Choix d'un milieu de culture pour les urines

1. Identifier le problème

1.1. Problème clinique

- Très fréquentes, les infections urinaires recouvrent un ensemble de situations cliniques de symptomatologie et de gravité variables (bactériurie asymptomatique aux pyélonéphrites aiguës compliquées bactériémiques).

- Circonstances amenant à demander un ECBU : (REMIC)
  - Symptomatologie urinaire présente :
    - ✓ Patente : dysurie, pollakiurie, pesanteur vésicale, hématurie macroscopique.
    - ✓ Evocatrice : incontinence urinaire, douleurs lombaires, hyperthermie associée à un autre signe, leucocyturie et/ou NO_3 réductase (bandelette urinaire = BU).
  - Symptomatologie urinaire absente
    - ✓ Trompeuse : protéinurie, hyperthermie isolée, personnes âgées, diabétiques.
    - ✓ Systématique : femme enceinte, pré-opératoire urologique ou gynécologique, contrôle post thérapeutique.

- Cet examen n'est pas obligatoire en cas de cystite aiguë de la femme de moins de 65 ans sans antécédents en dehors de la grossesse.
- Attention : la BU doit être réalisée sur les urines du matin après stagnation
  les résultats de la BU sont souvent erronés chez le sujet diabétique

1.2. Problème de santé publique

- L'ECBU est une des analyses de microbiologie les plus demandées.

- En ville : les infections urinaires constituent 1 à 2 % des consultations chez le généraliste.
  - ✓ Chez la femme , la fréquence augmente avec l'âge avec 2 pics, l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre à la période post-ménopausique. La grossesse est un facteur favorisant.
  - ✓ 40 à 50 % des femmes font un épisode d'infection urinaire au moins une fois dans leur vie. La prévalence est plus élevée chez la femme (20%) que chez l'homme.
  - ✓ Chez l'homme la fréquence augmente après 50 ans en relation avec la pathologie prostatique.
  - ✓ Chez l'enfant, l'infection urinaire est souvent le témoin d'une malformation de l'appareil excréteur (en particulier chez le garçon) (50 % des cas).

- A l'hôpital, c'est l'infection nosocomiale la plus fréquente.

1.3. Agents pathogènes attendus

Germes (%) responsables d'infections urinaires

	Ville	*Hôpital*	*HCL 2001*	*Annecy*	
				Accueil	hospitalisés
E.coli	80	50	44	75	55
dont R amoxicilline	*(40)*	*(>50)*	*(42 %)*		
Proteus sp.	3-4	13	3	3	5,5
Klebsiella sp.	<2	11	5	2	4
Staph.sp	2-3	4	11	5,5	7
Strepto. sp.	1	7	19	1,8	2
Autres BGN	1,5	3	9	1	5
Pseudo. aeruginosa	-	10-20	9	1	5
Levures	-	2		0,5	1,5

Remarque :

Statuts particuliers (sonde à demeure, uretrostomie sans sonde, immunodéprimés)

- *germes des infections nosocomiales*
- *autres germes : Acinetobacter baumanii, Burkholderia cepacia, Stenotrophomonas maltophila, Staphylococcus coagulase négative, Corynebacterium urealyticum*
- *plus rarement : Oligellae urethralis, Aerococcus urinae, Lactobacillus sp*

Infections par voie descendante :

- *champignons levuriformes (Candida albicans le plus souvent)*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Salmonella*
- *Staphylococcus aureus*
- *Leptospire*

Ces données sont importantes à connaître car la prévalence des différentes espèces microbiennes permet d'optimiser les instructions techniques (praticabilité, rapidité de réponse, coût).

1.4. Agents pathogènes générant de fausse réponse au problème

Les urines sont normalement stériles. Tout germe est donc à rechercher mais il faut détecter les contaminations et distinguer les germes non pathogènes au niveau urinaire.

1.4.1. Contamination

Interprétation des résultats

- Le premier paramètre à prendre en compte est la clinique.
- Ensuite, il faut tenir compte de la bactériurie. Depuis les travaux de KAAS, l'interprétation des cultures s'effectue de la manière suivante :
  - ✓ bacteriurie < 10^3 CFU / ml : absence d'infection.
  - ✓ bacteriurie >10^5 CFU / ml : infection probable.
  - ✓ entre 10^3 et 10^4 CFU / ml : zone d'incertitude, à contrôler.

Ces résultats devraient être donnés et interprétés en fonction de la densité urinaire.
Ici, le problème est de détecter toutes les infections urinaires (sensibilité) mais que les infectionx urinaires (spécificité)

- La leucocyturie est importante : chez le patient non immunodéprimé, une infection urinaire s'accompagne d'une leucocyturie ≥ 10 000 GB / ml. Cette leucocyturie lors des infections urinaires peut être absente chez les nouveaux né, les femmes enceintes et les aplasiques (rare).

