

FAC MED.PHARM.
Année universitaire 2015/16
Module Maladies Infectieuses.
Cours de bactériologie
Allag h.

Bactériologie de l'infection urinaire :ECB Urines

1• Indications

-A-Un ECBU est indiqué devant toute suspicion clinique d'infection urinaire (IU), à l'exception des cystites simples non récidivantes, c.à.d. sans facteurs de risque de complication et sans facteur de risque d'antibio-résistance qui peuvent rendre l'infection plus grave et/ou le traitement plus complexe.

La présence de renseignements cliniques accompagnant la prescription est indispensable.

• Facteurs de risque de complication :

- toute anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire quelle qu'elle soit (résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent ...),

- sexe masculin,

- grossesse,

- sujet âgé : patient âgé de plus de 65 ans avec ≥ 3 critères de fragilité (perte de poids involontaire, vitesse de marche lente, faible endurance, fatigue, activité physique réduite) ou patient de plus de 75 ans,

- immunodépression grave (immuno-modulateurs, cirrhose, transplantation...),

- insuffisance rénale chronique sévère (clairance $< 30\text{mL/min}$).

Le diabète, même insulino-requérant, n'est plus considéré comme facteur de risque de complication.

• Facteurs de risque d'antibio-résistance : prise d'antibiotiques dans l'année, hospitalisation dans les 3 mois, résidence dans une structure de long séjour, présence d'une sonde à demeure, voyage récent en zone d'endémie ...

• IU récidivante : une cystite est considérée arbitrairement comme récidivante s'il y a au moins 4 épisodes pendant une période de 12 mois consécutifs.

• Infections urinaires graves : ce sont les pyélonéphrites aiguës (PNA) et les IU masculines associées à :

- un sepsis grave,

- un choc septique,

- une indication de drainage chirurgical ou interventionnel.

Il est recommandé de ne pas faire d'ECBU de contrôle dans le suivi des IU masculines et des PNA si l'évolution clinique est satisfaisante.

Dans la cystite aiguë simple, **la Bandelette urinaire (BU)** est le seul examen paraclinique recommandé (pour la recherche de leucocytes et/ou de nitrites).

Dans toutes les autres situations, la BU sert comme une aide au diagnostic ; sa positivité impose la réalisation systématique d'un ECBU.

• Interprétation de la BU :

- chez la femme symptomatique, l'absence simultanée de leucocytes et de nitrites a une bonne VPN ($> 95\%$), en l'absence d'immunodépression grave (pouvant entraîner des résultats faux-négatifs). Une BU négative doit faire rechercher un autre diagnostic

- chez l'homme, une BU positive pour les leucocytes et/ou les nitrites a une bonne VPP ($> 90\%$). En revanche, une BU négative ne permet pas d'éliminer une IU.

-B- En cas de colonisation urinaire (bactériurie asymptomatiques), les seules situations ou il faut réaliser un ECBU sont :

- avant une procédure urologique invasive programmée
- grossesse à partir du 4ème mois

-C- En cas d'échec d'un traitement probabiliste d'une infection urinaire

Remarques :

- Chez la personne âgée toute la difficulté est d'attribuer à la bactériurie la responsabilité d'un tableau clinique atypique (fièvre isolée, douleurs abdominales, altération inexpliquée de l'état général...) ; la recherche d'une uropathie doit être systématique.
- La recherche de *Chlamydia trachomatis* sur les urines (1er jet) ainsi que la recherche de mycobactéries sont uniquement effectuées sur prescription explicite.

2- PRÉLÈVEMENT

-A- Chez un adulte non sondé

Le prélèvement doit être effectué de préférence sur les urines de la première miction du matin ou à défaut, à plus de 4 heures d'une miction précédente (pour permettre un temps de stase suffisant dans la vessie), en dehors des périodes de menstruation (sinon port de tampon) et avant tout traitement antibiotique si possible (sinon le signaler).

