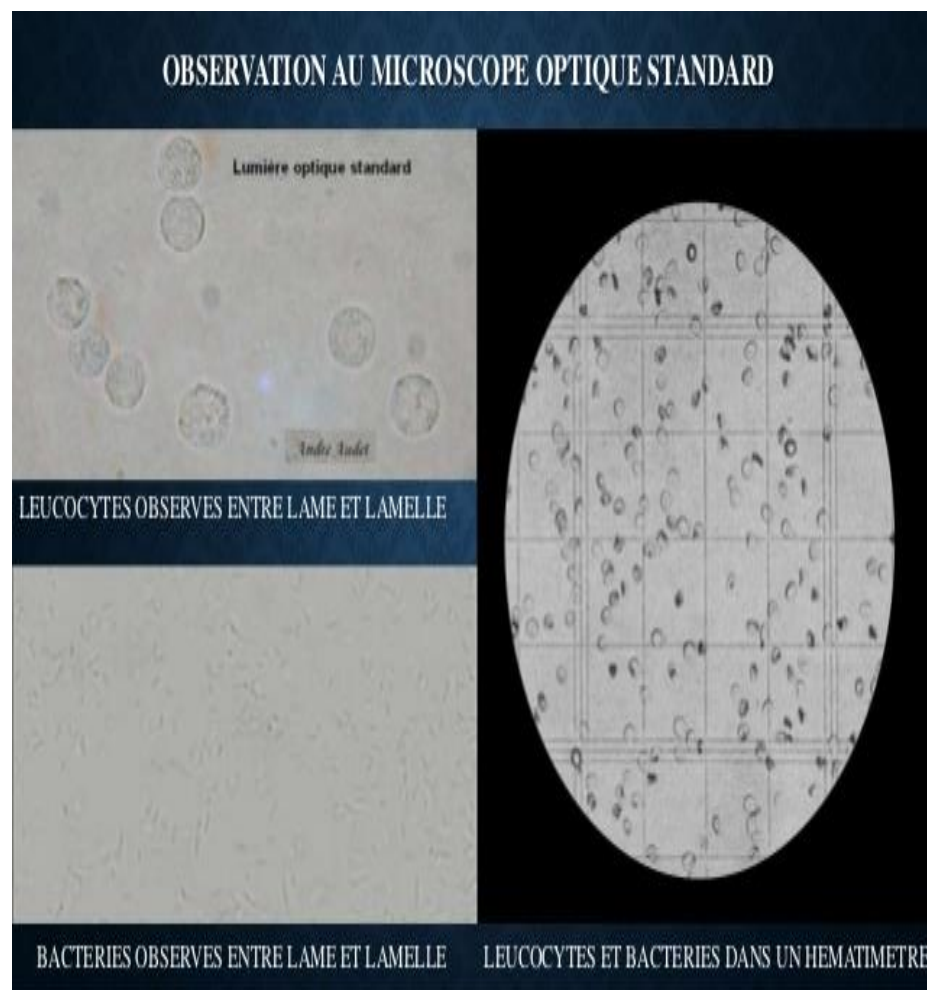
urine pathologique ↔

Leucocyturie > 10⁴/ml ou > à
10 leucocytes / mm³

❑ Si la numération se fait entre lame et lamelle → semi quantitative:

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

❖ 1 à 2 L/ champ = **10-25 L /mm³**

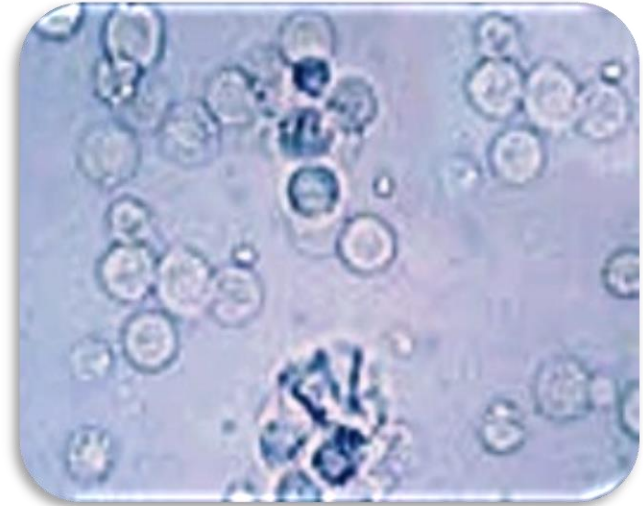


Interprétation de l'examen microscopique

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

Les leucocytes

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

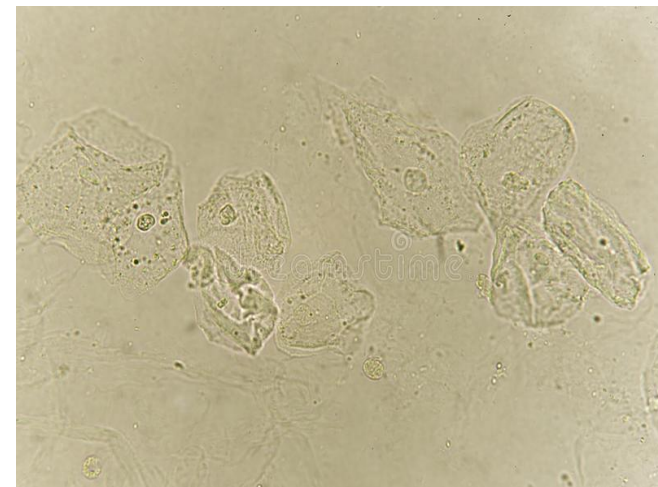


Les hématies

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

Les cellules épithéliales

Des cellules rénales, urétérales, vésicales et urétrales.

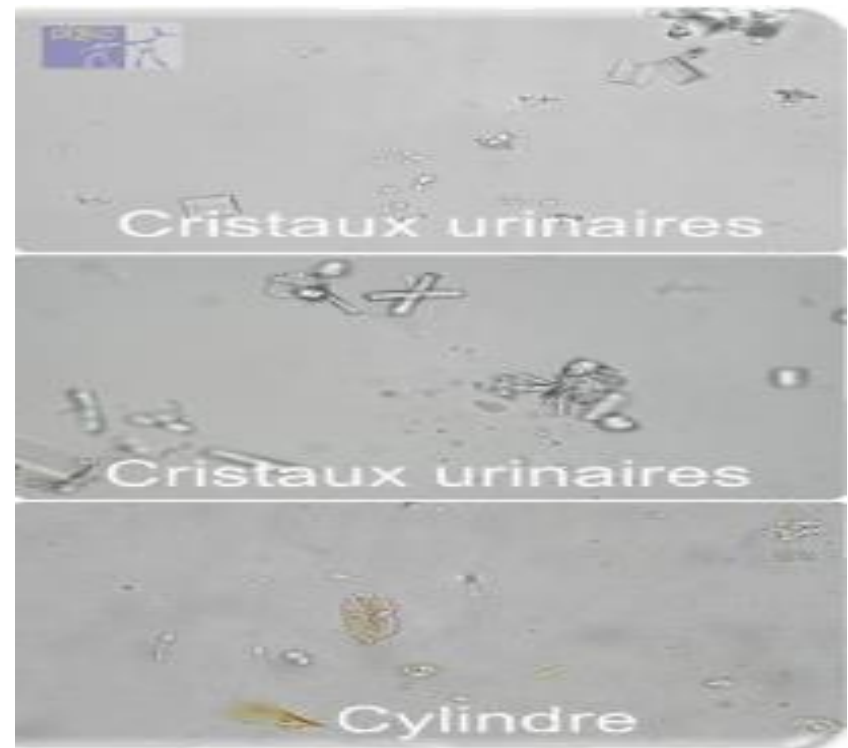


Interprétation de l'examen microscopique

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

Les cylindres

- Cylindres hyalins (protéiques) (1) ⇒ atteinte tubulaire
- Cylindres granuleux: rare (dégénérescence de cellules épithéliales) (2) ⇒ Néphrite grave