- Cependant, d'autres critères sont à prendre en compte : examen direct, caractère mono ou poly- microbien, …

- Une contamination est supposée lorsqu'on retrouve de nombreux germes à l'examen direct et plus de deux types de colonies sur la culture. Une telle situation doit conduire à demander un nouveau prélèvement.

Germes contaminants

Les urines peuvent parfois être contaminées par la flore des voies génitales et digestives.

- ✓ Flore cutanée : Staphylocoques, Corynebacteries, …
- ✓ Flore des voies digestives (côlon) : anaérobies (*Bacteroides*, *Peptococcus*, bacilles à Gram positif non sporulés, *Clostridium*), Corynébactéries entérobactéries, Streptocoques, Staphylocoques, Microcoques. Cette flore colonise également les voies génitales.

1.4.2. Germes "non pathogènes" au niveau urinaire

- On peut à priori considérer comme "non pathogènes" au niveau urinaire :
  - ✓ Les Staphylocoques coagulase négative autres que *Staphylococcus saprophyticus.*
  - ✓ Les Corynebacteries autres que *Corynebacterium urealyticum.*

1.5. Gravité des infections rares

1.5.1. Infections rares

- Il s'agit essentiellement des infections à *Mycobacterium tuberculosis* qui peut entraîner des infections rénales (même symptomatologie que les infections urinaires) et des infections vésicales.

- Leur mise en évidence est plus difficile, puisque, elle nécessite des milieux spéciaux.

1.5.2. Infections graves

- Les infections urinaires basses ou cystites aiguës doivent être recherchées car elles peuvent se compliquer en pyélonéphrites (= infection urinaire haute)dont l'évolution vers une septicémie est possible.

- *Streptococcus agalactiae* (groupe B) chez la femme enceinte : doit toujours être recherché
  La colonisation vaginale est présente dans 10 à 20 % cas et entraîne souvent une colonisation du nouveau-né (risque d'infection précoce ou tardive avec septicémie, pneumopathie voire méningite). La découverte fortuite de ce type de bactérie dans un ECBU de femme enceinte doit être signalée au médecin. La présence de Streptocoque B au niveau rectal peut également entraîner la contamination du nouveau-né.
  N.B. Le taux d'infections urinaires à Streptocoques B est relativement bas et touche essentiellement les personnes âgées, les diabétiques et les femmes en période après la ménopause.

- Les infections à germes résistants aux antibiotiques sont plus graves puisqu'elles sont prises en charge plus difficilement. Elles sont fréquentes en milieu hospitalier, en particulier en cas d'infection nosocomiale.

1.6. Contraintes médicales

1.6.1. Peu de contraintes

- En règle générale, il y a peu de contraintes : cet examen est non invasif, le prélèvement est facile, il peut être réalisé par le malade.

- La seule contrainte est le respect des règles d'hygiène.

1.6.2. Cas particuliers

Il existe des conditions particulières de prélèvement pour les nourrissons, les patients sondés à demeure, les patients bénéficiant d'une urétérostomie sans sonde et lors du bilan d'extension d'une Mycobactérie.

1.7. Prélèvement

- En pratique, prélever avant toute antibiothérapie les urines de la 1ère miction du matin ou les urines ayant séjournées au moins 3 à 4 heures dans la vessie (en milieu de jet après une toilette soigneuse du méat urétral afin d'éviter la contamination des urines par les germes de la flore locale).

- Le prélèvement se fait à la volée chez l'homme et la femme, grâce à une poche stérile chez le nourrisson, à la seringue dans la tubulure chez le malade sondé, par sondage intermittent chez le sujet porteur d'une vessie neurologique.

- Lors du bilan d'extension d'une Mycobactérie , il faut recueillir **toutes** les urines de la nuit. L'ensemencement sera réalisé à partir du culot de centrifugation.

1.8. Contraintes logistiques

- 5 à 10 ml d'urine doivent être recueillis dans un flacon stérile ou un tube avec conservateur (acide borique). Ceci représente le volume optimal. Une partie des examens pourra être réalisée avec un volume inférieur.

- En cas d'acheminement tardif du prélèvement ou d'examen différé, les urines doivent être prélevées sur conservateur et placées à + 4 °C moins de 8 heures. Dans ces conditions, la prolifération bactérienne est ralentie mais la conservation des cellules n'est pas bonne.

- Les milieux de culture doivent être conservés entre +4 et +8 °C. Cependant ils ne doivent pas être ensemencés lorsqu'ils sont trop froids et après l'ensemencement, ils sont placés rapidement à l'étuve. La date de péremption indiquée par le fabriquant doit être respectée.