Déroulement du prélèvement (fait en général par le patient lui-même) :

- lavage de mains (à l'eau et au savon ou friction avec un produit hydro-alcoolique)
- toilette soigneuse au savon ou avec un antiseptique (lingette, compresse) :
 - chez la femme : de la vulve, des grandes et des petites lèvres en les écartant, et du méat urétral
 - chez l'homme : du prépuce et du méat urétral
- rincer à l'eau stérile
- recueil des urines du "milieu du jet" : éliminer le premier jet d'urine (environ 20 mL d'urines) et recueillir les 20 à 30 mL suivants dans un flacon stérile sans en toucher le bord supérieur (pour la BU, le flacon doit être propre mais pas nécessairement stérile),
- fermer hermétiquement le flacon,
- inscrire sur le flacon : nom, prénom, ECBU et date du prélèvement.

-B- Chez un nourrisson et le jeune enfant

- lavage de mains du préleveur (parent ou personnel de santé),
- le prélèvement d'urine du "milieu du jet" après désinfection soigneuse, de la vulve, du prépuce ou du gland reste la technique à privilégier chez les enfants qui ont une miction volontaire. En cas d'impossibilité, utiliser un collecteur d'urine, si possible posé au laboratoire : utiliser un collecteur stérile (poche adhésive) après désinfection soigneuse du périnée (savon ou antiseptique, rinçage à l'eau stérile) ; la poche doit être changée toutes les 30 minutes et enlevée dès l'émission des urines (risque de contamination avec 30 à 65 % de faux positifs),
- transvaser les urines dans un flacon stérile dès le recueil,
- puis idem que contexte habituel.

-C- Chez un patient porteur d'une sonde urinaire : après lavage des mains (préleveur : personnel de santé), le recueil se fait par ponction (seringue + aiguille stérile), après désinfection (alcool iodé :1 minute), sur le site spécifique du dispositif de sonde (et jamais à partir du sac collecteur).

Si changement de sonde : faire prélèvement sur nouvelle sonde.

- ne pas déconnecter la sonde du sac pour prélever les urines,
- l'analyse bactériologique des embouts de sonde urinaire n'a pas montré son intérêt et n'est pas recommandée.

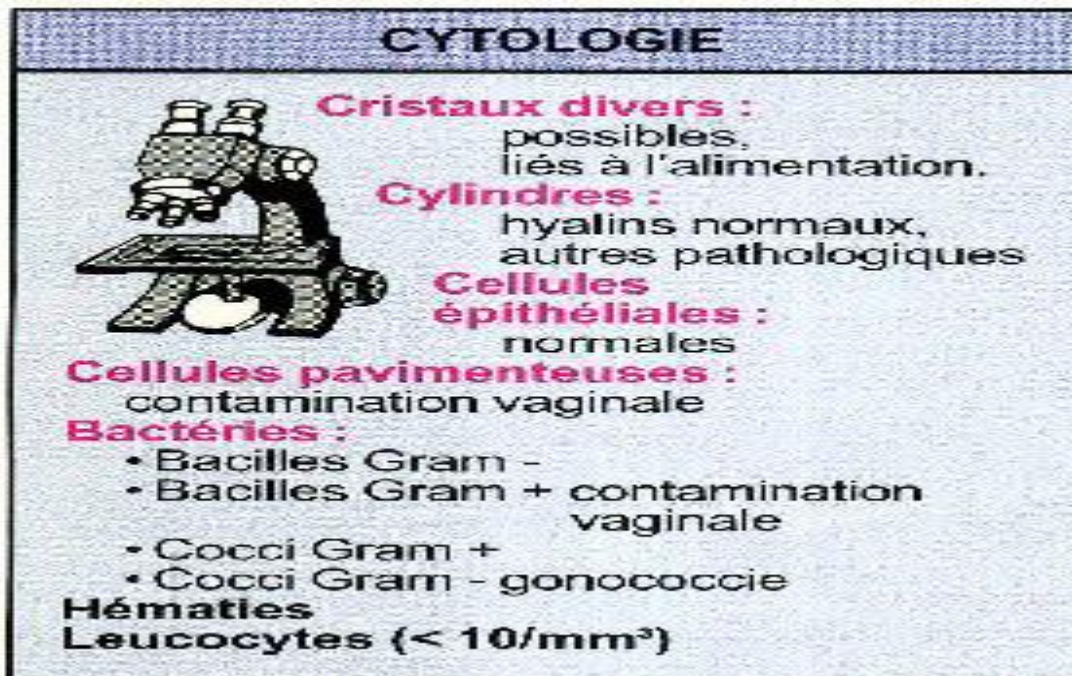
-D- Chez le patient incontinent

Le recueil se fait par sondage ‘aller-retour’ chez la femme et par collecteur pénien voire cathétérisme suspubien chez l’homme.

