



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

**Projet de Fin d'Etudes**

Licence Sciences & Techniques

Sciences Biologiques Appliquées et Santé

(LST - SBAS)

**Examen cyto bactériologique des urines  
(ECBU)**



**Présenté par : HAMDOUNE Rabab**

**Encadré par : Pr. SEFRIOUI Samira (FST Fès)**

**Dr. LAABOUDI EL Hassane**

**Soutenu le : 05 / 07 / 2022**

**Devant le jury composé de :**

- **Pr. SEFRIOUI Samira**
- **Pr. HARKI EL Houssaine**
- **Pr. LAABOUDI EL Hassane**

**Stage effectué à : Centre Biologique Maroc à Fès (CBM)**

**Année universitaire 2021-2022**

# Remerciements

Il m'est agréable de remercier les membres du jury, Pr. **SEFRIOUI Samira**, Pr. **HARKI EL Houssaine** et Dr **LAABOUDI EL Hassane** pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir acceptés de juger mon travail, qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Au terme de mon stage que j'ai effectué au CBM FES, j'aimerais remercier dans un premier temps Pr. **HALOTI Said** de m'avoir accordé la possibilité d'accéder à cet établissement pour la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Ma gratitude s'adresse également à Monsieur **LAABOUDI EL Hassane**, mon encadrant professionnel pour m'avoir donné l'opportunité de passer ce stage de fin d'études dans des conditions favorables et pour le temps qu'il m'a consacré, sachant répondre à toutes mes interrogations.

Je tiens aussi à remercier très chaleureusement mon encadrant de stage Mme **SEFRIOUI Samira** pour son accueil, son aide, son attention et sa gentillesse tout au long du stage.

Finalement, j'adresse mes profondes gratitude à ma famille qui a toujours été à mes côtés, pour Son soutien et son encouragement. Je remercie également tous mes amis.

# Liste des tableaux

Tableau 1 : Evaluation des bandelettes urinaires pour le diagnostic des IU.....	9
Tableau 2 : Fréquence de l'infection urinaire .....	23
Tableau 3 : Répartition des principaux germes dans les urines .....	26

# Liste des figures

Figure 1: l'appareil urinaire de la femme et de l'homme .....	3
Figure 2 : Appareil Génito-urinaire de la femme.....	4
Figure 3: Appareil Génito-urinaire de l'homme .....	4
Figure 4 : Bandelette urinaire .....	8
Figure 5 : bandelette urinaire à nitrates et leucocytes positif.....	8
Figure 6 : Cellule de mallassez .....	14
Figure 7: Cristaux Urinaires .....	15
Figure 8: Aspect du milieu CLED avant utilisation (à gauche) et après culture (à droite) .....	17
Figure 9: Aspect du milieu BCP avant utilisation (à gauche) et après culture (à droite) .....	17
Figure 10 : les antibiotiques testés pour chaque germe.....	20
Figure 11 : Exemples de milieux gélosés montrant les spectres d'inhibition de différents Antibiotiques.....	21
Figure 12 : les étapes de l'ECBU .....	22
Figure 13: fréquence de l'infection urinaire.....	23
Figure 14: la répartition en fonction du sexe .....	24
Figure 15: Répartition de l'infection urinaire selon l'âge.....	25
Figure 16: Répartition des principaux germes dans les urines.....	26

# Liste abrégées

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines

**PNA** : Pyélonéphrite aiguë

**IU** : Infection urinaire

**E .coli** : Escherichia coli

**VPN** : Valeur prédictive négative

**VPP** : Valeur prédictive positive

**BU** : Bandelette Urinaire

**CBM** : Centre Biologique Maroc

**LDC** : Lysine Décarboxylase

**CLED** : Cystine Lactose Electrolyte Déficent

**BCEP** : Bromo Crésol Pourpre

# Sommaire

Introduction .....	1
Chapitre I : Revue bibliographique .....	2
1 Anatomie de l'appareil urinaire :.....	3
2 Infection urinaire : .....	4
2.1 Formes cliniques : .....	4
2.1.1 Colonisation urinaire/Bactériurie asymptomatique .....	4
2.1.2 Cystite aigue : .....	4
2.1.3 Pyélonéphrite : .....	5
2.1.4 Infection urinaire masculine : .....	5
2.1.5 Infection urinaire de l'enfant : .....	6
2.1.6 Infection urinaire de la femme :.....	6
3 Les infections urinaires simples et compliquées :.....	6
3.1 Infection urinaire simple : .....	6
3.2 Infection urinaire compliquée :.....	6
4 Les germes responsables de l'infection urinaire :.....	7
5 Analyse bactériologique des urines :.....	7
5.1 Bandelettes urinaires : .....	7
5.2 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :.....	9
5.3 Traitement des infections urinaires .....	10
Chapitre II : partie pratique .....	11
MATERIEL METHODES.....	12
1 Lieu d'étude :.....	12
2 Période d'étude : .....	12
3 Matériel :.....	12
4 Méthode d'étude des ECBU au laboratoire de bactériologie de CBM : .....	12
4.1 Prélèvement des urines : .....	12
4.2 Conservation et transport des urines :.....	13
4.3 Réalisation de l'ECBU : .....	14

4.3.1	Examen macroscopique :.....	14
4.3.2	Examen microscopique :.....	14
4.3.3	Culture :.....	17
4.3.4	Antibiogramme :.....	18
RESULTATS ET DISCUSSION .....		23
1	Fréquence de l'infection urinaire : .....	23
2	La répartition des IU en fonction du sexe :.....	24
3	La répartition des IU en fonction de l'âge : .....	25
4	La répartition globale des germes : .....	25
CONCLUSION.....		28
REFERENCES BIBLIGRAPHIQUES .....		29

---

# Introduction

---

L'infection urinaire(IU) est une infection de l'appareil urinaire (reins, les uretères, la vessie et l'urètre) et non de l'urine, elle se manifeste par une sensation de brûlure mictionnelle ou des douleurs abdominales et de la fièvre (>38 °C). À l'état normal, les urines sont stériles. Elles ne contiennent ni bactéries, ni virus, ni champignons.

Les infections urinaires sont de gravité très variée et peuvent toucher tous les patients quel que soit leur âge. La cystite est la manifestation la plus fréquente parmi les infections communautaires, notamment chez la jeune femme, mais l'infection des reins (pyélonéphrite) n'est pas exceptionnelle en pathologie de ville et sa prise en charge à domicile peut être faite en l'absence de signe de gravité [1].

Les bactéries et les germes les plus fréquemment rencontrés comme les entérobactéries et E. Coli sont à l'origine de la majorité des IU.

L'examen demandé dans ce cas est l'Examen Cytobactériologique des Urines (ECBU).C'est une méthode d'analyse des urines comprenant une étude cytologique et bactériologique. L'ECBU appartient aux examens les plus pratiqués dans les laboratoires d'analyses médicales, pour détecter l'agent pathogène responsable de l'IU.

Le diagnostic des IU repose sur l'examen cytotbactériologique des urines (ECBU), qui nous permet de faire l'identification des germes responsables de l'infection suivi généralement par un antibiogramme en cas de culture positive pour déterminer la sensibilité de ces germes aux antibiotiques.

L'objectif de notre étude est de réaliser durant la période de stage au sein du laboratoire de microbiologie une étude rétrospective afin de connaître :

- ❖ La fréquence des IU.
- ❖ La répartition des résultats en fonction de l'âge et du sexe.
- ❖ Les agents bactériens les plus fréquemment rencontrés.

---

# **Chapitre I : Revue bibliographique**

## 1 Anatomie de l'appareil urinaire :

L'appareil urinaire comprend : un réservoir des urines (la vessie), les reins où les urines sont fabriquées, les uretères, l'urètre (situé sous la vessie permet l'évacuation des urines) (**figure1**).

A cause des raisons anatomiques ; on trouve que les IU sont plus fréquente chez les femmes que chez les hommes.

En effet, le méat urinaire est proche de l'anus (où les bactéries sont toujours présentes) chez la femme (**figure2**). Ces bactéries peuvent remonter le long de l'urètre vers la vessie et proliférer dans l'urine. Une mauvaise hygiène locale peut favoriser des IU des femmes. Pour l'homme : la distance entre l'anus et son méat urinaire peuvent protéger des IU (**Figure3**). Par ailleurs, la longueur de l'urètre masculin est en moyenne de 16 cm, alors que celle de l'urètre féminin est de 2 cm) [2]. L'IU est donc plus souvent chez les sujets masculins, la traduction d'une anomalie au niveau des voies urinaires, en particulier l'existence d'un adénome de la prostate (qui provoque une stase des urines dans la vessie). La forme des uretères et de la vessie prévient le retour de l'urine vers les reins [2].