2. Poser le problème sous l'angle théorique

- Le milieu choisi doit permettre une étude qualitative ET quantitative (après ensemencement par öse calibrée). En effet, l'interprétation des résultats tient compte du type de germes impliqués mais également du nombre de colonies retrouvées. Cette quantification n'est significative qu'au delà de 10^4 colonies. La technique doit permettre une appréciation du nombre de colonies dans la plage de 10^3 à 10^5 UFC/ml (limites adoptées pour l'interprétation des cultures).

- On recherchera un milieu :
  - ✓ De sensibilité suffisante (notion de service médical rendu).
  - ✓ Pouvant mettre en évidence les micro-organismes pathogènes les plus fréquemment retrouvés (*E. coli*, *Proteus*, entérocoques, entérobactéries du groupe KES).
  - ✓ Permettant une bonne croissance des germes pathogènes urinaires mais la lecture du nombre de colonies devra être possible (croissance mais pas d'envahissement).
  - ✓ Il pourra être nécessaire d'associer plusieurs milieux pour une meilleure sensibilité.
  - ✓ Permettant d'obtenir un résultat le plus rapidement possible (notion de service médical rendu).

- Le milieu devra être :
  - ✓ D'utilisation facile et rapide.
  - ✓ Sans risque pour le technicien ni pour l'environnement.
  - ✓ Les conditions de conservation et de stockage devront être simples.

- Le milieu choisit devra être de coût modéré et le rapport coût/bénéfice devra être le meilleur.

3. Quels critères scientifiques de comparaison

- Les critères à prendre en compte sont :
  - ✓ Limites de détection et sensibilité : quels germes sont cultivables ? dénombrement ?
  - ✓ Spécificité : quels germes sont identifiables, à quel taux ?

- Les choix à discuter sont :
  - ✓ Substances nutritives contenues dans les différents milieux de culture.
  - ✓ Substances permettant d'éviter l'envahissement du milieu par certains germes (*Proteus* contaminant).
  - ✓ Milieu chromogène ou non utilisé.
  - ✓ Limites de la technique.

4. Faire le bilan des possibles

4.1. Milieux non chromogènes (Tableau 1)

TCS

- Trypsine – Caseine – Soja.
- Milieu non sélectif, non inhibiteur, sans indicateur coloré.
- La différentiation des colonies est difficile car toutes les colonies sont blanches.

C.L.E.D

- Cystine – Lactose – Electrolyte – Deficient.
- Milieu peu sélectif.
- Indicateur coloré (Bleu de bromothymol) de variation de pH après consommation du milieu (lactose) par les bactéries.
- Aspect des colonies oriente vers identification des germes mais le diagnostic présomptif devra toujours être confirmé par une identification complète biochimique.
- Inhibition de l'envahissement de *Proteus* par la faible teneur en électrolytes.
- Prix (catalogue 2002) : 0,52 €/unité.

BCP

- Gélose lactosée au BromoCrésol Pourpre.
- Milieu non sélectif, non inhibiteur.
- Les germes fermentant le lactose sont reconnus par une coloration jaune témoin de l'acidification du milieu.

- Prix (catalogue 2002) : 0,52 €/unité.

Gélose Drigalski

- Gélose lactosée au bleu de bromothymol.
- Milieu peu sélectif, inhibant l'envahissement par *Proteus* du milieu par la présence de desoxycholate de sodium et inhibant la pousse des bactéries Gram positif (cristal violet qui inhibe les systèmes de transport des disaccharides membranaires).
- Orientation étiologique après virage de l'indicateur coloré (fermentation du lactose).
- Prix (catalogue 2002) : 0,6 €/unité.

Gélose Mac Conkey

- Milieu sélectif.
- Gélose lactosée au rouge neutre (indicateur de pH coloré mettant en évidence la fermentation du lactose par les bactéries).
- Présence de sels biliaires évitant l'envahissement par *Proteus* et de cristal violet inhibant la croissance des germes Gram positif en Europe
- Attention : aux Etats Unis, les gélose Mac Conkey ne contiennent pas de cristal violet
- Prix (catalogue 2002) : 0,6 €/unité.

Gélose au Sang

- Milieu non sélectif, sans indicateur coloré.
- Convient pour la culture des germes exigeants et hémolytiques.
- Si on veut inhiber l'envahissement des *Proteus*, on peut, lors de l'ensemencement, mettre un peu d'alcool dans le couvercle de la boîte
- L'association acide nalidixique + colimycine (ANC) inhibe les bactéries Gram négatif et les bacillus.
- Milieu adapté à la culture des bactéries Gram positif notamment les *streptocoques.*
- Prix (catalogue 2002) : 0,52 €/unité.