Les cristaux

Interprétation de l'examen microscopique

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

Les bactéries

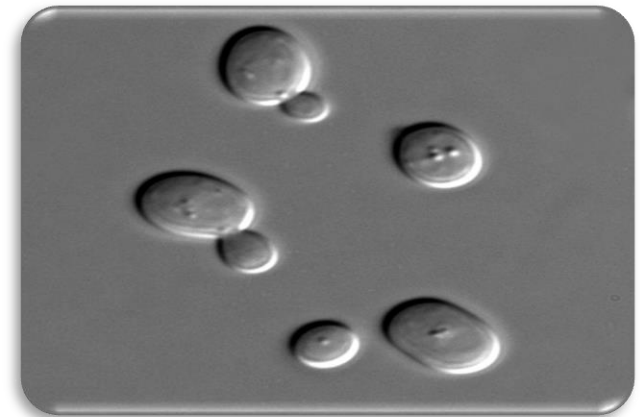
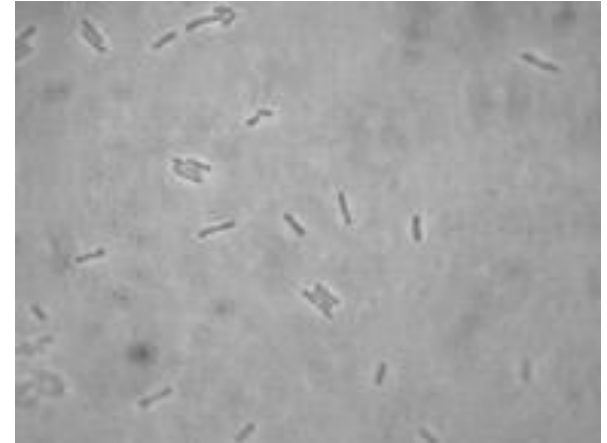
On peut apprécier la présence d'éventuelle bactéries, leurs formes et leur mobilité.

Les parasites

- ☐ Trichomonas vaginalis
- ☐ OEufs de Schistosoma haematobium.

Autres

- ☐ Levures : Elles sont sphérique ou ovale, de taille variable (5 à 12 mm).
- ☐ Spermatozoïdes (leur présence est anormale → refaire le prélèvement



Interprétation de l'examen microscopique

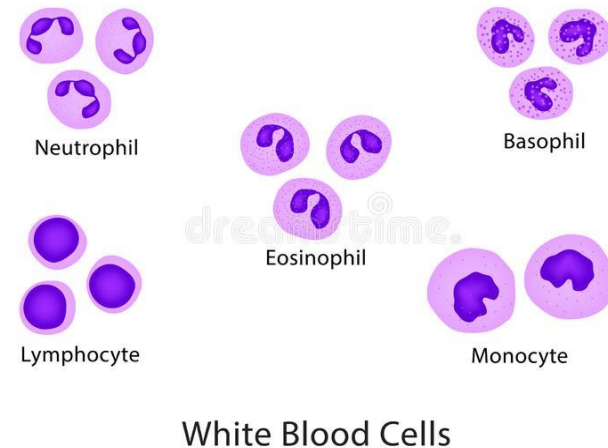
Examen direct après coloration

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)



Appareils et méthodes automatiques

- Il existe différents automates permettant de cribler en moins d'une demi-heure les urines et de déterminer les échantillons à ensemercer.
- Différents technologies ont été développées:
 - ❑ La microscopie à flux couplée à un système d'analyse d'image (IRIS IQ200),
 - ❑ Un système de marquage fluorescent (Sysmex UF-100) permettant non seulement le compte de bactéries mais aussi celui des leucocytes, des hématies et la détection des cristaux et des levures.



Appareils et méthodes automatiques

- La technologie de l'automate **Cellenium-160US** repose sur l'utilisation d'une sonde fluorescente marquant l'ensemble des bactéries qui sont détectées et dénombrées par un microscope à fluorescence.
- Le « **Coral UTI Screen system** » repose sur la quantification de l'ATP bactérien par fixation sur la luciférine et émission de la lumière après action de luciférase.
- ❖ Tous ces automates ont pour inconvénient d'être cher à l'achat et ne peuvent être utilisés que par les laboratoires traitant plusieurs centaines d'échantillons /jr



Culture et incubation

❑ Les méthodes d'ensemencement

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.

