



HAL
open science

Apport de l'approche syndromique dans le diagnostic rapide des infections urinaires graves et à risque de complication

Agathe Capitaine

► **To cite this version:**

Agathe Capitaine. Apport de l'approche syndromique dans le diagnostic rapide des infections urinaires graves et à risque de complication. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02450536

HAL Id: dumas-02450536

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02450536v1>

Submitted on 23 Jan 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES

Préparé au sein de l'Université de Caen Normandie

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

Apport de l'approche syndromique dans le diagnostic rapide des infections urinaires graves et à risque de complication

Présenté par

Agathe CAPITAINE

**Soutenu publiquement le 08 octobre 2019
devant le jury composé de**

Monsieur le Professeur Jean-Christophe GIARD	Professeur des Universités, Université de Caen Normandie	Président du jury
Monsieur le Docteur Christophe ISNARD	Maitre de Conférences des Universités -Praticien Hospitalier, CHU de Caen	Directeur de thèse
Monsieur le Professeur Olivier JOIN-LAMBERT	Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, CHU de Caen	Examineur
Monsieur le Professeur Vincent CATTOIR	Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, CHU de Rennes	Examineur
Madame le Docteur Claire DAUREL	Praticien Hospitalier, CHU de Caen	Examineur
Madame le Docteur Aurélie BALDOLLI	Praticien Hospitalier, CHU de Caen	Examineur

Mémoire dirigé par le Docteur Christophe ISNARD



LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD
Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GAUDUCHON Pascal Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Biologie cellulaire
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
RAULT Sylvain Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Chimie thérapeutique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie
SOPKOVA Jana	Biophysique, Drug design
VOISIN-CHIRET Anne-Sophie	Chimie médicinale



MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique - HDR

Biochimie, Toxicologie

BOUET Valentine - HDR

Physiologie, Pharmacologie

CAILLY Thomas - HDR

Chimie bio-inorganique, Chimie organique

DENOYELLE Christophe - HDR

Biologie cellulaire et moléculaire,

Biochimie, Cancérologie

DHALLUIN Anne

Bactériologie, Virologie, Immunologie

ELDIN de PECOULAS Philippe - HDR

Parasitologie, Mycologie médicale

GROO Anne-Claire

Pharmacie galénique

KIEFFER Charline

Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier)

Biologie clinique

LAPORTE-WOJCIK Catherine

Chimie bio-inorganique

LEBAILLY Pierre - HDR

Santé publique

LECHEVREL Mathilde - HDR

Toxicologie

LEGER Marianne

Physiologie, Pharmacologie

LEPAILLEUR Alban - HDR

Modélisation moléculaire

N'DIAYE Monique

Parasitologie, Mycologie médicale,

Biochimie clinique

PAIZANIS Eleni

Physiologie, Pharmacologie

PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima

Chimie organique et thérapeutique

POTTIER Ivannah

Chimie et toxicologie analytiques

PREVOST Virginie - HDR

Chimie analytique, Nutrition, Education

thérapeutique du patient

QUINTIN Jérôme

Pharmacognosie

RIOULT Jean-Philippe

Botanique, Mycologie, Biotechnologies

SINCE Marc

Chimie analytique

VILLEDIEU Marie - HDR

Biologie et thérapies innovantes des

cancers

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

PRICOT Sophie

Anglais



PERSONNEL ASSOCIE A TEMPS PARTIEL (PAST)

SAINT-LORANT Guillaume

Pharmacie clinique

SEDILLO Patrick

Pharmacie officinale

RICHARD Estelle

Pharmacie officinale

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Remerciements

A Monsieur le **Professeur Jean-Christophe GIARD**, de me faire l'honneur de présider ce jury. Vous m'avez appris les bases de ce qui deviendra ma discipline de cœur, et je vous en suis reconnaissante.

A Monsieur le **Docteur Christophe ISNARD**, pour tout ce que tu m'as appris, pour tes conseils, ta confiance, ton soutien, ta disponibilité et ton amitié. Tu m'as transmis ta passion pour cette formidable discipline, m'a initiée à la recherche, et je mesure la chance que j'ai d'avoir appris à tes côtés.

A Monsieur le **Professeur Olivier JOIN-LAMBERT**, d'avoir accepté de participer à ce jury. Merci pour votre accueil et votre disponibilité, ainsi que pour m'avoir offert la possibilité de participer à des projets réjouissants.

A Monsieur le **Professeur Vincent CATTOIR**, de me faire l'honneur de votre présence dans ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

A Madame le **Docteur Claire DAUREL**, de me faire le plaisir de faire partie de ce jury. Merci pour tes nombreux conseils et enseignements, et pour ta joie de vivre communicative. Ce fut un réel plaisir d'apprendre avec toi.

A Madame le **Docteur Aurélie BALDOLLI**, d'avoir accepté de juger mon travail et de me faire l'honneur d'accepter de prendre part à ce jury. Soyez assurée de mon plus profond respect.

A mes parents, Sylvie et Pascal, pour votre soutien inconditionnel, votre patience et vos nombreux sacrifices pendant ces longues années d'étude. Grâce à vous, j'ai trouvé la voie dans laquelle je m'épanouis et je vous en suis éternellement reconnaissante.

A mes grands-parents, Jacqueline et Gérard, qui je le sais, seront très fiers de lire ces quelques lignes. Je vous dédie ce travail. Merci pour votre soutien sans faille et votre générosité. Je vous embrasse fort.

A mon frère Martin, d'avoir supporté mon mauvais caractère. Une belle carrière s'ouvre à toi et je suis fière de ton parcours.

A ma famille, Christophe et Caroline, Florent, Damien, pour tous ces bons moments passés ensemble. Je vous embrasse.

A François, pour ton amitié et ton soutien indéfectible. Tu m'as transmis ta passion pour la bactériologie avec un sens de la pédagogie hors-pair, patience et extrême générosité. Tes encouragements m'ont été précieux et tu as toujours su me motiver et poussée à voir plus loin. Un grand merci pour tout ce que tu as fait pour moi, notamment pour ton aide dans ce travail et pour tous ces instants partagés passés et à venir, entre Disney, les karaokés et les cours particuliers de golf ! J'ai énormément de chance de t'avoir comme ami.

A Elsa, merci pour tous tes conseils précieux, ton écoute, ta gentillesse, et ton aide dans ma formation et dans mes moments de galère ! Merci pour tous ces excellents moments partagés ensemble. Je suis pressée d'en vivre plein d'autres.

A Marine, Mitchou et Lelex, pour nos grands fous rires et petits potins. Mes années d'internes sont exceptionnelles grâce à vous. J'ai rencontré des amis pour la vie, je vous souhaite le meilleur et je vous embrasse bien fort.

A Bénédicte, pour ton soutien, ta bienveillance et les pauses café à refaire le monde ! Je te souhaite le meilleur. Ni Dieu ni maître !

A François Guérin, pour ta patience, ta bonté et ta bonne humeur. J'ai appris énormément grâce à toi et je t'en remercie mille fois. Tu es un modèle pour nous tous, et je te souhaite de t'épanouir dans tes aventures à venir.

A mon ami Benjamin, pour toutes ces magnifiques années.

A Sandra et Mathieu, pour nos soirées jeux de société et nos vacances en Corse !

A mes amis rencontrés pendant ma scolarité, je pense notamment à Boubou, Aurélia, Nathan, Hugues, Margaux, Gaele, Pauline, Bettina, pour tous ces bons moments partagés.

A ma belle-famille, Sylvie, Éric, Nelly et toute la famille Landry et Duclos pour votre soutien. Je vous embrasse.

A toute l'équipe technique et médicale du laboratoire de bactériologie du CHU de Caen, pour vos enseignements et conseils prodigués dans la bienveillance et la bonne humeur. J'ai rencontré des personnes fantastiques que je n'oublierais pas de sitôt.

A Alexis alias la Tique pour les intimes, pour l'amour que tu me portes en toutes circonstances. Tu m'as accompagnée depuis les bancs de la fac et encouragée dans toutes les épreuves. Tu es d'un immense soutien chaque jour et je n'y serais certainement pas arrivée sans toi. J'ai hâte de vivre toutes les belles choses qui nous attendent. Je t'aime.

Sommaire

Liste des abréviations	1
Liste des figures	3
Liste des tableaux	5
1 Première partie – Introduction	6
1.1 Physiopathologie	7
1.1.1 Colonisation urinaire	7
1.1.2 Infections urinaires	7
1.1.2.1 Cystite	7
1.1.2.2 Pyélonéphrite aigüe (PNA)	8
1.1.2.3 Infections urinaires masculines (IUM)	8
1.1.2.4 Infections urinaires gravidiques	8
1.2 Classification clinique des ITU	9
1.2.1.1 Infections urinaires simples	9
1.2.1.2 Infections urinaires à risque de complication	9
1.2.1.3 Infections urinaires graves	10
1.3 Les recommandations en antibiothérapie	10
1.4 Epidémiologie	12
1.4.1 Prévalences et incidences	12
1.4.2 Epidémiologie bactérienne	13
1.4.2.1 Infections urinaires communautaires	13
1.4.2.2 Infections urinaires nosocomiales	14
1.4.2.3 Epidémiologie microbienne locale	16
1.4.2.4 Mécanismes de résistances	16
1.4.2.4.1 Résistances des entérobactéries	16
1.4.2.4.1.1 Résistances aux bêta-lactamines	16
1.4.2.4.1.2 Résistances aux aminosides	18
1.4.2.4.1.3 Résistances aux quinolones	19
1.4.2.4.1.4 Résistances aux sulfamides	19

1.4.2.4.2	Résistances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
1.4.2.4.3	Résistances de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
1.4.2.4.4	Résistances des entérocoques (<i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i>).....	21
1.5	Méthodes diagnostiques	21
1.5.1	Diagnostic clinique.....	21
1.5.2	Imagerie médicale	22
1.5.3	Diagnostic microbiologique	22
1.5.3.1	La bandelette urinaire.....	22
1.5.3.2	L'examen cytobactériologique des urines.....	23
1.5.3.3	Les méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques	27
1.5.3.3.1	Détection des BMR et BHRe.....	29
1.5.3.3.1.1	Entérobactéries productrices de BLSE	29
1.5.3.3.1.2	Entérobactéries et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> producteurs de carbapénèmes	29
1.5.3.3.1.3	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline	30
1.5.3.3.1.4	Entérocoques résistants à la vancomycine.....	30
1.5.3.3.1.5	Antibiogramme rapide à partir du MALDI-TOF MS.....	30
1.5.4	Autres paramètres biologiques	31
1.5.5	Approches syndromiques innovantes pour un diagnostic rapide.....	31
1.5.5.1	Approches syndromiques actuelles et leurs applications.....	31
1.5.5.2	La PCR multiplexée Unyvero [®] UTI	34
1.5.5.2.1	Présentation de l'automate Unyvero [®]	34
1.5.5.2.2	La cassette Unyvero [®] UTI Cartridge.....	36
1.5.5.2.3	Autres consommables.....	39
1.5.5.2.4	Le rapport de résultats	40
2	Matériels et méthodes	42
2.1	Critères d'inclusion à l'étude	42
2.1.1	Critères d'inclusion	42
2.1.2	Critères d'exclusion.....	43

2.1.3	Aspect éthique	43
2.2	Recueil des données clinico-biologiques	43
2.3	Prise en charge des échantillons	45
2.3.1	Culture microbiologique	45
2.3.2	Unyvero	46
2.4	Interprétation des résultats.....	48
2.4.1	Analyse statistique.....	48
3	Résultats.....	49
3.1	Données démographiques	49
3.2	Clinique et facteurs de risque	50
3.3	Résultats biologiques.....	52
3.3.1	Données biochimiques et hématologiques des patients	52
3.3.2	Microbiologie : résultats des ECBU.....	52
3.3.2.1	Identification	53
3.3.2.2	Phénotype de résistance	55
3.3.3	Résultats de l'Unyvero [®] UTI	55
3.3.3.1	Identification	55
3.3.3.2	Gènes de résistances.....	56
3.3.4	Concordance des résultats entre la culture et le système Unyvero [®] UTI.....	57
3.3.4.1	Concordance d'identification.....	57
3.3.4.2	Concordance de sensibilité.....	61
3.3.4.3	Délais de rendu de résultats	63
4	Discussion	64
4.1	Epidémiologie de l'étude et intérêt de l'ECBU.....	64
4.2	Le kit Unyvero [®] UTI, un système complet et rapide aux performances mitigées ...	65
4.3	Autres méthodes de diagnostic rapide à partir des échantillons urinaires.....	72
5	Conclusion	76
	Bibliographie.....	78
	Annexe	88

Liste des abréviations

AAC : Aminoside acétyl-transférase

AMX : Amoxicilline

AMC : Amoxicilline + acide clavulanique

ANT : Aminoside nucléotidyl-transférase

APH : Aminoside phospho-transférase

ARESC : Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis

BHRe : Bactéries hautement résistantes émergentes

BLSE : Bêta-lactamases à spectre étendu

BMR : Bactéries Multi-Résistantes

BU : Bandelette Urinaire

C1G : céphalosporine de première génération

C2G : céphalosporine de deuxième génération

C3G : céphalosporine de troisième génération

C4G : céphalosporine de quatrième génération

CA-SFM : Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

CRP : C Reactive Protein

DFG : Débit de filtration glomérulaire

E-BLSE : Entérobactéries productrices de BLSE

ECBU : Examen Cyto-Bactériologique des Urines

ED : Examen Direct

EHPAD : Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

ENP : Enquête Nationale de Prévalence

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénèmases

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine

FDR : Facteur de Risque

FISH : Hybridation in situ en fluorescence

FQ : Fluoroquinolones

GISA : Glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*

IN : Infection Nosocomiale

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IUC : Infection Urinaire à risque de Complication

IUM : Infection Urinaire Masculine

ITU : Infection du Tractus Urinaire

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MALDI-TOF MS : Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight mass spectrometry

NFS : Numération de la Formule Sanguine

PCR : Polymerase Chain Reaction

PCR-M : PCR multiplexée

PCT : Procalcitonine

PNA : Pyélonéphrite Aigüe

PNN : Polynucléaires Neutrophiles

qSOFA : Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative

SFU : Signes Fonctionnels Urinaires

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

SSR : Soins de suite et de réadaptation

TIC : Ticarcilline

USLD : Unités de soins de longue durée

UTI : Urinary Tract Infection

VISA : vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*

Liste des figures

Figure 1 : Distribution des principaux micro-organismes isolés des infections urinaires nosocomiales documentées au plan microbiologique (n=4295) en France en 2012, d'après l'ENP 2012 (25).	15
Figure 2 : Densité d'incidence globale par année des SARM et des E-BLSE pour 1000 journées d'hospitalisation entre 2002 et 2016 d'après le réseau BMR-Raisin, résultats 2016 (6).	15
Figure 3 : Une bandelette urinaire positive à leucocytes et nitrites (A) et négative (B). Source : www.microbiologiemedicale.fr/bandelettes-urinaires	22
Figure 4 : Automate de cytologie urinaire Sysmex® UF-500i du laboratoire de bactériologie du CHU de Caen (photographie personnelle)	25
Figure 5: Numération bactérienne (figure issue du document qualité ECBU interne au laboratoire)	26
Figure 6: Exemple de système MALDI-TOF au laboratoire du CHU de Caen (Microflex®, Bruker-Daltonics, Allemagne) (photographie personnelle)	27
Figure 7: L'automate VITEK® 2-XL et une carte de test de sensibilité (photographies personnelles)	28
Figure 8 : Présentation du système Unyvero. De gauche à droite : le Lysator, le Cockpit et l'Analyzer (photographie personnelle)	35
Figure 9 : Présentation de la cassette Unyvero® UTI Cartridge A) photographie personnelle, B) photographie issue du site de Curetis	36
Figure 10 : Exemple de rapport de résultat	41
Figure 11 : Diagramme de flux de l'étude	42
Figure 12 : Chronologie de réponse des ECBU par la méthode microbiologique standard (cultures)	45
Figure 13 : Zones d'insertion de l'Unyvero Sample Tube (A) et du Master Mix (B) dans la cassette (photographie personnelle)	46
Figure 14 : Chronologie des différentes étapes avant analyse par l'Unyvero® UTI (adaptée de la brochure Unyvero® UTI disponible sur www.curetis.com)	47
Figure 15 : Répartition du genre de la population d'étude en fonction de l'âge.	49
Figure 16 : Représentation de chaque facteur de risque dans la population d'étude.	50
Figure 17: Proportion de micro-organisme retrouvés en culture	53
Figure 18 : Epidémiologie de l'étude (partie prospective)	54
Figure 19 : Epidémiologie de l'étude selon l'origine de l'infection et chez les patients âgés de plus de 65 ans	54
Figure 20 : Résistances retrouvées en culture	55

Figure 21 : Proportion de chaque micro-organisme dans le système de semi-quantification de l'Unyvero [®] UTI.....	56
Figure 22 : Gènes de résistance détectés par l'Unyvero [®] UTI	57
Figure 23 : Comparaison des proportions de micro-organismes isolés en culture et détectés par l'Unyvero [®] UTI	58
Figure 24 : Micro-organismes détectés par l'Unyvero UTI [®] à 2 ou 3 croix de quantification, non isolés en culture.....	60
Figure 25 : Relation entre le nombre de croix de semi-quantification (Unyvero [®] UTI) et la bactériurie (culture) pour <i>E. coli</i>	60
Figure 26 : Délais de rendu de résultats des différentes méthodes	63
Figure 27 : L'automate 216Dx UTI [®] Source : www.bacterioscan.com	73

Liste des tableaux

Tableau 1 : Recommandations concernant l'antibiothérapie probabiliste des infections urinaires selon la SPLIF.	11
Tableau 2 : Distribution des pathogènes retrouvés dans l'étude ARESC selon le pays, adapté de (40).	14
Tableau 3 : Seuils de bactériurie en fonction du germe et du sexe, adapté de (3) et (76).	24
Tableau 4 : Liste des principaux panels syndromiques commercialisés à ce jour	33
Tableau 5 : Liste des micro-organismes intégrés au panel du système Unyvero [®] UTI	37
Tableau 6: Liste des gènes de résistance intégrés au panel du système Unyvero [®] UTI	38
Tableau 7: Distribution des marqueurs génétiques selon la chambre de PCR dans l'Unyvero [®] UTI Cartridge	39
Tableau 8 : Caractéristiques démographiques et cliniques de la population d'étude en nombre de patients et en (%) de la population totale	51
Tableau 9 : Données biochimiques et cytologiques d'intérêt de la population d'étude	52
Tableau 10 : Caractéristiques microbiologiques des échantillons urinaires en nombre d'ECBU et en (%)	53
Tableau 11 : Faux négatifs concernant l'identification des micro-organismes.....	59
Tableau 12 : Performances globales de l'Unyvero [®] UTI avec la culture comme méthode de référence.....	61
Tableau 13 : Discordances de résistance notables entre la méthode de référence (culture) et l'Unyvero [®] UTI	62
Tableau 14 : Performances de l'Unyvero [®] UTI concernant les principales résistances rencontrées dans l'étude.....	62
Tableau 15 : Panel du système SeptiFast [®]	75

1 Première partie – Introduction

Les infections urinaires représentent l'ensemble des infections du tractus urinaire (ITU), comprenant la cystite, la pyélonéphrite, la prostatite et autres formes d'ITU masculines. Depuis 1995, les ITU sont classées en ITU simples, chez les patients sans facteurs de risque (1–3), et en ITU à risque de complication, chez les patients avec au moins un facteur de risque (1,3,4).

Le tractus urinaire représente le deuxième site d'infections bactériennes communautaires après l'appareil respiratoire (5) et le premier site d'infections nosocomiales (6) en France. Les ITU constituent un motif fréquent de consultation et de prescription d'antibiotiques en médecine générale, mais également d'hospitalisation lors d'infections urinaires graves (7).

Par ailleurs, l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est aujourd'hui un problème majeur de santé publique, notamment pour le traitement des ITU. Par conséquent, les recommandations diagnostiques et thérapeutiques sur ce sujet sont régulièrement mises à jour et ont notamment été actualisées en 2017 par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) (3).

Toutes ces problématiques amènent donc à penser que pour une prise en charge thérapeutique optimum, les ITU à risque de complication (IUC) et les ITU graves (qui s'accompagnent de signe de gravité tels que les syndromes septiques graves) nécessitent une antibiothérapie adaptée le plus précocement possible. Cependant, le diagnostic microbiologique des ITU repose sur l'Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU) dont le délai d'obtention d'un résultat complet est d'environ 48 heures, ce qui entraîne un retard considérable dans la mise en place d'un traitement antibiotique optimal et adapté au germe responsable de l'infection.

L'Unyvero[®] Urinary Tract Infection UTI de la société Curetis[®] est un système automatisé et intégré de PCR multiplexée (PCR-M) permettant l'identification bactérienne et la détection des principaux marqueurs de résistance en moins de cinq heures, directement à partir des échantillons urinaires. Ce système innovant a été testé au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Caen dans le cadre du diagnostic d'IUC et d'ITU graves. L'objectif de ce travail est d'évaluer la faisabilité, les performances ainsi que la concordance des résultats obtenus par cette technique et les méthodes microbiologiques classiques.

Après quelques rappels sur les ITU ainsi que sur les principaux micro-organismes impliqués et leurs mécanismes de résistances notables, les différentes techniques de diagnostic actuelles seront développées, en particulier le système Unyvero[®] UTI, évalué lors ce travail. Les résultats obtenus par ce système seront ensuite exposés puis comparés aux résultats des cultures bactériennes utilisées en routine dans le diagnostic des IUC et des ITU graves.

1.1 Physiopathologie

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre distal qui sont colonisés par une flore diverse d'origine digestive (entérobactéries, streptocoques, germes anaérobies), cutanée (staphylocoques à coagulase négative (SCN), corynébactéries) et/ou génitale (lactobacilles chez la femme).

1.1.1 Colonisation urinaire

Anciennement dénommée bactériurie asymptomatique, la colonisation urinaire correspond à la mise en évidence de micro-organismes dans un prélèvement urinaire bien réalisé, sans que ces micro-organismes ne soient responsables de manifestations cliniques, associée ou non un taux important de leucocytes dans les urines (leucocyturie) (3,8).

Il n'y a pas de seuil de bactériurie, sauf chez la femme enceinte pour laquelle le seuil « pathologique » de colonisation urinaire est supérieur ou égal à 10^5 UFC/mL (3).

La leucocyturie n'intervient pas dans la définition de bactériurie asymptomatique.

1.1.2 Infections urinaires

L'infection urinaire correspond à la présence d'un ou plusieurs micro-organismes au sein de l'arbre urinaire, générant une réaction inflammatoire et des manifestations cliniques. Elle se définit donc par des signes cliniques évocateurs et l'existence d'une bactériurie et d'une leucocyturie dites significatives.

Depuis les recommandations de 2014, les ITU sont classées en ITU simples ou ITU à risque de complication, en fonction du terrain du patient.

1.1.2.1 Cystite

Il s'agit d'une inflammation de la vessie se manifestant par un ou plusieurs des signes fonctionnels urinaires (SFU) suivant :

- Brûlures et/ou douleurs mictionnelles ;
- Pollakiurie (augmentation de la fréquence des mictions) ;
- Impériosité mictionnelle.

D'autres signes moins fréquents peuvent être présents, comme une pesanteur pelvienne, un spasme rétro-pubien en fin de miction, une hématurie terminale (30 % des cas), urines troubles et ou malodorantes.

Il n'y a ni fièvre ni douleur lombaire (9).

1.1.2.2 Pyélonéphrite aigüe (PNA)

La présentation clinique typique associe, de façon inconstante, des signes de cystite souvent discrets et des signes témoignant d'une atteinte parenchymateuse rénale (10) :

- Fièvre, frissons ;
- Douleurs de la fosse lombaire, typiquement unilatérales, pouvant irradier vers l'avant vers le pubis et les organes génitaux externes, spontanées ou déclenchées par la palpation ou la percussion de la fosse lombaire ;
- Troubles digestifs (vomissements, diarrhée, météorisme abdominal) peuvent être présents, parfois au premier plan.

Il existe des formes frustes avec simple fébricule et lombalgie provoquée, d'où l'importance de systématiquement rechercher ces symptômes chez une patiente consultant pour un tableau évocateur de cystite.

1.1.2.3 Infections urinaires masculines (IUM)

Environ 20 % des ITU surviennent chez des hommes et sont la première cause de bactériémie chez l'homme (11).

Auparavant réduites au terme de « prostatite », les IUM peuvent en réalité avoir une présentation clinique très hétérogène, de la forme peu symptomatique non fébrile, au choc septique grave.

Les signes cliniques peuvent associer, selon la gravité de l'infection, des signes fonctionnels urinaires (pollakiurie, dysurie et brûlures mictionnelles), une rétention aiguë d'urine, des douleurs pelviennes (provoquées ou non par le toucher rectal), et un syndrome infectieux avec fièvre, frissons, syndrome pseudo-grippal.

On parle désormais de prostatite quand l'atteinte prostatique est cliniquement évidente : forte fièvre, douleurs pelviennes même en dehors de la miction, prostate augmentée de volume, tendue et douloureuse au toucher rectal (3,12).

Une PNA est également possible chez l'homme, bien que peu fréquente (13). Comme chez la femme, elle se caractérise par une douleur lombaire unilatérale, non retrouvée dans la prostatite.

1.1.2.4 Infections urinaires gravidiques

Chez la femme enceinte, toute ITU est par définition à risque de complication. Elle peut se manifester sous trois formes : colonisation urinaire, cystite et PNA (14).

Les ITU sont les infections bactériennes les plus fréquemment retrouvées pendant la grossesse et peuvent avoir de graves conséquences pour la mère comme pour le fœtus (15). Alors que la colonisation bactérienne est généralement bénigne chez la femme qui n'est pas enceinte, elle

est associée chez la femme enceinte à une augmentation significative du risque de développer une PNA gravidique (16).

1.2 Classification clinique des ITU

1.2.1.1 Infections urinaires simples

Une ITU simple est une ITU survenant chez un patient sans facteur de risque de complication, et peut être une cystite ou une PNA. A noter que les ITU masculines ne sont jamais catégorisées comme des ITU « simples ». Par ailleurs, une cystite est dite récidivante s'il existe au moins quatre épisodes de cystite par an (cystite simple ou à risque de complication).

1.2.1.2 Infections urinaires à risque de complication

Ce sont des formes avec au moins un facteur de risque (FDR) pouvant rendre l'infection plus grave ou complexe à traiter. Elles peuvent concerner les cystites, les PNA et les IUM.

Actuellement, les facteurs de risque de complication retenus par la SPLIF sont les suivants (3):

- Toute anomalie fonctionnelle ou organique de l'arbre urinaire :
 - Uropathie obstructive : lithiase, sténose urétrale/urétérale, hypertrophie prostatique, corps étranger, tumeur ;
 - Autre uropathie : reflux vésico-urétéral, vessie neurologique, résidu post-mictionnel ;
 - Iatrogène : geste chirurgical ou endoscopique, sonde.
- Certains terrains :
 - Homme ;
 - Grossesse ;
 - Sujet âgé « fragile » ;
 - Insuffisance rénale chronique sévère (clairance de la créatinine < 30 mL/min) ;
 - Immunodépression grave.

Les sujets âgés considérés comme « fragiles » sont les sujets de plus de 75 ans et les sujets de plus de 65 ans ayant au moins 3 critères de fragilité selon la classification de Fried *et al.* (17) :

- Perte de poids involontaire au cours de la dernière année ;
- Vitesse de marche lente ;
- Faible endurance ;
- Faiblesse, fatigue, activité physique réduite.

Le diabète n'est plus considéré comme un FDR de complication. En effet, il n'a pas été prouvé que les complications étaient fréquentes malgré une prévalence augmentée d'ITU chez les patients diabétiques (3,18). Néanmoins, de nombreuses études le définissent comme étant un

FDR, notamment d'ITU à entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (E-BLSE) (19,20). De plus, les patients diabétiques de type 2 ont un taux de cellules NK (« Natural Killer ») diminuées dans le sang. Ce sous-type de lymphocytes est impliqué dans l'élimination des agents infectieux et des cellules tumorales, engendrant donc un état d'immunodépression chez ces patients (21). De plus, la glycosurie est un facteur de risque de multiplication bactérienne (22,23).

1.2.1.3 Infections urinaires graves

Les ITU graves sont des PNA ou des IUM associées à un sepsis grave, un choc septique ou un geste urologique d'aggravation du sepsis en péri opératoire.

Pour ces ITU graves, il est nécessaire d'identifier des FDR d'ITU à entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (E-BLSE) (3) :

- Antécédent de colonisation et/ou d'ITU à E-BLSE < 6 mois ;
- Traitement par amoxicilline – acide clavulanique, céphalosporines de 2 ou 3^{ème} génération, ou fluoroquinolones (FQ) < 6 mois ;
- Voyage en zone d'endémie de E-BLSE ;
- Hospitalisation < 3 mois ;
- Vie en institution de long séjour (Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD), unités de soins de longue durée (USLD), etc...).

L'identification de ces FDR d'E-BLSE permet d'adapter au mieux l'antibiothérapie probabiliste.

