

Apport des milieux chromogènes Uriselect4[®] et CPS ID3[®] dans l'isolement et l'identification des germes responsables d'infections urinaires

Contribution of the Uriselect4[®] and the CPS ID3[®] chromogenic media to the isolation and identification of urinary tract infections bacteria

Zoubeir Bouslah^{1,2}

Rahma Mahjoub^{1,3}

Zeineb Allagui¹

Malek Dabboussi¹

Manel Zouaoui¹

Amina Bibi^{1,3}

¹ Laboratoire de biologie clinique, Institut National « Zouheir Kallel » de nutrition et de technologie alimentaire, Tunis, Tunisie

² Faculté de médecine, Université de Tunis-El Manar, Tunis, Tunisie
<zoubeir.bouslah@gmail.com>

³ Faculté de pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie

Résumé. L'identification rapide et précise des agents infectieux est primordiale pour guider l'antibiothérapie. Les géloses chromogènes ont été proposées pour rendre l'isolement et l'identification des bactéries plus rapides et plus aisés. Notre étude a eu pour but de comparer deux géloses chromogènes, la gélose CPS ID3[®] et l'UriSelect4[®], par rapport à la méthode en utilisation routinière dans l'isolement et l'identification des germes impliqués dans les infections urinaires. Cette étude prospective menée au laboratoire de biologie de l'Institut de nutrition de Tunis en mai 2018, a inclus 301 échantillons urinaires. Les isolats des milieux de routine ont été identifiés à l'aide des galeries API[®]. Les isolats provenant de milieux chromogènes ont été identifiés sur la base de la coloration des colonies indiquée par le fabricant. Nous avons obtenu plus de cultures positives et monomorphes avec l'UriSelect4[®] et le milieu CPS ID3[®]. Les milieux chromogènes ont permis un meilleur isolement d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Morganella morganii* et *Streptococcus agalactiae*. L'UriSelect4[®] était supérieur au CPS ID3[®] en termes de sensibilité et de spécificité de l'identification présomptive de la plupart des uropathogènes isolés. L'identification des germes a été en avance de 24h par rapport à la méthode classique dans 63 % des cas avec le milieu CPS ID3[®], et dans 77,7 % des cas avec l'UriSelect4[®]. Les milieux chromogènes ont permis un meilleur isolement des germes impliqués dans les infections urinaires avec une identification présomptive rapide, facile et précise, en particulier avec l'UriSelect4[®].

Mots clés : identification bactérienne, infection urinaire, milieux chromogènes

Abstract. Rapid and accurate identification of pathogens involved in urinary tract infections helps to guide antimicrobial therapy. Chromogenic agars provide presumptive identification directly from primary isolation media. They have been intended to make the bacterial isolation and identification process easier and faster. Our study aimed to compare the performance and the cost of the CPS ID3[®] and the UriSelect4[®] chromogenic agars with the conventional method for the isolation and identification of urinary tract infections bacteria. We included 301 urinary samples in a prospective study conducted in May 2018 in the clinical laboratory of the National institute of nutrition and food technology of Tunis. Isolates from routine media were identified using API[®] system while isolates from chromogenic media were directly identified by colony color with reference to the manufacturer's recommendations. Chromogenic media yielded more pure positive cultures and allowed better isolation of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*, *Morganella morganii* and *Streptococcus agalactiae*. Sensitivity and specificity of the presumptive identification of most commonly isolated uropathogens were higher with the UriSelect4[®].

Article reçu le 08 avril 2019,
accepté le 26 novembre 2019

Correspondance : Z. Bouslah
<zoubeir.bouslah@gmail.com>

medium than with the CPS ID3® medium. Chromogenic media yielded the identification of pathogenic organisms 24 hours sooner than the conventional method in approximately 63 % of cases with the CPS ID3® medium and in 77.7% of cases with the Uriselect4® medium. Chromogenic media allowed a much better isolation of bacteria commonly involved in urinary tract infections with a quick, easy and accurate presumptive identification especially with the Uriselect4® medium.