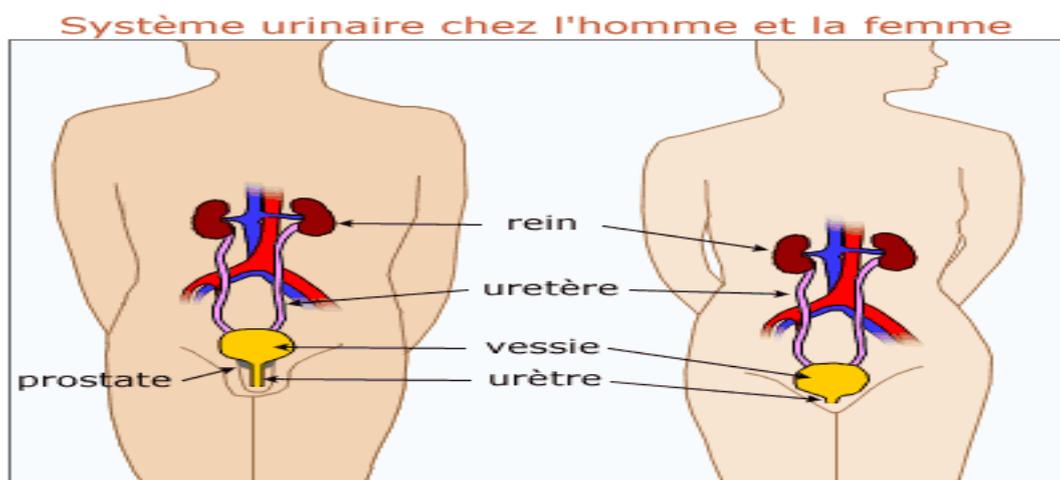


Figure 1: l'appareil urinaire de la femme et de l'homme

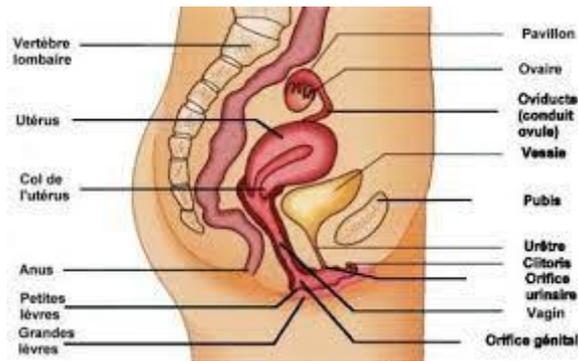


Figure 2 : Appareil Génito-urinaire de la femme

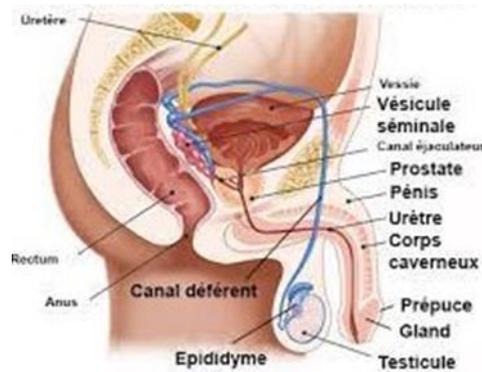


Figure 3: Appareil Génito-urinaire de l'homme

## 2 Infection urinaire :

### 2.1 Formes cliniques :

#### 2.1.1 Colonisation urinaire/Bactériurie 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 que ce micro-organisme ne génère en soi de manifestations cliniques. Pendant la grossesse, le seuil retenu pour parler de bactériurie asymptomatique est de  $10^5$  UFC /ml. En dehors de la grossesse, le terme de colonisation urinaire est préférable à celui de bactériurie asymptomatique et correspond à la même entité sans notion de seuil. La colonisation urinaire ou bactériurie asymptomatique est la présence d'un micro-organisme dans les urines sans manifestations cliniques associées.

#### 2.1.2 Cystite aigue :

Touche la vessie, c'est une infection urinaire basse.

Les signes qui peuvent faire évoquer une cystite aigue sont :

- Brulures mictionnelles et douleurs à la miction.

-Pollakiurie (augmentation de la fréquence de petites quantités d'urine).

-Douleurs hypogastriques.

Ces signes sont d'autant plus prédictifs d'une IU qu'il n'existe pas une infection vaginale associée [6].

La fièvre est absente et il n'y a pas de douleur abdomino-lombaire. Le diagnostic clinique doit s'assurer qu'il n'existe aucun facteur de risque de complication et qu'il ne s'agit pas d'une pyélonéphrite aiguë (PNA) de présentation fruste (fébricule, lombalgie sourde) [5]. Le seul examen para clinique recommandé est bandelette urinaire(BU).

### 2.1.3 Pyélonéphrite :

La pyélonéphrite est une infection qui touche les reins elle est localisée sur l'uretère et les reins.

Les signes de PNA associent de façon inconstante des signes :

-Fièvre supérieur à 38 °C, frissons, un malaise général.

-Des douleurs de région lombaires fosse lombaire et/ou abdominale en générale d'un seul coté

-Des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée, ballonnements) par fois peuvent être présents au premier plan.

-Douleurs de la fosse lombaire, typiquement unilatérales, à irradiation descendante vers les organes génitaux, spontanées ou provoquées par la palpation ou la percussion de la fosse lombaire, avec éventuellement un empâtement à la palpation.

### 2.1.4 Infection urinaire masculine :

Il s'agit d'une infection symptomatique de la muqueuse urétrale/vésicale (on ne parle pas de cystite chez l'homme). 20 à 50 % des hommes connaîtront un épisode d'IU au cours de leur vie, la pathologie prostatique (inflammation de parenchyme prostatique) augment la fréquence des IU masculine après 50 ans.

Tout IU masculine est considérée comme facteur de présence d'une prostate associée, sauf dans des cas rares où un test invasif élimine formellement la prostate.

Les signes fonctionnels urinaires sont les suivent :

- Pollakiurie, dysurie, brûlures mictionnelles.
- Fièvre modérée ou absente.

- Présence ou non de douleur lombaire.

#### 2.1.5 Infection urinaire de l'enfant :

Les infections du tractus urinaire soient moins fréquentes chez les enfants que chez les adultes, elles ne sont quand même pas rares.

Chez les nourrissons et les très jeunes enfants, les signes d'une infection du tractus urinaire ne sont pas toujours évidents. Chez les enfants un peu plus vieux par contre, on observe des symptômes comme un besoin d'uriner fréquent et urgent, et une sensation de brûlure à la miction. La fièvre, l'irritabilité, la perte d'appétit, les nausées et les vomissements peuvent aussi être les symptômes d'une infection urinaire.

Les signes et les symptômes sont souvent non spécifiques, en particulier chez le nourrisson [9].

#### 2.1.6 Infection urinaire de la femme :

Une femme sur deux est concerné au moins par une infection dans sa vie (la cystite), car l'urètre est court chez la femme et débouche à proximité de l'orifice vaginal. Par contre Chez l'homme, l'urètre est plus long et les bactéries ont donc plus de difficultés à s'introduire jusque dans la vessie.

### 3 Les infections urinaires simples et compliquées :

#### 3.1 Infection urinaire simple :

Une IU est dite simple lorsqu'elle ne comporte pas de facteurs de risque de complication , cette infection survient chez un patient en bonne santé ou une femme jeune ou femme hors la période de grossesse , les IUS comprennent les cystites aiguës simples et les pyélonéphrites aiguës simples.

#### 3.2 Infection urinaire compliquée :

Cette IU concerne un patient ayant au moins un facteur de risque de complication pouvant rendre l'infection plus grave et le traitement plus complexe.

Ces facteurs de risque de complication sont :

- Toute anomalie organique ou fonctionnelle de l'arbre urinaire : résidu vésical, reflux, lithiase, tumeur, acte récent, etc.
- Chez les sujets masculins : la fréquence des anomalies anatomiques ou fonctionnelles sous-jacentes,
- Grossesse.

