

MYCOPLASMES

Sabine PEREYRE^{1,2,3}, Christiane BEBEAR^{1,2}, Cécile BEBEAR^{1,2,3}

¹Univ. Bordeaux, USC EA 3671 Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, 33076 Bordeaux, France.

²INRA, USC EA 3671 Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, 33076 Bordeaux, France.

³Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Laboratoire de Bactériologie, 33076 Bordeaux, France.

Pour correspondance : Cécile Bébéar, USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, Université de Bordeaux, Campus Bordeaux Carreire, 146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex, France. Tel: +33 5 57 57 16 25. Fax: +33 5 56 93 29 40. Email: cecile.bebear@u-bordeaux.fr

1. GENERALITES

Microorganismes ubiquitaires, les mycoplasmes appartiennent à la classe des *Mollicutes* (de *mollis cutis* : peau molle). Ils sont dépourvus de paroi, d'où un aspect polymorphe et une insensibilité totale aux bêta-lactamines. Ce sont les plus petits procaryotes capables de multiplication autonome.

La classe des *Mollicutes*, comprend quatre ordres, les *Mycoplasmatales*, *Entomoplasmatales*, *Acholeplasmatales* et *Anaeroplasmatales*, séparés d'après leur habitat naturel, leur exigence en stéroïdes et un certain nombre d'autres propriétés. Parmi les 18 espèces rencontrées chez l'homme (Tableau I), 14 appartiennent au genre *Mycoplasma*, deux au genre *Ureaplasma* (*Ureaplasma urealyticum* et *U. parvum* regroupés sous le terme *Ureaplasma* spp.) et deux au genre *Acholeplasma*. Le terme mycoplasmes continue à être utilisé pour désigner l'ensemble des *Mollicutes*.

Les mycoplasmes seraient sur le plan phylogénétique des formes très évoluées, dérivées de bactéries Gram positif à faible teneur en guanine + cytosine, ayant des ancêtres communs avec certains *Clostridia* (*Clostridium innocuum* et *C. ramosum*) et ayant perdu la capacité de synthétiser une paroi.

Ce sont des contaminants fréquents de cultures cellulaires.

2. POUVOIR PATHOGENE ET HABITAT

Largement répandus dans la nature, les mycoplasmes colonisent chez l'homme les muqueuses respiratoires et les muqueuses génitales. Seules certaines espèces sont pathogènes. Présentant une forte affinité pour les cellules, ce sont des intracellulaires facultatifs.

2.1. Infections respiratoires

Seul *Mycoplasma pneumoniae* a un pouvoir pathogène certain et n'appartient pas à la flore commensale des voies respiratoires. Le rôle de *M. amphoriforme*, espèce nouvelle trouvée dans les voies respiratoires basses de sujets immunodéprimés atteints de bronchite chronique, est à préciser.

M. pneumoniae atteint l'ensemble des voies respiratoires, dans tous les groupes d'âge, de manière endémique et épidémique. Une poussée épidémique, observée en Europe du Nord, en Israël et en Asie, a touché la France en 2010-2011. Le plus souvent responsable de trachéobronchites, *M. pneumoniae* est la 2^e cause de pneumonies communautaires derrière *Streptococcus pneumoniae*. Il serait responsable de 30% des pneumonies communautaires pédiatriques, taux atteignant plus de 50% chez l'enfant de plus de cinq ans. Néanmoins, la fréquence réelle est mal connue en l'absence habituelle de diagnostic étiologique dans les cas bénins. La présence d'atteintes associées, en particulier cutanées, est évocatrice. C'est une cause émergente d'encéphalite aiguë, plus spécialement chez l'enfant de moins de 10 ans. Propriétés d'adhésion, production d'une toxine cytotoxique impliquée dans la réponse inflammatoire de l'hôte, la toxine CARDS (Community Acquired Respiratory Distress Syndrome) et mécanismes immunopathologiques interviennent dans son pouvoir pathogène.

L'implication de *M. pneumoniae* dans l'asthme (exacerbations aiguës chez l'enfant et chez l'adulte, asthme chronique stable) n'est pas clairement établie.