Key words: bacterial identification, chromogenic media, urinary tract infection

Les infections urinaires constituent l'une des infections communautaires les plus courantes [1, 2], et la première cause d'infections nosocomiales représentant environ 28 à 38 % de toutes les infections acquises en milieu hospitalier [3, 4]. Dès lors, l'examen cyto bactériologique des urines représente une part importante de l'activité quotidienne de chaque laboratoire de microbiologie clinique [5]. L'identification rapide et précise des agents pathogènes impliqués permet d'initier une antibiothérapie probabiliste précoce et efficace, prévenant ainsi les complications graves et réduisant la durée de séjour des patients hospitalisés.

Classiquement, la mise en culture des échantillons d'urine est réalisée sur deux types de milieux : une gélose de base ou une gélose au sang, permettant la croissance et l'isolement de la plupart des bactéries responsables d'infections urinaires, et un milieu sélectif pour les germes à Gram négatif. L'identification des bactéries isolées est basée notamment sur une série de tests biochimiques et métaboliques [6]. C'est ainsi que la prise en charge thérapeutique optimale des patients est entravée par une procédure qui nécessite, très habituellement, pas moins de 48 heures (24 h pour l'isolement bactérien, puis 24 h pour l'identification complète). La spectrométrie de masse permet de réduire le délai de rendu des résultats tout en assurant une identification précise et fiable de la majorité des espèces bactériennes et fongiques couramment impliquées en clinique. Toutefois, le coût d'achat de l'appareil reste un inconvénient majeur qui limite son extension à certains laboratoires [7]. Les géloses chromogènes ont été proposées pour rendre l'isolement et l'identification des bactéries plus rapides et plus aisés. Ces milieux rendent possible une identification présomptive de certaines espèces bactériennes directement à partir de la culture des échantillons. Ils permettent de mettre en évidence une enzyme spécifique d'une espèce bactérienne, ou d'un groupe d'espèces, en utilisant des substrats qui, après leur dégradation, forment des produits colorés.

Dans le présent travail, et dans une optique de substituer aux milieux standards les milieux chromogènes, nous avons mené cette étude prospective pour comparer les performances et le coût de deux géloses chromogènes,

la gélose CPS ID 3® et l'UriSelect 4®, par rapport à la méthode utilisée en routine au laboratoire dans l'isolement et l'identification des germes couramment impliqués dans les infections urinaires.

Matériel et méthodes

Notre étude a été menée au laboratoire de biologie clinique de l'Institut national de nutrition et de technologie alimentaire de Tunis sur une période de 15 jours (du 7 mai 2018 au 21 mai 2018). Nous avons inclus 301 échantillons d'urines de patients hospitalisés ou ayant consulté à titre externe, sans critères de sélection particuliers.

Comme milieux standards, nous avons utilisé une gélose de base, la gélose nutritive ordinaire (GNO), et un milieu sélectif, la gélose Drigalski (Bio-Rad, France) qui permet l'isolement des bactéries à Gram négatif non exigeantes. Ces deux géloses ont été préparées au laboratoire à partir de poudres déshydratées. Quant aux milieux chromogènes, l'Uriselect® 4 (Bio-Rad, France) a été préparé selon les recommandations du fabricant à partir de poudre commercialisée, et le milieu CPS ID3® (bioMérieux, France) a été commandé directement sous forme de boîtes de Petri pré-coulées prêtes à l'emploi.

La mise en culture des échantillons d'urine a été réalisée avant toute autre analyse. Tous les prélèvements ont été systématiquement ensemencés sur les quatre milieux de culture. Le dénombrement des germes urinaires a été réalisé par la méthode de l'anse calibrée (10 µL), permettant l'évaluation quantitative de la bactériurie en unité formant colonie par millilitre (UFC/mL). Ensuite, les urines, homogénéisées et non centrifugées, ont été examinées à l'état frais sur cellules de Malassez au microscope optique (objectif x 40) pour le dénombrement des éléments figurés. La leucocyturie a été considérée significative si elle était $\geq 10^4$ éléments/mL. La lecture des urocultures a été effectuée après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C en atmosphère normale. L'interprétation de la bactériurie a été réalisée selon les critères recommandés par la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) en décembre 2015 [8]. Le seuil de significativité de cette bactériurie dépend du

contexte clinique, du type de micro-organisme isolé et de son caractère pathogène (tableau 1).

La mise en culture et l'interprétation des résultats ont été assurés par deux opérateurs indépendants : l'ensemencement des échantillons sur les quatre milieux de culture a été pratiqué par un technicien de laboratoire expérimenté, et l'interprétation des résultats des urocultures a été effectuée par un biologiste.

