UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

BURKINA FASO
****
UNITE - PROGRES - JUSTICE

Unité de Formation et de Recherche
Sciences de la Vie et de la Terre
(UFR-SVT)
****

Département de Biochimie
Microbiologie

Centre de Recherche Biomoléculaire
CERBA/LABIOGENE
UFR/SVT
****

MEMOIRE

Présenté par

DJIGMA Wendkuuni Florencia
Maître ès Sciences.

Pour L'obtention du :

Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie/ Biologie Moléculaire

SUR LE THÈME :

Co-infection de *Mycoplasma hominis* et de *Ureaplasma urealyticum* avec le virus de l'immunodéficience humaine chez les femmes VIH séropositives à Ouagadougou

Soutenu le 30 /06/ 2009, devant le jury :

Président : Odile NACOULMA, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou

Membres : Jacques SIMPORE, Maître de Conférences, Université de Ouagadougou

Virginio PIETRA , Médecin, Università di Brescia, Italia.

DEDICACE

Nous dédions ce travail :

A notre bien aimé père DJIGMA Jules,

A notre adorable mère DJIGMA Madeleine née ZABRE,

A mon frère et à mes sœurs : Rodrigue, Alida Valérie et Marthe,

A tous les membres de la famille DJIGMA,

A toutes ces femmes VIH séropositives qui souffrent dans leur chair et dans leur âme à cause du rejet de leur famille et/ou de notre société.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de bactériologie de Saint Camille et au laboratoire du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA/LABIOGENE). Nous exprimons nos profondes gratitudes :

Au Pr Odile Germaine NACOULMA, responsable de l'école Doctorale (Département de Biochimie/ Microbiologie) pour avoir accepté de présider notre jury,

Au Pr Jacques SIMPORE, directeur du laboratoire du CMSC et du CERBA/LABIOGENE et notre Directeur de mémoire pour avoir guidé nos premiers pas dans la recherche. Il nous a reçus dans son laboratoire bien équipé et nous a aidé dans le choix d'un thème pertinent. Nous avons bénéficié de son encadrement scientifique et de son soutien moral et matériel,

Au Pr Boukaré ZEBA, chef du département de Biochimie/ Microbiologie pour avoir accepté d'évaluer notre travail,

Au Pr Jean-Baptiste NIKIEMA, Maître de conférences, pharmacognosiste et président du conseil d'administration du centre Muraz pour ses conseils,

Au Dr PIETRA Virginio et à toute son équipe pour leur aide inestimable et leurs précieux conseils,

Au Dr. W.M. Christelle NADEMBEGA pour ses conseils et pour l'aide qu'elle a apporté dans la réalisation de ce travail,

Au Dr. Charlemagne GNOULA pour ses conseils et pour nous avoir aidés dans nos recherches bibliographiques,

A tous les enseignants-chercheurs du département de Biochimie/ Biologie Moléculaire Appliquée/ Substances Naturelles/ Plantes médicinales et Phytothérapie pour la qualité de la formation reçue,

A Mademoiselle Djeneba OUERMI notre aînée pour son aide et ses conseils,

A Monsieur Cyrille BISSEYE pour l'aide technique apportée lors de nos manipulations dans la partie biologie moléculaire,

A toute l'équipe du Laboratoire Saint Camille et du Centre de Recherche Biomoléculaire CERBA/LABIOGENE et en particulier à messieurs Abdoulaye KABRE, Oscar ZOUNGRANA et madame Fatou NANA pour l'aide et les conseils apportée lors des manipulations bactériologiques,

A nos parents, pour notre éducation, notre instruction, pour leurs soutiens moraux et financiers et surtout pour l'amour qu'ils nous ont donné et sans lesquels nous n'aurions certainement pas pu venir à bout de ce travail,

A la Conférence épiscopale italienne (CEI), pour leur soutient financier dans la réalisation de nos travaux de mémoire de DEA.

A l'UNESCO, pour son soutien financier dans la réalisation de nos travaux de mémoire de DEA.

A tous les étudiants de notre promotion et techniciens du LABIOCA et du LABIOGENE pour la bonne ambiance, les conseils et les encouragements,

A ZERBO Lamine pour son soutien et ses conseils

A tous les amis qui ont su nous encourager et nous faire sentir leur présence à nos côtés.

SOMMAIRE

DEDICACE ..... **I**

REMERCIEMENTS ..... **II**

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX ..... **VII**

LISTE DES FIGURES ..... **VII**

LISTE DES TABLEAUX ..... **VII**

ABREVIATIONS ..... **VIII**

RESUME ..... **IX**

ABSTRACT ..... **XI**

INTRODUCTION **1**

PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE **4**

I.1. LE VIH **5**

I.1.1.Morphologie et Structure génomique 5

I.1.2. Variabilité Génétique 7

I.1.3. Multiplication du VIH 8

I.1.4. Modes de transmission du VIH 10

I.1.5. Diagnostic du VIH 10

I.1.6. Traitement et Prévention 11

Traitement 11

Prévention 11

I.2. *MYCOPLASMA HOMINIS* ET *UREAPLASMA UREALYTICUM* **12**

I.2.1. Classification 12

I.2.2. Caractères généraux 12

I.2.3. Structure et Génome 13

Structure 13

Génome 13

I.2.4. Culture 14

I.2.5. Intérêt médical 14

I.2.6 Pathologie chez l'adulte 16

I.2.7 – M ycoplasmes et Grossesse 16

I.2.8 Infections néonatales 17
I.2.9 Diagnostic et Traitement 17
I.3 CO-INFECTION DU VIH AVEC *MYCOPLASMA HOMINIS* ET *U. UREALYTICUM* 18
I.4. AUTRES AGENTS INFECTIEUX CLASSIQUES DU TRACTUS GENITAL FEMININ 18
DEUXIEME PARTIE: MATERIEL ET METHODES 20
II.1. MATERIEL 21
II.1.1. Sujets de l'étude 21
Critères d'inclusion 21
Critères d'exclusion 21
II.1.2. Matériel 21
II.2. METHODE 22
II.2.1. Recherche, identification, détermination sémi-quantitative et antibiogramme des mycoplasmes 22
II.2.1.1. Principe 22
II.2.1.2. Prélèvement des échantillons 23
II.2.1.3. Préparation de l'échantillon 23
II.2.1.4. Inoculation du système 23
II.2.1.5. Interprétation des résultats .....
II.2.2. PCR-ELISA des Mycoplasmes 25
II.2.2.1. Principe 25
II.2.2.2. Extraction de l'ADN 26
II.2.2.3. Polymerase Chain Reaction (PCR) 26
II.2.2.4. ELISA 27
II.2.3. Culture et identification des autres germes du tractus génital féminin 30
II.2.4. Numération des lymphocytes TCD4 30
II.2.4.1. Principe 30
II.2.4.2. Analyse des échantillons cliniques 31
II.3. ANALYSES STATISTIQUES 31
TROISIEME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION 32
III.1 RESULTATS 33
III. 1.1. Le Nombre de femmes VIH séropositives selon les classes d'âges 33
III.1.2. Résultats des taux de portage des mycoplasmes uro-génitaux 34
III.1.3. Résultats des co-infections des mycoplasmes avec d'autres germes 37
III.1.3.1. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Candida albicans* 38

Tableau VIII : co-infection des mycoplasmes avec C. albicans 38
III.1.3.2. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Escherichia coli* 38
III.1.3.3. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Streptococcus agalactiae* 39
III.1.3.4. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec d'autres germes 39
III.1.4. Résultats de la PCR/ELISA..... 39
III. 1. 5. Résultats des résistances aux Antibiotiques 40
III.1.6. Comparaison des taux de CD4 par rapport à la présence de mycoplasmes et/ou d'autres germes 41
III.2 DISCUSSION 42
CONCLUSION..... 487
PERSPECTIVES..... 48
BIBLIOGRAPHIE 50

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure du VIH-1

Figure 2 : Les différentes étapes de synthèse des protéines virales

Figure 3 : Les différentes étapes de multiplication du VIH

Figure 4 : Colonies de *M. hominis* et *U. urealyticum*

Figure 5 : Génome de *U. urealyticum*

Figure 6 : fréquences des classes d'âges parmi les femmes VIH séropositives de notre échantillon

Figure 7 : Co-infection des mycoplasmes avec d'autres germes

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Comptage et identification des mycoplasmes/ureaplasmes

Tableau II : Antibiogramme des mycoplasmes/Ureaplasmes

Tableau III : Les différentes étapes du cycle de la PCR

Tableau IV : Composition des réactifs et tampons du kit PCR

Tableau V : Préparation des solutions du kit non prêtes à l'emploi

Tableau VI : récapitulatif des taux de prévalence des mycoplasmes uro-génitaux chez les femmes séropositives à Ouagadougou

Tableau VII : comparaison des taux de portage par rapport aux groupes de femmes

Tableau VIII : Co-infection des mycoplasmes avec *Candida albicans*

Tableau IX : Co-infection des mycoplasmes avec *Escherichia coli*

Tableau X : Co-infection des mycoplasmes avec *Streptococcus agalactiae*

Tableau XI : Concordance entre la culture et la PCR/ELISA

Tableau XII : Résistance des mycoplasmes aux Antibiotiques

Tableau XIII: Comparaison des taux de CD4 et des moyennes d'âges de trois groupes de femmes.

ABREVIATIONS

ADC : Arginine Déshydrogénase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AgP24 : Antigène protéique 24

ARN : Acide Ribonucléique

AZM : Azithromycine

CD : Clindamycine

CERBA/LABIOGENE : Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni/Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique

CLA : Clarithromycine

CMSC : Centre Médical Saint Camille

CNLS/IST : Conseil National de Lutte contre le SIDA et les Infections Sexuellement Transmissibles.

CRF : Formes Circulantes Recombinantes

DO : Densité Optique

DO : Doxycycline

E : Erythromycine

ELISA : Enzyme Like ImmunoSorbent Assay

INNRT : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Reverse Transcriptase

INRT : Inhibiteur Nucléosidique de la Reverse Transcriptase

IP : Inhibiteur de la Protéase

LCR : Liquide Céphalo- rachidien

MN : Minocycline

OFX : Ofloxacine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymérase Chain Réaction

PEF : Péfloxacine

PPLO : *Pleuro Pneumoniae Like Organisms*

PTME : Programme de Prévention de la Transmission Mère-Enfant du VIH

Rpm : Rotation par minute

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience Acquise

TE : Tétracycline

TMB : 3, 3', 5, 5'- tétraméthyl-benzidine

UCC : Unité de Changement de Couleur

UFC : Unité Formatrice de Colonies

UR : Uréase

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

RESUME

Les mycoplasmes sont les plus petites bactéries connues à ce jour. L'absence de paroi cellulaire et la faible taille de leur génome (600 à 800Kb) particulièrement riche en bases Adénine + Thymine sont les principales caractéristiques de cette famille. Parmi les sept (07) espèces susceptibles d'être isolées au niveau du tractus génital humain, *M. hominis* et *Ureaplasma urealyticum* sont les plus fréquentes.

Plusieurs études ont montré leur association dans de nombreuses pathologies (vaginose, salpingite, infections néonatales, endométrites, urétrites non gonococciques, ……). Ils sont beaucoup plus fréquemment isolés chez la femme où leur présence peut être signe d'infection ou de colonisation selon la quantité retrouvée. Mais peu d'études ont été faites en Afrique en l'occurrence au Burkina Faso sur les femmes VIH séropositives qui sont beaucoup plus vulnérables à cause de la dépression immunitaire induite par le SIDA.

L'objectif principal de cette étude est donc d'étudier la prévalence de *M. hominis* et de *U. urealyticum* chez les femmes VIH séropositives au Centre Médical saint Camille (CMSC) de Ouagadougou.

Population et Méthode : Afin d'évaluer cette prévalence, des prélèvements vaginaux endocervicaux ont été faits sur un groupe de 120 femmes VIH séropositives recrutées au CMSC. Ces prélèvements sont ensuite utilisés d'une part pour la recherche des mycoplasmes, leur antibiogramme et leur quantification (par la culture) et d'autre part pour la recherche éventuelle d'autres germes pathogènes. Les cultures positives pour la présence des mycoplasmes sont ensuite utilisées pour la PCR.

Résultats : La recherche des mycoplasmes dans notre groupe d'étude a montré que 26,7% des femmes étaient porteuses de façon générale d'au moins un mycoplasme. Cependant 8,3% d'entre elles étaient seulement colonisées. On avait des taux d'infection de 0,8% pour *M. hominis*, 10% pour *U. urealyticum* et 7,5% pour les deux en même temps. Les femmes de 25 à 42 ans étaient les plus touchées.

On a par ailleurs isolé d'autres germes tels que *Escherichia coli (8,3%)*, *Candida albicans (20%)*, *Streptococcus agalactiae (6,7%), Klebsiella pneumoniae (0,8%), Trichomonas vaginalis (1,7%), Enterobacter SPP (0,8%)* dans le tractus génital de ces femmes soit en association avec les mycoplasmes, soit présents de façon isolée.

Tous les mycoplasmes isolés étaient sensibles à la Minocycline, à la Clindamycine, à la Péfloxacine et à la Doxyciclyne. Les plus forts pourcentages de résistance ont été observés pour la Clarithromycine (31,3%), l'Erythromycine (46,7%), l'Ofloxacine (12,5%), la Tétracycline (3,13%) et l'Azithromycine (.25%).

La PCR a permis la confirmation de la présence de l'ADN des mycoplasmes dans 93,75% de nos échantillons positifs à la culture.

Le calcul de P (signification) n'a pas permis de trouver une corrélation statistiquement significative entre la présence des mycoplasmes et les taux de CD4 chez ces femmes VIH séropositives.

Mots clés : **VIH,** ***Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Escharichia coli, Candida albicans, Streptococcus agalactiae, Trichomonas vaginalis, Enterobactezr SPP, Klebsiella pneumoniae,*** **Antibiotiques, culture, PCR/ELISA, portage, colonisation, infection.**

ABSTRACT

Mycoplasmas are the smallest bacteria known to date. The absence of a cell wall, and the small size of their genome (600 to 800Kb) which is particularly rich in adenine + thymine bases are, the main characteristics of this family. Of the seven species likely to be isolated in the human genital tract, *M. hominis* and *Ureaplasma urealyticum* are the most frequently found.

Several studies have demonstrated their association with many diseases such as vaginosis, pelvic inflammatory disease, neonatal infection, endometritis, non-gonococcal urethritis....

They are much more frequently isolated in women where their presence may be a sign of infection or colonization according to the quantity found. Few studies have been made in Burkina Faso on HIV infected women, who are much more vulnerable due to immune depression induced by AIDS.

The main objective of this study is to investigate the prevalence of *M. hominis* and U. *urealyticum* among women infected with HIV at the Medical Center St Camille (CMSC) in Ouagadougou.

Population and methods: Vaginal endocervical samples (n=20) were taken from group of HIV seropositive women recruited from CMSC. These samples were subsequently used for the detection the quantification and susceptibility to antibiotics of mycoplasmas and for identification of other pathogens;

Results: our mycoplasmas research showed that 26.7% of women were carriers of at least one mycoplasma. However 8.3% were only colonized. We found infection rates of 0.8% for *M. hominis*, 10% for *U. urealyticum* and 7.5% for both. Women aged 25 to 42 years were the most affected.

