

Stratégies thérapeutiques des infections à mycoplasmes et chlamydiae

✓ Bactéries ayant en commun :

- Structure particulière, très différente l'une de l'autre
- Diagnostic par **Biologie Moléculaire**
- 3 familles d'antibiotiques (atb) utilisées
- Génomes entièrement séquencés

✓ Mycoplasmes

- Plus petites bactéries capables de réplication autonome
- Développement extra- et intracellulaire
- Structure unique : absence de paroi
- >15 espèces chez l'homme → colonisation des muqueuses respiratoires et génitales
- 5 espèces ayant un pouvoir pathogène, responsables d'infections :

➤ respiratoires :

Mycoplasma pneumoniae

➤ urogénitales :

Mycoplasma genitalium

Mycoplasma hominis

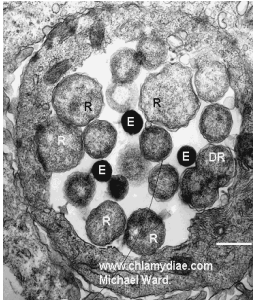
Ureaplasma urealyticum

U. parvum

- Présence à l'état commensal pour certaines espèces
- Immunodéprimés++

✓ Chlamydiae

- 4 espèces dont 2 pathogènes chez l'homme :
 - *Chlamydia trachomatis* 19 génovars
 - *C. pneumoniae* 1 génovar
 - Bactéries à développement intracellulaire obligatoire :



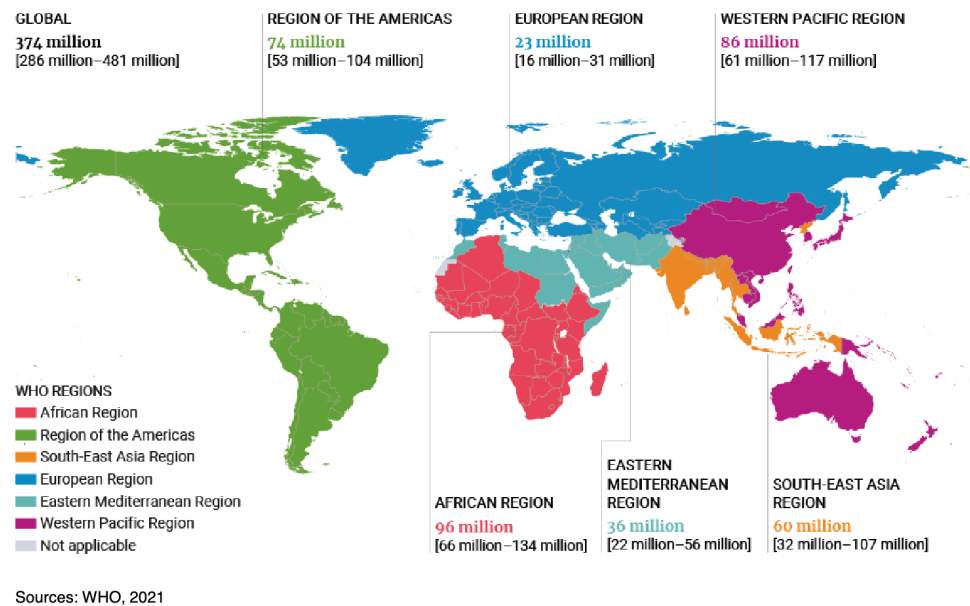
➤ Dans le cytoplasme de l'hôte (énergie, ATP), Inclusion intracellulaire caractéristique, formée de corps élémentaires (E) et de corps réticulés (R)

➤ Diagnostic par tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN)

➤ Atb intracellulaires

- *C. trachomatis* : pb de santé publique
 - Trachome : 400 millions de cas dans le monde
 - Infections sexuellement transmissibles (IST) à *C. trachomatis* : incidence de 128 millions de nouveaux cas / an dans le monde (OMS, 2020)

Incident cases of four curable STIs among adults (15–49 years old), by WHO region, 2020