1.3 Les recommandations en antibiothérapie

Dans certains cas, le traitement peut être différé jusqu'au résultat de l'antibiogramme, ce qui permet au clinicien d'instaurer l'antibiotique avec le spectre d'action le plus étroit possible d'emblée. Néanmoins, dans la plupart des cas, un traitement antibiotique probabiliste est nécessaire. Le choix de la molécule doit alors couvrir au maximum les bactéries les plus fréquemment mises en cause dans les ITU. Les pourcentages de résistance aux différentes molécules sont déterminés en se basant sur les données issues des réseaux de surveillance pour *E. coli*, bactérie largement dominante en termes de prévalence et la seule faisant l'objet d'un suivi exhaustif. C'est pourquoi, en probabiliste, on utilise des antibiotiques pour lesquels les taux de résistance à *E. coli* sont inférieurs à 20 % pour une cystite simple et inférieurs à 10 % pour les autres cas (3). L'antibiotique de choix doit avoir une élimination urinaire prédominante sous forme active, avec le moins d'effets indésirables possibles, un faible coût et un faible potentiel de sélection de mutants résistants.

Les recommandations 2017 de la SPILF (3) concernant les antibiothérapies probabilistes sont synthétisées dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Recommandations concernant l'antibiothérapie probabiliste des infections urinaires selon la SPLIF.

	Première intention	Deuxième intention
Cystites simples	Fosfomycine	Pivmécillinam
Cystites à risque de complication	Nitrofurantoïne ou Fosfomycine	
Cystites récidivantes < 1 / mois	Fosfomycine	Pivmécillinam
Cystites récidivantes > 1 / mois	Triméthoprimé ou Fosfomycine	Cotrimoxazole
Cystites gravidiques	Fosfomycine	Pivmécillinam
PNA simples	Fluoroquinolones	C3G parentérale
PNA à risque de complication	C3G parentérale	Fluoroquinolones
PNA graves	C3G parentérale + amikacine	Aztréonam + amikacine
Infections urinaires masculines	qSOFA ^a < 2 : Fluoroquinolones	C3G parentérale
	qSOFA > 2 ou geste urologique urgent : C3G parentérale + amikacine	Aztréonam + amikacine
PNA graves ou IUM avec FDR d'ITU à E-BLSE < 6 mois	<u>Sans choc septique</u> : Pipéracilline-tazobactam + amikacine	Carbapénèmes + amikacine
	<u>Avec choc septique</u> : Carbapénèmes + amikacine	

^a : Le quick SOFA (qSOFA) est un score d'orientation permettant d'identifier les patients ayant un risque de mortalité par sepsis >10 %.

Les molécules recommandées des différentes classes citées dans ce tableau sont :

- C3G parentérales : cefotaxime ou ceftriaxone ;
- Fluoroquinolones : ciprofloxacine ou lévofloxacine ;
- Carbapénèmes : Imipénème ou méropénème (ertapénème seulement en relais).

A ces recommandations s'ajoutent quelques points importants à préciser :

- Les mesures d'hygiène sont expliquées au patient ;
- Le traitement par fluoroquinolones dans les PNA est possible seulement si le patient n'a pas reçu un traitement antérieur par fluoroquinolones au cours des six mois précédents ;

- Un traitement antibiotique probabiliste de l'IUM est instauré seulement en cas de fièvre, rétention aiguë d'urines ou autres facteurs de risque de complication. Il est complété par un drainage vésical en cas de rétention.

L'antibiothérapie probabiliste est adaptée secondairement au germe et au phénotype de résistance.

1.4 Epidémiologie

1.4.1 Prévalences et incidences

Les ITU sont les infections bactériennes les plus fréquentes dans le monde, affectant 150 millions de personnes chaque année (1,24). Il n'existe pas de données récentes sur l'incidence des ITU symptomatiques en France. Cette dernière reste mal connue et était estimée en 1989 entre 4 et 6 millions de cas (7) sans distinction entre les différentes catégories anatomo-cliniques, ni précision sur les facteurs de risques ou leur gravité, ou sur le nombre d'hospitalisations générées. Elles sont également les infections les plus répandues en milieu hospitalier, représentant de 30 à 40 % des infections liées aux soins selon les études (25–27). De plus, elles constituent la deuxième cause de bactériémie chez les patients hospitalisés (25,26,28) et le premier réservoir de bactéries multi-résistantes (BMR) à l'hôpital, avec un impact non négligeable sur la mortalité (27,29,30). Les BMR sont des bactéries ayant acquis des résistances à un nombre variable d'antibiotiques, ainsi elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre de molécules utilisables en thérapeutique. La multi-résistance est une étape vers l'impasse thérapeutique (31).

L'incidence est bien plus élevée chez la femme que chez l'homme, en raison d'un urètre plus court, qui permet aux germes d'atteindre plus facilement la vessie avant d'être éliminés par la miction. De plus, la proximité anatomique entre l'urètre et l'anus chez la femme favorise la colonisation périnéale par des germes pathogènes de la flore digestive (32). On estime qu'environ une femme sur trois a déjà eu une infection urinaire avant l'âge de 24 ans et que 50 % des femmes ont eu au moins un signe clinique d'ITU dans leur vie (28).

Chez les patients âgés de plus de 65 ans, les ITU représentent la deuxième cause d'infection communautaire, elle est même la première cause d'infection chez les patients vivants en institution (22,33).

Chez l'homme, l'incidence augmente après 60 ans, en relation avec la pathologie prostatique et l'apparition d'anomalies du tractus urinaire. L'incidence des IUM chez les hommes de moins de 60 ans est faible, estimée entre 0,9 et 2,4 cas pour 1000 hommes contre 5,3 à 7,7 cas pour 1000 hommes chez les hommes de plus de 60 ans aux États-Unis (34,35). De plus, on estime

que la prostatite aiguë affecte environ 1 % des hommes au cours de leur vie (36). En France, on estime le nombre d'épisodes aigus de prostatite à environ 100 000 par an sans précision sur leur nature communautaire ou nosocomiale (37). Par ailleurs, Les PNA masculines représentent 10 à 20 % des cas de PNA (7).

L'incidence des IUM de l'homme âgé est environ deux fois moins importante que celle des femmes de la même tranche d'âge. Cependant, vers l'âge de 80 ans, les incidences des ITU chez les deux sexes sont quasiment équivalentes (34).

La colonisation bactérienne est rare, ne touchant environ que 5 % des femmes de 18 à 40 ans. De plus, il a été montré que chez les femmes de moins de 60 ans ayant une colonisation bactérienne, le risque de développer une ITU était plus élevé (38). Quel que soit le sexe, la colonisation bactérienne augmente avec l'âge, pour atteindre, chez les plus de 80 ans, des taux de 10 % chez les hommes, et 19 % chez les femmes (33,39).

Pendant la grossesse, environ 4 à 10 % des femmes sont touchées par une colonisation bactérienne, 1 à 4 % développent un premier épisode de cystite simple et 1 à 2 % une PNA, notamment à la fin du second trimestre et au début du troisième. Par ailleurs, les femmes ayant eu au moins un épisode d'ITU sont plus à risque de développer une ITU durant leur grossesse (15).

1.4.2 Epidémiologie bactérienne

1.4.2.1 Infections urinaires communautaires

Concernant les cystites simples, l'agent pathogène le plus fréquemment retrouvé est *Escherichia coli*, pour 80 % des cas, suivi de *Staphylococcus saprophyticus*, pour 5 à 15 % des cas, puis plus rarement, le genre *Klebsiella* spp. et *Proteus mirabilis*. L'étude ARESC menée entre 2003 et 2006 sur des échantillons urinaires collectés chez la femme de 18 à 65 ans sans facteurs de risque, au Brésil et dans 9 pays européens, a montré une épidémiologie différente selon la zone géographique (40). En effet, *E. coli* était toujours majoritaire à 76,7 % des cas (85 % en France), suivi de *Enterococcus faecalis* pour 4 % des cas, *S. saprophyticus* n'étant retrouvé que dans 3,6 % des cas. Le reste de l'épidémiologie était superposable mais l'explication de ces différences n'étaient pas développée. La Tableau 2 montre la répartition des pathogènes au sein des différents pays de l'étude.

Tableau 2 : Distribution des pathogènes retrouvés dans l'étude ARESC selon le pays, adapté de (40).

Pays	Nombre de pathogènes	<i>E. coli</i> (%)	<i>K. pneumoniae</i> (%)	<i>P. mirabilis</i> (%)	<i>S. saprophyticus</i> (%)	Autres uropathogènes ^a (%)
France	488	83,8	1	3,1	4,3	7,8
Brésil	506	73,9	6,2	3,8	4,9	11,2
Italie	329	72,6	5,5	3	0	18,9
Allemagne	317	76,7	2,5	4,7	2,8	13,3
Espagne	650	79,2	2,3	4,3	4,5	9,7

^a Autres uropathogènes : Autres entérobactéries, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp., *S. aureus*, SCN autres que *S. saprophyticus*, *Streptococcus* spp.

E. coli est également le pathogène le plus souvent isolé dans les PNA simples puisqu'il est retrouvé dans plus de 80 % des cas, suivi de *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* et *S. saprophyticus*.

Pour les IUC, *E. coli* est de nouveau la bactérie la plus fréquemment retrouvée, puis les espèces du genre *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterococcus*, et *Staphylococcus* (41).

L'épidémiologie bactérienne urinaire des personnes âgées semble présenter certaines particularités puisque la proportion d'isolement de *E. coli* est moins importante, tandis que les espèces *Pseudomonas aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. aureus* et *E. faecium* sont plus fréquemment retrouvées (33,42).

1.4.2.2 Infections urinaires nosocomiales

En plus des germes communautaires, les germes retrouvés dans les ITU nosocomiales sont classiquement adaptés à l'environnement hospitalier comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* complex, *Staphylococcus aureus*, et les SCN. Par ailleurs, on retrouve généralement des entérobactéries ayant acquis un phénotype de résistance qui leur confère une résistance variée aux antibiotiques. Il s'agit notamment des E-BLSE et des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC). D'autres germes peuvent également acquérir un phénotype de résistance et devenir difficiles à traiter comme le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), ou *P. aeruginosa*.

L'Enquête Nationale de Prévalence (ENP) a permis d'établir une distribution des principaux micro-organismes isolés des ITU nosocomiales en France en 2012 (25). La Figure 1 représente la proportion relative de chaque espèce. Comme pour les ITU communautaires, on retrouve *E. coli* comme pathogène majoritaire. Cependant, sa proportion est nettement moins importante et représente environ 50 % des cas. On retrouve ensuite *P. aeruginosa* à hauteur de 6,9 %, puis *Klebsiella pneumoniae* à 6,6 % et *E. faecalis* à 6,1 %. *P. mirabilis*, plus largement retrouvé dans les ITU communautaires, ne vient ici qu'en quatrième position, représentant 5,3 % des cas. *S. aureus* représente ensuite 3,5 % des cas.

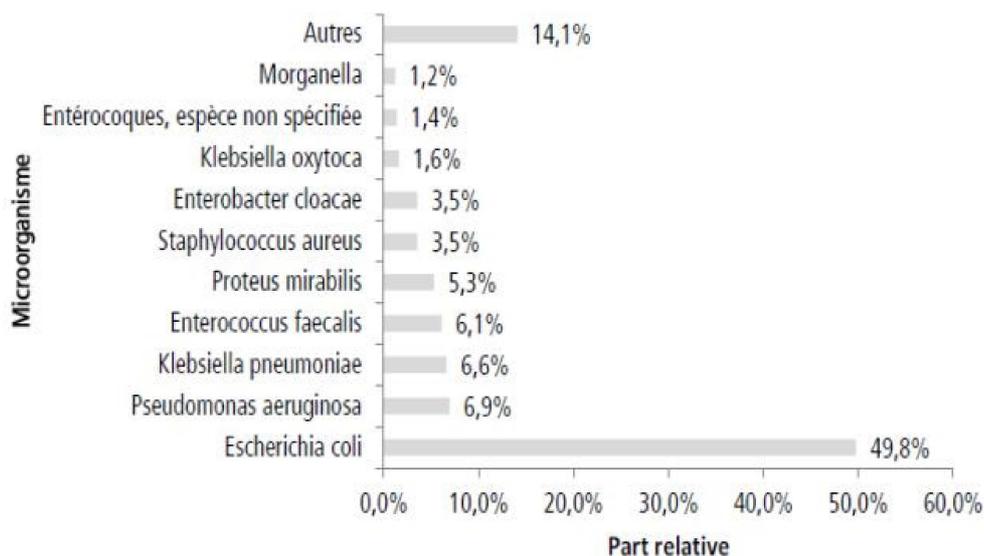


Figure 1 : Distribution des principaux micro-organismes isolés des infections urinaires nosocomiales documentées au plan microbiologique (n=4295) en France en 2012, d'après l'ENP 2012 (25).

En outre, le rapport du réseau BMR-Raisin de 2016 montre que les urines sont le premier réservoir de BMR en milieu hospitalier. En effet, tout type de prélèvements confondus, 21,1 % des SARM et 70,1 % des E-BLSE sont retrouvés dans les urines. Parmi les E-BLSE, *E. coli* est le pathogène prédominant à 57,7 %, suivi de *K. pneumoniae* à 24,9 % puis *E. cloacae* à 11,1 % (6). Il est important de noter que depuis quelques années, la tendance concernant l'incidence des SARM et des E-BLSE s'est inversée, à la faveur des E-BLSE, comme le montre la Figure 2. La diminution continue de l'incidence des SARM suggère un impact positif des actions de prévention instituées dans les services de soins, en particulier grâce à l'utilisation des solutions hydroalcooliques (43). A l'inverse, les E-BLSE sont en constante progression depuis 2007, notamment *E. coli*. Cette croissance est préoccupante d'un point de vue thérapeutique mais aussi parce que ces micro-organismes peuvent servir de réservoir potentiel pour l'émergence de nouvelles souches résistantes à certains antibiotiques, notamment aux carbapénèmes.

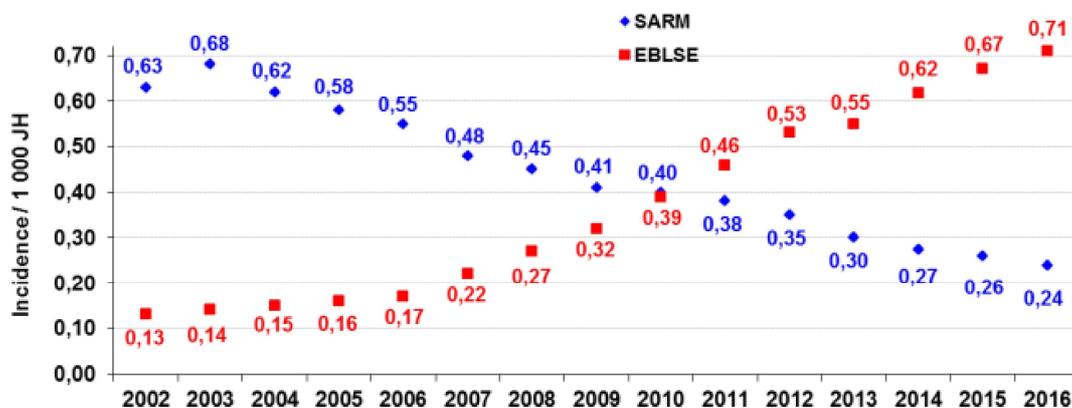


Figure 2 : Densité d'incidence globale par année des SARM et des E-BLSE pour 1000 journées d'hospitalisation entre 2002 et 2016 d'après le réseau BMR-Raisin, résultats 2016 (6).

1.4.2.3 Epidémiologie microbienne locale

Au laboratoire de microbiologie du CHU de Caen, environ 60 ECBU sont reçus chaque jour. Parmi eux, on retrouve une majorité de *E. coli* avec 44 % des isolats, suivi de *E. faecalis* (12 %), de *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* (4 % chacun) puis de *E. cloacae complex* (3 %) (source : extraction de données épidémiologiques sur une année calendaire (2017-2018) à partir du logiciel de laboratoire).

1.4.2.4 Mécanismes de résistances

Afin d'être le plus concis possible, dans ce chapitre, seuls les principaux mécanismes de résistance des bactéries les plus fréquemment retrouvées dans notre étude seront abordés.

1.4.2.4.1 Résistances des entérobactéries

1.4.2.4.1.1 Résistances aux bêta-lactamines

Parmi les principales bactéries responsables d'ITU, un groupe se distingue : celui des entérobactéries. Leur nom vient du fait qu'elles sont très fréquemment retrouvées dans le tube digestif. La majorité d'entre elles sont donc saprophytes du microbiote intestinal humain et animal. Elles sont responsables d'infections très diverses, notamment d'ITU. Les entérobactéries peuvent être porteuses de mécanismes de résistance naturelle ou acquise. Elles sont classées en quatre groupes selon leur mécanisme de résistance naturelle aux pénicillines, dont les principales espèces sont les suivantes (44) :

- Groupe 1 : *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ;
 - Absence de résistance naturelle, sauf pour *E. coli* qui possède une céphalosporinase chromosomique exprimée à très bas niveau, rarement détectable et non inductible.
- Groupe 2 : *Klebsiella* spp., *Citrobacter koseri* ;
 - Production d'une pénicillinase : entraîne une résistance à l'amoxicilline (AMX) et à la ticarcilline (TIC).
- Groupe 3 : *Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Citrobacter freundii* ;
 - Production d'une céphalosporinase : entraîne une résistance à l'AMX, amoxicilline + acide clavulanique (AMC) et céphalosporines de première génération (C1G) +/- de deuxième génération (C2G) selon l'espèce.
- Groupe 4 : *Yersinia* spp.
 - Production d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase.

Le rapport de l'étude AFORCOPI-BIO de 2015 montre que les aminopénicillines restent efficaces pour la moitié des souches de *E. coli* communautaires, et que l'association avec un

inhibiteur de β -lactamase augmente légèrement ce taux de sensibilité (69,3 % des souches sont sensibles à l'amoxicilline + acide clavulanique) (45).

À ces résistances dites naturelles peuvent s'ajouter des mécanismes de résistance acquis, dont le principal facteur de risque est l'exposition antérieure à une antibiothérapie à large spectre. Deux de ces mécanismes acquis sont particulièrement problématique en termes d'impasses thérapeutiques : les E-BLSE et les carbapénèmases.

Depuis les années 1990, nous assistons à une diffusion de souches de E-BLSE, d'abord hospitalières (*K. pneumoniae* et *Enterobacter* spp. *bla*_{TEM} et de *bla*_{SHV}), puis depuis une dizaine d'année cette problématique est rencontrée sur des souches communautaires (*E. coli bla*_{CTX-M}) (46). En France, une étude menée en 2011 retrouvait une prévalence de 6,1 % de E-BLSE, dont 86 % de *bla*_{CTX-M} (47). Les taux de résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) ont été déterminés par l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pour *E. coli* à 10,2 % et pour *K. pneumoniae* à 28,8 % en 2017 (48). Ces chiffres élevés sont principalement expliqués par la diffusion de souches productrices de BLSE dans la communauté. L'incidence des *E. coli* BLSE représente désormais plus de 85 % des BMR, toutes infections confondues. De ce fait, les E-BLSE sont devenues un des principaux problèmes de santé publique de nos jours.

Une étude rétrospective espagnole de 2010 a montré que 7 % des souches de *E. coli* isolées des urines étaient productrices de BLSE, et étaient retrouvées chez 63 % de femmes, et 81 % de patients âgés de plus de 60 ans. Une bactériémie associée était plus fréquemment retrouvée chez les patients ayant une infection urinaire à *E. coli* BLSE (15,5 % contre 10,6 %) (20). Par ailleurs, une étude française de 2013 menée par Martin *et al.* retrouvait 3,3 % de *E. coli* BLSE dans les ECBU communautaires (49).

De plus, une étude récente française a démontré que le risque de développer une ITU à entérobactérie résistante aux antibiotiques chez les personnes âgées est 40 % plus élevé lorsque ces derniers vivent en EHPAD comparé à leurs homologues vivant à domicile. En effet, les ITU à *E. coli* BLSE représentent 4,6 % des souches en communautaire contre 7,7 % en EHPAD. Cependant, la différence n'est pas significative concernant les ITU à *K. pneumoniae* BLSE (4,0 % contre 4,2 %) (50).

De plus, l'émergence d'EPC multirésistantes dans certaines régions du Monde (Inde, Turquie...), parfois à l'origine d'épidémies hospitalières est préoccupante et constitue un problème majeur de santé publique. Ces β -lactamases sont capables d'hydrolyser les carbapénèmes et confèrent une résistance à un large spectre d'antibiotiques. En effet, les carbapénèmes (imipénème, méropénème et ertapénème) sont les β -lactamines de dernier

recours dans les infections à entérobactéries multirésistantes. Les options thérapeutiques deviennent donc limitées lorsque celles-ci sont touchées. Les EPC sont surtout représentées par *K. pneumoniae* (54 % des épisodes) et *E. coli* (38 %), mais concernent aussi de nombreuses autres entérobactéries telles que *Enterobacter* spp., *P. mirabilis*, *C. freundii*, *Salmonella enterica*, mais aussi d'autres bactéries à Gram négatif comme *P. aeruginosa* (51). Le mécanisme de résistance est lié à la présence d'enzymes dont les plus fréquentes sont :

- Les KPC (β -lactamase de classe A) ;
- Les métallo-enzymes de type VIM, IMP et NDM (β -lactamases de classe B) ;
- Les oxacillinases (OXA-48 et OXA-48-like) (β -lactamases de classe D) (52).

En France, le nombre de cas rapportés de souches OXA-48 et OXA-48 like est en nette augmentation depuis 2009. En 2014, parmi les souches possédant une carbapénèmase, 85,6 % sont producteurs d'une OXA-48, 8,5 % d'une NDM, 2,7 % d'une VIM et 1,8 % d'une KPC (53). Un lien avec un séjour à l'étranger est retrouvé dans 44 % des cas environ (Afrique du Nord, en particulier Maroc pour OXA-48, Grèce, Italie et Etats-Unis pour KPC, Inde et Afrique du Nord pour NDM).

Selon l'ECDC, la France reste assez peu concernée, avec 0,7 % des souches de *K. pneumoniae* en France résistantes aux carbapénèmes en 2017, contre 0,5 % en 2015, contrairement à la Grèce et à l'Italie qui sont les pays Européens les plus touchés avec respectivement 64,7 % et 29,7 % des souches de *K. pneumoniae* productrices de carbapénèmases isolées d'hémocultures (48). De plus, dans notre pays, sur la période 2013-2016, les principales infections concernées étaient les infections urinaires dans 44 % des cas (54).

Les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) sont des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe).

1.4.2.4.1.2 Résistances aux aminosides

Il existe trois mécanismes de résistance acquise aux aminosides chez les entérobactéries : l'inactivation enzymatique (55), la méthylation de la cible ribosomale (56) et la modification de la perméabilité de la membrane externe (57). Le mécanisme le plus fréquent est l'inactivation enzymatique. Trois types d'enzymes peuvent être acquis : les aminosides-acétyltransférases (AAC), les aminosides-phosphotransférases (APH), et les aminosides-nucléotidyltransférases (ANT), entraînant différents niveaux de résistance aux aminosides tels que la gentamicine, tobramycine et amikacine selon le type d'enzyme incriminé.

En France, le taux de résistance aux aminosides (gentamicine, tobramycine et amikacine) est en diminution depuis plusieurs années, et atteint en 2017, 7 % des souches de *E. coli* et 23,8 % des souches de *K. pneumoniae* isolées d'hémocultures (48).

1.4.2.4.1.3 Résistances aux quinolones

Les entérobactéries sont naturellement sensibles aux quinolones de première génération et très sensibles aux fluoroquinolones. Elles ont cependant développé de multiples mécanismes de résistance, d'abord par mutations chromosomiques, mais également par l'acquisition de gènes plasmidiques de résistance (58). La résistance aux quinolones et apparentés est médiée par différents mécanismes comme la mutation de cible, la protection de cible, l'efflux ou la lyse enzymatique de l'antibiotique. La mutation de cible est le mécanisme le plus prévalent chez les entérobactéries en particulier l'apparition de mutations ponctuelles dans une région conservée des gènes de l'ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*) ou plus rarement de la topoisomérase IV (*parC* et *parE*) appelée QRDR pour *Quinolone Resistance Determinant Region* (59). Le mécanisme de protection de cible est médié par l'acquisition d'une protéine « protectrice » codée par les gènes *qnr* (60). Un mécanisme de résistance de type enzymatique peut être également retrouvé chez certaines souches ayant fait l'acquisition d'un plasmide portant le gène codant pour l'acétyltransférase mutée AAC(6')-Ib-cr (61). Enfin, une résistance par mécanisme d'efflux est possible lors de l'acquisition plasmidique du gène *qepA* codant pour une pompe d'efflux (62). D'après l'ECDC, la résistance aux fluoroquinolones en France est en diminution depuis plusieurs années et atteint 15 % des souches de *E. coli* et 26,8 % des souches de *K. pneumoniae* en 2017 (48). Par ailleurs, 16 % des souches de *E. coli* sont résistantes à l'ofloxacine et 11 % à la ciprofloxacine. De plus, seulement 20 % des souches d'E-BLSE sont sensibles aux fluoroquinolones (63).

1.4.2.4.1.4 Résistances aux sulfamides

Il s'agit le plus souvent d'une résistance de type plasmidique par l'acquisition des gènes *sul1*, *sul2* et *sul3* codant pour une cible moins affine pour l'antibiotique générant ainsi la résistance aux sulfamides (cotrimoxazole : sulfaméthoxazole – triméthoprime) (64). En France, actuellement, le taux de résistance aux sulfamides est stable (environ 35 % des souches) (65).

1.4.2.4.2 Résistances de *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est responsable de 10 % des infections nosocomiales, quel que soit le site d'isolement de la bactérie (66). C'est un germe naturellement résistant ou peu sensible à de nombreux antibiotiques entre autres ceux actifs sur les bactéries à Gram négatif comme de nombreuses β -lactamines via la production d'une céphalosporinase inductible de type *AmpC*, proche de celle des entérobactéries du groupe 3, mais également du fait des difficultés de pénétration des antibiotiques (impermeabilité par mutation de la porine D2, systèmes d'efflux (pompes MexAB-OprM)) (67). Il existe également des résistances acquises aux β -lactamines notamment par la production de BLSE, d'oxacillinasés de classe D, ou de carbapénémases, en particulier la métallo- β -lactamase de type VIM.

En France, les taux de résistance à l'association pipéracilline + tazobactam ou au ceftazidime sont de 19,2 % et 12 %, respectivement. La résistance aux carbapénèmes est retrouvée dans 14 % des cas, tout type de résistance confondu (48)..

Concernant la résistance aux aminosides, le phénotype sauvage est sensible à toutes les molécules de la famille des aminosides. La résistance acquise est, comme pour les entérobactéries, essentiellement liée à l'inactivation enzymatique et représente environ 11 % des souches (48).

Concernant la résistance aux fluoroquinolones, le phénotype sauvage est résistant aux quinolones de première génération, et seules la ciprofloxacine, la moxifloxacine et la lévofloxacine ont une activité *in vivo*. La résistance chromosomique est similaire à celle des entérobactéries, mais il n'existe pour le moment aucune souche présentant une résistance plasmidique aux fluoroquinolones. En France, la résistance aux fluoroquinolones est d'environ 15 % (48).

1.4.2.4.3 Résistances de *Staphylococcus aureus*

Grâce à son fort pouvoir adaptatif, *S. aureus* peut développer différents mécanismes de résistance. Tout d'abord, plus de 90 % des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais certaines d'entre elles ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres β -lactamines par la production d'une protéine, la PLP2a, codée par le gène *mecA* et ayant une faible affinité pour ces composés (68). Ce sont des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). Dans ce cas, toutes les β -lactamines sont touchées, à l'exception de la ceftaroline et du ceftobiprole, céphalosporines anti-SARM nouvellement développées mais peu utilisées en pratique du fait de leur prix élevé. En France, toute origine confondue, les SARM représentent 12,9 % des souches, et ce chiffre est en diminution depuis plusieurs années (48,65). Par ailleurs, la prévalence des souches communautaires est faible, et représente seulement 3,6 % des cas (68).

La résistance aux fluoroquinolones est principalement liée à la mutation des gènes de structure de l'ADN gyrase (mutations dans les gènes *gyrA* ou *gyrB*) et de l'ADN topoisomérase IV (mutations dans les gènes *parC* ou *parE*) au niveau de la région QRDR, comme précédemment évoqué. De plus, environ 90 % des cas de SARM hospitaliers sont associés à une résistance aux fluoroquinolones et au phénotype de résistance aux aminosides kanamycine – tobramycine. A l'inverse, les souches de SARM communautaires restent pour le moment le plus souvent sensibles aux fluoroquinolones.

La résistance de nature enzymatique aux aminosides, implique les mêmes enzymes que celles évoquées dans la résistance aux aminosides des entérobactéries (APH, ANT et AAC)

Par ailleurs, d'autres résistances ont été décrites telles que les souches de sensibilité diminuée à la vancomycine dénommées VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*) ou plus généralement GISA (glycopeptide-intermediate *S. aureus*) car elles sont également résistantes à la teicoplanine. Il s'agit d'un mode de résistance hétérogène, ne concernant qu'une fraction de la population bactérienne (68).