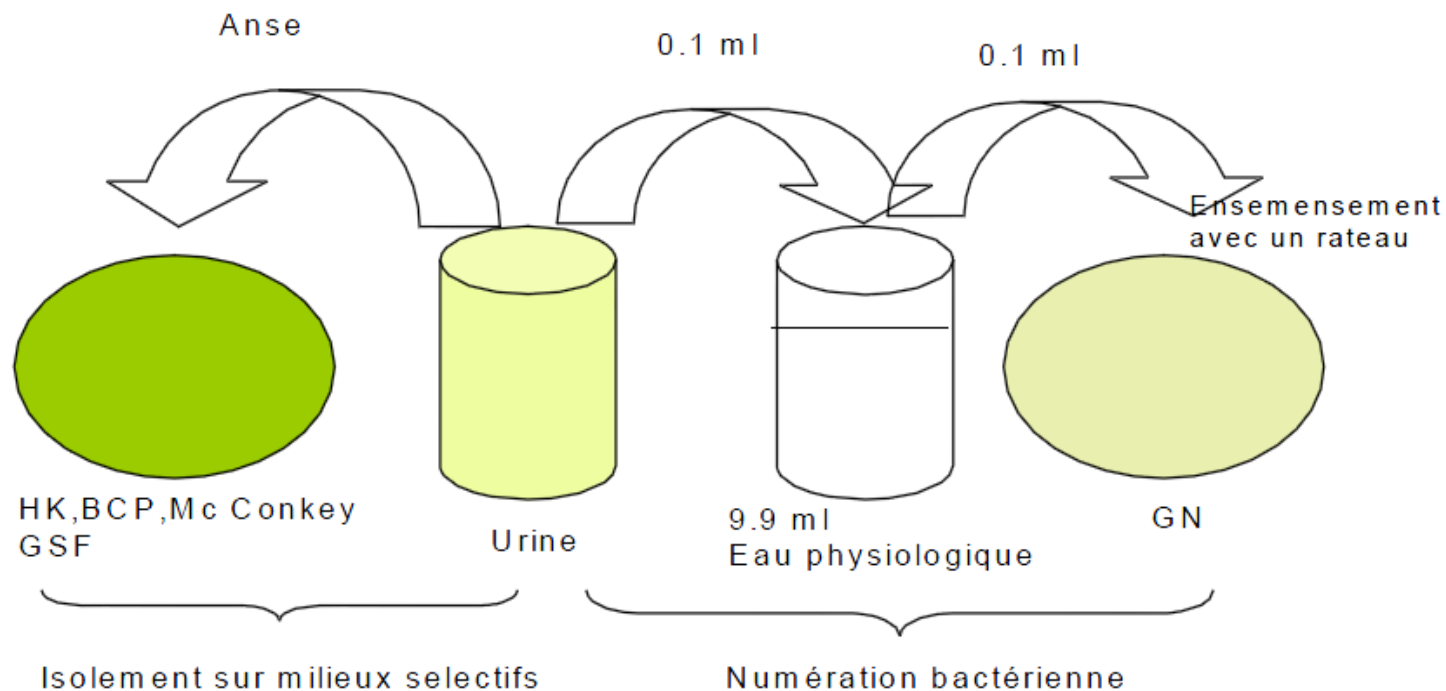
MÉTHODE DE VERON : ou Méthode de KASS modifiée :

- 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 GN avec un râteau préalablement stérilisé.

Culture et incubation

Méthode de KASS modifiée:



Culture et incubation

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

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

$N=n.10^2 .10$ bactérie / ml Où : n : Nombre de colonie sur la boîte.

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

Culture et incubation

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

Nombre de colonie : 1-9 : 10^3 Bact/ml $\Rightarrow$ Numération négative

10-99 : 10^4 Bact/ml $\Rightarrow$ Numération douteuse

+ 100 : 10^5 Bact/ml $\Rightarrow$ Numération positive

- Interprétation :

- UFC=Unités formant colonie
- Chaque colonie qui pousse à partir de l'urine diluée correspond à 1000 UFC/01 ml d'échantillon.
- Une bactériurie significative est considérée devant une numération **> 100 colonies** sur GN $\Leftrightarrow$ **> 10^5 UFC / ml.**

Culture et incubation

3- Méthode de l'anse calibrée

(avec ou sans milieu chromogène)

- Description de la technique

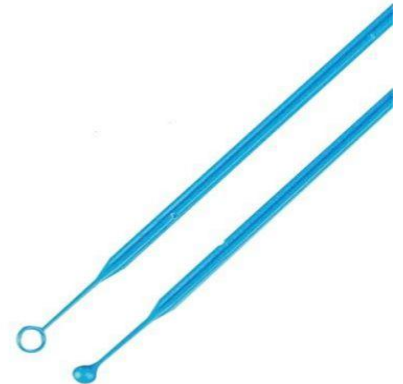
Une anse calibrée à **10 μ l** $\rightarrow$ ensemençer sur G et G sélectives.

- 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.