2.2. Infections génitales

Quatre espèces sont concernées, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. parvum* et *U. urealyticum* (Tableau II). La présence de *M. hominis* et surtout *Ureaplasma* spp. à

l'état commensal dans les voies génitales basses rend délicate l'appréciation de leur pouvoir pathogène. La fréquence de colonisation varie avec l'âge, les facteurs hormonaux, la race, le niveau socio-économique et l'activité sexuelle. Elle peut atteindre près de 30% au niveau vaginal pour *Ureaplasma* spp. mais reste inférieure à 10% pour *M. hominis*. *M. genitalium* peut être retrouvé dans les voies génitales de patients asymptomatiques mais son caractère commensal n'est pas établi.

M. genitalium et *Ureaplasma* spp. sont des agents d'urétrites non gonococciques (UNG) non chlamydiennes, aiguës et chroniques. *M. genitalium* est le 2^o agent d'UNG (environ 25% des cas), derrière *Chlamydia trachomatis*. Ils provoquent des arthrites réactionnelles.

Chez la femme, le rôle des mycoplasmes est plus complexe (Tableau II) et peut se manifester à différents niveaux du tractus génital. *M. genitalium* est le seul mycoplasme responsable de cervicites. *M. hominis* et *M. genitalium* sont impliqués dans les endométrites et les salpingites.

Ureaplasma spp. et *M. hominis* sont mis en cause dans des troubles de la reproduction (infections du post-partum, chorioamniotites), et prématurité et petit poids de naissance pour *Ureaplasma* spp. Des atteintes néonatales à type de pneumonies, de bactériémies et de méningites sont associées à ces deux espèces. Une très récente méta-analyse retrouve que l'infection à *M. genitalium* est associée à un risque deux fois plus élevé de prématurité ou d'avortement spontané.

2.3. Infections systémiques

Les mycoplasmes, surtout *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*, doivent être recherchés lors d'infections chez des immunodéprimés (arthrites septiques chez les hypogammaglobulinémiques, plaies sternales avec médiastinites après chirurgie thoracique, bactériémies, ostéomyélites, abcès rétropéritonéaux, surinfections

d'hématomes). Habituellement de découverte fortuite, l'espèce en cause est le plus souvent, en dehors des arthrites, *M. hominis* qui pousse sur gélose au sang.

3. CARACTERES GENERAUX

De très petite taille, 300 – 850 nm, les mycoplasmes rencontrés chez l'homme sont polymorphes, coccoïdes ou filamenteux et ne sont pas colorables par le Gram.

Anaérobies facultatifs, ils exigent des milieux complexes, renfermant des stérols (à l'exception des *Acholeplasma*). Ils utilisent comme source principale d'énergie le métabolisme du glucose ou de l'arginine (genre *Mycoplasma* et *Acholeplasma*) ou de l'urée (genre *Ureaplasma*).

Leur croissance, relativement aisée pour *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* (environ 48 h), est difficile et lente pour *M. pneumoniae* (6 à 20 j) et encore davantage pour *M. genitalium*, espèce extrêmement fastidieuse et exceptionnellement cultivée à partir d'échantillons cliniques. Leur croissance en milieu liquide se traduit par le virage d'un indicateur coloré. Sur gélose, ils donnent de petites colonies (50 à 300 µm) visibles à la loupe binoculaire, prenant pour certains un aspect en œuf sur le plat, en raison de la pénétration des mycoplasmes dans la gélose (Figures 1, 2 et 3).

La séquence du génome est connue pour toutes les espèces pathogènes pour l'homme. *M. genitalium* a le plus petit génome bactérien connu (580 kpb).

M. pneumoniae et *M. genitalium* ont des communautés antigéniques et génétiques.

4. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE DIRECT

Le diagnostic direct est utilisable pour toutes les espèces mais avec des méthodes différentes. Culture et identification métabolique sont recommandées pour *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* à partir de prélèvements uro-génitaux. Pour ces espèces, les méthodes moléculaires n'ont d'intérêt qu'à partir d'échantillons où ils sont difficiles à mettre en évidence.

La culture est rarement réalisée pour *M. pneumoniae* en raison des délais nécessaires et de sa faible sensibilité. Elle est avantageusement remplacée par l'amplification d'acides nucléiques. Cette dernière est la seule utilisable en pratique pour *M. genitalium*.

