

ETUDE PRELIMINAIRE SUR LA PREVALENCE DE *MYCOPLASMA HOMINIS* ET *UREAPLASMA* *UREALYTICUM* DANS 62 PRELEVEMENTS GENITAUX FEMININS

Monzer Hamzé¹, Choula Bissar² et Hachem El-Masri²

1- Université Libanaise - Faculté de Santé Publique. P.O.Box : 246 - Tripoli -
Liban

E-mail: hamze.mm@cyberia.net.lb

2- Hôpitaux de Tripoli - Liban

(Reçu le 30 juillet 1999; accepté le 26 octobre 1999)

RESUME

Ureaplasma urealyticum et *Mycoplasma hominis* peuvent être présentes à l'état commensal dans les voies génitales; et provoquer des infections diverses chez l'homme et la femme.

La numération de ces deux bactéries dans 62 prélèvements (15 témoins et 47 présentant des signes fonctionnels et/ou cliniques) a été réalisée en milieu liquide grâce à un kit prêt à l'emploi : *Mycoplasma DUO*® (Sanofi Diagnostics Pasteur-France).

Après détermination des titrages ou unités changeant de couleur par millilitre (UCC/ml), 60% des prélèvements du groupe témoins avaient des titrages significatifs.

Ces deux bactéries ont été identifiées dans 61,7% du groupe des femmes présentant des signes fonctionnels et/ou cliniques. On constate que 53,2% des femmes étudiées dans ce groupe avaient un titre fort pour *U. urealyticum*, alors que ce titre était de l'ordre de 8,5% pour *M. hominis*.

Mots-clefs : Mycoplasmes génitaux - *Mycoplasma hominis* - *Ureaplasma urealyticum* - Infections génitales.

ABSTRACT

Ureaplasma urealyticum and *Mycoplasma hominis* may be present in the commensal state in the genital tracts and provoke various infections among men and women.

The numeration of these two bacteria in 62 specimens samples (15 controls and 47 presenting functional and/or clinical signs symptoms) has been realized in an acid medium through a ready-to-use kit: *Mycoplasma DUO*® (Sanofi Diagnostics Pasteur-France).

After determination of the titration or units changing color per milliliter (UCC/ml), 60% of the specimens samples of the "Control Group" had significant titration.

These two bacteria were identified in 61.7% of the "Women Group" presenting functional and/or clinical signs symptoms. 53.2% of these women showed significant infections by *Ureaplasma urealyticum*. Of weaker significance (8.5%) were the infections by *Mycoplasma hominis*.

Keywords: Genital mycoplasma, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and Genital infections.

INTRODUCTION

Les mycoplasmes sont les plus petits et les plus simples procaryotes capables de s'autorépliquer. Le terme mycoplasme est utilisé pour l'ensemble des mollicutes qui comporte plusieurs familles bien distinctes dont: *Mycoplasmataceae*, *Spiroplasmataceae* et *Acholeplasmataceae* et deux genres à position taxonomique incertaine: *Anaeroplasma* et *Thermoplasma*.

La famille des *Mycoplasmataceae* engendre deux genres : *Mycoplasma* (plus de 80 espèces connues) qui est rencontrée chez l'animal, les végétaux et l'homme ; et *Ureaplasma* (une seule espèce : *U. urealyticum*) isolée uniquement chez l'homme (Papierok *et al.*, 1992; Sednaoui, 1991). Si de nombreuses espèces de mycoplasmes sont pathogènes pour les animaux, une dizaine est isolée des cavités naturelles de l'homme, et seulement quatre peuvent avoir un effet pathogène pour l'homme: *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*), *M. hominis*, *M. genitalium* et *U. urealyticum* (Sednaoui, 1991).

Le rôle pathogène de *U. urealyticum* et *M. hominis* (espèces de mycoplasmes génitaux) est difficile à affirmer car ces micro-organismes sont observés à l'état commensal dans le tractus génital de nombreux sujets sains (Hill *et al.*, 1985).

La colonisation varie avec de nombreux paramètres: âge, facteurs hormonaux, race, niveau socio-économique et activité sexuelle (Sednaoui, 1991).