1.4.2.4.4 Résistances des entérocoques (*E. faecalis* et *E. faecium*)

Les entérocoques peuvent acquérir de nombreuses résistances, entraînant un véritable problème en termes de solutions thérapeutiques. C'est notamment le cas pour *E. faecium*, souvent résistant à toutes les β -lactamines (environ 80 % des souches isolées en clinique) (69). Les glycopeptides représentent alors une alternative thérapeutique de choix (70). Cependant, *E. faecalis* et *E. faecium* peuvent acquérir une résistance aux glycopeptides par l'acquisition de gènes de résistance retrouvés sous forme opéronique, dont les principaux sont les gènes *vanA* et *vanB*. Ces entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont des BHRé (*E. faecium*) ou des BMR (*E. faecalis*). En France, cette résistance est peu fréquente et concerne surtout les souches de *E. faecium* de type *vanA* (0,8 % des souches en 2017 en France) (48).

Par ailleurs, les entérocoques possèdent une PLP5 de faible affinité pour les β -lactamines, et sont ainsi résistants naturellement à l'oxacilline et aux céphalosporines. La résistance acquise touche surtout *E. faecium* par hyperproduction de la PLP5. Selon le rapport de l'ONERBA de 2017, près de 78 % des souches de *E. faecium* sont résistantes à l'ampicilline. A l'inverse, *E. faecalis* est sensible à l'ampicilline dans 99,5 % des cas (71).

A noter également que les entérocoques sont naturellement résistants à bas niveau aux aminosides, cependant, leur association à une pénicilline est dite synergique et bactéricide.

1.5 Méthodes diagnostiques

1.5.1 Diagnostic clinique

L'interrogatoire clinique est essentiel et permet d'orienter rapidement le diagnostic. Le clinicien recherche tout d'abord des signes cliniques en faveur d'une ITU tels que décrits dans le chapitre 1.2, des éventuels antécédents d'ITU et/ou des antécédents médico-chirurgicaux tels qu'une anomalie de l'appareil urinaire ou des facteurs de risque. Les signes de gravité doivent également être recherchés.

Un bon interrogatoire permet de distinguer une ITU simple d'une IUC, avec ou sans signe de gravité, et ainsi d'instaurer une antibiothérapie adaptée dès le début de la prise en charge.

1.5.2 Imagerie médicale

L'imagerie médicale n'a pas sa place dans l'ITU simple. Elle est utile dans le cas de l'IUC, pour orienter le diagnostic (23). Le principal objectif est de rechercher une éventuelle anomalie urologique sous-jacente susceptible de favoriser ou de compliquer l'infection. Elle peut également confirmer une atteinte parenchymateuse en cas de présentation atypique. Les outils du clinicien sont la radiographie de l'abdomen, l'échographie et la tomodensitométrie (uroscanner) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) en cas d'évolution défavorable (persistance de la fièvre, apparition de signes de gravité...) (72).

1.5.3 Diagnostic microbiologique

Les examens bactériologiques ont une importance cruciale car ils permettent d'une part, d'établir le diagnostic de certitude par identification du germe responsable, et d'autre part, d'instaurer un traitement efficace et adapté à la sensibilité aux antibiotiques de l'agent causal.

1.5.3.1 La bandelette urinaire

La bandelette urinaire (BU) permet un dépistage rapide des ITU « au lit du malade » en cas de SFU. Elle a pour but de détecter la présence d'une leucocyturie (seuil de sensibilité à 10^4 leucocytes/mm³), témoin de la réaction inflammatoire, et d'une nitriturie, indiquant la présence de bactéries productrices de nitrites à forte densité (seuil de sensibilité à 10^5 UFC/mL), caractéristique biochimique souvent retrouvée chez les entérobactéries (3).

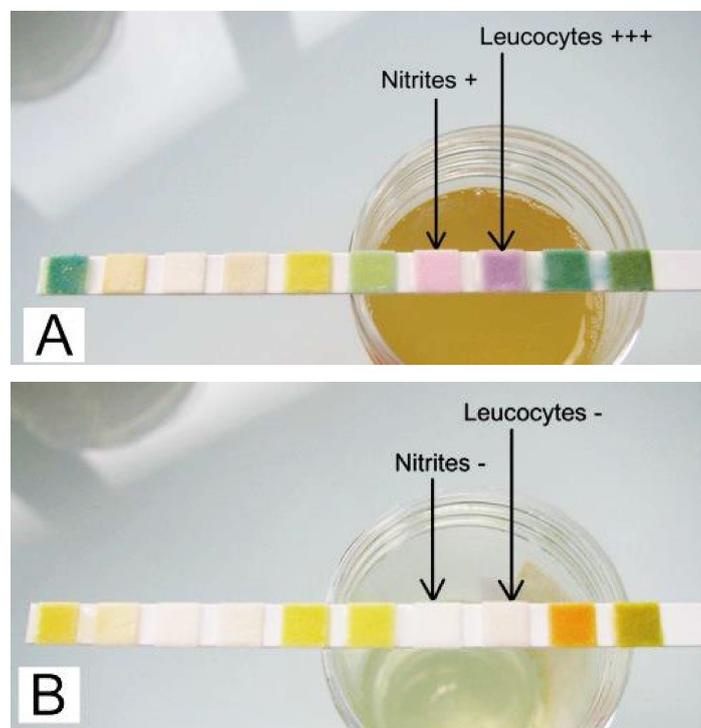


Figure 3 : Une bandelette urinaire positive à leucocytes et nitrites (A) et négative (B).
Source : www.microbiologiemedicale.fr/bandelettes-urinaires

Ses performances diagnostiques sont variables selon le sexe. En l'absence d'immunodépression grave chez une femme symptomatique, son principal intérêt est sa valeur prédictive négative élevée (> 95 %). Ainsi, une BU négative doit faire rechercher un autre diagnostic (73). A l'inverse, chez l'homme, la BU a une valeur prédictive positive élevée et permet donc d'orienter fortement le diagnostic vers une ITU (74,75).

Pour la cystite simple, la BU est le seul examen recommandé. Elle est optionnelle pour les autres formes d'ITU, l'ECBU primant (3).

1.5.3.2 L'examen cytbactériologique des urines

L'examen cytbactériologique des urines (ECBU) est l'examen de référence pour affirmer l'ITU et identifier le germe responsable. Il est indiqué dans toutes les ITU, sauf les cystites simples, et pour le diagnostic des colonisations nécessitant un traitement (femme enceinte, geste urologique à venir), avant toute antibiothérapie.

Les ECBU reçus au laboratoire de bactériologie du CHU de Caen peuvent être de différentes origines :

- Urines de miction, ou par sondage urinaire évacuateur « aller-retour » ;
- Urines sur sonde à demeure ;
- Urines pyéliques (prélevées dans le pyélon, cavité rénale précédant la vessie) ;
- Urines de dérivation urinaire externe de type Bricker ;
- Urines de néphrostomie ;
- Urines de sonde urétérale (drainage d'urines en provenance du rein) ;
- Urines prélevées par cathétérisme sus-pubien (drainage de la vessie en cas de rétention aiguë d'urines).

L'origine de ces urines doit être indiquée sur la demande d'analyse car selon l'origine, diverses géloses seront ensemencées afin de rechercher différents types de germes. Ces informations sont détaillées plus loin dans le document.

Le seuil de leucocyturie significative est $\geq 10^4$ leucocytes/mm³ chez les patients non sondés (76). En effet, chez les patients sondés, la présence d'une réaction inflammatoire entraîne une leucocyturie, il n'y a donc pas d'intérêt à la prendre en compte.

Le seuil de bactériurie significative dépend du germe et du sexe du patient. Les différents seuils sont indiqués dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Seuils de bactériurie en fonction du germe et du sexe, adapté de (3) et (76).

Micro-organismes	Seuils de significativité (UFC/mL)	
	Homme	Femme
<i>E. coli</i> , <i>S. saprophyticus</i>		$\geq 10^3$
Entérobactéries (sauf <i>E. coli</i>), Entérocoques, <i>C. urealyticum</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	$\geq 10^3$	$\geq 10^4$
Bactéries à Gram positif (sauf <i>S. saprophyticus</i>) <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Autres <i>Pseudomonaceae</i> <i>Candida</i> spp.		$\geq 10^5$
Lactobacilles Streptocoques alpha-hémolytiques <i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Bifidobacterium</i> spp. Bacilles diphtérimorphes (sauf <i>C. urealyticum</i>)	Pas de seuil, contaminants probables ECBU à reconstrôler	

La présence d'hématies dans les urines (hématurie) en faible quantité est normale. Les causes d'hématurie sont extrêmement variées et ne sont pas forcément liées à une infection. Cependant, la cystite de la femme jeune est la principale source d'hématurie (77).

Il est important de souligner qu'en cas de discordance entre l'ECBU et un tableau clinique évident, la clinique prime sur le diagnostic d'ITU (3).

La présence de plus de deux espèces bactériennes est en général considérée comme une contamination ou une colonisation, souvent liée à des conditions de prélèvement insuffisamment respectées lors du recueil urinaire (78). C'est également le cas des patients porteurs d'une sonde à demeure, souvent colonisés par les bactéries de la flore cutanée et digestive, avec une incidence directement proportionnelle au nombre de jours de sondage (79). Chez la femme, la présence de lactobacilles et de cellules épithéliales, quelle que soit la leucocyturie, est évocatrice d'une contamination vaginale (78).

Au laboratoire de bactériologie du CHU de Caen, l'échantillon urinaire est dans un premier temps analysé par un automate de cytologie urinaire, le modèle UF-500i de la société Sysmex® (TOA Medical Electronics, Kobe, Japon), qui permet de fournir des premiers résultats rapides et standardisés sur la leucocyturie, la bactériurie, la quantification des levures, l'hématurie, et le nombre de cellules épithéliales, grâce à une technologie de cytométrie de flux à fluorescence.

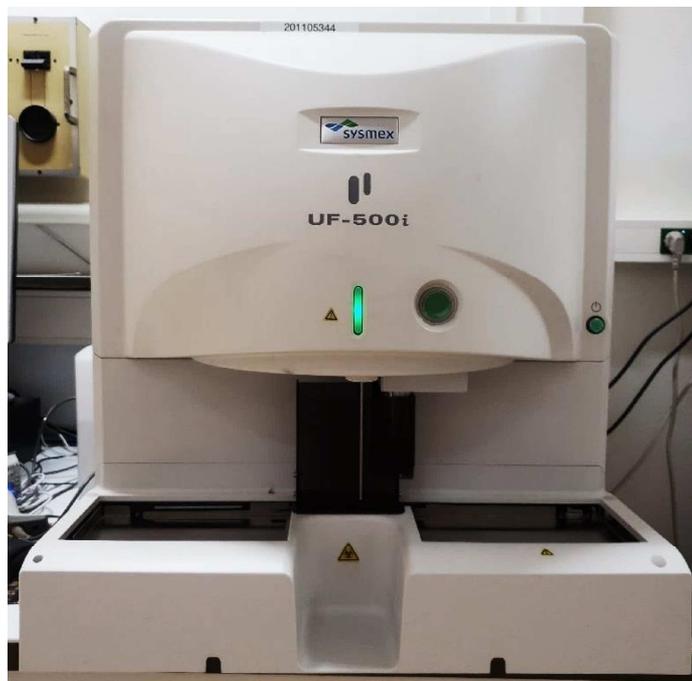


Figure 4 : Automate de cytologie urinaire Sysmex® UF-500i du laboratoire de bactériologie du CHU de Caen (photographie personnelle)

Un examen direct (ED) après coloration de Gram est réalisé dès que la bactériurie ou la levururie est supérieure à 100 bactéries ou levures par μL . Il permet de déterminer la présence de bactéries ou de levures dans le prélèvement et d'orienter en fonction de la morphologie (bacilles, cocci, amas, chainettes...) vers une espèce bactérienne. Une étude espagnole de 2014 a évalué les performances diagnostiques de la coloration de Gram et retrouve une sensibilité et une valeur prédictive positive correctes à 81,3 % et une spécificité et une valeur prédictive négative très bonnes à 93,2 % (80). De plus, l'ED, après coloration de Gram, ne présente une sensibilité proche de 100 % que pour des concentrations bactériennes de l'ordre de 10^5 UFC/mL (26). Malgré une faible sensibilité, l'ED reste indispensable, car il apporte des informations immédiates sur le type de bactéries impliquées, permettant au clinicien d'adapter rapidement le traitement. De plus, un ED positif associé à des cultures négatives permettra d'adapter les milieux de culture, l'atmosphère et la durée d'incubation pour la recherche de micro-organismes inhabituels.

Aucun milieu ne permet à lui seul la quantification et l'isolement de toutes les bactéries potentiellement retrouvées. La mise en culture permet de dénombrer les bactéries et les levures à partir d'un seuil d'environ 10^2 UFC/mL d'urine. En fonction de la cytologie urinaire et de l'examen direct, différentes géloses vont êtreensemencées avec 10 μL d'urine :

- Une gélose chromogène UTI (Thermo Fisher, Basingstoke, Royaume-Uni) dont le principe repose sur l'utilisation de substrats synthétiques analogues structuraux d'une molécule naturellement clivée par une enzyme caractéristique d'une espèce ou d'un

groupe d'espèces bactériennes. Cette gélose permet une discrimination fine des colonies en fonction de leur coloration, et permet d'obtenir une meilleure appréciation à la lecture des urines polymicrobiennes. On l'utilise également pour établir la numération bactérienne (Figure 5). Cette gélose estensemencée systématiquement pour tous les ECBU ;

- Une gélose au sang, si la bactériurie est positive, afin d'isoler notamment les cocci à Gram positif, colonies associées ou non à une hémolyse;
- Pour les urines pyéliques : une gélose sang incubée en anaérobiose et une gélose chocolat incubée sous 5 % de CO₂ afin d'isoler les bactéries anaérobies et/ou les micro-organismes exigeants ;
- Une gélose Sabouraud si présence de levures ou examen direct positif ;
- Une gélose CAP, sélective des bactéries à Gram positif, lorsque l'ED est en faveur, incubée 72 heures en atmosphère anaérobie.

Le choix des géloses est primordial car ces milieux sélectifs fournissent à la fois des informations quantitatives et qualitatives sur les différents types bactériens, ce qui peut donc orienter dans de nombreux cas l'identification de ces différents micro-organismes, dans un délai très court post-ensemencement. En effet, la plupart des bactéries impliquées dans les ITU poussent en 18 à 24 heures, la lecture est donc effectuée après 24 heures d'incubation à 35°C. Elle peut cependant être prolongée jusqu'à 48 heures en cas de suspicion de bactéries de culture lente ou de discordance entre l'ED et la culture. Par ailleurs, les géloses incubées en anaérobioses sont répondues après 72 heures d'incubation, en raison de la croissance plus fastidieuse de certains micro-organismes anaérobies.

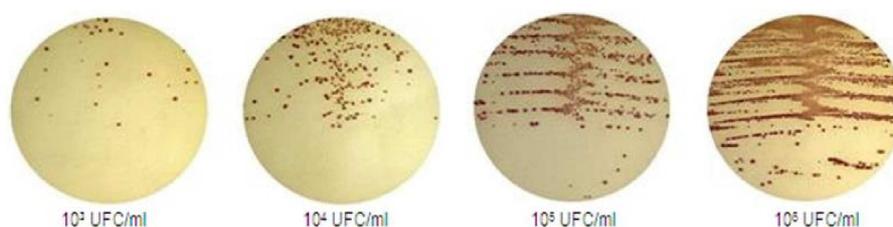


Figure 5: Numération bactérienne (figure issue du document qualité ECBU interne au laboratoire)

Les cultures négatives avec un ED à bactéries à Gram positif doivent faire rechercher des germes anaérobies tels que *Aerococcus*, *Alloscardovia* ou *Actinobaculum*. Il faut donc ré-incuber la gélose au sang en anaérobioses pendant 48 heures.

Pour chaque type de colonie isolé (dans la limite de deux types de colonies), une identification par spectrométrie de masse (MALDI-TOF-MS) est nécessaire. Cette technique consiste à séparer et identifier des molécules selon leur masse et leur charge. Son application à

l'identification bactérienne constitue une avancée majeure dans le domaine de la bactériologie médicale. En effet, elle a permis un gain de temps considérable puisqu'en quelques secondes, le MALDI-TOF nous fournit une identification de la plupart des bactéries et levures d'intérêt médical. En effet, par comparaison, les méthodes d'identification qui reposent sur des tests biochimiques nécessitent des procédures d'incubation longues, de 18 à 48 heures en galeries d'identification de type API, les délais pouvant être réduits pour les laboratoires équipés d'automates d'identification type Phoenix, Vitek ou Microscan (81,82).



Figure 6: Exemple de système MALDI-TOF au laboratoire du CHU de Caen (Microflex[®], Bruker-Daltonics, Allemagne) (photographie personnelle)

1.5.3.3 Les méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques peut être déterminée selon différentes techniques. On distingue principalement des techniques en milieu liquide ou en milieu solide, permettant la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) aux antibiotiques de la bactérie, ou son évaluation indirecte par la mesure des diamètres d'inhibition. La CMI correspond à la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée.

La première méthode, la microdilution manuelle en milieu liquide est la technique de référence pour déterminer la CMI. Au CHU de Caen, le système Sensititre[®] (Thermo Fisher, Royaume-Uni) permet de déterminer les CMI d'un micro-organisme à de nombreux antibiotiques sur une seule et même plaque de microtitration à 96 puits, par microdilution en bouillon. Cette méthode

est effective dans notre laboratoire depuis fin 2018 pour la détermination des CMI des souches de BMR tels que les E-BLSE ou les SARM et des BHRé.

La seconde méthode, la détermination de la CMI par Etest[®] est une technique de diffusion d'un gradient de concentration d'un antibiotique donné en milieu gélosé qui permet de déterminer des valeurs de CMI vis-à-vis d'une souche bactérienne. Cette méthode a été approuvée pour différents antibiotiques vis-à-vis de nombreuses espèces bactériennes (83).

La troisième méthode consiste à estimer les CMI par dilution en milieu liquide. C'est la méthode utilisée au laboratoire de bactériologie du CHU de Caen pour la plupart des germes isolés à partir de prélèvements urinaires. Cette technique semi-automatisée est basée sur l'utilisation de galeries contenant des concentrations croissantes de plusieurs antibiotiques. Cette technique permet d'obtenir des valeurs chiffrées de CMI estimées (84). La valeur obtenue est comparée aux concentrations critiques établies par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM) (85). Au laboratoire de bactériologie du CHU de Caen, l'automate utilisé est le VITEK[®] 2-XL (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) (Figure 7). Cet automate possède des règles d'expertise (86) facilitant l'interprétation de l'antibiogramme, bien que l'expertise du biologiste soit indispensable pour valider les phénotypes de résistance.

Enfin, l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, ou méthode des disques, consiste à déposer des disques papiers chargés d'antibiotiques à concentration fixe sur gélose Mueller-Hinton ensemencée avec un inoculum bactérien standardisé ou Mc Farland. Cette mesure permet de déterminer le caractère sensible, intermédiaire ou résistant d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique donné par comparaison aux diamètres critiques établis par le CA-SFM (85). Cette technique ne permet cependant pas d'obtenir la CMI d'un antibiotique vis-à-vis d'une bactérie donnée. Pour certaines molécules et/ou espèces bactériennes, cette technique ne peut être appliquée et une autre méthode doit être mise en œuvre. C'est le cas notamment pour l'étude de la sensibilité des bacilles à Gram négatif à la colistine (87).



Figure 7: L'automate VITEK[®] 2-XL et une carte de test de sensibilité (photographies personnelles)

1.5.3.3.1 Détection des BMR et BHRe

La recherche de BMR nécessite souvent un délai supplémentaire de 24 heures dans le rendu de résultats. Pour cela, le biologiste peut s'aider de plusieurs méthodes de détection, dont la principale est l'analyse phénotypique de l'antibiogramme. Le système VITEK® 2-XL peut notamment alerter le biologiste sur un phénotype de résistance particulier, notamment sur les BMR et les BHRe, grâce aux règles d'expertises qu'il contient.

1.5.3.3.1.1 Entérobactéries productrices de BLSE

La présence d'une E-BLSE sur un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé doit être évoquée devant une image de synergie caractéristique, dite « en bouchon de champagne », entre un disque contenant un inhibiteur de β -lactamase et un disque de C3G, voire de C4G. Elle n'est cependant pas systématique, notamment pour les entérobactéries du groupe 3, productrices d'une céphalosporinase. La solution consiste à refaire un antibiogramme en diffusion en rapprochant ces deux disques à 15 millimètres, au lieu de 30 millimètres, sur milieu gélosé Mueller-Hinton additionné de cloxacilline (88) qui inhibe partiellement l'activité de la céphalosporinase de certaines espèces bactériennes. Les souches productrices de BLSE récupèrent une sensibilité aux β -lactamines et la différence de diamètre avec les disques contenant un inhibiteur de β -lactamase est d'au moins cinq millimètres.

Les géloses chromogènes sélectives de type chromID® BLSE (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) peuvent aider à la détection présomptive d'une E-BLSE. Le caractère BLSE est ensuite à confirmer par la technique décrite ci-dessus.

1.5.3.3.1.2 Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de carbapénèmases

La détection des bactéries productrices de carbapénèmases repose sur l'analyse fine des résultats d'antibiogramme afin de mettre en évidence la résistance à au moins une molécule de la classe des carbapénèmes (89). Ensuite, des tests simples et rapides existent, permettant de définir le type de carbapénémase directement à partir des colonies isolées :

- Le test Coris® (Coris BioConcept, Gembloux, Belgique) est une technique immunochromatographique de détection avec des anticorps monoclonaux, directement à partir des colonies. Ce test présente l'inconvénient de ne pas détecter certains gènes de résistance comme le gène IMP ;
- Le β CARBA Test® est technique colorimétrique d'hydrolyse des carbapénèmes à partir des colonies isolées, avec une interprétation parfois douteuse ;
- Le test RAPIDEC® Carba NP est une technique colorimétrique qui détecte l'acidification (indicateur coloré) liée à l'hydrolyse de l'imipénème par les

carbapénèmases, à partir des colonies isolées. Ce test présente de très bonnes performances, mais sa lecture et donc son interprétation sont parfois difficiles.

De plus, des milieux chromogènes spécifiques peuvent être utilisés, directement à partir du prélèvement (gélose chromID[®] CARBA SMART).

Si l'on suspecte une souche de *P. aeruginosa* d'être productrice d'une carbapénémase, on peut disposer sur une gélose Mueller-Hinton avec un inoculum bactérien standardisé, deux disques d'antibiotiques, le premier contenant de l'imipénème et le deuxième de l'imipénème associé à de la cloxacilline, molécule inhibitrice de la céphalosporinase *AmpC*. Si la différence de la mesure des deux disques d'inhibition après une 16 à 24 heures d'incubation est inférieure ou égale à cinq millimètres, la souche est productrice de carbapénémase, sans pouvoir préjuger du type d'enzyme. Cette méthode très simple a montré d'excellentes performances, quel que soit le type de carbapénémase produite (90).

1.5.3.3.1.3 *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Deux principaux tests de détection rapide existent pour la détection phénotypique des SARM à partir de colonies isolées :

- Le test PBP2a[®] (Alere, Scarborough, Etats-Unis) est un test immunochromatographique rapide pour la détection de la PLP2a ;
- Le test d'agglutination latex-anticorps monoclonaux anti-PLP2a, tel que le MRSA screen test (Denka Seiken Co., Ltd., Tokyo, Japon).

Des milieux chromogènes sélectifs peuvent également aider à leur détection (gélose chromID[®] MRSA SMART).

1.5.3.3.1.4 Entérocoques résistants à la vancomycine

Des milieux chromogéniques sélectifs existent (gélose chromID[®] VRE), dévoilant une coloration verte pour les souches résistantes à la vancomycine de *E. faecalis* et violette pour les souches de *E. faecium*. On peut également rechercher des ERV par détection des gènes *vanA* et *vanB* par PCR en temps-réel mais ceci à partir de colonies bactériennes, après une incubation de 16 à 24 heures.

1.5.3.3.1.5 Antibiogramme rapide à partir du MALDI-TOF MS

La technique de détection qui tend à se développer est la recherche d'une modification du spectre d'un antibiotique grâce au MALDI-TOF MS. Le principe repose sur la mise en évidence de la disparition du pic correspondant à un antibiotique et de l'apparition d'un pic correspondant au(x) produit(s) d'hydrolyse de ce même antibiotique, après un contact de quelques heures de

la souche à tester avec une solution d'antibiotiques. Le délai est d'environ deux à trois heures, mais nécessite une mise au point précise et rigoureuse du test sur l'instrument (91).

1.5.4 Autres paramètres biologiques

La réalisation d'une numération de la formule sanguine (NFS), la mesure de la Protéine C réactive (CRP) plasmatique et de la procalcitonine (PCT) ne sont pas systématiquement recommandées. Elles peuvent être néanmoins utiles en cas de doute diagnostique. En effet, la CRP est le reflet de l'état inflammatoire du patient. Une PCT > 0,5 ng/mL est en faveur d'une infection bactérienne, et son taux augmente plus l'infection est grave (sepsis, sepsis sévère et choc septique) avec des taux qui atteignent en général plus de 10 ng/mL. A l'inverse, l'augmentation de la CRP n'est pas corrélée à la gravité de l'infection (92). De plus, la PCT est un marqueur pronostique de la sévérité des lésions rénales (93). Par ailleurs, une hyperleucocytose ou au contraire une leucopénie peuvent aider à apprécier la gravité de l'infection (94). Enfin, le débit de filtration glomérulaire (DFG), la créatininémie et l'urémie sont les reflets de la fonction rénale et donc d'une possible atteinte ou lésion rénale à l'origine de l'ITU.

Notons également que des hémocultures doivent être prélevées en présence de signes de gravité afin de déterminer si le patient est bactériémique ou non.

1.5.5 Approches syndromiques innovantes pour un diagnostic rapide

1.5.5.1 Approches syndromiques actuelles et leurs applications

L'arrivée sur le marché de tests « prêts à l'emploi » de PCR multiplexées (PCR-M) spécifiques, a permis d'obtenir des résultats d'identification et de sensibilité aux antibiotiques, le plus souvent directement à partir du prélèvement et ce en quelques heures. La PCR-M représente une approche syndromique, c'est à dire capable de rechercher simultanément et en un seul test l'ensemble des micro-organismes les plus fréquemment retrouvés comme cause d'un type précis d'infection. Il s'agit d'une technique de PCR permettant d'amplifier plusieurs amplicons simultanément, en utilisant un couple d'amorces par amplicon désiré. Cette technique repose notamment sur l'utilisation de sondes spécifiques (95). Ces méthodes permettent donc un délai de réponse nettement plus rapide des résultats microbiologiques que les méthodes de cultures conventionnelles. En effet, parmi les limites de la culture, il y a notamment le temps nécessaire pour obtenir des résultats (24 heures pour une identification et 48 heures pour un antibiogramme) ainsi que la nécessité d'avoir un inoculum bactérien au départ suffisamment important pour obtenir une croissance optimale sur les différents milieux de cultures. Ces nouvelles méthodes de diagnostic moléculaire paraissent donc être un atout indéniable pour permettre un diagnostic fiable en un minimum de temps et ainsi une prise en charge optimale

et plus rapide du patient. Si à l'origine, l'objectif était de dépister précocement les patients atteints de BMR ou de BHRe, aujourd'hui les panels sont de plus en plus larges, permettant de détecter de nombreux micro-organismes et/ou gènes de résistance.

Actuellement les systèmes commercialisés sont totalement automatisés, l'extraction et la PCR étant intégrées en un seul test. La technique et la lecture des résultats ne nécessitent pas de compétences particulières en biologie moléculaire pour la plupart des systèmes dits « *random-access* ». Les avantages majeurs de ces tests sont la facilité d'exécution et la rapidité de rendu du résultat permettant la mise en place d'une antibiothérapie ciblée précoce. Plusieurs panels syndromiques sont actuellement disponibles notamment pour les hémocultures, liquide céphalo-rachidien (LCR), prélèvements respiratoires, ostéo-articulaires ou selles. Les principaux panels actuellement commercialisés sont décrits dans le Tableau 4 (96).

Tableau 4 : Liste des principaux panels syndromiques commercialisés à ce jour

Système	Méthode	Panels	Cibles	Gènes de résistance	Délais de résultats
Filmarray® (Biofire) (97–100)	PCR multiplexée	Hémocultures LCR Respiratoire Selles	14 à 24 cibles (bactéries, virus et levures)	4 gènes	1h00
ePlex® (GenMark) (101,102)	Hybridation de l'ADN et détection électrochimique	Hémocultures Respiratoire En cours de développement : LCR, selles et hépatite C	25 à 58 cibles (bactéries, virus, levures)	10 gènes	1h30
GeneXpert® (Cepheid) (103–105)	RT-PCR	Hémocultures Respiratoire Selles Ecouvillons rectaux Infections ostéo- articulaires	SARM <i>Clostridioides difficile</i> (O27) <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	6 gènes	1h00
Verigene® (Luminex) (106–108)	Microarray	Hémocultures Respiratoire Selles	9 à 21 cibles (bactéries, virus, levures, toxines)	9 gènes	2h30
BD Max® (Becton Dickinson) (109–113)	RT-PCR	Respiratoire Selles Ecouvillons rectaux Ecouvillons nasals Prélèvement vaginal	SARM <i>C. difficile</i> Grippe A/B <i>Bordetella pertussis</i> et <i>parapertussis</i> 11 cibles entériques <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Trichomonas vaginalis</i>	8 gènes	2h
Novodiag® (Mobidiag)	Microarray et RT-PCR	Selles En cours de développement : LCR	<i>C. difficile</i> 16 bactéries entériques	Non détectés	1h

QIAstat-Dx - DiagCORE® (Qiagen)	RT-PCR	Selles	24 cibles entériques 22 cibles respiratoires	Non détectés	1h
		Respiratoire En cours de développement : LCR, hémocultures			
Allplex® (Seegene- Eurobio) (114,115)	PCR multiplexée	Selles	25 à 30 cibles	Non détectés	4 à 5h
		Respiratoire			
Unyvero® (Curetis) (116–119)	PCR multiplexée	Hémocultures	21 à 52 cibles (bactéries, levures, virus, toxines)	16 à 22 gènes	4 à 5h
		Respiratoire			
		Infections ostéo- articulaires			
		Infections intra- abdominales			
		Infections urinaires			

1.5.5.2 La PCR multiplexée Unyvero® UTI

Le système Unyvero® UTI est le seul système commercialisé à ce jour pour la détection des micro-organismes et gènes de résistances pouvant être impliqués dans les ITU. Il n'existe donc aucune technologie comparable à ce système à l'heure actuelle. Mon travail a porté sur l'évaluation de cette PCR-M.