4.1. Prélèvements

Prélèvements de gorge et aspirations nasopharyngées chez le jeune enfant sont à préférer pour la recherche de *M. pneumoniae* en raison du caractère diffus de l'infection. Brossage bronchique et lavage bronchoalvéolaire sont également adaptés, contrairement aux expectorations, trop contaminées. Pour la culture, les prélèvements sur écouvillon seront mis en milieu de transport (milieu de transport universel (UTM) ou milieu 2SP, saccharose phosphate, contenant 5% de sérum de veau fœtal mais pas d'antibiotique). Les prélèvements liquidiens sont ensemencés sans centrifugation. Les milieux peuvent être conservés à + 4° C pendant 48 h et au-delà à – 80° C.

Les mycoplasmes génitaux peuvent être recherchés à partir de prélèvements urétraux, 1^{er} jet d'urine, plus rarement sperme et sécrétions prostatiques, prélèvements vaginaux, cervico-vaginaux, endométriaux, biopsies, brossage tubaire, liquide amniotique, placenta, prélèvements endotrachéaux chez le nouveau né. Ces

prélèvements sont placés dans les milieux de transport cités précédemment, et conservés à + 4° C ou à – 80° C.

En cas de PCR pour *M. pneumoniae* et *M. genitalium*, il n'est pas nécessaire d'utiliser des milieux de transport.

D'autres échantillons peuvent être étudiés. Les milieux pour hémocultures sont peu adaptés à la recherche de mycoplasmes en raison de la présence d'anticoagulants inhibiteurs.

4.2. Milieux de culture

Les milieux utilisés sont complexes, renferment 20% de sérum, de l'extrait de levure et sont rendus sélectifs par addition d'une bêta-lactamine et éventuellement d'autres inhibiteurs. Il faut utiliser des milieux liquides et gélosés. Les milieux liquides sont ensemencés en réalisant des dilutions (10^{-1} à 10^{-4}) pour éliminer des inhibiteurs tissulaires et faire une étude semi-quantitative. Les milieux gélosés sont ensemencés en touche. L'incubation a lieu à 37° C, de préférence sous CO₂.

Pour *M. pneumoniae*, milieu de Hayflick modifié et milieu SP-4 peuvent être utilisés. Les milieux liquides renferment glucose et rouge de phénol. La croissance se traduit par une acidification du milieu après 6 à 20 jours. Sur milieu gélosé, les colonies sont petites, granulaires.

Ureaplasma spp. et *M. hominis* poussent sur milieu de Shepard à pH 6. Le milieu renferme de l'urée utilisée par *Ureaplasma* spp. et du rouge de phénol. Milieu de Hayflick modifié et milieu SP-4 contenant de l'arginine conviennent à *M. hominis* mais pas à *Ureaplasma* spp. La croissance de *Ureaplasma* spp. sur milieu liquide renfermant de l'urée, se traduit par une alcalinisation en 18-24 h. La croissance de *M. hominis* se traduit par une alcalinisation des milieux à l'arginine, en 48 h. Une

appréciation quantitative de la croissance permet de déterminer un nombre d'unités de changement de couleur (UCC)/ml. Sur milieu gélosé, les colonies de *Ureaplasma* spp. sont irrégulières, très petites, brunes en présence de sulfate de manganèse, à ne pas confondre avec des cristallisations dans la gélose, et apparaissent en 48 à 96 h. *M. hominis* donne en 48 à 96 h des colonies en œuf sur le plat (Figures 1-3).

La croissance en milieu liquide doit toujours être contrôlée sur milieu gélosé pour éviter une confusion avec un virage d'indicateur coloré dû à la présence d'autres bactéries ou de cellules.

Pour les espèces très fastidieuses, *M. genitalium* et *M. amphoriforme*, le milieu SP-4 enrichi en glucose est le plus adapté. Un passage en culture de cellules peut aider à la croissance de *M. genitalium*. Celle-ci reste exceptionnelle.

4.3. Identification d'espèce

Selon les cas, elle se fait sur les propriétés métaboliques, l'aspect des colonies ou l'amplification d'acides nucléiques.

