



Article Original

# Profil Moléculaire de Résistance aux Fluoroquinolones de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* chez les Femmes à Bamako

## *Molecular Profile of Fluoroquinolone Resistance in Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Women in Bamako*

Ibrehima Guindo<sup>1,2</sup>, Mohamed Ag Baraïka<sup>2</sup>, Zoumana Sidibé<sup>3</sup>, Issa Konaté<sup>4</sup>, Flabou Bougoudogo<sup>1</sup>, N'Deye Coumba Touré-Kané<sup>5</sup>

### Affiliations

1. Institut National de Santé Publique (INSP), Bamako-Mali
2. Faculté de Pharmacie, USTTB Bamako-Mali
3. Institut National de Formation en Sciences de la Santé (INFSS), Bamako-Mali
4. Service de Maladie infectieuses et tropicales, CHU-Point G, Bamako-Mali
5. Université du Sine Saloum El Hâdj Ibrahima Niass (USSEIN), de Kaolack, Sénégal

### Auteur correspondant

Ibrehima Guindo, PharmD, PhD Tel : +223 76078639

Email: [guindo50@gmail.com](mailto:guindo50@gmail.com)

**Mots clés :** *U. urealyticum*, *M. hominis*, fluoroquinolone, résistance, Bamako

**Key words:** *U. urealyticum*, *M. hominis*, fluoroquinolone, resistance, Bamako

### RÉSUMÉ

**Introduction.** La résistance des mycoplasmes aux fluoroquinolones a été rapportée par des auteurs en Chine, aux États Unis mais peu d'études ont concerné la détection moléculaire de cette résistance aux fluoroquinolones en Afrique. Le but de notre travail était de décrire le profil moléculaire des résistances aux fluoroquinolones de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* chez les femmes à Bamako. **Méthodologie.** Nous avons réalisé une étude transversale descriptive dont la collecte s'est déroulée de juillet à septembre 2019 soit une période de 3 mois chez les femmes avec des demandes de prélèvement vaginal pour la recherche des mycoplasmes à l'institut national de santé publique (INSP) de Bamako. **Résultats.** Nous avons recruté 63 femmes et la tranche d'âge la plus représentée était celle de 15 à 49 ans (90,5%). La prévalence des mycoplasmes urogénitaux était de 41,26% pour *U. urealyticum* et 3,17% pour *M. hominis*. Après réalisation de l'antibiogramme, la résistance à la ciprofloxacine était de 78,1% pour *U. urealyticum* contre 3,1% pour *M. hominis* tandis que la résistance à l'ofloxacine était de 50% pour *U. urealyticum* contre 3,1% pour *Mycoplasma hominis*. La recherche des mutations sur les 4 gènes était positive pour les gènes *gyrA* (9,4%), *gyrB* (43,8%), *parC* (50%) et *parE* (46,9%). La plupart des mutations étaient portées par les souches pathogènes d'*U. urealyticum*. **Conclusion.** Les mycoplasmes isolés chez les femmes présentaient fréquemment une résistance aux fluoroquinolones, avec des souches présentant les mutations des gènes *gyrB*, *parC* et *parE*.

### ABSTRACT

**Introduction.** Resistance of mycoplasmas to fluoroquinolones has been reported by authors in China and the United States, but few studies have focused on the molecular detection of this resistance to fluoroquinolones in Africa. The aim of our study was to describe the molecular profile of resistance to fluoroquinolones in *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women in Bamako. **Methodology.** We conducted a descriptive cross-sectional study with data collection from July to September 2019 (a period of 3 months), among women with requests for vaginal swabs for mycoplasma research at the National Institute of Public Health (INSP) in Bamako. **Results.** We enrolled 63 women, with the most represented age group in our study being 15 to 49 years old (90.5%). The prevalence of urogenital mycoplasmas was 41.26% for *U. urealyticum* and 3.17% for *M. hominis*. After performing antibiogram, the resistance rate to ciprofloxacin was 78.1% for *U. urealyticum* compared to 3.1% for *M. hominis*, while that of Ofloxacin was 50% for *U. urealyticum* compared to 3.1% for *Mycoplasma hominis*. Mutation analysis of the 4 genes was positive for the *gyrA* (9.4%), *gyrB* (43.8%), *parC* (50%), and *parE* (46.9%) genes. Most mutations were carried by pathogenic strains of *U. urealyticum*. **Conclusion.** Mycoplasmas isolated from women frequently exhibited resistance to fluoroquinolones, with strains showing mutations in the *gyrB*, *parC*, and *parE* genes.