1.5.5.2.1 Présentation de l'automate Unyvero®

L'automate Unyvero® du laboratoire Curetis® (Holzgerlingen, Allemagne) est constitué de trois modules distincts :

- Le module Lysator pour lyser les échantillons ;
- Le module Analyzer pour extraire, amplifier et détecter l'ADN ;
- Le module Cockpit, unité centrale constituant l'interface utilisateur.

La Figure 8 illustre les trois modules de l'automate.



Figure 8 : Présentation du système Unyvero. De gauche à droite : le Lysator, le Cockpit et l'Analyzer (photographie personnelle)

Le Lysator effectue la lyse de l'échantillon natif, et peut traiter jusqu'à 4 échantillons maximum en parallèle. La technologie brevetée pour la préparation d'échantillon Unyvero, qui combine différents produits chimiques, un actionnement mécanique novateur et la lyse thermique, permet de traiter une large variété d'échantillons complexes comme les expectorations, les lavages broncho-alvéolaires, les selles, les tissus mous, les hémocultures et les urines. Cette technologie garantit un haut rendement d'ADN après extraction mais nécessite trente minutes de lyse d'échantillon et n'est pas incluse dans le processus automatisé.

L'Analyzer assure le traitement automatique de la cassette Unyvero. Elle se compose d'éléments mécaniques, électroniques et optiques qui permettent de contrôler l'ensemble du traitement des échantillons et des étapes d'analyse. Deux emplacements de cassettes sont disponibles dans l'Analyzer, ce qui permet de traiter simultanément et indépendamment deux cassettes. Le système exécute automatiquement l'isolation et la purification de l'ADN ainsi que son amplification spécifique par PCR-M et sa détection par hybridation sur sonde. Il génère ensuite des informations sur les germes présents dans l'échantillon et les gènes de résistances associés en 4h30, sans aucune intervention de l'opérateur.

Le Cockpit permet de contrôler le Lysator et l'Analyzer. Il est équipé d'un écran tactile et d'un lecteur de codes-barres qui permet d'identifier et d'associer chaque échantillon testé à la cassette correspondante par leurs codes-barres respectifs. Ce système permet notamment une traçabilité complète, indispensable dans un contexte d'accréditation et d'assurance qualité des laboratoires. Il permet à l'utilisateur de visualiser les résultats en fin de réaction et comporte également un historique des tests précédemment effectués.

1.5.5.2.2 La cassette Unyvero® UTI Cartridge

La PCR-M se déroule dans une cassette UTI représentée par la Figure 9. Elle contient tous les réactifs nécessaires à l'analyse : des conteneurs de réactifs, une colonne de purification d'ADN, huit chambres de PCR indépendantes et le nombre correspondant de matrices, le tampon pour la purification de l'ADN, les réactifs et les primers associés à des marqueurs fluorescents pour l'amplification de la PCR, ainsi que des sondes pour l'hybridation de la matrice.



Figure 9 : Présentation de la cassette Unyvero® UTI Cartridge
A) photographie personnelle, B) photographie issue du site de Curetis

Un contrôle interne (un gène synthétique sans homologie significative à des séquences connues) s'exécute à l'intérieur de la cassette à chaque mesure afin de vérifier la purification de l'ADN, la PCR ainsi que l'hybridation de la matrice. Ce gène est amplifié dans chacune des huit chambres de PCR et hybridé sur chaque matrice.

La cassette Unyvero® UTI permet la détection de 88 pathogènes différents, et l'identification de l'espèce de 25 micro-organismes, décrits dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Liste des micro-organismes intégrés au panel du système Unyvero® UTI

Bactéries à Gram positif	Entérobactéries
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Citrobacter freundii / koseri</i>
SCN	<i>Klebsiella aerogenes</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	<i>Klebsiella varicola</i>
	<i>Proteus</i> spp.
	<i>Providencia</i> spp.
Bactéries à Gram négatif non fermentants	Bactéries anaérobies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacteroides</i> spp. / <i>Prevotella</i> spp.
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	
Champignons	Autre
<i>Candida</i> spp.	Bactéries universelles
<i>Candida albicans</i>	
<i>Candida auris</i>	
<i>Candida glabrata</i>	

Dans ce tableau, on peut noter la détection de deux entités particulières :

- L'entité « *Enterobacteriaceae* » : le système détecte la présence d'entérobactéries dans l'échantillon. Cette entité peut être associée à la détection en parallèle d'une entérobactérie du panel, ou au contraire d'une entérobactérie ne faisant pas partie du panel ;
- L'entité « Bactéries universelles » : le système détecte une séquence génétique procaryote. Par cette entité, il signale la présence d'un micro-organisme non inclus dans le panel.

Les gènes de résistances inclus dans le panel sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6: Liste des gènes de résistance intégrés au panel du système Unyvero® UTI

Possible résistance	Oxacilline	Glycopeptides	C3G	Carbapénèmes	Polymyxines	FQ	Sulfamides
Marqueur	<i>mecA</i>	<i>vanA</i> , <i>vanB</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	IMP, KPC, NDM, VIM, OXA-23, OXA-24/40, OXA-48	<i>mcr-1</i>	<i>qnrB</i>	<i>sul1</i>

Toutes les étapes de l'analyse, sauf la préparation de l'échantillon, sont réalisées à l'intérieur de la cassette. Ces étapes durent quatre heures au cours desquelles plusieurs processus vont se mettre en place.

L'extraction d'ADN se fait grâce à une colonne de purification en silice. L'ADN est absorbé spécifiquement sur la membrane de silice en présence de certains sels et à un pH particulier. Les contaminants cellulaires sont éliminés par les différentes étapes de lavage. L'ADN est finalement élué dans un tampon faible en sel ou tampon d'éluion.

L'amplification de l'ADN dans l'Unyvero® Cartridge se fait par une technique de PCR-M en point final. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une dénaturation par chauffage afin de séparer les deux brins qui le compose, une hybridation par les amorces spécifiques couplées à des marqueurs fluorescents aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation opérée grâce à l'ADN polymérase. Les huit chambres de PCR sont indépendantes les unes des autres pour des raisons techniques notamment de température, d'hybridation des couples d'amorces, de proximité des séquences nucléotidiques.

Tableau 7: Distribution des marqueurs génétiques selon la chambre de PCR dans l'Unyvero® UTI Cartridge

Chambre 1	Chambre 2	Chambre 3	Chambre 4
<i>Citrobacter freundii</i> / <i>koseri</i> <i>Enterobacter cloacae</i> complex <i>Escherichia coli</i> KPC VIM	Bactéries universelles <i>Bacteroides</i> spp. / <i>Prevotella</i> spp. <i>Candida auris</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida</i> spp.	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>mecA</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	SCN <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Providencia</i> spp. <i>sulI</i> <i>vanB</i>
Chambre 5	Chambre 6	Chambre 7	Chambre 8
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex <i>bla</i> _{CTX-M} <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>kpI</i> <i>Klebsiella varicola</i> OXA-23 OXA-24/40	<i>Candida albicans</i> <i>Enterococcus</i> spp. IMP <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>kpII</i> OXA-48	<i>bla</i> _{CTX-M} <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Proteus</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>mcr-I</i> NDM <i>qnrB</i> <i>qnrS</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>vanA</i>

L'hybridation de l'ADN se fait sur microassays ou puce à ADN. Cette cartouche contient 8 matrices à membrane indépendantes les unes des autres, chacune possédant quatre à six sondes. Ces matrices de faible densité permettent la détection finale de l'ADN grâce à une lecture optique des amplicons marqués par fluorescence. Une série d'images issues de l'hybridation est capturée par un appareil photo à fluorescence, puis est exploitée par le logiciel Unyvero.

Enfin, la semi-quantification de chaque germe retrouvé dans l'échantillon est évaluée par un système de croix (+, ++, ou +++).

La cassette est hermétiquement fermée, réduisant le risque de contamination et la fuite potentielle de l'échantillon urinaire. Elle est à usage unique et doit être jetée après utilisation. Sa taille n'est cependant pas négligeable et à prendre en compte en termes de stockage et de déchets générés.

1.5.5.2.3 Autres consommables

L'Unyvero Sample Tube est un petit tube contenant un tampon de lyse des bactéries dans lequel l'échantillon est introduit. Il est fermé hermétiquement puis introduit dans le Lysator pour l'étape de lyse.

L'Unyvero Master Mix Tube contient des réactifs permettant l'amplification de l'ADN. Il est stocké à -20°C, décongelé, puis introduit dans la cassette juste avant l'analyse.

1.5.5.2.4 Le rapport de résultats

Un rapport de résultat est édité par le Cockpit. La Figure 10 est un exemple de rapport que l'on peut obtenir.

Rapport de résultats

2018-02-23 18:33:10

ID du test: 1802_37
ID de l'échantillon: 21_0020
Date du test: 2018-02-23 18:32:56
Application: UTI
Indication: Urine
Type échant.: Milieu de jet
ID de la cassette: 92282
Utilisateur - début: caen

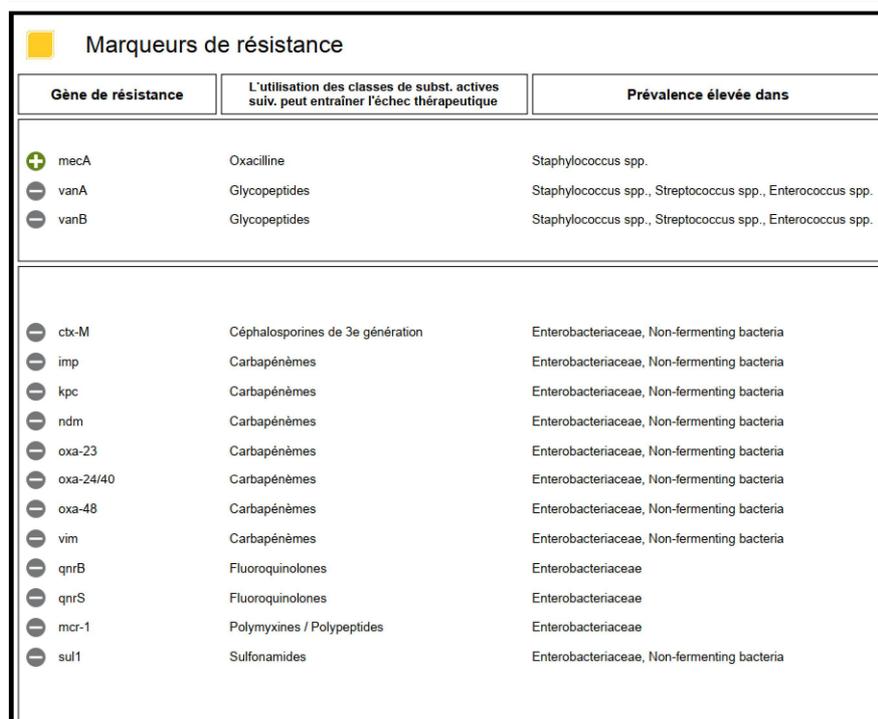
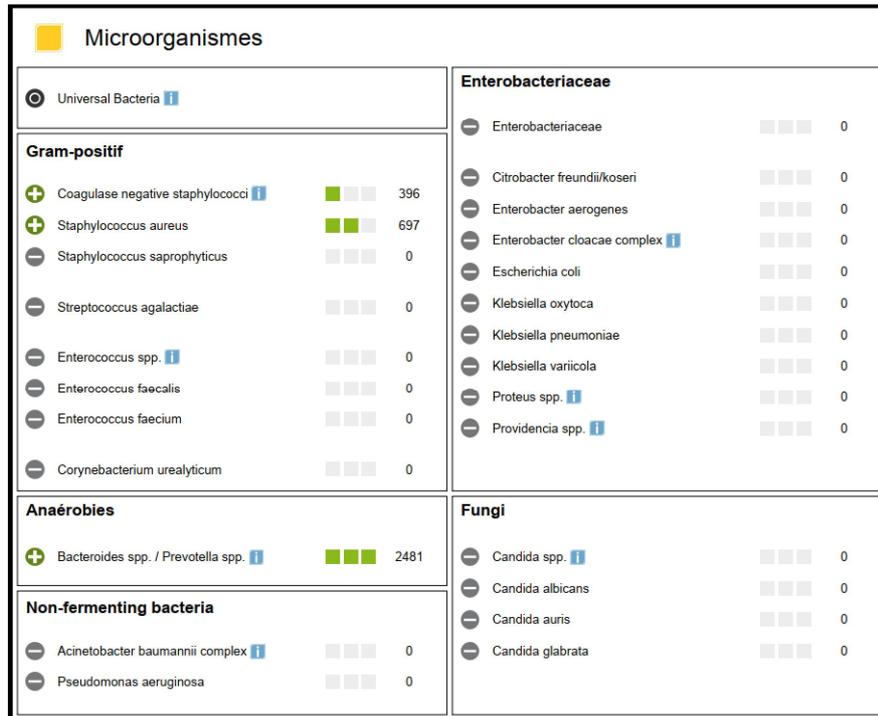


Figure 10 : Exemple de rapport de résultat

2 Matériels et méthodes

Le but de notre étude a été d'évaluer les performances de l'automate Unyvero[®] UTI pour le diagnostic des ITU graves et à risque de complication par rapport à la culture microbiologique conventionnelle. Cette étude a été menée au laboratoire de microbiologie du CHU de Caen entre le 1^{er} décembre 2017 et le 6 avril 2018. Il s'agit de la première étude d'évaluation de cet automate, en association avec les laboratoires de microbiologie du CHU de Rennes et de Mönchengladbach en Allemagne. Seuls les résultats de notre service ont été analysés dans ce travail de thèse pour des raisons pratiques de collection de données patients et de prélèvement (délais de rendu de résultats, services d'hospitalisation, paramètres biologiques associés...) afin de réaliser un travail le plus complet possible.

Un total de 113 prélèvements urinaires a été analysé dont 49 rétrospectivement et 64 prospectivement.

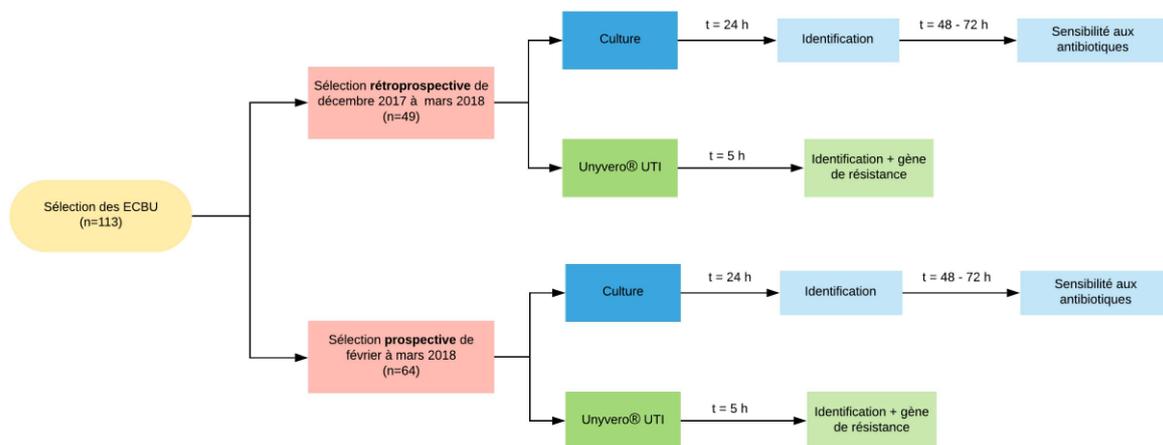


Figure 11 : Diagramme de flux de l'étude

2.1 Critères d'inclusion à l'étude

2.1.1 Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion des ECBU dans l'étude étaient les suivants :

- Prélèvement urinaire ;
- Prélèvement unique ;
- Prélèvement non centrifugé ou prétraité ;
- Volume de prélèvement d'au moins 1,2 millilitre ;
- Pour la partie rétrospective : Prélèvement congelé à -20°C dans les 24 heures suivant le recueil puis placé à 4°C avant l'analyse ;

- Pour la partie prospective : Prélèvement frais, stocké à 4°C, non congelé, et analysé dans les 24 heures suivant le recueil ;
- Culture positive pour inclure un échantillon de manière rétrospective ;
- Patient avec au moins un facteur de risque d'IUC selon les critères de la SPILF (cités au chapitre 1.2.1.2) ;
- Patient avec un critère de gravité (cités au chapitre 1.2.1.3).

2.1.2 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion des ECBU dans l'étude étaient les suivants :

- Prélèvement non unique ;
- Urines de 24 heures ;
- Échantillons pour lesquels l'analyse Unyvero[®] ne peut être effectuée dans les 24 heures suivant l'arrivée de l'échantillon au laboratoire ;
- Échantillons pour lesquels la durée de conservation a dépassé 24 heures à 4°C ;
- Volume de prélèvement inférieur à 1,2 millilitre ;
- Absence de renseignement clinique en faveur d'une ITU ;
- Absence de facteur de risque d'IUC ou de critère de gravité ;
- Prélèvements urinaires plurimicrobiens en rétrospectif (plus de deux espèces isolées en culture) ;
- Bactéries isolées non intégrées dans le panel Unyvero[®], en rétrospectif.

2.1.3 Aspect éthique

Chaque patient a été informé par lettre postale de son inclusion dans cette étude avec la possibilité de s'y opposer. Aucune opposition n'a cependant été enregistrée.

2.2 Recueil des données clinico-biologiques

Pour tout patient inclus dans l'étude, plusieurs informations ont été collectées. En premier lieu, les données démographiques telles que le sexe, l'âge, et le type de service d'hospitalisation. En deuxième lieu, les données cliniques telles que :

- Les facteurs de risque d'IUC ou les critères de gravité ;
- Les facteurs de risque d'ITU à E-BLSE, rétrospectivement, chez les patients pour lesquelles la culture retrouvait une E-BLSE ;
- Un diabète non insulino-dépendant ;
- Un antécédent d'ITU ou un terrain d'ITU à répétition ;
- La considération par le service des résultats de l'ECBU au sein de l'histoire clinique du patient (colonisation, cystite, pyélonéphrite, IUM, sepsis).

La colonisation est définie par une contamination vaginale, par la présence d'au moins trois types de germes, ou encore lorsque le service n'a pas considéré qu'il s'agissait d'une infection, suite à un avis infectieux ou sans justification.

L'origine de l'infection était également relevée. On distingue :

- Infection communautaire : Infection présente chez un individu avant son admission dans un établissement de soins et qui peut être la cause de cette admission ;
- Infection nosocomiale, ou associée aux soins : Infection contractée dans les 48 heures suivant l'hospitalisation du patient ;
- Infection nosocomiale du patient non hospitalisé : Infection nosocomiale du patient séjournant dans un établissement de soins hors centres hospitaliers (EHPAD, établissements de soins de suite et de réadaptation (SSR)...))

Ces informations ont été collectées grâce au logiciel informatique d'aide à la prescription du CHU de Caen, REFERENCE[®], dans lequel sont regroupés toutes les observations médicales des patients.

Les résultats de l'ECBU ont été également consignés :

- Origine de l'urine ;
- Numération leucocytaire ;
- Résultats de l'examen direct ;
- Résultats de la culture : Numération bactérienne, prélèvement monomicrobien ou polymicrobien, identification du ou des micro-organismes(s), phénotype de résistance.

Les patients devaient avoir au moins un FDR d'IUC ou d'ITU grave pour être inclus dans l'étude. Par ailleurs, les urines testées de manière rétrospective ont également été sélectionnées en fonction des germes retrouvés en culture, afin de pouvoir tester la plus grande variété de germes possible compris dans le panel mais également afin d'éviter les prélèvements stériles ou les contaminations vaginales.

De plus, la date et l'heure de prélèvement, de l'ensemencement, de la validation biologique de l'identification du pathogène et éventuellement du phénotype de résistance ont été recueillies afin d'établir les différents délais de rendu de résultats.

Enfin, les résultats des paramètres biologiques associés à l'ECBU, du jour même idéalement ou de la veille, ont été collectés afin d'avoir une vision globale de l'état de la fonction rénale et l'état inflammatoire et/ou infectieux des patients :

- CRP ;
- PCT ;
- DFG ;
- Créatininémie ;
- Urémie ;
- NFS : taux de leucocytes, et notamment de polynucléaires neutrophiles (PNN).

Le système inter-laboratoires du CHU de Caen, TDNexLabs® de la société Technidata®, nous a permis de collecter tous ces paramètres biologiques.

2.3 Prise en charge des échantillons

La culture microbiologique conventionnelle est la méthode de référence de cette étude.

2.3.1 Culture microbiologique

La prise en charge des ECBU est décrite dans la Figure 12. Elle peut comprendre de nombreuses étapes, sur plusieurs jours, avant validation biologique du résultat.

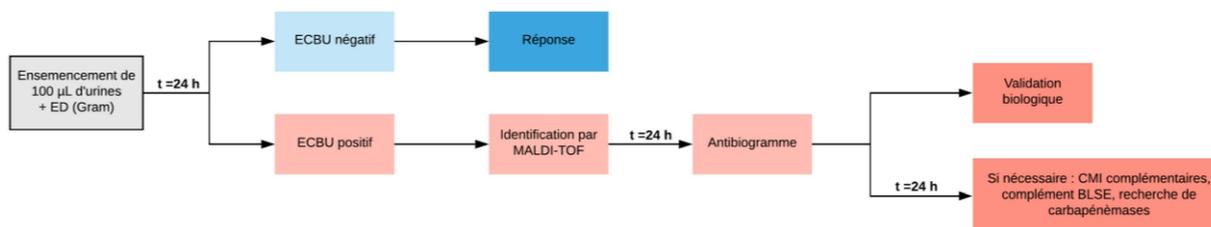


Figure 12 : Chronologie de réponse des ECBU par la méthode microbiologique standard (cultures)

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par dilution en milieu liquide, en utilisant l'automate VITEK® 2. Il existe certains cas de figures pour lesquels la dilution en milieu solide est préférée à la dilution en milieu liquide. En effet, le VITEK® 2 ne permet pas une bonne détermination de la sensibilité des bactéries potentiellement multirésistantes, sur certaines molécules, notamment le céfépime, et peut donc conduire à une erreur de rendu du phénotype de résistance (120,121).

Il s'agit des micro-organismes suivants :

- Entérobactéries du groupe 3 ;
- *P. aeruginosa* ;
- Uropathogènes émergents (*Aerococcus sanguinicola*, *Aerococcus urinae*, *Actinotignum schaalii*) ;
- SARM ;
- Tout autres cas pour lesquels le VITEK[®] 2 fournit un phénotype de résistance douteux.

2.3.2 Unyvero

En parallèle de la culture, les urines étaient analysées par le système Unyvero[®] UTI. Pour ce faire, 180 µL de prélèvement sont transférés dans l'Unyvero Sample Tube, lequel est ensuite fermé hermétiquement et introduit dans le Lysator pour l'étape de lyse qui dure environ trente minutes. Un écran sur le Lysator permet d'indiquer le temps de lyse restant.

En parallèle, l'Unyvero Master Mix, stocké à -20°C, est décongelé à température ambiante pendant au moins trente minutes.

Il faut ensuite, à partir du Cockpit, créer le nouveau test et scanner les codes-barres correspondants au numéro de l'étude de l'échantillon et de la cassette.

Quand la lyse de l'échantillon est terminée, enlever l'Unyvero Sample Tube du Lysator, et l'insérer dans la cassette, avec l'Unyvero Master Mix, comme indiqué sur la Figure 13. Enfin, insérer la cassette dans l'Analyzer et lancer l'analyse.

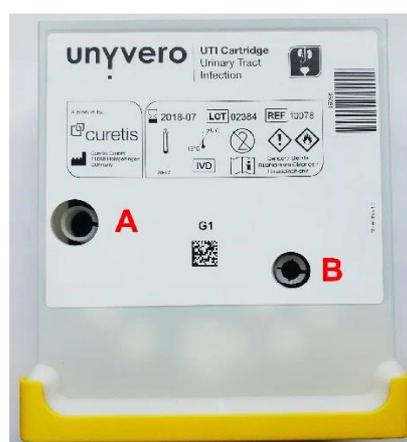


Figure 13 : Zones d'insertion de l'Unyvero Sample Tube (A) et du Master Mix (B) dans la cassette (photographie personnelle)

Il est conseillé de ne pas dépasser 60 minutes de délai entre la fin de l'étape de lyse et le début de l'analyse. La durée de l'analyse est d'environ 4,5 heures et il est possible de suivre le temps

d'analyse restant puis de consulter le résultat à la fin de l'analyse sur l'écran du Cockpit. Les étapes de l'analyse sont résumées sur la Figure 14.

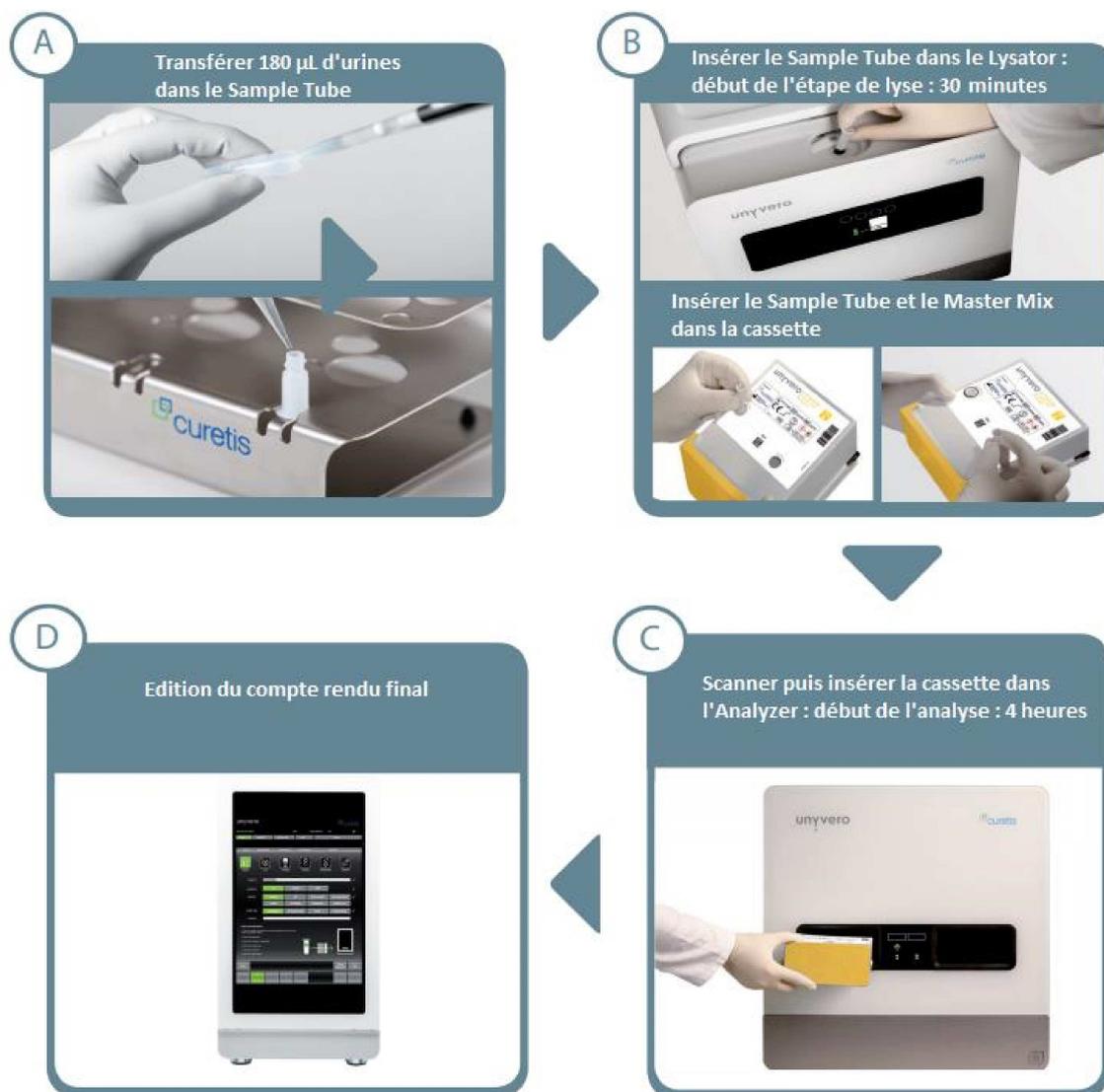


Figure 14 : Chronologie des différentes étapes avant analyse par l'Unyvero® UTI (adaptée de la brochure Unyvero® UTI disponible sur www.curetis.com)

Le volume restant de chaque échantillon est réparti équitablement en deux aliquots puis stocké à -20°C :

- Un aliquot est envoyé à Curetis® pour une nouvelle analyse en cas de discordance ;
- Un aliquot est conservé par notre laboratoire afin de constituer le soucier de l'étude.