Les isolats des milieux de routine ont été identifiés à l'aide de procédures standards comprenant des tests d'orientation (coloration de Gram, analyses biochimiques simples, analyses d'agglutination latex) et un système

d'identification chimique miniaturisé : les galeries API® 20E (bioMérieux, France) pour les bacilles Gram négatif oxydase négative, les galeries API® NE pour les bacilles à Gram négatif oxydase positive, les galeries API® 20 Strep pour les streptocoques et les entérocoques, et les galeries API® Staph pour les staphylocoques. Les isolats provenant de milieux chromogènes ont été identifiés directement en fonction de la couleur des colonies et à l'aide des procédures recommandées par le fabricant (tableau 2).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, et les résultats

Tableau 1. Interprétation de la bactériurie : seuil de significativité.

| Groupe | Espèces bactériennes | Seuil de significativité |
|--------|--|--|
| 1 | <i>E. coli</i> , <i>S. saprophyticus</i> | Homme/Femme : 10 ³ UFC/mL |
| 2 | Entérobactéries autres que <i>E. coli</i> , Entérocoques, <i>Corynebacterium urealyticum</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> | Homme : 10 ³ UFC/mL Femme : 10 ⁴ UFC/mL |
| 3 | <i>Streptococcus agalactiae</i> , Staphylocoques à coagulase négative autres que <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , autres <i>Pseudomonaceae</i> , <i>Candida</i> spp. | Homme/Femme : 10 ⁵ UFC/mL |
| 4 | Lactobacilles, Streptocoques alpha-hémolytiques, <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Bifidobacterium</i> spp., bacilles diphtériformes (sauf <i>Corynebacterium urealyticum</i>) | Homme/Femme : Contaminants probables |

En présence d'un dispositif endo-urinaire : seuils de bactériurie ≥ 10⁵ UFC/mL (homme/femme).

Tableau 2. Identification présomptive des micro-organismes cultivés sur les milieux chromogènes en fonction de la couleur des colonies.

| | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--|--|--|
| <i>Escherichia coli</i> (β-galactosidase +, β-glucuronidase +) | Colonies rose à pourpre : confirmation obligatoire par une recherche d'indole * : → Indole positif = <i>E. coli</i> → Indole négatif = identification par méthode classique | Colonies de couleur rose à bordeaux ou translucides à centre rose à bordeaux |
| <i>Enterococcus</i> spp. (β-glucosidase +) | Colonies bleu-turquoise franc, brillant, de petite taille, et l'examen microscopique montrant des cocci† | Colonies bleu à turquoise de petite taille et l'examen microscopique montrant des cocci† |
| Proteae (tryptophane désaminase +) | Colonies brun orangé : effectuer une recherche d'indole : → Indole négatif = <i>P. mirabilis</i> → Indole positif = <i>P. indologène</i> , <i>Morganella</i> ou <i>Providencia</i> ; complément d'identification par une méthode classique | Colonies brunes à marron : effectuer une recherche d'indole : → Indole négatif = <i>P. mirabilis</i> → Indole positif = <i>P. indologène</i> , <i>Morganella</i> ou <i>Providencia</i> ; complément d'identification par une méthode classique |
| Groupe <i>Klebsiella</i> - <i>Enterobacter</i> - <i>Serratia</i> - <i>Citrobacter</i> (KESC) (β-galactosidase + et β-glucosidase +) | Colonies bleu-violet, de grande taille et examen microscopique montrant des bacilles ‡ | Colonies vertes à brun vert, de grande taille et examen direct montrant des bacilles ‡ |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | Colonies blanches ; poursuivre l'identification par une méthode classique | Colonies blanches ; poursuivre l'identification par une méthode classique |
| Autres bactéries | Colonies blanches ; poursuivre l'identification par une méthode classique | Colonies blanches ; poursuivre l'identification par une méthode classique |

* Recherche d'indole : déposer une colonie sur un papier préalablement imbibé de réactif de Kovacs. Virage au rose si indole positif (en 15 secondes au maximum). † Si une des conditions n'est pas remplie, identifier le germe par la méthode classique. ‡ Poursuivre l'identification de l'espèce par une méthode classique.

ont été interprétés selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) de 2018 [9].