4.2. Milieux chromogènes (Tableau 2)

- Principe du substrat chromogène

  - Analogue structural d'une molécule naturellement clivée par une enzyme bactérienne ou fongique.
  - Initialement le substrat ne possède aucune propriété.
  - Après clivage l'aglycone libéré acquiert des propriétés chromogéniques, il précipite sans diffuser dans la gélose afin de permettre une bonne différenciation des colonies dans une culture plurimicrobienne. (sur les premiers milieux chromogènes fabriqués, le substrat diffusait dans la gélose ce qui ne permettait pas une bonne distinction des colonies

- La présence d'une enzyme spécifique d'une espèce ou d'un groupe d'espèces.

· Difficulté de mise au point des milieux de culture chromogènes

- Equilibre entre la croissance et la réaction enzymatique indispensable. Il faut rechercher un compromis entre un milieu appauvri en éléments nutritifs permettant une bonne hydrolyse des substrats chromogèniques et un milieu suffisamment riche permettant une croissance suffisante des micro-organismes recherchés, mais pas trop riche afin d'éviter l'envahissement par certains germes (*Proteus*).
- L'activité enzymatique mise en évidence sur le milieu est spécifique de chaque micro-organisme. Si la spécificité enzymatique est insuffisante, l'utilisation de tests complémentaires est indispensable (examens microscopiques, immuno-logiques, enzymatiques).

· Activités enzymatiques utilisées dans les milieux de culture chromogèniques (Tableau 3)

- β-D-glucuronidase ou β-D-galactosidase : spécifiques d'*Escherichia coli.*
- β-D-glucosidases : spécifiques d'*Enterococcus spp*. et groupe KES-C (*Klebsiella spp*. - *Enterobacter spp*. - *Serratia spp*. - *Citrobacter spp*.).
- Tryptophane déaminase : spécifique du groupe *Proteus* / *Morganella* / *Providencia.*
- β-D-galactosaminidase : spécifique de *Candida albicans.*

Chromagar Orientation® (Becton Dickinson)

· Milieu non sélectif.
· Enzymes utilisées :
  β-glucosidase
  β-D galactosidase
  Tryptophane desaminase (test complémentaire)
· Substances nutritives fournies par des peptones sélectionnés, sources d'électrolytes limités (réduction du nombre d'espèces de *Proteus*).
· Conservation : + 2 à 8 °C à l'abri de la lumière.
· Ensemencement par öse calibrée pour permettre la numération bactérienne (comparaison avec brochure).
· Incubation 35 +/- 2 °C en aérobie 20 à 24 heures.
· Identification
  - Directe sur boite de : *E.coli, entérocoques* et la plupart des souches de *S. saprophyticus.*
  - Par décoloration du milieu de : KES (*Klebsiella-Enterobacter-Serratia*) et PMP (*Proteus-Morganella-Providencia*).
  - Les autres pathogènes urinaires ne pourront être identifiés qu'avec des tests biochimiques.
· Tests de confirmation
  - Indispensable pour différencier *Enterococcus sp* et *Strepto.agalactiae* (test pyroglutamate) et groupe PMP (test à indole par DMCA : diméthylaminocinnamaldéhyde).
  - Conseillé pour *E.coli*.(DMCA*).*

· Limites :
  - Ne permet pas la croissance d'organismes exigeants (*Neisseria, Haemophilus, Mycoplasma*).
  - Pas d'identification directe des autres bactéries Gram négatif.

- *Aeromonas hydrophila* peut produire des colonies roses similaires à *E.coli* (nécessité test indole).

· Prix (catalogue 2002) : 1,60 €/unité.

Uriselect ® 4 (BIO RAD)

· Principe identique avec utilisation des enzymes β-glucosidase, β-D galactosidase et tryptophane désaminase (test complémentaire).
· Milieu gris opaque (lecture plus difficile pour certains techniciens).
· Limites :
  - Quelques souches de staphylocoques peuvent être inhibées.
  - Quelques souches de levures ne se développent pas.
· Prix (catalogue 2002) : 1,15 €/unité.

UTI ® 4 (OXOID)

· Principe identique avec utilisation des enzymes β-glucosidase, β-D galactosidase et tryptophane désaminase (test complémentaire).
· Prix (catalogue 2002) : 1,14 €/unité.

CPS ID® 2 (bioMérieux)

· Principe identique avec utilisation des enzymes β-glucuronidase, β-D glucuronosidase et tryptophane désaminase.
· Prix (catalogue 2002) : 1,16 €/unité.