Chaque urine n'est analysée qu'une seule fois par l'Unyvero® UTI. Dans le cas où une erreur technique se produit (dans notre cas, quand une chambre de la cassette n'était pas fonctionnelle), Curetis® analyse de nouveau l'échantillon à partir d'aliquots des échantillons conservés à -20°C que nous leur transmettons au fur et à mesure de l'étude.

2.4 Interprétation des résultats

Tout d'abord, les données démographiques, les facteurs de risque, le diagnostic retenu et les différents résultats biochimiques et hémato-cytologiques de la population d'étude seront exposés.

Puis les résultats des cultures et de l'Unyvero seront présentés et comparés. Les critères de concordance sont :

- Concordance d'identification lorsque le micro-organisme identifié par le système Unyvero[®] est identique à celui isolé en culture, au moins au genre ou au groupe de bactéries si tel est le cas (*SCN*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Providencia* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Candida* spp.) ;
- Concordance phénotypique et génotypique lorsque les marqueurs de résistance identifiés par l'Unyvero[®] correspondent aux résistances retrouvées par les méthodes conventionnelles (VITEK[®] 2 ou la diffusion en milieu gélosé).

Pour finir, les délais de rendu de résultats, de l'enregistrement au laboratoire à la validation biologique, seront détaillés.

2.4.1 Analyse statistique

Les différentes analyses statistiques et les graphiques ont été effectués en utilisant les logiciels Excel[®] et R (GNU Public Licence[®]).

3 Résultats

3.1 Données démographiques

La population d'étude était majoritairement féminine (n=66, 58 %) avec un sex-ratio femme/homme à 1,4. L'âge moyen des patients était de 61,8 ans, avec une médiane à 67 ans et toutes les tranches d'âges étaient représentées, avec des patients âgés de 45 jours à 99 ans. Parmi les patients inclus, 30,7 % (n=35) étaient âgés de 75 ans ou plus. La Figure 15 représente la répartition des genres masculin et féminin de la population d'étude en fonction de l'âge. On peut notamment remarquer que jusqu'à 50 ans, il s'agissait d'une population plutôt féminine, avec un pic autour de la vingtaine. Après cet âge, les ITU sont plus nombreuses et les deux sexes sont autant représentés, avec un second pic observé chez les femmes de 90 ans.

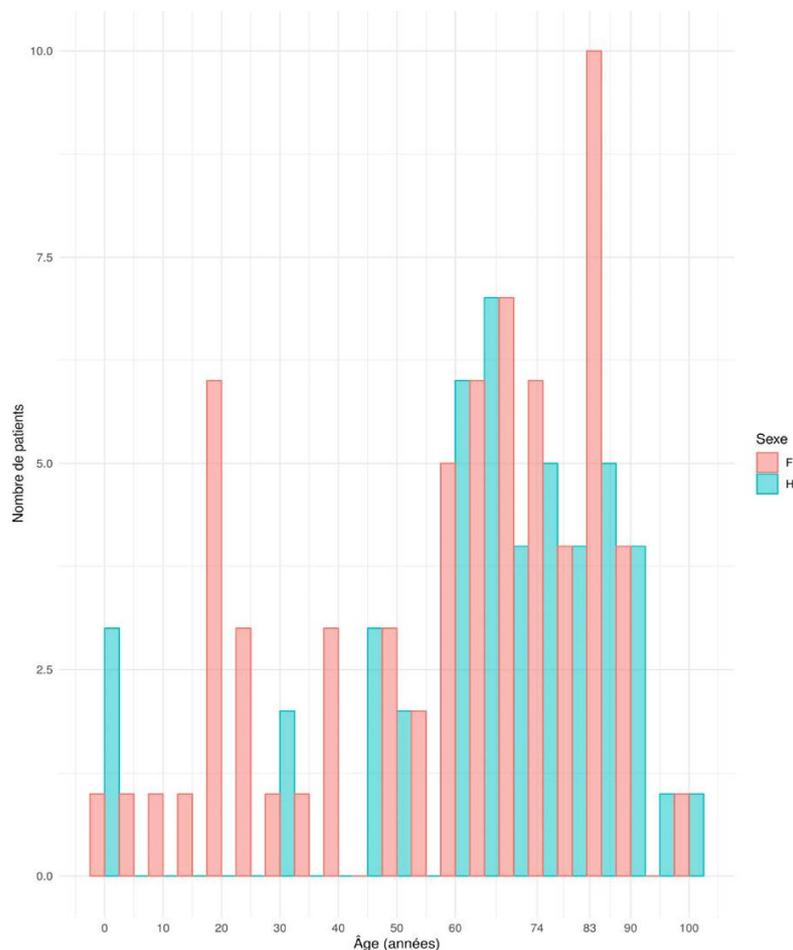


Figure 15 : Répartition du genre de la population d'étude en fonction de l'âge.

Les prélèvements étaient envoyés depuis les services de médecine majoritairement (n=49, 43,4 %), puis des services des urgences adultes ou pédiatriques (n=35, 31,0 %), les services de chirurgie (n=20, 17,7 %) et les services de réanimation (n=9, 7,9 %).

3.2 Clinique et facteurs de risque

Les patients inclus devaient avoir au moins un FDR ou présenter une ITU grave pour être inclus dans l'étude. Ainsi, sur la population d'étude, 55 patients présentaient un FDR, 38 patients présentaient deux FDR et 10 patients présentaient au moins trois FDR.

Les quatre FDR les plus représentés étaient le patient âgé « fragile » (n=41, 36,3 %), l'immunodépression (n=37, 32,7 %), le sondage urinaire (n=30, 26,5 %), et la présence d'une uropathie (n=28, 24,8 %). La Figure 16 représente la proportion de chaque FDR.

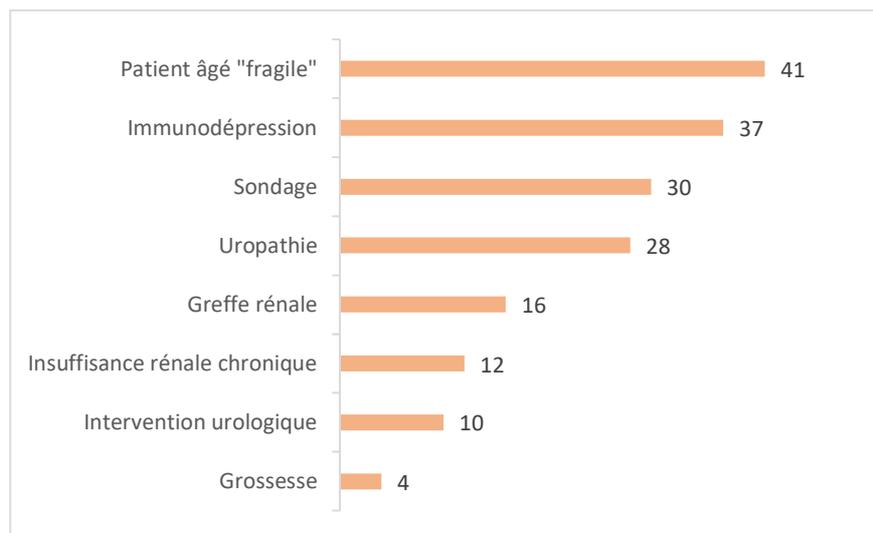


Figure 16 : Représentation de chaque facteur de risque dans la population d'étude.

Parmi les 17 patients infectés par une E-BLSE, seule une patiente ne présentait pas de FDR d'E-BLSE. Sept patients avaient des antécédents d'ITU à E-BLSE dans les six mois précédents (41,2 %), six patients avaient été hospitalisés dans les trois mois précédents (35,3 %), cinq patients avaient été traités par AMC, C2G, C3G, ou FQ (29,4 %) et deux patients vivaient en institution (EHPAD) (11,8 %).

De plus, on peut noter que 27,2 % (n=31) des patients inclus étaient sujets à des ITU à répétition, 12,3 % (n=14) étaient diabétiques non insulino-dépendants, et 7,9 % (n=9) étaient en insuffisance rénale aiguë conjointement à l'épisode d'ITU. Enfin, 13,8 % (n=11) des patients présentaient un sepsis à point de départ urinaire, représentant donc une ITU grave.

Le diagnostic retenu était une IUM pour 38 patients (33,6 %), une cystite pour 28 patientes (24,9 %), une PNA pour 25 patientes (22,1 %), et une ITU grave avec sepsis à point de départ urinaire pour 11 patients (13,8 %). A noter que 18 patients ont été considérés comme colonisés (15,9 %) et 4 patients n'étaient pas infectés (3,5 %).

Le Tableau 8 résume les principales caractéristiques démographiques et les facteurs de risque de la population d'étude.

Tableau 8 : Caractéristiques démographiques et cliniques de la population d'étude en nombre de patients et en (%) de la population totale

Âge médian (minimum – maximum) en années	67 (0 - 99)
Sexe	
Féminin	66 (58,4)
Masculin	47 (41,6)
Spécialité d'admission	
Médecine	49 (43,4)
Urgences	35 (31,0)
Chirurgie	20 (17,7)
Réanimation	9 (7,9)
Diagnostic retenu	
Infections urinaires masculines	38 (33,6)
Cystite	28 (24,9)
Pyélonéphrite aiguë	25 (22,1)
Colonisation	18 (15,9)
Pas d'infection urinaire (culture négative)	4 (3,5)
Dont sepsis	11 (13,8)
Origine de l'infection	
Communautaire	49 (53,8)
Nosocomiale	37 (40,7)
Nosocomiale non hospitalisé	5 (5,5)
Facteurs de risque	
Patient âgé « fragile »	41 (36,3)
Immunodépression	37 (32,7)
Sondage	30 (26,5)
Uropathie	28 (24,8)
Grefe rénale	16 (14,2)
Insuffisance rénale chronique	12 (10,6)
Geste urologique	10 (8,8)
Grossesse	4 (3,5)

3.3 Résultats biologiques

3.3.1 Données biochimiques et hématologiques des patients

La population de l'étude avait en moyenne une CRP très augmentée à 111,4 mg/L. La PCT était également élevée, en moyenne à 2,5 ng/mL, bien que l'effectif soit seulement de 7 patients. Par ailleurs, les patients avaient une leucocytose moyenne de 11,56 G/L et une neutrophilie moyenne de 9,2 G/L. Concernant l'état de la fonction rénale, on pouvait noter une hyperurémie et une hypercréatininémie moyennes de 13 mmol/L et de 151,9 mmol/L respectivement. De plus, le DFG moyen associé était plutôt bas, à 61,9 mL/min/1,73m². L'ensemble de ces données est résumé dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Données biochimiques et cytologiques d'intérêt de la population d'étude

Paramètre (unité)	Valeurs normales	Valeur moyenne (min – max)		Effectif
CRP (mg/L)	0 – 6 ^(a)	111,4	(<3 – 350)	73
PCT (ng/mL)	< 0,5 ^(b)	2,5	(0,16 – 6,74)	7
DFG (mL/min/1,73m ²)	≥ 90 ^(c)	61,9	(3 – 147)	93
Créatininémie (µmol/L)	40 – 110 ^(a)	151,9	(11 – 1212)	98
Urémie (mmol/L)	2,5 – 6,6 ^(a)	13,0	(2 – 58,2)	98
Leucocytes (G/L)	4 – 10,5 ^(a)	11,56	(0,28 – 33,36)	101
PNN (G/L)	1,8 – 8 ^(a)	9,2	(1,47 – 27,53)	99

Références :

^(a) : Valeurs normales internes aux laboratoires de biochimie et d'hématologie du CHU de Caen ;

^(b) : Venet et al.(92) ;

^(c) : Levey et al.(122).

3.3.2 Microbiologie : résultats des ECBU

Les urines recueillies étaient pour la majorité d'origine mictionnelle (n=78, 69 %). Vingt et un patients (18,6 %) étaient porteurs d'une sonde urinaire. De plus, on dénombre 14 urines de typologie particulière (12,4 %), notamment des urines pyéliquies, urines de néphrostomie ou des urines de sonde urétérale.

La numération leucocytaire fût effectuée sur toutes les urines, hors urines sur sonde. Elle était significative pour 108 dossiers, soit 95,6 %. Pour ces derniers, un examen direct a été réalisé et 81,4 % mettaient en évidence des bactéries ou des levures.

Concernant les résultats des ECBU, la plupart étaient monomicrobiens (65,1 %, n=71). Un total de 125 micro-organismes a été mis en évidence. Quinze prélèvements n'étaient pas exploitables : quatre prélèvements étaient stériles, quatre prélèvements étaient contaminés par

la flore vaginale, et sept prélèvements présentaient au moins trois types de micro-organismes. De plus, la culture était significative (bactériurie ou levururie positive) dans 96 % des cas (n=120).

Le Tableau 10 résume les principales caractéristiques microbiologiques des ECBU inclus dans l'étude.

Tableau 10 : Caractéristiques microbiologiques des échantillons urinaires en nombre d'ECBU et en (%)

Origine des urines	
Urines mictionnelles	78 (69,0)
Urines sur sonde	21 (18,6)
Autres origines ^a	14 (12,4)
Leucocyturie significative^b	108 (95,6)
Nombre d' ECBU à culture significative^c	120 (96)
Moyenne de bactériurie ou levururie	10 ⁵
Prélèvement mono ou polymicrobien	
Monomicrobien	71 (65,1)
Polymicrobien	38 (34,9)

^a : Autres origines : Urines pyéliquies, urines de néphrostomie, urine d'urétérostomie, urine urétérale, urine sur cathéter sus-pubien, urine de déviation urinaire externe de type Bricker.

^b : Le seuil de leucocyturie significative est supérieur ou égal 10⁴ leucocytes/mm³ (76)

^c : Bactériuries et levururies supérieures ou égales aux seuils de significativité définis par la SPILF en fonction du micro-organisme et du sexe (3)

3.3.2.1 Identification

La proportion de chaque micro-organisme retrouvé en culture est représentée dans la Figure 17. A noter qu'aucun « uropathogène émergent » n'a été isolé en culture malgré une population d'étude plutôt âgée.

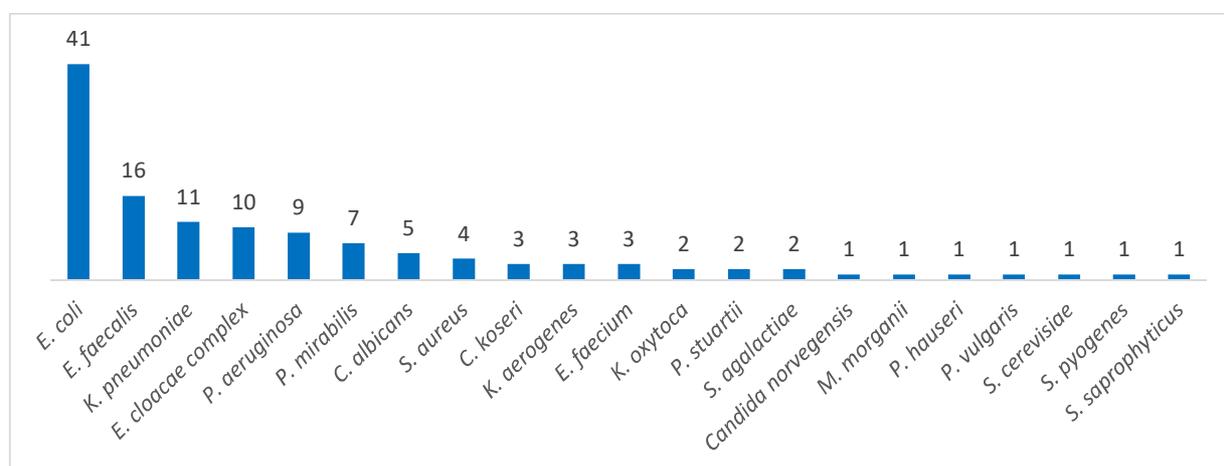


Figure 17: Proportion de micro-organisme retrouvés en culture

Concernant l'épidémiologie de notre étude, afin d'obtenir des données les plus justes possibles, nous ne pouvions l'analyser qu'à partir des données prospectives, compte tenu de la sélection qui a été faite sur les urines rétrospectives. La Figure 18 représente l'épidémiologie de la partie prospective de l'étude, soit 64 urines.

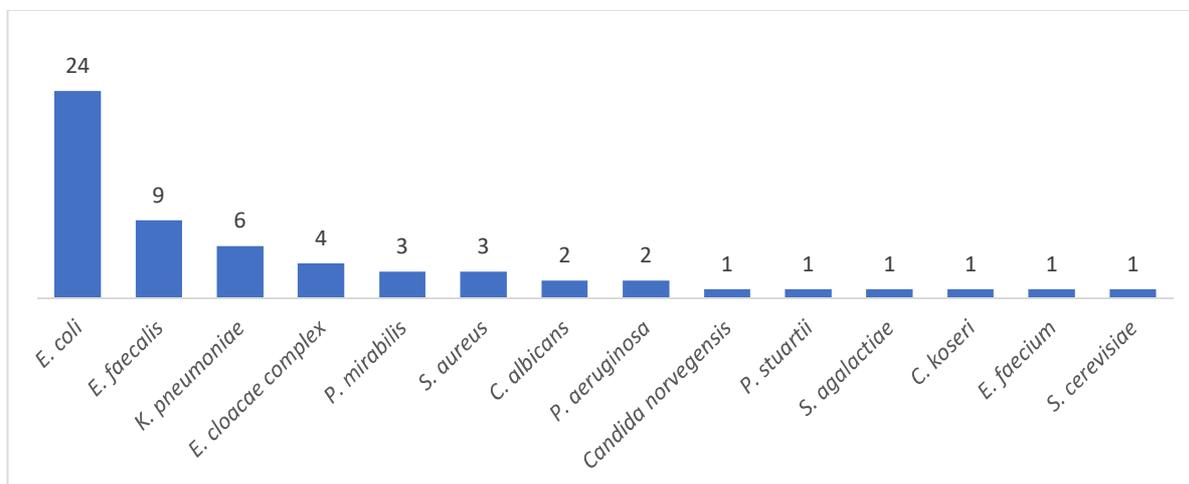


Figure 18 : Epidémiologie de l'étude (partie prospective)

Parmi ces données, il y avait 35 micro-organismes isolés de cultures d'infections communautaires, représentés à 60 % par *E. coli* (n=24) puis *E. faecalis* à 25,7 % (n=9). De même pour les 24 micro-organismes liés à des infections nosocomiales, on retrouvait tout d'abord *K. pneumoniae* (n=4), puis *E. coli*, *E. faecalis* et *S. aureus* (n=3). Les autres prélèvements ont été considérés comme des colonisations (n=16) ou étaient stériles (n=4). L'épidémiologie des ITU des patients âgés de 65 ans ou plus de notre étude était également marquée par la présence majoritaire de *E. coli* à 38,7 % (n=12), suivie par *E. faecalis* (n=5) puis *S. aureus* (n=3). L'ensemble de ces données est représenté dans la Figure 19.

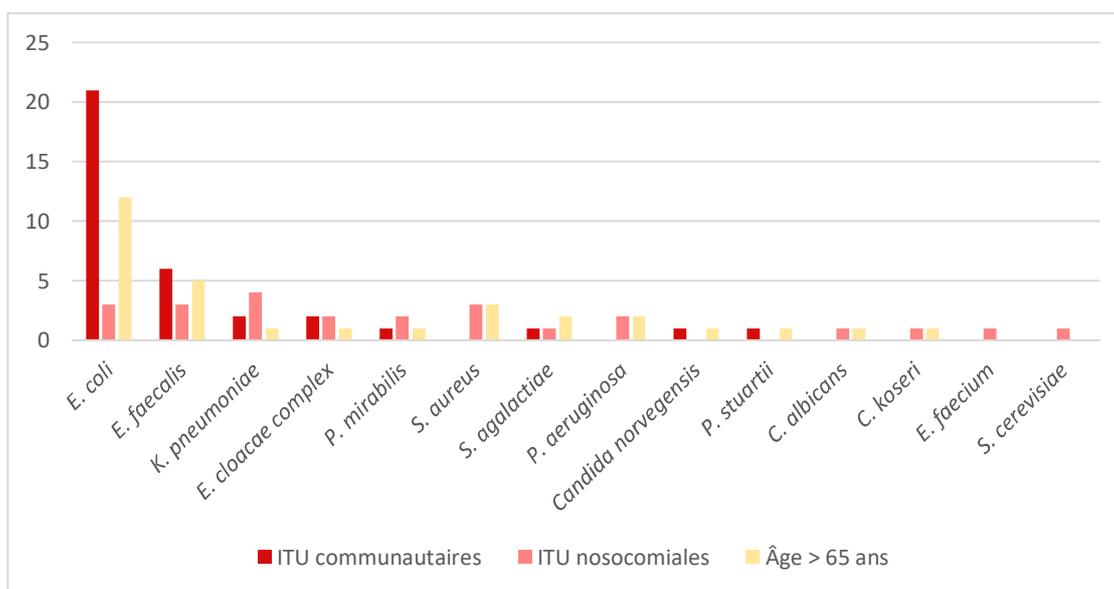


Figure 19 : Epidémiologie de l'étude selon l'origine de l'infection et chez les patients âgés de plus de 65 ans

3.3.2.2 Phénotype de résistance

Soixante-dix-neuf résistances phénotypiques ont été signalées sur 43 prélèvements, soit 38,1 % des échantillons. Les résistances retrouvées en culture sont représentées dans la Figure 20, et étaient principalement des résistances au cotrimoxazole (39,2 %, n=31), aux fluoroquinolones (34,2 %, n=27) et des E-BLSE (22,8 %, n=18). La culture retrouvait également deux SARM et une souche de *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase de type OXA-48.

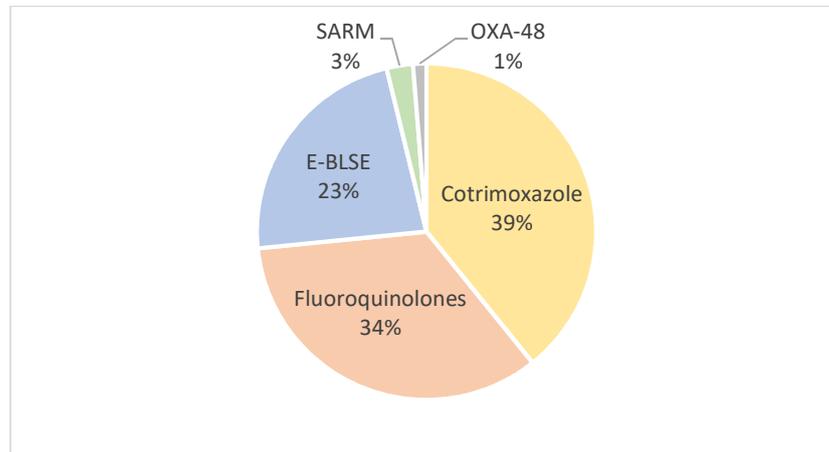


Figure 20 : Résistances retrouvées en culture

Les E-BLSE étaient représentées pour la plupart par *E. coli* (44,4 %, n=8), puis *K. pneumoniae* (27,8 %, n=5), *E. cloacae complex* (22,2 %, n=4) et *K. aerogenes* (5,6 %, n=1). A noter que 19,5 % (n=8) de la population des *E. coli* de notre étude possédaient un phénotype de résistance de type BLSE. Cette proportion s'élevait à 45,5 % des isolats de *K. pneumoniae*.

3.3.3 Résultats de l'Unyvero® UTI

3.3.3.1 Identification

Un total de 243 micro-organismes a été mis en évidence par le système Unyvero® UTI, soit presque le double de la culture classique. Les échantillons monomicrobiens représentaient 23,5 % des urines testées. La présence de chaque micro-organisme était semi-quantifiée, telle que 101 micro-organismes avaient trois croix de semi-quantification, 56 avaient deux croix et 86 avaient une croix. La proportion semi-quantitative de chaque micro-organisme est représentée sur la Figure 21.

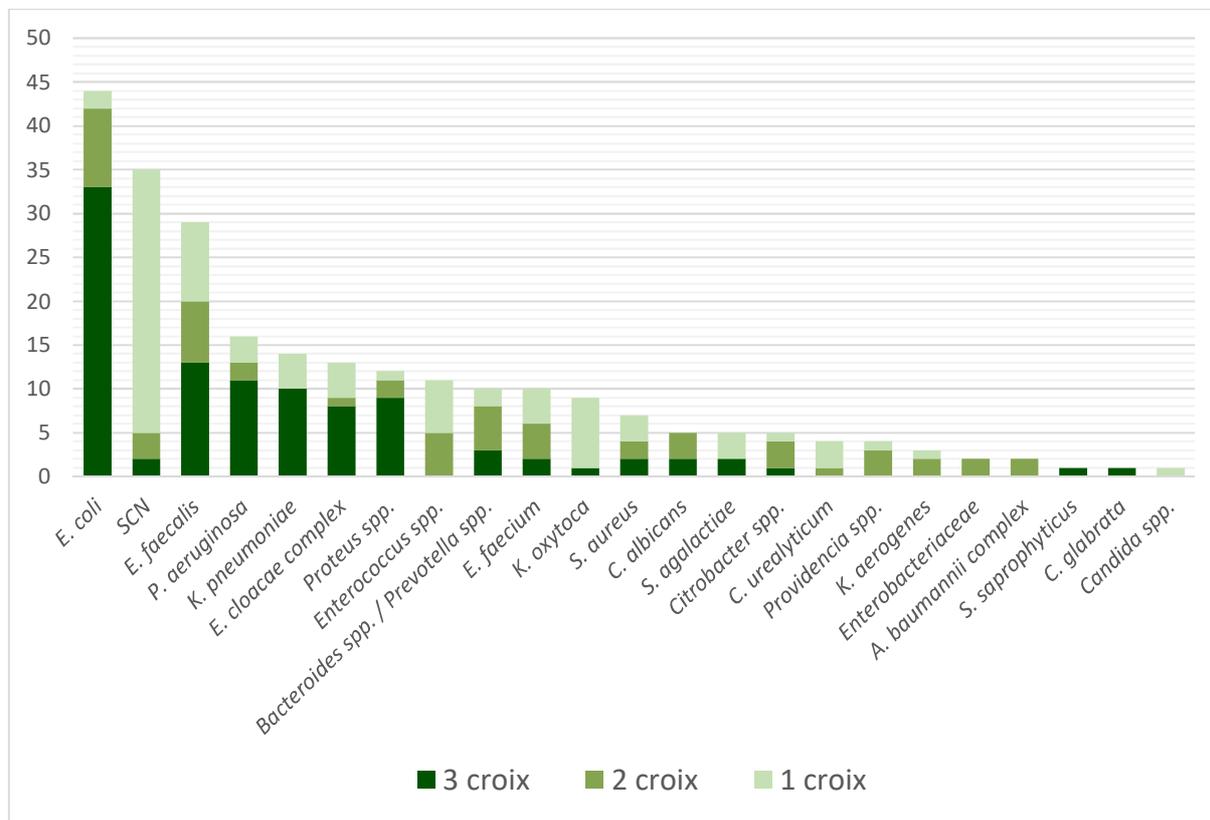


Figure 21 : Proportion de chaque micro-organisme dans le système de semi-quantification de l'Unyvero® UTI

Trois micro-organismes ou plus ont été détectés sur 40 échantillons, quel que soit la semi-quantification (40,8 %). Ce nombre était réduit à 18 échantillons (18,4 %) si l'on prend uniquement en considération les micro-organismes détectés à deux ou trois croix de semi-quantification. Par ailleurs, le nombre maximal de micro-organismes détecté sur un même échantillon était de neuf.

A noter également que deux urines ont été rendues stériles. De plus, sur l'ensemble des urines testées, quatre chambres de PCR n'ont pas fonctionné, ce qui représente 3,5 % des échantillons.

3.3.3.2 Gènes de résistances

Soixante-treize gènes de résistance ont été détectés par le système Unyvero® UTI sur 52 échantillons (46,0 %). Les gènes les plus fréquemment rencontrés étaient le gène *mecA* pour 36 % des cas (n=26), principalement associé à des SCN (n=19) ainsi qu'à quatre *S. aureus*, mais également dans quatre prélèvements sans aucun staphylocoque associé détecté. Le gène *bla_{CTX-M}* représentait 25 % (n=18) des résistances détectées, parmi lesquelles on retrouvait dix *E. coli*, neuf *K. pneumoniae*, trois *K. oxytoca* et *E. cloacae* complex, et un *Citrobacter* spp., *K. aerogenes* et *Proteus* spp. (six prélèvements détectaient deux entérobactéries différentes). A noter que le gène *bla_{CTX-M}* a également été retrouvé sans détection parallèle d'une entérobactérie pour un prélèvement.

Les gènes les plus fréquemment détectés ensuite étaient les gènes *sul1* et *qnrB* ou *qnrS* dans 19 % (n=14) et 18 % (n=13) des cas respectivement.