- Les patients de plus de 75 ans ou de 65 ans : en présence d'au moins 3 critères de fragilité.
- Immunodépression grave : chimiothérapie, corticoïdes, tumeur maligne, transplantation, etc.
- Insuffisance rénale chronique sévère (clairance < 30 ml/min) [6].

#### 4 Les germes responsables de l'infection urinaire :

80% des cas d'IU communautaire sont causés par *E. coli*, suivi par *Proteus* et *Klebsiella*, les *Entérobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Serratia* qui sont responsables des IU. On retrouve moins de 4% des IU simples à cause de *Staphylococcus* coagulase négatif (*S. epidermidis* et *Saprophyticus*). Et pour les germes qui produisent une uréase (*Proteus*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococcus aureus* et *Epidermidis*, *Pseudomonas*), ils peuvent rendre l'urine alcaline. Pour les germes les plus fréquemment retrouvés et qui ne produisent pas d'uréase, on trouve les *Staphylococcus*, et *Entérobactéries* (*E. coli*) [7].

Les adénovirus et varicelle zostère sont responsables de cystites hémorragiques.

Les IU ne sont pas transmissibles par voie sexuelle. Néanmoins, le "brassage" mécanique des germes lors des rapports est responsable des fréquentes infections urinaires post-coïtales. L'urétrite, est une maladie sexuellement transmissible ; elle est causée le plus fréquemment par *Chlamydia trachomatis* ou *Neisseria gonorrhée* [7].

#### 5 Analyse bactériologique des urines :

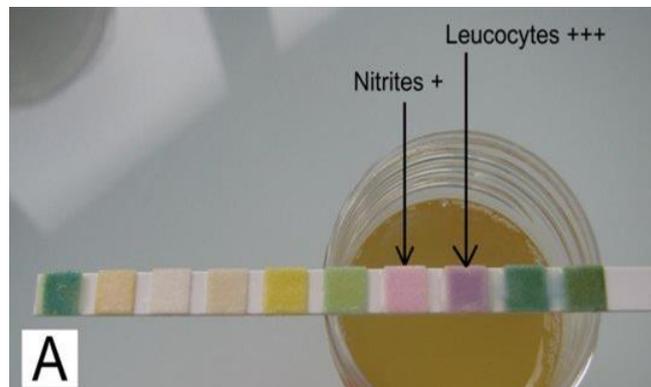
Normalement l'arbre urinaire est stérile, mais on trouve que les derniers centimètres de l'urètre distal sont colonisés par une flore diverse d'origine digestive. (*Entérobactéries*, *Streptocoques*, *anaérobies*), cutanée (*Staphylocoques* à coagulase négative, *Corynébactéries*) et génitale (lactobacilles chez la femme).

Les critères de définition d'une infection urinaire reposent sur la présence de symptômes, la présence ou non d'un cathétérisme vésical et le niveau de leucocyturie et de bactériurie considérées comme significative pour réaliser un diagnostic.

##### 5.1 Bandelettes urinaires (BU) :

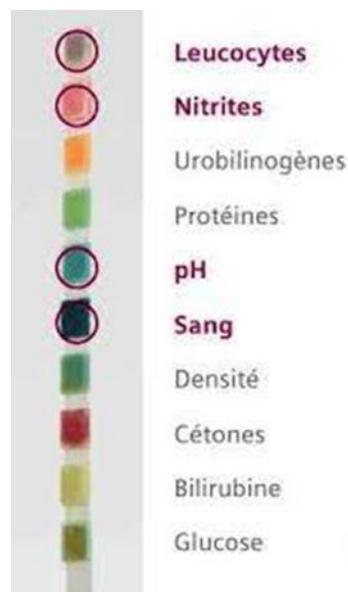
Les bandelettes urinaires permettent d'orienter le diagnostic d'infection, c'est une méthode biochimique utilisée essentiellement pour détecter la présence des deux paramètres : la leucocyturie et la bactériurie. La présence d'une leucocyturie supérieure à  $10/\text{mm}^3$  se traduit par l'excrétion de leucocyte estérase ; une enzyme qui réagit avec la bandelette. La mise en évidence des bactéries utilise la présence des nitrates. Seules les bactéries possédant un nitrate

réductase sont capables d'élaborer des nitrites dans les urines. Les entérobactéries sont responsables de la grande majorité des IU. En revanche, les cocci à Gram positif et les bacilles à Gram négatif aérobies stricts, comme le bacille pyocyanique, sont dépourvus de cette enzyme (figure 4) [18].



*Figure 4 : Bandelette urinaire*

Parfois, la BU est suivie d'un examen cyto bactériologique des urines (ECBU) lorsque une bandelette est positive avec du sang, des leucocytes ou des nitrites pour dépister la plupart des infections urinaires. Par contre, une bandelette négative élimine souvent une infection urinaire (figure 5).



*Figure 5 : bandelette urinaire à nitrates et leucocytes positifs*

Certains auteurs (**Tableau 1**) considèrent que, chez un malade asymptomatique, sondé, un test négatif permet de s'abstenir de pratiquer un ECBU. La bandelette urinaire ne peut pas être utilisée pour le dépistage d'une bactériurie chez un patient porteur de sonde, par contre son

utilisation chez le sujet âgé non sondé reste une méthode fiable sous réserve de respect des conditions d'utilisation de la bandelette [9].

La lecture doit se faire sur le surnagent après la centrifugation des urines.

***Tableau 1 : Evaluation des bandelettes urinaires pour le diagnostic des IU***

<b>Auteurs</b>	<b>Sensibilité(%)</b>	<b>Spécificité(%)</b>	<b>VPP(%)</b>	<b>VPN(%)</b>
<b>Legras</b>	89,9	64,8	61,2	91,2
<b>Chouaid</b>	100	65	68	100
<b>Mimoz</b>	84	41	48	81

**-VPP** : valeur prédictive positive.

**-VPN** : valeur prédictive négative.

**Techniques de la bandelette :**

Pour une bonne réalisation de l'examen à bandelette il faut respecter les conditions suivantes :

- Conservation des bandelettes dans un flacon fermé à l'abri de la chaleur et de l'humidité.
- Récipient de bonne capacité, propre et sec
- Toilette locale soigneuse, recueil au milieu du jet
- Plonger et retirer immédiatement la bandelette
- Procéder rapidement à la lecture [10].

**5.2 Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :**

L'ECBU est l'examen le plus demandé au laboratoire de bactériologie, il est réalisé pour le diagnostic de certaines infections urinaires. L'interprétation est souvent difficile et repose essentiellement sur deux paramètres, la bactériurie et la leucocyturie. Ces deux paramètres quantitatifs doivent être pondérés par l'anamnèse, la présence ou non de signes cliniques ainsi que par des paramètres techniques comme la qualité du prélèvement, sa conservation ou son transport [11].

### 5.3 Traitement des infections urinaires

Un antibiotique est une substance qui a la capacité de réduire ou d'interrompre la multiplication des bactéries. Ces médicament est un composé chimique, élaboré sur la base d'un micro-organisme ou à partir de produits de synthèse.

Le traitement d'une infection urinaire vise à stériliser les urines dans l'immédiat et à éviter les rechutes ou les réinfections dans l'avenir. L'antibiotique peut éradiquer une bactérie, mais bien sûr il ne peut pas réparer des lésions anatomiques sous-jacentes et dans certains cas, une intervention chirurgicale s'impose.

Le traitement repose sur la prise d'antibiotiques adaptés à la femme enceinte et une bonne hydratation. Une analyse urinaire doit être réalisée chaque mois chez la femme enceinte afin de dépister une éventuelle infection.

---

## **Chapitre II : partie pratique**

---

---

# MATERIEL ET METHODES

---

Ce travail porte sur 615 échantillons urinaires reçus au laboratoire d'analyse Maroc dans le service de bactériologie pour un examen cytot bactériologique.

## **1 Lieu d'étude :**

L'étude est réalisée au laboratoire de bactériologie dans le centre biologique Maroc (CBM) à Fès.

## **2 Période d'étude :**

Elle concerne les échantillons des urines reçus de 25/04/2022 à 25/06/2022.

## **3 Matériel :**

Chaque patient arrive au laboratoire pour effectuer un ECBU il doit être remplir un questionnaire pour connaître les données suivantes :

- Le sexe et l'âge du patient,
- l'heure de la miction,
- L'antibiothérapie actuelle (antibiotique, début de la prise),
- l'hygiène du prélèvement,
- La présence d'une sonde urinaire.

