

Résistance de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones et sensibilité aux antibiotiques des souches de *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*

-15 septembre au 15 octobre 2018 -



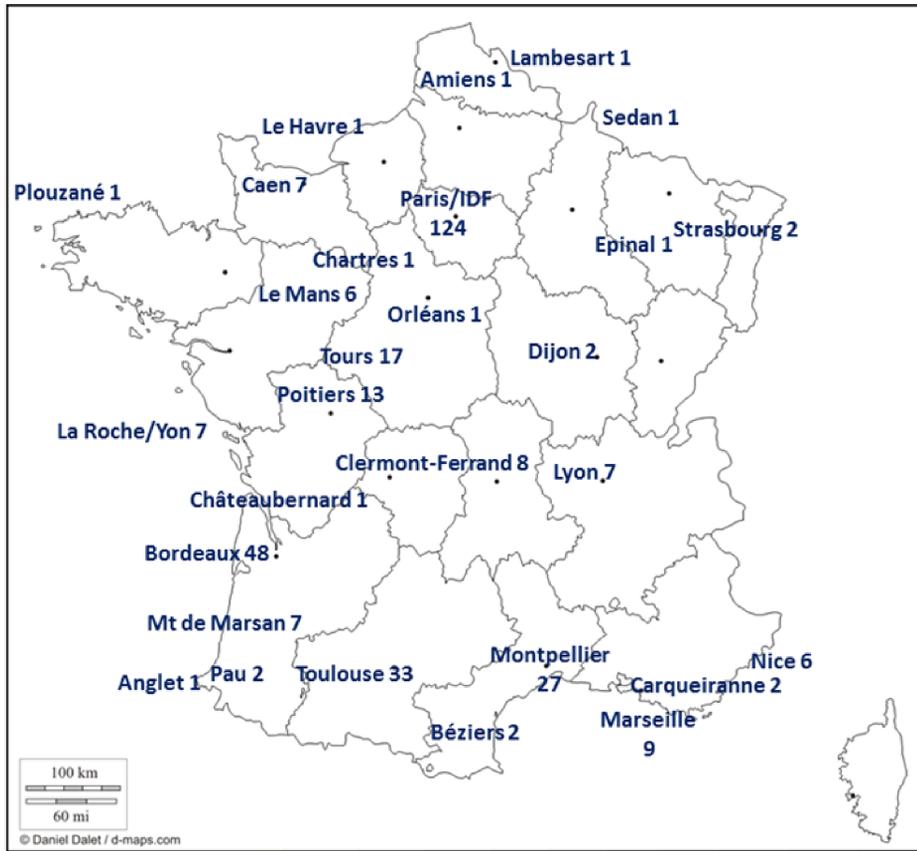
CNR
des IST bactériennes



CHU
Hôpitaux de
Bordeaux

CNR des IST bactériennes. CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin
Laboratoire de Bactériologie, Place Amélie Raba Léon 33076 BORDEAUX CEDEX
Tél : 05 57 57 16 33 / 05 57 57 16 25 Fax : 05 56 93 29 40
Site Web: <http://www.cnr-ist.fr/>

Résistance de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones



Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par ville.

Population étudiée

Un total de 339 échantillons provenant de **335 patients** ont été reçus de **20 centres** (194 hommes, 141 femmes).

L'âge moyen des patients était de **31,3 ans**, les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 35,2 ans vs 26,1 ans ($p < 0,001$; test de Student). La classe d'âge la plus représentée était la classe 21-25 ans chez les femmes (37,6 %) et 26-30 ans chez les hommes (23,8 %).

Les principaux **services prescripteurs** étaient :

- Les services de maladies infectieuses (21,3 %)
- Les cabinets et services de gynécologie (20,6 %)
- Les cabinets de médecine générale (18,4 %).

Les dépistages systématiques représentaient le principal motif de consultation (46,6%), suivi des plaintes pour symptômes génitaux (29,3 %).

Parmi les patients ayant accepté de renseigner leur orientation sexuelle, **71,4 %** (50/70) déclaraient avoir des **pratiques hétérosexuelles**. Sur les 31 hommes ayant déclaré leurs pratiques, 58,1% (18/31) étaient des hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes.

Parmi les patients pour lesquels nous avons le statut VIH, une séronégativité était notée pour 65,6 % (101/154) des patients, tandis que **34,4 % (53/154) d'entre eux étaient séropositifs au VIH**. Le statut sérologique au VIH était inconnu pour 54 % (181/335) des patients. Une différence statistiquement significative était à noter entre les hommes et les femmes ; 43,7 % des hommes (52/119) pour lesquels nous avons le statut VIH étaient VIH positifs contre 2,9 % des femmes (1/35) ($p < 0,001$; test de Chi²).

Objectifs:

Détermination de la prévalence en France métropolitaine de la résistance de *Mycoplasma genitalium* aux macrolides et aux fluoroquinolones.