De plus, deux carbapénèmases ont été détectées : une carbapénémase de type OXA-23 d'un *P. mirabilis* et une carbapénémase de type OXA-48 d'une *K. pneumoniae*. Les proportions de chaque gène de résistance sont représentées dans la Figure 22.

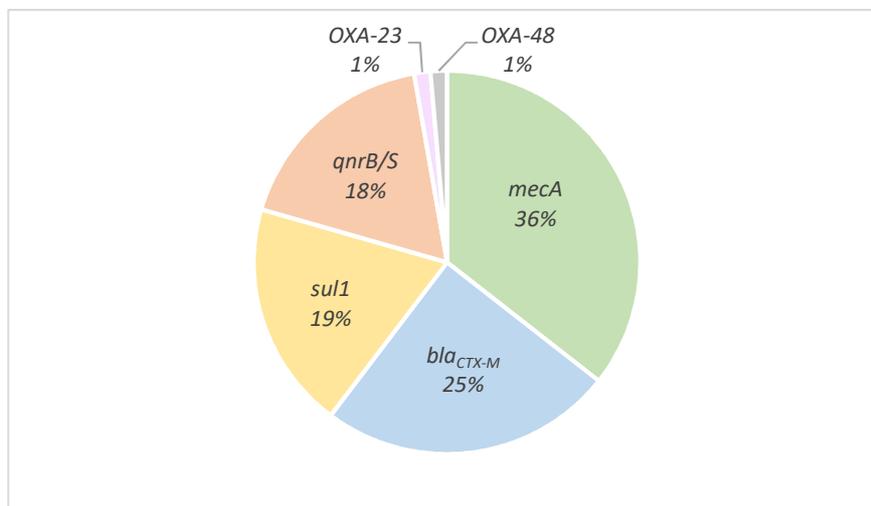


Figure 22 : Gènes de résistance détectés par l'Unyvero® UTI

3.3.4 Concordance des résultats entre la culture et le système Unyvero® UTI

La comparaison des résultats entre la culture et le système Unyvero® a été effectuée à partir des prélèvements positifs en culture uniquement (n=98). N'étaient donc pas comparables, les prélèvements stériles, les prélèvements avec au moins trois types de colonies isolées, ou les contaminations vaginales. De même, les résultats ne pouvaient être comparés que si les micro-organismes et les résistances isolés en culture étaient inclus dans le panel de la cartouche UTI.

3.3.4.1 Concordance d'identification

Les proportions des différents micro-organismes isolés en culture et détectés par l'Unyvero® UTI sont représentées sur la Figure 23.

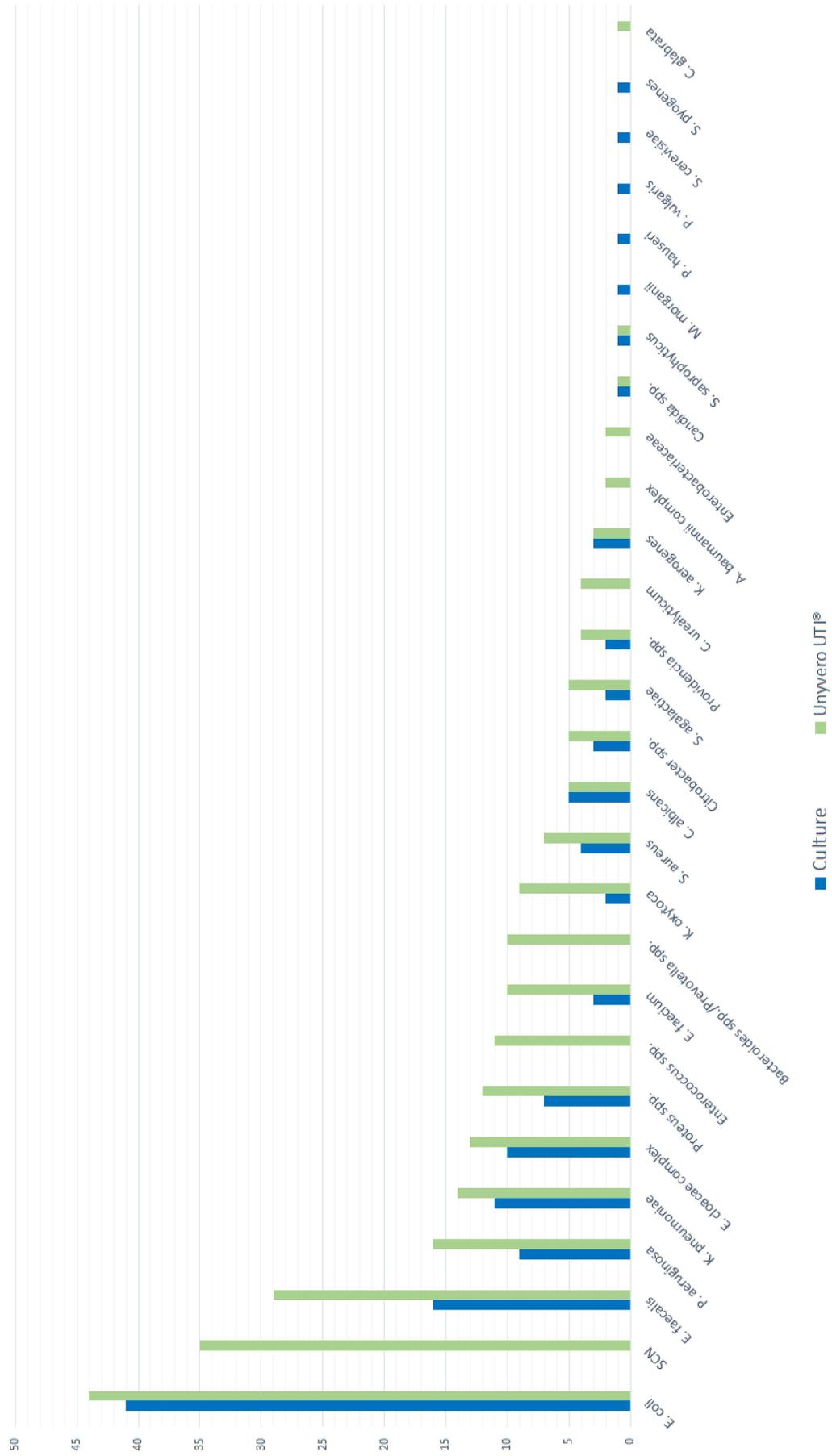


Figure 23 : Comparaison des proportions de micro-organismes isolés en culture et détectés par l'Uryvero® UTI

Parmi les micro-organismes isolés en culture, quatre ne font pas partie du panel de l'Unyvero[®] UTI et n'ont donc pas pu être détectés par ce dernier : *Morganella morganii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus pyogenes* et *Candida norvegensis*. A noter qu'ils étaient systématiquement associés à un autre micro-organisme considéré comme pathogène. Les micro-organismes isolés en culture étaient retrouvés par l'Unyvero[®] UTI dans 98,0 % des échantillons urinaires (n=96). Les deux résultats discordants, exposés dans le Tableau 11, concernaient une culture à *K. oxytoca* et à *K. aerogenes*.

Tableau 11 : Faux négatifs concernant l'identification des micro-organismes

Numéro d'étude	Micro-organismes (culture)	Micro-organismes (Unyvero [®] UTI)
21_0006	<i>K. oxytoca</i>	SCN (1+) <i>E. cloacae complex</i> (1+)
21_0040	<i>K. aerogenes</i>	<i>E. faecalis</i> (2+) SCN (1+)

A noter que sur les quatre échantillons stériles en culture, deux l'étaient également selon le système Unyvero[®] UTI. Cependant, pour les deux autres échantillons, le système détectait la présence de *Bacteroides* spp. / *Prevotella* spp. à 2 croix ou de SCN à 1 croix. De plus, les échantillons monomicrobiens étaient majoritaires en culture puisqu'ils représentaient 65,1 % des échantillons, alors qu'ils étaient minoritaires avec l'Unyvero[®] UTI (23,5 %).

Nous nous sommes également intéressés à la concordance « stricte » entre les deux méthodes, c'est-à-dire sans aucun micro-organisme supplémentaire retrouvé en PCR. Dans ce cadre, la concordance diminue à 41,6 %. De même, si on s'intéresse uniquement aux micro-organismes à deux ou trois croix de quantification de PCR, la concordance s'élève à 60,5 %.

De plus, 48 micro-organismes détectés par l'Unyvero[®] UTI en 2 à 3 croix de quantification de PCR n'ont pas été retrouvés en culture. La Figure 24 illustre cette population. Parmi eux, on compte notamment huit micro-organismes anaérobies (*Bacteroides* spp. / *Prevotella* spp.), six *E. faecalis* et cinq *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp. et SCN.

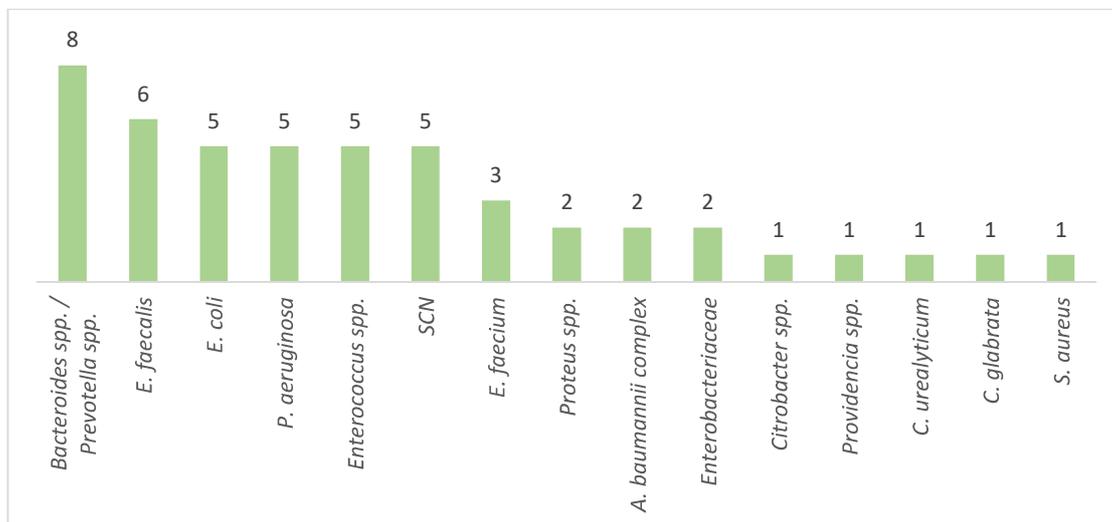


Figure 24 : Micro-organismes détectés par l'Unyvero UTI® à 2 ou 3 croix de quantification, non isolés en culture

Afin d'avoir une idée de la concordance entre la semi-quantification de l'Unyvero® UTI et la bactériurie retrouvée en culture, nous avons pris l'exemple de *E. coli*, qui est l'espèce majoritairement rencontrée dans notre étude et dans les données épidémiologiques actuelles. La Figure 25 en est la représentation.

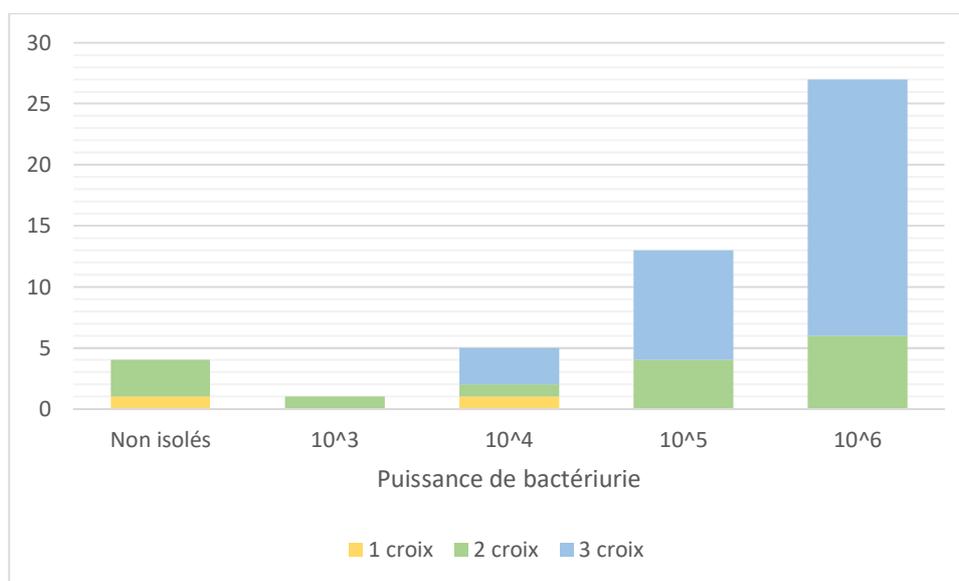


Figure 25 : Relation entre le nombre de croix de semi-quantification (Unyvero® UTI) et la bactériurie (culture) pour *E. coli*

Les performances globales de l'Unyvero® UTI pour chaque micro-organisme sont détaillées dans le Tableau 12. On note une sensibilité à 68,7 %, une spécificité à 98,3 %, une VPP à 50,0 %, et une VPN à 99,9 %.

Tableau 12 : Performances globales de l'Unyvero® UTI avec la culture comme méthode de référence.

Micro-organismes	Nombre	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
<i>E. coli</i>	44	100	98,4	93,2	100
SCN	35	0	98,5	0	100
<i>E. faecalis</i>	29	100	93,9	55,2	100
<i>P. aeruginosa</i>	16	100	97,0	56,3	100
<i>K. pneumoniae</i>	14	100	98,6	78,6	100
<i>E. cloacae complex</i>	13	100	98,2	71,4	100
<i>Proteus spp.</i>	12	100	98,6	75,0	100
<i>Bacteroides spp. / Prevotella spp.</i>	10	0	95,6	0	100
<i>E. faecium</i>	10	100	96,9	30,0	100
<i>K. oxytoca</i>	9	50	96,5	11,1	99,6
<i>S. aureus</i>	7	57,1	99,6	80,0	98,7
<i>C. albicans</i>	5	100	100	100	100
<i>S. agalactiae</i>	5	100	98,7	40,0	100
<i>Citrobacter spp.</i>	5	100	99,1	60,0	100
<i>C. urealyticum</i>	4	0	98,3	0	100
<i>Providencia spp.</i>	4	100	99,1	50,0	100
<i>K. aerogenes</i>	3	66,7	100	100	99,6
<i>A. baumannii</i>	2	0	99,1	0	100
<i>S. saprophyticus</i>	1	100	100	100	100
<i>C. glabrata</i>	1	0	99,6	0	100
Performances globales		68,7	98,3	50,0	99,9

Note : Apparaissent en rouge les taux inférieurs à 90 %.

3.3.4.2 Concordance de sensibilité

Le taux de concordance stricte de sensibilité aux antibiotiques entre la culture et l'Unyvero® UTI s'élève à 42,5 %. Par ailleurs, les souches sauvages isolées en culture l'étaient également avec l'Unyvero® UTI dans 88,6 % des cas. Parmi les discordances rencontrées, on peut noter, en culture, 17 résistances aux FQ, 19 résistances au cotrimoxazole et une E-BLSE non retrouvées par l'Unyvero® UTI. A l'inverse, l'Unyvero® UTI a détecté en excès par rapport à la culture trois gènes *mecA* sans staphylocoque associé, ni en culture, ni détecté par l'Unyvero® UTI, six gènes *sull* sans résistance au cotrimoxazole en culture ainsi qu'un gène *qnrS* sans

résistance aux fluoroquinolones en culture. Les principales discordances notables sont exposées dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Discordances de résistance notables entre la méthode de référence (culture) et l'Unyvero® UTI

Numéro d'étude	Identifications (culture)	Identifications (Unyvero® UTI)	Résistance (culture)	Résistance (Unyvero® UTI)
21_0005	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i> (1+)	BLSE , FQ, SXT	<i>qnrB</i> (FQ)
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> (1+)		
21_0015	<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus</i> spp. (3+)	SXT	OXA-23
21_0079	<i>C. albicans</i>	Enterobacteriaceae (2+)	Non pratiqué	bla_{CTX-M} (BLSE)
		SCN (2+)		qnrB (FQ)
21_0096	<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus</i> spp. (3+)	Aucune	mecA
		S. aureus (2+)		

Les performances de l'Unyvero® UTI concernant les quatre principaux gènes de résistance retrouvés dans notre étude sont exposés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Performances de l'Unyvero® UTI concernant les principales résistances rencontrées dans l'étude

Résistance	Nombre d'isolats (culture)	Gène de résistance	Nombre de détections (Unyvero®)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
E-BLSE	18	<i>bla_{CTX-M}</i>	18	94,4	98,2	94,4	98,2
Méticilline	2	<i>mecA</i>	23	100	70,4	8,7	100
- <i>S. aureus</i>	2		4	100	97,2	50	100
- SCN	0		19	100	55,9	0	100
Fluoroquinolones	27	<i>qnrB/S</i>	12	37,0	95,7	83,3	72,1
Cotrimoxazole	31	<i>sulI</i>	21	61,3	78,6	57,1	63,4

Concernant les E-BLSE, les pourcentages de performances avoisinent les 95 %. Les deux SARM retrouvés en culture étaient correctement détectés en PCR. Cependant, de nombreux SCN non isolés en culture (n=35) ; pour lesquels plus de la moitié (54,3 %, n=19) portaient le gène *mecA*, étaient détectés par l'Unyvero® UTI. De ce fait, les performances globales concernant la résistance à la méticilline sont impactées, avec une spécificité à 74,6 % et une VPP à 10,0 %. Les performances concernant la détection d'une résistance aux FQ sont variables, d'une sensibilité à 37 %, à une spécificité à 95,7 %. Il en est de même pour la résistance au cotrimoxazole, avec des performances allant de 57,1 % pour la VPP à 78,6 % pour

la spécificité. De plus, la culture d'un échantillon de l'étude isolait une *K. pneumoniae* avec une carbapénémase de type OXA-48, bien détectée par l'Unyvero[®] UTI.

3.3.4.3 Délais de rendu de résultats

Avec la culture microbiologique conventionnelle, le délai moyen de rendu de l'identification était d'environ 37 heures, et celui de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de 71 heures. Par comparaison, le délai moyen de rendu de l'Unyvero[®] UTI était de 21 heures environ.

Les différents délais entre l'ECBU et l'Unyvero[®] UTI sont représentés sur la Figure 26.

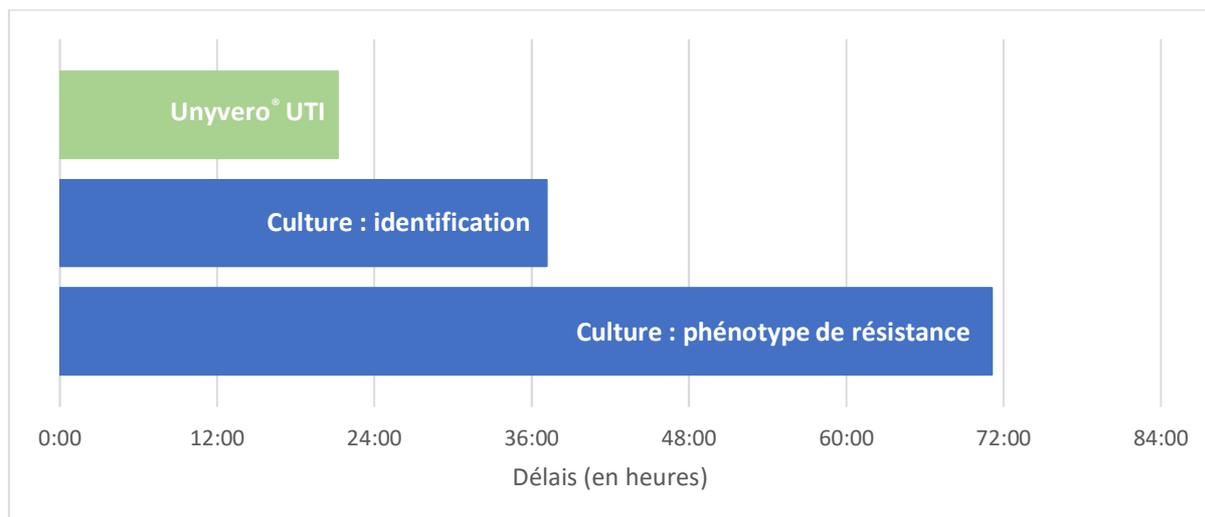


Figure 26 : Délais de rendu de résultats des différentes méthodes

4 Discussion

Les ITU chez les patients à risque de complication et les ITU graves sont un vrai challenge pour les cliniciens car elles nécessitent une antibiothérapie adaptée et précoce dans un très grand nombre de cas. A ce jour, le diagnostic des ITU est basé sur l'ECBU avec un examen direct aux performances limitées et une mise en culture dont le délai de rendu de résultats est en général de 24 heures pour l'identification du germe et de 48 heures, voire plus, pour sa sensibilité aux antibiotiques. Le système Unyvero[®] est un automate de PCR-M dédié à l'approche syndromique dont le kit UTI permet en moins de 5 heures d'identifier 25 micro-organismes et de détecter 15 gènes de résistance. Le but de cette étude a été d'évaluer pour la première fois les performances de ce kit pour le diagnostic rapide des ITU et comparer les données obtenues avec les « standards of care ».

4.1 Epidémiologie de l'étude et intérêt de l'ECBU

La population de l'étude était semblable à celle décrite dans l'épidémiologie des infections urinaires, c'est-à-dire une majorité de femmes, en particulier avant l'âge de 60 ans (28,32). Dans notre étude, les IUM étaient relativement rares avant 60 ans, comme c'est le cas pour l'épidémiologie actuelle des IUM, puis le sex-ratio se rapprochaient de 1 après cet âge (34). Cependant, une majorité de patients avaient plus de 60 ans, car la plupart d'entre eux avaient un FDR d'ITU lié à l'âge (« patients âgés fragiles »). De plus, les différentes valeurs des analyses biochimiques et hémato-cytologiques relevées étaient compatibles avec les variations attendues lors du processus d'inflammation rencontré lors d'ITU et/ou d'atteinte rénale pouvant être à l'origine de l'ITU. De même, les caractéristiques cytologiques des ECBU étaient également fortement évocatrices d'une ITU. En effet, la leucocyturie était significative dans plus de 95 % des cas et 96 % des ECBU avaient une culture avec un seuil de bactériurie significatif.

L'ECBU s'avère donc être un examen indispensable, avec des résultats de cytologie urinaire disponibles rapidement après réception du prélèvement grâce aux automates de cytologie urinaire. Il semble judicieux de le compléter par des analyses complémentaires biochimiques et hémato-cytologiques, dans le but d'apprécier au mieux et le plus tôt possible, la probabilité d'une ITU et sa sévérité, en regard de l'examen clinique.

En ce qui concerne l'épidémiologie microbienne, bien que le nombre de patients inclus de manière prospective soit faible, les chiffres se rapprochent des données épidémiologiques évoquées au chapitre 1.4.2 (25,40). Concernant l'épidémiologie des ITU communautaires, *E. coli* était la bactérie majoritaire avec un taux de 60 %. Nous n'avons pas retrouvé de *S. saprophyticus*, ce qui peut s'expliquer à la fois par le nombre insuffisant d'urines testées en

prospectif et par la population d'étude plutôt âgée, alors qu'il est nettement décrit que ce germe est un pathogène urinaire retrouvé principalement chez le sujet jeune et de sexe féminin. Par ailleurs, l'épidémiologie des ITU nosocomiales n'était pas comparable à l'épidémiologie des ITU communautaires, avec un taux de *E. coli*, relativement proche de ceux de *K. pneumoniae*, *S. aureus*, ou *E. faecalis* (25). Chez les patients âgés de 65 ans ou plus, *E. coli* était majoritaire dans 38,7 % des cas, chiffre qui se rapproche des données nationales (environ 50 % des cas) (33,42). Notons que les bactéries *S. aureus* et *P. aeruginosa* n'ont été retrouvées que dans un contexte d'ITU nosocomiale, chez des patients âgés de 65 ans ou plus, ce qui est également rencontré dans la littérature (25,42).

Concernant le diagnostic retenu, il y avait davantage d'IUM que de cystites ou de PNA. Cependant, quelques prélèvements ont été classés comme « colonisations », souvent davantage par manque d'informations sur leur prise en considération des cliniciens dans les comptes rendus cliniques auxquels nous avons accès, que par réelles colonisations documentées.

4.2 Le kit Unyvero[®] UTI, un système complet et rapide aux performances mitigées

L'Unyvero[®] UTI semble posséder de nombreux atouts dans le diagnostic rapide des ITU. Tout d'abord, son délai de rendu de résultat est bien plus rapide que celui de la culture. En effet, le résultat est obtenu en moins de cinq heures lorsque la prise en charge de l'échantillon est immédiate. Dans notre étude, le délai moyen s'établit à 21 heures, en raison d'une prise en charge différée des échantillons, sélectionnés une fois par jour. Toutefois, par rapport à la culture conventionnelle, le kit Unyvero[®] UTI a permis un gain de temps dans le délai de rendu des résultats d'environ 16 heures pour l'identification du micro-organisme et 50 heures pour le profil de résistance. En outre, la durée de l'analyse étant fixe, environ quatre heures quel que soit l'échantillon, elle permet un délai de rendu de résultats constant, contrairement à la culture conventionnelle. Ainsi, il est aisé de programmer la fin de l'analyse, donc le rendu de résultat dans sa globalité. En effet, avec la culture, ce délai peut être allongé de 24 heures si l'ECBU nécessite des analyses complémentaires, telles que la recherche d'une BLSE ou d'une carbapénèmase ou la détermination de CMI. C'est pourquoi, les délais de rendu des phénotypes de résistance complets atteignent en moyenne presque trois jours. De ce point de vue, l'utilisation d'une PCR-M entraîne un gain de temps considérable en termes de rendu de résultats et de prise en charge thérapeutique des ITU avec une antibiothérapie précoce et adaptée.

De plus, le système est excellent pour détecter des micro-organismes retrouvés en culture (n=96, 98 %). Seulement deux faux négatifs ont été rencontrés, dont l'un était lié à une chambre

de PCR non fonctionnelle, la chambre 7, qui comportait dans son panel la bactérie isolée en culture (*K. oxytoca*). La seconde erreur, une *K. aerogenes* isolée en culture et non détectée par l'Unyvero[®] UTI, n'a cependant pas d'explication liée à un problème technique. Toutefois, il est important de souligner ici que les erreurs techniques liées à une chambre de PCR non fonctionnelle représentent une part non négligeable de 3,5 % des échantillons, problématique technique non transposable à la culture conventionnelle.

Ces données très satisfaisantes sont à contrebalancer avec la mise en parallèle de la concordance stricte entre les deux méthodes d'identification, qui montre une concordance globale de seulement 41,6 %, et de 60,5 % pour les micro-organismes détectés à deux ou trois croix de PCR. En effet, l'Unyvero[®] UTI détecte presque le double de micro-organismes par rapport à la culture, et pour plus de 40 % des échantillons, il y a au moins trois micro-organismes détectés, lorsque la culture n'en détecte qu'un ou deux en parallèle. Or, on considère qu'un ECBU avec au moins trois types de micro-organismes est probablement lié à une contamination car les infections plurimicrobiennes sont rares. Si l'on suit donc ce schéma avec les résultats de l'Unyvero[®] UTI, plus de 40 % des échantillons seraient rendus contaminés, ce qui peut être problématique. Ces identifications supplémentaires doivent donc être impérativement interprétées par l'œil expert du biologiste concernant la pathogénicité potentielle de ces micro-organismes, et donc l'intérêt de leur prise en compte dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique.

Pour exemple, cinq SCN ont été détectés à deux ou trois croix de PCR-M, ce qui apparait, à première vue, à prendre en compte en raison de la semi-quantification élevée. Cependant, seuls deux types de SCN semblent avoir un rôle pathogène dans les ITU : *S. saprophyticus*, détecté à part dans le panel et *S. epidermidis*. En effet, *S. saprophyticus* se distingue des autres SCN grâce à une hémagglutinine et des protéines fibrillaires à sa surface qui joueraient le rôle d'adhésine, lui permettant de s'attacher sur l'épithélium des voies urinaires, et une production d'uréase qui serait un facteur d'invasion avec un tropisme pour les tissus de la vessie (123,124). Ses facteurs de virulences expliquent donc son pouvoir pathogène important par rapport aux autres SCN. Le second SCN pouvant être impliqué dans de rares cas d'ITU est *S. epidermidis*, lors d'ITU nosocomiales de patients sondés (123). Cependant, dans notre étude, ces cinq SCN ont été détectés sur des urines mictionnelles simples (patients non sondés), et l'origine de l'infection était communautaire dans la moitié des cas. De plus, ces deux types de SCN font partie de la flore inguinale et périnéale, dont *S. epidermidis* est le pathogène prédominant, ils peuvent donc être à l'origine de nombreuses colonisations (123). Le biologiste doit donc s'assurer de la pertinence des nombreux SCN qui s'affichent sur le rapport de l'Unyvero[®] UTI,

en prenant connaissance du dossier clinique du patient et doit être capable de savoir distinguer colonisation de réelle ITU.