Other bacteria were also identified such as *Escherichia coli (8, 3%), Candida albicans (20%), Streptococcus agalactiae (6, 7%), Klebsiella pneumoniae (0, 8%), Trichomonas vaginalis (1, 7%), Enterobacter spp (0, 8%).* These bacteria were associated with or without the mycoplasmas.

All mycoplasmas isolated were susceptible to Minocycline, Clindamycin, Péfloxacine and Doxyciclyne. The highest percentages of resistance were observed for Clarithromycin (31,

3%), Erythromycin (46, 7%), Ofloxacin (12, 5%), Tetracycline (3, 13%) and Azithromycin (25%).

PCR confirmed the presence of mycoplasma DNA in 93.75% of the positive samples in our culture.

No statistically significant correlation was found between the presence of mycoplasma and, the CD4 count in HIV infected women.

Keywords: **HIV,** ***Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Escharichia coli, Candida albicans, Streptococcus agalactiae, Trichomonas vaginalis, Enterobactezr SPP, Klebsiella pneumoniae,*** **Antibiotics, culture, PCR/ELISA, portage, colonization, infection.**

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) comme son nom l'indique entraîne une dépression du système immunitaire ; car il s'attaque principalement aux lymphocytes TCD4+, aux monocytes et aux macrophages qui sont des cellules de la défense immunitaire.

Le VIH est un virus qui ne tient compte ni des frontières, ni de la race, ni du genre, ni des classes d'âges, ni des conditions socio-économiques. Il est présent sur tous les continents.

On estime à 33 millions [30 millions- 36 millions] le nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA dans le monde en 2007 dont 22 millions en Afrique sub-saharienne (ONUSIDA, 2008). Parmi les 15,5 millions de femmes VIH séropositives dans le monde, 12 millions vivent en Afrique Sub-saharienne (CNLS-IST, 2009).

Le Burkina Faso, pays sahélien enclavé de l'Afrique de l'Ouest, avait une prévalence pour le VIH de 1,6% en 2007 chez les 15-49 ans avec une moyenne générale nationale < 2% (ONUSIDA, 2008). Au Burkina Faso, le VIH/SIDA demeure un problème de santé publique car, cette infection, quoique son taux de prévalence baisse : 7,2% en 1997 ; 6,5% en 2001 ; 4,2% en 2002 (SIMPORE J. et *al*., 2007), 2,7% en 2003 (CNLS-IST, 2005) et <2% en 2007 (CNLS-IST, 2009), continue de sévir. Aujourd'hui, le rapport de l'ONUSIDA (2008) indique que la situation épidémiologique au Burkina Faso montre un total de 130.000 personnes vivant avec le VIH ; parmi lesquelles nous avons 61000 femmes et 10000 enfants de 0-14 ans ; sur un total de 7012 nouveaux cas enregistrés en 2007, 4521 étaient des femmes. La propagation du virus est essentiellement due aux relations sexuelles à risque mais aussi à la transmission verticale mère-enfant.

La prévalence élevée des infections sexuellement transmissibles (IST) représente un problème de santé publique dans les pays en développement. Ce phénomène est accentué depuis l'avènement de la pandémie de l'infection à VIH (GOEMAN et *al*., 1991) car ils partagent la même voie de transmission (voie sexuelle) . Un intérêt particulier a dès lors été apporté à ces IST parmi lesquelles on a la syphilis, la gonococcie, les infections à *Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum et Mycoplasma genitalium.*

Au Burkina Faso, on a enregistré 120.039 cas d'IST en 2007 au niveau national et 2,6% de prévalence pour la syphilis (CNLS-IST, 2009).

Les femmes, déjà majoritairement exposées au VIH du fait de leur constitution physique (plus de surfaces exposées lors des rapports sexuelles, plus de risques liés aux lésions, aux déchirures) et des pesanteurs socioculturelles (mariage forcé, lévirat, sororat excision,…) sont également les plus vulnérables à ces IST.
Le prophylactique (préservatif) perforé ou déchiré expose plus la femme. De là découle aussi la féminisation de la problématique du SIDA : dans un couple dont l'homme est séropositif et la femme séronégative, si le préservatif est de mauvaise qualité ou s'il se déchire, la probabilité pour que la femme soit contaminée se renforce, puisque tout le stock de sperme infecté par le virus du SIDA a le chemin libre pour aller le plus loin possible dans le tractus génitale féminin.

D'après une étude réalisée par IRWIN et *al*. en 2000, *M. hominis, M. genitalium, U. urealyticum* et les Streptocoques sont plus fréquemment isolés chez les femmes séropositives pour le VIH.
U. urealyticum et *M. hominis* appartiennent à la flore commensale des voies génitales. Cependant, l'isolement de ces germes dans le vagin de la femme peut être un indicateur de vaginose bactérienne. Ils sont également responsables de certaines endométrites, fièvre post-partum/post-abortum, salpingites et infections néo-natales.

La présence de ces germes chez les femmes séropositives en âge de procréer pourrait donc compliquer leur état de santé déjà fragilisé par le VIH.

OBJECTIF

L'objectif principal de cette étude est de mesurer la prévalence du portage de *M. hominis* et *U. urealyticum* chez les femmes VIH séropositives à Ouagadougou et d'évaluer la présence d'autres germes associés ou non.

Pour réaliser notre objectif principal, plusieurs objectifs spécifiques ont été définis :

- La culture des mycoplasmes et leur identification ;
- La quantification (titre) et l'antibiogramme des mycoplasmes ;
- Le diagnostic moléculaire de confirmation des cultures positives par la PCR/ELISA ;
- L'estimation du taux de prévalence des mycoplasmes chez les femmes séropositives ;
- La corrélation éventuelle entre la présence de ces mycoplasmes et l'évolution du taux de CD4 ;

- La recherche classique d'autres agents pathogènes dans le tractus génital de ces femmes.

PREMIERE PARTIE
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. LE VIH

L'agent causal du SIDA (syndrome de l'immunodéficience acquise) est le virus VIH-1 (auparavant LAV/HTLV-III : Lymphadenopathy AIDS Virus/ Human T Lenkemia Virus- III) isolé pour la première fois par Luc MONTEIGNER et ses collaborateurs à l'institut Pasteur en 1983 et par la suite aux Etats-Unis en 1984. Il est responsable de la pandémie actuelle du SIDA. Un deuxième virus appelé VIH-2 a été identifié en 1985 puis isolé en 1986. Ce second virus est présent essentiellement en Afrique de l'Ouest et est également responsable du SIDA.

I.1.1.Morphologie et Structure génomique

Le VIH est un lentivirus de la famille des *Retroviridae* et de la sous-famille des *Lentivirinae*. Les Lentivirus provoquent des maladies évolutives très lentes avec une atteinte du système nerveux central, des poumons et/ou des articulations. Ils n'ont pas de pouvoir transformant comme les Oncovirus de la même famille; au contraire ils sont capables de lyser les cellules qu'ils infectent. Ils sont connus pour leur variabilité au sein d'un même hôte durant l'évolution de l'infection, et par la réplication virale constante tout au long de la maladie. Les virus du SIDA sont les premiers Lentivirus humains identifiés (BURGER et *al*. 1996). Ils ont un tropisme très marqué pour les lymphocytes TCD4+ et les monocytes/macrophages. Ils possèdent les caractères généraux des rétrovirus, à savoir :

- Virus enveloppés de 100 à 120 nm de diamètre, sortant de la cellule par bourgeonnement à travers la membrane cytoplasmique ;
- Le core ou nucléole qui contient le génome diploïde constitué de deux copies identiques d'ARN monocaténaire, ainsi que les enzymes virales : la transcriptase inverse, l'endonucléase / l'intégrase et la protéase ;
- Le génome contenant 9200 bp est composé de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' des gènes caractéristiques des rétrovirus : gag, pol et env. Le gène gag (group spécific antigen) synthétise une polyprotéine qui sera clivée en trois protéines constitutives du core. Le gène pol (polymérase) code pour les enzymes virales. Le gène env (enveloppe) synthétise les glycoprotéines d'enveloppe (STANLEY et *al*., 1999). A chaque extrémité du génome existent des séquences répétées LTR (Long Terminal Repeat). Ces séquences comprennent des signaux de régulation de l'expression des gènes du virus et d'intégration aux gènes cellulaires.

Le génome des VIH possèdent en plus des trois gènes communs, 6 gènes supplémentaires appelés gènes « accessoires » : vif, tat, nef, vpr et rev qui synthétisent respectivement les protéines «vif» (virion infectivity factor) qui aurait un rôle au niveau de l'infectuosité du virus, «tat» (transactivator of transcription) transactivatrice qui augmente la synthèse des protéines, «nef» (negative regulator factor) qui serait un facteur de régulation négative, « vpr » (viral protein R) qui induirait un arrêt en phase G2 et l'apoptose des cellules, «rev» (regulator of expression) régule le niveau des ARN messagers. (BURGAR et *al.*, 1996).

. Le VIH-1 possède un gène dénommé « vpu » qui n'existe pas dans le génome du VIH-2. A l'inverse, seul le virus VIH-2 possède un gène « vpx ».

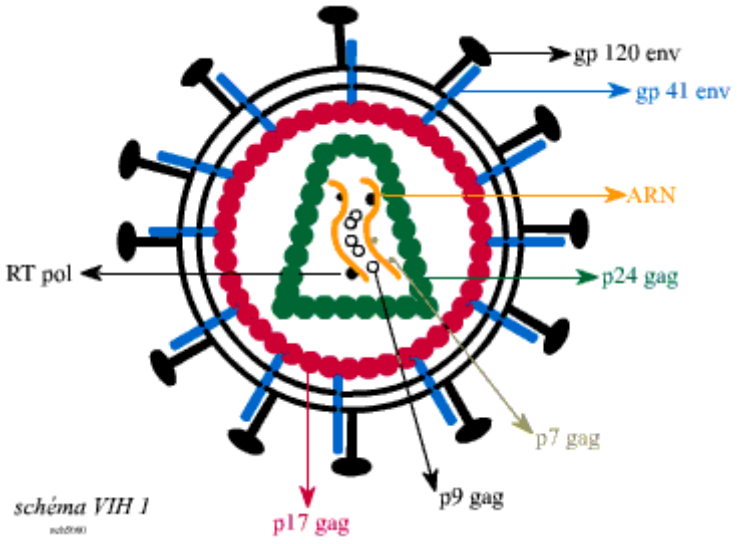

Figure 1: *Structure du VIH-1*

Source : http://membres.lycos.fr/neb5000/VirologieI/Retroviridae/schemas/HIVben1.gif

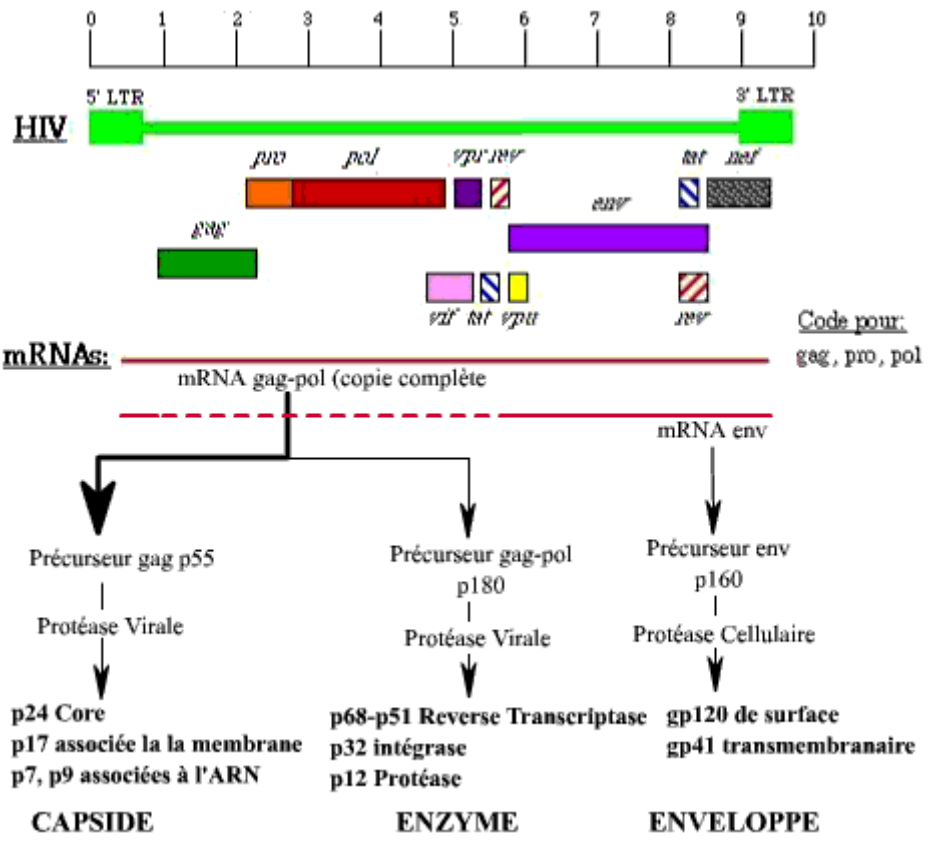

Figure 2: *représentation schématique du provirus et des différentes protéines produites*

Source:
http://membres.lycos.fr/neb5000/VirologieI/Retroviridae/schemas/vih%20structure.gif

I.1.2. Variabilité Génétique

Une des principales caractéristiques du VIH est son extraordinaire variabilité. Cela est dû :

- ✓ au taux élevé d'erreurs commises par la transcriptase reverse ;
- ✓ à la réplication virale intense in vivo ;
- ✓ à la nature recombinogène de la transcriptase reverse.

Tout ceci a pour conséquence l'accumulation de nombreux variants viraux. Cette variabilité confère au virus une grande capacité d'adaptation et lui permet entre autre d'échapper à l'action des anticorps neutralisants, des réponses cytotoxiques de l'hôte et des molécules antiretrovirales. Cette variabilité permet aussi d'identifier de larges groupes de populations virales divergents de plus de 20% dans leurs séquences d'acides nucléiques (BRUN-VEZINET et *al*., 1999). Le VIH-1 est subdivisé en 3 groupes :

- ✓ le groupe M (Majeur) ;
- ✓ le groupe N (New) ;

- ✓ le groupe O (Outlier).

On estime en outre, que 20 à 30% des virus circulants sont des formes recombinantes. Les formes recombinantes circulantes (CRF) reconnues sont actuellement au nombre de 20 (BARIN, 2006).

Le VIH-2, moins pathogène, moins transmissible et de réplication plus lente, est divisé en sous-types de A à E.

I.1.3. Multiplication du VIH

La multiplication du VIH suit le schéma général de multiplication des rétrovirus. L'entrée dans la cellule cible nécessite l'attachement du virion à la surface cellulaire par fixation de la gp120 sur le récepteur CD4. Cette fixation entraîne un changement conformationnel permettant l'accessibilité à un second récepteur ou co-récepteur, appartenant à la famille des récepteurs chimiokines.

Après décapsidation dans le cytoplasme, la synthèse d'un ADN double brin est catalysée par la reverse transcriptase à partir de l'ARN génomique viral.

Le provirus ainsi obtenu migre ensuite vers le noyau sous forme de complexe nucléoprotéique et s'intègre au génome cellulaire grâce à l'intégrase virale. L'ADN proviral est transcrit par l'ARN polymérase II de la cellule hôte. L'épissage alternatif de l'ARN précurseur permet la génération des ARN codant pour chacune des protéines.