Résultats

Sur les 301 échantillons d'urines étudiés, nous avons obtenu 65 cultures positives et monomorphes (soit 21,6 % des échantillons) sur au moins un des milieux de culture étudiés. Soixante pour cent de ces échantillons ont été recueillis chez des patients hospitalisés et 40 % chez des patients consultant à titre externe, avec un sex-ratio H/F de 0,16.

Les cultures étaient négatives dans 32,2 % des cas avec les milieux standards, 30,2 % des cas avec l'Uriselect4® et 32,9 % des cas avec le CPS ID3® (tableau 3). Les milieux chromogènes ont permis d'obtenir plus de cultures positives et monomorphes (20,9 % avec l'Uriselect4® et 20 % avec le CPS ID3®, contre 14,3 % avec les milieux standards).

La plupart des échantillons urinaires avaient une leucocyturie non significative (210 prélèvements, soit 69,7 % des cas). Pour ces prélèvements, les cultures étaient positives et monomorphes dans 7,1 % des cas avec les milieux classiques, 10,4 % des cas avec l'Uriselect4® et 10 % des cas avec le milieu CPS ID3® (tableau 4). Quant aux prélèvements avec une leucocyturie $\geq 10^4/\text{mL}$ (91 échantillons), le nombre de cultures positives et monomorphes était nettement plus important surtout avec les milieux chromogènes (30,7 % avec les milieux classiques, 45 %

avec l'Uriselect4® et 42,8 % avec le milieu CPS ID3®) (tableau 5).

L'identification des germes impliqués dans les infections urinaires a montré la prédominance des bacilles à Gram négatif (BGN) avec un taux d'isolement de 76,7 % sur les milieux classiques, 68,2 % sur le milieu Uriselect4® et 68,3 % sur le milieu CPS ID3®. Parmi les BGN isolés, *Escherchia coli* et *Klebsiella pneumoniae* étaient les espèces les plus fréquemment isolées (tableau 6). Les milieux chromogènes ont permis un meilleur isolement d'*E. coli* (notamment avec l'Uriselect4®), de *K. pneumoniae*, *Citrobacter koseri* et *Morganella morganii*. Une souche d'*Acinetobacter baumannii* a été isolée uniquement avec l'Uriselect4® et une souche de *Proteus mirabilis* a été mieux isolée avec le milieu CPS ID3®. Nous avons également isolé plus de cocci à Gram positif avec les milieux chromogènes par rapport à la méthode classique, en particulier le *Streptococcus agalactiae* (tableau 7). Cependant, à peu près la moitié des cocci à Gram positif isolés sur les milieux chromogènes et non isolés sur les milieux classiques correspondaient à des contaminants (staphylocoques à coagulase négative). Concernant les levures, deux souches de *Candida glabrata* ont été isolées et elles étaient présentes sur les quatre milieux de culture.

Pour l'identification présomptive des germes cultivés sur les milieux chromogènes, la couleur des colonies sur le milieu Uriselect4® a permis d'identifier convenablement toutes les souches d'*E. coli*, et aucun autre type de germe n'a donné la coloration spécifique d'*E. coli* sur ce milieu (100 % de sensibilité et de spécificité). Cependant, pour les souches d'*E. coli* isolées sur le milieu CPS ID3®, nous avons pu identifier 19 souches d'*E. coli* sur la base de la coloration indiquée par le fabricant (sensibilité de 86,4 %) alors que 3 souches d'*E. coli* se sont présentées avec d'autres nuances de coloration (rose pâle, et violet prêtant à confusion dans ce cas avec *S. agalactiae*). Par ailleurs, la spécificité de l'identification des souches d'*E. coli* avec le milieu CPS ID3® était de 94,8 % : deux échantillons ont donné une coloration bordeaux (identique à celle d'*E. coli*), mais après le recours aux méthodes complémentaires, il s'est avéré qu'il s'agissait de *S. agalactiae* et de *S. aureus*.

Les deux milieux chromogènes Uriselect4® et CPS ID3® ont présenté une même spécificité de 100 % pour l'identification présomptive des germes du groupe KESC. Toutefois, la sensibilité de l'identification des germes de ce groupe n'a pas dépassé 75 % avec les deux milieux. En effet, nous avons identifié sur Uriselect4® deux souches de *K. pneumoniae* avec une couleur bleu clair au lieu de larges colonies bleu foncé, et une souche de *C. koseri* avec une couleur bleu grisâtre au lieu de petites colonies bleu foncé comme l'indique le fournisseur. De même, 3 souches de *K. pneumoniae* ont présenté sur le milieu CPS ID3® une couleur bleu clair différente de celle attendue.