Culture et incubation

3- Méthode de l'anse calibrée

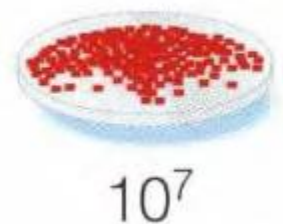
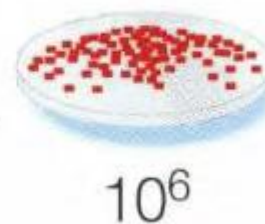
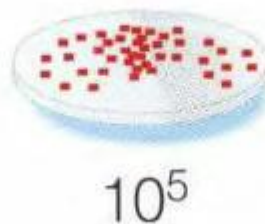
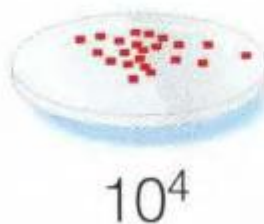
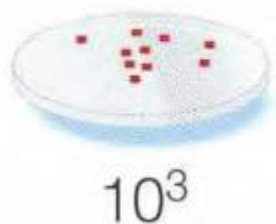
- Inconvénients

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.

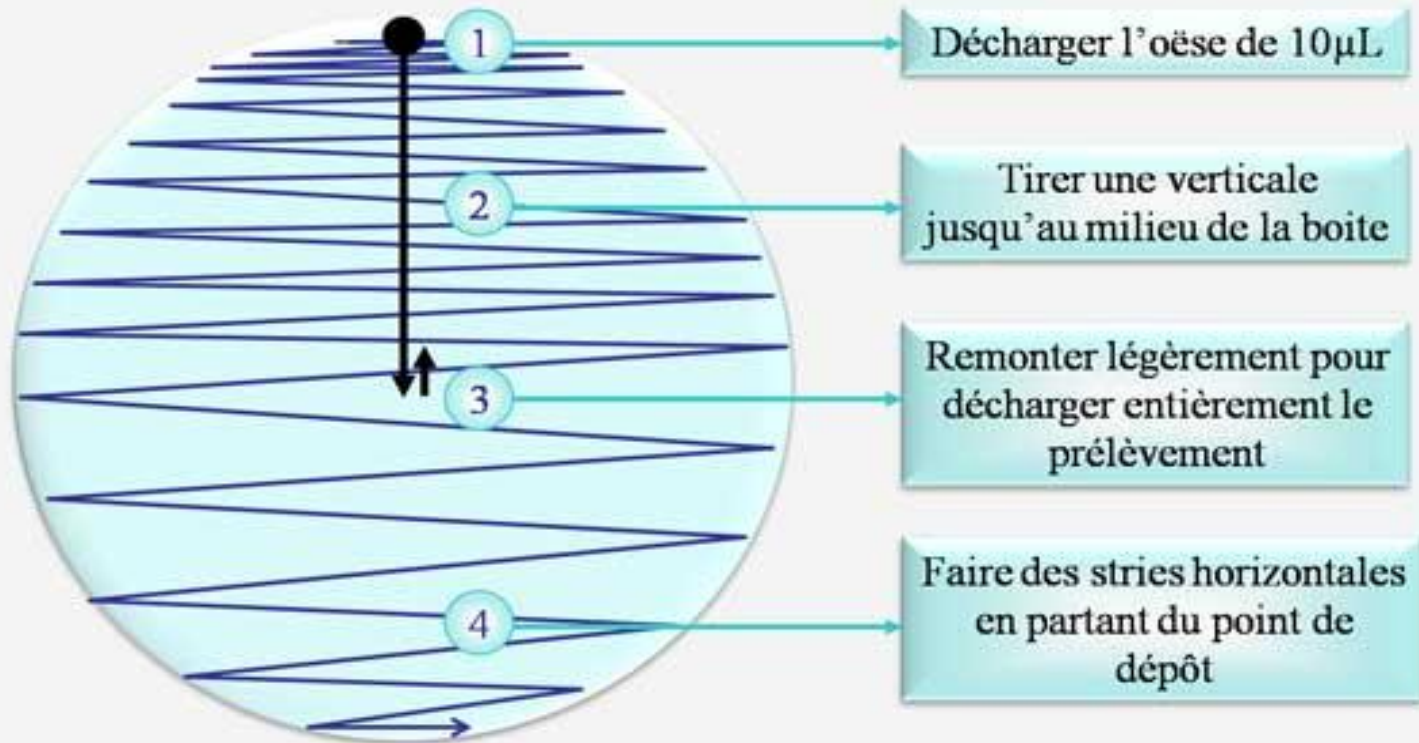
- Interprétation

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



Ensemencement de l'urine

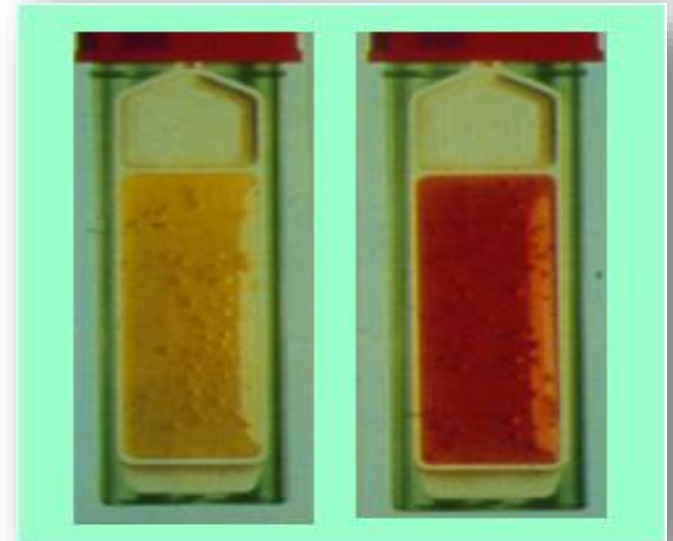