Transportés dans le cytoplasme, les ARNm sont traduits sous forme de précurseurs non clivés. Le précurseur gp160 codé par le gène env est clivé par une protéase cellulaire. La particule virale est ensuite assemblée.

Les particules immatures ainsi formées quittent la cellule par bourgeonnement. La maturation du virion qui lui confère son caractère infectieux, a lieu après la libération, lorsque la protéase virale clive les différents composants.

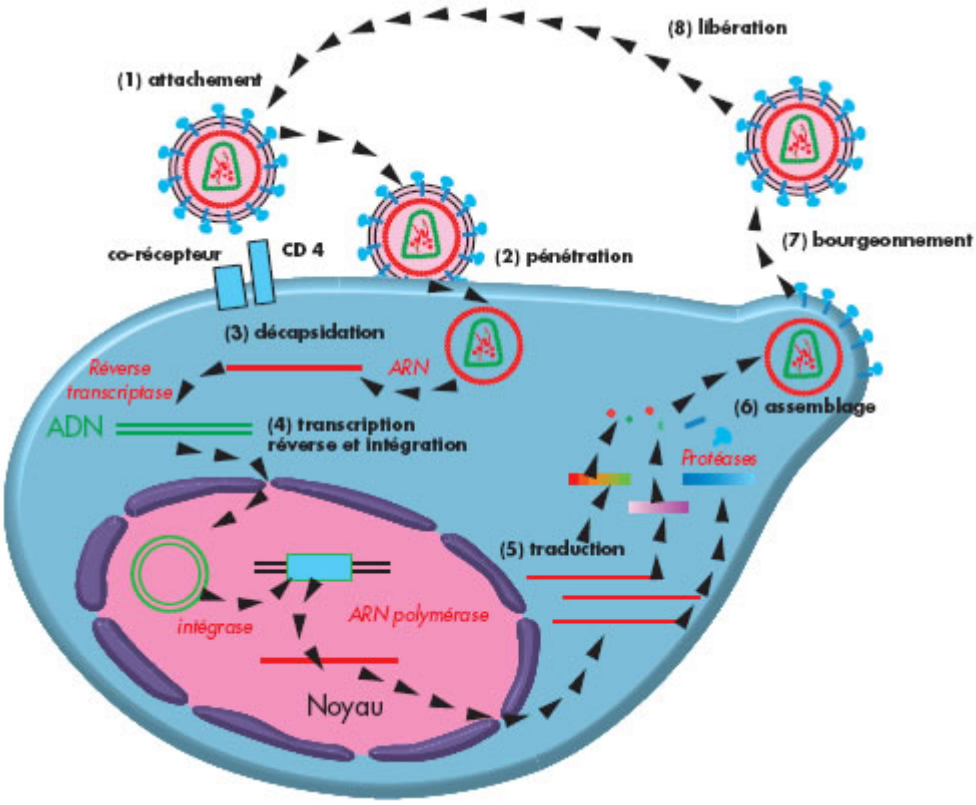

Figure 3 *: Les différentes étapes de la multiplication du VIH*

Source : http://www.ccr.fr/sites/vih/fr/images/v_maladie_6.jpg

Légende:

(1) Attachement: le virus se fixe sur le lymphocyte T4 par reconnaissance avec la protéine.

(2) Pénétration: les deux membranes, celles du virus et du cytoplasme fusionnent. Ce qui permet la pénétration de la nucléocapside du virus dans le cytoplasme.

(3) Décapsidation: les deux capsides se dissocient, libérant l'ARN viral dans le cytoplasme.

(4) Reverse transcription et intégration: grâce à la reverse transcriptase virale, l'ARN viral est transcrit en ADN double brin. Cet ADN pénètre dans le noyau, où il s'intègre au génome du lymphocyte. Il est ensuite transcrit en ARN.

(5) Traduction: après avoir été transcrits par l'ARN polymérase de la cellule, les ARN messagers viraux sont transcrits en trois précurseurs protéiques. Ces précurseurs sont clivés par des protéases pour donner les différentes protéines du virus.

(6) Assemblage: les protéines virales et l'ARN viral sont associés pour reformer des virus. Les protéines virales membranaires sont intégrées à la membrane du lymphocyte.

(7) Bourgeonnement: le virus bourgeonne, emportant un fragment de la membrane plasmique du lymphocyte qui contient uniquement les protéines membranaires virales.
(8) Libération: les nouveaux virus sont libérés dans le milieu intérieur. Ils peuvent infecter de nouveaux lymphocytes T4.

I.1.4. Modes de transmission du VIH

Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques (sang, salive, LCR, sperme, sécrétions vaginales, lait). Il se transmet par :

- ✓ Voie sexuelle ;
- ✓ Voie parentérale ;
- ✓ Voie verticale mère- enfant.

La transmission sexuelle du VIH reste la plus importante dans le monde.

I.1.5. Diagnostic du VIH

Le VIH est responsable d'une infection chronique qui persiste toute la vie chez le sujet infecté. La réponse humorale contre le virus persiste aussi pendant toute la vie. De cette manière, la détection d'anticorps dirigés contre le VIH est une véritable signature indélébile de l'infection. Elle est le plus souvent suffisante pour poser un diagnostic d'infection par le VIH. Le diagnostic sera donc le plus souvent établi par des méthodes indirectes (détection d'anticorps anti- VIH).
Cependant, dans certaines circonstances (cas d'enfants de moins de 12 mois), on peut utiliser des méthodes de diagnostic directes qui permettent soit la détection du virus, soit d'un antigène viral notamment la P24, soit de son génome (PCR : réaction de polymérisation en chaîne).

I.1.6. Traitement et Prévention

Traitement

La chimiothérapie anti-virale a fait d'énormes progrès au cours des dernières années et depuis l'apparition de la première molécule anti-VIH en 1986 (AZT : Retrovir), la palette des anti-rétroviraux n'a cessée de s'élargir. Les molécules actuellement disponibles sont rassemblées en trois familles : les inhibiteurs nucléosidiques de la reverse transcriptase (INRT), les inhibiteurs non nucléosidiques de la reverse transcriptase (INNRT) et les inhibiteurs de la protéase (IP).

Les monothérapies avec les molécules actuellement disponibles sont désormais déconseillées, sauf dans le cadre de la transmission materno- fœtale, car leur efficacité est insuffisante et en plus cela favorise l'émergence de nouvelles souches résistantes. La stratégie actuellement la plus utilisée consiste à associer en trithérapie deux INRT et un IP.

Le traitement est recommandé chez toutes les personnes symptomatiques et chez la plupart des personnes dont le nombre de lymphocytes CD4 est inférieur ou égal à 350/cellules par µl.

Prévention

Les recherches vaccinales ont apportées un certain nombre d'informations et quelques encouragements mais elles ont surtout montré la complexité du développement d'un vaccin contre le VIH due à la très grande diversité génétique et antigénique du virus et à l'absence de marqueurs biologiques associés à la protection identifié à ce jour.

L'une des réussites majeures dans la prévention de la transmission du VIH mère-enfant est probablement l'intervention thérapeutique en cours de grossesse, pendant l'accouchement et durant les premières semaines de vie. Cela a permis de réduire considérablement le taux de prévalence mère-enfant.

Il y a aussi la prévention par l'utilisation du préservatif, l'abstinence et la fidélité dans le couple.

I.2. *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*

Le nom commun de mycoplasme désigne les microorganismes qui se distinguent des autres bactéries par leurs dimensions minuscules et l'absence de paroi. Ils étaient anciennement appelés *PPLO (Pleuro Pneumoniae Like Organisms)* car le premier représentant décrit était l'agent responsable d'une maladie de bétail, la péripneumonie contagieuse des bovidés. Leur polymorphisme et leur structure mycélienne leur ont fait attribué le nom de mycoplasme (forme de champignon). Ce sont les procaryotes les plus petits et les plus simples que l'on connaît capable d'autoréplication.

I.2.1. Classification

Selon le *Bergey's manual*, 1984, *M. hominis* et *Ureaplasma urealyticum* sont classés comme suit :

Règne : *Bacteria*
Division : *Tenericutes*
Classe : *Mollicutes*
Ordre : *Mycoplasmatales*
Famille : *Mycoplasmataceae*
Genre I : *Mycoplasma*
Espèce : *M. hominis*
Genre II : *Ureaplasma*
Espèce : *U. urealyticum*

I.2.2. Caractères généraux

Outre leur structure, la plupart des mycoplasmes sont immobiles et dépourvues de flagelles. Etant sans paroi, elles sont Gram négatives (Gram-).

M. hominis est urée négative (urée-) mais possède de l'arginine déshydrogénase, contrairement à *U. urealyticum* qui est urée positive (urée+).

I.2.3. Structure et Génome

Structure

Les mycoplasmes sont caractérisés par leur extrême pléomorphisme. Ce sont des cellules de très petite taille et d'une relative fragilité due à l'absence de paroi. Elles sont sphériques et globuleuses avec un diamètre de 0,125µm à 0,250µm ou bien allongées et filamenteuses avec un diamètre uniforme pouvant dépasser 100µm. Leur structure simple est celle d'une bactérie dépourvue de paroi : elle comprend un noyau procaryotique, un cytoplasme bourré de granulations de ribosomes et une membrane trilamelléaire de structure classique

Génome

Le génome de U. urealyticum a été séquencé. Cependant, il n'existent pas de données sur celui de *Mycoplasma hominis*.

La taille du génome *de Mycoplasma* et de *Ureaplasma* varie de 400 à 800 Mda selon les espèces. Le coefficient de Chargaff ou GC% fait partie des plus faibles observés : 22 à 41%.

U. urealyticum possède 653 gènes, repartis dans 751719bp.

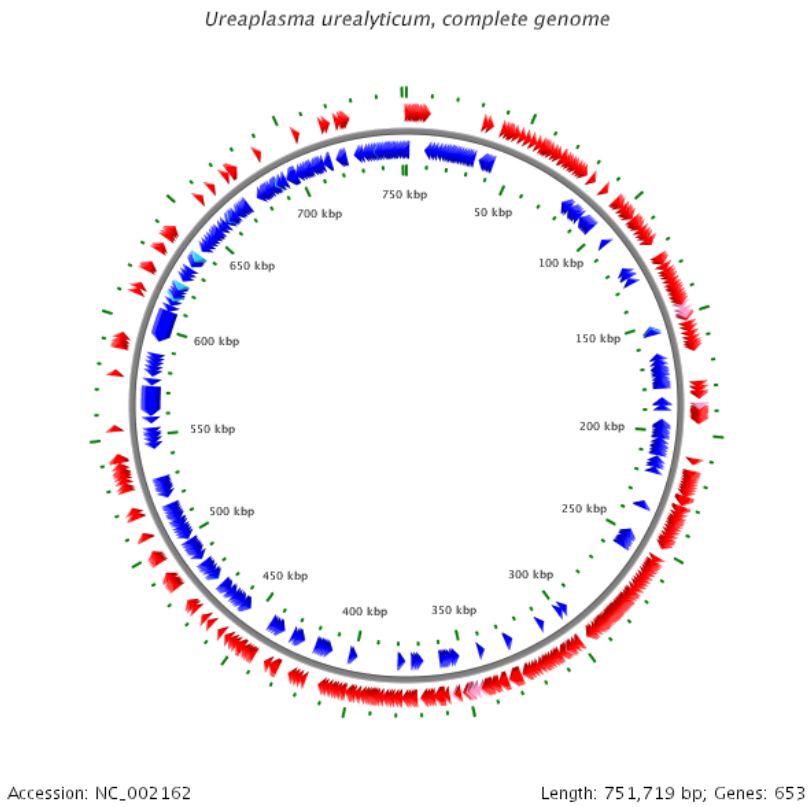

Figure 4 ***:*** *génome complet de Ureaplasma urealyticum*

Source :

http://wishart.biology.ualberta.ca/BacMap/cgview_linked_maps/NC_002162/png/1_1.png

I.2.4. Culture

Comme la plupart des mycoplasmes, *M. hominis* et *U. urealyticum* ont des exigences nutritives très strictes ; ils se développent sur des milieux complexes, riches, additionnés d'une forte concentration de sérum [milieu de Hayflick pour les *mycoplasma SPP* et milieu de Shepard pour les *Ureaplasma SPP*] (LANSING et *al*., 2003). Ce ne sont pas des bactéries strictes comme les rickettsies ou les chlamydia, mais la limite de leurs capacités de biosynthèse les rend très dépendantes de leur hôte pour leur développement.

Ils sont aérobies facultatifs, mais se multiplient de façon plus favorable en anaérobiose. Sur les milieux solides, ils forment des colonies très typiques « en œuf frit » avec une zone centrale opaque, granulaire, incrustée dans la gélose et une zone périphérique étendue, transparente. Le diamètre de ces colonies est généralement compris entre 10 et 600µm mais peut atteindre plusieurs millimètres.

Les mycoplasmes peuvent dégrader une grande variété de sucres et d'acides aminés, dont la recherche permet de les identifier (BEBEAR, 2002).

I.2.5. Intérêt médical

Microorganismes ubiquitaires, les mycoplasmes sont connus dans le règne animal depuis la fin du XIXè siècle. Le premier cas d'infection humain, abcès de la glande de Bartholin, a été décrit en 1937 par Diènes et Edsall. Depuis cette époque, près de 15 variétés de mycoplasmes ont été isolés de prélèvements humains, principalement au niveau du tractus génital et du tractus respiratoire.

Au moins cinq espèces ont été mis en évidence dans le tracte urogénital humain ; parmi elles ont a *M. hominis* et *U. urealyticum* qui sont très fréquentes.

U. urealyticum, ancienne souche T (de « tiny », en raison de la très petite taille de ses colonies), a été décrit par Shepard en 1954, à partir de cas d'urétrites non gonococciques. Il en existe environ 10 sérovars que sont : le 2, 4, 5, 7-13. La spécificité des sérovars dépend de l'antigène MBA (multiple banded antigen) codé par un gène comportant des séquences répétées, susceptibles de varier. (BEBEAR, 2002).

M. hominis est la première espèce de mycoplasme découverte dans une infection humaine.

M. hominis et *U. urealyticum* appartiennent à la flore commensale des voies génitales. Leur présence, intermittente, varie avec de nombreux paramètres. La fréquence d'isolement chez la femme varie selon les études. Elle est cependant nettement plus élevée pour *U. urealyticum* que pour *M. hominis*. La colonisation varie avec l'âge, le niveau socio-économique, l'activité sexuelle, la race, et l'usage de contraceptifs oraux (BOUDRY, 1998).
Ces deux espèces de mycoplasmes sont responsables d'endométrites, fièvres post-partum/abortum et d'infections néonatales. *M. hominis* est aussi fréquemment isolés au cours de vaginoses bactériennes (KINGSLEY et GREGOR, 2007) et est responsable de salpingites et de bartholinites (PIPINGAS et *al*., 2007). *U. urealyticum* est responsable de chorioamnotites et d'avortements (GUIBERT et *al* ., 1996).