Tableau 3. Résultats des cultures pour tous les prélèvements urinaires inclus dans l'étude.

| | GNO + Drigalski | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--------------------------------|--------------------|-------------|----------|
| Cultures négatives | 97 | 91 | 99 |
| Cultures positives monomorphes | 43 | 63 | 60 |
| Cultures positives polymorphes | 161 | 147 | 142 |
| Total | 301 | 301 | 301 |

Tableau 4. Résultats des cultures pour les prélèvements avec une leucocyturie $< 10^4/\text{mL}$.

| | GNO + Drigalski | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--------------------------------|--------------------|-------------|----------|
| Cultures négatives | 80 | 75 | 84 |
| Cultures positives monomorphes | 15 | 22 | 21 |
| Cultures positives polymorphes | 115 | 113 | 105 |
| Total | 210 | 210 | 210 |

Tableau 5. Résultats des cultures pour les prélèvements avec une leucocyturie $\geq 10^4/\text{mL}$.

| | GNO + Drigalski | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--------------------------------|--------------------|-------------|----------|
| Cultures négatives | 17 | 16 | 15 |
| Cultures positives monomorphes | 28 | 41 | 39 |
| Cultures positives polymorphes | 46 | 34 | 37 |
| Total | 91 | 91 | 91 |

Tableau 6. Les bactéries à Gram négatif isolées sur les différents milieux de culture.

| | GNO + Drigalski | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--------------------------------|--------------------|-------------|----------|
| <i>Escherichia coli</i> | 19 | 24 | 22 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 7 | 9 | 9 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1 | 1 | 1 |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 1 | 2 | 2 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 2 | 2 | 3 |
| <i>Morganella morganii</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 3 | 4 | 3 |
| Total | 33 | 43 | 41 |

Tableau 7. Les cocci à Gram positif isolés sur les différents milieux de culture.

| | GNO + Drigalski | Uriselect4® | CPS ID3® |
|--|--------------------|-------------|----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 | 1 | 1 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 1 | 2 | 2 |
| <i>Staphylococcus à coagulase négative</i> | 2 | 8 | 6 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 2 | 2 | 2 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 2 | 5 | 6 |
| Total | 8 | 18 | 17 |

D'autre part, un seul prélèvement a permis d'isoler une souche de *M. morganii* sur les deux milieux chromogènes. Néanmoins, la couleur de cette souche sur les deux milieux prêtait à confusion avec celle d'autres souches. En outre, sur le milieu CPS ID3®, trois souches de *P. mirabilis* étaient incolores avec un fond beige à marron et elles étaient facilement différenciables des autres colonies, alors que sur le milieu Uriselect4®, nous avons isolé seulement deux souches pures de *P. mirabilis* ayant une coloration brun-orangé avec une coloration brune de la gélose. La troisième souche était difficile à identifier à cause de la contamination de la gélose avec d'autres colonies de différentes couleurs.

Les colonies d'*A. baumannii* étaient grandes et de couleur blanche à beige sur les deux milieux chromogènes. Leur identification a nécessité l'utilisation de tests complémentaires (coloration de Gram, test oxydase et galeries API® 20NE) car leur aspect était proche de celui des cocci à Gram positif.

Pour l'identification présomptive des cocci à Gram positif, les deux souches d'*E. faecalis* isolées ont présenté une nette couleur bleu turquoise sur le milieu Uriselect4® alors qu'elles étaient pratiquement invisibles sur la GNO. Néanmoins, une de ces deux souches a donné une couleur différente de la couleur indiquée par le fournisseur sur le milieu CPS ID3®. D'autre part, une souche de *S. agalactiae* a donné une couleur bleu turquoise sur le milieu Uriselect4® et une coloration proche de celle des entérocoques sur le milieu CPS ID3®.