#### POUR LES LECTEURS PRESSÉS

##### Ce qui est connu du sujet

La résistance des mycoplasmes aux fluoroquinolones a été rapportée par des auteurs en Chine, aux États Unis mais peu d'études ont concerné la détection moléculaire de cette résistance aux fluoroquinolones en Afrique.

##### La question abordée dans cette étude

Profil moléculaire des résistances aux fluoroquinolones de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* chez les femmes à Bamako

##### Ce que cette étude apporte de nouveau

1. La prévalence des mycoplasmes urogénitaux était de 41,26% pour *U. urealyticum* et 3,17% pour *M. hominis*.
2. 78,1% des souches d'*U. urealyticum* étaient résistantes à la ciprofloxacine contre 3,1% pour *M. hominis* tandis que 50% des souches d'*U. urealyticum* étaient résistantes à l'Ofloxacin était de contre 3,1% pour *Mycoplasma hominis*.
3. La recherche des mutations sur les 4 gènes était positive pour les gènes *gyrA* (9,4%), *gyrB* (43,8%), *parC* (50%) et *parE* (46,9%).
4. La plupart des mutations étaient portées par les souches pathogènes d'*U. urealyticum*.

##### Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

Une surveillance moléculaire s'avère nécessaire afin de mieux décrire les mutations aux fluoroquinolones chez les mycoplasmes.

fluoroquinolones constituent des molécules de choix pour le traitement des infections des voies génito-urinaires [9]. Des études réalisées les années antérieures avaient montré des résistances aux fluoroquinolones en Asie, en Europe et en Amérique. Xinyou et al. ont rapporté une résistance aux fluoroquinolones supérieure à 50% chez un grand nombre de souches isolées en Chine entre 1999 et 2004 [10]. Des isolats cliniques d'*Ureaplasma* spp et de *Mycoplasma hominis* résistants aux fluoroquinolones ont également été décrits en 2000 et 2003 en France [11, 12]. Aux Etats-Unis, Duffy et al. ont rapporté en 2006 le premier cas de résistance aux fluoroquinolones d'*Ureaplasma parvum* [13]. En Chine entre 2009 et 2013, plus de 50% des mycoplasmes étaient résistantes aux quatre molécules suivantes de la famille des quinolones : sparfloxacine, levofloxacine, ciprofloxacine et l'ofloxacin [14]. Bien que ce constat d'une résistance élevée des mycoplasmes aux fluoroquinolones soit rapporté par des auteurs, peu d'études ont concerné la détection moléculaire de leur résistance aux fluoroquinolones. Ainsi une meilleure connaissance des supports moléculaires de résistance des souches de mycoplasmes permettra non seulement de mieux comprendre les mécanismes associés, mais également d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients au cours des infections génitales. D'où le but de cette étude de décrire le profil moléculaire de résistance des mycoplasmes urogénitaux aux fluoroquinolones.

#### PATIENTS ET MÉTHODES

##### Cadre et lieu de l'étude

L'Institut National de de Santé Publique (INSP) de Bamako a servi de cadre pour cette étude transversale descriptive dont la collecte s'est déroulée de juillet à septembre 2019 soit une période de 3 mois chez les femmes avec des demandes de prélèvement vaginal pour la recherche des mycoplasmes.

##### Échantillon biologique

L'échantillon biologique était de prélèvement cervico-vaginal réalisé avec deux écouvillons après une mise en évidence du col de l'utérus à l'aide d'un speculum. Les prélèvements étaient effectués au niveau des culs de sac vaginaux et de l'endocol. 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.