3 - CONDITIONS DE TRANSPORT

Acheminer les prélèvements le plus rapidement possible au laboratoire. Les urines, recueillies dans un récipient stérile, ne doivent jamais être conservées plus de 2 heures à température ambiante ; à défaut, les conserver à 4 °C pour une durée maximale de 24 heures. Des tubes de recueil contenant de l’acide borique permettent de conserver les urines à température ambiante pendant 48 heures.

4 - INTERPRÉTATION



• Colonisation urinaire : le diagnostic repose sur l’absence de signe clinique, la présence d’une bactériurie significative, sans exigence sur un seuil de leucocyturie, ni de bactériurie sauf chez la femme enceinte (10⁵ UFC/mL).

• Infection urinaire : le diagnostic repose sur des signes cliniques évocateurs, l’existence d’une bactériurie et d’une leucocyturie considérées comme significatives.

En cas de discordance entre un tableau clinique évident d’IU et une bactériurie et/ou une leucocyturie inférieure au seuil, le tableau clinique prime.

-A- Infection urinaire communautaire de l’adulte non sondé

Leucocyturie

LEUCOCYTURIE	
Aspect	Le caractère altéré ou non des leucocytes n'est pas primordial : car leur aspect n'est pas un bon critère d'interprétation.
Numération	<ul style="list-style-type: none">● $\leq 50/\text{mm}^3$: leucocyturie faible sans signification pathologique.● 50-10 000/mm^3 leucocyturie pathologique. Interpréter selon le contexte clinique.

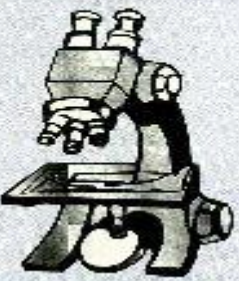
A l'état physiologique : l'urine contient moins de 10^3 leucocytes/mL (et moins de 10^3 hématies/mL).

En cas d'infection urinaire, la leucocyturie est considérée comme significative si elle est $\geq 10^4$ leucocytes/mL (\pm associée à une hématurie $\geq 10^4$ hématies/mL)

Remarque : la présence de cellules vaginales traduit une contamination de l'urine ; leur présence doit faire interpréter avec prudence la leucocyturie et/ou l'hématurie qui peuvent alors avoir une d'origine génitale.

La leucocyturie peut cependant être absente au cours d'authentiques IU, quand l'ECBU est réalisé précocement (leucocyturie retardée de quelques heures), chez les patients neutropéniques, ou si les urines ne sont pas traitées rapidement (lyse possible des leucocytes). Une leucocyturie même importante n'est pas spécifique d'IU. En effet, il existe de nombreuses autres causes pouvant être à l'origine d'une leucocyturie (vulvo-vaginite, maladie inflammatoire dont le syndrome de Kawasaki, urétrite, posthite [inflammation du prépuce], tuberculose...). Une leucocyturie isolée peut aussi traduire une IU ayant fait l'objet d'un ECBU après l'initiation d'une antibiothérapie (concept de l'infection «décapitée»).

Le seuil de bactériurie est fonction de la forme clinique et de l'espèce bactérienne :

LA NUMERATION DES GERMES			
	< $10^3/\text{ml}$	10^4 à $10^5/\text{ml}$	> $10^5/\text{ml}$
	Urine stérile	Infection et contamination possibles	Infection certaine
		En cas de doute renouveler l'ECBU	

quatre groupes de micro-organismes sont définis selon leur caractère pathogène, le seuil de bactériurie significatif (pour l'espèce) et leur niveau d'implication dans l'étiologie des IU :

-A1-Groupe 1 : comprend les bactéries considérées comme particulièrement uropathogènes et souvent isolées chez des patients ne présentant pas d'uropathie. Le seuil de bactériurie retenu pour ces espèces est de 10^3 UFC/mL quel que soit le tableau clinique d'IU (cystite, pyélonéphrite, IU masculine). Il s'agit d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus saprophyticus*