Ensemencement d'une urine



Mettre à l'étuve 37°C pendant 18-24H

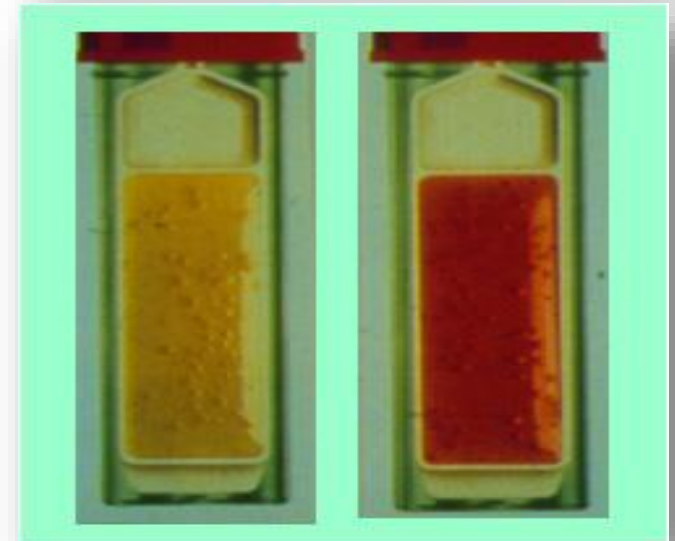
La lame immergée

- ❖ Une lame porte objet munie d'un quadrillage en relief est recouverte de gélose CLED (Cystine – Lactose – Electrolyte – Déficient) sur une face et de gélose Mac Conkey sur l'autre. L'intérêt de la gélose de Mac Conkey est d'inhiber les bactéries à Gram+ et le développement en nappe des Proteus.
- ❖ On plonge dans l'urine fraîchement émise la lame.