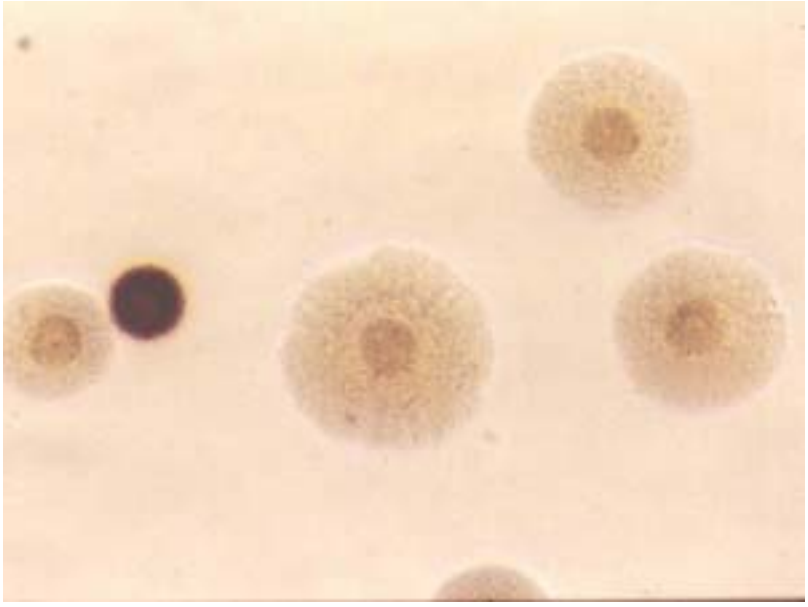

Figure 5: *image microscopique de Mycoplasma hominis et Ureaplasma urealyticum en croissance sur milieu agar A8*

Source :

http://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/refphoto/g02_a8agar_mhominis_23114_uurealyticum_27618_hugo.jpg

I.2.6 Pathologie chez l'adulte

U. urealyticum est impliqué dans l'étiologie des urétrites non gonococciques, principalement chez l'homme (VANWAYENBERGH, 1993.).Il serait également impliqué dans les lithiases urinaires : grâce à son uréase il est susceptible d'induire la formation de cristaux de struvite et de phosphate de calcium dans l'urine.

Outre les vaginoses bactériennes provoquées par ces deux espèces de bactéries (DEMBA et *al*., 2005), *M. hominis* serait responsable d'environ 5% des cas de pyélonéphrite aigue. On a ainsi isolé *M. hominis* du tractus génital supérieur chez des patients qui présentaient les symptômes d'une infection rénale aigue (BOUDRY, 1998).

Dans une étude réalisée par ZINZENDORF NY et *al*. en 2008 sur 1058 échantillons de sperme à Abidjan, il relève que l'isolement de *M. hominis* et *U. urealyticum* pourrait être à la base des désordres de pH, de mortalité et de concentration du sperme. Ces deux germes pourraient donc jouer un rôle important dans la stérilité masculine.

M. hominis a été isolé en culture pure au niveau de l'endomètre ou des trompes de Fallope chez des femmes souffrant de salpingites (DAN et *al*., 1993).

I.2.7 – Mycoplasmes et Grossesse

Au cours de la grossesse, les mycoplasmes peuvent coloniser l'endomètre et, par voie ascendante ou par voie hématogène, les membranes fœtales, le liquide amniotique et les tissus fœtaux, comme ont pu le prouver des cultures de tissu prélevés par césarienne ou amniocentèse (SANCHEZ, 1993 et TEMMERMAN et *al*., 1998).

U. urealyticum est très probablement responsable d'un certain nombre de cas de chorioamniotites et d'avortements (HILLIER et *al*., 1991 ; CASSEL et *al*., 1993 et GUIBERT et *al* ., 1996).

I.2.8 Infections néonatales

U. urealyticum est responsable de détresses respiratoires chez les nouveau-nés prématurés fortement hypotrophiques. Les deux espèces de mycoplasmes, *U. urealyticum* et *M. hominis* peuvent provoquer des méningites, en particulier chez des prématurés atteints d'infections respiratoires ou hydrocéphales et des états septicémiques. La présence de ces germes chez la mère peut également augmenter les risques de mortalité et de morbidité des nouveau-nés en passant par une insuffisance de l'âge gestationnel et du poids à la naissance (LUTON et *al*., 1994 et HILLIER et *al*., 1995).

I.2.9 Diagnostic et Traitement

Le diagnostic étiologique d'une infection à mycoplasmes génitaux peut se faire de deux manières : mise en évidence directe du mycoplasme, méthode la plus utilisée et recherche d'anticorps spécifiques.

L'isolement par culture d'*U. Urealyticum* et *M. hominis* peut se faire par des techniques classiques : culture sur milieux spécifiques liquides et gélosés ou au moyen de kits prêts à l'emploi. L'identification est simple, basée sur l'étude des propriétés biochimiques et sur l'aspect caractéristique des colonies.

Le diagnostic étiologique pose surtout des problèmes d'interprétation. Si les mycoplasmes sont isolés à partir d'échantillons normalement stériles (prélèvements tubulaires, endomètre, hémocultures, LCR), l'interprétation est facile. Par contre, elle est beaucoup plus délicate dans les cas où les mycoplasmes peuvent se trouver comme simples commensaux ou contaminants ; il faut alors tenir compte de l'espèce isolée et de la quantité trouvée.

L'indication du sérovar n'est pas réalisable, celle du biovar peut être effectuée par des techniques de biologie moléculaire (PCR) qui sont de plus en plus utilisées.

Le choix du traitement fait intervenir plusieurs points, la sensibilité in vitro des mycoplasmes (antibiogramme), la notion éventuelle d'une étiologie mixte (co-infection avec d'autres germes), la localisation de l'infection (LCR, uretrogénitale), et le terrain avec d'éventuelles contre-indications (femmes enceintes, enfants).

Les mycoplasmes sont naturellement résistants aux antibiotiques agissant sur la paroi du fait de son absence sur ceux-ci.

I.3 Co-infection du VIH avec *Mycoplasma hominis* et *Ureoplasma urealyticum*

Les problèmes gynécologiques sont fréquents chez les femmes séropositives pour le VIH. Une étude a montré que 46,9% d'un groupe de 262 femmes infectées par le VIH avaient eu au moins un problème gynécologique ayant nécessité une prise en charge médicale (MINKOFF, et *al*. 1999). Certains sont liés à l'immunodépression, alors que d'autres sont plus probablement associés au mode de vie.

Une autre étude réalisée en Côte d' Ivoire a montré que parmi 551 femmes étudiées, 22% étaient porteuse de *U. urealyticum* et 20% étaient porteuses de *M. hominis*. Parmi ces dernières, le taux de prévalence du VIH était de 21% et la quantité de *M. hominis* était infectieuse ($\geq$ à 10^4UCC/ml) ([FAYE-KETTE et *al*., 2000).

La place des mycoplasmes uro-génitaux dans la survenue des infections génitales (Krause DC et *al*.1992) et leur participation dans l'histoire naturelle de l'infection par le VIH ont été soulignées par plusieurs auteurs (LO SC, 1992 ; BLANCHARD et *al*., 1994).

C'est ainsi que l'on a constaté que *M. getalium, M. hominis, U. urealyticum* et *les Streptocoques* sont plus fréquemment retrouvés chez les femmes séropositives pour le VIH (IRWIN, et *al*., 2000).

I.4. Autres agents infectieux classiques du tractus génital féminin

La présence de mycoplasmes uro-génitaux dans le vagin de la femme est généralement considérée comme un signe indicateur de la présence d'autres germes plus pathogènes. Donc l'isolement de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* est le plus souvent associé à la recherche d'autres germes infectieux classiques du tractus génital.

Le vagin est un écosystème dynamique où chaque femme possède 8 à 10 germes en équilibre. La flore dominante est le bacille de Döderlein : lactobacille tapissant la muqueuse vaginale. Il transforme le glycogène abondamment contenu dans les cellules vaginales et cervicales grâce à l'imprégnation oestrogénique en acide lactique. Cet acide lactique explique le pH acide du vagin qui est un facteur protecteur de la pullulation microbienne (DEMBA et *al*., 2005). Cette flore vaginale évolue selon :

- L'âge : moins de Döderlein avant la puberté et après la ménopause non traitée,

- Le cycle : les aérobies diminuent avant et après les règles,
- La contraception : en cas de stérilet on constate une augmentation des anaérobies.

Cette flore aéro-anaérobie équilibrée s'oppose à l'adhérence et à la colonisation des germes pathogènes dans le vagin.

Cependant, en cas de déséquilibre, on peut observer l'apparition de leucorrhées (pertes non sanglantes provenant de l'appareil génital féminin) et/ou d'aspect anormal qui conduisent le plus souvent les femmes en consultation

Au cours des examens de routine, le spécialiste peut isoler des germes tels que *Gardenella vaginalis , Candida SPP, Trichomonas vaginalis, N. gonnhoreae, Streptocoques SPP, Enterobacter SPP, Escherichia coli, ……*

DEUXIEME PARTIE
MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Sujets de l'étude

Nous avons inclus dans l'étude des femmes dépistées positives pour le portage d'anticorps sérique anti-VIH (VIH séropositives), au stade asymptomatique de l'infection. Ces femmes ont été recrutées au centre médical Saint Camille (CMSC) où elles viennent tout les trois mois pour un suivi ambulatoire : consultation et examens de contrôle de leur état physiologique et immunitaire.

Critères d'inclusion

- Femmes VIH séropositives
- Asymptomatiques

Critères d'exclusion

- Femmes vierges
- Femmes enceintes : le prélèvement endocervical augmente les risques d'avortement
- Femmes symptômatiques

II.1.2. Matériel

Nous avons utilisé pour cette étude :

- Un kit MYCOPLASMA SYSTEM Plus de Lofilchem diagnostici pour la recherche, la détermination semi-quantitative et l'antibiogramme de *M. hominis* et *U. urealyticum.* Ce kit est un système de 24 puits contenant des substrats biochimiques et antibiotiques séchés. Le principe de ce test est de déceler l'activité métabolique des mycoplasmes uro-génitaux (uréase positive pour *U. urealyticum* et arginine déshydrogénase positive pour *M. hominis*) ; sur milieu sélectif additionné d'antibiotiques, d'évaluer la résistance ou la sensibilité aux antibiotiques et sur milieu de culture pour la croissance de *Candida SPP* et *Trichomonas* il permet également la recherche et l'identification de ces derniers ;
- Des spéculums et des écouvillons en coton (2 par prélèvement) ;

- Un kit complet Mycoplasma PCR ELISA pour l'amplification et la détection de l'ADN des Mycoplasmes et Acholeplasmes de ROCHE® ;
- Un thermocycleur et des plaques ou des tubes PCR ;
- Le matériel divers pour laboratoire de microbiologie ;
- Des milieux de cultures (gélose chocolat enrichie en polivitex (PVX), Muller Hinton, Sabouraud + chloramphénicol) pour la culture et l'identification des autres germes : le milieu MH permet de rechercher toutes les germes non exigeantes, le PVX permet la recherche des germes exigeants et le milieu Sabouraud permet l'identification des levures)

II.2. Méthode

II.2.1. Recherche, identification, détermination sémi-quantitative et antibiogramme des mycoplasmes

II.2.1.1. Principe

« Mycoplasma System plus » permet d'effectuer la recherche, le comptage semi-quantitatif, l'identification présomptive et l'antibiogramme de *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* isolés par les échantillons cliniques, et la recherche et l'identification présomptive des microorganismes les plus fréquemment isolés par les prélèvements vaginaux comme *Trichomonas vaginalis et Candida SPP*.

- Le comptage semi-quantitatif des mycoplasmes uro-génitaux comme *M. hominis et U. urealyticum* est indiqué par le virage de couleur du jaune au rouge des puits 1-GR+, 2-GR++,3-GR+++
- La présence de *M. hominis* est indiquée par le virage de couleur du jaune au rouge du puit test Arginine 4-ADC
- La présence de *U. urealyticum* est indiquée par le virage de couleur du jaune au rouge du puit test Urée 5-UR
- La présence de *Trichomonas vaginalis* et *Candida SPP* est indiquée par l'observation au microscope (40X) d'une goutte de liquide de culture prélevé du puit 6-TR/YE
- L'antibiogramme des mycoplasmes urogénitaux est évalué en observant le virage de couleur des puits de 7-TE à 24-AZM

II.2.1.2. Prélèvement des échantillons

Après avoir mis en évidence le col de l'utérus à l'aide du spéculum, nous avons prélevé les pertes ou leucorrhées (au niveau de l'endocol pour la recherche des mycoplasmes et autour du col pour l'observation à l'état frais) avec les écouvillons (2 écouvillons/prélèvement). Nous avons ensuite constaté l'aspect et l'abondance des pertes.

Les pertes du premier écouvillons ont ensuite été étalées sur deux lames : une pour l'observation à l'état frais et l'autre pour la coloration gram.

Le second écouvillon est ensuite plongé dans de l'eau stérile et utilisé après pour l'ensemencement du kit « MYCOLPASMA System plus ».

II.2.1.3. Préparation de l'échantillon

Le second écouvillon a été plongé dans une ampoule de solution physiologique de 7ml contenue dans le kit. Nous avons attendu ensuite 5 mn et nous avons pressé soigneusement l'écouvillon contre la paroi de l'ampoule de façon à ce que le matériau soit dispersé de façon homogène dans la solution physiologique. On a ainsi obtenu une suspension d'échantillon avec laquelle on a ensemencé les puits du système.

II.2.1.4. Inoculation du système

Un système est ensuite prélevé de son emballage et nous l'amenons à température ambiante (15-25° C).

On note le numéro d'identification du patient et la date du début de l'examen. On transfert ensuite 0,2ml de la suspension de l'échantillon clinique dans chaque puits du système et on les recouvre avec trois gouttes d'huile de paraffine pour emploi microbiologique, à l'exception du puit 6-TR/YE (pour l'identification des *trichomonas vaginalis* et *des candida Spp).*

On recouvre enfin le système avec le couvercle prévu à cet effet et on incube à 37°C pendant 24h. Quand on suspecte la présence de *M. hominis*, on incube encore pendant 24h à la même température.

II.2.1.5. Interprétation des résultats

Le virage colorimétrique des micropuits lors de l'alcalinisation du milieu après 24h ou 48h de mise en culture à 37°C permet l'identification et la numération des germes exprimés en unités de changement de couleur par millilitre (UCC/ml) et allant de 0 à > $1O^5$ UCC/ml. L'estimation quantitative de ces germes permet d'incriminer leur responsabilité dans une infection.

Le seuil de pathogénicité pour une infection uro-génitale est fixé à 10^5UCC/ml, ce qui permet de définir une colonisation pour une valeur inférieure à 10^4UCC/ml pour une colonisation et une infection pour une valeur supérieure ou égale à 10^4UCC/ml. A la fin de l'incubation :

- On observe le virage de couleur des puits de 1-GR+ à 5-UR et on interprète les résultats à l'aide du tableau (comptage et identification des mycoplasmes/ureaplasmes).
- On prélève une goutte de liquide du puits 6-TR/YE, on la dépose sur une lame porte-objet et, après avoir recouvert la lame avec une lamelle couvre-objet, on observe au microscope (40x) la présence de *Trichomonas vaginalis* et *de Candida Spp.*
- On observe le virage de couleur des puits de 6-TE à 24-AZM et on interprète les résultats à l'aide du tableau (antibiogramme des mycoplasmes/ureaplasmes).

