

Quel prélèvement pour le transport des mycoplasmes, eSwab[®] ou écouvillon sec ?

Which sample for the transport of mycoplasma, eSwab[®] or dry swab?

Maxime Pichon^{1,a}

Rémi Gebeile^{2,a}

Bruno Lina¹

Géraldine Jacquet²

Alexandre Gaymard¹

¹ Laboratoire de virologie, Institut des agents infectieux (IAI) de Lyon, Centre de biologie et de pathologie Nord, Groupement hospitalier Nord, Centre hospitalier universitaire de Lyon, Lyon, France

<maxime.pichon@chu-poitiers.fr>

² Laboratoire Dynabio, Membre du réseau LBI, Lyon, France

^a Les auteurs ont participé de façon identique à cette étude

Résumé. *Mycoplasma hominis* (MH) et *Ureaplasma urealyticum* (UU) sont des mycoplasmes impliqués dans les infections urinaires et les infections génitales graves de la femme enceinte. Ces bactéries, extrêmement sensibles aux facteurs environnementaux, restent néanmoins détectables par culture. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilisation d'écouvillons secs ou d'eSwab[®] dans le prélèvement et le diagnostic par culture des mycoplasmes. L'analyse a porté sur 85 échantillons génitaux, recueillis prospectivement au laboratoire Dynabio Croix-Rousse (Lyon, France), de janvier à mars 2017, pour recherche de mycoplasmes. Après déchargement et incubation selon les recommandations du constructeur, les cultures ont été lues par un opérateur habilité pour comparaison des données qualitatives et quantitatives obtenues. Parmi les écouvillons secs, 23 échantillons sont positifs en UU et 2 en MH, contre 26 et 4 sur eSwab[®] respectivement. Les quantifications obtenues sur eSwab[®] sont statistiquement corrélées aux quantifications des prélèvements obtenus sur écouvillons secs ($r = 0,9118$ et $r = 0,7155$; $p < 0,01$) sans résultats discordants entre les deux supports de prélèvement, ni aucun double positif au cours de cette étude. Bien que l'efficacité de ces prélèvements dans le cadre de conservations prolongées reste à étudier, l'utilisation d'eSwab[®] apporte sensibilité de détection des mycoplasmes par culture sans modification de la quantification. Au vu de la pathogénicité potentielle de ces germes sur les terrains à risque (femme jeune et/ou enceinte), les prélèvements par eSwab[®] sont à favoriser pour optimiser la phase pré-analytique de culture de ces germes sensibles.

Mots clés : prélèvement, mycoplasmes, eSwab[®], écouvillon sec, transport

Abstract. *Mycoplasma hominis* (MH) and *Ureaplasma urealyticum* (UU), belonging to mycoplasmas, are implicated in genital and urinary infections. These bacteria are extremely sensitive to environmental factors but remain detectable by culture methods. This study aimed to compare performance of detection on samples performed on eSwab[®] or dry swabs. Eighty-five genital samples were prospectively collected on dry- and e-Swab, at the Dynabio Croix-Rousse laboratory (Lyon, France), from January to March 2017, searching for mycoplasma infection. After incubation for 48 hours, cultures were qualitatively and quantitatively analyzed by a single qualified operator. On these samples, 23 specimens sampled on dry swabs were positive for UU and 2 for MH (versus 26 and 4 for eSwab). Quantification on eSwab[®] and dry swabs were statistically correlated ($r=0.9118$; and $r=0.7155$; $p < 0.01$ respectively) without discrepant results. No sample was double-positive during this study. With an important sensitivity (without alteration of the bacterial quantification) and regarding to the gravity of this infection on at-risk patients, as young and/or pregnant woman, the eSwab[®] sampling seem to improve the pre-analytic phase. However, the benefice to use these sampling methods for long-term conservations has to be evaluated.

Key words: sampling, mycoplasma, eSwab[®], dry swabs, transport

Article reçu le 31 août 2018,
accepté le 10 décembre 2018

Tirés à part : M. Pichon

Les mycoplasmes, dont *Mycoplasma hominis* (MH) et *Ureaplasma urealyticum* (UU), intra- et extracellulaires, sont les plus petites bactéries appartenant à la classe des *Mollicutes*. L'absence de paroi, leur génome extrêmement court ainsi que leur faible capacité de biosynthèse expliquent leur mode de répllication parasitaire, leur sensibilité aux facteurs environnementaux et leur résistance aux bêtalactamines [1]. Ces bactéries nécessitent donc des conditions pré-analytiques particulières pour permettre une culture efficace.

Les mycoplasmes sont des bactéries impliquées dans les infections urinaires et bactériuries asymptomatiques. Il est cependant à remarquer que le nombre de bactéries retrouvées dans les urines, du fait des difficultés culturales, ne corrèle pas toujours avec l'imputabilité des symptômes urinaires observés [2, 3]. Par ailleurs, de très nombreuses urétrites non-chlamydiennes et non-gonococciques ont été décrites chez l'homme [4]. Dans les cas d'envahissement des organes génitaux internes féminins, l'infection intrapéritonéale par mycoplasmes peut conduire à des abcès tuboovariens ou des salpingites associés à des fièvres du post-partum (pour MH) ainsi que des chorioamniotites, des fausses couches, une infertilité ou des faibles poids de naissance (pour UU) [5, 6].