Pour *M. pneumoniae*, les propriétés métaboliques et les propriétés d'hémadsorption ou d'hémagglutination ne sont plus utilisées. Les tests d'amplification d'acides nucléiques permettent de l'identifier et de le séparer de *M. genitalium* et de *M. amphoriforme*.

L'identification de *Ureaplasma* spp. (hydrolyse de l'urée) et *M. hominis* (hydrolyse de l'arginine), est simple. La séparation des 2 espèces, *U. urealyticum* et *U. parvum*, réalisable par PCR, n'est pas faite en pratique courante. La technique de spectrométrie de masse de type MALDI-TOF permet d'identifier les espèces de mycoplasmes humains à partir des milieux de culture et d'identifier les 2 types de l'adhésine P1 chez *M. pneumoniae*.

4.4. Les kits

Différents kits destinés à la détection et à l'appréciation quantitative de *Ureaplasma* spp. et de *M. hominis* à partir de prélèvements uro-génitaux, sont disponibles.

Ces systèmes correspondent en général à des microplaques unitaires avec des cupules contenant des substrats lyophilisés et des inhibiteurs spécifiques des deux espèces. Les échantillons sont placés dans un milieu de suspension qui sert lui-même à ensemercer les cupules. La détection, l'identification et la numération des mycoplasmes sont basées sur le changement de couleur des cupules témoignant de la croissance du mycoplasme en présence de substrat ou d'inhibiteur spécifiques. Certains systèmes permettent de déterminer, dans un même temps, la sensibilité de la souche de mycoplasme détectée aux antibiotiques.

Ces kits donnent globalement des résultats comparables aux méthodes standards de culture en milieu liquide ou gélosé, les rendant attractifs pour les laboratoires ne réalisant qu'occasionnellement le diagnostic des mycoplasmes urogénitaux. Des faux positifs sont décrits en cas de contamination du prélèvement par d'autres bactéries conduisant à recommander, en cas de doute, la vérification de l'identification du mycoplasme par culture en milieu gélosé.

4.5. Tests d'amplification d'acides nucléiques

Ils remplacent la culture pour *M. pneumoniae*. Plusieurs protocoles de PCR ciblant le gène de l'adhésine P1, de l'ARNr 16S, de la toxine CARDS, sont disponibles. De nombreux kits de PCR en point final ou en temps réel, multiplex ou

non, de « Loop-Mediated Isothermal DNA Amplification » (LAMP), sont commercialisés. La PCR peut être réalisée sur les différents prélèvements déjà cités, en particulier les écouvillonnages de gorge et les aspirations nasopharyngées.

La PCR est la seule méthode permettant en pratique la détection de *M. genitalium*. Des kits de PCR en temps réel monoplex ou multiplex, de « Transcription-Mediated Amplification » (TMA) sont maintenant commercialisés.

Pour *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*, des troussees commercialisées monoplex ou multiplex sont aussi disponibles et présentent un intérêt pour les prélèvements utéro-annexiels effectués lors des infections génitales hautes ou pour des prélèvements extra-génitaux.

4.6. Typage moléculaire

C'est pour *M. pneumoniae* que les méthodes moléculaires se sont le plus développées pour mieux comprendre l'épidémiologie des infections et pour caractériser les épidémies dues à ce microorganisme. *M. pneumoniae* est une espèce génétiquement homogène. Les méthodes de typage les plus courantes ont été longtemps basées sur l'analyse des polymorphismes nucléotidiques (« Single Nucleotidic Polymorphism » ou SNP) dans le gène codant pour la protéine immunogène majeure, l'adhésine P1. Il existe deux types principaux de *M. pneumoniae* (type 1 et type 2) avec quelques variants au sein de chaque type. De nouvelles méthodes de génotypage ont été récemment mises au point, étudiant plusieurs parties du génome ou le génome dans sa totalité comme par exemple la « Multiple Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis » (MLVA) ou la « Multi-Locus Sequence Typing » (MLST). Ces méthodes sont beaucoup plus discriminantes et ont démontré leur intérêt dans l'étude d'épidémies à *M. pneumoniae* ; certaines

peuvent être effectuées directement sur des échantillons respiratoires ou sont automatisables. Le typage par MLVA permet, par exemple, de séparer plus de 50 génotypes différents.