Néanmoins, *U urealyticum* est responsable de 15 à 20% des urétrites non gonococciques. (Papierok *et al.*, 1992, Sednaoui, 1991, Taylor-Robinson *et al.*, 1980). Chez la femme, l'infection concerne l'appareil génital à tous ses niveaux. Au cours des vaginites non-spécifiques, la fréquence de l'isolement de *M hominis* à partir de prélèvements vaginaux est élevée (Eschenbach *et al.*, 1988; Mead, 1993); par contre, les mycoplasmes ne provoquent pas de cervicite.

U urealyticum et *M hominis* sont impliquées dans les maladies de la reproduction, de la stérilité masculine, des avortements spontanés, des chorio-amniotites, les ruptures prématurées de membranes ou les septicémies des post-partums et post-abortums (Beber *et al.*, 1989; Carroll *et al.*, 1996; Copine *et al.*, 1991; Garite *et al.*, 1982; Kelly *et al.*, 1987; Minkoff *et al.*, 1984; Zahawi *et al.*, 1990).

En pathologie néonatale les bactéries sont également impliquées dans les hypotrophies néonatales et chez les prématurés. Elles peuvent être aussi responsables de prostatites chroniques, maladies articulaires chez les immunodéprimés et des patients atteints de syndrome uréto-conjonctivo-synovial (Syndrome de Fiessinger - Leroy-Reiter) (Beber *et al.* 1989; Bruner *et al.*, 1983; Webster *et al.*, 1978).

Les mycoplasmes paraissent responsables d'infections respiratoires, de méningites et de septicémies secondaires à l'atteinte maternelle (Hes *et al.*, 1996).

Le diagnostic des Mycoplasmes urogénitaux repose actuellement sur l'utilisation des milieux d'identification à l'urée et à l'arginine. La numération des mycoplasmes se fait soit en milieu liquide par dilution, le résultat est exprimé dans ce cas-là en UCC/ml (unités changeant couleur), soit en milieu gélosé, le résultat est alors exprimé en UFC/ml (unités formant colonie) (Papierok *et al.*, 1992; Sednaoui, 1991). En raison de la dualité de leur état commensaux ou pathogènes, l'interprétation de leur isolement à partir de prélèvements urogénitaux chez l'adulte doit tenir compte de critères quantitatifs; la notion de traitement dépend du titre en mycoplasmes et du contexte clinique.

Le but de ce travail est d'étudier la prévalence de *U urealyticum* et *M hominis* dans des prélèvements vaginaux.

MATERIEL ET METHODES

Patientes

L'étude a été effectuée sur 62 prélèvements vaginaux répartis comme suit : 15 provenant de femmes mariées saines, sans aucun signe clinique ou fonctionnel; leur moyenne d'âge est 33,2 ans; elles sont prises comme groupe témoin. 47 appartiennent à des femmes dont la moyenne d'âge est 26,8 ans ; elles présentent

des signes cliniques et /ou fonctionnels (un formulaire a été rempli pour chaque patiente).

Prélèvements

Les mycoplasmes ont une affinité toute particulière pour les cellules épithéliales du revêtement cutanéomuqueux. Il est donc nécessaire, pour détecter leur présence, d'obtenir un échantillon parmi le plus riche possible en cellules. Les sécrétions sont prélevées au niveau de l'orifice externe du col et/ou au niveau de l'urètre, par un grattage doux, en utilisant un écouvillon en coton.

Technique utilisée

Nous avons utilisé un kit prêt à l'emploi (Mycoplasma DUO® Sanofi-Diagnostics Pasteur) (Fig. 1). Il permet la culture, l'identification et le titrage différentiel des mycoplasmes urogénitaux; un mode de lecture simplifié permet l'interprétation précise des résultats en 24 à 48 heures.

Principe

L'identification et le titrage des mycoplasmes urogénitaux reposent sur l'utilisation de leurs propriétés métaboliques :

- hydrolyse de * l'urée par *Ureaplasma urealyticum* (UU)
- de * l'arginine par *Mycoplasma hominis* (MH)

avec libération d'ammoniaque et alcalinisation du milieu. La réaction est visualisée par le virage du jaune au rouge de l'indicateur de pH (rouge de phénol) :

- * cupule jaune : absences de mycoplasmes
- * cupule rouge : présences de mycoplasmes.

Mode opératoire

L'ensemencement de la microplaque a été réalisé selon le protocole proposé par Sanofi-Diagnostics Pasteur.

Lecture-interprétation

* Une première lecture est effectuée après 24 h d'incubation: elle permet d'obtenir un résultat définitif dans le cas général des titres forts ($\geq 10^4$ UCC/ml).