Au contraire de *Mycoplasma genitalium*, détecté uniquement par biologie moléculaire, UU et MH peuvent être détectés par culture [7]. Il reste néanmoins important de comprendre pour le clinicien que la sensibilité de détection varie grandement avec le mode de prélèvement ainsi qu'avec le choix de la méthode de détection choisie par le laboratoire.

L'objectif de cette étude est donc d'évaluer et de valider l'utilisation d'écouvillons eSwab® en comparaison des prélèvements réalisés sur écouvillons sec dans le cadre du diagnostic par culture des MH et UU.

Méthode

Cette étude a été menée prospectivement sur les prélèvements génitaux du laboratoire Dynabio Croix-Rousse (Lyon, France), réalisés du 10 janvier 2017 au 28 mars 2017. Chaque prélèvement a été réalisé en un temps sur eSwab (Copan, CA, USA) et sur écouvillon sec. Après déchargement des deux écouvillons (moins de 2 heures après prélèvement) en bouillon urée/arginine (bioMérieux, Marcy-L'Étoile, France), la culture sur gélose A7 (bioMérieux) est réalisée par incubation 48 heures à 37 °C en ambiance microaérophile selon les recommandations-constructeur. À noter que chacun des prélèvements a été testé à la fois pour recherche de MH et UU.

Les données qualitatives (détection) ainsi que quantitatives (charge bactérienne) ont été recueillies de manière stan-

Tableau 1. Détection de *Ureaplasma urealyticum* (A) et *Mycoplasma hominis* (B) en fonction de la nature du support de prélèvement.

A/ <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Écouvillon sec		Total
	Négatif	Positif	
eSwab			
Négatif	59	0	59
Positifs	3	23	26
Total général	62	23	85
Test de concordance (κ)	0,914		
B/ <i>Mycoplasma hominis</i>	Écouvillon sec		Total
	Négatif	Positif	
eSwab			
Négatif	81	0	81
Positif	2	2	4
Total général	83	2	85
Test de concordance (κ)	0,656		

dardisée par un opérateur unique habilité. Les analyses statistiques ont été réalisées au moyen du logiciel GraphPad Prism V7.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Le test exact de Fisher a été appliqué à l'analyse des variables qualitatives (détection du pathogène recherché) et le test de Wilcoxon a été appliqué à l'analyse des variables quantitatives (quantification du pathogène recherché). Un test de concordance kappa était de plus appliqué pour évaluer la concordance des résultats en fonction du support de prélèvement. Les résultats étaient considérés comme significatifs quand $p < 0,05$ (et très significatifs pour $p < 0,01$).

La confidentialité des patients a été strictement respectée au cours de cette étude, les données ayant été anonymisées avant analyse.

Résultats

Performances de détection

Sur la période indiquée, 85 patients (dont un patient masculin) ont été prélevés. Sur ces patients, 23 écouvillons secs (24,7 %) sont positifs à UU (contre 26 sur eSwab ; $p > 0,05$). Seuls deux prélèvements sur écouvillon sec sont positifs à MH contre quatre sur eSwab® ($p > 0,05$). Les données sont résumées dans le *tableau 1*.

Performances de quantification (figure 1)

Les quantifications d'UU obtenues sur les prélèvements réalisés avec un eSwab sont statistiquement corrélées aux quantifications obtenues sur écouvillons secs ($r = 0,9118$; $p < 0,01$) sans résultat significativement discordant

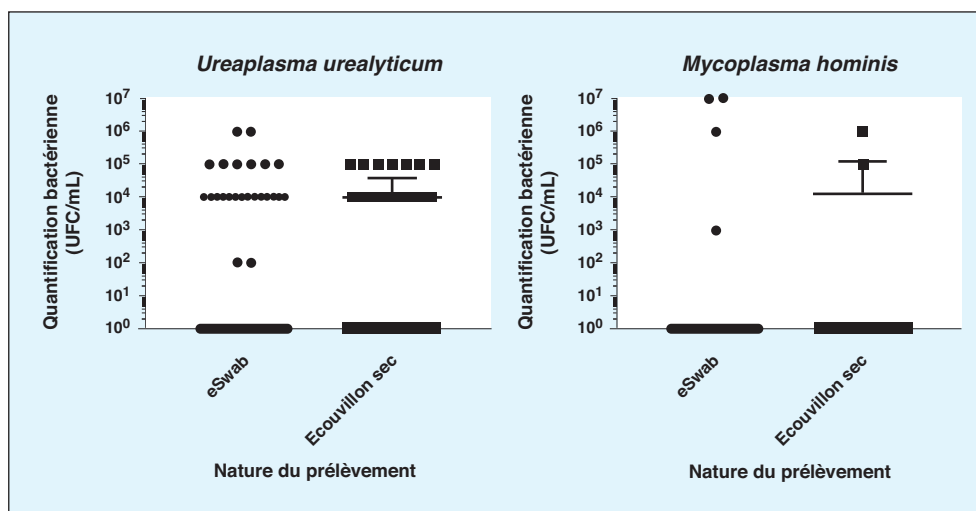


Figure 1. Quantification bactérienne de *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* en fonction de la nature du support de prélèvement.