L'analyse des SNP du gène codant l'adhésine majeure de *M. genitalium*, MgPa, est également réalisable et permet d'identifier un grand nombre de génotypes différents. Elle a été utilisée pour l'épidémiologie de la transmission de cette espèce entre partenaires sexuels. *M. hominis* et *Ureaplasma spp.* sont des espèces plus hétérogènes pour lesquelles quelques méthodes de typage moléculaire ont été développées.

4.7. Interprétation

M. pneumoniae n'appartenant pas à la flore commensale, sa présence dans un échantillon respiratoire ou une autre localisation, est un élément significatif.

La mise en évidence dans les voies génitales basses de *Ureaplasma spp.* surtout, et à un moindre degré de *M. hominis*, est plus difficile à interpréter en raison de leur existence possible à l'état commensal. Une appréciation quantitative est proposée. Pour *Ureaplasma spp.* au cours d'une UNG, une valeur $\geq 10^4$ UCC/ml dans un prélèvement urétral et $\geq 10^3$ UCC/ml pour un 1^{er} jet d'urines, est significative. La présence de *Ureaplasma spp.* dans un prélèvement cervico-vaginal, est très difficile à interpréter. Celle de *M. hominis* en quantité $\geq 10^4$ UCC/ml est plus significative et peut évoquer un tableau de vaginose bactérienne ou une infection génitale haute. Leur isolement dans un échantillon normalement stérile, doit les faire considérer comme pathogènes. Chez le nouveau-né, la présence dans un prélèvement endotrachéal à un taux $\geq 10^4$ UCC/ml est significative dans un contexte clinique

Mis en forme : Surlignage

Mis en forme : Surlignage

évocateur d'une infection chez un nouveau-né le plus souvent prématuré et hypotrophe.

La mise en évidence de *M. genitalium* dans les UNG, cervicites ou prélèvements des voies génitales hautes, doit le faire considérer comme pathogène et amener à le traiter.

La recherche de mycoplasmes ne doit pas être faite de façon isolée, mais être associée à la recherche d'autres pathogènes tels que *C. trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* pour les infections génitales.

5. ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

5.1. Antibiotiques actifs, résistance naturelle

En raison de leur structure particulière, tous les mycoplasmes résistent aux bêta-lactamines et à tous les antibiotiques agissant sur la biosynthèse du peptidoglycane. Ils résistent également aux polymyxines, sulfamides, triméthoprime, acide nalidixique, rifampicine et linézolide.

Les antibiotiques actifs, utilisables en thérapeutique humaine, sont les tétracyclines, les macrolides-lincosamides-streptogramines-kétolides (MLSK) et les fluoroquinolones (Tableau III). Les fluoroquinolones et les kétolides ont un effet bactéricide *in vitro* sur les mycoplasmes.

Il existe cependant une résistance naturelle aux MLSK, spécifique à certaines espèces. *M. pneumoniae* et *M. genitalium* sont sensibles aux MLSK, excepté à la lincomycine. *Ureaplasma* spp. est sensible aux MSK mais résiste aux lincosamides. A l'inverse, *M. hominis* résiste aux macrolides ayant un cycle à 14 et 15 chaînons et à la tétracycline ; il est sensible aux lincosamides et à certains macrolides à 16 chaînons (josamycine et midécamycine) mais non à la spiramycine.

5.2. Résistance acquise

Elle est due à l'existence de mutations ou à la présence de transposons, et est associée à des modifications de la cible des antibiotiques.

Surtout fréquente chez les mycoplasmes génitaux, *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*, elle concerne en 1^{er} lieu les tétracyclines et est due à la présence du déterminant tet(*M*). Elle concerne à Bordeaux environ 15 % des souches cliniques de *M. hominis* et moins de 5 % de *Ureaplasma* spp. Les résistances acquises aux fluoroquinolones et aux macrolides sont beaucoup plus rares chez ces espèces et sont observées chez des sujets immunodéprimés ayant reçu de nombreux traitements antibiotiques.