## **4 Méthode d'étude des ECBU au laboratoire de bactériologie de CBM :**

### **4.1 Prélèvement des urines :**

Il s'agit du premier point critique qui peut influencer les résultats de l'ECBU.

Les prélèvements des différents types de patients arrivent au laboratoire : les patients sondés, les patients à miction autonome, et les enfants porteurs de collecteurs à urines.

Il est préférable de recueillir l'urine du matin afin d'obtenir une urine ayant séjourné suffisamment longtemps (au moins 3 à 4 heures) dans la vessie notamment en cas de diurèse importante [12].

La méthode habituelle recommandée consiste à récupérer de manière aseptique l'urine de milieu de jet, après un lavage hygiénique des mains et une toilette des organes génitaux externes au savon doux puis rinçage à l'eau ou par un antiseptique non agressif. Après évacuation du premier jet (20 ml) contaminé par la flore commensale, au moins 20 à 30 ml sont recueillis dans un pot stérile [11].

On peut utiliser d'autres techniques de prélèvement :

- Recueil du premier jet : intérêt dans les prostatites débutantes et les urétrites.
- Recueil par collecteur : poches stériles collées chez les nouveau-nés et les nourrissons.
- Étui pénien stérile chez l'homme âgé incontinent.
- Ponction sus pubienne de la vessie : elle peut être utile chez un petit garçon ou chez le sujet âgé pour obtenir une urine non contaminée par les germes de l'urètre.
- Le sondage vésical (en-retour) : il est proscrit chez le petit garçon (risque de traumatisme urétral). Il est le plus souvent indiqué chez la femme âgée pour éviter une contamination d'origine vaginale. Il doit être traumatique et utilise une sonde de petit calibre.

Ponction dans l'opercule du collecteur prévu à cet effet. Chez le patient porteur d'une sonde vésicale [12].

#### 4.2 Conservation et transport des urines :

Pour éviter le développement de population microbienne, il faut diminuer au maximum le délai entre le prélèvement d'urine et l'analyse (salle de prélèvement proche du laboratoire).

Dans l'idéal, les urines ne doivent jamais être conservées plus de deux heures à température ambiante pour éviter une multiplication bactérienne. Si l'analyse est différée les urines peuvent être conservées à +4 °C pour une durée maximale de 24 heures sans modification de la bactériurie. Des milieux de transport contenant de l'acide borique et en condition stérile unitaire permettent de conserver les urines à température ambiante pendant 48 heures sans modification de leucocyturie et de la bactériurie et aussi pour la stabilité de l'osmolarité et le pH : un pH supérieur à 7,5 et une osmolarité inférieure à 300 mo/kg peuvent entraîner une dégradation rapide des cellules urinaires [13].

### 4.3 Réalisation de l'ECBU :

Chaque demande d'ECBU doit être accompagnée des renseignements cliniques nécessaires à son interprétation : condition de prélèvement (sondage, milieu de jet, ponction sous-pubienne), l'état du patient (grossesse, antécédent, immunodépression grave), le contexte de prescription (bilan pré-interventionnel, IU), antibiothérapie récente.

L'étude des souches bactériennes dans les urines passe par des étapes d'ECBU de routine, avec un examen macroscopique, suivie d'un examen microscopique et une culture bactériologique.

#### 4.3.1 Examen macroscopique :

Il est réalisé dès la réception du flacon des urines après leur homogénéisation.

Il permet d'apprécier les caractères physiologiques des prélèvements (**aspect des urines** : trouble, claire, hématurique, purulent, **couleur** : jaune, marron, rouge, incolore).

En effet, le caractère trouble d'une urine ne signe pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux [11].

#### 4.3.2 Examen microscopique :

Il comprend un examen cytologique (à l'état frais) et un examen bactériologique (après coloration) :

##### A l'état frais :

##### ➤ *Examen quantitatif à partir de l'urine totale (non centrifugée) :*

Il se fait par l'ajout d'une goutte dans la cellule de mallassez (**Figure 6**) pour effectuer un comptage des éléments figurés du sang : les leucocytes et les hématies/mm<sup>3</sup>.

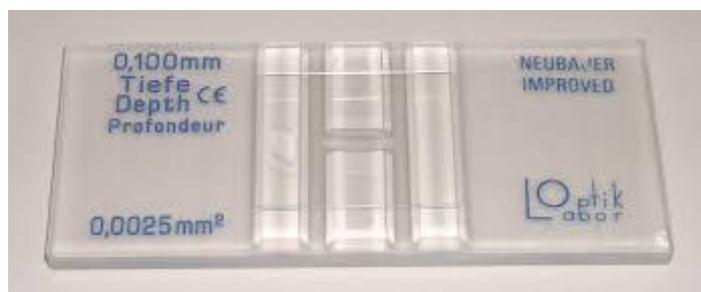
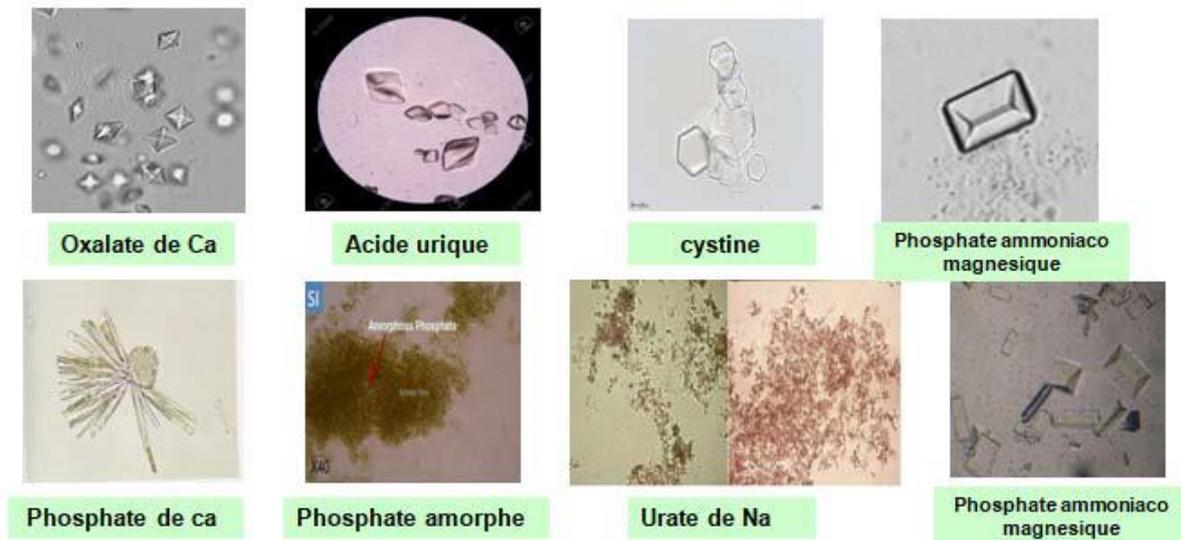


Figure 6 : Cellule de mallassez

##### ➤ *Examen qualitatif :*

Toujours dans la cellule de mallassez, on effectue un comptage d'autres éléments figurés de l'urine (cellule épithéliale, cellule rénale, levures, cristaux, cylindre, parasite) (**Figure7**).



***Figure 7: Cristaux Urinaires***

Dans la plupart des cas d'infections urinaires, un processus inflammatoire peut s'observer, ceci se traduit par la présence de plus de 1000 leucocytes/ml, parfois en amas, fréquemment associés à une hématurie supérieure à 1000 hématies/ml [14].

On peut aussi utiliser des cellules jetable de type KOVA SLIDE : ce sont des cellules en plastique contenant 10 cupules individuelles et permettant ainsi 10 comptages en simultanés.

### **Après coloration :**

Après la centrifugation des urines on obtient un surnageant dans lequel on lit le pH, glucose, albumine, nitrite, sang et le culot ; on dépose sur une lame une goutte de l'échantillon (culot) pour réaliser la coloration de gram. Cette coloration permet d'étudier la morphologie des germes et le Gram différentiel [15].

### **➤ Résultats :**

#### **Leucocyturie**

Un examen cyto bactériologique des urines normal ne doit pas comporter plus de 1000 leucocytes/ml ou plus de 1000 hématies/ml et doit être stérile.