De même, dix *Bacteroides* spp. / *Prevotella* spp. ont été détectés par l'Unyvero[®] UTI et non isolés en culture, dont huit à deux ou trois croix de semi-quantification. Faute de géloses incubées en atmosphère anaérobie (sauf pour une urine pyélique parmi ces dix prélèvements), ces bactéries anaérobies n'ont pas pu être isolées. En effet, il s'agit de bactéries difficiles à isoler du fait de leur type respiratoire particulier et le souvent non recherchées en premier screening. Dans un article de 2004, ML Wilson *et al.*, ont considéré que la recherche de bactéries anaérobies par culture n'a aucune pertinence clinique pour la plupart des patients atteints d'une ITU puisqu'elles n'en provoquent que dans de rares circonstances. En effet, les bactéries anaérobies étant les composants prédominants de la flore fécale, de la peau et du vagin, il n'est pas étonnant de les rencontrer dans les prélèvements urinaires. Selon eux, ces cultures doivent être limitées aux patients présentant des anomalies anatomiques qui augmentent le risque d'infection par les bactéries anaérobies (26). D'autres études ont précisé que le seul prélèvement pertinent en cas de suspicion d'ITU à bactéries anaérobies est le prélèvement d'urines par cathétérisme sus-pubien, la culture des autres types de prélèvements urinaires ne permettant pas de distinguer une infection d'une contamination. En outre, les auteurs recommandent de faire des cultures anaérobies pour les cas symptomatiques où les cultures aérobies sont stériles et où l'examen direct par coloration de Gram est positif à bactéries (125,126).

L'un des points forts de l'étude est qu'un large panel de micro-organismes isolés en culture a été testé, ce qui nous a permis d'être assez exhaustifs. On remarque tout d'abord que lorsqu'un pathogène est isolé en culture, il est bien détecté par la PCR-M. De plus, si l'on prend la culture comme référence, les performances globales de l'Unyvero[®] UTI de spécificité et de VPN pour l'identification des pathogènes sont excellentes. En effet, les probabilités sont très fortes, d'une part, que le patient n'ait pas d'infection au micro-organisme recherché lorsque le test par PCR-M est négatif (99,9 %), et d'autre part, que le test par PCR-M soit négatif si le patient n'a pas d'infection au micro-organisme recherché (98,3 %). Toutefois, les performances concernant la sensibilité (68,7 %) et surtout la VPP (50 %) sont insuffisantes. La probabilité que le test par PCR-M soit positif chez un patient non infecté est donc forte. De même, parmi les patients ayant un test positif, une partie seulement d'entre eux auront vraiment une ITU. Presque tous les micro-organismes testés sont concernés par une sensibilité et/ou une VPP inférieure ou égale à 80 %, sauf pour *E. coli* et *C. albicans*, pour lesquels le test paraît très fidèle. En conclusion, l'Unyvero[®] UTI est donc très fiable pour exclure la présence d'un micro-organisme donné dans un ECBU, mais à l'inverse, il ne permet pas d'affirmer sa présence réelle au sein de

l'échantillon. Par conséquent, il est donc fortement risqué de rendre un résultat de l'Unyvero[®] UTI sans confirmation par la culture. De plus, il n'y a pas d'intérêt à avoir un test avec une bonne spécificité et une bonne VPN si la sensibilité et la VPP sont mauvaises.

En outre, le panel des micro-organismes inclus dans la cassette présente certaines lacunes avec des micro-organismes non détectés, comme c'était le cas dans notre étude avec *M. morgani* et *S. pyogenes*. C'est également le cas d'autres bactéries, telles que *Serratia marcescens* ou encore les uropathogènes émergents (*Aerococcus sanguinicola*, *Aerococcus urinae*, *Actinotignum schaalii*) entre autres.

Par ailleurs, le système de semi-quantification semble être plutôt bien corrélé à la bactériurie : plus la bactériurie est élevée, plus la semi-quantification est importante. Pour exemple, lorsque *E. coli* fut détecté à trois croix de semi-quantification, il était systématiquement isolé à 10^4 UFC/mL *a minima*. On considère donc que la VPP à trois croix de semi-quantification est très bonne. Cependant, le système paraît beaucoup moins fiable à deux croix de semi-quantification, car on retrouve aussi bien des isolats à 10^6 UFC/mL que des cultures négatives. Bien que seulement deux *E. coli* aient été identifiés à une croix de bactériurie (un isolat à 10^4 UFC/mL et une culture négative), de nombreux SCN étaient dans ce cas (85,7 %) et nous n'avons isolé aucun SCN au seuil de bactériurie significative en culture. La semi-quantification à une croix pourrait donc permettre d'exclure ces micro-organismes de la prise en considération clinico-biologique.

Concernant les phénotypes de résistance, la culture retrouvait 23 % de E-BLSE, ce qui est bien plus élevé que le taux national (6,1 %) retrouvé en 2011 par l'ECDC (48). Cela peut s'expliquer par le fait qu'une grande majorité des 17 patients infectés par une E-BLSE (82,4 %, n=14) avaient un FDR d'ITU à E-BLSE. Notre étude retrouve notamment 19,5 % de souches *E. coli* productrices de BLSE, taux largement supérieur à celui rapporté dans l'étude menée par Martin *et al.* (49), où elles représentaient 3,3 % des souches urinaires communautaires en France.. L'épidémiologie des E-BLSE est cependant comparable à l'épidémiologie nationale avec 44,4 % de *E. coli* (contre 57,7 % en France), 27,8 % de *K. pneumoniae* (25 %) puis, de manière surprenante, un taux important de *E. cloacae* à 22,2 % (11,1 %) (6).

Tous les gènes de résistance inclus dans le panel de l'Unyvero[®] UTI n'ont pas été testés, mais les plus fréquents d'entre eux ont été détectés à de multiples reprises (*bla_{CTX-M}*, *qnrB / qnrS*, *mecA*, *sulI*), ce qui nous a permis d'établir les performances du test les concernant. Une des principales résistances rencontrées en culture est la résistance aux fluoroquinolones, dans 34 % des cas. Néanmoins, l'Unyvero[®] UTI ne la signale que pour 18 % des souches. Les performances concernant la résistance aux FQ sont donc impactées : si elles sont bonnes pour

la spécificité et la VPN, elles le sont néanmoins beaucoup moins pour la VPP et surtout pour la sensibilité. Cela peut s'expliquer par le fait que l'Unyvero[®] UTI ne détecte que la résistance codée par les gènes *qnrB* ou *qnrS*, mécanisme de résistance aux fluoroquinolones minoritaire par rapport à la mutation de cible notamment liée aux mutations ponctuelles dans la région QRDR de l'ADN gyrase, plus prévalente (58,59). Le système ne détecte pas non plus la résistance enzymatique de type AAC(6')-Ib-cr, ni l'efflux via l'acquisition du gène *qepA*. C'est le cas également de la résistance aux sulfamides, qui représente 39 % des souches en culture, contre 19 % selon l'Unyvero[®] UTI, qui ne détecte que la résistance liée au gène *sul1*, mais pas les variants *sul2* ni *sul3*. Dans ce cas, les performances de l'Unyvero[®] UTI sont mauvaises avec des pourcentages allant de 57,1 % de VPP à 78,6 % de spécificité. Ce « trou » dans le panel du système entraîne donc une interprétation faussée des résultats, avec une sensibilité erronée aux FQ et au cotrimoxazole. Cette information apparaît comme très contraignante car les FQ sont très largement utilisées dans le traitement des ITU, notamment des PNA, IUM et ITU à E-BLSE ou à SARM. Le biologiste doit donc s'assurer qu'il n'y ait pas d'autres mécanismes de résistance à ces molécules en cause lorsqu'il prend connaissance des résultats exposés par l'Unyvero[®] UTI. Par conséquent, il faut revenir à des méthodes de détection phénotypiques plus conventionnelles, telles que la culture, qui allonge le délai de rendu de résultats de 24 heures supplémentaires au minimum, et donc réduit l'intérêt de l'utilisation du système Unyvero[®] UTI.

A l'inverse, la PCR-M a détecté un nombre très important de souches productrices de PLP2a codée par le gène *mecA*, donc méticillino-résistantes (36 %, n=26), lorsque la culture n'en retrouve que 3 % (n=2). Ces deux SARM, isolés en culture, sont correctement détectés par l'Unyvero[®] UTI. La différence est en grande partie liée à la détection en excès de 24 SCN porteurs du gène *mecA*, représentant 68,6 % des SCN détectés par l'Unyvero[®] UTI. L'automate a par ailleurs détecté deux SARM à une et deux croix de semi-quantification, non isolés en culture, ainsi que pour quatre échantillons, le gène *mecA* sans aucun staphylocoque associé, ni en culture, ni par PCR-M. Ces résultats sont troublants et remettent en cause la fiabilité de ce système concernant la détection de ce gène de résistance.

Par ailleurs, pour les E-BLSE par acquisition du gène *bla*_{CTX-M}, les performances sont très bonnes. Nous supposons donc qu'à priori aucune souche de notre étude n'était porteuse d'une BLSE de type *bla*_{TEM} ou *bla*_{SHV}, mais exclusivement de *bla*_{CTX-M}, ce qui est le cas en France de 86 % des E-BLSE (47). Seule une souche de *K. pneumoniae* BLSE (21_005) isolée en culture avait un phénotype sauvage en PCR-M. Cependant, nous ne pouvons pas déterminer s'il s'agit d'une E-BLSE de type *bla*_{TEM} ou *bla*_{SHV} ou d'une erreur liée à un défaut de sensibilité de détection du système Unyvero[®]. Par ailleurs, l'Unyvero[®] UTI a détecté dans un prélèvement

le gène *bla*_{CTX-M} sans entérobactérie associée ni en culture ni par le système de PCR-M. Sur l'effectif total (n=18), l'Unyvero[®] UTI paraît donc plutôt fiable pour détecter les souches d'E-BLSE ayant acquis le gène *bla*_{CTX-M}, mais pas infaillible.

En outre, deux autres discordances majeures ont été relevées. La première (21_0079) concernait un *C. albicans* isolé en culture, pour lequel la PCR-M détectait une entérobactérie à deux croix de semi-quantification avec les gènes de résistances *bla*_{CTX-M} et *qnrB*. La deuxième (21_0096) concernait un *P. mirabilis* sauvage en culture, pour lequel la PCR-M détectait en plus un SARM. Ces discordances n'ont cependant pas été testées de nouveau, respectant le protocole imposé, il n'est donc pas possible de savoir s'il s'agit d'une erreur de détection du système ou d'un manque de sensibilité de la culture pour les erreurs des échantillons 21_0079 et 21_0096.

Par ailleurs, le système a parfaitement détecté les deux souches porteuses de carbapénémase OXA-23 et OXA-48, isolées en culture. La souche de *P. mirabilis* OXA-23 n'a pas été découverte par la culture mais détectée par l'Unyvero[®] UTI, chez un patient de 77 ans, hospitalisé en réanimation médicale et atteint d'un sepsis à point de départ urinaire d'origine nosocomiale. Le patient était hospitalisé depuis 20 jours et avait deux FDR notables, une sonde urinaire depuis une semaine et un âge supérieur à 75 ans, pour lequel on pouvait le catégoriser en tant que « patient âgé fragile ». Dans une étude de 2002 réalisée au CHU de Clermont-Ferrand, Bonnet *et al.* avaient recueilli dix isolats de *P. mirabilis* producteurs de cette carbapénémase, sur une période de 4 ans. Le typage moléculaire avait révélé que ces dix isolats provenaient de la même souche clonale, appelée CFO239. Leur étude démontre cependant que l'enzyme ne confère pas de résistance à l'imipénème bien que la CMI de ces souches à l'imipénème soit augmentée. Cette augmentation de CMI n'aurait donc pas de conséquence clinique majeure mais pourrait être impliquée dans la persistance de ces souches dans les établissements de santé (127). Le phénotype de résistance de la souche rencontrée dans notre étude comprenait une pénicillinase résistante aux inhibiteurs associée à une résistance au cotrimoxazole et aux nitrofuranes. Elle était sensible aux C1G, C2G, C3G et à l'ertapénème. De plus, la souche étant sensible à l'ertapénème, les CMI vis-à-vis de cette molécule et de l'imipénème n'ont pas été déterminées, d'où l'impossibilité de détecter cette carbapénémase par culture, sans approche moléculaire associée. Cette discordance de résultat entre la culture et la PCR-M est donc difficilement interprétable, probablement liée à un manque de sensibilité de la culture pour ce type de carbapénémase, sans pour autant pouvoir exclure une erreur de détection de l'Unyvero[®] UTI.

La culture permet de détecter des mécanismes de résistances naturelles ou acquises que l'Unyvero[®] UTI ou tout autre automate de PCR-M ne pourrait détecter. C'est le cas par exemple des pénicillinases et des céphalosporinases produites par certaines entérobactéries ou de la

fréquente résistance acquise de haut niveau de *E. faecium* pour les pénicillines. Sans interprétation biologique, le risque est donc de rendre des résultats faussement sensibles avec les automates de PCR-M.

Pour conclure sur les performances du système Unyvero[®] UTI vis-à-vis des résistances isolées en culture, il paraît fiable surtout concernant la détection des E-BLSE. Le système a également bien détecté la souche OXA-48 isolée en culture. Cependant, la résistance aux FQ et aux sulfamides ne peut être résumée à la détection des gènes contenus dans le panel de l'Unyvero[®] UTI, il est donc nécessaire de ne pas rendre les micro-organismes sensibles à ces molécules sur le résultat brut de la PCR-M, mais d'y associer la culture pour détecter d'éventuels autres mécanismes de résistance. Par ailleurs, l'Unyvero[®] UTI détecte par excès de trop nombreux SCN *mecA*. Pour toutes ces raisons, la culture associée à l'interprétation biologique paraît donc être indispensable. De plus, toutes les résistances incluses dans le panel n'ont pas été testées, c'est le cas notamment de *vanA*, *vanB* et des carbapénèmases autres que OXA-23 et OXA-48. Nous ne pouvons donc pas conclure sur les performances de l'automate sur ces BHRé qui, bien que peu fréquentes, entraînent des résistances considérables à de nombreuses molécules antibiotiques, pouvant mener à des impasses thérapeutiques très problématiques.

Bien que les délais de l'Unyvero[®] UTI soient rapides, ce système est limité à quatre analyses simultanées maximum. L'ajout d'un ou de plusieurs Analyzer est possible (deux places par Analyzer) mais devient rapidement encombrant puisque ces modules sont assez volumineux (environ 50 cm³). Nous avons à disposition deux Analyzer, pouvant donc effectuer quatre tests simultanément, toutes les quatre à cinq heures environ. Avec une utilisation optimale du système sur 24 heures, nous pouvons donc tester 24 échantillons maximum. Cependant, sur les périodes hors permanence des soins, de 8 heures à 18 heures, les analyses seraient limitées à huit à douze tests, ce qui représente un faible échantillon de tous les ECBU reçus quotidiennement (environ 60 ECBU par jour au laboratoire du CHU de Caen). De plus, leur sélection nécessiterait une revue systématique d'un nombre considérable d'ECBU, donc un temps biologiste dédié à cette tâche important, afin de sélectionner les patients les plus enclins à développer une ITU à risque de complication ou une ITU grave.

Un autre point important reste à aborder : celui du coût de l'analyse. L'automate étant mis à disposition par la société Curetis[®], son prix n'était pas connu. Cependant, le prix d'un test est estimé entre 200 et 230 euros. Par comparaison, la cotation forfaitaire d'un ECBU d'urines mictionnelles revient à 16 euros environ et celui d'urines sur sonde à environ 32 euros. L'analyse par Unyvero[®] UTI est donc 6 à 12 fois plus chère qu'un ECBU. Compte tenu des résultats mitigés obtenus dans notre étude, le rapport coût – bénéfice semble être en défaveur de l'utilisation de l'Unyvero[®] UTI.

Bien que le coût d'une analyse soit plus élevé avec ce système qu'avec les méthodes conventionnelles, la rapidité d'obtention des résultats peut compenser cette dépense. En effet, elle permettrait de mettre en place une antibiothérapie adaptée plus tôt, de réduire le nombre d'analyses complémentaires à réaliser, la durée d'hospitalisation du patient, ce qui limiterait les coûts hospitaliers globaux. En guise de comparaison, une étude américaine cas-témoins de 2012 menée par Perez *et al.* a évalué l'impact de l'introduction du MALDI-TOF sur la réduction des dépenses hospitalières dans la prise en charge des hémocultures positives à bacilles à Gram négatif. L'étude démontrait que la durée d'hospitalisation des patients cas fut diminuée de plus de deux jours par rapport aux patients témoins, avec un coût hospitalier moyen par patient réduit de presque 20 000 dollars américains (soit environ 17 800 euros) (128). Ainsi, si l'on rapporte ces données médico-économiques à l'application d'une PCR-M sur les UTI graves et à risque de complication, on peut supposer que la dépense liée au coût d'une analyse par l'Unyvero[®] UTI serait probablement compensée par le gain généré en termes d'antibiothérapie adaptée précocement et de journées d'hospitalisation réduites.

4.3 Autres méthodes de diagnostic rapide à partir des échantillons urinaires

D'autres méthodes de diagnostic rapide ont été testées ces dernières années et permettent d'affirmer ou au contraire d'infirmer la présence d'un agent infectieux ou d'une résistance donnée, dans un délai de temps raccourci par rapport à la culture.

Le MALDI-TOF fait notamment l'objet de différentes études portant sur l'identification des micro-organismes directement à partir des ECBU (129–132). Selon les études, l'analyse nécessite en amont différentes étapes de lavage, filtration et centrifugation, assez chronophages, et permet d'obtenir des identifications en une à trois heures. Certaines études sélectionnaient les échantillons si leur ED par coloration de Gram et leur bactériurie selon l'automate de cytométrie en flux étaient positifs. Dans ce cas, la sensibilité de cette méthode concernant l'identification des micro-organismes variait de 67 à 86 % (129,131,133). Cependant, l'analyse par MALDI-TOF présente la limite de ne pas identifier correctement les échantillons polymicrobiens, qui représentent dans notre étude presque 35 % des ECBU. La méthode nécessite donc de perfectionner les algorithmes à partir des spectres fournis par le système. Le temps consacré aux différentes étapes de préparation des échantillons associé à une interprétation complexe des spectres sont actuellement un frein au déploiement de cette technique.

Des automates ont également été mis au point par différentes sociétés pour optimiser la prise en charge des échantillons urinaires. C'est le cas des automates 216Dx UTI[®] (BacterioScan, St.

Louis, Etats-Unis) et Uro-Quick (Alifax, Padua, Italie), utilisant une technologie basée sur la réfraction différentielle de la lumière par les cellules bactériennes (Light Scatter Technology), qui est interprétée de manière algorithmique dans une courbe de croissance. Un résultat positif suggère une bactériurie, donc nécessite une mise en culture de l'échantillon urinaire. A l'inverse, un résultat négatif évoque une urine stérile, donc permet d'exclure ces échantillons de la mise en culture, et de pouvoir rendre l'échantillon stérile en moins de trois heures. L'évaluation prospective du 216Dx UTI[®] sur 439 échantillons d'urine a montré une sensibilité de 96,5 %, une spécificité de 71,4 % et des valeurs prédictives positives et négatives de 45,1 % et 98,8 %, respectivement (134).



Figure 27 : L'automate 216Dx UTI[®]
Source : www.bacterioscan.com

Dans le même principe, une étude de 2015 a été publiée concernant la bandelette réactive RapidBac (Silver Lake Research Corporation, Azusa, Californie). Ce système détecte la bactériurie par dosage immunologique rapide, en 20 minutes avec une sensibilité à 86 % et une spécificité à 94 % (135).

Ces automates peuvent donc s'avérer utiles pour dépister les ECBU positifs, réduire significativement le nombre de cultures, et éviter une antibiothérapie si le résultat est négatif, mais ne permettent pas pour autant un gain de temps réel quant au rendu de résultats des ECBU positifs, puisqu'ils ne permettent pas d'identifier les micro-organismes ni de détecter leurs éventuelles résistances.

Une étude publiée en 2010 a comparé la culture à l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) sur 1000 échantillons d'urines pour la détection de *E. coli*, *E. faecalis* et *S. aureus*, grâce à des sondes spécifiques basées sur l'ARN ribosomal 16S de ces espèces bactériennes (136). Parmi ces échantillons, 325 cultures étaient positives. Les performances de cette méthode étaient très bonnes puisque la sensibilité de détection de *E. coli* était de 94,7 %, et de 100 % pour *E. faecalis* et *S. aureus*. De plus, tous les échantillons stériles en culture étaient négatifs par FISH. Le délai de rendu de résultat par cette technique de quatre heures.

Concernant la détection de résistances, un test chromogénique appelé β -lacta test (Bio-Rad[®], Marnes-La-Coquette, France) est désormais commercialisé pour détecter les souches de sensibilité diminuée aux C3G telles que les céphalosporinases de type *AmpC*, les E-BLSE et les carbapénèmases. Ce test, qui fournit un résultat en 15 minutes, a notamment été testé dans une étude de 2014 par Gallah *et al.* sur 200 échantillons urinaires présentant des bacilles à Gram négatif à l'ED et les performances concernant la détection d'E-BLSE étaient très bonnes, avec une sensibilité à 94 % et une spécificité à 100 % (137). Pour atteindre de bons résultats de performance, Amzalag *et al.* recommandent cependant de réaliser ces tests sur des urines avec une bactériurie supérieure à 10⁴ bactéries par microlitre et de retarder la lecture à 30 minutes (138).

Depuis les années 1970, plusieurs études ont évalué les performances d'un antibiogramme rapide par diffusion directement à partir d'échantillons d'urine (130,139,140). C'est le cas notamment de l'étude parisienne de Périllaud-Dubois *et al.*, qui ont testé 285 urines avec un ED à bactéries à Gram négatif, pour lesquelles l'antibiogramme rapide en huit heures a été comparé avec l'antibiogramme classique en seize heures (141). Sur plus de 5000 combinaisons d'antibiotiques testées, la concordance était excellente, à 97,9 %. Cependant, il existait autour de 3 % d'erreurs très importantes (Very Major Error) concernant la céfalexine, l'amoxicilline – acide clavulanique et la témocilline, qui n'étaient pas bien corrélées et ne permettaient donc pas de détecter une céphalosporinase au bout de huit heures. Il est donc nécessaire d'être extrêmement prudent avant de tirer des conclusions, car une variation d'un millimètre du diamètre peut conduire à une erreur majeure d'interprétation, avec un risque élevé de rendre un micro-organisme faussement résistant. De même, cette méthode ne s'est pas montrée efficace sur *P. aeruginosa*, en raison d'un temps de pousse plus long que les entérobactéries.

Avant notre étude, seule une PCR-M a été testée directement sur les urines avec le système SeptiFast[®] (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Allemagne), dont la vocation première était l'identification d'agents pathogènes à partir d'hémocultures. Ce test est basé sur un panel plus limité que celui de l'Unyvero[®] UTI, adapté aux hémocultures, et non à l'épidémiologie des ITU, exposé dans le Tableau 15. De plus, à l'inverse de l'Unyvero[®] UTI, il ne détecte pas de gènes de résistance et n'intègre pas de système de quantification ou de semi-quantification de la bactériurie.

Tableau 15 : Panel du système SeptiFast®

Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif	Champignons et levures
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylocoques à coagulase négative</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>

Cette étude de Lehmann *et al.*, publiée en 2011, testait 82 ECBU et retrouvait une sensibilité de 82 % et une spécificité de 60 % (142). Si la sensibilité est supérieure à celle de notre étude (68,7 %), la spécificité est quant à elle bien inférieure (98,3 % pour l'Unyvero® UTI).

Des méthodes innovantes ont également été testées, notamment une méthode basée sur une PCR numérique (ou digitale), c'est-à-dire par un fractionnement d'un échantillon d'ADN en de multiples réactions de PCR parallèles. Ainsi, après une brève incubation avec un antibiotique, le principe repose sur une quantification numérique d'acides nucléiques produits par les bactéries présentes dans un échantillon, et qui est le reflet de la sensibilité aux antibiotiques. Schoepp *et al.* ont testé cette méthode pour mesurer la réponse phénotypique de souches de *E. coli* présents dans les échantillons d'urines, après incubation 15 minutes avec différents antibiotiques. Cette PCR permet d'obtenir un résultat en moins de 30 minutes (143).

Comme nous venons de le souligner, les méthodes testées jusqu'alors pouvaient constituer un gain de temps non négligeable. En effet, certains systèmes détectent les ECBU stériles dès leur réception au laboratoire, évitant ainsi une antibiothérapie inutile au patient et permettant un gain de temps technique important au laboratoire. En termes d'identification rapide, l'utilisation du MALDI-TOF pourrait être une solution, cependant la préparation des échantillons est chronophage, ce qui limite l'emploi de ce système actuellement, au vu du nombre important d'ECBU reçus chaque jour. L'antibiogramme rapide directement à partir des urines apparaît être une perspective intéressante, bien que cette méthode n'ait été testée que sur les bacilles à Gram négatif et était, par ailleurs, inadaptée à *P. aeruginosa*. De plus, certaines sensibilités étaient inexactes pour certaines molécules pouvant être prescrites dans le traitement des ITU telles que l'amoxicilline – acide clavulanique. Toutes ces méthodes ne fournissent pas un résultat complet et comportent des inconvénients majeurs qui limitent leur utilisation au quotidien. Par conséquent, à ce jour, l'Unyvero® UTI est de loin le système le plus abouti et le plus innovant concernant le diagnostic rapide des ITU.

5 Conclusion

Cette étude constitue à ce jour la seule évaluation d'un automate de PCR-M dédié à l'identification de micro-organismes et la détection de gènes de résistance directement à partir des échantillons urinaires. Elle a permis de mettre en évidence les atouts et les faiblesses du kit Unyvero[®] UTI, qui constitue le système le plus abouti testé jusqu'à présent pour ce type d'infection. Un nombre important d'échantillons urinaires de patients à risque de complication d'ITU ou avec une ITU grave a été testé, aussi bien en rétrospectif, qu'en prospectif. La culture constitue la méthode de référence, permettant de détecter la grande majorité des micro-organismes et des phénotypes de résistance existants.

L'Unyvero[®] UTI est un automate très simple à utiliser, nécessitant peu de connaissances techniques. Il permet un diagnostic beaucoup plus rapide que l'ECBU dans les ITU. Le système a de bonnes valeurs de spécificité et de VPN concernant l'identification et la détection des gènes de résistances tels que *bla*_{CTX-M} retrouvé chez les E-BLSE. Il est donc fiable pour exclure un micro-organisme et/ou un gène de résistance, et pourrait donc être utilisé comme test de confirmation d'un ECBU négatif. Ainsi, il permettrait au clinicien d'écarter d'emblée un certain nombre d'étiologies et d'éviter une antibiothérapie inadaptée ou inutile. Cependant, il ne devrait pas être utilisé comme seul test diagnostique (sans utilisation d'une méthode standard type culture bactérienne +/- antibiogramme) du fait de taux de sensibilité et de VPP insuffisants.

Les attentes des cliniciens sont de plus en plus fortes concernant le délai de rendu de résultats. En effet, en plus d'améliorer la prise en charge du patient, arrêter suffisamment précocement un traitement antibiotique a un impact médico-économique non négligeable, les molécules antibiotiques étant parfois coûteuses. De plus, l'impact sur le microbiote intestinal de certaines molécules à large spectre, telles que les C3G ou les FQ, peut être majeur, pouvant notamment créer un environnement favorable au développement d'espèces pathogènes nosocomiales comme *C. difficile* (144). L'Unyvero[®] UTI permet de réduire considérablement ce délai, et ainsi d'instaurer une antibiothérapie efficace presque immédiatement. Il peut être un bon complément à l'ECBU mais ne peut cependant pas le remplacer. Son utilisation doit être réservée aux ITU graves et/ou à risque de complications, et l'interprétation de ses résultats nécessite des connaissances clinico-biologiques essentielles pour pouvoir sélectionner les informations pertinentes parmi la masse d'identifications fournies par ce système.

L'approche syndromique est un outil d'avenir qu'il faut utiliser avec précautions et qui nécessite une discussion entre le clinicien et le microbiologiste pour bien interpréter ces résultats. A ce jour, le kit Unyvero[®] UTI reste perfectible et mériterait d'être consolidé. De plus,

des évaluations sur l'impact pronostique et l'aspect médico-économique seraient nécessaires pour déployer plus largement cet outil.