Très peu de souches cliniques de *M. pneumoniae* résistantes aux macrolides, ont été décrites avant 2000. Elles ont émergé dans le monde et concernent aujourd'hui plus de 80% des souches au Japon et pratiquement toutes les souches en Chine, chez l'enfant et l'adulte. Cette résistance atteint l'Amérique du Nord et l'Europe avec des prévalences de résistance inférieures à 15 %. Huit pour cent des souches étudiées en France lors de l'épidémie de 2011 étaient résistantes aux macrolides. Liée à des mutations de la cible ribosomique ARNr 23S, il s'agit d'une résistance de type MLS_B avec une augmentation des CMI variable selon la mutation en cause. Les résistances s'accompagnent d'échecs thérapeutiques. Il n'a pas été observé à ce jour de résistance aux tétracyclines ou aux fluoroquinolones chez les souches cliniques de *M. pneumoniae*.

La résistance acquise aux macrolides est en augmentation chez *M. genitalium*, entraînant des échecs thérapeutiques sous azithromycine, un des traitements de première intention des UNG et cervicites. Elle concerne près de 40 % des souches

au Danemark, en Australie et au Royaume Uni et 10 à 15% des souches en France. La moxifloxacin est active en cas de résistance aux macrolides bien que quelques cas d'échecs thérapeutiques à cette fluoroquinolone aient été décrits récemment dans la littérature.

5.3. Méthodes d'étude

La sensibilité des mycoplasmes génitaux, *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*, doit être étudiée chaque fois qu'ils sont en situation pathogène ou dès qu'ils sont isolés de sites extragénitaux a fortiori chez des sujets immunodéprimés.

Les CMI peuvent être déterminées par dilution en milieu liquide ou gélosé adapté à l'espèce. L'antibiogramme par diffusion par la méthode des disques n'est pas utilisable mais le E-test a été adapté principalement à *M. hominis*.

Des recommandations concernant les méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques des mycoplasmes humains ont été publiées en 2011 par le « Clinical Laboratory Standards Institute » (CLSI).

Plusieurs kits étudiant la sensibilité aux antibiotiques de *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. sont disponibles seuls ou complétant un kit de détection et d'identification de ces espèces. Leur principe repose sur l'inhibition métabolique de la croissance des mycoplasmes. Ils consistent en des rangées de puits contenant des antibiotiques lyophilisés à une ou deux concentrations, correspondant aux concentrations critiques utilisées pour classer les bactéries en sensibles, intermédiaires ou résistantes à l'antibiotique testé. Les résultats obtenus sont satisfaisants à la condition d'utiliser un inoculum contrôlé, le plus souvent après une primoculture. Certains de ces kits ont été adaptés aux recommandations du CLSI.

Devant l'augmentation de fréquence de la résistance aux macrolides chez *M. pneumoniae* et *M. genitalium*, une surveillance épidémiologique est nécessaire. Elle peut se faire par PCR en temps réel ou pyroséquencage, recherchant les mutations associées à la résistance aux macrolides directement à partir des échantillons cliniques. Ces méthodes moléculaires permettent également d'adapter plus rapidement le traitement antibiotique.

6. SEROLOGIES

Ce sont les méthodes les plus utilisées pour le diagnostic d'infection à *M. pneumoniae* en France. La présence d'agglutinines froides n'est ni constante ni spécifique. La réaction de fixation du complément détecte IgG et IgM. Bien que peu sensible, c'est un critère d'appréciation toujours valable à condition d'avoir une séroconversion ou un taux minimum présomptif de 64. Parmi les autres techniques disponibles, les techniques ELISA sont les plus employées, généralement plus sensibles et plus spécifiques que les autres techniques. Cependant le titre-seuil est variable selon les trousse et toutes les trousse ne sont pas équivalentes en termes de sensibilité et de spécificité. Elles permettent de détecter séparément IgM et IgG. La recherche d'IgM est très utile chez l'enfant et l'adolescent. Deux sérums à trois semaines d'intervalle sont nécessaires à l'interprétation. Il existe des tests ELISA rapides détectant sur membrane les IgM seules, d'autres détectant simultanément les IgM et IgG. Ces trousse ont une sensibilité et une spécificité similaires aux autres trousse ELISA et offrent une grande rapidité d'exécution. Elles peuvent présenter un intérêt pour la détection des IgM chez l'enfant lorsque seul un sérum précoce est disponible.