Si le taux d'hématies est  $>10^4$ /ml, on parle d'hématurie.

Si les leucocytes est  $>10^4/ml$ , on parle de leucocyturie considérée comme significative d'une réponse inflammatoire à la présence d'infection du tractus urinaire. Et la présence d'une leucocyturie avec un germe est la preuve d'une IU. Les cas d'absence de leucocyturie avec bactériurie peuvent s'observer lors :

- d'une contamination bactérienne
- d'un stade précoce d'infection
- d'une réaction inflammatoire retardée
- de bactériurie asymptomatique [16].

La leucocyturie peut être absente au cours d'authentiques IU, lorsque l'ECBU est réalisé précocement (leucocyturie retardée de quelques heures), chez les patients neutropénies, ou si les urines ne sont pas traitées rapidement (lyse possible des leucocytes).

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...).

### **Bactériurie :**

Après la centrifugation des urines, on fait préparer un frottis au gram de  $10\mu L$ , qui nous permet de connaître la morphologie des bactéries (bacilles à Gram négatif, cocci à Gram positif, levures...). Cette étape peut aider à d'orienter le traitement anti biothérapeutique après la détection des bactéries observées, facilitant le choix des milieux de culture et des conditions de culture spécifiques.

La coloration permet en plus de détecter la présence de cellules épithéliales qui, lorsqu'elles sont présentes en grande quantité, signent un prélèvement de mauvaise qualité et s'accompagnent généralement d'une contamination par la flore péri-urétrale.

On peut voir lors d'un mauvais prélèvement une bactériurie sans leucocyturie à cause d'une contamination ou colonisation urinaire.

La coloration de Gram n'est pas actuellement réalisée de façon systématique sur tous les ECBU. Elle doit être systématique en cas d'IU avec signe de gravité, et il est important qu'elle puisse être effectuée sur demande du clinicien (tableau clinique atypique, bandelette urinaire douteuse...) [17].

#### 4.3.3 Culture :

La culture est parmi les étapes les plus importantes car elle permet l'isolement du (ou des) germes pathogènes afin passer à l'identification. L'importance de cette étape consiste dans le choix de la culture adaptée à la pousse des germes impliquée dans les IU.

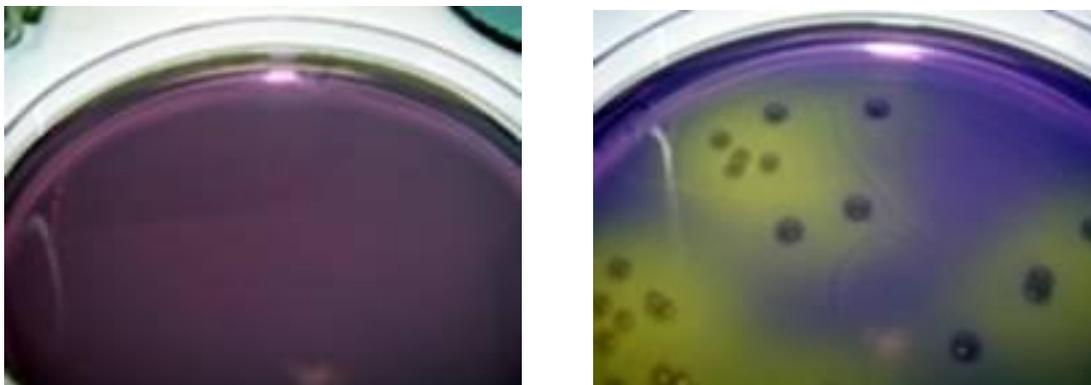
La culture quantitative des urines contribue à définir l'IU.

\* D'abord on commence par l'étalement avec la méthode la plus utilisée de l'anse calibrée (étalement de 10 $\mu$ L d'urines), ou par la méthode de la lame immergée.

\* Ensemencement : s'effectue sur des milieux de type CLED ou BCP qui sont spécifiques pour la croissance des entérobactéries. Le milieu CLED (Cystine Lactose Electrolyte Déficiant) est un milieu non sélectif (**Figure 8**). Dans notre cas, nous avons utilisé le milieu PCB (Bromo Crésol Pourpre) qui est un milieu utilisé pour la détection et l'isolement des entérobactéries, il contient un critère de différenciation : la fermentation du lactose révélée par le virage en milieu acide de l'indicateur coloré de pH, le Bromo Crésol Pourpre, il est déficient en électrolytes : absence d'ions minéraux [18] (**Figure 9**).



*Figure 8: Aspect du milieu CLED avant utilisation (à gauche) et après culture (à droite)*



*Figure 9: Aspect du milieu BCP avant utilisation (à gauche) et après culture (à droite)*

\* Incubation : pendant 24 heures à 37°C voir 48 heures si besoin.

La présence d'une colonie sur la gélose représente 10<sup>2</sup> UFC/ml pour l'étalement de 10µl.

\*Identification : après avoir déterminé la morphologie des colonies, on passe à l'examen des frottis colorés au gram pour effectués la recherche de l'oxydase et de catalase, suivie par la recherche des caractères biochimiques à partir de l'ensemencement dans la galerie biochimique ; kligler-hajna (rouge vif) Citrate de Simmone (vert), et Urée-Indole (orange), pour détecter les caractères suivants :

-L'utilisation du glucose, du lactose, du mannitol et de l'indole ;

-La production d'H<sub>2</sub>S et de gaz ;

-La présence de LDC (lysine décarboxylase), de nitrate réductase et de l'uréase ;

-L'utilisation du citrate comme seule source de carbone

-La mobilité [18].

#### 4.3.4 Antibiogramme :

On utilise l'antibiogramme pour identifier les germes responsables des IU.

Premièrement, on choisit les milieux dépendant du germe pathogène et son exigence. Pour les *Entérobactéries*, *Pseudomonas sp*, *Staphylocoque sp*, *Entérocoque sp*, *Moraxelleas*, Et *Acinetobacter sp* dans le milieu gélose Muller-Hinton (Figure 10). Et le milieu gélose au sang / chocolat pour *Streptocoque*, *Haemophilus*, *Neisseria gonorrhoeae*...

Deuxièmement, on choisit les antibiotiques à tester selon le groupe bactériene et par la charge du disque d'antibiotique (**Figure 10**).

Puis on passe à la préparation de l'inoculum selon les étapes suivantes :

- Prélever une colonie bien isolée par l'anse.
- Introduire l'anse dans un tube stérile d'eau physiologique stérile, frotter l'anse sur la paroi du tube pour disperser la bactérie.
- Homogénéiser le tube par rotation manuelle puis l'identifier.

Cette opération est réalisée en asepsie autour du bec bunsen.

Et comme dernier étape est l'ensemencement de la gélose par inondation :

- Recouvrir la gélose par la suspension bactérienne, puis aspirer l'excès et l'éliminer.
- Laisser sécher 15 min.
- Déposer les disques d'antibiotiques par une pince stérile à la surface de la gélose.

(Lors du dépôt, appliquer une légère pression pour assurer le maintien du disque mais pas trop pour ne pas perforer la gélose)

- Incuber à 37°C pendant 18H à 24H

Lecture : Mesurer les diamètres des auréoles (zone d'inhibition de croissance de la souche microbienne).

A l'aide du tableau de lecture sur la sensibilité, l'intermédiaire ou la résistance de la souche, on peut savoir son efficacité aux différents antibiotiques.