L'identification des colonies de *S. agalactiae* était plus aisée avec l'Uriselect4® par rapport au milieu CPS ID3®, et ceci en se basant sur la couleur des colonies (petites colonies blanche grisâtre pour l'Uriselect4® et petites colonies violettes pour le CPS ID3®) et sur un test d'agglutination de particules de latex spécifique des streptocoques de groupe B. Toutefois, nous avons noté sur le milieu Uriselect4® une souche présentant une coloration proche de celle des entérocoques alors que sur le milieu CPS ID3® l'aspect était proche de celui des entérocoques ou d'*E. coli*. En outre, une souche du groupe KESC a donné un aspect proche de *S. agalactiae* sur le milieu Uriselect4®, alors que sur le milieu CPS ID3®, trois souches d'*E. coli* ont donné un aspect proche de celui de *S. agalactiae*.

Avec les milieux chromogènes, l'identification présomptive des germes a permis de gagner 24h par rapport à la méthode classique dans environ 63 % des cas avec le milieu CPS ID3®, et dans 77,7 % des cas avec l'Uriselect4®. Cependant, les dépenses pour l'examen bactériologique (incluant la mise en culture et l'identification) de tous les échantillons urinaires étudiés ont été supérieures avec les milieux chromogènes, en particulier avec l'Uriselect4® (coût total multiplié par 1,8 avec l'Uriselect4® et par 1,4 avec le CPS ID3® par rapport à la méthode classique).

Discussion

Les milieux chromogènes sont des milieux gélifiés solides permettant, suite à la transformation d'un substrat préalablement incorporé dans la gélose en un produit coloré, l'identification directe de certaines espèces bactériennes. La transformation du substrat en un produit coloré est le résultat de l'action d'une enzyme habituellement produite par une espèce bactérienne, ou par un groupe d'espèces. Cette coloration des colonies permet de repérer le micro-organisme cultivé sur le milieu et d'orienter

son identification [10]. Au cours de la dernière décennie, les milieux de culture chromogènes ont trouvé une application répandue en microbiologie clinique. La gamme disponible s'est considérablement élargie, permettant la détection d'agents pathogènes spécifiques (*Clostridium difficile*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica*), mais également le dépistage des bactéries multirésistantes, notamment les entérocoques résistant à la vancomycine et les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu [11].

Les milieux chromogènes développés pour l'isolement et l'identification des uropathogènes se distinguent des autres milieux chromogènes par l'absence d'agents sélectifs, permettant ainsi la croissance du plus grand nombre d'espèces possible. Les substrats incorporés dans l'Uriselect4[®] permettent la détection de la β -galactosidase, produite par *E. coli* et les germes du groupe KESC, la β -glucosidase produite par les germes du groupe KESC et l'*Enterococcus*, et la tryptophane désaminase produite par les *Proteae*. Le milieu CPS ID3[®] contient les substrats pour la détection de la β -glucosidase, la tryptophane désaminase, et la β -glucuronidase, produite par *E. coli*.

Dans notre étude, les milieux chromogènes ont montré de meilleures performances par rapport aux milieux standards et ont permis d'obtenir plus de cultures positives et monomorphes. Sur les milieux standards, la superposition de colonies de deux espèces différentes réduit les chances d'identifier convenablement toutes les espèces présentes. Il en résulte une bactériurie faussement négative lorsque des colonies de bactéries non pathogènes masquent les colonies d'agents cibles. Perry *et al.* ont rapporté une difficulté de l'isolement des entérocoques sur milieu CLED, un milieu de culture différentiel, car les colonies d'entérocoques étaient masquées par des colonies plus larges d'espèces à Gram négatif [12]. De plus, des colonies d'espèces différentes peuvent présenter des aspects morphologiques similaires sur les milieux standards, ce qui complique la distinction entre les colonies d'espèces pathogènes et non pathogènes. Avec les milieux chromogènes, et en raison de la génération d'une couleur spécifique, la distinction entre les bactéries cibles et la flore de fond réduit les risques de ne pas isoler les agents pathogènes, permettant ainsi la récupération des cultures considérées à tort négatives ou contaminées. Nos résultats sont concordants avec ceux des études antérieures qui ont conclu que les milieux chromogènes offrent un rendement de cultures positives supérieur à celui des milieux standards [13].

Nous avons constaté une supériorité des milieux chromogènes par rapport aux milieux classiques pour les échantillons associés à une leucocyturie $< 10^4/\text{mL}$ (tableau 4). Cette supériorité était plus marquée avec les échantillons urinaires associés à une leucocyturie significative, et le nombre de cultures positives obtenues était plus important

(tableau 5). En effet, les chances d'obtenir une bactériurie significative sont plus grandes à mesure que la leucocyturie augmente [14].