Matériels et méthodes:

Dans les centres participants, pendant un mois du 15 septembre au 15 octobre 2018, tous les échantillons positifs à *M. genitalium* (urine, vagin, col, écouvillons rectaux et de gorge) ont été envoyés au CNR au moyen d'enveloppes T pré-adressées. Les données concernant les échantillons ont été colligées de façon anonyme sur un fichier comportant le sexe, la date de naissance, la nature de l'échantillon, le service demandeur, la notion de dépistage et de symptômes, le traitement antérieur par macrolides.

La résistance aux macrolides a été recherchée par PCR en temps réel de type FRET (1) ou par une PCR multiplex commercialisée (2) en cas d'absence d'amplification avec la PCR FRET. Les échantillons présentant une bactérie mutée ont été soumis à une amplification et un séquençage de l'ARNr 23S pour déterminer la nature précise de la mutation (3). Les mutations associées à la résistance aux fluoroquinolones ont été recherchées par amplification et séquençage de la QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) du gène *parC* (4).

10,9 % de double résistance

Prévalence de la résistance aux macrolides

Parmi les patients pour lesquels une amplification a été obtenue, **43%** (116/270) étaient résistants aux macrolides.

La prévalence de la résistance aux macrolides était de **58,8 % chez les hommes** (94/160) versus **18,5 % chez les femmes** (20/108) ($p < 0,001$; test du Chi²).

Les mutations A2058G et A2059G (numérotation *Escherichia coli*) étaient les plus fréquentes (71,5 % des cas).

Prévalence de la résistance aux fluoroquinolones

Parmi les patients pour lesquels une amplification a été obtenue, **17,9 %** (47/162) étaient résistants aux fluoroquinolones sans différence entre les hommes et les femmes. Sept mutations différentes étaient retrouvées dans la QRDR du gène *parC*.

Conclusion

La prévalence de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* a atteint **43 %**, valeur très élevée, inquiétante mais stable. Ces chiffres confirment les résultats de notre enquête réalisée en 2017 sur un plus petit échantillon (prévalence de 42,6 %).

La résistance aux fluoroquinolones, de **17,9 %**, est en nette augmentation puisque nous décrivons une prévalence de 7,5 % en 2017. Près de **11 % des patients présentaient une double résistance**, à noter que 83,3 % (20/24) d'entre eux étaient des hommes.

Objectifs:

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Ureaplasma spp.* et *M. hominis*.

Matériels et méthodes:

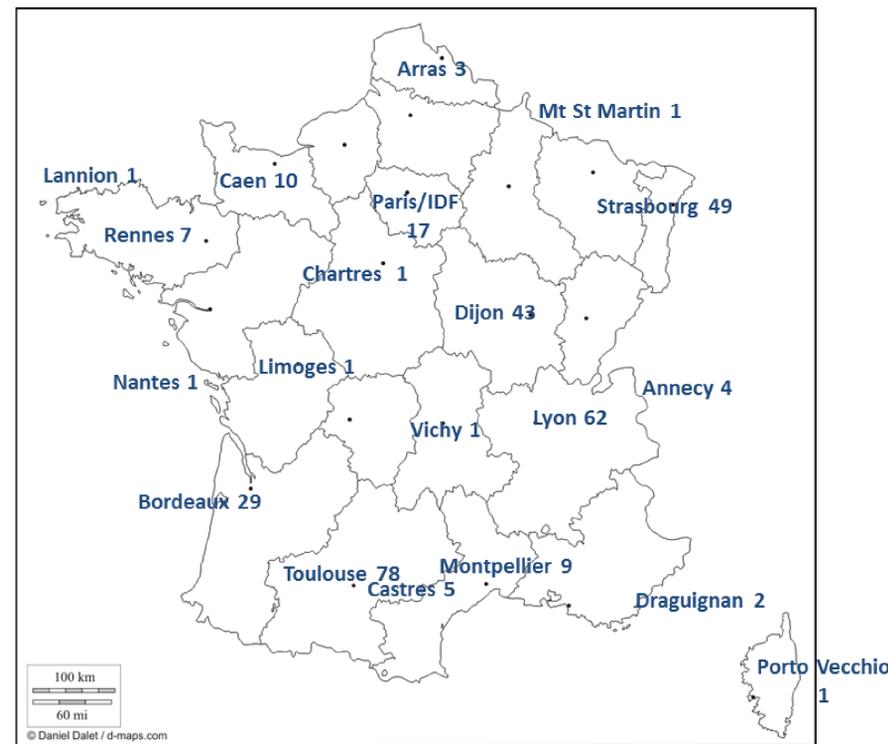
Pour les laboratoires cultivant *Ureaplasma spp.* et *M. hominis*, les échantillons positifs en culture ont été collectés entre le 15 septembre et le 15 octobre 2018, conservés à -20°C puis envoyés au CNR via un transporteur (BioLogistic).

La mise en culture des échantillons cliniques a été réalisée dans du milieu Hayflick arginine pour isoler *M. hominis* et dans du milieu Shepard pour isoler *Ureaplasma spp.* Les CMI des souches ayant pu être isolées par culture ont été déterminées selon la méthode du CLSI (5).

