

Profil de résistance aux antibiotiques de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* identifiés chez les femmes à Bamako, Mali.**Antimicrobial susceptibility profile of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in female population at Bamako, Mali.**

Guindo I^{1,2}, Ag Baraïka M^{2,3}, Sangaré MS¹, Sima M⁴, Ongoïba S¹, Dao S⁵ and Bougoudogo F².

1. Institut National de Santé Publique, Bamako, Mali

2. Faculté de Pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.

3. Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose, Bamako, Mali

4. Service de Gynécologie-obstétrique CHU Point G, Bamako, Mali

5. Service de Maladie Infectieuse et Tropicale, CH²U- Point G, Bamako, Mali

Auteur correspondant : Dr Ibrehima GUINDO, E-mail : ibrehima.guindo@mesrs.ml

Résumé

Objectif : déterminer le profil de résistance aux antibiotiques de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* détectés chez les femmes ayant une demande de recherche de mycoplasmes venues à l'Institut National de Santé Publique (INSP) de Bamako.

Résultats : cent quinze femmes ont été enrôlées dans cette étude. Les infections dues aux mycoplasmes ont été retrouvées dans 63,5% de la population étudiée. Il ressort que 53,0% des infections étaient dues à *Ureaplasma urealyticum*, 6,1% au *Mycoplasma hominis* et 4,3% de coinfections impliquant les deux espèces bactériennes (*U. urealyticum* et *M. hominis*). Les mycoplasmes étaient plus observés dans la tranche d'âge comprise entre 16 et 35 ans, cette tranche d'âge représentait 79% de notre population d'étude marquée par la perturbation de la flore vaginale. L'examen macroscopique des échantillons a montré que l'aspect mucoblanchâtre des prélèvements réalisés était le plus fréquent avec 75,7% des cas. La résistance aux antibiotiques des mycoplasmes a été déterminée à l'aide du kit Mycoplasma IST-2 (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France). Elle variait entre 87 et 92% pour les fluoroquinolones, 23 et 57% pour les macrolides et la tétracycline. La pristinamycine et la doxycycline ont conservé leur activité sur les mycoplasmes avec une résistance relativement basse variant entre 10,7% pour la pristinamycine et 7,7% pour la doxycycline.

Conclusion : Cette étude a permis de révéler une fréquence élevée des mycoplasmes urogénitaux dans la population féminine à Bamako. La pristinamycine et la doxycycline demeurent des molécules de choix pour leur traitement.

Mots clés : *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, résistance, antibiotiques.

ABSTRACT

Objective: to determine the profile of antimicrobial resistance of *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) and *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) detected in women with a request for mycoplasma screening who came at the National Institute for Public Health (INSP) at Bamako.

Results: we enrolled 115 women in this study and infection due to mycoplasma were found in 63.5% of them. It is appears that 53 % have infections caused by *U. urealyticum*, 6.1% by *M. hominis* and 4.3 % of co-infections involving both germs (*U. urealyticum* and *M. hominis*). Mycoplasmas was more observed in the age group between 16 and 35 years, this age group representing 79% of our study population marked by the disturbance of the vaginal flora. The macroscopic examination of samples showed that the whitish mucus aspect was the most observed with 75.7% of cases. Antimicrobial susceptibility was determined using the Mycoplasma IST2 Kit (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France). It varied between 87 and 92 % for fluoroquinolones, 23 and 57% for macrolides and tetracycline. Pristinamycin and doxycycline were kept their activity against mycoplasma with a low resistance varying between 10.7% for pristinamycin and 7.7% for doxycycline.

Conclusion: this study allowed to reveal a high frequency of urogenital mycoplasmas in the female population at Bamako. Pristinamycin and doxycycline remain molecules of choice for their treatment.

Key-words: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, resistance, antibiotics.

Introduction

La résistance bactérienne aux antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale [1, 2]. La dissémination des bactéries résistantes est à l'origine d'une augmentation de la mortalité, de la morbidité ainsi que du coût des traitements [3, 4]. Ce phénomène touche aussi bien les bactéries pathogènes spécifiques que les bactéries commensales. Les mycoplasmes urogénitaux sont les bactéries les plus retrouvées en colonisation avec des taux variant dans le monde entre 20 et 30% pour *Mycoplasma hominis*; 60 et 80% pour *Ureaplasma urealyticum*. Ces bactéries manquant de paroi, cible de certaines familles d'antibiotiques comme les bêta-lactamines et les glycopeptides [5], sont associées à des pathologies et infections intra-utérines, y compris la pyélonéphrite, la maladie inflammatoire pelvienne, l'endométrite et la fièvre post-partum. Cela s'accompagne de complications importantes tels que la prématurité, le faible poids de naissance, l'avortement spontané, mais surtout l'infertilité [6, 7].