* une deuxième lecture, réalisée après 48 h d'incubation, est nécessaire pour:

- confirmer le négatif,
- révéler les souches à titre faible ($\leq 10^3$ UCC/ml),
- révéler les souches à titre fort ($\geq 10^4$ UCC/ml), présentant un métabolisme lent.

RESULTATS

Le tableau 1 exprime les résultats obtenus pour les deux groupes étudiés.

Le tableau 2 montre la répartition des signes fonctionnels ou cliniques chez

les 47 femmes étudiées.

Les résultats obtenus montrent que dans le "Groupe témoins", 33,33% des prélèvements avaient un titre fort uniquement pour *U urealyticum* (titre $\geq 10^4$ UCC/ml), alors que ce titre était de l'ordre de 6,67% pour *M hominis* seule. D'après le tableau I, on constate que 60% des prélèvements sont positifs pour *U urealyticum* (les deux titres ensemble), alors que la valeur est de l'ordre de 13,34% pour *M hominis*.

Si on analyse maintenant le commensalisme des deux bactéries, on remarque qu'une seule femme avait un titre fort pour les deux bactéries associées (6,67%); et une autre avait un titre faible pour les deux (6,67%).

De plus, on constate que cinq femmes avaient un titre fort (33,33%), et deux avaient un titre faible (13,33%) pour *U urealyticum*, alors qu'elles étaient négatives pour *M hominis*.

Tableau 1. Résultats des différents titres obtenus pour les deux groupes étudiés.

Titrages	Groupe malades (n = 47)		Groupe témoins (n = 15)	
U.U. $\geq 10^4$ UCC/ml et MH $\geq 10^4$ UCCI/ml	4	8,51%	1	6,67%
U.U. $\geq 10^4$ UCC/ml et MH (absence)	20	42,56%	5	33,33%
U.U. $\geq 10^4$ UCC/ml et MH $\leq 10^3$ UCCI/ml	1	2,13%	0	0%
U.U. $\leq 10^3$ UCC/ml et M.H. $\leq 10^3$ UCCI/ml	2	4,25%	1	6,67%
U.U. $\leq 10^3$ UCC/ml et M.H. (absence)	2	4,25%	2	13,33%
U.U. (absence) et M.H. (absence)	18	38,30%	6	40%

Légendes:

- U.U. $\geq 10^4$ UCC/ml; = titre de *Ureaplasma urealyticum* en unités changeant de couleur.
- U.U. $\leq 10^3$ UCC/ml = titre de *Ureaplasma urealyticum* en unités changeant de couleur.
- M.H. $\geq 10^4$ UCC/ml; = titre de *Mycoplasma hominis* en unités changeant de couleur.
- M.H. $\leq 10^3$ UCC/ml = titre de *Mycoplasma hominis* en unités changeant de couleur.
- U.U. (absence) = absence de *Ureaplasma urealyticum*.
- M.H. (absence) = absence de *Mycoplasma hominis*.

Tableau 2. Répartition des signes fonctionnels et cliniques chez les 47 femmes étudiées.

Signes fonctionnels n = 47		Signes cliniques n = 47	
Brûlure	11	Colpite	14
Prurit	13	Vaginite	18
Leucorrhée	22	Vulvite	9
Dyspareunie	13	Erythème	9
Dysurie	6	-	

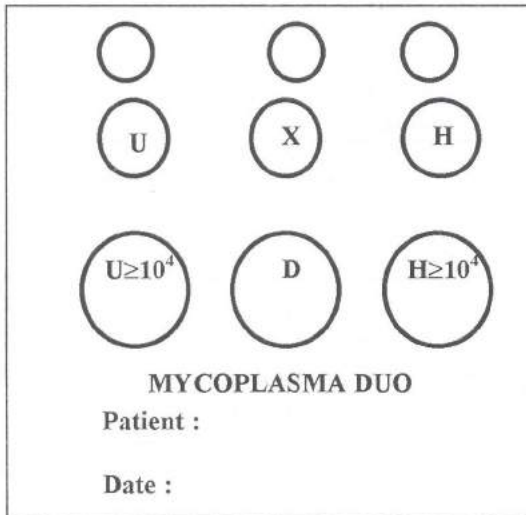


Figure 1. Description de la microplaque DUO® utilisée

Chaque microplaque comprend six cupules contenant :

- * des substrats déshydratés pour l'identification.
- * des facteurs de croissance des mycoplasmes pour une sensibilité optimale.
- * des inhibiteurs de croissance de la flore polymorphe associé pour une sélectivité optimale

U et $U \geq 10^4$: Identification et titrage d'U (contiennent de l'urée)

H et $H \geq 10^4$: Identification et titrage de MH (contiennent de l'arginine)

D : cupule de dilution

X : enrichissement sélectif en mycoplasmes

DISCUSSION

Les valeurs obtenues montrent que la prévalence des mycoplasmes est importante dans le groupe témoin avec une dominance nette pour *U urealyticum*.