Comme il a été établi dans d'autres études [15], les BGN ont représenté le groupe de bactéries majoritairement impliqué dans les infections urinaires. Parmi les BGN que nous avons isolés, *E. coli* était le pathogène le plus impliqué, suivi de *K. pneumoniae*, *E. coli* et *Klebsiella spp.* Ils représentaient les isolats majeurs récupérés sur les milieux chromogènes dans la plupart des études menées par d'autres auteurs [16]. Comparés aux milieux standards, les deux milieux chromogènes nous ont permis de mieux isoler les germes impliqués dans les infections urinaires, avec cependant une supériorité de l'Uriselect4[®] par rapport au milieu CPS ID3[®] dans l'isolement d'*E. coli*. De même, nous avons isolé plus de cocci à Gram positif avec les milieux chromogènes par rapport à la méthode classique. Avec ce groupe de bactéries, l'avantage majeur des milieux chromogènes par rapport aux milieux standards était la meilleure efficacité d'isolement des espèces de *S. agalactiae*. Des études comparatives interlaboratoires ont montré que la croissance de *S. agalactiae* sur un milieu chromogène est nettement supérieure à celle d'un milieu conventionnel non chromogène [10]. La pertinence d'isolement de ce germe est cruciale, en particulier sur les prélèvements urinaires des femmes enceintes afin de prévenir le développement d'une infection materno-fœtale et la septicémie à *S. agalactiae* qui reste l'une des principales causes de morbi-mortalité néonatale [17].

Avec le milieu Uriselect4[®], nous avons trouvé une sensibilité et spécificité de 100 % dans l'identification présomptive d'*E. coli*, ce qui est concordant avec les résultats d'autres études ayant rapporté une sensibilité de 97,7 % à 98,3 %, [12, 18] et une spécificité à 98 % [12]. L'Uriselect4[®] était supérieur au CPS ID3[®] dans l'identification présomptive de la plupart des uropathogènes isolés, notamment *E. coli*, les entérocoques et *S. agalactiae*. Ceci est expliqué par la facilité de distinction des différents morphotypes de colonies sur le milieu UriSelect4[®], dont le fond est blanc opaque, par rapport au milieu CPS ID3[®] qui est transparent [18]. Les deux milieux ont présenté les mêmes performances dans l'identification présomptive des germes du groupe KESC, des performances comparables en termes de spécificité avec les résultats de l'étude conduite par Meddeb *et al.*, mais avec une moindre sensibilité. En outre, le milieu CPS ID3[®] était supérieur dans notre étude à l'Uriselect4[®] dans l'identification présomptive des germes du groupe *Proteae*. Néanmoins, ce groupe de germes ne représente que 4,6 % des germes que nous avons pu isoler, et seulement 2 à 6,6 % dans d'autres études [13, 16, 18].

Pour ce qui est du coût de l'examen microbiologique de tous les échantillons urinaires inclus dans l'étude, les dépenses ont été plus élevées avec les milieux chromogènes qu'avec la méthode classique. Ce coût général, qui inclut l'isolement

et l'identification bactérienne, s'est révélé dans une autre étude plutôt en faveur des milieux chromogènes [13]. En effet, les milieux chromogènes diminuent le recours aux galeries d'identification biochimiques API[®], ce qui conduirait à une économie des dépenses pour les prélèvements positifs. Cependant, dans notre étude, seulement 21,6 % des échantillons étaient positifs (contre 41,8 % dans l'étude susmentionnée). Les résultats obtenus dans notre étude avec les cultures positives ont montré une diminution du recours aux galeries API[®] avec le milieu Uriselect4[®] (seulement 14 cultures sur 63 cultures positives ont été identifiées avec des galeries API[®]) et avec le milieu CPS ID3[®] (22 parmi les 60 cultures positives). Cela a permis une réduction de 20 % des dépenses par rapport aux milieux standards, dont les 43 cultures positives ont été toutes identifiées avec des galeries API[®]. Ceci nous conduit à mettre en place une stratégie optimisant l'utilisation des milieux chromogènes afin de mieux contrôler les dépenses, en privilégiant ces milieux pour les échantillons à haut risque d'infections urinaires (renseignements cliniques évocateurs d'infection urinaire, urines macroscopiquement troubles, femmes enceintes. . .), et en utilisant les milieux standards avec les autres prélèvements (contexte clinique peu évocateur d'infection urinaire, urines macroscopiquement claires. . .). La principale limite de notre étude est la taille réduite de l'échantillon étudié. Il convient également de souligner que les résultats que nous avons obtenus tiennent compte de l'écologie locale.