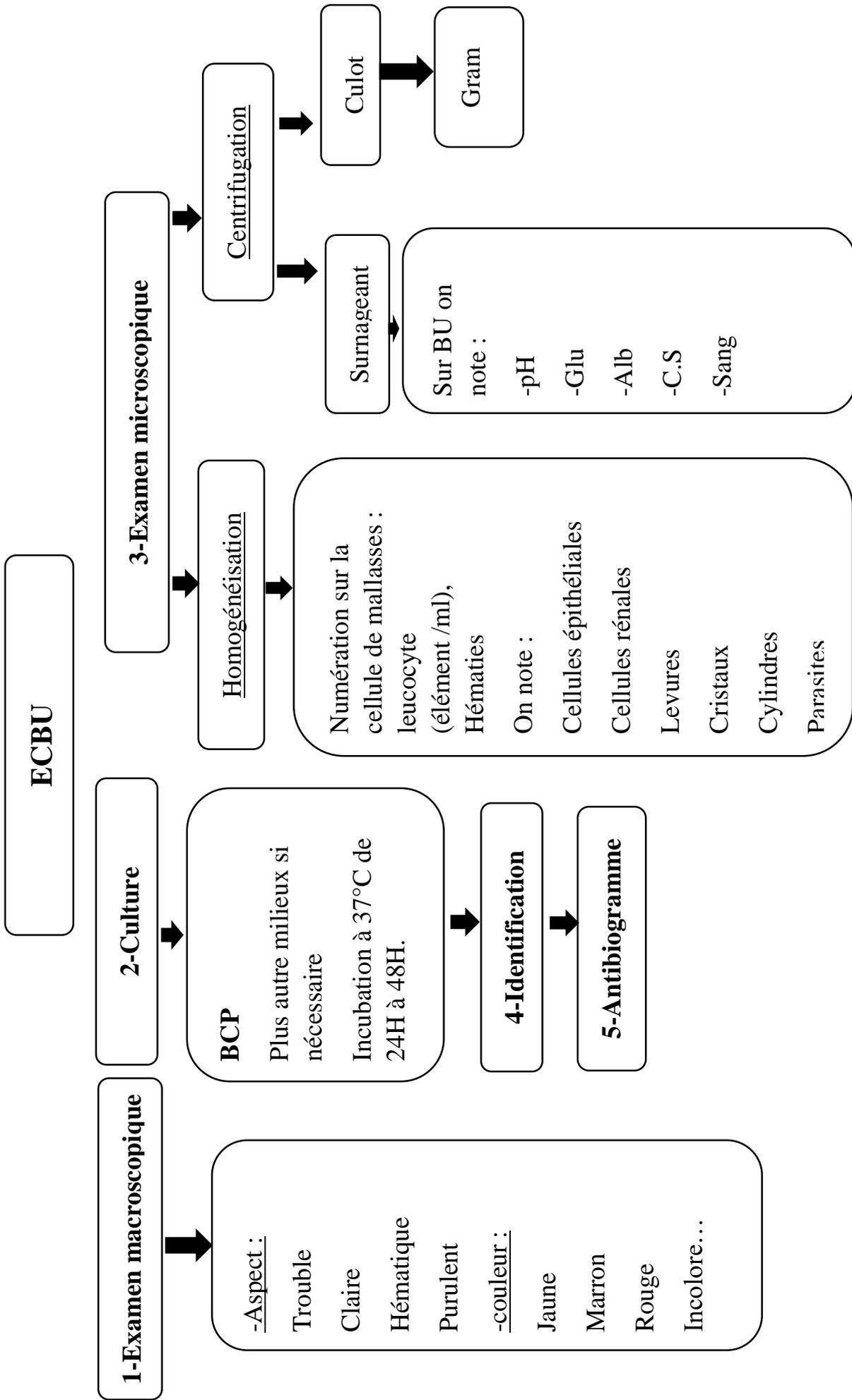
Classe ATB	Sous classe ATB	Antibiotique (charge du disque)	Germes	S (mm)	R (mm)	
β-lactamines	Pénicilline G	Péni G (6 µg)	Staphylocoque spp	≥29 CMI≤0,12mg/l	<29 CMI>0,12mg/l	
	Pénicilline A	Ampicilline (10 µg)	Entérocoque	≥ 19	< 16	
	Carboxypénicillines	Ticarcline (75 µg)	Entérobactéries	≥ 24	< 22	
			Pseudomonas aeruginosa	≥ 22	< 22	
			Acinetobacter spp	≥ 22	< 18	
	Uréidopénicillines	Pipéracilline (75 µg)	Pseudomonas aeruginosa	≥ 18	< 18	
			Acinetobacter	≥ 18	< 12	
	Inhibiteurs de β-lactamases associés	Amoxicilline + ac clavulanique (20/10 µg)	Entérobactéries	≥ 21	< 16	
	Monobactames	Aztreonam (30 µg)	Pseudomonas aeruginosa	≥ 27	< 19	
	Carbapénèmes	Imipénème (10 µg)	Entérobactéries	≥ 24	< 17	
			Acinetobacter spp	≥ 22	< 17	
			Pseudomonas aeruginosa	≥ 22	< 17	
	Céphalosporines	C1G	Céfalotine (30µg)	Entérobactéries	≥ 18	< 12
		C2G	Céfoxitine (30µg)	Staphylocoque spp	≥ 27	< 25
			Entérobactéries	≥22	< 15	
		C3G	Céftazidime (30µg)	Entérobactéries	≥ 26	< 19
Pseudomonas aeruginosa				≥ 19	< 19	
C4G		Céfotaxime(30µg)	Acinetobacter	≥ 21	< 19	
Polymixines	Colistine (50 µg)	Céfotaxime(30µg)	Entérobactéries	≥ 26	< 23	
		Céfépime (30µg)	Entérobactéries	≥ 24	< 17	
Aminosides	Aminosides	Entérobactéries	≥ 15	< 15		
		Acinetobacter	≥ 15	< 15		
		Amikacine (30 µg)	BGN	≥ 17	< 15	
		Acinetobacter	≥ 17	< 15		
Macrolides	Macrolides	Tobramycine (10 µg)	Pseudomonas aeruginosa	≥ 16	< 16	
		Gentamicine (15µg,10 UI)	Entérobactéries	≥ 18	< 16	
Cyclines	Tétracycline (30 UI)	Gentamicine 500µg	Entérocoque	≥ 17	< 11	
		Erythromycine (15 UI)	Entérocoque	≥ 22	< 17	
Quinolones	Fluoroquinolones	Ciprofloxacine (5 µg)	Entérobactéries	≥ 19	< 17	
			Entérobactéries	≥25	< 22	
		Norfloxacine (5 µg)	Acinetobacter	≥ 22	< 19	
			Pseudomonas aeruginosa	≥ 22	< 19	
Sulfamoxazoles	Sulfaméthoxazole +triméthoprime (1,25+ 23,75 µg)	Staphylocoque spp	≥ 25	< 22		
		Entérobactéries	≥ 16	< 13		
		Acinetobacter	≥ 16	< 13		
Polypeptides	Vancomycine (30 µg)	Staphylocoque spp	≥ 16	< 10		
		Entérocoque	≥ 16	< 10		
			Cocci Gram +	≥ 17	-	

*Figure 10 : les antibiotiques testés pour chaque type de germe*



Figure 11 : Exemples de milieux gélosés montrant les spectres d'inhibition de différents Antibiotiques.

La figure 12, montre les étapes de l'examen cyto bactériologique des urines :



*Figure 12 : les étapes de l'ECBU*

---

# RESULTATS ET DISCUSSION

---

Durant la période de stage, le laboratoire de microbiologie a reçu 615 prélèvements d'urine, qui ont été analysés au laboratoire Maroc du 25/04/2022 au 25/06/2022.

## 1 Fréquence de l'infection urinaire :

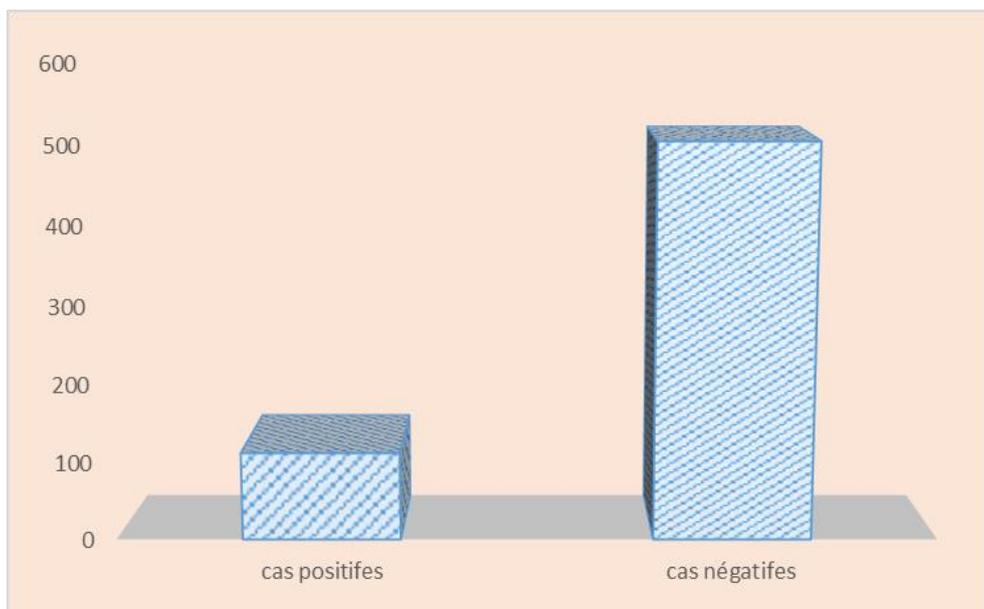
Pour les 615 échantillons étudiés, les résultats sont présentés dans le tableau 2 et la figure 13 :