(différence > 1 log ; en considérant un seuil de quantification à 2 logs).

Les quantifications de MH prélevées sur eSwab® sont statistiquement corrélées aux quantifications obtenues sur écouvillons secs ($r = 0,7155$; $p < 0,01$) sans résultat significativement discordant (différence > 1 log ; en considérant un seuil de quantification à 2 logs).

À noter qu'aucun prélèvement n'a été considéré comme positif pour les deux espèces bactériennes, quelle que soit la nature du prélèvement.

Conclusion

Cette étude est une étude d'utilisation des eSwab® dans le cadre des recherches de bactéries intracellulaires, au sein d'un laboratoire de routine non-hospitalier.

Avec une durée de conservation améliorée par l'utilisation d'eSwab® en comparaison de l'utilisation d'un écouvillon classique, le diagnostic par biologie moléculaire est facilité dans le cadre des pathogènes exigeants (comme les germes anaérobies) ou en cas de difficulté organisationnelle (laboratoires distants des lieux de prélèvement) [8]. Aucune étude n'avait néanmoins validé ce bénéfice en bactériologie conventionnelle.

Notre étude permet donc d'évaluer le bénéfice de l'utilisation de l'eSwab® dans le cadre de culture conventionnelle bactérienne en dehors d'une détection par biologie moléculaire. Les recherches de bactéries intracellulaires, comme d'autres bactéries à culture difficile, peuvent profiter de l'optimisation des supports de prélèvement. Malgré l'absence de différence significative du fait d'un probable défaut de puissance de cette étude, la sensibilité se voit

améliorée de 2 à 3 % avec l'utilisation d'eSwab, pour la détection de MH et de UU, ce qui représente, sur les 680 prélèvements reçus au laboratoire annuellement, un diagnostic supplémentaire de 15 à 20 cas. Au vu de la pathogénicité importante de ces bactéries, particulièrement dans le cadre des infections génitales de la femme enceinte, cette amélioration du diagnostic permettra d'optimiser la prise en charge de ces pathologies, particulièrement graves sur les terrains à risque [9].

L'utilisation de ces modes de conservation ne modifie néanmoins pas la charge bactérienne retrouvée par l'analyse des prélèvements, les résultats étant corrélés sans discordants significatifs. Les défauts de corrélation entre le taux de bactéries retrouvé et la symptomatologie urinaire relèveraient donc plus d'une limitation de la méthode de culture que d'une insuffisance de conservation [3].

Afin de compléter cette étude de performance dans des conditions de conservation recommandée, une optimisation de l'utilisation de ces prélèvements dans le cadre de conservations prolongées est à prévoir.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Combaz-Söhnchen N, Kuhn A. A systematic review of Mycoplasma and Ureaplasma in urogynaecology. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2017 ; 77(12) : 1299-303.
2. Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* : the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004 ; 18(1) : 1-11.

3. Nassar FA, Abu-Elamreen FH, Shubair ME, Sharif FA. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma hominis*, *genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* by polymerase chain reaction in patients with sterile pyuria. *Adv Med Sci* 2008 ; 53(1) : 80-6.
4. Bump RC, Copeland WE. Urethral isolation of the genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* in women with chronic urologic complaints. *Am J Obstet Gynecol* 1985 ; 152(1) : 38-41.
5. Lind K, Kristensen GB, Bollerup AC, Ladehoff P, Larsen S, Marushak A, et al. Importance of *Mycoplasma hominis* in acute salpingitis assessed by culture and serological tests. *Genitourin Med* 1985 ; 61(3) : 185-9.
6. Guven MA, Dilek U, Pata O, Dilek S, Ciragil P. Prevalance of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections in the unexplained infertile women. *Arch Gynecol Obstet* 2007 ; 276(3) : 219-23.
7. Garner CM, Hubbard LM, Chakraborti PR. Mycoplasma detection in cell cultures : a comparison of four methods. *Br J Biomed Sci* 2000 ; 57(4) : 295-301.
8. Demuyser T, De Geyter D, Van Dorpe D, Vandoorslaer K, Wybo I. Extensive evaluation of fastidious anaerobic bacteria recovery from the Copan eSwab® transport system. *J Microbiol Methods* 2018 ; 144 : 73-8.
9. Cao CJ, Wang YF, Fang DM, Hu Y. Relation between mycoplasma infection and recurrent spontaneous abortion. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018 ; 22(8) : 2207-11.