Tableau I : Comptage et Identification des mycoplasmes/ ureaplasmes (interprétation)

Puits	Comptage et Identification Des Mycoplasmes/ Ureaplasmes	Réaction positive	Réaction négative
1-GR+	Croissance des mycoplasmes (10^2 < teneur < 10^4 UFC/ml)	rouge	jaune
2-GR++	Croissance des mycoplasmes (10^4 < teneur < 10^5 UFC/ml)	rouge	jaune
3-GR+++	Croissance des mycoplasmes (teneur > 10^5 UFC/ml)	rouge	jaune
4-ADC	Test Arginine : Identification de *M. hominis*	rouge	jaune
5-UR	Test Urée : Identification de *U. urealyticum*	rouge	jaune

- 10^2< teneur< 10^4 UFC/ml équivalent à 5- 20 colonies développées sur Mycoplasma Agar A7
- 10^4< teneur< 10^5UFC/ml équivalent à 20-50 colonies développées sur Mycoplasma Agar A7
- Teneur> 10^5UFC/ml équivalent à 50 colonies développées sur Mycoplasma Agar A7

Tableau II : Antibiogramme des Mycoplasmes/ Ureaplasmas (interprétation)

Puits	ANTIBIOGRAMME DES MYCOPLASMES/ UREAPLASMES	Sensible	Intermédiaire	Résistant
7-TE	Tétracycline- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
8-TE	Tétracycline- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
9-PEF	Péfloxacine- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
10-PEF	Péfloxacine- 16µg/ml	jaune	orange	rouge
11-OFX	Ofloxacine- 1µg/ml	jaune	orange	rouge
12-OFX	Ofloxacine- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
13-DO	Doxycycline- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
14-DO	Doxycycline- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
15-E	Erythromycine- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
16-E	Erythromycine- 16µg/ml	jaune	orange	rouge
17-CLA	Clarithromycine- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
18-CLA	Clarithromycine- 16µg/ml	jaune	orange	rouge
19-MN	Minociclyne- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
20-MN	Minociclyne- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
21-CD	Clindamycine- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
22-CD	Clindamycine- 8µg/ml	jaune	orange	rouge
23-AZM	Azithromycine- 4µg/ml	jaune	orange	rouge
24-AZM	Azithromycine- 8µg/ml	jaune	orange	rouge

II.2.2. PCR-ELISA des Mycoplasmes

II.2.2.1. Principe

Le principe de ce test est basé sur l'amplification d'une séquence spécifique de l' ADN des mycoplasmes par PCR et la détection de l'amplicon obtenu par ELISA. Les différentes étapes ci-dessous sont nécessaires à la réalisation de cette amplification/ détection :

II.2.2.2. Extraction de l'ADN

Elle se fait à partir de 1ml des échantillons positifs pour la culture des mycoplasmes.

- On place les échantillons dans des tubes eppendorf de 1,5 ml que l'on centrifuge à 14000 rpm pendant 10mns.
- On prélève ensuite délicatement tout le surnageant en évitant de toucher le culot cellulaire et on le jette.
- A chaque culot cellulaire on ajoute 10µl d'eau stérile distillée et 10µl de réactif de lyse (contenu dans le kit). On obtient ainsi de l'ADN de mycoplasmes prêt pour la PCR.

Chaque manipulation est accompagnée d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif :

Préparation du contrôle positif : prélever 10µl d'ADN contrôle positif et mettre dans un tube. Ajouter 10µl de réactif de lyse.

Préparation du contrôle négatif : mettre 1ml d'eau stérile distillée dans un tube, centrifuger à 14000rpm pendant 10mn, jeter le surnageant et ajouter 10µl de réactif de lyse.

- Incuber l'ADN ainsi obtenu à 37°C pendant 1h ;
- Ajouter 30µl de réactif neutralisant.

Ce ADN pourra être conserver à 4°C ou utiliser immédiatement pour la PCR qui suit.

II.2.2.3. Polymerase Chain Reaction (PCR)

- Transférer 15µl d'eau stérile et 25µl de PCR ready-to-go mix du kit comprenant du dATP, dCTP, dGTP, dUTP, DIG-dUTP (dUTP couplé avec de la Digoxigenin), des primers spécifiques de mycoplasmes, du Taq polymérase et un Tris-buffered saline dans un tube PCR ;
- Ajouter 10µl d'échantillon, de contrôle positif ou de contrôle négatif ;

Placer les tubes dans le thermocycleur Gene-Amp® PCR System 9700 (Applied Biosystems). Le programme d'application est le suivant

Tableau III: les différentes étapes du cycle PCR

Cycle 1	95° pendant 5mn
Cycle 2 à 40	94°C pendant 30s ; 62°C pendant30s et 72°C pendant 1mn
Cycle 41	72°c pendant 10mns
Temperature de conservation	8°C

II.2.2.4. ELISA

- Mettre 40µl de réactif de dénaturation (voir kit) dans un tube eppendorf de 1,5ml ;
- Ajouter 10µl de produit PCR et incuber à température ambiante pendant 10mn ;
- Ajouter 450µl de réactif d'hybridation (voir kit) contenant de l'ADN complémentaire de mycoplasmes marqué avec de la biotine par tube et vortexer. On obtient ainsi 500 µl de suspension ;
- On prélève ensuite 200µl de la suspension ainsi obtenue pour chaque échantillon que l'on transfère dans chaque puits de microplaque ELISA contenant de la streptavidine ; L'ADN biotinilé se fixera sur la streptavidine et restera ainsi au fond du puits ;
- couvrir les puits et incuber à 37°C pendant 3h pour favoriser d'une part l'hybridation et d'autre part la fixation au fond du puits ;
- Jeter le surnageant des puits et laver 3 fois avec 250µl de tampon de lavage (voir kit) préalablement préparé pour enlever les fragments non fixés ;
- Ajouter 200µl d'anti- DIG-POD (anti-digoxigenine couplé à la peroxydase) dilué au 1/100è (voir kit) par puit, couvrir et incuber à 4°C toute la nuit. L'anti-digoxigenine va se fixer sur l'ADN possédant de la digoxigenine. Et comme il est couplé avec la peroxydase qui est une enzyme, cela va faciliter la révélation par l'utilisation d'un substrat fluorochrome ;
- Le lendemain, jeter l'excèdent d'anti-DIG-POD et laver chaque puit 5 fois avec le tampon de lavage ;
- Ajouter 100µl de substrat TMB, couvrir et incuber à température ambiante pendant 20mn. Le TMB étant fluorochrome, on observe une coloration bleue dans les puits contenant de l'ADN de mycoplasmes ;

- Ajouter 100µl de réactif de Stop (on obtient une coloration jaune) par puit et lire l'absorbance à 450nm avec une référence à 690nm. La densité optique ou DO est lue en fonction de l'intensité de la coloration à l'aide d'un appareil Sirio S SEAC de Radim®.
- Interpréter ensuite les résultats selon les données du protocole fourni par le fabriquant.

Tableau IV : Composition des réactifs et tampons du kit PCR

Etiquette	Volume total et composition
Réactif de lyse	- 1,1ml - contient au moins 2% de sodium hydroxyde
Réactif de neutralisation	- 3,6 ml - contient du tampon Tris
PCR ready-to-go mix	- 3 x 1,1 ml - contient du dATP, dCTP, dGTP, dUTP, DIG-dUTP, des primers spécifiques de mycoplasmes, du Taq polymérase et un Tris-buffered saline.
Réactif de dénaturation	- 4,8ml - contient au moins 0,5% de sodium hydroxyde
Tampon d'hybridation	- 54ml
Sonde de capture biotinilée	- 0,54ml - solution contenant un oligo-nucléotide complémentaire biotinilé appartenant à une séquence spécifique de l'ADN du mycoplasme
Tampon de lavage concentré 10*	- 30ml
Anti-DIG-POD	- 240mU, lyophilisé et stable - contenant des fragments Fab d'un anticorps polyclonal pour digoxigenine, conjugué à la peroxydase
Tampon conjugué de dilution	- 24 ml
Solution de substrat TMB	- 15ml - contenant le substrat du POD, le 3,3', 5,5'- tetraméthyl-benzidine (TMB)
Réactif de stop	- 15ml - contenant au moins 5% d'acide sulfurique
ADN pour contrôle positif	- 0 ,5ml - solution contenant un fragment d'ADN de Mycoplasma orale préparé par PCR
Microplaque	- 96 puits - Fixés à la streptavidine

Tableau V : Préparation des solutions du kit non prêt à l'emploi

Solution	Préparation	Stockage

Tampon de lavage	Diluer un volume approximatif de tampon de lavage 10*C avec de l'eau distillée selon le ratio 1/10 A peu près 2ml de tampon dilué sont nécessaire pour une réaction	2 à 8°C pendant 1 mois
Anti-DIG-POD	Reconstituer les fragments Anti-DIG-POD dans 0,24ml d'eau distillée	2 à 8°C pendant 6mois
Réactif d'hybridation	Ajouter la solution contenant la sonde de capture biotinilée dans le tampon d'hybridation dans un ratio de 1/100 450µl sont nécessaire pour une réaction	2 semaines à 2-8°C
Anti-DIG-POD dilué	Ajouter l'Anti-DIG-POD au tampon de conjugaison dilué dans un ratio de 1/100 et mélanger 200µl sont nécessaire pour un puit	2 semaines à 2-8°C

II.2.2.5. Interprétation des résultats

Les différentes DO ou densités optiques des échantillons sont interprétées en tenant compte des DO du contrôle négatif et du contrôle positif.

Contrôle négatif

L'absorbance du contrôle négatif doit être inférieure à 0,25 unités.

Contrôle positif

L'absorbance du contrôle positif doit être supérieure à 1,2 unités.

L'obtention de valeurs contenues dans cette fourchette permet d'évaluer la fiabilité de nos résultats et de mesurer l'absorbance réelle de chaque échantillon.

Echantillons

La soustraction de l'absorbance de l'échantillon à celle du contrôle négatif permet de connaître l'absorbance réelle de l'échantillon. Elle doit être supérieure à 0,2 unités pour que l'échantillon soit déclaré positif aux mycoplasmes. Si elle est inférieure à 0,2 unités, on a un échantillon négatif.

II.2.3. Culture et identification des autres germes du tractus génital féminin

Une partie de l'échantillon prélevé avec l'écouvillon 2 et qui se trouve dans l'eau stérile est utilisée pour ensemencer trois milieux de cultures : Sabouraud pour la recherche des levures, Muller Hinton pour la recherche de germes non exigeants et la gélose chocolat+ polyvitex (PVX) pour la recherche des bactéries exigeantes.
Vingt quatre heures après l'ensemencement à 37°C, les colonies obtenues sont utilisées pour l'antibiogramme ou l'antifongigramme si elles sont pures et pour l'identification sur des mini-galéries en recherchant leurs caractères biochimiques. Si les colonies ne sont pas pures, on fait un réisolement sur milieu approprié et on attend 24 heures de plus pour l'identification et l'antibiogramme.
Streptococcus agalactiae est identifié grâce à une extraction d'enzyme suivie d'une agglutination avec des anticorps spécifiques des différents groupes de streptocoques.

II.2.4. Numération des lymphocytes TCD4

II.2.4.1. Principe

Le FACSCOUNT est un système complet qui donne d'une manière automatique les valeurs absolues des lymphocytes CD4+ et CD8+ et CD3+ en utilisant un système de laser. Il utilise une paire de tubes de sang: l'un détermine le nombre absolu de lymphocytes T helper/inducteurs (T CD4/CD3) et l'autre détermine le nombre absolu de lymphocytes T suppresseurs/cytotoxiques (T CD8/CD3).

Les anticorps monoclonaux anti-CD4, anti-CD8 et anti-CD3 fixés sur des billes marquées à la fluorescéine sont mis en contact avec le sang total à analyser. Les anticorps anti-CD4 et les anticorps anti-CD8 synthétiques se lient respectivement aux lymphocytes T helper et aux lymphocytes T cytotoxiques.

Après un temps d'incubation, le tube contenant le mélange est vortexé et placé sur l'instrument. Les résultats contenant les nombres absolus CD4+, CD8+ et CD3+ sont calculés par un ordinateur et imprimés automatiquement.

II.2.4.2. Analyse des échantillons cliniques

Le sang total du patient est homogénéisé, 50 microlitres y sont prélevés et mis dans chaque tube de la paire de réactif CD4/CD8. Une fois que tous les échantillons cliniques ont été distribués dans les paires de réactif correspondant à chaque patient, l'ensemble est mis en incubation à l'obscurité pendant 1 heure.

Après l'incubation, 50 microlitres de solution de fixation sont ajoutés dans chacun des tubes de la paire de réactif. Après le vortex, l'analyse de l'échantillon est alors effectuée avec le système FACSCOUNT.

II.3. ANALYSES STATISTIQUES

Les études statistiques ont été réalisées par les logiciels Statistical Package for Social Sciences (SSPS) version 11 et Epi info version 6.

II.3. ETHIQUE

Nous avons obtenu l'accord du comité éthique du CMSC pour la réalisation de cette étude. En outre le consentement de chaque femme a été obtenu par le médecin après une explication détaillée du type d'examen qu'elle va faire, des résultats possibles attendus ainsi que la prise en charge éventuelle dont elle bénéficiera gratuitement.

TROISIEME PARTIE
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Résultats

Les cent vingt (120) femmes qui ont participé à notre étude ont été sélectionnées parmi les patients VIH séropositives fréquentant le centre médical Saint Camille (CMSC) et le Centre de Recherche Biomoléculaire (CERBA/LABIOGENE) où ils viennent régulièrement pour un suivi ambulatoire de leurs paramètres physiques, hématologiques, immunologiques et sérologiques.

Le CMSC abrite le Programme de Prévention de la Transmission Mère-Enfant (PTME) du VIH/SIDA. Tout comme le CERBA/LABIOGENE, il s'occupe du dépistage des femmes enceintes et de leur suivi même après l'accouchement et également de la prise en charge des personnes vivants avec le VIH qu'elles aient été dépistées aux centres ou non ; en vue de permettre une meilleure prise en charge thérapeutique de l'infection à VIH et des infections opportunistes qui peuvent en résulter.

La sélection de ces 120 femmes a été faite sans distinction d'âge. Leur moyenne d'âge était de 34,00 ± 6,55 ans avec des extrêmes allant de 20 à 54 ans.

Nous avons divisé ces femmes en quatre (04) groupes (A, B, C, D) selon des classes d'âges bien définies : le groupe **A** correspond aux femmes ayant un âge **inférieur à 25 ans**, le groupe **B** celles ayant entre **25 et 33 ans**, le groupe **C** celles ayant entre **34 et 42 ans** et le groupe **D** celles ayant **plus de 42 ans** (figure 6).

III. 1.1. Le Nombre de femmes VIH séropositives selon les classes d'âges dans notre échantillon

L'observation des différentes classes d'âge (figure 6) nous montre que parmi les 120 femmes VIH séropositives de l'étude, 5,8% ont un âge inférieur à 25 ans ; 42,5% ont un âge compris entre 25-33 ans ; 40,8% ont un âge compris entre 34-42 ans et 10,8% ont plus de 42 ans. Les classes d'âges les plus représentées sont celles comprises entre 25-33 ans et entre 34-42 ans.