Compte tenu de leur présence à l'état commensal, aucun test sérologique n'a pu montrer en pratique courante, de résultat satisfaisant dans le diagnostic des infections génitales à *Ureaplasma* spp. ou *M. hominis*. Aucun test n'est commercialisé pour *M. genitalium*.

7. REFERENCES UTILES

1. Atkinson P., Balish M., Waites K. 2008. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. FEMS Microbiol. Rev. 32:956-973.
2. Bébéar, C. 2012. *Mycoplasma et Ureaplasma*. L'Antibiogramme 3^{ème} édition, P. Courvalin, R. leclercq, E. Bingen Eds, Editions ESKA, Paris.
3. Bébéar C.M., Pereyre S., Peuchant O. 2011. *Mycoplasma pneumoniae* : susceptibility and resistance to antibiotics. Future Microbiol. 6 : 423-431.
4. Cazanave, C., Manhart, L. E., Bébéar C. 2012. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 42 :381-392.
5. Lis R., Rowhani-Rahbar A., Manhart L. E. 2015. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease :a meta-analysis. Clin Infect Dis. 61 :418-426.
6. Pereyre, S., Bébéar C. and Bébéar C. M. 2015. *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium* and *Ureaplasma* spp.. Antimicrobial Therapy and Vaccines; Volume I: Microbes (www.antimicrobe.org), Yu VL, et al. Eds. ESun Technologies, Pittsburgh, PA, USA.
7. Pereyre S., Bébéar C.M., Bébéar C. 2015. Mycoplasmes. Précis de Bactériologie clinique, J. Freney, F. Renaud, R. Leclercq, P. Riegel Eds ESKA, Paris, sous presse.
8. Waites, K.B., Bébéar C.M., Robertson J.A., Talkington D.F., and Kenny G.E.. Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. Cumitech 34 of American Society for Microbiology, coordinating editor : F.S. Nolte. 2001, ASM press : 1-30.
9. Waites, K. B., Katz B., and Schelonka R. L.. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin. Microbiol. Rev. 18 :757-789.
10. Waites, K.B., D.J. Bade, C., Bébéar C. M. et al. Methods for antimicrobial susceptibility testing for human mycoplasmas : Approved guideline. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute. Document M43-P.

Mis en forme : Anglais (États-Unis)

Code de champ modifié

Mis en forme : Anglais (États-Unis)

Mis en forme : Anglais (États-Unis)

Mis en forme : Anglais (États-Unis)

8. CENTRE NATIONAL DE REFERENCE

Il n'existe pas de centre national de référence pour les mycoplasmes. L'USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae INRA-Université de Bordeaux du Pr Cécile Bébéar est un laboratoire expert dans le domaine.

9. ANNEXE : COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE POUR MYCOPLASMES

MILIEU SP-4

Mis en forme : Anglais (États-Unis)

Base

Mycoplasma broth base	3,5 g
Tryptone	10 g
Peptone	5,3 g
Glucose	5 g

Suppléments stériles

CMRL 1066 medium (10 X) without glutamine without NaHCO ₃	50 ml
Glutamine (100 X)	5 ml
NaHCO ₃	2,2 g
Yeast extract	5 g
Yeastolate (solution 2 %)	100 ml
Sérum de veau foetal	170 ml
Ampicilline	1 g
Colimycine	500 000 UI
Amphotéricine B	2,5 mg
Rouge de phénol (1 mg/ml)	20 ml
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml
pH 7,6	

MILIEU DE HAYFLICK MODIFIE

Heart infusion broth	17,5 g
Yeast extract	5 g
Sérum de poulain	200 ml
Arginine ou glucose	5 g
Rouge de phénol (1 mg/ml)	20 ml
Ampicilline	1 g
Colimycine	5000 000 UI
Amphotéricine B	2,5 mg
Eau distillée q.s.p.	1000 ml
pH 7,4 pour milieux glucosés, 7,0 pour milieux avec arginine.	

La composition du milieu gélosé est la même sauf : absence d'arginine, glucose, rouge de phénol et présence d'agar purifié (10 g).