-A2-Groupe 2 : comprend l'essentiel des bactéries uropathogènes qui peuvent être responsables d'IU communautaires (en particulier les entérobactéries), mais sont plus habituellement impliquées dans des IU nosocomiales ou lorsqu'il existe des facteurs anatomiques ou iatrogènes favorisants. Ce groupe comprend : *Proteae*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium urealyticum*, *Enterococcus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Pour ces espèces bactériennes :

- en culture monomicrobienne (plus particulièrement pour *Enterococcus* spp), le seuil significatif de bactériurie est 10^4 UFC/mL chez la femme et est abaissé à 10^3 UFC/mL chez l'homme

- en revanche, quand ce genre est retrouvé en association avec *E. coli*, ce qui est fréquent en pratique clinique, le seuil est alors augmenté à 10^5 UFC/mL.

-A3-Groupe 3 : comprend les bactéries dont l'implication comme pathogène est peu probable et exige un niveau de bactériurie $\geq 10^5$ UFC/mL. Il s'agit de : *Streptococcus agalactiae*, staphylocoques à coagulase négative (autre que *Staphylococcus saprophyticus*), *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, autres *Pseudomonaceae*, *Aerococcus urinae*, *Oligella urethralis* ou les *Candida* spp.

-A4-Groupe 4 : espèces considérées comme contaminantes, qui appartiennent habituellement à la flore urétrale ou génitale de proximité : lactobacilles, streptocoques alpha-hémolytiques, *Gardnerella vaginalis*, *Bifidobacterium* spp., bacilles corynéformes (sauf *Corynebacterium urealyticum*).

Théoriquement, seul leur isolement à partir d'une ponction sus-pubienne peut permettre de confirmer leur rôle pathogène. Leur isolement associé à la présence de cellules épithéliales urinaires à l'examen direct des urines signe de façon quasi-certaine une contamination au moment du prélèvement.

En pratique, les seuils de bactériurie considérés comme significatifs pour les espèces bactériennes les plus courantes, chez un patient symptomatique avec leucocyturie $\geq 10^4$ /ml sont :

Espèces bactériennes	Seuil de significativité	Sexe
<i>E. coli</i> , <i>S. saprophyticus</i>	10^3 UFC/mL	Homme ou femme
Entérobactéries autres que <i>E. coli</i> , entérocoque, <i>C. urealyticum</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	10^3 UFC/mL Homme	10^4 UFC/mL Femme

Interprétation de la bactériurie dans les cas particuliers :

- ECBU prélevé par ponction sus-pubienne, le seuil de significativité est ≥ 10 UFC/mL pour les bactéries des groupes 1 à 4.

- ECBU prélevé par sondage simple, le seuil de significativité est $\geq 10^3$ UFC/ml, pour les bactéries des groupes 1 à 3.

Dans tous les cas, ces seuils sont à interpréter en fonction du contexte clinique.

En cas d'interprétation douteuse en présence d'un tableau clinique évocateur, effectuer un ECBU de contrôle réalisé dans des conditions d'asepsie strictes.

Bactéries	%communautaire	%hospitalière
-----------	----------------	---------------

Dr allag h- Laboratoire Central - CHU De constantine
Cours De Microbiologie –année universitaire 2015/ 2016.

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE D'UNE INFECTION URINAIRE

I- PHYSIOPATHOLOGIE :

L'urine est normalement stérile.

L'infection urinaire peut se limiter à la vessie (cystite) ou se compliquer d'une atteinte rénale (pyélonéphrite)

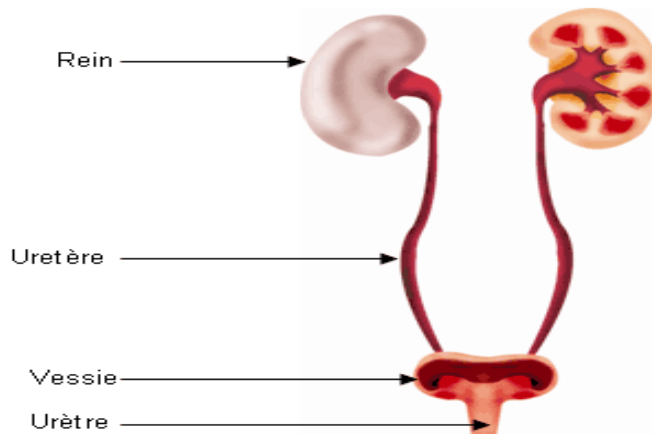


Tableau n° 1. Les signes

Signes fonctionnels	Cystite aiguë Pollakiurie Dysurie	Pyélonéphrites Douleurs lombaires + ou - dysurie	Prostatite aiguë Dysurie
Signes généraux	Pas de fièvre	Fièvre	Fièvre Atteinte de l'état général