Une augmentation de la résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques a été observée ces vingt dernières années [8-11]. Cependant ils demeurent des germes bactériens très peu étudiés en Afrique et particulièrement au Mali. Cela serait dû à leur culture difficile et surtout à l'absence de manifestations cliniques chez les femmes infectées. De ce fait la connaissance de la prévalence et de l'état actuel de la résistance aux antibiotiques des mycoplasmes urogénitaux permettra d'une part de mettre à jour les données dans le contexte national, d'autre part d'optimiser le choix thérapeutique et par conséquent d'améliorer le pronostic des infections dues aux mycoplasmes. C'est dans ce contexte que ce travail a été initié avec comme objectif de déterminer le profil de résistance aux antibiotiques spécifiques des mycoplasmes urogénitaux chez des femmes venues à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INSP) avec une demande d'analyse pour la recherche de mycoplasmes.

Patients et méthodes

Cadre et population d'étude

L'Institut National de Recherche en Santé Publique (INSP) a servi de cadre pour cette étude. Il s'agissait d'une étude transversale

descriptive, qui s'est déroulée de 2014 à 2017 soit une période de 4 ans, portant sur 115 femmes venues à l'INSP avec des demandes d'analyse pour la recherche des mycoplasmes.

Prélèvement

Le prélèvement par écouvillonnage a été réalisé à l'aide d'un speculum avec deux écouvillons, l'un au niveau de l'endocol pour la recherche des mycoplasmes et l'autre vaginal pour l'établissement de la flore. Les mycoplasmes ayant une grande affinité pour les membranes des cellules et des muqueuses, un grattage par écouvillon de la muqueuse vaginale a été fait afin de recueillir le plus grand nombre de cellules possible pour l'identification et l'antibiogramme.

Examen macroscopique et établissement de la flore

L'examen macroscopique des prélèvements a permis de les catégoriser en mucoblancheâtre, mucogranuleux et mucopurulent. Quatre types de flores ont été établis selon la quantité moyenne de lactobacilles observée après coloration de Gram des prélèvements. La flore était dite de type I (>5 lactobacilles par champs avec de rares ou absence d'autres bacilles), de type II (1 à 4 lactobacilles par champs avec prolifération polymicrobienne), de type III (< 1 lactobacille par champs avec prolifération polymicrobienne) et de type IV (absence de lactobacilles avec prolifération polymicrobienne).

Diagnostic et sensibilité aux antibiotiques des mycoplasmes urogénitaux

Le diagnostic a été réalisé à l'aide du Kit *Mycoplasma* IST2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) selon les instructions du fabricant, spécifiquement destiné aux mycoplasmes urogénitaux. Ce kit permet la culture, l'identification, la numération indicative et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques d'*Ureaplasma urealyticum* et de *Mycoplasma hominis*. Le kit *Mycoplasma* IST2 associe un bouillon adapté à la croissance optimale des mycoplasmes uro-génitaux (pH, substrat et association de plusieurs facteurs de croissance). La présence de substrats spécifiques (urée pour *Ureaplasma* et arginine pour *Mycoplasma hominis*) et d'un indicateur (rouge de phénol) permet, en cas de culture positive, d'observer un changement de couleur

lié à une augmentation du pH. Le résultat a été interprété positif si une couleur orange à rouge apparaît et le seuil de l'infection est fixé à une valeur supérieure ou égale à 10^4 Unité Formant Colonie (UFC), ce qui permet de définir une colonisation pour un titre inférieur à 10^4 UFC. La lecture des cupules était réalisée en 24 heures puis 48 heures d'incubation à $36 \pm 2^\circ\text{C}$. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par le même kit (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) et a porté sur neuf molécules à savoir la tétracycline, doxycycline, josamycine, érythromycine, azithromycine, clarythromycine, ofloxacin, ciprofloxacine, et pristinamycine. Ces molécules appartiennent respectivement aux familles d'antibiotiques des cyclines, des macrolides, des fluoroquinolones et des streptogramines.