MILIEU DE SHEPARD

Trypticase soja	24 g
Yeast extract	5 g
Sérum de poulain	200 ml
Cystéine	100 mg
Urée	600 mg
Rouge de phénol (1 mg/ml)	20 ml
Ampicilline	1 g
Colimycine	500 000 UI
Amphotéricine B	2,5 mg
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml
pH 6	

La composition du milieu gélosé est la même sauf : absence de rouge de phénol, présence de sulfate de manganèse (150 mg), de putrescine (1,5 g) et d'agar purifié (10 g).

Tableau I - Mycoplasmes isolés chez l'homme

	Site primaire d'isolement	Pouvoir pathogène	Fermentation glucose	Hydrolyse arginine	Hydrolyse urée
<i>M. pneumoniae</i>	respiratoire	+	+	-	-
<i>M. hominis</i>	génital	+	-	+	-
<i>M. genitalium</i>	génital	+	+	-	-
<i>M. amphoriforme</i>	respiratoire	?	+	-	-
<i>M. fermentans</i>	génital	?	+	+	-
<i>M. penetrans</i>	génital	?	+	+	-
<i>M. salivarium</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. orale</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. buccale</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. faucium</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. lipophilum</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. primatum</i>	respiratoire	-	-	+	-
<i>M. spermatophilum</i>	génital	?	-	-	-
<i>M. pirum</i>	?	?	+	+	-
<i>Ureaplasma</i> spp. ¹	génital	+	-	-	+
<i>A. laidlawii</i>	respiratoire	-	+	-	-
<i>A. oculi</i>	?	-	+	-	-

¹ : renferme 2 espèces, *U. urealyticum* et *U. parvum*.

Tableau II- Importance de l'association des mycoplasmes génitaux à différents tableaux cliniques, (adapté d'après 4).

Pathologie	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma</i> spp. ¹	<i>M. genitalium</i>
<u>Infections génitales masculines</u>			
UNG ²	-	+	+
Epididymites, prostatites	-	±	±
Infertilité	-	±	-
<u>Infections gynécologiques</u>			
Vaginose bactérienne	+	±	±
Cervicites	-	-	+
Endométrites	+	-	+
Salpingites	+	-	+
<u>Troubles de la reproduction</u>			
Chorioamniotites	±	+	?
Fièvres, endométrites post-partum, post-abortionum	+	+	±
Avortement spontané	±	±	±
Retard de croissance intra-utérin	-	±	?
<u>Atteintes néonatales</u>			
Prématurité - Faible poids de naissance	-	+	±

Infections respiratoires, neurologiques, bactériémies, abcès	+	+	?
Dysplasie bronchopulmonaire	-	±	?

Infections extragénitales

Arthrites septiques	+	+	+
Arthrites réactionnelles	-	+	+
Pyélonéphrites	+	-	-
Autres localisations	+	+	-

(surinfection de plaies sternales,
abcès rétropéritonéaux, abcès du
cerveau, septicémies...)

+, association certaine ou rôle causal démontré.

±, association non démontrée.

-, pas d'association documentée.

?, inconnu.

¹Comprend 2 espèces, *U. urealyticum* et *U. parvum*.

²UNG, urétrite non gonococcique.

Tableau III. Profils de sensibilité et de résistance naturelle des mycoplasmes aux antibiotiques (adapté d'après 10).

	Erythromycine ^a	Clindamycine	Pristinamycine ^b	Tétracycline ^c	Lévofoxacine Moxifloxacin ^d
<i>M. pneumoniae</i> , <i>M. genitalium</i> ^e	S	S	S	S	S
<i>M. hominis</i>	R	S	S	S	S
<i>Ureaplasma</i> spp.	S	R	S	S	S

^aLa sensibilité à l'érythromycine répond pour celle à l'azithromycine.

^bLa pristinamycine n'a pas été évaluée dans les recommandations du CLSI.

^cLa sensibilité à la tétracycline répond pour celle à la doxycycline.

^dLes autres fluoroquinolones n'ont pas été évaluées par le CLSI.

^e*M. genitalium* n'a pas été évalué par le CLSI.

Figure 1. Colonies de *M. hominis* (H. Renaudin).

Figure 2. Colonies de *Ureaplasma* spp. (H. Renaudin).

Figure 3. Mélange *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. (ensemencement en touche), (H. Renaudin).