A- Voies de contaminations :

Trois voies sont possibles :

- Voie ascendante (la + fréquent): Contamination du méat urinaire à partir de la flore fécale et périnéale. Beaucoup plus chez la femme en raison de l'urètre court.
- Voie hématogène : Suite à une bactériémie.
- Voie iatrogène-nosocomiale : Suite à des manœuvres instrumentales (endoscopiques, sondage) ou chirurgicales portant sur les voies urinaires.

B- Les facteurs prédisposant :

- Présence d'un obstacle sur les voies excrétrices (calcul rénal ou vésical)
- L'hypertrophie prostatique.
- Une malformation favorisant la stase urinaire (reflux urétral + + +)
- La grossesse.
- Le diabète.
- Le sujet âgé.
- Problèmes neurologiques avec retentissement sur la vessie.
- Sujet âgé.
- *Problèmes neurologiques avec retentissement sur la vessie*

C- Indice de fréquence des germes uropathogènes

E. coli	75 – 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		2

BU (Bandelette Urinaire) + ECBU = Examens clés

II- ECBU (EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES)

L'infection du tractus urinaire est l'une des infections les plus fréquentes → ECBU une des analyses microbiologiques les plus demandées.

A- APPORT DES EXAMENS BACTERIOLOGIQUES DANS LES IU :

Les objectifs de l'ECBU sont de:

- Mettre en évidence la présence de bactéries dans les urines (bactériurie).
- Mettre en évidence et quantifier une leucocyturie et les éléments urinaires anormaux.
- Identifier et étudier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- Contrôler la stérilisation des urines après traitement.
- Distinguer une infection récidivante d'une rechute.

B- INDICATIONS DE L'ECBU :

- Symptômes évoquant une infection urinaire : - Brûlures mictionnelles
- Dysurie - Pollakiurie
- Hématurie - Incontinence urinaire
- Modification de l'aspect des urines.
- Douleurs pelviennes ou lombaires.
- Fièvre isolée.
- Devant une chimie des urines positive: Leucocytes, nitrites, sang ou protéines.
- Systématique chez les sujets à risque:
 - Femme enceinte - Diabétique
 - Porteur de sonde - Sujet alité
 - Anomalie urologique
 - En préopératoire en urologie ou gynécologie.
- Contrôle post thérapeutique.

C- EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES PROPREMENT DIT :

1/- LE PRELEVEMENT :

« La qualité du prélèvement conditionne la qualité de l'examen»

Il doit être pratiqué avant toute antibiothérapie ou bien après fenêtre thérapeutique de 24 heures si l'état du malade le permet.

a-Cas général habituel :

- Après une toilette locale avec du savon ou un antiseptique type dakin suivi d'un rinçage à l'eau.
- Recueillir les premières urines du matin ou à défaut les urines de la journée 3 à 4 heures au moins après la dernière miction.

Le premier jet (20 ml) sera éliminé et le deuxième jet (20-30 ml) est récupéré dans un récipient stérile.

b-Situations particulières :

*chez la femme : éviter la contamination des urines par les leucocytes et les bactéries de la flore vaginale.

*Chez l'homme : Sondage proscrit car risque d'infection urinaire chronique.

* Chez le nourrisson : On utilise un sac collecteur après nettoyage de la région périnéale, ce dernier ne doit pas être laissé en place plus de 30 mn. (Le renouveler si pas de miction en ce temps là).

* Chez le sujet sonde : Ne pas prélever à partir du sac collecteur mais clamber la sonde en aval pendant 10 mn désinfecter la sonde à l'alcool iode et ponctionner à l'aide d'une seringue puis transvaser dans un tube stérile.

* Chez le sujet incontinent ou handicapé : Homme → par collecteur pénien.
Femme → par sondage urinaire.