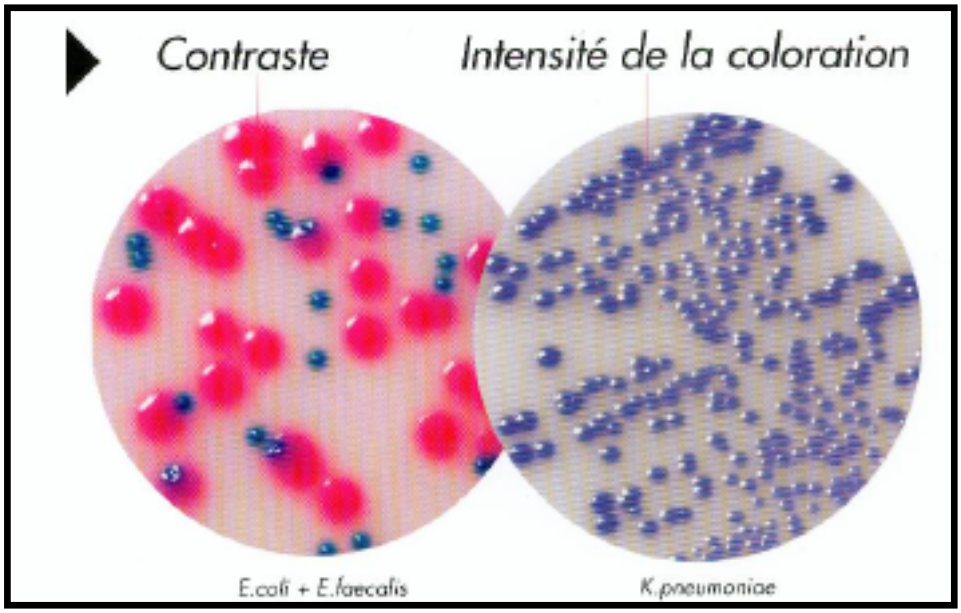
Candida ID® (bioMérieux)

· Milieu sélectif (inhibition des bactéries par gentamicine et chloramphénicol).
· *Candida albicans* mis en évidence par utilisation de son enzyme hexaminidase.
· Prix (catalogue 2002) : 1,16 €/unité.

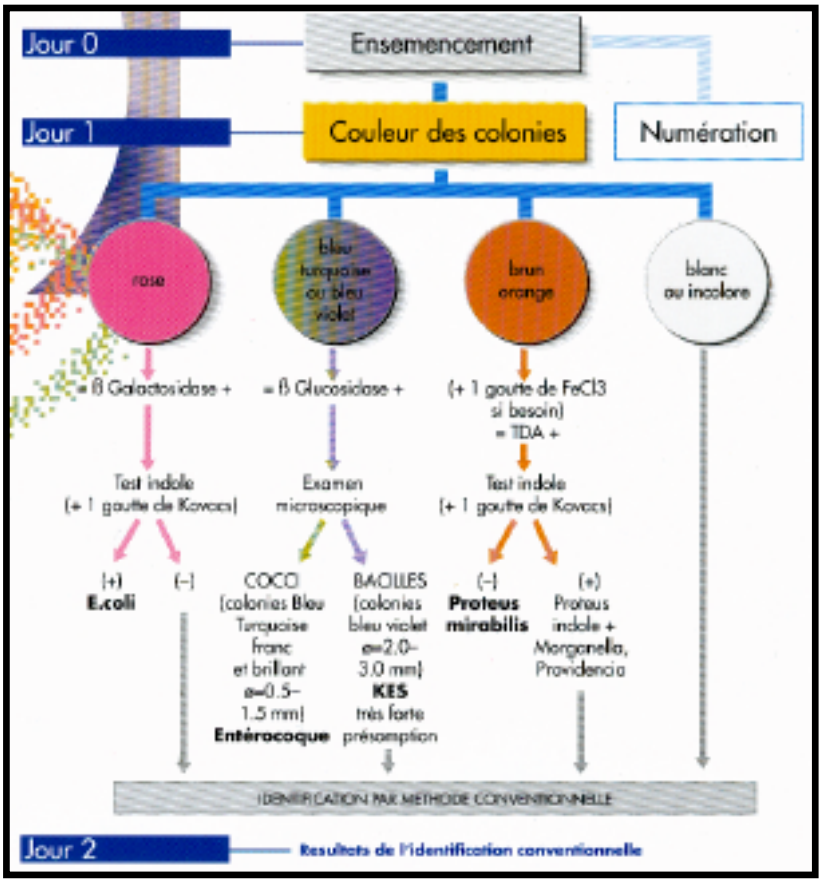
Albicans ID® 2 (bioMérieux)

· Principe identique au précédent pour l'inhibition des bactéries.
· Utilisation de l'hexaminidase et d'une autre enzyme pour l'identification directe sur boite de *Candida albicans* et *Candida tropicalis.*
· Prix (catalogue 2002) : 1,16 €/unité.