***Tableau 2 : Fréquence de l'infection urinaire***

Prélèvement Total	Nombre de cas positifs	Nombre de cas négatifs
615	112	503

Parmi les 615 ECBU réalisés, on trouve :

- 112 ECBU positifs, soit 18,21%.
- 503 ECBU négatifs avec un pourcentage de 81,7%



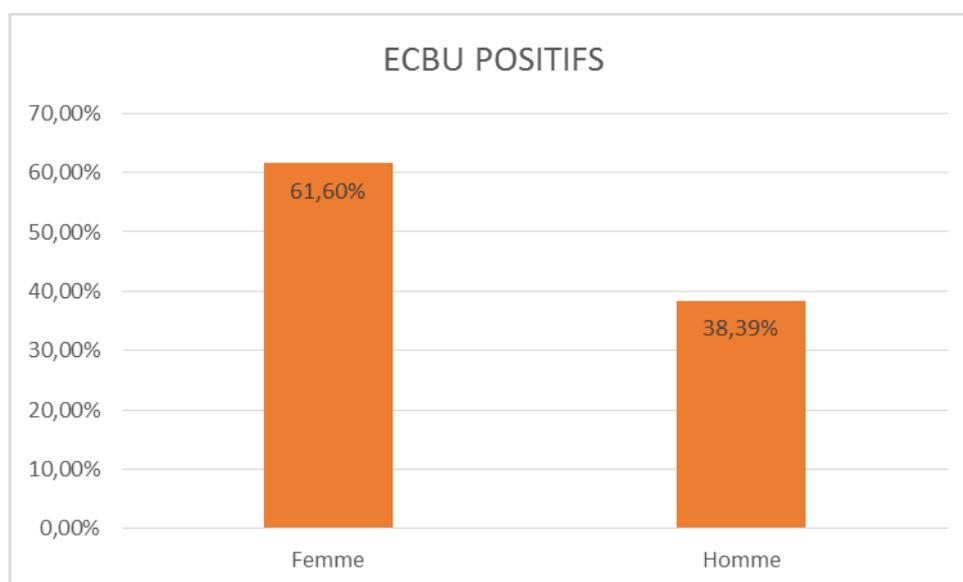
***Figure 13 : fréquence de l'infection urinaire***

On constate qu'un grand nombre d'ECBU est négatif, ceci est due au fait que les tests sont souvent effectués d'une manière systématique dans le cadre d'un bilan général, avec absence de symptomatologie urinaire.

## 2 Répartition des IU en fonction du sexe :

Les malades qui ont eu un ECBU positif avec isolement de bactérie se répartissent en :

- 69 ECBU positifs chez les femmes
- 43 ECBU positifs chez les hommes



*Figure 14 : la répartition en fonction du sexe*

On trouve que 69 femmes présentent un ECBU positif (61,60%) et 43 pour les hommes avec un pourcentage de 38,39%.

Donc les femmes sont plus atteintes par l'IU que les hommes. Cela peut s'expliquer par certains facteurs :

- l'urètre féminin est beaucoup plus court que celui de l'homme.
- L'orifice vaginal est proche de l'orifice anal chez la femme.
- Les modifications hormonales au moment de la grossesse ou après la ménopause.

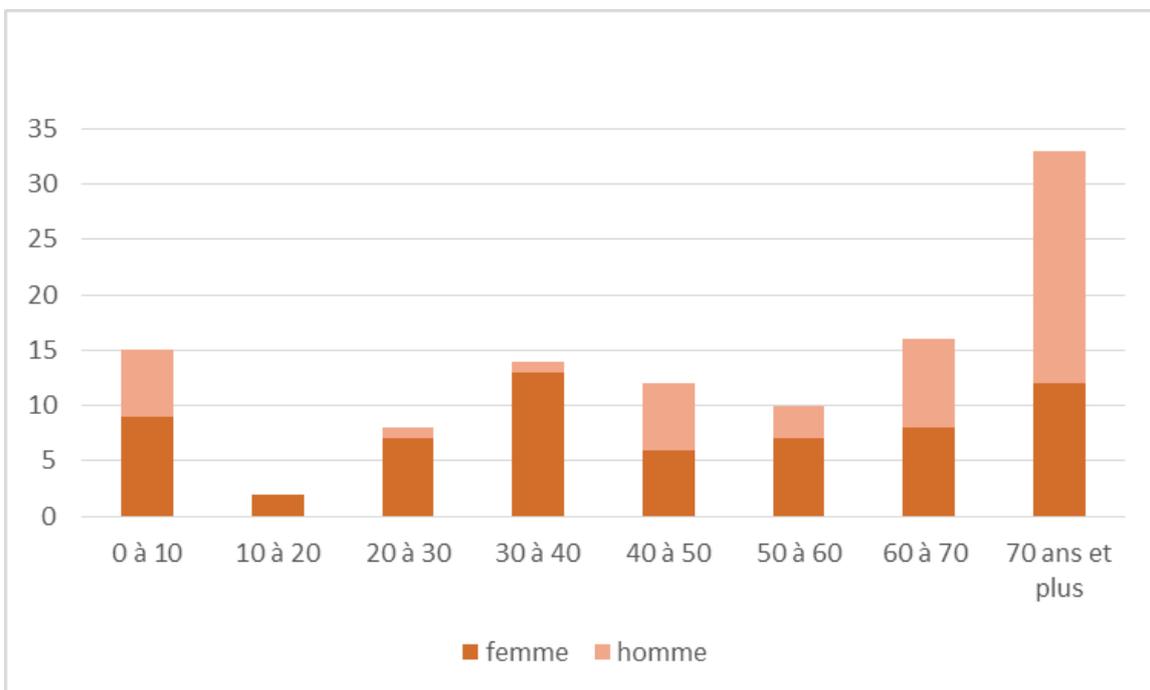
C'est pour cette raison que les bactéries s'introduiront facilement dans la vessie des femmes.

### 3 La répartition des IU en fonction de l'âge :

Le laboratoire a reçu des prélèvements de patients de différents âges, de puis les nouveaux nés jusqu'à personnes âgées.

Dans les 112 d'ECBU positifs, les résultats (**Figure 15**) montre que l'infection attaque surtout les enfants moins de 10 ans, les femmes de 30 à 40 ans, et les personnes âgées. Cela s'explique par :

- Chez les enfants, parfois les couches souillées ou portées trop longtemps sont responsables des infections. Ou un reflux vésico-urétéral (RVU), qui doit quelquefois être traité ou qui peut disparaître tout seul au bout de quelques mois ou quelques années.
- Chez les femmes surtout entre 30 et 40 ans, l'activité sexuelle facilite l'entrée des germes présents normalement au niveau du vagin dans l'urètre et la vessie. La grossesse favorise également l'IU car la compression par l'utérus entraîne une dilatation voir une certaine obstruction des urètres.
- Chez les hommes, la prostate a tendance à devenir plus grosse, ce qui peut gêner le flux urinaire [23].