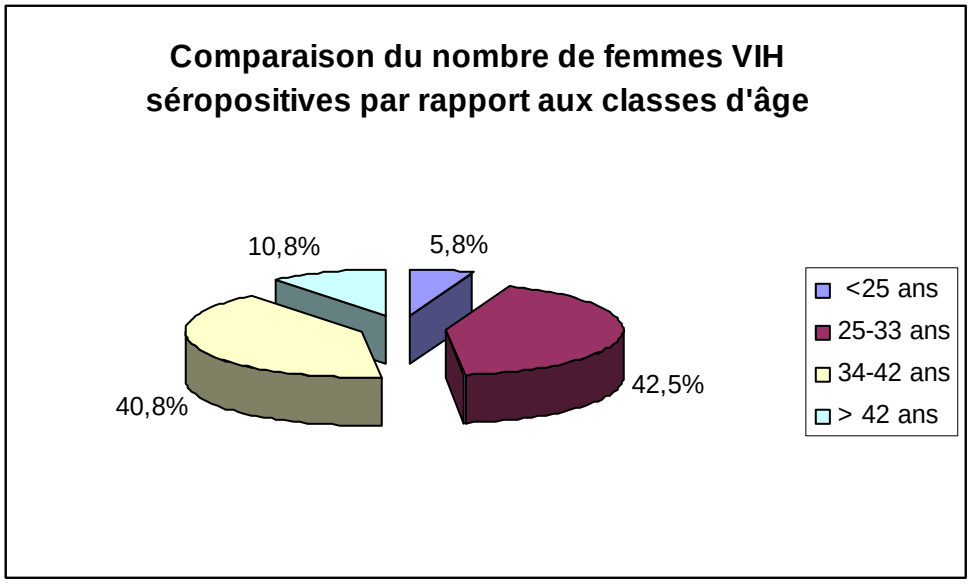

Figure 6 *: fréquences des classes d'âges parmi les femmes VIH séropositives de notre échantillon*

III.1.2. Résultats des taux de portage des mycoplasmes uro-génitaux

Le tableau VI ci-dessous nous présente, les taux de portage de mycoplasmes. L'étude microbiologique (Tableau VI) a permis de constater que 26,7% soit 32/120 femmes étaient globalement porteuses de mycoplasmes uro-génitaux au niveau endocervical. Parmi ces 32 femmes, nous en avons 18/51 (35,3%) du groupe B, 11/49 (22,4%) du groupe C et3/13 (23,1%) du groupe D. Par contre, 88/120 soit un taux de 73,3% de femmes VIH séropositives dont **7** femmes de moins de 25 ans, **33** de 25-33 ans, **38** de 34-42 ans et **10** de plus de 42 ans étaient indemnes de portage de mycoplasmes uro-génitaux (*Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*). On constate que la prévalence est importante à l'intérieur des classes d'âges et que le groupe 25-33 ans possède la prévalence la plus élevée.

La numération a permis d'observer une colonisation (correspondant à une teneur < 10^4 UCC) endocervicale des mycoplasmes uro-génitaux de 8,3% chez l'ensemble des femmes soit 10/120. Parmi ces 10 femmes, nous avons 6 femmes du groupe B, 3 du groupe C et 1 du groupe D.

Vingt deux (22/120) femmes étaient infectées (teneur supérieure ou égale à 10^4 UCC) par au moins un mycoplasme uro-génital. Parmi lesquels on a relevé un seul cas d'infection à *Mycoplasma hominis* ; Douze (12/120) femmes infectées par *Ureaplasma urealyticum* soit un taux de prévalence global de 10% (5 femmes du groupe B, 5 du groupe C et 2 du groupe D) et

9/120 (7,5%) infectées par les deux germes en même temps, toutes les 9 faisant partie des groupes B (6 femmes) et C (3 femmes). Les plus hautes fréquences de portage et d'infection par des mycoplasmes uro-génitaux ont été observées chez les femmes de 25-33 ans et 34-42 ans.

De façon générale, on observe que les femmes de notre échantillon sont beaucoup plus infectées (18,3%) que colonisées par les mycoplasmes uro-génitaux (8,3%).

Tableau VI: récapitulatif des taux de prévalence des mycoplasmes uro-génitaux chez les femmes séropositives selon les classes d'âge à Ouagadougou

Mycoplasmes	< 25 ans	25-33 ans	34-42 ans	> 42 ans	TOTAL
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre (%)
Absence	**7 (100)**	**33 (64,7)**	**38 (77,6)**	**10 (77,0)**	**88 (73,3)**
Colonisation	-	6 (11,8)	3 (6,1)	1 (7,7)	10 (8,3)
Infection à *M. hominis*	-	1 (2,0)	-	-	1 (0,8)
Infection à *U. urealyticum*	-	5 (9,8)	5 (10,2)	2 (15,4)	12 (10)
Co-infection *M. Hominis* + *U. urealyticum*	-	6 (11,8)	3 (6,1)	-	9 (7,5)
Sous total (femmes infectées)	-	12 (23,53)	8 (16,3)	2 (15,4)	22 (18,3)
Sous total portage	**-**	**18 (35,3)**	**11 (22,4)**	**3 (23,1)**	**32 (26,7)**
[Intervalle de confiance (IC)]	[0,0-43,9]	[22,8-50,0]	[12,2-37,0]	[6,2-54,0]	[19,2-35,7]
Total	7 (100)	51 (100)	49 (100)	13 (100)	120 (100)

.Le calcul des intervalles de confiance par la méthode quadratique de FLEISS sur EpiInfo nous montre que à part les classes d'âge des groupes A et D qui ont des effectifs très bas, la prévalence de mycoplasmes que l'on pourrait avoir dans la population totale de femmes VIH séropositives serait acceptable.

Nous avons ensuite comparer les différentes classes d'âge par rapport au portage des mycoplasmes et on a trouvé à chaque fois que P était > à 0,05. Ce qui signifie qu'il n'existe aucune corrélation entre le taux de portage des mycoplasmes et les différentes classes d'âges.

Tableau VII : comparaison des taux de portage par rapport aux groupes de femmes

Groupes comparés	A et B	A et C	A et D	B et C	B et D	C et D
P (valeurs)	0,145	0,374	0,470	0,157	0,612	0,745
Signification	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nous avons recherché une corrélation éventuelle entre le portage de l'ensemble des mycoplasmes et certains paramètres des femmes de notre étude. Nous remarquons que (tableau VIII) les prévalences de portage des mycoplasmes sont plus élevées chez les femmes mariées, veuves, ménagères ou analphabètes.

Tableau VIII : comparaison des taux de portage par rapport au statut matrimonial, à la profession et au niveau d'étude

STATUTS		Mycoplasmes -	Mycoplasmes +		Total
		n	n	%	N
Statut matrimonial	Mariées	47	20	29,9	67
	Veuves	14	9	39,1	23
	Divorcées	9	1	10	10
	Célibataires	18	2	10	20
Profession	Ménagères	68	28	29,2	96
	Commerçantes	7	2	22,2	9
	Salariées	9	2	18,2	11
	Etudiantes	4	0	-	4
Niveau d'étude	Analphabètes	28	15	34,9	43
	Primaire	23	10	30,3	33
	Collège	26	3	10,3	29
	Secondaire	8	4	33,3	12
	Supérieur	3	0	-	3

III.1.3. Résultats des co-infections des mycoplasmes uro-génitaux avec d'autres germes

La figure 7 (diagramme ci-dessous) montre que 58/120 femmes soit 48,3% ne sont porteuses ni de mycoplasmes uro-génitaux, ni d'aucun autre germe. Chez les soixante deux (62) autres femmes restantes, on a isolé au moins un germe lors de la culture au laboratoire. Certains de ces germes sont présents soit de façon isolée, soit en association avec des mycoplasmes urogénitaux. Les germes les plus fréquemment isolés en plus des mycoplasmes sont : *Candida albicans* (24/120), *Escherichia coli* (10/120), *Streptococcus agalactiae* (8/120), *Trichomonas vaginalis* (2/120), *Enterobacter SPP* (1/120) *et Klebsiella pneumoniae* (1/120). Ces différents germes sont tous pathogènes pour la femme.

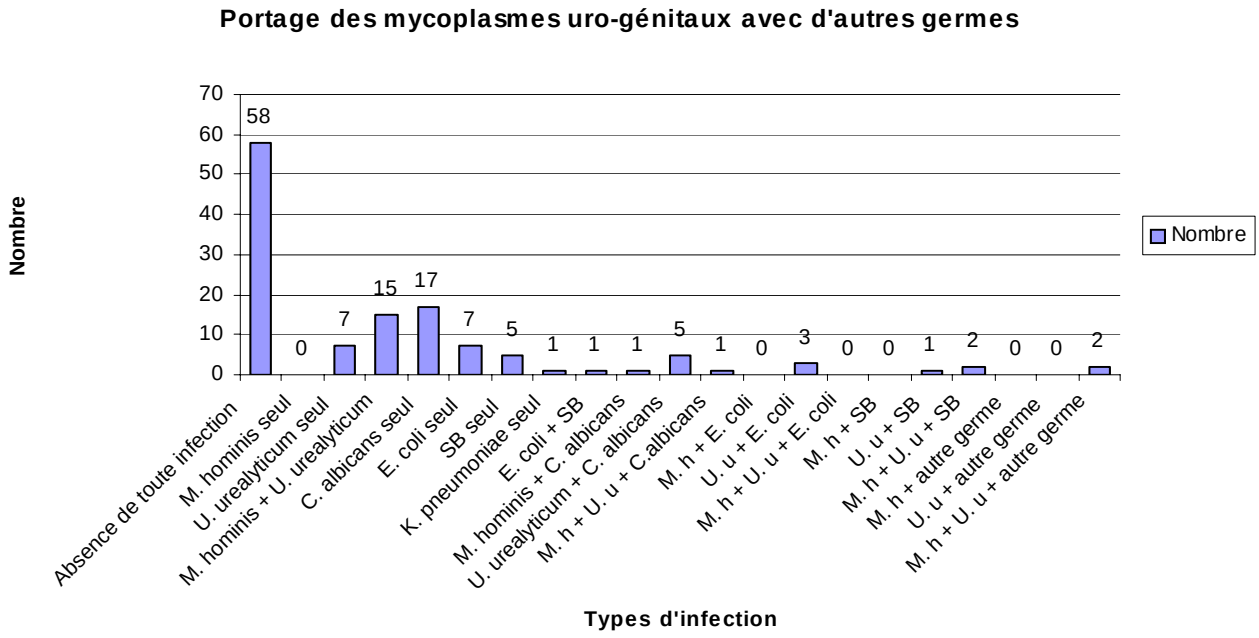

Figure 7 *: le nombre d'individus selon les types d'infections*

III.1.3.1. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Candida albicans*

Parmi les vingt quatre (24) cas de *Candida albicans* isolés, soit une prévalence de 20%, 7 cas sont associés à au moins un mycoplasme et les 17 autres sont présents sous forme d'infection isolées. Parmi ces 7 cas de co-infection, 5 sont associés à *U. urealyticum*, 1 à *mycoplasma hominis* et 1 aux deux mycoplasmes (tableau IX).

Tableau IX : co-infection des mycoplasmes avec *C. albicans*

	Nombre	Pourcentage
C. albicans seul	17	14,2%
C. albicans + M. hominis	1	0,8%
C. albicans + U. urealyticum	5	4,2%
C. albicans + M. hominis + U. urealyticum	1	0,8%
TOTAL	24	20%

III.1.3.2. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Escherichia coli*

Parmi les dix (10) cas (soit 8,3%) de *Escherichia coli* isolé, 7 étaient présents sous forme d'infection isolée ; tandis que les 3 autres étaient associées à *U. urealyticum* (tableau X).

Tableau X : co-infection de *E. coli* avec les mycoplasmes

	Nombre	Pourcentage
Escherichia coli seul	7	5,8%
E. coli + U. urealyticum	3	2,5%
TOTAL	10	8,3%

III.1.3.3. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec *Streptococcus agalactiae*

Notre étude nous a permis d'isoler 8 cas d'infection à *Streptococcus agalactiae* dont 5 cas isolés, 2 cas en association avec *U. urealyticum* et 1 cas associé à une co-infection *M. hominis – U. urealyticum* (tableau XI)).

Tableau XI: co-infection de *Steptococcus agalactiae* avec les mycoplasmes

	Nombre	Pourcentage
S. agalactiae seul	5	4,2%
S. agalactiae + U. urealyticum	2	1,7%
S. agalactiae + M. hominis + U. urealyticum	1	0,8%
TOTAL	8	6,7%

III.1.3.4. Infection des mycoplasmes uro-génitaux avec d'autres germes

D'autres germes ont été isolés dans le tractus génital des femmes soumises à l'étude. Ce sont : *Trichomonas vaginalis* (02), *Klebsiella pneumoniae* (01) et *Enterobacter SPP* (01). *K. pneumoniae et Enterobacter SPP* sont également des entérobactéries pathogènes.

III.1.4. Résultats de la PCR/ELISA

L'utilisation de la PCR nous a permis de confirmer la présence de l'ADN des mycoplasmes dans nos cultures positives. Sa sensibilité permet de détecter au moins 10^4 cfu (unités formant des colonies). Elle est donc beaucoup plus efficace pour la détection de la présence des mycoplasmes. Le tableau XII nous montre les résultats de la PCR/ELISA comparativement à ceux de la culture.

Le diagnostic de confirmation par PCR/ELISA montre que 30/32 échantillons testés positif par la culture ont été confirmés pour la présence de l'ADN. Soit un pourcentage de 93,75%. Les deux tests négatifs à la PCR/ELISA sont des cas de co-infection de *M. hominis* et de *U. urealyticum.*

Tableau XII : Concordance entre la culture et la PCR/ELISA

	Culture Bactérienne	Test PCR/ELISA	% de concordance des deux tests
MH	1	1	100,00%
UU	16	16	100,00%
MH+UU	15	13	80,00%
Total	32	30	93,75%

MH = M. hominis UU = U. urealyticum

III. 1. 5. Résultats des résistances aux Antibiotiques

En observant le tableau XIII, nous remarquons de façon générale que les mycoplasmes uro-génitaux de notre étude sont beaucoup plus résistants à l'Erythromycine (E) (46,7%), l'Azithromycine (25%) et la Clarithromycine (31,3%) qui sont des macrolides. Ils sont tous sensibles à la Doxycycline (DO), à la Clindamycine (CD), à la Minocycline (MN) et à la Péfloxacine. Très peu d'entre elles sont résistants à la Tétracycline (TE) et à l'Ofloxacine (respectivement 3,13% et 12,5%).

Pour *U. urealyticum*, on n'observe aucune résistance pour la Tétracycline, la Doxyciclyne, Clindamycine, la Minocycline et la Péfloxacine (PEF).

Dans les cas de co-infection, nous avons observé les pourcentages de résistance suivants : 53,3% pour CLA, 46,7% pour E, 33,3% pour AZM, 13,3% pour OFX et 6,67% pour TE. Parmi les résistances observées de façon générale, nous remarquons que les taux les plus élevés se retrouvent au niveau des cas de co-infection *Mycoplasma hominis- Ureaplasma urealyticum.*

Tableau XIII : Résistance des mycoplasmes aux antibiotiques

ANTIBIOTIQUES	*U. urealyticum*		*M. hominis + U. urealyticum*		Ensemble Mycoplasmes	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Clarithromycine (CLA)	1/16	6,25%	8/15	53,3%	10/32	31,3%
Erythromycine (E)	1/16	6,25%	7/15	46,7%	7/15	46,7%
Azithromycine (AZM)	2/16	12,5%	5/15	33,3%	8/32	25%
Ofloxacine (OFX)	2/16	12,5%	2/15	13,3%	4/32	12,5%
Tétracycline (TE)	-	-	1/15	6,67%	1/32	3,13%

III.1.6. Comparaison des taux de CD4 par rapport à la présence de mycoplasmes et/ou d'autres germes

En observant le tableau XIV, on constate qu'il n'y a pas une différence statistiquement significative (P > 0,05) quant au rapport entre le taux des CD4 avec les mycoplasmes. Ce qui signifie qu'il n'existe aucune corrélation statistiquement significative entre la présence ou l'absence de mycoplasmes et le taux de CD4 dans notre échantillon.