Exemple d'identification sur milieu chromogène (Uriselect ® 4)



Arbre décisionnel adapté aux milieux chromogènes utilisant les enzymes β-glucosidase et β-D galactosidase (exemple Uriselect ® 4)



5. Présentation des résultats

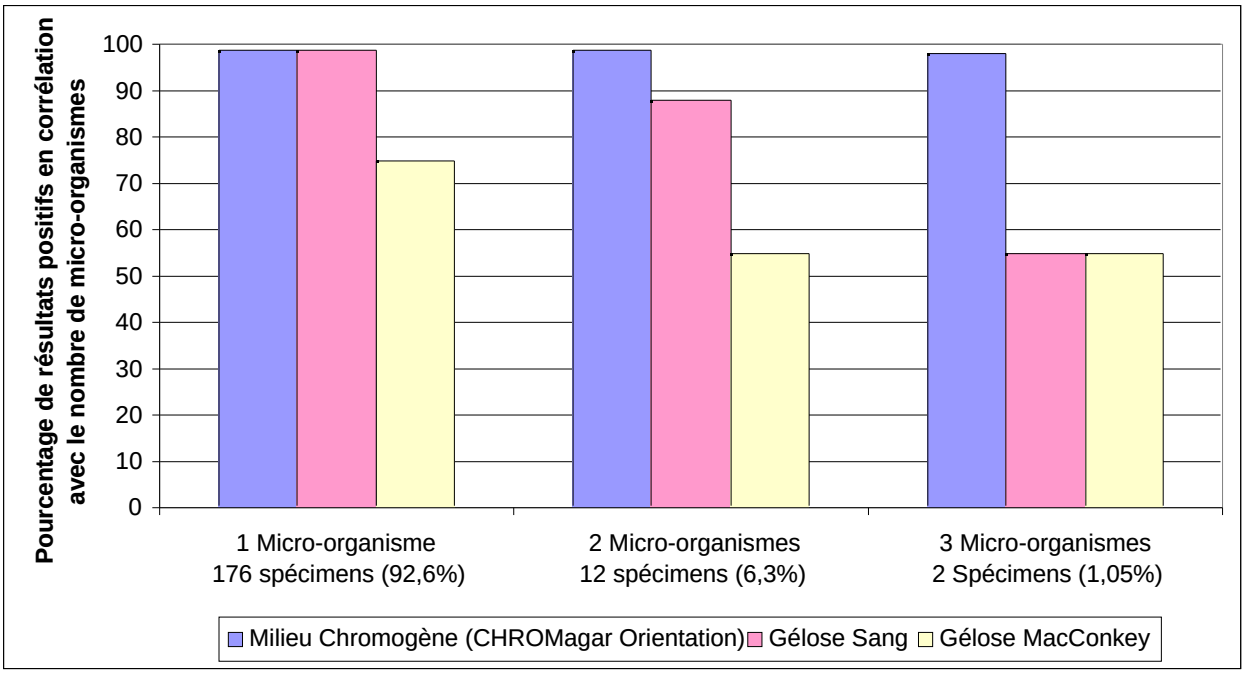
La comparaison des données provenant d'études différentes est difficile puisque le panel d'espèces comparées est différent d'une étude à l'autre. Une étude comparative stricte ne peut comparer que les mêmes échantillons traités dans les mêmes conditions.

5.1. Comparaison des milieux chromogènes aux milieux non chromogènes

De nombreux articles ont comparé les milieux chromogènes aux milieux classiques. Ils mettent tous en évidence des sensibilités équivalentes concernant le taux de détection et le compte bactérien. Les tests de susceptibilité (antibiogrammes) n'ont pas montré de différence avec les milieux non chromogènes. Ces milieux peuvent donc être utilisés pour l'ensemencement primaire des urines.

Comme le montre le graphique suivant, ils ont démontré leur supériorité pour la détection des urines pluri microbiennes par rapport aux milieux classiques.

Evaluation des milieux chromogènes et non chromogènes concernant la détection des microorganismes sur des cultures mono et pluri microbiennes[5]



En résumé, les milieux chromogènes présentent les caractères suivants :

- Même capacité à détecter les germes urinaires communs du tractus urinaire que l'association de deux milieux non chromogènes (trypticase soja sang + MacConkey, CLED + MacConkey). Les milieux chromogènes peuvent donc être utilisés comme milieu primaire d'isolement pour les cultures d'urines.

- Ces milieux permettent une meilleure discrimination des colonies donc une meilleure sensibilité de détection des urines poly-microbiennes. Ce ceci les rend plus facile à utiliser pour les personnes ayant peu d'expérience.
- Ils permettent une identification directe de *E. coli*, *Enterrococcus* spp et *Proteus mirabilis*. L'ensemble de ces germes est retrouvé à environ 60 % en milieu hospitalier.
- Cette identification rapide de *E. coli*, *Enterrococcus* spp et *Proteus mirabilis*, présente des avantages cliniques puisque le résultat est rendu plus rapidement au clinicien.
- Tous ces milieux inhibent l'envahissement par *Proteus*.