Analyse des données

Les données sociodémographiques, les données d'identification et de résistance des mycoplasmes aux antibiotiques ont saisiées sur Excel (Microsoft Office) puis analysées sur IBM SPSS, version 20. Les données étaient collectées de façon anonyme et confidentielle après un consentement libre et éclairé obtenu des femmes sollicitant les services de laboratoire dans un contexte d'examen de routine.

Résultats

Nous avons enrôlé 115 femmes âgées de 16 ans et plus, chez qui les mycoplasmes ont été détectés dans 68 cas (59,1%), majoritairement avec une flore déséquilibrée de type III et IV marquée par la rareté ou l'absence de lactobacilles. Cette perturbation de la flore vaginale dans notre population d'étude était proportionnelle à la prolifération des mycoplasmes urogénitaux isolés (tableau I).

Tableau I : variation de la flore vaginale en fonction des bactéries étudiées

Type de flore	Mycoplasmes	
	Infection à <i>Uu</i> ($\geq 10^4$ UFC)	Infection à <i>Mh</i> ($\geq 10^4$ UFC)
Type I	7	1
Type II	13	--
Type III	16	3
Type IV	24	3
Total	61	7

L'examen macroscopique de nos prélèvements a montré que l'aspect mucoblancheâtre des échantillons de notre population étudiée était observé dans l'ordre de 75,7% (tableau II).

Tableau II : répartition des échantillons en fonction de l'aspect des prélèvements

Aspects	Effectifs	Pourcentage
Mucoblancheâtre	87	75,7
Mucogranuleux	13	11,3
Mucopurulent	15	13,0
Total	115	100

La tranche d'âge 31 à 35 ans était majoritaire avec 23,5% suivie de celles comprises entre 21 à 25 ans et 41 à 45 ans qui représentaient chacune avec 21,7% de notre population d'étude (tableau III).

Tableau III : fréquence des mycoplasmes urogénitaux en fonction des tranches d'âge

Tranches	Mycoplasmes	
	Infection à <i>Uu</i> ($\geq 10^4$ UFC)	Infection à <i>Mh</i> ($\geq 10^4$ UFC)
16-20	7	2
21-25	17	2
26-30	3	--
31-35	13	1
36-40	2	--
41-45	14	2
46 et plus	5	--
Total	61	7

L'étude d'identification des pathogènes nous a permis de retrouver 53,0% d'infections dues au *Ureaplasma urealyticum*, 6,1% due au *M. hominis* et 4,3% de co-infections impliquant les deux espèces bactériennes (*U. urealyticum* et *Mycoplasma hominis*) (tableau IV).

Tableau IV : fréquence des infections dues aux mycoplasmes

Germes	Effectifs	Pourcentage
<i>U. urealyticum</i>	61	53,0
<i>M. hominis</i>	7	6,1
<i>Uu et Mh</i>	5	4,3

Ces infections étaient majoritairement retrouvées dans la classe d'âge comprise entre 31 et 35 ans suivie de celle comprise entre 21 et 25 ans. L'étude du comportement des germes de mycoplasmes isolés vis-à-vis de des antibiotiques testés a montré une résistance marquée de l'ordre de 85 à 96% pour les

fluoroquinolones, 13 à 85% pour les macrolides et apparentés. Cette résistance reste relativement basse pour les cyclines et la josamicine. Pour la pristinamycine la résistance était de l'ordre de 9,8% à 26,2% pour *Ureaplasma urealyticum* et 14,3% à 57,1% pour *Mycoplasma hominis* (tableau V).

Tableau V : résistance aux antibiotiques testés des différentes espèces de mycoplasmes urogénitaux

Familles et molécules d'antibiotique	<i>Ureaplasma urealyticum</i> N = 61				<i>Mycoplasma hominis</i> N = 7		
	Résistant		Sensible		Résistant	Sensible	
	n	%	n	%	n	%	N
Fluoroquinolones							
Ofloxacin	54	88,5	7	11,5	6	85,7	1
Ciprofloxacine	59	96,7	2	3,3	6	85,7	1
Cyclines							
Tétracycline	16	26,2	45	73,8	4	57,1	3
Doxycycline	6	9,8	55	90,2	1	14,3	6
Macrolides et apparentés							
Josamicine	14	23,0	47	77,0	3	42,9	4
Azithromycine	36	59,0	25	41,0	6	85,7	1
Erythromycine	29	47,5	32	52,5	5	71,4	2
Clarithromycine	20	32,8	41	67,2	4	57,1	3
Pristinamycine	8	13,1	53	86,9	1	14,3	6