##### Diagnostic et sensibilité aux antibiotiques

Détermination du type de flore : Le prélèvement vaginal effectué a fait l'objet de coloration de Gram afin d'apprécier la quantité moyenne de bactérie par champs selon leur morphologie. Étaient considérés, les bacilles à Gram positifs de type lactobacilles, les autres bacilles à Gram positif et les bacilles à Gram négatif correspondant à la prolifération polybactérienne, et les bacilles incurvés comment précédemment décrit [15]. Quatre types de flores ont ainsi été établis : 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

#### INTRODUCTION

Les infections sexuellement transmissibles (IST) constituent un problème majeur de santé publique et sont contractées par un million de personnes chaque jour dans le monde [1]. Dans la majorité des cas elles sont asymptomatiques accompagnées de symptômes bénignes. Parmi les micro-organismes impliqués sont constitués de nombreuses espèces bactériennes dont *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* [2]. Les mycoplasmes sont des germes ubiquitaires, initialement confondus avec les virus et furent ensuite assimilés à des bactéries car ont une activité métabolique propre et sont cultivables sur les milieux de culture. Certains sont retrouvés à l'état commensal chez l'homme et sont responsables d'infections respiratoires, génitales et systématiques chez les immunodéprimés [3, 4]. Quatre espèces à savoir *U. urealyticum*, *U. parvum*, et *M. hominis*, *M. genitalium* sont responsables plusieurs manifestations cliniques entre-autre les vaginoses, les endométrites, les salpingites, les chorioamniotites, les vulvo-vaginites subaiguës, les urétrites non-gonococciques, les cervicites [5, 6]. Au Gabon, une étude publiée en 2020 sur 278 femmes a rapporté une prévalence de 64,7% pour *U. urealyticum*, 22,7% pour le *M. hominis*, et une résistance atteignant 100% dans certains cas aux fluoroquinolones [7]. Au Mali, une étude réalisée entre 2014 et 2017 a rapporté une fréquence des mycoplasmes de l'ordre de 47,61% pour *U. urealyticum* et 3,17% pour *M. hominis* avec une résistance aux fluoroquinolones de plus de 80% [8]. Les

lactobacille par champs avec prolifération polymicrobienne) et de type IV (absence de lactobacilles avec prolifération polymicrobienne).

### Identification des mycoplasmes

Le diagnostic a été réalisé à l'aide du Kit Mycoplasma IST2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) 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 de culture sélectif à une galerie comprenant 22 puits. Le bouillon est 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, de visualiser un changement de couleur du bouillon 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<sup>4</sup> Unité Formant Colonie (UFC), ce qui permet de définir une colonisation pour un titre inférieur à 10<sup>4</sup>UFC. La lecture des cupules était réalisée en 24 heures puis 48 heures d'incubation à 36 ± 2°C. Sensibilité aux antibiotiques : La sensibilité à neuf antibiotiques a été déterminée par le même kit à savoir la tétracycline, doxycycline, josamycine, érythromycine, azithromycine, clarythromycine, ofloxacin, ciprofloxacine, et pristinamycine appartenant aux familles des cyclines, des macrolides et streptogramines. Une couleur orange à rouge correspondait à une croissance, donc une résistance à l'antibiotique.

### Recherche de mutation des gènes codant pour les enzymes cibles des fluoroquinolones

Extraction de l'ADN bactérien : L'extraction de l'ADN bactérien à partir d'une culture de souches résistantes aux fluoroquinolones a été réalisée par choc thermique suivi d'une purification à l'aide du kit QIAamp DNA Mini kit 250 (Qiagen, USA). Le choc thermique a consisté à centrifuger 1ml de culture dans un microtube pendant 10 minutes à 7500 rpm et à reprendre le culot qui a été soumis à une ébullition (choc thermique) à 100°C pendant 5 minutes et ensuite incubé à 37°C au bain-marie pendant 30 minutes. Le lysat obtenu a été purifié par le protocole du kit QIAamp DNA Mini kit 250 (Qiagen, USA) en ajoutant successivement 25µL de protéase K et 200µL de tampon AL sans éthanol, le tout incubé à 56°C pendant 30 minutes. Après ajout de 260µL d'éthanol (96-100%), le mélange a été transféré dans un tube à colonne QIAamp de 2ml afin de retenir les acides nucléiques, puis lavé avec 500µL de tampon AW1 et 500µL de tampon AW2. Les acides nucléiques ainsi purifiés ont été élués dans 200µL de tampon AE et gardés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

### Amplification

L'amplification, permettant de détecter les mutations des gènes de l'ADNgyrase et de la Topoisomérase IV au niveau de la région QRDR (quinolone resistance-

determining regions), a porté sur les gènes gyrA (position des nucléotides de 200 à 536), gyrB (position des nucléotides de 1261 à 1570), parC (position des nucléotides de 149 à 457), et parE (position des nucléotides de 1159 à 1448) en utilisant les séquences d'amorces décrites (Tableau I) [11, 16]. Un mélange réactionnel (Mix) de 45µl constitué de 34,8µl d'eau de grade biologie moléculaire, de 2,5µl de tampon 10x, de 1,5µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM, de 1µl de dNTP 10 mM, de 0,2µl de Taq ADN polymérase 5U et de 1,25µl de des amorces 20mM est préparé.