Conclusion

En raison de leur capacité à discriminer les différents micro-organismes sur les cultures mixtes, les milieux chromogènes ont permis un meilleur isolement des germes couramment impliqués dans les infections urinaires. L'identification présomptive des agents pathogènes sur les milieux chromogènes était simple, précise et fiable, en particulier avec l'Uriselect4[®]. De ce fait, ils permettent de réduire le délai de rendu des résultats et de fournir aux cliniciens des informations pertinentes sur le choix du traitement antimicrobien initial en attendant les résultats de l'antibiogramme.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Hooton TM. Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *N Engl J Med* 2012 ; 366 : 1028-37.
2. Mazzulli T. Diagnosis and management of simple and complicated urinary tract infections (UTIs). *Can J Urol* 2012 ; 19(Suppl. 1) : 42-8.

3. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017. Saint-Maurice : Santé Publique France ; 2018. 12 p. www.santepubliquefrance.fr.
4. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2011-2014. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2016 ; 37 : 1288-301.
5. LaRocco MT, Franek J, Leibach EK, Weissfeld AS, Kraft CS, Sauter RL, et al. Effectiveness of preanalytic practices on contamination and diagnostic accuracy of urine cultures: a laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Rev* 2016 ; 29 : 105-47.
6. Sloan A, Wang G, Cheng K. Traditional approaches versus mass spectrometry in bacterial identification and typing. *Clin Chim Acta* 2017 ; 473 : 180-5.
7. Lavigne JP, Riegel P. Place de la spectrométrie de masse en bactériologie. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73 : 113-25.
8. La Société de pathologie infectieuse de langue française. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte - Actualisation au 11 décembre 2015 des recommandations initialement mises en ligne en Mai 2014. <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/infections-urinaires-spilf-argumentaire.pdf>.
9. Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. Recommandations 2018. http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM%20V1_0%20FEVRIER%202018.pdf.
10. Stefaniuk EM. The usefulness of chromogenic media for qualitative and semi-quantitative diagnostic of urinary tract infections. *Pol J Microbiol* 2018 ; 67 : 213-8.
11. Perry JD. A decade of development of chromogenic culture media for clinical microbiology in an era of molecular diagnostics. *Clin Microbiol Rev* 2017 ; 30 : 449-79.
12. Perry JD, Butterworth LA, Nicholson A, Appleby MR, Orr KE. Evaluation of a new chromogenic medium, Uriselect 4, for the isolation and identification of urinary tract pathogens. *J Clin Pathol* 2003 ; 56 : 528-31.
13. Ferjani A, Marzouk M, Idriss N, Sammoud S, Hannachi N, Boukadida J. Evaluation of chromogenic medium Uriselect4 in urine culture. *Ann Biol Clin (Paris)* 2011 ; 69 : 541-4.
14. Haja Abdul Nazeer MJ, Kavitha Y. Association between pyuria and uropathogen in suspected urinary tract infection. *Trop J Path Micro* 2017 ; 3 : 223-8.
15. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am* 2014 ; 28 : 1-13.
16. Sharmin S, Alamgir F, Begum F, Jaigirdar MQH. Use of chromogenic agar media for identification of uropathogen. *Bangladesh J Med Microbiol* 2010 ; 4 : 18-23.
17. Louie L, Kotowich L, Meaney H, Vearncombe M, Simor AE. Evaluation of a new chromogenic medium (StrepB select) for detection of group B Streptococcus from vaginal-rectal specimens. *J Clin Microbiol* 2010 ; 48 : 4602-3.
18. Meddeb M, Maurer M, Grillon A, Scheftel JM, Jaulhac B. Comparison of routine use of two chromogenic media ChromID CPS (bioMérieux) and UriSelect4 (Bio-Rad) for the detection of Escherichia coli and major uropathogens in urine. *Ann Biol Clin (Paris)* 2014 ; 72 : 224-30.