Discussion

Nous avons pu documenter chez 115 femmes enrôlées dans notre étude 53,0% d'infection due à *Ureaplasma urealyticum*, 6,1% au *Mycoplasma hominis*, et 4,3% représente la fréquence de co-infection due aux *M. hominis* et *Ureaplasma urealyticum*. Au Gabon des auteurs ont rapporté 64,7 % d'infection due à *Ureaplasma urealyticum* ; 22,7 % due au *M. hominis* et 19,4 % de co-infection impliquant les deux germes [12]. En Turquie, dans une étude faisant la comparaison des prévalences des infections dues aux mycoplasmes entre une population de femmes enceintes symptomatiques et asymptomatique les auteurs ont rapporté des taux variables d'infections et de coinfections [13]. En Chine, une étude réalisée dans une population de 6051 femmes sur une période de quatre ans, les auteurs ont rapporté 31,2% d'infection due à *Ureaplasma urealyticum* ; 0,7% d'infection due au *M. hominis* et 1,9% de co-infection associant les deux germes bactériens [14]. Cette variation des taux d'infections et de co-infection dues aux mycoplasmes, pourrait être expliquée par le fait que notre étude et celles réalisées dans les pays du Nord ont porté sur des populations

symptomatiques alors que l'étude réalisée au Gabon a concerné à la fois des femmes symptomatiques et asymptomatiques. Cependant nos résultats sont comparables à ceux rapportés par des auteurs en Turquie et en Chine respectivement en 2010 et en 2016 [13, 14]. Il ressort de ces données que *Ureaplasma urealyticum* était l'espèce bactérienne la plus isolée dans ces différentes études. De toutes ces études il ressort également que la répartition des mycoplasmes suit un ordre décroissant dominé par *Ureaplasma urealyticum* suivi de *M. hominis* [12-15].

L'étude de certains aspects biologiques a permis de révéler que la perturbation de la flore vaginale dans notre population d'étude était proportionnelle à la présence des mycoplasmes urogénitaux. Mais aussi l'examen microscopique des prélèvements réalisés chez les femmes enrôlées dans notre étude a montré que l'aspect mucoblanchâtre était observé dans l'ordre de 75,7 % des cas. Peu d'équipe de recherche travaillant sur les mycoplasmes ont discuté ces deux derniers aspects.

L'absence d'un élément structural connu des mycoplasmes confère à cette famille de bactéries une résistance naturelle aux

antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne. L'étude du comportement des germes de mycoplasmes isolés vis-à-vis de certains antibiotiques testés à montrer une résistance relativement basse pour les cyclines de l'ordre de 9,8% à 26,2% pour *Ureaplasma urealyticum* et 14,3 à 57,1% pour *Mycoplasma hominis*. Nos données sont superposables à celles rapportées à Franceville au Gabon en 2020 qui variaient entre 26,1% et 44,4% [12]. Ces taux de résistance pour les cyclines sont relativement au-dessus de ceux rapportés en Turquie, en Nouvelle Guinée et au Sénégal [8, 13, 16]. La différence observée dans les taux rapportés par différentes études pourrait être dues à l'utilisation de certaines molécules de cette famille d'antibiotiques depuis la petite enfance. Les taux de résistance de nos germes étudiés aux macrolides et apparentés variaient entre 23,0 et 85,7 % pour la josamicine, l'azithromycine, l'érythromycine et la clarithromycine. Les germes isolés avaient un taux de résistance relativement faibles à la pristinamycine de l'ordre de 13,1 à 14,3 %. Des auteurs rapportent pour l'érythromycine des taux de résistance des mycoplasmes variant entre 33,3 et 97,8 % confirmant ainsi le haut niveau de résistance aux macrolides rapporté dans notre étude [16, 17]. Ces taux de résistance variables rapportés dans différentes études à travers le monde pour les mêmes germes pourraient être liés à l'attitude de la population féminine par utilisation inappropriée de produits d'hygiène tendant à déséquilibrer la flore et favorisant une prolifération bactérienne. Ils pourraient également être dus à une utilisation abusive d'antibiotiques par voie génitale. Nous avons observé des taux de résistance élevés pour les molécules testées de la famille des fluoroquinolones. Pour les germes isolés d'*U. urealyticum* et de *M. hominis* le taux de résistance était respectivement de l'ordre de 85,7% à 96,7% pour la ciprofloxacine et jusqu'à 85,7% pour l'ofloxacine. Nos taux sont inférieurs à ceux documentés par des auteurs en 2020 au Gabon qui ont rapporté un taux variant entre 96,7 et 100 % selon l'espèce de mycoplasme ou la molécule d'antibiotique de la famille des fluoroquinolones étudiée [12]. En revanche en Roumanie au cours d'une étude il a été documenté un taux de résistance plus bas que le nôtre pour l'ofloxacine qui était de l'ordre de 16,1 % pour *M. hominis* et 30 % pour *U. urealyticum* contre un taux pour la