I- CIRCONSTANCES DIAGNOSTIQUES

A. Infections à mycoplasmes

1. *M. pneumoniae*

- ✓ Trachéobronchites ++, pneumonies atypiques
Chez l'enfant (pic à 5-10 ans), l'adulte jeune
- ✓ Association à d'autres signes extraréspiratoires
- ✓ Association à l'asthme : facteur déclenchant ? aggravant ?
- ✓ Épidémiologie : Endémique avec poussée épidémique tous les 4 à 7 ans.
- ✓ 2^{ème} cause probable de pneumopathies communautaires derrière le pneumocoque, environ 20% des cas de pneumopathies chez l'enfant.
- ✓ Diagnostic : TAAN +++ sérologie ++ (culture)

2. *U. urealyticum*, *M. hominis*, *M. genitalium*

- ✓ *M. hominis* et *U. urealyticum*, espèces opportunistes présents à l'état commensal (pas *M. genitalium*)
Chez la femme : Mh <10%, Uu <50%
Pb d'interprétation du pouvoir pathogène → seuils de pathogénicité (appréciation quantitative) pour Mh et Uu.
- ✓ *M. genitalium*, agent d'IST
- ✓ Infections génitales basses :
 - *M. genitalium* et *U. urealyticum* impliqués dans les urétrites chez l'homme, *M. genitalium* 2^{ème} agent d'urétrite non gonococcique derrière *C. trachomatis*,
 - *M. genitalium* seule espèce responsable de cervicite chez la femme.
- ✓ *M. genitalium* et *M. hominis* responsables d'infections génitales hautes chez la femme (endométrites, salpingites).
- ✓ *U. urealyticum* et *M. hominis* responsables d'infections au cours de la grossesse et d'infections chez le nouveau-né hypotrophe, prématuré.
- ✓ Les trois espèces responsables d'infections chez l'immunodéprimé. Ex : arthrites à *U. urealyticum* chez l'agammaglobulinémique.
- ✓ Diagnostic :
 - *U. urealyticum* et *M. hominis* : culture (TAAN)
 - *M. genitalium* : TAAN

B. Infections à chlamydiae

Tableau 2. Pouvoir pathogène de *C. trachomatis* et *C. pneumoniae*

Espèces	Maladies aiguës	Complications, maladies chroniques
<i>C. trachomatis</i>	Agent d'IST+++	
Génovars		Trachome cicatriciel, cécité
A – C	Kérato-conjonctivite	
D – K	Urétrite masculine	Epididymite, arthrite réactionnelle et syndrome de Reiter
	Cervicite, Urétrite féminine	Endométrite, salpingite, GEU, infertilité
	Conjonctivite du nouveau-né, pneumonie du nouveau-né	
L1 – L3	Lymphogranulomatose vénérienne (LGV)	Troubles du drainage lymphatique
<i>C. pneumoniae</i>	Infections resp. hautes et basses : implication ?	

✓ Diagnostic : TAAN +++ (sérologie)

1. *C. trachomatis*

- ✓ Epidémie d'anorectite à souche de type LGV en Europe et en France chez les homosexuels masculins VIH+ depuis 2004.
- ✓ IST à *C. trachomatis* en France en 2006 :
 - Enquête Natchla en population générale :
 - 18-24 ans : 2,4% Hommes (H), 3,6% Femmes (F)
 - 25-34 ans : 1,5% H, 1,8% F
 - Médecine préventive : 1-3% F
 - Planning familial : 6-11% F
- ✓ Campagne INPES 2012, jeunes <25 ans : 4,7% H, 8,3% F



- ✓ Enquête LaboIST 2016 (Santé Publique France) :
 - 267 097 cas d'infections à *C. trachomatis* en France, soit 491/100 000 hab de + 15 ans
 - x 3,4 depuis 2012
 - Femmes les plus touchées, 15-24 ans
 - 202-518 cas pour 100.000 hab en Nvelle Aquitaine

Figure 1 | TAUX STANDARDISÉS (POUR 100000 HABITANTS) DE DIAGNOSTICS D'INFECTIONS À *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* SELON LA RÉGION, LABOIST 2016