**Tableau I. Gènes cibles et séquences des amorces de détection des mutations de la région QRDR (quinolone resistance-determining regions)**

Régions cibles	Séquences d'amorces	T(b p)
<b>gyrA</b>		
gyrA-1	5'-TTGCTGCTTTTCGAAAACGG-3'	336
gyrA-2	5'-CTGATGGTAAAACACTTGG-3'	
<b>gyrB</b>		
gyrB-3	5'-CCTGGTAAATTAGCTGACTG-3'	310
gyrB-4	5'-TTCGAATATGACTGCCATC-3'	
<b>parC</b>		
parC-5	5'-ACGCAATGAGTGAATTAGG-3'	309
parC-6	5'-CACTATCATCAAAGTTTGGAC-3'	
<b>parE</b>		
parE-7	5'-ATGGGCGGAAAATTAACGC-3'	313
parE-8	5'-CTTGGATGTGACTACCATCG-3'	

T : Tailles des amplicons

Ce mélange est additionné à 5µl d'ADN extrait précédemment et amplifié à l'aide d'un thermocycleur ABI GeneAmp 9700 PCR system (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) en utilisant le programme suivant : une dénaturation pendant de 5 min à 94°C d'un cycle, une amplification de 35 cycles de 45 secondes respectivement à 94°C, 57°C et 72°C et une élongation finale à 72°C de 5 min.

### Révélation

Les produits PCR issus de l'amplification ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% préparé dans un tampon TAE (Tris-EDTA) et visualisés à l'aide d'un transilluminateur les tailles d'amplicon attendues (tableau I) avec une échelle de poids moléculaire (DNA molecular weight 100µg, promega).

### Analyse des données

Les données sociodémographiques, les données d'identification des mycoplasmes ainsi que celles de résistance phénotypiques et moléculaires aux fluoroquinolones ont été saisies sur Excel (Microsoft Office) à partir d'un formulaire de collecte et analysées sur le logiciel IBM SPSS, version 20.

### Considérations éthiques

Les femmes ayant participé à l'étude ont toutes donné leur consentement libre et éclairé. L'étude visait à réaliser des tests moléculaires sur les souches résistantes aux fluoroquinolones. Aucun prélèvement supplémentaire n'a donc été effectué. Les femmes ont bénéficié de la gratuité des examens et les données collectées étaient anonymes et confidentielles.

**RÉSULTATS**

**Description de la population**

L'étude a inclus 63 femmes majoritairement des ménagères (49,2%) et la tranche d'âges comprise entre 15-49 ans étaient largement plus représentée avec 90,5% des cas (tableau II). La détermination de la flore vaginale a montré que la flore de type I a été observée chez 28 femmes (soit 44,5%) et la flore de type II et IV respectivement chez 14 femmes (tableau III).

**Tableau II. Caractéristiques sociodémographiques des femmes incluses**

Caractéristiques	N=63	%
<b>Tranche d'âge (ans)</b>		
< 15	1	1,6
15 -49	57	90,5
50 et plus	5	7,9
<b>Profession</b>		
Agent de santé	5	7,9
Agent de l'administration	7	11,1
Commerçante	8	12,7
Etudiante	12	19,1
Ménagère	31	49,2

**Tableau III. Répartition de la population d'étude selon le type de flore vaginale et les espèces de mycoplasmes détectées.**

Variabes	N=63	%
<b>Type de flore</b>		
Type I	28	44,5
Type II	14	22,2
Type III	7	11,1
Type IV	14	22,2
<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>		
Pathogène	26	41,3
Commensal	4	6,3
Négatif	33	52,4
<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>		
Pathogène	02	3,2
Commensal	00	00
Négatif	61	96,8

**Répartition des mycoplasmes détectés**

Ce travail a permis l'isolement de 32 mycoplasmes et *U. urealyticum* a été nettement plus retrouvé que *M. hominis*. La fréquence d'isolement d'*U. urealyticum* en concentration pathologique ( $\geq 10^4$ UFC) était de 41,3% et celle de *M. hominis* était de 3,2%. Le portage commensal a été retrouvé dans quatre (04) cas avec un titre inférieur à  $10^4$ UFC (voir tableau III). Nous avons observé un cas de co-infection à *M. hominis* et *U. urealyticum*. La répartition

par tranche d'âge des mycoplasmes a montré une fréquence plus élevée des formes pathologiques chez les femmes en âge de procréer (15-49 ans), bien que peu de formes commensales aient été détectées (tableau IV).