ciprofloxacine de 75% et 53,7% respectivement pour *M. hominis* et *U. urealyticum* [17]. Ces taux élevés de résistance pourraient être dus à l'utilisation fréquente de ses deux molécules bien tolérées cause de leur faible effet secondaire engendré lors du traitement des infections génitales.

Conclusion

Cette étude nous a permis de révéler une présence élevée des mycoplasmes urogénitaux dans la population féminine étudiée à Bamako. Elle a permis aussi de donner un signal de prudence dans la prescription des antibiotiques de nouvelle génération tels que les fluoroquinolones. Malgré le niveau de résistance élevé, la pristinamycine et la doxycycline ont une activité antibactérienne conservée et demeurent des molécules de choix pour leur traitement. Une surveillance renforcée de l'évolution des résistances aux antibiotiques de ces bactéries est donc nécessaire.

Références bibliographiques

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019. Stockholm: ECDC; 2020. Stockholm European Centre for Disease Prevention.
2. Cohen R, Bingen E, Grimprel E, Raymond J, Gendrel D. Résistance aux antibiotiques: un nouveau tournant à ne pas manquer. Arch Pediatr. 2011;18(4):359-61.
3. The bacterial challenge: time to react. European Center for Disease Prevention and Control. 2013. Stockholm: ECDC.
4. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(3):813-21.
5. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005;18(4):757-789.
6. Pararas MV, Skevaki CL, Kafetzis DA. Preterm birth due to maternal infection: causative pathogens and modes of prevention. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006;25(9):562-569.

7. Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. Clin Microbiol Rev. 1993 ;6(1):69–87.
8. Sow AI, Diallo Y, El Hadi AD, Samb A. Sensibilité in vitro aux antibiotiques de 178 souches de mycoplasmes génitaux isolées chez des consultantés en gynécologie à Dakar. Bull Soc Pathol Exot. 2000 ;93(1):6–7.
9. Xinyou X., Zhang J. Trends in the rates of resistance of *Ureaplasma urealyticum* to antibiotics and identification of the mutation site the quinolone resistance-determining region Chinese patients. FEMS Microbiol Lett. 2006 ;259:181–186.
10. Duffy, L., Glass, J., Hall, G., Avery, R., Rackley, R., Peterson, S., and Waites, K. Fluoroquinolone resistance in *Ureaplasma parvum* in the United States. J Clin Microbiol. 2006 ;44(4), 1590-1.
11. Skiljevic D, Mirkov D, Vukicevic J. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in genital samples collected over 6 years at a Serbian university hospital. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2016;82:37-41.
12. Ag Baraïka M., Onanga R, Bivigou-Mboumba B, Mabika-Mabika A, Bisvigou UJ, Ndouo FS T, Kane NCT. Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in female population, Gabon. J App Biol Biotech. 2020;8(6):28-32.
13. Bayraktar MR, Ozerol IH, Gucluer N, Celik O. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women. Int J Infect Dis. 2010;14(2):e90–e95.
14. Wang Q-Y, Li R-H, Zheng L-Q, Shang X-H. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in female outpatients, 2009–2013. J Microbiol Immunol Infect. 2016;49(3):359–362.
15. Rabenja FR, Lepère P, Escarguel C, Pelissier C, Lamarque P, Malvy D. Prévalence de l'infection par mycoplasmes urogénitaux chez la femme atteinte par le VIH à Bangui (République Centrafricaine). Cahiers d'études et de recherches francophones Santé. 1998;8(3):189–192.
16. Clegg A, Passey M, Yoannes M, Michael A. High rates of genital mycoplasma infection in the highlands of Papua New Guinea determined both by culture and by a commercial detection kit. J Clin Microbiol. 1997;35(1):197–200.
17. Mihai M, Valentin N, Bogdan D, Carmen CM, Coralia B, Demetra S. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* isolated during a population-based study concerning women infertility in northeast Romania. Braz J Microbiol. 2011;42:256–260.