Tableau XIV: Comparaison des taux de CD4 et de la moyenne d'âge de 3 groupes de femmes différentes

	Mycoplasmes seuls	**Mycoplasmes + autres germes**	**P**
Nombre	18	14	
Age	32,67 ± 5,22	33,43 ± 5,60	0,695
CD4	346,44 ± 178,22	373,30 ± 244,37	0,721
	Mycoplasmes seuls	**Absence de toute infection**	
Nombre	18	62	
Age	32,67 ± 5,22	33,49 ± 5,81	0,592
CD4	346,44 ± 178,22	346,02 ± 172,43	0,993
	Mycoplasmes + autres germes	**Absence de toute infection**	
Nombre	14	62	
Age	33,43 ± 5,60	33,49 ± 5,81	0,972
CD4	373,30 ± 244,37	346,02 ± 172,43	0,625

III.2 DISCUSSION

Dans cette présente étude nous avons obtenu comme résultats ces taux de prévalence selon les classes d'âges : 5,8%de femmes ayant moins de 25 ans 42,5% ayant un âge compris entre 25-33 ans, 40,8% ayant entre 34-42 ans et 10,8% ayant plus de 42 ans.
Nous notons une grande différence au niveau du nombre d'individus selon les classes d'âges dans notre échantillon. Cela est dû au fait que la majorité des femmes de notre étude ont été récupérées à partir la PTME. D'autres études antérieures réalisées sur les femmes enceintes au CMSC : NADEMBEGA, en 2006, notait une forte prévalence de 12,29% pour le VIH/SIDA dans des groupes de 25-29 ans ; ILBOUDO et *al*., en 2007 avaient des prévalences de VIH selon les classes d'âges de 25-29 ans (11,8%), 30-34 ans (9,95%) et ABA'A observait en 2002 une prévalence de 22,60% au sein des individus âgés de 30 à 39 ans nous pouvons expliquer les fortes fréquences de nos échantillons et surtout celles des groupes B et C.

Cette prévalence élevée de VIH au CMSC se traduit par le fait qu'il est un centre de référence pour les femmes vivant avec le VIH et la prise en charge y est gratuite grâce aux accords entre le centre médical et le Ministère de la santé du Burkina Faso. Dans ce sens, de nombreuses femmes connaissant leur statut sérologique positif parcourent de grandes distances pour refaire le test du VIH à Saint Camille afin de pouvoir bénéficier des avantages de la prévention de la transmission mère enfant (PTME). En plus de cela, la haute prévalence du VIH parmi les femmes pourrait s'expliquer par le fait que le genre féminin, par sa physiologie, est plus vulnérable aux risques de ces infections.

Au Burkina Faso, on a un fort taux d'analphabétisme, surtout chez les jeunes filles et les femmes et très peu d'entre elles ont accès à l'information sur les modes de transmission du VIH. Elles font le dépistage seulement quand elles sont enceintes et viennent par conséquent pour les consultations prénatales. Grâce à la sensibilisation, à la formation et à la vulgarisation du préservatif, le gouvernement burkinabé a réussi à faire reculer le taux de prévalence du VIH/SIDA (CNLS-IST, 2005 et 2009). Cependant à un certain âge, le désir de maternité prédomine chez certaines femmes qu'elles soient séropositives ou séronégatives ce qui relègue le problème du VIH au second plan.

Les résultats obtenus dans nos échantillons (figure 6) pourraient s'expliquer par le fait que les femmes des groupes B et C font partie de celles qui sont les plus sexuellement actives.

Elles ont en général une situation matrimoniale stable et elles sont en quête d'enfants. Par conséquent très peu d'entre elles utilisent le préservatif qui pourrait pourtant réduire la transmission de ces germes.

La fréquence d'isolement des mycoplasmes chez la femme adulte, au niveau endocervical varie selon les études. Elle est nettement plus élevée pour *U. urealyticum* que pour *M. hominis*. Chez les femmes VIH séropositives, peu d'études ont été faites sur ces germes, surtout en Afrique. Cependant, les études existantes montrent des fréquences très variables. Les prévalences, des *M. hominis* et *U. urealyticum*, que nous avons trouvé dans cette étude sont nettement inférieures à celles rapportées dans la littérature internationale dans d'autres pays. Ainsi, on a : 92% de taux de portage de mycoplasmes chez les femmes séropositives, en âge de procréer à Bangui dont 53,4% de taux d'infection (RAPELANORO et *al*., 1998) ; 30,9% de *mycoplasma hominis* isolé dans un groupe de travailleuses du sexe à Niamey dont 30,1% étaient séropositives (MAMADOU et *al*., 2006) ; FAYE-KETTE et *al*., 2000 ont trouvé dans une étude réalisée en Côte d' Ivoire que parmi 551 femmes, 22% étaient porteuses de *U. urealyticum* et 20% étaient porteuses de *M. hominis*. Parmi ces dernières, le taux de prévalence du VIH était de 21% et la quantité de *M. hominis* était ≥ à 10^4 UCC/ml. Il faut cependant noter que à l'époque où ces études ont été faites, la prise en charge thérapeutique et sociale n'était pas encore vulgarisée. Ce qui augmentait encore plus les risques de contracter les IO. En outre certaines de ces études ont été faites sur des groupes de femmes à risque (travailleuses du sexe).

Il est cependant à noter que les femmes soumises à notre étude sont suivies de façon régulière et qu'elles ont été sensibilisées sur les précautions d'hygiènes de base pour éviter les infections opportunistes (IO). Celles qui ont un taux de CD4 < 350 cellules/µl sont immédiatement mises sous ARV et la majeure partie d'entre elles sont sous Cotrimoxasole pour éviter les IO. En outre la totalité de celles qui n'ont pas de partenaire stable (c'est-à-dire mariées ou vivant en concubinage) avouent utiliser le préservatif à chaque rapport sexuel. Ces conditions d'hygiène et de préventions pourraient expliquer que nos patientes VIH séropositives aient des taux de prévalences aussi bas par rapport à celles relatées par des études internationales faites en Afrique.

Certaines études antérieures ne trouvent aucune corrélation entre la transmission du VIH et la présence de mycoplasmes uro-génitaux dans le tractus génital. DEMBA et *al*. en

2005 n'ont pas trouvé de relation entre le VIH et les vaginoses bactériennes (dans lesquelles ont a trouvé 25,5% infections à *M. hominis*) ; Il en est de même pour l'étude réalisée par LANZAFAME et *al*. en 2006. Tandis que OLINGER et al. ont trouvé en 1999 une corrélation entre la présence d'un facteur d'induction du VIH et la quantité de *M. hominis* isolée dans le tracte génital de 17 femmes.
Nous remarquons que (tableau VIII) les prévalences de portage des mycoplasmes sont plus élevées chez les femmes mariées, veuves, ménagères ou analphabètes. Cela pourrait s'expliquer d'une part par la sensibilisation et d'autre part par le fait que ces groupes de femmes sont les plus représentatifs de notre échantillon.

Candida albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. C'est un organisme vivant à l'état naturel sur la peau, dans la bouche et le tube digestif de l'être humain. On le retrouve chez 80% de la population, et il n'entraîne habituellement aucune maladie ou symptôme en particulier : c'est un organisme commensal saprophyte. Elle provoque cependant des infections fongiques (candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestives et gynécologiques. On observe dans notre étude une forte prévalence de *C. albicans* (tableau IX). Ils sont beaucoup plus associés aux ureaplasmes qu'aux mycoplasmes. MEDA et *al*., en 1995 ont trouvé une prévalence pour *C. albicans* de 17% dans un groupe de 220 femmes à Bobo-Dioulasso dont 42% étaient VIH séropositives. Ainsi, les candidoses sont une cause importante de morbidité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du SIDA (MACHET, 2006), les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse.

Escherichia coli ou colibacille est une entérobactérie qui a été découvert en 1885 par Escherich. C'est un bacille gram négatif (gram-), asporulée, immobile ou mobile par ciliature péritriche. Il représente environ 80% de la flore normale anaérobie de l'adulte. On peut également le retrouver au niveau des muqueuses de l'homme. *E. coli* représente à lui seul, 50% des agents responsables des infections urinaires : surtout chez la femme. Cela est dû à la proximité du méat urinaire et du vagin. Dans notre étude, nous l'avons isolé chez 10 patientes (tableau X). S'il n'est pas diagnostiqué à temps, il est responsable d'infections génitales comme les salpingites, les leucorrhées et les orchites.

Dans cette étude 8 cas de ***Streptococcus agalactiae*** ont été isolés chez les femmes VIH séropositives (tableau XI). *Streptococcus agalactiae* est un cocci à gram+, organisé en

diplocoques ou en chaînettes plus ou moins longues, non sporulés, ne possédant pas de catalase ni de nitrate réductase et oxydase négatif. Il fait partie de la famille des *Streptococcaceae*. *S. agalactiae* est aussi appelé *Streptocoque B*. Il a un métabolisme fermentatif et est aero-anaerobie facultatif. *S. agalactiae* se retrouve chez la femme de la même manière que *E. coli*. Il provoque également des septicémies, des leucorrhées et des infections néonatales (méningite).

Trichomonas vaginalis est un micro-organisme eucaryote appartenant aux trichomonadés, de l'ordre des Protozoaires. Il porte 3 à 4 flagelles antérieurs et un flagelle récurent. Il peut persister jusqu'à 50% des femmes et détermine souvent des troubles importants. Dans notre étude nous avons isolé seulement deux cas de *Trichomonas vaginalis (figure7). Trichomonas vaginalis* est responsable de la trichomonase féminine qui se traduit par une vulvo-vaginite subaiguë et de la trichomonase masculine qui se traduit par une urétrite. Il se transmet essentiellement par voie sexuelle. Cependant il existe aussi des possibilités de contamination (peu importantes) par le linge, les objets de toilette et surtout les sièges et l'eau des W.C (COULIBALY, 2003).

Klebsiella pneumoniae et ***Enterobacter SPP*** sont des entérobactéries, elles se retrouvent chez la femme de la même manière que *E. coli*. Nous avons isolé 0,8% pour chacun de ces germes chez femmes les soumises à nos études (figure 7). *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter SPP* provoquent des leucorrhées en cas de vaginoses.

La PCR qualitative de la maison Roche que nous avons employée dans cette recherche nous a permis de confirmer la présence des mycoplasmes en utilisant des primers (amorces) spécifiques pour l'amplification sélective de leur ADN. Des études ont été faites dans le but de comparer la détection des mycoplasmes par PCR/ELISA et par culture et dans la majorité des cas, la PCR/ELISA est beaucoup plus efficace que la culture du fait de sa rapidité et de sa sensibilité (ABELE-HORN et *al*., 1996 et LUKI et *al*., 1998). Néanmoins, nous avons voulu dans notre étude confirmer les cultures positives aux mycoplasmes par des analyses moléculaires et nous avons trouvé 93,75% de concordance entre les deux tests (tableau XII).

Les antibiogrammes que nous avons réalisés sur les mycoplasmes ont montrés des résistances variables de ces germes aux antibiotiques (tableau XIII). Nous avons trouvé que les mycoplasmes sont à 100% sensibles à la Doxycycline (DO), à la Minocicline (MN), à la

Péfloxacine (PEF) et à la Clindamycine (CD) et majoritairement résistante à l'érythromycine (46,7%), à l'azithromycine (25%), à la tétracycline (3,13%) et à clarithromycine (31,3%). Nos résultats sont comparables à ceux de SOW et al. (2000) à Dakar dont les échantillons présentaient une sensibilité à la DO (90%) et à la MN (80%) ; VAN-SCHOUWENBURG et *al*. ont trouvé en 1992 une sensibilité à la DO de 87% parmi ses souches *U. urealyticum* et 100% parmi les *M. hominis*. Selon BEBAR en 2007 et DEGRANGE et *al*. en 2008, certains *U. urealyticum* ont acquis une résistance génétique à la Tétracycline grâce à une mutation génique **Tet**(M). D'autres auteurs comme SOW et al. 2000 et DOMINIQUES et al. 2003, ont trouvé respectivement des mycoplasmes mutés résistants de 5% et de 24,1%. Dans notre échantillon, nous constatons qu'aucun *U. urealyticum* n'a acquis cette résistance à la Tétracycline car ils étaient à 100% sensibles.

Dans notre échantillon nous avons trouvé une résistance de 25% de l'AZM et 46,7% de l'E. Cela pourrait être dû à une mutation au niveau du rRNA 23S (PEREYNE et *al*., 2002, 2006).

Les calculs de P dans notre étude nous montrent qu'il n'existe aucune relation statistiquement significative entre la présence ou l'absence des mycoplasmes et les taux de CD4. Cela est confirmé par une étude réalisée par LANZAFAME L. et *al*. en 2006 sur 110 femmes séropositives. Par contre, LEVINE et *al*. ont trouvé en 1998 une forte association entre le taux de CD4 et la présence de mycoplasmes chez 203 femmes. Il est cependant à noter que les femmes de cette étude étaient recrutées seulement en cas de vaginose ou de contact possible avec un partenaire infecté. Cette absence de corrélation pourrait également s'expliquer par le fait que le taux de CD4 varie avec l'état de la patiente.

Au vu de ces différents résultats nous pouvons en conclure que certes ces germes peuvent être hautement pathogènes mais il existe des traitements très efficaces et abordables contre eux.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

A travers la culture bactériologique et la biologie moléculaire, nous avons pu diagnostiquer et confirmer la présence de *M. hominis* et *U. urealyticum* chez les femmes VIH séropositives au CMSC. Nous avons en plus isolé d'autres germes chez ces femmes. Et par conséquent, on a pu déterminer leur prévalence. Par contre nous n'avons trouvé aucun cas de gonococcie.

Ces germes sont très dangereux pour les femmes car ils sont fréquemment associés dans des pathologies comme les vaginoses, les endométrites et les stérilités indirectes à travers les salpingites. Il existe des traitements très efficaces et abordables contre les mycoplasmes et autres germes pathogènes isolés dans notre étude, il suffirait seulement d'en faire usage sur recommandation médicale.

Au vu de ces conséquences possibles, nous avons l'espoir que cette étude sera un tremplin pour d'autres études plus poussées ayant comme finalité la vulgarisation du diagnostic de ces germes chez les femmes.
En attendant un travail à large échelle, on pourrait dès à présent sensibiliser les femmes sur les risques de contracter ces germes.

PERSPECTIVES

En perspectives nous pourrons envisager d'abord la sensibilisation, la formation des femmes sur l'hygiène et le dépistage régulier des autres germes pathogènes et en particulier le Papillomavirus humain en association avec une étude sur le comportement sexuel chez toutes les femmes. Ensuite une étude de la prévalence des mycoplasmes dans la population générale. Et enfin le génotypage des mycoplasmes retrouvés au Burkina Faso.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIBLIOGRAPHIE

1) **ABA'A N. R., 2002.** *Prévalence de l'herpès virus humain 8 (HHV-8) et le sarcome de Kaposi au sein des personnes VIH séronégatives et séropositives à Ouagadougou au Burkina Faso*. Mémoire de DEA en Biotechnologies. P 48.

