

ÉTUDE CYTOBACTÉRIOLOGIQUE DES URINES

Un ECBU est demandé au laboratoire d'analyses médicales lorsqu'un malade présente les signes cliniques (symptômes) d'une infection urinaire.

1. Infections urinaires

1.1. Définitions

Une infection urinaire est la colonisation de l'appareil urinaire par des bactéries.

On distingue classiquement :

- les infections « basses » qui siègent dans le bas de l'appareil urinaire, c'est-à-dire au niveau de la vessie et de l'urètre. Elles se manifestent par des douleurs, des brûlures à la miction, une augmentation de la fréquence d'émission des urines, un sentiment persistant d'un besoin d'uriner et des urines troubles.
- les infections « hautes » qui siègent dans le haut de l'appareil urinaire, c'est-à-dire au niveau des reins. Elles se manifestent par des douleurs lombaires, de la fièvre et des vomissements.

1.2. Diversité des infections urinaires¹

1.2.1. La cystite

Une cystite est une inflammation de la vessie provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli*, qui sont nombreuses aux environs de l'anus. Les bactéries passent de la région vulvaire à la vessie en remontant l'urètre.

La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite.

1.2.2. L'urétrite

Si l'infection touche uniquement l'urètre (le conduit qui relie la vessie au méat urinaire), on l'appelle urétrite (inflammation de l'urètre).

Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (IST) plus fréquente chez les hommes que chez les femmes.

Différents agents infectieux peuvent causer l'urétrite. Les plus communs sont les *chlamydiae* et les *gonocoques* (bactéries responsables de la gonorrhée ou blennorragie).

1.2.3. La pyélonéphrite

La pyélonéphrite est un état plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet (pyélo-) et du rein (nephro-). Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, et principalement la femme enceinte.

1.3. Critères d'une infection urinaire

1.3.1. Une bactériurie élevée

L'urine est normalement stérile, ce qui ne veut pas dire qu'il n'y a pas de bactéries, mais que leur nombre est faible (inférieur à 10^3 bactéries par mL d'urine).

La bactériurie est le nombre de bactéries présentes dans un millilitre d'urine.

Une bactériurie supérieure à 10^5 bactéries par mL d'urine signe presque toujours une infection de l'appareil urinaire.

La bactériurie peut être déterminée par deux techniques mais la gélose de référence permettant le dénombrement des germes urinaires est la gélose CLED.

Voir fiche sur la détermination de la bactériurie

1.3.2. Une leucocyturie élevée

La plupart des infections sont caractérisées par l'afflux de leucocytes au niveau du foyer infectieux. Ces leucocytes sont majoritairement des granulocytes neutrophiles.

La leucocyturie est le nombre de leucocytes présents dans un millilitre d'urine. Une leucocyturie supérieure à 10^4 leucocytes par mL d'urine est en faveur d'une infection de l'appareil urinaire.

Une leucocyturie élevée s'accompagne souvent d'une pyurie c'est-à-dire de la présence de pus² dans les urines.

L'absence de leucocytes dans les urines ne signifie pas obligatoirement absence de foyer infectieux.

Voir fiche sur la détermination de la leucocyturie

1.3.3. Interprétation des résultats de la bactériurie et de la leucocyturie

Leucocyturie	Bactériurie	Interprétation
< 10^4	< 10^3	Urine normale
	entre 10^3 et 10^5	Souillure ou infection débutante
$\geq 10^4$	$\geq 10^5$	Souillure Infection urinaire débutante Infection sur terrain particulier (immunodéprimé, sonde, sujet âgé, femme enceinte)
	< 10^5	Infection traitée ou diurèse importante Tuberculose rénale Germe de culture difficile Infection génitale Infection sur sonde Bactéries en amas
	$\geq 10^5$	Infection urinaire certaine

1.4. Bactéries les plus fréquemment rencontrées

La fréquence des bactéries responsables d'infection urinaire varie selon la provenance des patients (laboratoires de ville ou laboratoires hospitaliers) et selon le caractère récidivant de l'infection.

Dans la grande majorité des infections urinaires, la bactérie responsable est une Entérobactérie. En laboratoire de ville, **90 %** des infections urinaires sont dues à *Escherichia coli*.

Les bactéries responsables d'infections urinaires sont les suivantes :

- En laboratoire de ville : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus coagulase -*, autres bactéries³
- En laboratoire hospitalier : *Klebsiella*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, autres bactéries²

¹ http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=infection_urinaire_pm#P78_6534

² Pus : fluide produit au cours du processus inflammatoire contenant des granulocytes et des débris cellulaires nécrosés et altérés.

³ *Acinetobacter*, *Providencia*, streptocoques des groupes B et C, *Staphylococcus aureus*

2. Déroulement d'une étude cytot bactériologique des urines

Le but de l'ECBU est multiple. L'ECBU permet :

- D'isoler, de dénombrer et d'identifier les bactéries responsables de l'infection urinaire et de réaliser un antibiogramme de la bactérie responsable
- De dénombrer les leucocytes
- De rechercher la présence de cylindres et de cristaux urinaires.

L'ECBU s'effectue en plusieurs étapes et en plusieurs jours.

2.1. Prélèvement

Il peut être réalisé au laboratoire ou à domicile. Dans ce dernier cas, le prélèvement doit être apporté sans délai au laboratoire.