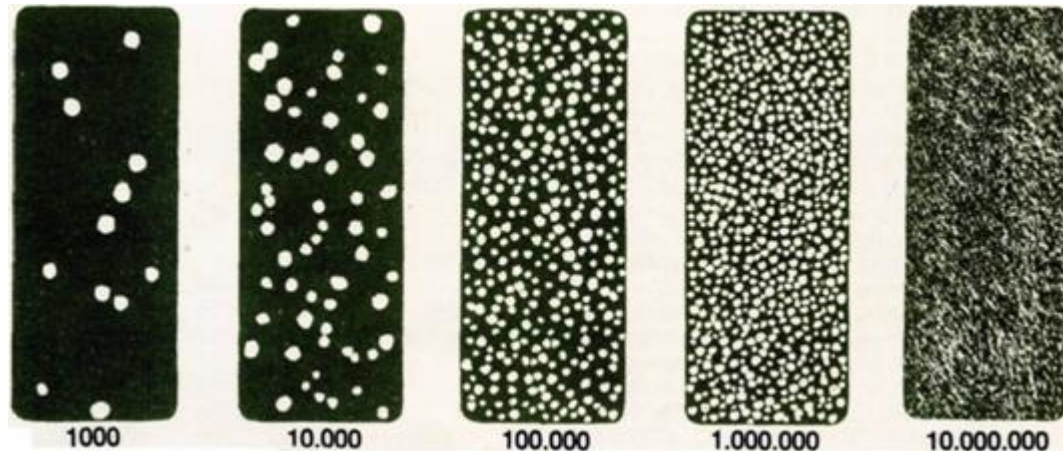


La lame immergée

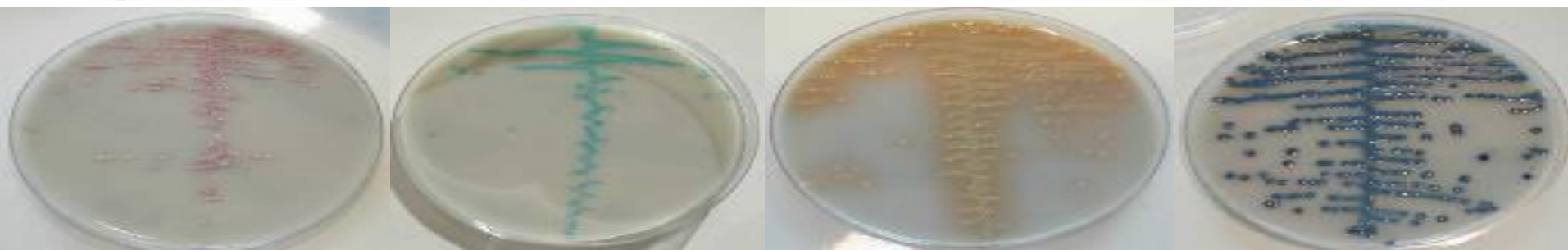
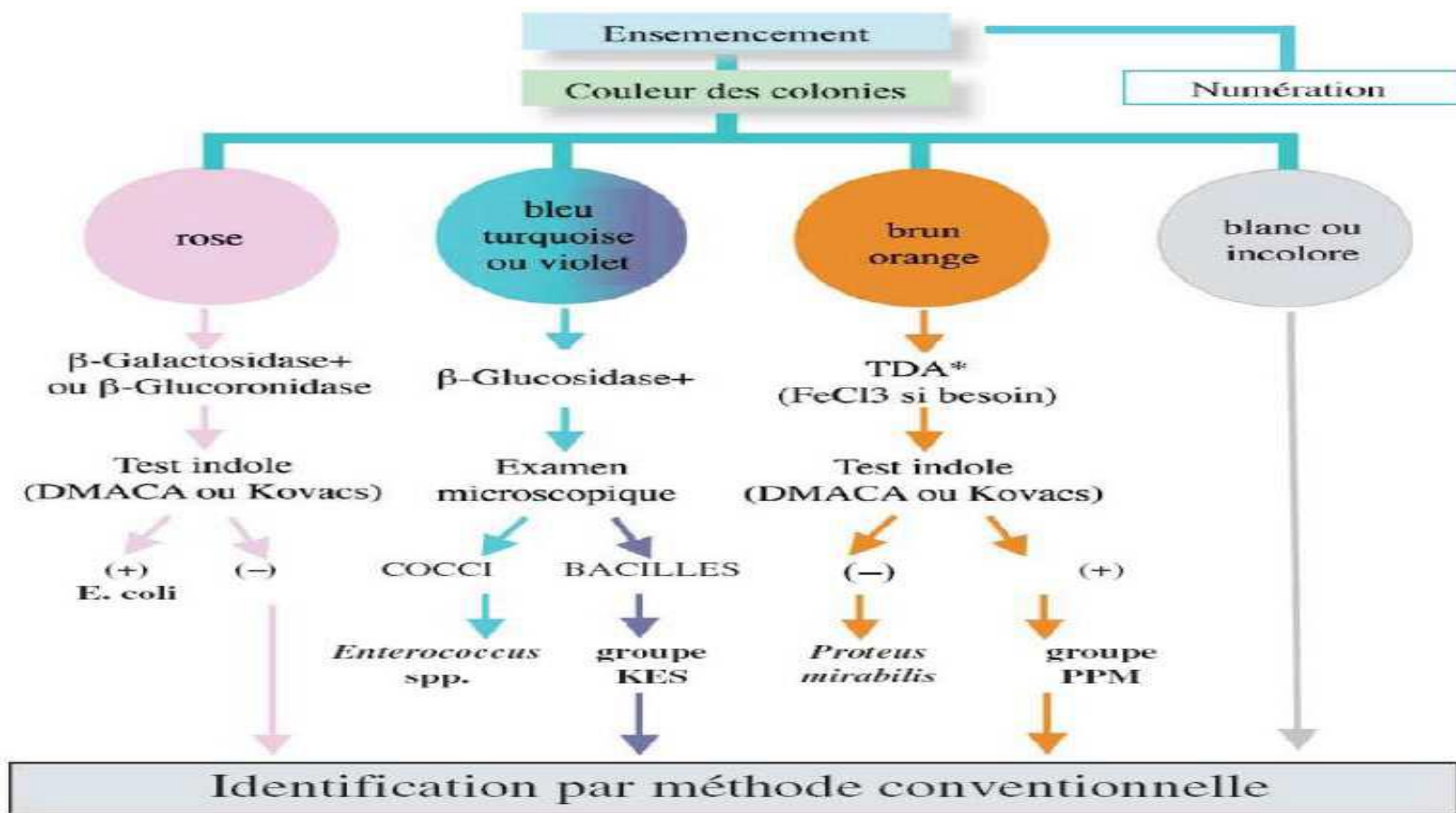
- ❖ Cette méthode permet d'ensemencer les urines au lit du malade et limite les risques d'erreurs liées aux mauvaises conditions de transport.
- ❖ Cependant elle présente l'inconvénient de ne pas obtenir des colonies isolées pour des concentrations de 10^6 bactéries et plus/ ml et donc nécessite souvent le réensemencement en isolement en cas d'infection , elle coute chère.