De nombreuses observations démontrent la contagiosité par voie sexuelle. Dès les premiers rapports sexuels, le taux d'isolement des mycoplasmes augmente et on peut alors établir une corrélation entre ce taux et l'activité sexuelle. Cette colonisation augmente plus vite chez la femme que chez l'homme, elle est aussi plus forte chez les personnes de niveau socio-économique bas (Eschenbach *et al.*, 1988; Hill *et al.*, 1985; Mead, 1993; Papierok *et al.*, 1992; Sednaoui, 1991).

Samra *et al.*, 1988, ont effectués 513 analyses dont la majorité proviennent des malades présentant des inflammations urogénitales. L'étude a montré que *U urealyticum* a été isolée dans 95 prélèvements, suivis par *M hominis* (37 cas) et *M fermentans* (2 cas), ils ont signalés finalement l'absence de *M genitalium* dans les différents prélèvements analysés.

Bien que commensaux des voies génitales basses, les mycoplasmes humains puissent provoquer des manifestations cliniques lorsqu'ils prolifèrent en abondance, car ils provoquent alors un déséquilibre de la flore commensale, d'où l'importance de leur dénombrement dans les produits pathologiques.

Herman *et al.* 1990, ont réalisés une étude complète sur 9 agents infectieux responsables généralement des infections de tractus génital inférieur chez 240 jeunes femmes (193 sont symptomatiques et 47 sont asymptomatiques), l'étude a montré la présence d'une association mutuelle entre *U urealyticum* et *M hominis*, de plus ils ont constaté que la présence de l'un double la fréquence de présence de l'autre.

Si on analyse maintenant les résultats observés dans le groupe des femmes qui présentaient des signes cliniques et/ou fonctionnels, 61,7% des femmes sont considérées positives, on constate que vingt-cinq femmes avaient un titre fort pour *U urealyticum* (53,2%), dont vingt étaient négatives pour *M hominis*. Une femme avait un titre fort pour *U urealyticum*, alors qu'il était faible pour *M hominis* : deux avaient un titre faible pour les deux associés, et une avait un titre faible pour *U urealyticum* alors qu'elle était négative pour *M hominis*. En étudiant la prévalence des mycoplasmes génitaux (*U urealyticum* et *M hominis*) chez des couples non fertiles, SAMRA *et al.* (1994) ont constaté que la prévalence de *U urealyticum* est significativement supérieure à *M hominis*.

Il faut signaler que les critères de pathogénicité sont de l'ordre 10^4 UCC/ml pour les prélèvements génitaux (Papierok *et al.*, 1992).

En ce qui concerne les signes fonctionnels et cliniques (Tableau 2), l'ensemble des résultats montrent la présence de signes fonctionnels et/ou cliniques chez les 47 femmes étudiées; les mycoplasmes sont souvent retrouvés dans les vaginoses bactériennes ou, souvent, ils s'associent à une flore bactérienne mixte

anaérobie strict et/ou *Gardnerella vaginalis*. L'expression clinique de ces vaginoses est fruste: Leucorrhées peu abondantes, d'odeur souvent nauséabonde, accompagnées parfois d'urétrite et/ou de cystalgie. Il est classique de constater que lorsqu'il existe des signes cliniques, leur nombre excède 10^4 UCC/ml (Hill *et al.*, 1985; Sednaoui, 1991).

CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent que *U urealyticum* est la plus dominante par rapport à *M hominis*.

D'après ces résultats, on peut conclure que les mycoplasmes peuvent avoir une place capitale dans les infections génitales chez la femme au Liban, avec une importance présence pour *U urealyticum*.

L'isolement et l'identification de *M hominis* et de *U urealyticum* sont actuellement à la portée de tous les laboratoires de microbiologie.