**Résistance des mycoplasmes aux antibiotiques**

L'antibiogramme réalisé sur les 32 souches de *M. hominis* et de *U. urealyticum* pathogènes et commensales a montré un niveau de résistance élevé aux fluoroquinolones (Tableau V) vis-à-vis des autres antibiotiques avec 78,1% (soit 25/32) de résistance la ciprofloxacine pour *U. urealyticum* et 3,1% (soit 1/32) pour *M. hominis*. La résistance à l'Ofloxacine était de 50% (soit 16/32) pour *U. urealyticum* et de 3,1% (soit 1/32) pour *Mycoplasma hominis*.

**Mutations de la région QRDR (*gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*)**

La recherche des mutations sur les quatre gènes de la région QRDR chez les 32 souches était positive dans 3 cas pour le gène *gyrA* (9,4%), 14 cas pour le gène *gyrB* (43,8%), 16 cas pour le gène *parC* (50%) et 15 cas pour le gène *parE* (46,9%). Nous avons trouvé un seul cas de mutation simultanée au niveau des gènes *gyrA* et *parC*, exprimant une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones. Nous avons observé une fréquence plus élevée (8/32) de mutations simultanées des gènes *gyrB* et *parE*. La plupart des mutations étaient portées par les souches pathogènes d'*U.urealyticum* à savoir : 2/3 cas pour le gène *gyrA*, 12/14 cas pour le gène *gyrB*, 15/16 cas pour le gène *parC* et 12/15 cas pour le gène *parE* (tableau VI).

Chez les souches commensales d'*U. urealyticum*, quatre mutations ont été observées dont deux du complexe ADNgyrase (1 pour chaque gène *gyrA* et *gyrB*) et deux de la Topoisomérase IV toutes pour le gène *parE* (tableau VI). Concernant les deux souches pathogènes de *M. hominis*, aucune mutation n'a été observée sur les deux gènes du complexe ADNgyrase (*gyrA* et *gyrB*) mais les gènes *parC* et *parE* avaient chacun respectivement un cas de mutation (tableau VI).

Vis-à-vis des fluoroquinolones testées, des mutations ont été aussi bien observées chez les souches résistantes à la ciprofloxacine qu'à l'ofloxacine. Sur 26 souches résistantes à la ciprofloxacine, 03 ont présenté des mutations au gène *gyrA*, 11 au gène *gyrB*, 12 au gène *parC* et 10 au gène *parE*. Sur 17 souches résistantes à l'ofloxacine, 01 a présenté des mutations au gène *gyrA*, 06 au gène *gyrB*, 08 au gène *parC* et 05 au gène *parE* (tableau VI).

**Tableau IV. Répartition des mycoplasmes pathogènes et commensaux selon les tranches d'âge**

Tranche d'âge	<i>Ureaplasma urealyticum</i> N(%)			<i>Mycoplasma hominis</i> N(%)		
	Pathogène	Commensal	Négatif	Pathogène	Commensal	Négatif
<15 ans	0 (0)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	0	1 (1,7)
15 à 49 ans	26 (100)	4 (100)	27 (81,8)	1 (50)	0	56 (91,8)
$\geq 50$ ans	0 (0)	0 (0)	05 (15,2)	1 (50)	0	4 (6,5)
Total	26 (100)	4 (100)	33 (100)	2 (100)	0	61 (100)

Pathogène :  $\geq 10^4$  UFC /ml, Commensal :  $< 10^4$  UFC/ml

Nous avons également constaté que des souches sensibles aux fluoroquinolones portaient également des mutations. Sur 6 souches sensibles à la ciprofloxacine, 03 portaient la mutation sur le gène *gyrB*, 04 sur le gène *parC* et 05 sur le gène *parE*.