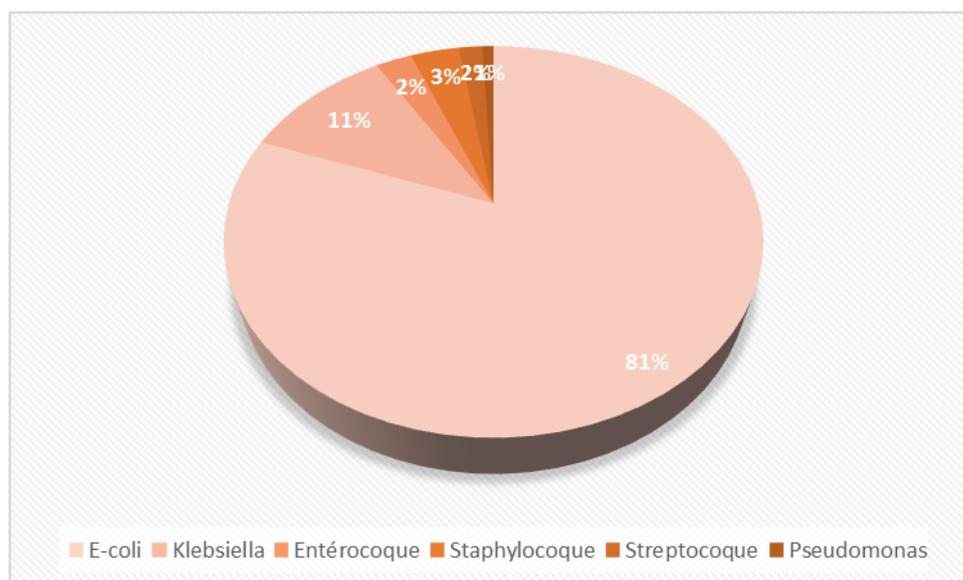
***Figure 15 : Répartition de l'infection urinaire selon l'âge.***

### 4 La répartition globale des germes :

Les bactéries citées dans le (**Tableau 3**) sont les plus rencontrées au cours de la période de stage.

**Tableau 3 : Répartition des principaux germes dans les urines**

Famille	Germes	effectifs	Pourcentage validé
Entérobactérie	<i>E-coli</i>	90	80,3 %
	<i>Klebsiella</i>	12	10,7 %
<b>Total</b>		102	91 %
Cocci Gram positif	<i>Entérocoque</i>	3	2,6 %
	<i>Staphylocoque</i>	4	3,5 %
	<i>Streptocoque</i>	2	1,7 %
<b>Total</b>		9	7,8 %
Bacille à gram négatif non fermentaires	<i>Pseudomonas</i>	1	0,8 %
<b>Total</b>		1	0,8 %



**Figure 16 : Répartition des principaux germes dans les urines**

Le profil épidémiologique des germes montre une prédominance des Entérobactéries qui ont représenté 91%, on retrouve E. coli avec une fréquence de 80.3% suivie de Klebsielle 10.7%.

Suivie par les cocci gram négatifs de 7.8%, dont 2.6% des entérocoques et 3.5% des staphylocoques, 1.7% des streptocoques, et 0.8% des Bacilles gram négatifs non fermentant (*Pseudomonas*) (**Figure 16**).

D'après ces résultats nous avons pu ressortir les points suivants :

- La répartition des germes peut être expliquée par la physiopathologie ascendante de l'IU ainsi que la forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier E. coli, associées aux facteurs spécifiques d'uropathogénicité telles que les adhésions bactériennes capables de se lier à l'épithélium urinaire [19].
- L'origine des IU soit communautaire ou nosocomiale, sont dues à des Entérobactéries.
- E. coli est le germe prédominant dans les urines car passe de la région anale et vulvaire puis remonte l'urètre de la femme.
- Pendant que l'urine est retenue dans la vessie, les E. Coli ont le temps de proliférer et de provoquer l'infection urinaire [22].

Ainsi, on retrouve les mêmes germes partout dans le monde avec bien entendu des fréquences variables.

---

## CONCLUSION

---

Les infections urinaires ont une fréquence variable d'un patient à l'autre selon le sexe, l'âge, et les germes responsables de l'infection. La présente étude qui a été réalisée dans le laboratoire de bactériologie (CBM) porte sur l'ensemble des bactéries isolées des prélèvements d'urines reçus, il est nécessaire de noter que l'étude reflète seulement la situation de laboratoire au cours de la période de stage.

L'ECBU est l'un des examens biologiques les plus recommandés pour détecter une infection urinaire.

Selon nos résultats, 615 ECBU ont été réalisés, 112 prélèvements sont positifs avec un pourcentage de 18.2%. Et 503 prélèvements négatifs avec un pourcentage 81.7%. Les femmes sont majoritaires dans les IU, présentent un pourcentage de 61%. La tranche d'âge la plus touchée est entre 30 et 40 ans et les personnes âgées de 70 ans et plus.

E. Coli est la bactérie dominante dans les IU avec un pourcentage de 80.3%.

Après l'identification des germes, on réalise l'antibiogramme qui est l'un des examens les plus importants qui permet d'aider le médecin à choisir au mieux l'antibiothérapie après avoir passé un test de sensibilité des germes aux antibiotiques.

En définitive l'ECBU est considéré parmi les examens les plus prescrits pour diagnostiquer l'IU en présence ou absence d'une symptomatologie et d'identifier le germe responsable afin d'instaurer un traitement efficace.

---

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [1] E.Bergogne-Bérézin : antibiothérapie des infections urinaires basses ; bases cliniques, microbiologiques et pharmacologiques. Actualités thérapeutiques, Antibiotiques 2006 ; 8 : 51-62 / Recommandations et références médicales, le concours médical 1996, supplément au numéro 40, PP 4-5
- [2] Lyonel Rossant, Jacqueline Rossant-Lumbroso ; Encyclopédie médicale ; Les infections urinaires 2010
- [3] Doco-Lecompte ; Maladies Infectieuses et tropicales Commission spécialisée des antibiotiques : 24 juin 2008 ; [http : //www. passeportsante. Net /fr/P/Loupe/Fiche.aspx,doc=infection\\_urinaire\\_gr.gif](http://www.passeportsante.net/fr/P/Loupe/Fiche.aspx,doc=infection_urinaire_gr.gif)
- [4] Seven Mice SARL ; Médecine et santé anatomie du corps humain illustration et explication ; 2008 ; [http : //www. medecineetsante.com /anatomie/Genitourinairefemme.html](http://www.medecineetsante.com /anatomie/Genitourinairefemme.html)
- [5] Caron et al. - 2015 - Infections Urinaires Recommandation SPILF mise à jour décembre 2015/ Bruyère et al. - 2008 - Recommandations du Comité d'Infectiologie de l'AFU - 45 généralités
- [6] Medina Bombardó D, Jover Palmer A 2011
- [7] infections-urinaires-spilf-argumentaire.pdf
- [8] REMIC 2ème édition. 2004
- [9] Conférence de consensus co-organisée par la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) et l'Association Française d'Urologie (AFU) ; infections urinaires nosocomiales ; Paris : institut pasteur ; Novembre 2002
- [10] (Bernard Branger, Marie-Alix Ertzscheid, Hélène Sénéchal Hygiène en Urologie. C.CLIN-Ouest 2004)
- [11] Frédéric J, Elvire M-K, Audrey M, Jean DC.les difficultés d'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. Revue Fran cophone des Laboratoires, volume 2008, issue 406, Novembre 2008, pages 51-59

[12] Olivier TRAXER ; Urologie ; Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte, Leucocyturie : 1.7.93 ; le 11 février 2005

[13] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant Recommandations. Archives de pédiatrie. 2007 ; 14 :943-950

[14] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires communautaires du nourrisson et de l'enfant. Février 2007

[15] Cavallo JD. Garrabé E ; outils du diagnostic biologique des infections urinaires nosocomiales (IUN) : Analyse critique ; Méd Mal Infect ; 2003 ; 33 : 447-456.

[16] (Société Française de Microbiologie. REMIC - Référentiel en microbiologie médicale - 2ème édition. 2004 ; 2M2 - Montmorency: 198 pages.

[17] Guillaume PY. Les milieux de culture en microbiologie, 2004. Disponible sur : [www2.ac-Lyon.fr/enseigne/.../milieu.htm](http://www2.ac-Lyon.fr/enseigne/.../milieu.htm)

[18] thèse de Mr. AIT MILOUD Khalid sur L'INFECTION URINAIRE : EXPERIENCE DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE DE L'HOPITAL DES SPECIALITES DE RABAT

[19] Frederic Janviera,\*, Elvire Mbongo-Kamaa, Audrey Merensa, Jean-Didier Cavalloa ; Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines revue francophone des laboratoires ; novembre 2008 - n°406

[20] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4594982/>

[21] Les services du ministère de la santé ; Santé publique. Les infections nosocomiales ; Médecine et Droit ; 2005 ; 15-22

[22] <https://www.gare.fr/sante/infectionurinaire/#:~:text=Les%20bact%C3%A9ries%20g%C3%A9n%C3%A9ralistes%20la%20vidange,de%20provoquer%20l'infection%20urinaire.>

[23] <https://sante.journaldesfemmes.fr/>