Pour éviter une contamination trop importante au cours du recueil de l'urine, le prélèvement doit être effectué dans des conditions précises :

- Se laver les mains et procéder à une toilette intime avec un antiseptique (type Dakin®) (rinçage à l'eau physiologique du méat urinaire possible)
- Attendre minimum 3 h après la miction précédente (ou préférer la 1^{ère} urine du matin)
- Rejeter le premier jet d'urine et recueillir le milieu de jet dans un flacon stérile (à demander au laboratoire)
- Apporter le flacon sans délai au laboratoire
- Réaliser, préférentiellement, le prélèvement en dehors de la période des règles

2.2. Examen macroscopique de l'urine

2.2.1. Couleur

Normalement jaune.

Rose à rouge : hématurie

Orange-acajou : ictère (jaunisse)

2.2.2. Trouble

Présence de leucocytes, de bactéries et éventuellement de pus

2.2.3. Mesure du pH

Le pH normal de la première urine du matin est acide.

Un pH alcalin suggère une infection urinaire.

2.3. Dénombrement des bactéries et des leucocytes urinaires

Il est effectué dès que l'urine est déposée au laboratoire.

Les différentes techniques ainsi que l'interprétation de la bactériurie et de la leucocyturie ont été développées dans le paragraphe 1.3.

2.4. Examen du sédiment urinaire

Remarque : sédiment et culot sont synonymes.

2.4.1. Préparation du sédiment urinaire

Homogénéiser l'urine.

Remplir les 3/4 d'un tube à centrifuger.

Centrifuger 5 minutes à 2 000 tours/minute.

Rejeter le surnageant dans le bac d'eau de Javel, en retournant le tube sans à-coup.

Remettre en suspension le culot en aspirant et refoulant doucement trois fois avec une pipette.

2.4.2. Examens microscopiques réalisés sur le sédiment urinaire

À partir du sédiment urinaire, des frottis colorés (Gram, Ziehl) peuvent être réalisés pour orienter le diagnostic. Cependant, c'est l'examen à l'état frais qui renseignera avec précision sur la présence et la nature d'éléments cellulaires et cristallins.

Voir fiche : « Éléments du sédiment urinaire »

2.4.3. Éléments éventuellement présents dans le sédiment urinaire

a. Éléments organisés

- * Petits éléments ronds ou ovoïdes : levures, hématies, leucocytes
- * Éléments nucléés de taille moyenne : cellules épithéliales
- * Éléments de grande taille : grandes formations allongées (cylindres)

Les cylindres correspondent à l'agglutination de protéines qui vont se rassembler et prendre la forme des tubules rénaux. Chaque type de cylindres oriente vers une variété de maladie des reins (néphropathies).

- cylindres hyalins ou amorphes (transparents comme du verre) : pas de valeur diagnostique importante, inflammation des reins
- cylindres hématiques (constitués d'hématies) : atteinte des glomérules
- cylindres leucocytaires (constitués de leucocytes) : maladie inflammatoire

b. Éléments inorganisés : les cristaux

L'urine contient des substances peu solubles à des concentrations atteignant presque la saturation. Ainsi, elles peuvent précipiter et former des cristaux que l'on retrouve dans le sédiment urinaire.

- * Cristaux de substances présentes dans l'urine normale
 - oxalate de calcium ; acide urique ; cristaux d'urate,...
- * Cristaux de substances anormalement présentes dans l'urine
 - leucine ; tyrosine ; sulfamides (antibiotique),...

2.5. Isolement

Les bactéries responsables d'infections urinaires se développent bien sur les milieux ordinaires non enrichis ; cela signifie que les souches ne sont pas exigeantes.

Dans la majorité des cas, l'urine est monomicrobienne (un seul type de bactéries), il n'est donc pas nécessaire de choisir des milieux sélectifs ou même enrichis (sauf si suspicion d'un streptocoque : dans ce cas, isoler sur gélose au sang frais de cheval + acide nalidixique et colimycine (ANC))

Par contre, il est intéressant d'isoler sur des milieux lactosés avec indicateur de pH afin de déterminer les caractères lactose et ONPG hydrolase (BCP, CLED).

Dans le cas d'une urine polymicrobienne associant un coque Gram + et un ou plusieurs bacilles Gram -, isoler sur un milieu sélectif lactosé (Drigalski, Mac Conkey).

2.6. Identification

Seules les colonies présentes en nombre significatif font l'objet d'une identification.

Les bactéries peu représentées ont une signification de contaminant.

La démarche d'identification est classique et repose sur l'examen macroscopique, les examens microscopiques, les tests enzymatiques et la détermination des caractères biochimiques.

Dans la majorité des cas, la bactérie isolée appartient à la famille des Entérobactéries (oxydase -) et l'identification repose sur la détermination des caractères lactose, ONPG, uréase, indole, tryptophane désaminase, β -glucuronidase.

En laboratoire, un milieu chromogène (CPS ID® Biomérieux ou Uriselect® Sanofi) peut être ensemencé avec une anse calibrée de 10 μ L et permet ainsi le dénombrement des bactéries et l'orientation de diagnostic par la recherche de diverses enzymes : β -glucuronidase, tryptophanase (caractère indole), tryptophane désaminase, esculinase,...

Classiquement, la bactérie peut être identifiée avec précision avec une galerie miniaturisée (Api 20 E, Api Rapid 20 E).

Dans le cas des coques Gram + (staphylocoque, entérocoque, streptocoque du groupe B), la catalase permet de distinguer les staphylocoques des entérocoques et streptocoques. La recherche de la protéine A et du récepteur au fibrinogène permet d'identifier *Staphylococcus aureus*.

2.7. Antibiogramme

Un antibiogramme est obligatoirement réalisé si le dénombrement signe une infection urinaire et lorsqu'on possède des colonies isolées des bactéries responsables (obtenues en jour 2).