De même, sur 15 souches sensibles à l'ofloxacin, 02 portaient la mutation sur le gène *gyrA*, 08 sur le gène *gyrB*, 08 sur le gène *parC* et 10 sur le gène *parE* (tableau VI).

Antibiotiques (n=32)	Sensibilité N(%)	Résistance N(%)
<b>Famille des cyclines</b>		
Tétracycline	27 (84,4%)	5 (15,6%)
Doxycycline	30 (93,7%)	2 (6,3%)
<b>Famille des fluoroquinolones</b>		
Ciprofloxacine	6 (18,8%)	26 (81,2%)
Ofloxacin	15 (46,9%)	17 (53,1%)
<b>Famille des macrolides et apparentés</b>		
Azithromycine	28 (87,5%)	4 (12,5%)
Clarythromycine	26 (81,2%)	6 (18,8%)
Erythromycine	25 (78,1%)	7 (21,9%)
Josamycine	32 (100%)	0 (0%)
Pristinamycine	32 (100%)	0 (0%)

Variables	Gènes du complexe QRDR			
	Région ADNgyrase		Région Topoisomérase	
	<i>gyrA</i>	<i>gyrB</i>	<i>parC</i>	<i>parE</i>
<b>Type de portage des mycoplasmes</b>				
U.u pathogène (n=26)	2	12	15	12
U.u commensal (n=4)	1	1	0	2
M.h pathogène (n=2)	0	0	1	1
U.u + Mh commensal (n =1)	0	1	0	0
<b>Sensibilité phénotypique des fluoroquinolones</b>				
Ciprofloxacine				
Résistant (n=26)	3	11	12	10
Sensible (n=6)	0	3	4	5
Ofloxacin				
Résistant (n=17)	1	6	8	5
Sensible (n=15)	2	8	8	10
Total	3 (9,4%)	14(43,8%)	16 (50%)	15 (46,9%)
Pathogène : $\geq 10^4$ UFC ; Commensal : $< 10^4$ UFC ; U.u : <i>Ureaplasma urealyticum</i> ; M.h : <i>Mycoplasma hominis</i> ; QRDR : quinolone resistance-determining regions				

## DISCUSSION

### Fréquence d'isolement de smycoplasmes

Au cours de cette étude réalisée chez 63 femmes majoritairement âgées de 15 à 49 ans, nous avons observé une fréquence des mycoplasmes urogénitaux de 41,26 % pour *U. urealyticum*, de 3,17 % pour *M. hominis* et une co-infection associant les deux germes. Ces résultats sont superposables à ceux rapportés par Sangaré en 2018 à Bamako [8]. Nos taux sont au-dessus de ceux rapportés par Djigma et al. en 2008 dans une population de personnes vivant avec le VIH (PVVIH) à Ouagadougou qui a retrouvé une prévalence de 0,8 % pour *M. hominis* et 10% pour *U. urealyticum* [13]. En Chine une équipe de chercheurs a rapporté dans une population de femme sur une durée de quatre ans, 31,2 % d'infection à *U. urealyticum*, 0,7% d'infection à *M. hominis* et une co-infection de 1,9% par les deux mycoplasmes [14]. Ces différences observées avec ces études pourraient être due à des biais d'échantillonnage mais surtout à la différence de portage des espèces commensales des mycoplasmes.

Toutefois, il ressort des différents travaux que la distribution des mycoplasmes est du même ordre décroissant, dominée par *U. urealyticum* suivie de *M. hominis* avec la présence de co-infection par les deux germes [8, 13, 14].

### Résistance aux fluoroquinolones

Nous avons réalisé l'antibiogramme sur 32 souches de *M. hominis* et de *U. urealyticum* pathogènes et commensales. La résistance à la ciprofloxacine était majoritaire et de l'ordre de 78,1% pour *U. urealyticum* contre 3,1% pour *M. hominis*. La résistance à l'Ofloxacin pour *U. urealyticum* était de 50% contre 3,1% pour *Mycoplasma hominis*. La résistance de *M. hominis* à la ciprofloxacine se présentait différemment de celle rapportée en 2011 dans une étude de prévalence de résistance aux fluoroquinolones menée au nord de la Roumanie qui a rapporté une résistance à la ciprofloxacine de 75% pour *M. hominis* [17]. Nos taux de résistances étaient en dessous de ceux rapportés à Abidjan, où *U. urealyticum* était résistant à la ciprofloxacine et l'ofloxacin dans l'ordre respectivement de 84,9% et 81,1% ; pour *M. hominis* les auteurs ont rapporté une résistance de 80,5%