* Ponction sus pubienne: (Geste spécialisé) ne doit être réalisé que si la voie normale est impossible. Réalisée sur vessie pleine après désinfection soigneuse (le germe isolé est identifié quelle que soit la numération).

* Recherche de mycobactéries :

- ✓ Examen de seconde intention.
- ✓ Effectué sur la totalité de la première miction du matin après restriction hydrique.
- ✓ Doit être répétée à plusieurs reprises car l'élimination des mycobactéries dans les urines est intermittente.

2/- TRANSPORT ET CONSERVATION :

- L'urine constitue un bon milieu de culture pour la plupart des bactéries. Ceci dit une fois prélevée:
- Elle doit être acheminée rapidement au laboratoire
- Elle ne doit rester plus de 2 heures à t°p ambiante.
- Elle peut être conservée 24 heures à + 4 °c sans modification de la bactériurie (en sachant que la réfrigération ne préserve pas les leucocytes)

3/- FICHE DE RENSEIGNEMENTS :

Nom:.....Prénom:.....

Age:.....Sexe:.....

Service:.....Heure du prélèvement:.....

Signes cliniques:..... traitement en cours

Antécédents :.....

Infection urinaire antérieure type de germe:.....

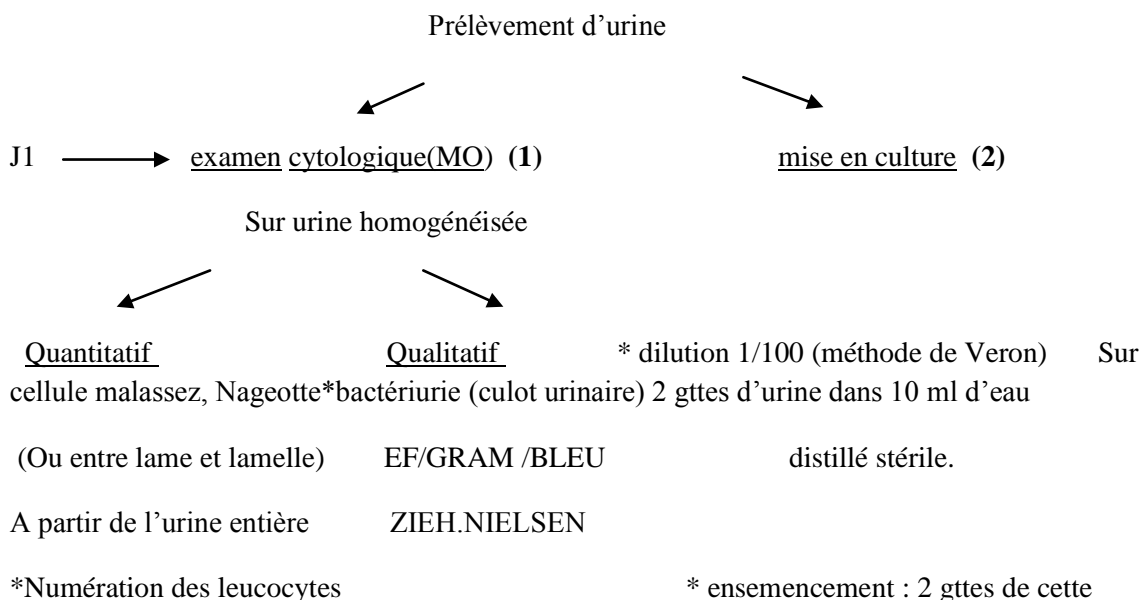
Grossesse Diabète

4/- PRINCIPALES ETAPES DE L'ECBU :

a- EXAMEN MACROSCOPIQUE :

- Urines claires, troubles (purulentes)
- sanglantes (hématurie initiale, terminale ou totale)
- ictérique (jaune brin)
- rouge, vert (origine alimentaire ou médicamenteuse).
- Présence de dépôt : - cristallin, blanchâtre (phosphate)
- rouge brique (acide urique)
- rose (Urate de soude).