2) **ABELE-HORN M., C. WOLFF, P. DRESSEL, A. ZIMMERMAN, W. VAHLENSIECK, F. PFAFF AND G. RUCKDESCHEL,** 1996. Polymerase Chain Reaction versus Culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in the urogenital tract of adults and the respiratory tract of newborns. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 15, 595-598.

3) **BARIN F.**, 2006. Diversité du VIH: Origine, Evolution et Conséquences. *Med. Trop*., 66,388.

4) **BEBEAR CHRISTIANE**, 2002. *Mycoplasmes et chlamydiae*. Elsevier Masson, ISBN 2842993373, 9782842993375, 145 pages.

5) **BLANCHARD A. AND MONTAIGNIER L**., 1994. AIDS-associated mycoplasmas. *Ann Rev Microbial*, 48, 687-712.

6) **BOUDRY P.,** 1998**.** Mycoplasmes urogénitaux. Implications en pathologie humaines. *Louvain Med*., 117, 128-141.

7) **BRUN-VEZINET F., DAMOND F. AND SIMON F**., 1999. Variabilité des Virus de l'immunodéficience type 1. Journées SPE à l'institut Pasteur à Paris.

8) **BURGAR M. ET ROUZIOUX C., 1996**. *Virus HIV: Diagnostic et suivi de l'infection. Le praticien face au SIDA, 1966.* Serge Kernbaum. 2 éditions. Médecine-Sciences, Flammarion. 4, rue Casimir-Delavigne. 75006 Paris. ISBN : 2-257-12214-3 ; 357p. pp 2-7

9) **CASSEL G. H., WAITES K. B., WATSON H. L., CROUSE D. T. AND HARASAWA R.,** 1993. *Ureaplasma urealyticum* intra-uterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin. Microbiol.Rev*., 6, 69-87.

10) **CNLS/IST (**Conseil National de Lutte contre le SIDA et les Infections Sexuellement Transmissibles)**,** 2009. Situation épidémiologique du VIH/SIDA et des IST au Burkina Faso

11) **CNLS/IST,** 2005. Situation épidémiologique du VIH/SIDA et des IST au Burkina Faso.

12) **COULIBALY K.,** 2003. *Le diagnostic étiologique de l'écoulement vaginal et évaluation de sa prise en charge syndromique par les prescripteurs. Aux centres de santé de référence des communes 5 et 6 du district de Bamako à propos de 200 cas*. Mémoire de Thèse de Doctorat en Médecine.

13) **DAN M**, **SAMRA Z**, **KATZ A**, **DEBBY A**, **GUTMAN R**, **ZAKUT H.**, 1993. Etiology of acute pelvic inflammatory disease proven by laparoscopy. *Sex. Transm. Dis*., 20(3), 158-63.

14) **DEGRANGE S., H. RENAUDIN, A. CHARON, C. BEBEAR AND C. M. BEBEAR,** 2008. Tetracycline resistance in *Ureaplasma SPP* and *Mycoplasma hominis*: Prevalence in Bordeaux, France, from 1999 to 2002 and description of two tet(M) - Positive isolates of *Mycoplasma hominis* susceptible to Tetracycline. . *J. of Antimicrobial agents and Chemotherapy, 2* (52), 742-744.

15) **DEMBA E., MORINSON L., VAN DER LOEFF M. S., AWASANA AKUM A.,GOODING E., BAILEY R., MAYAUD P.** and **WEST B**., 2005. Bacterial vaginosis, vaginal flora patterns and vaginal hygiene practices in patients presenting with vaginal discharge syndrome in Gambia, West Africa. *BMC infectious diseases*, 5, 1-12.

16) **DOMINIQUES D., TAVORA TAVIRA L., DUARTE A., SANCA A., PRETO E. AND EXPOSTO F.,** 2003. Genital mycoplasma in women attending a family planing clinic in Guinée-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents. *Acta. Trop*., 86, vol.1, 19-24.

17) **FAYE-KETTE H., LA RUCHE G., ALI-NAPO L., MESSOU N., VIHO I., WELFENS-EKRA C., DOSSO M.** ET **MSELLATI P**., 2000. Genital mycoplasmas among pregnant women in Côte d' Ivoire, West Africa: prevalence and risk factors. *Int J STD AIDS*, 11(9), 599-602.

18) **GOEMAN J., MEHEUS A., PIOT P**., 1991.L'épidémiologie des maladies sexuellement transmissibles dans les pays en développement à l'ère du SIDA. Ann. Soc. Belg. Med. Trop., Vol. 71, numéro 3, p 81-113.

19) **GUIBERT M., V. ZUPAN, M. A. ATTOU, M. DEHAN, AND P. NORDMANN, 1996.** Colonisation de nouveau-nés prématurés par les mycoplasmes uro-génitaux : leur rôle au cours des dysplasies broncho-pulmonaires. *Méd. et Mal. Infect.*Vol. 26, Suppl. 5, Pages 612-617.

20) **HILLIER S. L., KROHN M. A., KIVIAT N. B, WATTS D. H., AND ESCHENBACH D. A.,** 1991**.** Microbiological causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Ann. J. Obstet. Gynecol*., 165, 955-961.

21) **HILLIER S. L., NUGENT R. P., ESCHENBACH D. A., KROHN M. A., GIBBS R. S., MARTIN D. H., COTCH M. F., EDELMAN R., PASTOREK J. G., VIJAYA RAO A., MCNELLIS D., REGAN J. A., CAREY J. C AND KLEBANOFF M. A.**, 1995. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. *N. Engl. J. Med*., 333, 1737-1742.

22) **ILBOUDO D., KAROU D., NADEMBEGA W.M.C., PIGNATELLI S., PIETRA V., BERE A., SIMPORE J. AND TRAORE A. S**., *2007.* Prevalence of *Human Herpes Virus-8* and *Hepatitis B Virus* among HIV Seropositive Pregnant Women enrolled in the mother-to-child HIV Transmission Prevention Program at Saint Camille Medical Centre in Burkina Faso. *Pakistan J. of Biol. Sc*., 10 (17), 2831-2837.

23) **IRWIN K. L**, **MOORMAN A. C**., **O'SULLIVAN M. J**., **SPERLING R**., **KOESTLER M. E**., **SOTO I**., **RICE R**., **BRODMAN M**., **YASIN S**., **DROESE A**., **ZHANG D**., **SCHWARTZ D. A**., **BYERS R. H**., 2000. Influence of human immunodeficiency virus infection on pelvic inflammatory disease**.** *Obstet Gynecol*, 95(4), 525-34.

24) **JUDITH P.**, 2003. Mycoplasmes génitaux. *Gyn. Obst. And Fert*., 31, 954-959.

25) **KINGSLEY C ANUKAM AND GREGOR REID**., 2007. Organisms associated with bacterial vaginosis in Nigerian women as determined by PCR-DGGE and 16 rRNA gene sequence. *African Health Sciences*, 7(2), 68-72.

26) **KRAUSE D. C., TAYLOR-ROBINSON D**., 1992. Mycoplasmas witch infect humans. In: Maniloff J, McElaney RN, Finch LR, Baseman JB, eds. Mycoplasmas, molecular biology and pathogenesis. Washington D.C: American Society for Microbiology, 417-444.

27) **KRIEG N. R. AND HOLT J. G**., 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology.* Williams and Wilking, Baltimore, vol. 1, 964 pp.

28) **LANSING M. PRESCOTT, JOHN P. HARLEY, DONALD A. KLEIN, CLAIRE MICHELE, BACQ-CALBERG AND JEAN DUSART,** 2003. *Microbiologie*. De Boeck University, Ed n°2, ISBN 2804142566, 9782804142568, 1164 pages.

29) **LANZAFAME M., DELAMA A., LATTUADA E., FAGGIAN F., PADOVANI G. AND CONCIA E.**, 2006. Prevalence and clinical significance of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in the lower tract of HIV-1 infected women. *Le Infezioni in Med.,* 4, 213-215.

30) **LAURENT MACHET, LOÏC VAILLANT, O. ACKER AND P. ARMINGAUD**, 2006. *Dermatologie en gynécologie-obstétrique*. Elsevier Masson, ISBN 2294017773, 9782294017773, 366 pages.

31) **LEVINE C. W., POPE V., BHOOMKAR A., TAMBE P., LEWIS S. J., ZAIDI A.A., FARSHY C. E., MITCHELL S. AND TALKINGTON D.F**., 1998. Increase in endocervical CD4 lymphocytes among women with nonulcerative sexually transmitted diseases. *The J. of Inf. Dis*., 167-174.

32) **LO S. C.**, 1992. Mycoplasmas and AIDS In: Maniloff J, McElaney RN, Finch LR, Baseman JB, eds. Mycoplasmas, molecular biology and pathogenesis. Washington D.C: American Society for Microbiology, 525-45.

33) **LUKI N., P. LEBEL, M. BOUCHER, B. DORAY, J. TURGEON AND R. BROUSSEAU,** 1998. Comparison of Polymerase Chain Reaction assay with Culture for detection of genital mycoplasmas in perinatal infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 17, 255-263.

34) **LUTON D., VILLE Y., LUTON-SIGY A., COUSIN C., NARRAIO B., FASSASI-JARRETOU A. AND ESCARQUEL C**., 1994. Influence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the outcome of pregnancy in Central Africa. *Eur J Obst Gyn Reprod Biol*, 56: 95-101.

35) **MAMADOU S., LAOUEL KADER A., RABIOU S., ABOUBACAR A., SOUMANO O., GARBA A., DELAPORTE E. AND MBOUP S.,** 2006. Prevalence of the HIV infection and five other sexually- transmitted infections among sex workers in Niamey, Niger. *Bull. Soc. Pathol. Exot*., 99, vol.1, 19-22.

36) **MEDA N**., **LEDRU S**., **FOFANA M**., **LANKOANDÉ S**., **SOULA G**., **BAZIÉ A. J**., **CHIRON J. P**., Sexually transmitted diseases and human immunodeficiency virus infection among women with genital infections in Burkina Faso. *Int J STD AIDS,* 6(4), 273-7.

37) **MINKOFF H. L., EISENBERGER-MATITYAHU D., FELDMAN J., BURK R., CLARKE L.** Prevalence and incidence of gynecologic disorders among women infected with human immunodeficiency virus**.** *Am. J. Obstet. Gynécol*., 180(4), 824-36.

38) **NADEMBEGA C. M. W., 2006**. *VIH/SIDA au Burkina Faso : prévention de la transmission verticale mère-enfant et détermination des mutations des gènes gag et pol du VIH-1.* Mémoire de thèse de Doctorat en Sciences Biologiques (Biologie Moléculaire). 126 p.

39) **OLINGER G. G., HASHEMI F. B., SHA B. E., SPEAR G. T.,**1999**.** Association of indicators of bacterial vaginosis with a female genital tract factor that induces expression of HIV-1. *AIDS*, 13(14), 1905-12.

40) **ONUSIDA,** 2008. Rapport sur l'épidémie mondiale de SIDA, Résumé d'orientation.

41) **PIPINGAS A., Y. DANGOR, F. RADEBE, H. G., FEHLER, S. KHUMALO, L. DE GOUVEA, H. J., KOORNHOF, R. C., BALLARD**, 2007. Microbiological investigation of Bartholin's gland abscesses in urban women in Johannesburg. *The South. J. of Epidem. And Infect.,* 22 (1), 18-22.

42) **RAPELANORO RABENJA F., LEPERE P., ESCARGUEL C., PELISSIER C., LAMARQUE P. AND MALVY D**., 1998. Prévalence de l'infection par mycoplasmes urogénitaux chez la femme atteinte par le VIH à Bangui, République Centrafricaine. *Cahiers Santé*, 8, 189-92.

43) **S. PEREYRE, H. RENAUDIN, A. CHARON, C. BEBEAR AND C.M. BEBEAR,** 2006**.** Emergence of a 23S rRNA mutation in *Mycoplasma hominis* associated with a loss of the intrinsic resistance to Erythromycin and Azithromycin. *J. of Antimicrobial agents and Chemotherapy,* 57, 753-756.

44) **S. PEREYRE, P. GONZALEZ, B. DE BARBEYRAC, A. DARNIDGE, H. RENAUDIN, A. CHARON, S. RABERISON, C. BEBEAR AND C.M. BEBEAR**, 2002. Mutations in 23S rRNA account for intrinsic resistance to macrolides in *Mycoplasma hominis* and *M. fermentans* and for acquired resistance to macrolides in *M. hominis. J. of Antimicrobial agents and Chemotherapy,* 10 (46), 3142-3150.

45) **SANCHEZ P. J**. 1993. Perinatal transmission of *Ureaplasma urealyticum*: current concepts based on review of the literature*. Clin Inf Dis*, 17: S107-11.

46) **SIMPORE J., PIETRA V., PIGNATELLI S., KAROU D., NADEMBEGA W.M.C., ILBOUDO D., CECCHERINI-SILBERNSTEIN F., GHILAT-AVOID-BELEM, BELLOCHI M.C., SALERN. I, SANOU M.J., OUEDRAOGO C.M., NIKIEMA J.B., COLIZZI V., PERNO C.P., CASTELLI F., AND MUSUMECI S.,** 2007 Effective Program Against Mother-to-Child Transmission of HIV at Saint Camille Medical Centre in Burkina Faso. *Journal of Medical Virology* (ISSN: 0146-6615) Jul; 79(7):873-9.

47) **SOW A. I., DIALLO Y., EL HADI A. D. AND SAMB A.,** 2000. In vitro sensitivity to antibiotics in 178 strains of genital mycoplasma isolated from gynecology consultants in Dakar. *Bull. Soc. Pathol. Exot.,* 93, vol.1, 6-7.

48) **STANLEY A., SCHWARTZ ET MADHAVAN P. N**., 1999. Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. Clinical and diagnostic laboratory. Vol. 6, num. 3, p 295-305.

49) **TEMMERMAN M., LAGA M., NDINIYA-ACHOLA O. J., PARASKEVAS M., BRUNHAM C. R. AND PLUMMER A**., 1998. Microbial aetiology and diagnostic critera of postpartum endometritis in Nairobi, Kenya*. Genitourin Med*., 64, 172-5.

50) **VAN SCHOUWENBURG J., DE BRUYN O., FOURIE E., VAN RENSBURG J., RODRIQUES A. AND PICKARD I.,** 1992. A randomized, comparative study of the efficacy and tolerance of Roxithromycin and Doxycycline in the treatment of women with positive endocervical cultures for *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma SPP*. In vitro fertilization program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*., vol.15 (4 suppl.), 129S-131S.

51) **VANWAYENBERGH J**., 1993. L'urétrite masculine. *Acta Urol Belg,* 61, 157-160.

52) **ZIZENDORF NY.**, **KOUASSI-AGBESSI BT., LATHRO J. S., DON C., KOUADIO L. AND LOUKOU YG.**, 2008. *Ureaplasma urealyticum* or *Mycoplasma hominis* infections and semen quality of infertile men in Abidjan. *J. of Rep. and Contr*., 19, 65-72.