La lame immergée



Identification



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 cystite hémorragique (recherche de C.uréalyticum)
- Lowenstein Jensen si présence de BAAR à l'ED
- ½ sabouraud si levures à l'ED.

* Incubation: 18 –24heures à 37°C

Dénombrement et différenciation des colonies

Selon **KASS** les critères de diagnostic de l'IU :

- * Bactériurie $\geq 10^5$ UFC/ml $\rightarrow$ **infection urinaire**,
- * Bactériurie $\leq 10^4$ UFC/ml $\rightarrow$ **absence d'infection urinaire**
- * Entre les deux seuils $\rightarrow$ **douteux**.

Leucocyturie	$> 10 \text{ éléments/mm}^3 = 10^4 \text{ éléments/ml}$ (attention les 2 modes d'expression coexistent ce qui est source de confusion !)
Hématurie (inconstante)	$> 10/\text{mm}^3 = 10^4/\text{ml}$
Bactériurie	$\geq 10^3$ UFC/ml pour les cystites aiguës à coliforme $\geq 10^5$ UFC/ml pour les cystites aiguës à autre germe $\geq 10^4$ UFC/ml pour les pyélonéphrites et prostatites $\geq 10^3$ UFC/ml pour les IU nosocomiales

Identification et antibiogramme

- Identification classique: Oxydase/ catalase/ galerie biochimique
- Ou par (API system)
- Identification des colonies sur milieux chromogènes:
- Identification antigénique



E coli

Identification et antibiogramme

- Méthode de diffusion en disque selon les recommandations du CLSI
- Milieu : **Mueller hinton** (MH)
- Si germe exigeant comme Streptocoque il se fait sur **gélose au sang à base de MH**



Interprétation de l'ECBU

Vus les risques de contamination de l'ECBU on associe:

une analyse quantitative de la culture urinaire

+

une analyse quantitative de la leucocyturie.

Germes incriminés

➤ Groupes I

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

➤ 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, *Entéroccoccus.sp*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Corynebacterium urealyticum*, *Haemophilus spp*.

Germes incriminés

➤ 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.baumanii*, *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*)

Interprétation (REMIC)

Interprétation des résultats de l'ECBU

	Bactériurie	Pyurie	Symptômes	Traitement
Colonisation	+	—	—	—
Infection asymptomatique	+	+	—	+*
Infection symptomatique	+	+	+	+
Inflammation sans infection	—	+	—	±
Symptômes sans infection	—	—	+	±

* dans certaines circonstances

Attitude pratique **Normal**

Critères significatifs de Stamm			Eventualités	Suites
Leucocyturie	Bactériurie	Types de colonie	Interprétation	Conduite
Non	Non	0	ECBU stérile	Normal
Oui	Non	0	Traitement antibiotique Bactérie exigeante (B.K.) Leucocytes génitaux	A refaire et adapter les techniques
Non	Oui	Une sorte	Infection débutante Infection aplasique Contamination	Identification et antibiogramme ou à contrôler
Oui	Oui	Une sorte	Infection typique	Identification et antibiogramme
Non	Non	> 1	Souillure	Aucune
Oui	Non	≥ 2	Infection sur sonde ?	A contrôler
Non	Oui	≥ 2	Souillure	Aucune
Oui	Oui	≥ 2	Infection polymicrob. ?	A refaire

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 IU par le labo: un contrôle de ECBU n'est nécessaire que si évolution défavorable (reprise T° ou de douleurs..)