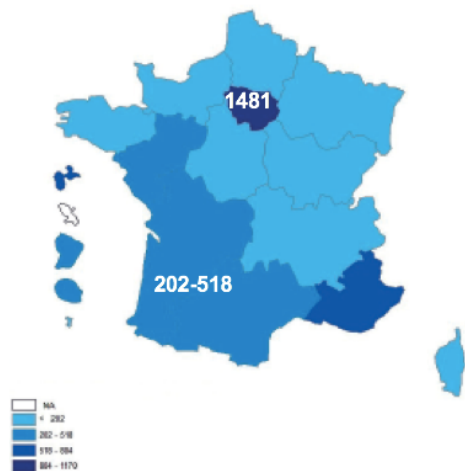
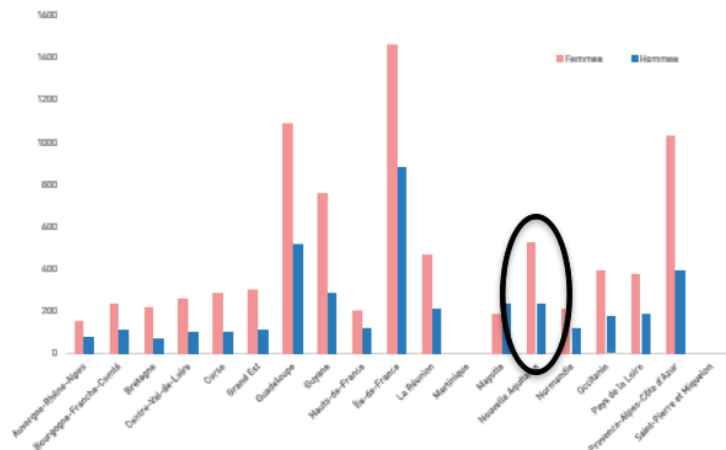


Figure 2 | TAUX STANDARDISÉS (POUR 100000 HABITANTS) DE DIAGNOSTICS D'INFECTIONS À *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* SELON LA RÉGION ET LE SEXE, LABOIST 2016



II- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

A. Méthodes d'étude

1. *Mycoplasmes*

- ✓ Méthodes d'étude phénotypiques pour les mycoplasmes génitaux Mh et Uu et méthodes d'étude génotypiques pour *M. genitalium* et *M. pneumoniae*.

1.1 Phénotypiques

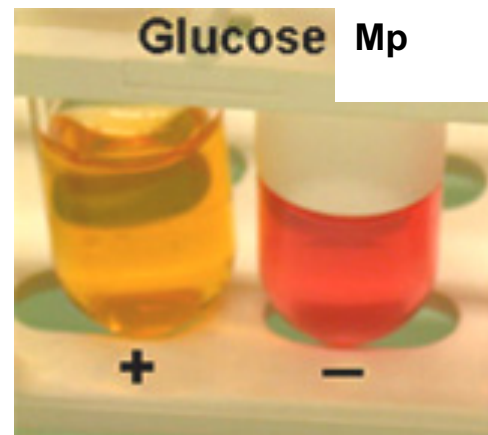
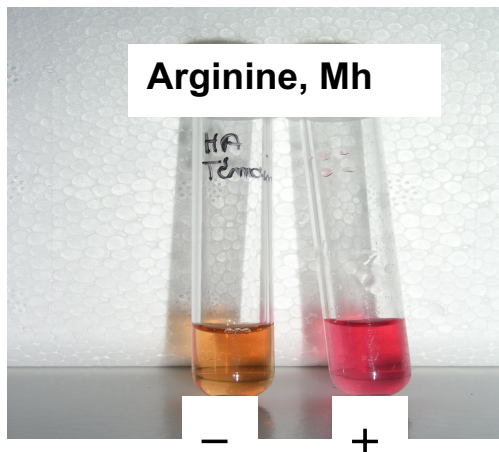
- ✓ Recommandations du Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) depuis 2011 pour *M. pneumoniae*, *M. hominis* et *Ureaplasma* spp.
- ✓ 2 méthodes, pas de diffusion en gélose :

a) Dilution en milieu liquide++

- Concentration Minimale Inhibitrice = plus faible concentration d'atb qui inhibe tout changement de

couleur du milieu de culture (présence d'un indicateur coloré)