METHODOLOGIE AU LABORATOIRE



*hématurie *levures*cristaux* cylindres

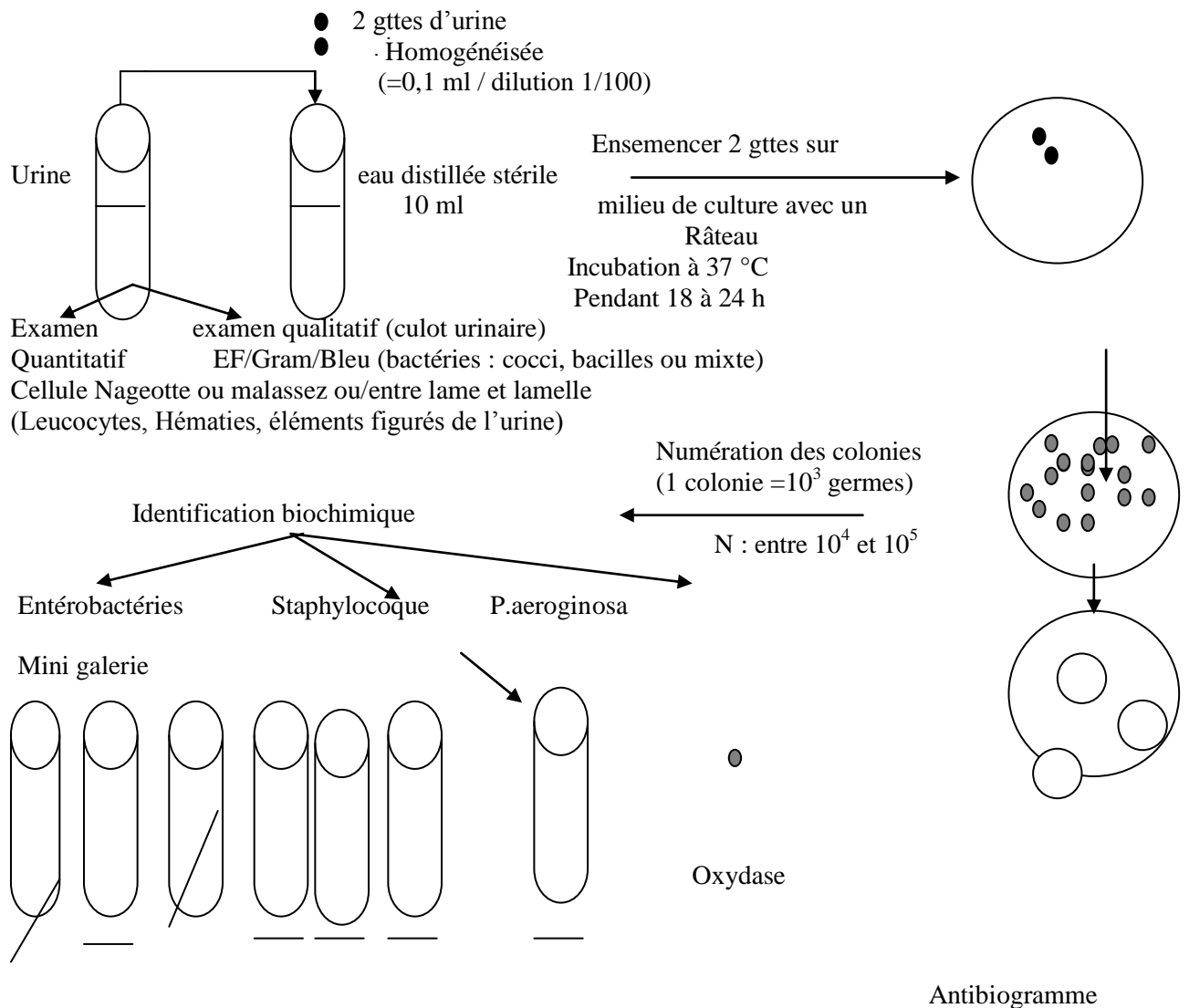
dilution (0.1 ml) sur 1/2 de culture

- GN (gélose nutritive) +
- GSF/GSC si cocci à l'examen direct
- Lowenstein –Jensen si présence de BAAR a l'ED.
- 1/2 sabouraud si levures a l'ED.
- * incubation 18 heures a 37°C (3)

j2 _____ * dénombrement et différenciation des Colonies. (4)

J3 _____ * identification et antibiogramme. (5)