Bibliographie

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13(5):269-84.
2. Hooton TM. Uncomplicated urinary tract infection. *N Engl J Med.* 2012; 366(11):1028-37.
3. Caron F, Galperine T, Flateau C, Azria R, Bonacorsi S, Bruyère F, et al. Practice guidelines for the management of adult community-acquired urinary tract infections. *Médecine Mal Infect.* 2018; 48(5):327-58.
4. Nicolle L. Complicated urinary tract infection in adults. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2005;16(6):349-60.
5. Infections urinaires de l'enfant et de l'adulte | Urofrance. Disponible sur: <https://www.urofrance.org/congres-et-formations/formation-initiale/referentiel-du-college/infections-urinaires.html>
6. Arnaud I, Jarlier V. Surveillance des bactéries multiresistantes dans les établissements de santé en France en 2016. Santé Publique France, 2016. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2018/Surveillance-des-bacteries-multiresistantes-dans-les-etablissements-de-sante-en-France>
7. Elkharrat D, Arrouy L, Benhamou F, Dray A, Grenet J, Corre AL. Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. *Les infections urinaires.* 2007;1-20.
8. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious diseases society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis.* 40(5):643-54.
9. Bent S, Nallamotheu BK, Simel DL, Fihn SD, Saint S. Does this woman have an acute uncomplicated urinary tract infection? *JAMA.* 2002;287(20):2701-10.
10. Draï J, Bessede T, Patard J-J. Prise en charge des pyélonéphrites aiguës. *Prog En Urol.* 2012;22(14):871-5.
11. Zanella M.C, Schoofs F., Huttner B, Huttner A. Infections urinaires basses non associées aux sondes urinaires chez l'homme. Urétrite, cystite et prostatite. *Revue médicale suisse.* 2007;13(558), 808-814.
12. Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard J-P, Escaravage L, et al. Prostatites aiguës. *Prog En Urol.* 2008;18:19-23.
13. Bruyère F, Cariou G, Boiteux J-P, Hoznek A, Mignard J-P, Escaravage L, et al. Pyélonéphrites aiguës. *Prog En Urol.* 2008;18:14-8.
14. Caron F, Galperine T, Flateau C, Bonacorsi S, Clouqueur E, Doco-Lecompte T. Recommandations de bonne pratique infections urinaires au cours de la grossesse. Disponible sur: www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/infections-urinaires-grossesse-spilf-2015.pdf+&cd=1&hl=fr&ct=clnk&gl=fr

15. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med.* 2002;113(1, Supplement 1):5-13.
16. Schnarr J, Smaill F. Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections in pregnancy. *European journal of clinical investigation.* 2008;38, 50-57.
17. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001;56(3):M146-57.
18. Fünfstück R, Nicolle LE, Hanefeld M, Naber KG. Urinary tract infection in patients with diabetes mellitus. *Clin Nephrol.* 2012;77(01):40-8.
19. Søråas A, Sundsfjord A, Sandven I, Brunborg C, Jenum PA. Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing Enterobacteriaceae –a case–control study in a low prevalence country. *Plos One.* 2013;8(7):e69581.
20. Briongos-Figuero LS, Gómez-Traveso T, Bachiller-Luque P, González MD-G, Gómez-Nieto A, Palacios-Martín T, et al. Epidemiology, risk factors and comorbidity for urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteria. *Int J Clin Pract.* 2012;66(9):891-6.
21. Berrou J, Fougeray S, Venot M, Chardiny V, Gautier J-F, Dulphy N, et al. Natural killer cell function, an important target for infection and tumor protection, is impaired in type 2 diabetes. *Plos One.* 2013;8(4):e62418.
22. Gonthier R. Infection urinaire du sujet âgé. *Rev Gériatrie.* 2000.
23. Puech P, Lagard D, Leroy C, Dracon M, Biserte J, Lemaître L. Place de l'imagerie dans les infections du tractus urinaire de l'adulte. *J Radiol.* 2004;85(2, Part 2):220-40.
24. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.* 2001;183(Supplement_1):S1-4.
25. Danieau C, Léon L, Blanchard H, Bernet C. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Disponible sur: http://invs.santepubliquefrance.fr/content/download/147407/536658/version/1/file/synthes-e-enquete-nationale-prevalence-infections-nosocomiales-traitements-anti_infectieux-etablissements-sante-France-mai-juin-2017.pdf+&cd=2&hl=fr&ct=clnk&gl=fr
26. Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis.* 2004;38(8):1150-8.
27. Lejeune B. Les infections urinaires nosocomiales de l'adulte. *Médecine Mal Infect.* 2003;33(9):431-7.
28. Stamm WE. Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. *Am J Med.* 2002;113(1):1-4.
29. Hoban DJ, Nicolle LE, Hawser S, Bouchillon S, Badal R. Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of *Escherichia coli* : results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009–2010. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70(4):507-11.

30. Mazzulli T. Resistance trends in urinary tract pathogens and impact on management. *J Urol.* 2002;168(4, Supplement):1720-2.
31. Andremont A. Définition de la multirésistance bactérienne: prévalence et incidence des bactéries multirésistantes en réanimation. Impact écologique. *Réanimation Urgences.* 1997;6(2, Part 2):175-82.
32. Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2010;7(12):653-60.
33. Gravey F, Loggia G, de La Blanchardière A, Cattoir V. Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance profiles of urinary specimens of the elderly. *Médecine Mal Infect.* 2017;47(4):271-8.
34. Schaeffer AJ, Nicolle LE. Urinary tract infections in older men. *N Engl J Med.* 2016;374(6):562-71.
35. Griebing TL. Urologic diseases in America project : trends in resource use for urinary infections in men. *J Urol.* 2005;173(4):1288-94.
36. Bruyère F. Prostatite aiguë bactérienne chez l'homme adulte. *Prog En Urol.* 2010;20(11):815-7.
37. Botto H. Antibiothérapie des prostatites. *Antibiotiques.* 2007;9(2):83-6.
38. Hooton TM, Scholes D, Stapleton AE, Roberts PL, Winter C, Gupta K, et al. A prospective study of asymptomatic bacteriuria in sexually active young women. *New England Journal of Medicine;* 2000;343(14), 992-997.
39. Rodhe N, Löfgren S, Matussek A, André M, Englund L, Kühn I, et al. Asymptomatic bacteriuria in the elderly: high prevalence and high turnover of strains. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(10):804-10.
40. Naber KG, Schito G, Botto H, Palou J, Mazzei T. Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and antimicrobial resistance epidemiology in females with cystitis (ARESC): implications for empiric therapy. *Eur Urol.* 2008;54(5):1164-78.
41. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med.* 1993;329(18):1328-34.
42. Matthews SJ, Lancaster JW. Urinary tract infections in the elderly population. *Am J Geriatr Pharmacother.* 2011;9(5):286-309.
43. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, et al. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *The Lancet.* 2000;356(9238):1307-12.
44. Philippon A, Arlet G. Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotypes de résistance naturelle. *Pathol Biol.* 2012;60(2):112-26.
45. Garnotel E, Astier H, Surcouf C, Bayette J, Bouige A, Dieudonné A, et al. Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolé des infections urinaires communautaires : étude AFORCOPI-BIO, 2015. *Rev Francoph Lab.* 2017;2017(496):66-73.
46. Birgand G, Lucet J-C. Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ? *Rev Francoph Lab.* 2013;2013(453):29-39.

47. Nicolas-Chanoine M-H, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F, et al. 10-Fold increase (2006–11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68(3):562-8.
48. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. European Centre for Disease Prevention and Control. 2018. Disponible sur: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2017>
49. Martin D, Fougnot S, Grobost F, Thibaut-Jovelin S, Ballereau F, Gueudet T, et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. *J Infect.* 2016;72(2):201-6.
50. Pulcini C, Clerc-Urmes I, Attinsounon CA, Fougnot S, Thilly N. Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae causing urinary tract infections in elderly patients living in the community and in the nursing home: a retrospective observational study. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(3):775-81.
51. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(6):1119-25.
52. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(10):1791-8.
53. Dortet L, Cuzon G, Ponties V, Nordmann P. Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. *Eurosurveillance.* 2017;22(6).
54. Ponties V, Savitch Y, Soing-Altrach S, Colomb-Cotin M, Blanchard H, Bernet C, et al. Episodes impliquant des EPC en France. Situation épidémiologique du 31 décembre 2016. Santé Publique France. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-EPC/Episodes-impliquant-des-EPC-en-France.-Situation-epidemiologique-du-31-decembre-2016>
55. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1993;57(1):138-63.
56. Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-mediated high-Level resistance to aminoglycosides in Enterobacteriaceae due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(8):2565-71.
57. Hancock REW. Aminoglycoside uptake and mode of action—with special reference to streptomycin and gentamicin II. Effects of aminoglycosides on cells. *J Antimicrob Chemother.* 1981;8(6), 429-445.
58. Acar JF, Goldstein FW. Trends in Bacterial Resistance to Fluoroquinolones. *Clin Infect Dis.* 1997;24(Supplement_1):S67-73.
59. Mérens A, Servonnet A. Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Rev Francoph Lab.* 2010;(422):33-41.

60. Jacoby G, Cattoir V, Hooper D, Martínez-Martínez L, Nordmann P, Pascual A, et al. *qnr* gene nomenclature. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(7):2297-9.
61. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(10):629-40.
62. Périchon B, Courvalin P, Galimand M. Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by *QepA*-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(7):2464-9.
63. Batard E, Montassier E, Ballereau F, Potel G. De la consommation d'antibiotiques aux résistances bactériennes : l'exemple de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones. *Médecine Thérapeutique.* 2012;17(4):294-301.
64. Cambau E, Guillard T. Antibactériens agissant sur la synthèse et la conformation des acides nucléiques. *Rev Sci Tech OIE.* 2012;31(1):65-76.
65. Soussy C-J. Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Les infections urinaires.* 2007;21-46.
66. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(1):43-8.
67. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol.* 2009;58(9):1133-48.
68. Dumitrescu O, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy M-É, Tristan A, Vandenesch F. Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* - Les points-clés en 2010. 2010;26(11):943-9.
69. Cattoir V, Giard J-C. Antibiotic resistance in *Enterococcus faecium* clinical isolates. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014;12(2):239-48.
70. Cattoir V, Leclercq R. Les entérocoques résistants aux glycopeptides. 2010;26(11):936-42.
71. Rapports ONERBA. Disponible sur: <http://onerba.org/publications/rapports-onerba/>
72. Baumgarten DA, Baumgartner BR. Imaging and radiologic management of upper urinary tract infections. *Urol Clin North Am.* 1997;24(3):545-69.
73. Meister L, Morley EJ, Scheer D, Sinert R. History and physical examination plus laboratory testing for the diagnosis of adult female urinary tract infection. *Acad Emerg Med.* 2013;20(7):631-45.
74. Etienne M, Pestel-Caron M, Chavanet P, Caron F. Performance of the urine leukocyte esterase and nitrite dipstick test for the diagnosis of acute prostatitis. *Clin Infect Dis.* 2008;46(6):951-3.
75. Koeijers JJ, Kessels AGH, Nys S, Bartelds A, Donker G, Stobberingh EE, et al. Evaluation of the nitrite and leukocyte esterase activity tests for the diagnosis of acute symptomatic urinary tract infection in men. *Clin Infect Dis.* 2007;45(7):894-6.
76. Aspevall O, Hallander H, Gant V, Kouri T. European guidelines for urinalysis : a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical

- chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clin Microbiol Infect. 2001;7(4):173-8.
77. Communiqué de l'Association Française d'Urologie. Du sang dans les urines, quel diagnostic ? Disponible sur : https://www.urofrance.org/sites/default/files/fileadmin/medias/afu/communiqués/2017-07-26_communique-du-sang-dans-les-urines.pdf +&cd=4&hl=fr&ct=clnk&gl=fr
 78. Bally F, Troillet N. Infection urinaire : un diagnostic sur mesure. Revue Medicale Suisse. 2008;(174), 2145.
 79. Cariou G, Sotto A, Malavaud S, Boiteux J-P, Bernard L, Bruyère F. Conduite à tenir en cas de colonisation d'une sonde à demeure par une bactérie multirésistante chez un futur opéré d'urologie : résumé du forum du CIAFU 2010. Prog En Urol - FMC. 2011;21(3):F77-9.
 80. Burillo A, Rodríguez-Sánchez B, Ramiro A, Cercenado E, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. Gram-Stain Plus MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) for a rapid diagnosis of urinary tract infection. Plos One. 2014;9(1):e86915.
 81. Carbonnelle É, Nassif X. Utilisation en routine du MALDI-TOF-MS pour l'identification des pathogènes en microbiologie médicale. 2011;27(10):882-8.
 82. Degand N, Ruimy R. Intérêts et les limites actuelles du MALDI-TOF en microbiologie clinique. J Anti-Infect. 2012;14(4):159-67.
 83. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol. 1991;29(3):533-8.
 84. Reller LB, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clin Infect Dis. 2009;49(11):1749-55.
 85. CASFM / EUCAST 2019. Société Française de Microbiologie. 2019. Disponible sur: <https://www.sfm-microbiologie.org/2019/01/07/casfm-eucast-2019/>
 86. Winstanley T, Courvalin P. Expert systems in clinical microbiology. Clin Microbiol Rev. 2011;24(3):515-56.
 87. Maalej SM, Meziou MR, Rhimi FM, Hammami A. Comparison of disc diffusion, Etest and agar dilution for susceptibility testing of colistin against Enterobacteriaceae. Lett Appl Microbiol. 2011;53(5):546-51.
 88. Philippon A. Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). Immuno-Anal Biol Spéc. 2013;28(5):287-96.
 89. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide - Clin Microbiol Infect. 2014;20(9):821-30.
 90. Fournier D, Garnier P, Jeannot K, Mille A, Gomez A-S, Plésiat P. A convenient method to screen for carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol. 2013;51(11):3846-8.

91. Universal protocol for the rapid automated detection of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli directly from blood cultures by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) - International journal of antimicrobial agents. 2016;48(6), 655-660.
92. Venet C, Tardy B, Zéni F. Marqueurs biologiques de l'infection en réanimation chez l'adulte : place de la procalcitonine. Réanimation. 2002;11(3), 156-171.
93. Pugin, A, Gervaix J. Utilité du dosage plasmatique de la procalcitonine chez l'adulte et chez l'enfant . Rev Med Suisse. 2005;1, 30261.
94. Kaminsky P, Deibener J, Lesesve JF, Humbert JC. Variations des paramètres de l'hémogramme au cours des infections. Rev Médecine Interne. 2002;23(2):132-6.
95. Mathys V, Lefèvre P, Fontaine V, Dehem M, Donnio PY, Février F, et al. La PCR en temps réel : principe et application en infectiologie. Antibiotiques. 2007;9(3):205-11.
96. Bard JD, Lee F. Why can't we just use PCR? The role of genotypic versus phenotypic testing for antimicrobial resistance testing. Clin Microbiol Newsl. 2018;40(11):87-95.
97. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Özenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. J Clin Microbiol. 2013;51(12):4130-6.
98. Buss SN, Leber A, Chapin K, Fey PD, Bankowski MJ, Jones MK, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. J Clin Microbiol. 2015;53(3):915-25.
99. Poritz MA, Blaschke AJ, Byington CL, Meyers L, Nilsson K, Jones DE, et al. FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection : development and application to respiratory tract infection. Plos One. 2011;6(10):e26047.
100. Cailleaux M, Pilmis B, Lourtet J, Nguyen J, Couzigou C, Mizrahi A, et al. Impact de l'utilisation d'une PCR multiplex type FilmArray® dans le diagnostic des infections suspectées du système nerveux central à l'hôpital. Médecine Mal Infect. 2018;48(4, Supplement):S121-2.
101. Huang T-D, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y. Evaluation of the ePlex blood culture identification panels for detection of pathogens in bloodstream infections. J Clin Microbiol. 2019;57(2):e01597-18.
102. Nijhuis RHT, Guerendiain D, Claas ECJ, Templeton KE. Comparison of ePlex respiratory pathogen panel with laboratory-developed real-time PCR assays for detection of respiratory pathogens. J Clin Microbiol. 2017;55(6):1938-45.
103. Hillemann D, Rüscher-Gerdes S, Boehme C, Richter E. Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. J Clin Microbiol. 2011;49(4):1202-5.
104. Jamal W, Pauline EM, Rotimi VO. Comparative performance of the GeneXpert C. difficile PCR assay and C. diff Quik Chek Complete kit assay for detection of *Clostridium difficile* antigen and toxins in symptomatic community-onset infections. Int J Infect Dis. 2014;29:244-8.

105. Rossney AS, Herra CM, Brennan GI, Morgan PM, O'Connell B. Evaluation of the Xpert methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) assay using the GeneXpert real-time PCR platform for rapid detection of MRSA from screening specimens. *J Clin Microbiol.* 2008;46(10):3285-90.
106. Bhatti MM, Boonlayangoor S, Beavis KG, Tesic V. Evaluation of FilmArray and Verigene systems for rapid identification of positive blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2014;52(9):3433-6.
107. Carroll KC, Buchan BW, Tan S, Stamper PD, Riebe KM, Pancholi P, et al. Multicenter evaluation of the Verigene *Clostridium difficile* nucleic acid assay. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):4120-5.
108. Alby K, Popowitch EB, Miller MB. Comparative evaluation of the nanosphere Verigene RV+ assay and the Simplexa Flu A/B; RSV kit for detection of influenza and respiratory syncytial viruses. *J Clin Microbiol.* 2013;51(1):352-3.
109. Kenicer J, Hardie A, Hamilton F, Gadsby N, Templeton K. Comparative evaluation of the diagenode Multiplex PCR assay on the BD Max system versus a routine in-house assay for detection of *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol.* 2014;52(7):2668-70.
110. Dalpke AH, Hofko M, Zorn M, Zimmermann S. Evaluation of the fully automated BD MAX Cdiff and Xpert *C. difficile* assays for direct detection of *Clostridium difficile* in stool specimens. *J Clin Microbiol.* 2013;51(6):1906-8.
111. Anderson NW, Buchan BW, Ledebor NA. Comparison of the BD MAX enteric bacterial panel to routine culture methods for detection of *Campylobacter*, enterohemorrhagic *Escherichia coli* (O157), *Salmonella*, and *Shigella* isolates in preserved stool specimens. *J Clin Microbiol.* 2014;52(4):1222-4.
112. Widen R, Healer V, Silbert S. Laboratory evaluation of the BD MAX MRSA assay. *J Clin Microbiol.* 2014;52(7):2686-8.
113. Pol BVD, Williams JA, Fuller D, Taylor SN, Hook EW. Combined testing for *Chlamydia*, *Gonorrhoea*, and *Trichomonas* by use of the BD Max CT/GC/TV assay with genitourinary specimen types. *J Clin Microbiol.* 2017;55(1):155-64.
114. Huh HJ, Kim J-Y, Kwon HJ, Yun SA, Lee M-K, Lee NY, et al. Performance evaluation of allplex respiratory panels 1, 2, and 3 for detection of respiratory viruses and influenza A virus subtypes. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):479-84.
115. Martín A, Pérez-Ayala A, Chaves F, Lora D, Orellana MÁ. Evaluation of the multiplex PCR allplex-GI assay in the detection of bacterial pathogens in diarrheic stool samples. *J Microbiol Methods.* 2018;144:33-6.
116. Burrack-Lange SC, Personne Y, Huber M, Winkler E, Weile J, Knabbe C, et al. Multicenter assessment of the rapid Unyvero blood culture molecular assay. *J Med Microbiol.* 2018;67(9):1294-301.
117. Ciesielczuk H, Wilks M, Castelain S, Choquet M, Morotti M, Pluquet E, et al. Multicenter performance evaluation of the Unyvero IAI cartridge for detection of intra-abdominal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(11):2107-15.

118. Hischebeth GTR, Randau TM, Buhr JK, Wimmer MD, Hoerauf A, Molitor E, et al. Unyvero i60 implant and tissue infection (ITI) multiplex PCR system in diagnosing periprosthetic joint infection. *J Microbiol Methods*. 2016;121:27-32.
119. Jamal W, Roomi EA, AbdulAziz LR, Rotimi VO. Evaluation of Curetis Unyvero, a multiplex PCR-based testing system, for rapid detection of bacteria and antibiotic resistance and impact of the assay on management of severe nosocomial pneumonia. *J Clin Microbiol*. 2014;52(7):2487-92.
120. Jones RN, Biedenbach DJ, Marshall SA, Pfaller MA, Doern GV. Evaluation of the Vitek system to accurately test the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates against cefepime. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1998;32(2):107-10.
121. Rhodes NJ, Richardson CL, Heraty R, Liu J, Malczynski M, Qi C, et al. Unacceptably high error rates in Vitek 2 testing of cefepime susceptibility in extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(7):3757-61.
122. Levey AS, Eckardt K-U, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from kidney disease: improving global outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2005;67(6):2089-100.
123. Huebner J MD, Goldmann DA MD. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med*. 1999;50(1):223-36.
124. Gatermann S, John J, Marre R. *Staphylococcus saprophyticus* urease: characterization and contribution to uropathogenicity in unobstructed urinary tract infection of rats. *Infect Immun*. 1989;57(1):110-6.
125. Leonhardt KO, Landes RR. Urinary Oxygen Pressure in Renal Parenchymal and Vascular Disease: Effects of Breathing Oxygen. *JAMA*. 1965;194(4):345-50.
126. Brook I. Urinary tract and genito-urinary suppurative infections due to anaerobic bacteria. *Int J Urol*. 2004;11(3):133-41.
127. Bonnet R, Marchandin H, Chanal C, Sirot D, Labia R, Champs CD, et al. Chromosome-encoded class D β -lactamase OXA-23 in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(6):2004-6.
128. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;137(9):1247-54.
129. Ferreira L, Sánchez-Juanes F, González-Avila M, Cembrero-Fuciños D, Herrero-Hernández A, González-Buitrago JM, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2010;48(6):2110-5.
130. Zboromyrska Y, Rubio E, Alejo I, Vergara A, Mons A, Campo I, et al. Development of a new protocol for rapid bacterial identification and susceptibility testing directly from urine samples. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(6):561.e1-561.e6.
131. Íñigo M, Coello A, Fernández-Rivas G, Rivaya B, Hidalgo J, Quesada MD, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples, combining urine screening

- methods and matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2016;54(4):988-93.
132. Wang X-H, Zhang G, Fan Y-Y, Yang X, Sui W-J, Lu X-X. Direct identification of bacteria causing urinary tract infections by combining matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with UF-1000i urine flow cytometry. *J Microbiol Methods.* 2013;92(3):231-5.
 133. Köhling HL, Bittner A, Müller K-D, Buer J, Becker M, Rübber H, et al. Direct identification of bacteria in urine samples by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and relevance of defensins as interfering factors. *J Med Microbiol.* 2012;61(Pt 3):339-44.
 134. Montgomery S, Roman K, Ngyuen L, Cardenas AM, Knox J, Tomaras AP, et al. Prospective evaluation of light scatter technology paired with matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry for rapid diagnosis of urinary tract infections. *J Clin Microbiol.* 2017;55(6):1802-11.
 135. Stapleton AE, Cox ME, DiNello RK, Geisberg M, Abbott A, Roberts PL, et al. Performance of a new rapid immunoassay test kit for point-of-care diagnosis of significant bacteriuria. *J Clin Microbiol.* 2015;53(9):2805-9.
 136. Wu Q, Li Y, Wang M, Pan XP, Tang YF. Fluorescence in situ hybridization rapidly detects three different pathogenic bacteria in urinary tract infection samples. *J Microbiol Methods.* 2010;83(2):175-8.
 137. Gallah S, Decré D, Genel N, Arlet G. The β -Lacta Test for direct detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in urine. *J Clin Microbiol.* 2014;52(10):3792-4.
 138. Amzalag J, Mizrahi A, Naouri D, Nguyen JC, Ganansia O, Monnier AL. Optimization of the β LACTA test for the detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing bacteria directly in urine samples. *Infect Dis.* 2016;48(9):695-8.
 139. Johnson JR, Tiu FS, Stamm WE. Direct antimicrobial susceptibility testing for acute urinary tract infections in women. *J Clin Microbiol.* 1995;33(9):2316-23.
 140. Breteler KBK, Rentenaar RJ, Verkaart G, Sturm PDJ. Performance and clinical significance of direct antimicrobial susceptibility testing on urine from hospitalized patients. *Scand J Infect Dis.* 2011;43(10):771-6.
 141. Périllaud-Dubois C, Pilmis B, Diep J, de Ponfilly GP, Perreau S, Ruffier d'Epenoux L, et al. Performance of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on MHR-SIR agar directly on urine specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(1):185-9.
 142. Lehmann LE, Hauser S, Malinka T, Klaschik S, Weber SU, Schewe J-C, et al. Rapid qualitative urinary tract infection pathogen identification by SeptiFast® real-time PCR. *Plos One.* 2011;6(2), e17146.
 143. Schoepp NG, Schlappi TS, Curtis MS, Butkovich SS, Miller S, Humphries RM, et al. Rapid pathogen-specific phenotypic antibiotic susceptibility testing using digital LAMP quantification in clinical samples. *Sci Transl Med.* 2017;9(410):eaal3693.
 144. Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4212-8.

Annexe

Annexe 1 : Communication affichée lors de la Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI) de 2018

PA-10 Diagnostics rapides

P-169

Performances du nouveau kit de PCR multiplex Unyvero UTI pour le diagnostic rapide des infections urinaires graves

Agathe Capitaine¹, Gabriel Auger², Mickaël Martinet¹, Tanguy Lepage², Karin Förster-Fromme³, Vincent Cattoir², Christophe Isnard^{1*}

¹CHU de Caen, Service de Microbiologie, Caen, France, ²CHU de Rennes, Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, Rennes, France, ³Curetis GmbH, Holzgerlingen, Allemagne. isnard-c@chu-caen.fr / 02-31-06-48-96

Introduction

Le diagnostic microbiologique des infections urinaires compliquées (IUC) repose sur l'Examen Cyto-Bactériologique des Urines (ECBU). Cet examen est toutefois limité par :

- 1) le manque de spécificité de l'examen direct ;
- 2) le délai d'obtention de l'antibiogramme (48 heures environ).

Or, pour une prise en charge thérapeutique optimum, les IUC nécessitent une antibiothérapie adaptée le plus précocement possible.

Le système Unyvero® (Curetis AG, Allemagne) repose sur la technologie PCR multiplex dédiée à l'approche syndromique. Le **nouveau kit Unyvero UTI** permet en moins de 5 heures l'identification de 25 micro-organismes ainsi que la détection de 15 gènes de résistance directement à partir de l'échantillon urinaire.

Objectifs

Méthodes

Le but de cette étude multicentrique a été d'évaluer pour la première fois les performances du nouveau kit **Unyvero UTI** pour le diagnostic rapide des IUC.

216 échantillons urinaires de patients qui présentaient une IU grave inclus :

- 101 cas rétrospectifs et 115 cas prospectifs

Etude multicentrique : CHU de Caen et CHU de Rennes

Pour chaque échantillon inclus, le diagnostic syndromique Unyvero UTI a été réalisé en parallèle de l'ECBU, qui représentait la méthode de référence pour la détermination de la sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP) et valeur prédictive négative (VPN).

Résultats

Identification

Détection des gènes de résistance

Principaux germes retrouvés dans les IUC de notre étude:

Micro-organismes	Nombre	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
<i>Escherichia coli</i>	98	96,9	100,0	100,0	97,5
<i>Proteus spp.</i>	19	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Citrobacter freundii / koseri</i>	16	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	21	100,0	99,5	95,5	100,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Klebsiella variicola</i>	1	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	100,0	99,5	94,1	100,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	75,0	100,0	100,0	99,5
<i>Providencia spp.</i>	7	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	166	92,8	98,0	99,4	80,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	100,0	98,4	87,5	100,0
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	2	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Enterococcus faecium</i>	18	94,4	99,0	89,5	99,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	51	100,0	98,2	94,4	100,0
<i>Enterococcus spp.</i>	62	96,8	98,7	96,8	98,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	100,0	100,0	100,0	100,0
Staphylocoques à coagulase négative (SCN)	35	100,0	97,8	89,7	100,0
<i>Bacteroides spp. / Prevotella spp.</i>	20	100,0	94,4	64,5	100,0
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	2	100,0	97,2	25,0	100,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Candida albicans</i>	11	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Candida glabrata</i>	2	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>Candida spp.</i>	9	88,9	100,0	100,0	99,5
Universal Bacteria	204	96,1	100,0	100,0	60,0
Tous pathogènes confondus	831	96,6	99,3	95,9	99,4

Excellente identification d'espèce

Résultats de sensibilité modestes pour *Candida spp.* et *Enterobacter aerogenes* mais le nombre d'échantillons testés était faible.

Les 4 déterminants de résistances acquises, les plus fréquemment retrouvés dans les IU, ont été les principaux détectés dans notre étude.

Gènes de résistance	Nombre	VPP (%)	VPN (%)
<i>bla_{CTX-M}</i>	34	87,1	95,8
<i>mecA</i>	5	50,0	100,0
<i>qnrB/S</i>	50	63,6	82,1
<i>sul1</i>	40	63,9	81,5

La détection de ces gènes de résistance n'a pas pu être confirmée phénotypiquement dans tous les cas mais VPN élevées pour *bla_{CTX-M}* et *mecA*.

A noter que le gène *mecA* était parfaitement détecté lorsque l'infection était causée par un *S. aureus* résistant à la méticilline.

Délais de rendu des résultats

Délais moyens entre le prélèvement et l'obtention des résultats complets:

Unyvero : 19 heures

ECBU : 54 heures

→ Gain de temps considérable avec le kit Unyvero UTI

Conclusions

Le kit Unyvero UTI permet un diagnostic beaucoup plus rapide que l'ECBU dans les cas d'IUC. Les résultats d'identification sont très fiables avec des VPP élevées, ce qui pourrait contribuer à réduire le délai de prise en charge optimum des IUC. En revanche la détection d'un gène de résistance n'est pas toujours confirmée phénotypiquement (surestimation pouvant être liée à la présence de bactéries du microbiote) et ne répond pas aux problématiques de détection de l'hyper-expression de céphalosporinases type AmpC, en particulier chez les entérobactéries du groupe III. Cette nouvelle approche est prometteuse mais ne peut cependant pas se substituer à l'ECBU. Elle doit être réservée aux IU graves pour lesquelles l'instauration d'une antibiothérapie ciblée précoce est cruciale.

88



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE

U.F.R. Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.