5.2. Comparaison des différents milieux chromogènes

Plusieurs articles comparent les différents milieux chromogènes. Dans ce domaine, il n'y a pas de travaux comparant tous les milieux chromogènes dans la même étude. Nous allons donc exposer les travaux de A. Carricajo qui a comparé cinq milieux chromogéniques, puis nous ajouterons les conclusions de travaux plus récents mais qui ne comparent que deux ou trois milieux chromogènes.

Les paramètres étudiés dans les articles sont :
- le taux de détection.
- le taux de détection en fonction de l'espèce.
- l'identification directe exacte.

5.2.1. Travaux de A. Carricajo [2]

Dans cette étude, 443 urines ont été ensemencées sur cinq milieux chromogéniques :
- CPS ID® 2 (bioMérieux),
- CHROMagar Orientation ® (Becton Dickinson),
- UriSelect ® 3 (Sanofi Diagnostics Pasteur),
- Rainbow Agar UTI® (Biolog),
- Chromogenic UTI ® (Oxoid).

Le tableau 4 résume les résultats trouvés dans cette étude.

Il apparaît que :
- CPS ID® 2 et CHROMagar Orientation ® (BD) sont tout aussi performants et peuvent être utilisés pour l'isolement primaire.
- UriSelect ® 3 et Rainbow UTI ® doivent améliorer leur milieu de culture afin de permettre respectivement la croissance de *Staphylococcus* spp et des levures.
- Malgré les identifications supplémentaires proposées par Rainbow UTI®, ce milieu est limité car :
  - ✓ Le taux de détection des levures est mauvais.
  - ✓ L'identification d'*E. coli* n'est pas sensible.
  - ✓ L'identification de *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas sensible et est difficile à mettre en œuvre.
- Chromogenic UTI ® : ce milieu était en cours de développement et la formule utilisée lors de cette étude ne permettait pas l'identification *d'E. coli* (le test indole ne pouvait être appliqué). Ce défaut est donc à rediscuter (cf. 5.2.2.)

5.2.2. Autres travaux

Une comparaison des trois milieux : CPS ID® 2, Chromogenic UTI® et gélose USA® (AES Laboratoire) réalisée récemment par l'équipe de C. Chaux [3] (Tableau 5) :

- Le milieu CPS ID® 2 présente de meilleures performances de croissance mais une moins bonne identification d'*E. coli.*
- Chromogenic UTI® a un taux de détection inférieur à celui de CPS ID® 2 notamment sur les Staphylocoques coagulase négative mais de meilleures performances d'identification directe.
- Pour la gélose USA® deux points sont à améliorer : ses qualités nutritives afin d'augmenter sa sensibilité de détection et ses qualités d'identification.

Une autre étude [1] a recherché l'effet du temps d'incubation sur la croissance et la détection des bactéries puisque les fabriquants recommandent une incubation de 24 à 48 h avec les géloses suivantes : au sang (GS), MacConkey, CLED, CPS ID® 2, CHROmagar Orientation ® (BBL), CHROmagar Orientation® (CHROmagar Compagny), Chromogenic UTI®. Le pourcentage de colonies retrouvées après 24 h d'incubation est le suivant (on considère que le taux de 100 % est obtenu après 48 h d'incubation) :

- GS : 99 %.
- CLED : 99 %.
- Mac Conkey :100 %.
- CPS ID® 2: 97 %.
- CHROmagar Orientation® (BBL) : 98 %.
- CHROmagar Orientation® (CHROmagar Compagny) : 99 %.
- Chromogenic UTI ® : 98 %.

On considère donc que le temps d'incubation n'influence pas le taux de détection (pas de différence statistiquement significative).

Enfin, d'autres techniques sont à l'étude. Il s'agit de du système Dipstreak [6] : c'est un support de culture à deux faces : deux milieux de culture sont dos à dos, l'un est chromogène (Uriselect® 3 ou CPS ID® 2) et l'autre est non chromogène (MacConkey).

Cette technique possède des avantages puisqu'elle permet l'inoculation, le dénombrement des bactéries, l'isolement de colonies et grâce au milieu chromogène, une identification directe de *E. coli*, *Streptococcus spp.*, *Proteus mirabilis/penneri*, mais également une inoculation facile et correcte même par le personnel non expérimenté.

Cette étude révèle deux inconvénients :

- Une différence statistiquement significative concernant l'identification d'*E. coli* entre le milieu Uriselect® 3 en boîte et le milieu Uriselect® 3 Dipstreak. Il s'agit pourtant du même milieu, mettant en évidence la même enzyme (β glucuronidase). Cette différence serait donc due au mode de préparation.
- Une confluence de croissance observée pour les comptes > 10^7 UFC/ml probablement due à la plus petite surface de ce milieu. Il faut donc dans ce cas réaliser des sub cultures.