METHODOLOGIE AU LABORATOIRE



TSI M.M C.S U.I C.L ONPG coagulase

b- INTERPRETATION DE L'EXAMEN MICROSCOPIQUE :

- 10 leucocytes / mm³ = 10⁴ L/ml

- 25 L /mm³ = 2.5 x10⁴ L/ml

- 100 L / mm³ = 10⁵ L/ml

- 500 L / mm³ = 5 x 10⁵ L/ ml

URINE PATHOLOGIQUE : Leucocyturie > 10⁴/ml ou > à 10 leucocytes / mm³

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

1 à 2 L/ champ = 10-25 L /mm³

c- DENOMBREMENT DES COLONIES :

- Selon la loi de KASS : Nombre de bactéries = Nbre de colonies x 10 x 100.
Donc 1 colonie = 10³ bactéries.

- On interprète de la manière suivante :

* Bactériurie < 10³ UFC /ml : Absence d'infection.

* Bactériurie > 10⁵ UFC /ml : Infection probable.

* Bactériurie entre 10⁴ et 10⁵ : zone douteuse tenir compte d'autres paramètres (examen direct, clinique, conditions du prélèvement, ECBU précédant ...etc)

Vue les risque de contamination l'ECBU associe:

Une analyse quantitative de la culture urinaire + une analyse quantitative de la Leucocyturie.

5/- INTERPRETATION DE L'ECBU :

--	--	--	--

LEUCOCYTE	BACTERIURIE	INTERPRETATION	CONDUITE
<10 ⁴	00	ECBU STERILE	AUCUNE
>10 ⁴	<10 ⁵	TRT ATB GERME EXIGENT(BK) LEUCOCYTES GENITAUX NEPHRITE INTERSTITIELLE CYSTITITE VIRALE TUMEUR PROSTATIQUE	REFAIRE ET ADAPTER LA TECHNIQUE.
<10 ⁴	> 10 ⁵ , 1 TYPE	INFECTION DEBUTANTE INFECTION APLASIQUE CONTAMINATION ID, AGEE, GROSSESE	IDENTIFICATION + ATB
>10 ⁴	>10 ⁵ , 1 TYPE	INFECTION TYPIQUE	IDENTIFICATION + ATB
<10 ⁴	>10 ⁵ , +sieurs type	SOUILLURE	AUCUNE
>10 ⁴	>10 ⁵ , 2 ou +	INFECTION SUR SONDE ?	A CONTROLER
>10 ⁴	<10 ⁵ , 2 ou +	I. polymicrobienne?	A refaire

6/-ANTIBIOGRAMME :

- En cas d'urgence médicale on peut réaliser l'ATB le premier jour directement à partir de l'urine.
- Tester les disques d'ATB selon le spectre de sensibilité probable de la bactérie et la diffusion dans le parenchyme rénal.
- Les ATB généralement testés sont : Bétalactamines, Aminosides, Fluoroquinolones, quinolones de première génération, Cotrimoxazole, Fosfomysine, Nitrofurantoine Nibiol.....etc
- Le niveau de résistance aux antibiotiques des germes incriminés est en augmentation.

SENSIBILITE AUX ATB DE E.COLI

Antibiotiques	1989	1998
Amoxicilline	74	<u>53</u>
Amox +acide clavulanique	94	<u>61</u>
Ciprofloxacine	-	97
Cotrimoxazole	90	<u>63</u>
Gentamicine	-	99.5

G- CONCLUSION :

- ❖ L'ECBU est un examen de laboratoire assez fréquemment demandé. il est bien codifié ces deux temps critiques sont :
- * le prélèvement trop souvent victime de son apparente simplicité.
- * l'interprétation micro biologique qui doit s'appuyer sur des arguments décisionnels irréprochables
 - ❖ Toutes les bactéries peuvent entraîner une infection urinaire mais également les champignons et les virus.
 - ❖ Correctement effectué, le dépistage par bandelette a un bon pouvoir prédictif négatif.
 - ❖ Un ECBU de contrôle est réalisé après 48 h de traitement ainsi qu'après l'arrêt du TRT.
 - ❖ Les infections urinaires sont la principale cause de septicémie à gram négatif, Il ne faut donc pas oublier non plus de pratiquer des hémocultures en cas d'infection urinaire haute ou en cas de fièvre.