Toutefois, l'interprétation de leur isolement, de part leur commensalisme dans les voies génitales basses, doit impérativement tenir compte de l'aspect quantitatif des cultures.

Il est classique de retenir comme critère de pathogénicité un seuil pour la numération pratiquée à partir de produits pathologiques de 10^4 unités changeant couleur par ml (UCC/ml).

REMERCIEMENTS

Ce travail fut rendu possible grâce à:

- ♦ Sanofi Diagnostics Pasteur-France et la société CHABCO qui ont fourni gracieusement les kits nécessaires à l'étude,
- ♦ la collaboration remarquable de Mr. Youssef NOUMAN (assistant à la Faculté de Santé Publique, section 3 – Université Libanaise).

REFERENCES

- Beber, C., De Barbeyrac, B., Bernet, C., Renaudin, H. 1989. Méthodes d'exploration des infections à mycoplasmes. *Ann. Biol. Clin.*, 47: 415-420.
- Brunner, H., Weidner, W., Schiepper, HG. 1983. Quantitative studies on the role of *ureaplasma urealyticum* in non - gonococcal urethrites and chronic prostatitis. *Yale. J. Biol. Med.*, 56: 545 - 550.

- Carroll, SG., Papaioannou, S., Ntumazah, IL., Philpott-Howard, J., Nicolaides, KH. 1996. Lower genital tract swabs in the prediction of intrauterine infection in preterm Prelabour rupture of the membranes. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 103: 54 - 59.
- Copine, E., Lebrun, L. 1991. Infections à mycoplasmes urogénitaux. *Feuill. Biol.*, 181: 9-15.
- Eschenbach, DA., Hillier, S., Critchlow, C., Stevens, C., De Rouen, T., Holmes, KK. 1988. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 158: 819 - 829.
- Garite, TJ., Freeman, RK. 1982. Chorioamnionitis in the preterm gestation. *Obstet. Gynecol.*, v. 59, pp. 539 - 545.
- Herman, A., Bukovesky, I., Samra, Z., Roash, Z., Caspi, E. 1990. Polymicrobial infections of the female low genital tract. *Isr. J. Med. Sci.*, 26: 313- 315
- Hes, R., Lyon, A., Ross, P., Mcintosh, N. 1996. Infection with *Ureoplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* and the development of chronic disease in preterm infants. *Acta. Paediatr.*, v. 85, pp. 482 - 484.
- Hill, GB., Eschenbach, DA., Holmes, KK. Bacteriology of the vagina. 1985. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, 86: 23 - 39.
- Kelly, VN., Garland, SM., Gilbert, GL. 1987. Isolation of genital mycoplasmas from the blood of neonates and women with pelvic infections using conventional SPS free blood culture media. *Pathology*, 19: 277 - 280.
- Mead, PB. Epidemiology of bacterial vaginosis. 1993. *Am. J. Obstet Gynecol.*, 169: 446 - 449.
- Minkoff, H., Grunebaum, AN., Schwarz, RH. 1984. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 150: 965 - 972.
- Papierok, G., Pautrat, G., Escarguel, C. 1992. Les mycoplasmes : leur place en microbiologie. *Revue française des laboratoires*, 244, 8 pages.
- amra, Z., Borin, M., Bukowesky, Y., Lepshitz, Y., Sompolinsky D. 1988. Non-occurrence of *Mycoplasma genitalium* in clinical specimens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 7: 49-51.
- Samra, Z., Soffer, Y., Pansky, M. 1994. Prevalence of genital *chlamydia* and *Mycoplasma* infections in couples attending a male infertility clinic. *Eur. J. Epidemiol.*, 10: 69-73.
- Sednaoui, P. Infections génitales à Mycoplasmes. (p 177 - 185) In: Siboulet, A., Coulaud, JP., et collaborateurs. 1991. Maladies sexuellement transmissibles. 2^e éd. Masson éd. (290 pages).
- Taylor-Robinson, D., Mac Cormack, WM. 1980. The genital mycoplasmas. *N. Engl. J. Med.* 302, 18: 1003 - 1010.
- Webster, A.D.B, Taylor-Robinson, D., Furr, PM. 1978. Mycoplasmal (*Ureaplasma*) septic arthritis in hypogammaglobulinaemia. *Br. Med. J. I.*, : 478 - 479.
- Zahawi, MF., Kearns, AM., Sprott, MS., Joudeh, M., Snodgrass, CA. 1990. A