Conclusion : choix d'un milieu de culture

☞ Actuellement, le choix d'un milieu de culture des urines se fera vers un milieu chromogène.

- En effet, la bibliographie de ces dernières années est unanime et vante les mérites de ces milieux en plein succès car bouleversant le diagnostic bactériologique urinaire essentiellement sur des critères de meilleure détection des cultures plurimicrobiennes et d'économie de temps et d'argent.

- L'identification directe sur le primo-isolement de certaines bactéries ou groupe de bactéries représentant plus de 60 % des espèces bactériennes (*E. coli*, *Proteus*, entérocoques, entérobactéries du groupe KES) retrouvées dans les infections urinaires permet :

  - ⇨ Un délai de réponse au clinicien plus court, ainsi, la thérapie est plus rapidement adaptée.
  - ⇨ Une économie de : réactifs (galeries et autres réactifs d'identification) et de « temps technicien».

- Dans les cultures plurimicrobiennes la visualisation des espèces est plus aisée, il a donc été démontré :

  - ⇨ Un meilleur taux de détection.
  - ⇨ Une diminution des subcultures.
  - ⇨ Une facilité de lecture.

- Les milieux chromogènes urinaires sont plus onéreux que les milieux classiques mais ne nécessitent pas dans la majorité des cas de compléter l'identification bactérienne par des sub-cultures et des tests biochimiques (le prix unitaire d'une galerie d'identification est de 2,40 €) indispensables lors de l'utilisation de milieu non chromogène.

  Etude dur 3460 urines avec 52 % d'*E.coli :*

  - ⇨ Réduction de 46 % du coût réactif.
  - ⇨ Réduction de 72 % du temps de travail.

☞ MAIS, en pratique, les milieux non chromogènes seront toujours à utiliser dans certains cas :

- suspicion de tuberculose urinaire.
- germes à croissance difficile : certaines Corynebacteries, germes anaérobie, *Haemophilus*.

Quelle que soit la procédure utilisée en routine pour la culture des urines, il faut adapter le choix du milieu en fonction du contexte clinique.

Remarque :

- *L'ensemencement se fera après examen direct en présence de polynucléaires neutrophiles et/ou germes sauf cas particuliers*
- *On associera un autre milieu chromogène ou non sur les données de l'examen direct*

Exemple :

✓ *Présence de levures : milieu chromogène urinaire + milieu chromogène pour la déctection et l'identification de levures (Candida ID par exemple)*
✓ *Présence de germes de type cocci en chaînettes à l'examen direct ensemencement d'un milieu chromogène urinaire et d'une gélose au sang*

D'autres systèmes peuvent être utilisés :

- les automates à dénombrement, les cytomètres de flux ainsi que les techniques de dénombrement sur papier : à l'heure actuelle, ces techniques ne sont pas de bonnes alternatives à l'ensemencement pour le dénombrement
- les automates à dénombrement bactérien sélectif basé sur un ensemble de substrats enzymatiques avec identification : ils sont encore à l'étude mais ne pourront pas abaisser leur délai de réponse en dessous de 16 h
- les techniques directe d'antibiogramme sont soumises à des problèmes : concentration urinaire en ion, patient traité, …

Enfin, les milieux chromogènes peuvent être utilisés pour d'autres types de prélèvement

Bibliographie :

1. Aspevall O, Osterman B, Dittmer R, Sten L, Lindback E, Forsum U : Performance of four chromogenic urine culture media after one or two days of incubation compared with reference media ; Journal of Clinical Microbiology (2002) ; 40(4) : 1500-1503

2. Carricajo A.,Boiste S., Thore J., Gille 1 Y., Freydiere A. M.: Comparative evaluation of five chromogenic media for detection, enumeration and identification of urinary tract pathogens ; European Journal of Microbiology and infection disease (1999)18 : 796-803

3. Chaux, M. Crepy, S. Xueref, C. Roure, Y. Gille and A. M. Freydiere : Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens
Clinical Microbiology & Infection ; (2002) Volume 8 Issue 10 641 - 645

4. Samra Z., Heifetz M., Talmor J., Bain E., Bahar J. : Evaluation of use of a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens ; J Clin Microbiol (1998) ; 36 (4) :990-4 ;

5. Scarparo C, Piccoli P, Ricordi P, Scagnelli M : Comparative evaluation of two commercial chromogenic media for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens ;
European Journal of Microbiology and infection disease (2002) 21(4) : 283-289

6. Scarparo C, Piccoli P, Ricordi P, Scagnelli M : Evaluation of the DipStreak, a new device with an original streaking mechanism for detection, counting, and presumptive identification of urinary tract pathogens ; Journal of Clinical Microbiology (2002) 40(6) : 2169-2175