pour la ciprofloxacine et 78% pour l'Ofloxacine [18]. Plusieurs facteurs peuvent expliquer les différences observées notamment le portage des mycoplasmes dominé par *U. urealyticum* dans la population féminine à Bamako avec très peu de *M. hominis*. Le comportement des femmes vis-à-vis de l'utilisation des produits d'hygiène ainsi que des ovules contenant des antibiotiques sont susceptibles non seulement de jouer sur l'équilibre de la flore mais également favoriser la sélection des mycoplasmes résistants. Nos taux de résistance aux fluoroquinolones étaient superposables à ceux rapportés en 2018 à Bamako [8] montrant une constance dans la fréquence d'isolement plus élevée des *U. urealyticum* et les taux de résistance observés ayant peu évolués. Nos taux de résistance restent inférieurs à ceux rapportés dans une population de 278 femmes au Gabon dont les résultats ont été publiés en 2020 [7]. Malgré la taille d'échantillon plus petite dans notre étude, nos taux de résistance de *U. urealyticum* aux fluoroquinolones demeure très élevés vis-à-vis des cyclines, macrolides et des apparentés aux macrolides. Ces hauts niveaux de résistance dans les populations étudiées pourraient s'expliquer par la consommation abusive de ces molécules utilisées également pour le traitement de diverses infections.

#### Mutations de la région QRDR (*gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*)

Pour l'étude moléculaire de détection des gènes de mutations associés à la résistance aux fluoroquinolones au niveau des complexes ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*), et Topoisomérase IV (*parC* et *parE*). Nos résultats montrent qu'il avait plus de mutations dans le complexe Topoisomérase IV que dans le complexe ADN gyrase. Nous avons détecté un seul cas de mutation simultanée au niveau des gènes *gyrA* et *parC*. Ceci correspond à une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones. Plusieurs études ont montré que le haut niveau de résistance aux fluoroquinolones est associé à la présence simultanée de mutations des gènes *gyrA* et *parC* [19-21]. En marge de cette mutation de haut niveau, nous avons observé une fréquence plus élevée de mutations simultanées des gènes *gyrB* et *parE*. Ces autres mutations expriment un bas niveau de résistance donc altérant moins significativement la fixation des fluoroquinolones au niveau du complexe ADN gyrase contrairement au cas du couple *gyrA* et *parC* [19, 22]. L'analyse des mutations observées ainsi que des résistances phénotypiques montrent que des mutations sont aussi bien fréquentes chez les souches sensibles et les souches résistantes aux fluoroquinolones. Les souches sensibles, présentant des mutations, deviendront alors résistantes si elles accumulent des mutations supplémentaires au niveau de la région QRDR favorisant les doubles mutations *gyrA* et *parC* qui confèrent une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones. Ceci laisse présager une augmentation progressive de la résistance des mycoplasmes aux fluoroquinolones. Cependant, nous n'avons pas assez de données sur la résistance des mycoplasmes commensaux afin de mieux apprécier le risque de progression de la résistance. Toutefois, les souches commensales sont

celles qui, par prolifération, atteignent des titres pathogènes à la suite d'un déséquilibre de la flore.

#### CONCLUSION

Cette étude montre qu'*U. urealyticum* est le mycoplasme le plus isolé dans la population féminine en âge de procréer à Bamako avec des taux de résistance élevés aux fluoroquinolones. Les mutations des régions QRDR étaient observées aussi bien chez les souches sensibles que les souches résistantes aux fluoroquinolones avec la présence du couple *gyrB* et *parE* témoignant de l'accumulation des mutations, et surtout du couple *gyrA* et *parC* conférant une résistance de haut niveau. Une surveillance moléculaire s'avère nécessaire afin de mieux décrire les mutations aux fluoroquinolones chez les mycoplasmes.

#### Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt

#### RÉFÉRENCES

1. WHO. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. Accountability for the global health sector strategies 2016–2021: actions for impact. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Boudry P., Mycoplasmes uro-génitaux: Implications en pathologie humaines. Louvain Med. 1998 ; 117 :128-141.
3. Bebear C M., de Barbeyrac B., Pereyre S., Bebear C., Mycoplasmes et *chlamydiae* : Sensibilité et résistance aux antibiotiques. Rev Fr lab. 2007 ;37(391) :77-85.
4. Bebear C., Bebear C M. Infections humaines à mycoplasmes. Rev Fr lab. 2007; 37(391):63-9.
5. Demba E., Morinson L., Van Der Loeff M. S., Awasana Akum A., Gooding E., Bailey R., Mayaud P. And West B., Bacterial vaginosis, vaginal flora patterns and vaginal hygiene practices in patients presenting with vaginal discharge syndrome in Gambia, West Africa. BMC Infect Dis. 2005; 5 :1-12.
6. Guibert.M., V. Zupan.M. A. Attou .M. Dehan, and P. Nordmann, Colonisation de nouveau-nés prématurés par les mycoplasmes uro-génitaux : leur rôle au cours des dysplasies broncho-pulmonaires. Med Mal Infect. 1996; 26 (Suppl\_5):612-617.
7. M. Ag Baraïka , R. Onanga, B. Bivigou-Mboumba , A. Mabika-Mabika , U. J. Bisvigou , F. S. Touré Ndouo , N. C. Touré-Kane. Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in female population, Gabon. J App Biol Biotech. 2020 ;8(6):28-32.
8. Sangaré M., Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Mycoplasma* identifiées chez les femmes au laboratoire de bactériologie –Virologie de l'INRSP de 2014 à 2017 à Bamako, [Thèse de Pharmacie]: Faculté de Pharmacie, USTTB ; 2018.
9. Taylor-Robinson D., and Bebear C. Antibiotic susceptibilities of mycoplasmas and treatment of mycoplasma infections. J Antimicrob Chemother. 1997;40(5), 622-30.
10. 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(2):181-186.
11. Bébéar C. M., Renaudin H., Charron A., Gruson D., Lefrançois M., Bébéar C. In vitro activity of trovafloxacin compared to those of five antimicrobials against

- mycoplasmas including *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* fluoroquinolone-resistant isolates that have been genetically characterized. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(9): 2557-2560.
12. Bébéar C. M., Renaudin H., Charron A., Clerc M., Pereyre S., Bébéar C. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* resistant to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(10): 3323-3325.
  13. 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.
  14. Qing-Yong Wang, Rong-Hai Li, Lu-Qing Zheng, Xiao-Hong Shang. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in female outpatients, 2009-2013. *J. Microbiol Immunol infect.* 2016;49(3):359-62.
  15. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29(2):297-301.
  16. Kawai Y, Nakura Y, Wakimoto T, Nomiyama M, Tokuda T, Takayanagi T et al. In vitro activity of five quinolones and analysis of the quinolone resistance-determining regions of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* in *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* clinical isolates from perinatal patients in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(4):2358-64.
  17. Mare M., Valentin S. N., Doroftei B., Chifiriuc M. C., Bleotu C., Socolov D. Profils de sensibilité des *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* Isolés des populations de femmes Infertiles dans le Nord de Roumanie. *Braz J Microbiol.* 2011; 42:256-260.
  18. Faye-Kette H., La Ruche G., Ali Napo L., Messou N., Vihou L., Welfens Ekra C., Dosso M. Genital mycoplasmas among pregnant women in cote d'Ivoire. West Africa prevalence and risk factors. *Int J STD AIDS.* 2000;11(9):599-602.
  19. Everett, M. J., Jin Y. F., Ricci V., and Piddock L. J. Contribution of individual mechanisms to fluoroquinolones resistant in 36 *Escherichia coli* in strains isolated from humans and animals. *Antimicrobial Agents Chemother.* 1996; 40(10):2380-6.
  20. Drlica, K., et Zhao X. ADN gyrase, topoisomérase IV et 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997. 61(3):377-392.
  21. Sharratt, M.; Sands, K.; Portal, E.A.R.; Boostrom, I.; Mondeja, B.A.; Rodríguez, N.M.; Jones, L.C.; Spiller, O.B. Defining Fluoroquinolone Resistance-Mediating Mutations from Non-Resistance Polymorphisms in *Mycoplasma hominis* Topoisomerases. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(11) :1379.
  22. Vila J., Ruiz J., Goni P., and De Anta M.T. Detection of mutation in *parC* in quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(2):491-3.