Population étudiée

Un total de 325 échantillons cliniques positifs à *Ureaplasma spp.* et/ou *M. hominis* ont été collectés en France métropolitaine. Parmi eux, 131 ont permis d'obtenir une souche soit 40,3% (111 souches de *Ureaplasma spp.* et 20 souches de *M. hominis*).

L'âge moyen était de 32 ans et l'âge médian de 31 ans (avec une amplitude de 1 mois à 84 ans). Les hommes étaient statistiquement plus âgés que les femmes, respectivement 35 ans vs 29,6 ans ($p < 0.001$; test de Student).



Répartition géographique des centres participants et nombre d'échantillons reçus par ville

Type de prélèvement	<i>M. hominis</i>	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>U. parvum</i> et <i>U. urealyticum</i>	Total
Sperme	7	40	22	3	72
Vaginal	7	13	4	1	25
Endocol	3	12	2	3	20
Débris placentaires	2	5	-	-	7
Urines	1	2	2	-	5
ORL	-	2	-	-	2
Total	20	74	30	7	131

Antibiotique	<i>M. hominis</i>			<i>Ureaplasma spp.</i>		
	CMI 50	CMI 90	% résistance* [IC 95 %]	CMI 50	CMI 90	% résistance* [IC 95 %]
Tétracycline	0,25	0,5	5 [0,9-23,6]	0,25	1	2,7 [0,9-7,6]
Doxycycline	0,06	0,125	NA	0,125	0,25	NA
Lévofloxacine	0,25	0,5	0	0,5	1	5,4 [2,5-11,3]
Moxifloxacine	0,06	0,06	0	0,25	0,5	0
Erythromycine	ND	ND	ND	0,5	1	0
Azithromycine	ND	ND	ND	0,5	0,5	0
Clindamycine	0,06	0,125	0	ND	ND	ND

ND, non déterminé; NA, non applicable (pas de concentrations critiques).

* Pas de différence de résistance entre hommes et femmes.

Mécanismes de résistance:

Concernant la résistance à la tétracycline, les quatre souches résistantes (1 *M. hominis* et 3 *Ureaplasma spp.*) possédaient le gène *tet(M)*.

Concernant la résistance aux fluoroquinolones, les six souches d'*Ureaplasma spp.* résistantes à la lévofloxacine ont été analysées par PCR/séquençage des QRDRs des gènes *gyrA/gyrB/parC/parE*. Elles possédaient une mutation Ser83(80)Leu dans la protéine ParC (numérotation *Ureaplasma spp.* avec numérotation *E. coli* entre parenthèses).

Références

- Touati A, Peuchant O, Jensen JS, Bébéar C, Pereyre S. 2014. Direct detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* isolates from clinical specimens from France by use of real-time PCR and melting curve analysis. J Clin Microbiol 52:1549-1555.
- Le Roy C, Hénin N, Bébéar C, Pereyre S. 2017. Evaluation of a commercial multiplex quantitative PCR (qPCR) assay for simultaneous detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance-associated mutations in clinical specimens. J Clin Microbiol 55:978-979.
- Chrismont D, Charron A, Cazanave C, Pereyre S, Bébéar C. 2012. Detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* in France. J Antimicrob Chemother 67:2598-2601.
- Le Roy C, Hénin N, Pereyre S, Bébéar C. 2016. Emergence of fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma genitalium* in France. Emerg Infect Dis 22:1677-1679.
- Waites KB, Bade DJ, Bébéar C, S.D. B, Davidson M, Duffy LB, Kenny GE, Matlow A, Shortridge D, Talkington DF, Totten PA, Watts JL, Zheng X. 2011. Methods for antimicrobial susceptibility testing for human mycoplasmas : Approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (PA).

Remerciements

Nous remercions pour leur participation tous les biologistes des laboratoires hospitaliers et privés, ainsi que leurs équipes.

L'équipe du CNR IST bactériennes - Bordeaux

Cécile Bébéar, Sabine Pereyre, Cécile Laurier-Nadalié, Chloé Le Roy, Marie Gardette, Nadège Hénin, Laura Olazabal.

Nombre de souches isolées par centre

Centres	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma spp.</i>
BIO 67 Strasbourg	0	1
CERBA	4	15
CH Caen	1	5
CHU Bordeaux	5	26
CHU Dijon	0	19
CHU Limoges	0	0
CHU Louis Mourier	0	0
CHU Lyon	5	19
CHU Montpellier	0	0
CHU Nantes	1	1
CHU Rennes	1	2
CHU Toulouse	1	17
Clinique Pasteur	2	6
Total	20	111

Conclusion

Pour *M. hominis*, la prévalence de la résistance à la tétracycline était de 5%. Il n'y avait pas de résistance ni aux fluoroquinolones ni à la clindamycine.

Pour *Ureaplasma spp.*, la prévalence de la résistance à la tétracycline était de 2,7%. La résistance à la lévofloxacine était de 5,4%. Aucune résistance à la moxifloxacine et à l'érythromycine n'ont été retrouvées.

Les CMI retrouvées sont celles attendues pour des souches sauvages et les taux de résistance sont faibles.