- Alcalinisation du milieu Uu, Mh
- Acidification du milieu Mp, Mg



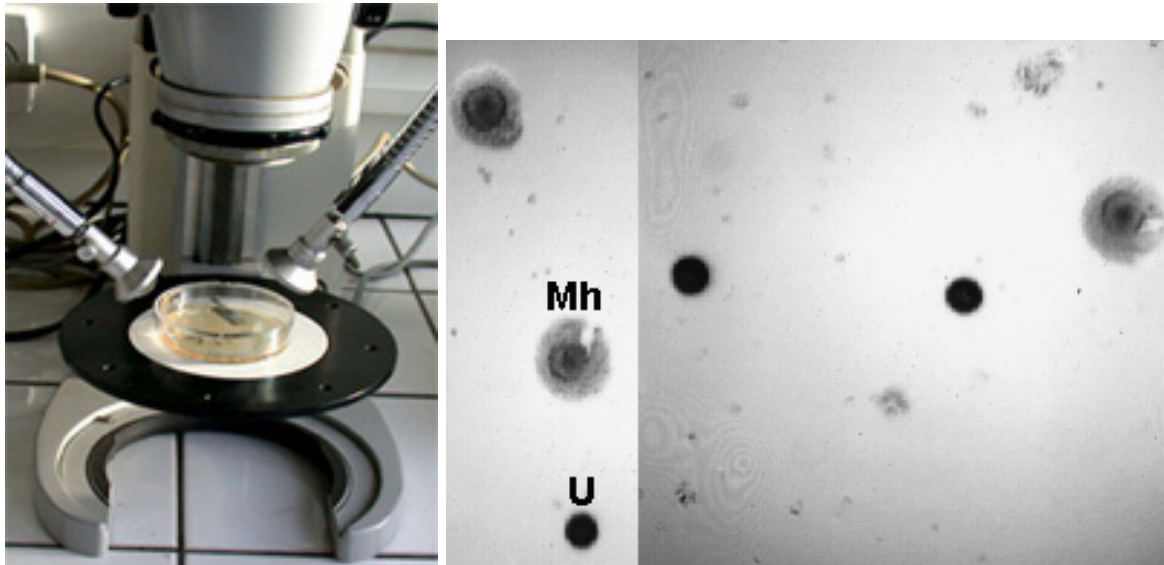
- Microméthode en plaque
Inoculum: 10^4 - 10^5 unités de changement de couleur (ucc) /ml
- Kits commercialisés pour les mycoplasmes génitaux (Uu, Mh)
 - puits contenant antibiotiques lyophilisés à 1 ou 2 concentrations → classification Sensible, Intermédiaire, Résistant
 - directement à partir du prélèvement ou après primoculture (inoculum contrôlé)

Exemple : kit Mycofast RevolutionN, Elitech



b) Dilution en milieu gélosé

- CMI = plus faible concentration d'atb qui prévient toute apparition de colonies
- Inoculum, 10⁴-10⁵ ucc /ml, milieu adapté à l'espèce étudiée
- Méthode lourde à réaliser



b) Interprétation des résultats

- Concentrations critiques proposées par le CLSI
- CMI ≤ 1 mg/L, prédictives d'un traitement efficace

1.2 Techniques moléculaires

- Caractériser les mécanismes moléculaires de résistance, détection de gènes de résistance (*tet(M)*), de mutations de cibles (ARNr 23S, topoisomérases).
Comment ? PCR +/- séquençage, PCR en temps réel, séquençage de génome etc.
- Kits de PCR en temps réel commercialisés pour la détection de la résistance aux macrolides chez *M. genitalium* et *M. pneumoniae* -> traitement guidé par la résistance.

2. Chlamydiae

- ✓ Activité des atb *in vitro* non étudiée en routine

B. Résistance intrinsèque ou naturelle

1. Mycoplasmes

a) Commune à tous

- ✓ Absence de paroi : R β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine

b) Selon l'espèce: Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (MLS)

CMI en mg/L			
MLSK	<i>M. pneumoniae</i>	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma</i> spp.
<u>14-membered M</u>			
Erythromycin	$\leq 0.001-0.06$	32->1000	0.02-16
<u>15-membered M</u>			
Azithromycin	$\leq 0.001-0.01$	4->64	0.5-4
<u>16-membered M</u>			
Josamycin	$\leq 0.01-0.03$	0.05-2	0.03-4
<u>Lincosamides</u>			
Clindamycin	$\leq 0.008-2$	$\leq 0.008-2$	0,2-64
<u>Streptogramins</u>			
Pristinamycin	0.02-0.05	0.1-0,5	0.1-1

- ✓ *M. pneumoniae*, *M. genitalium* Sensibles
- ✓ *U. urealyticum* S érythromycine, R lincosamides
- ✓ *M. hominis*

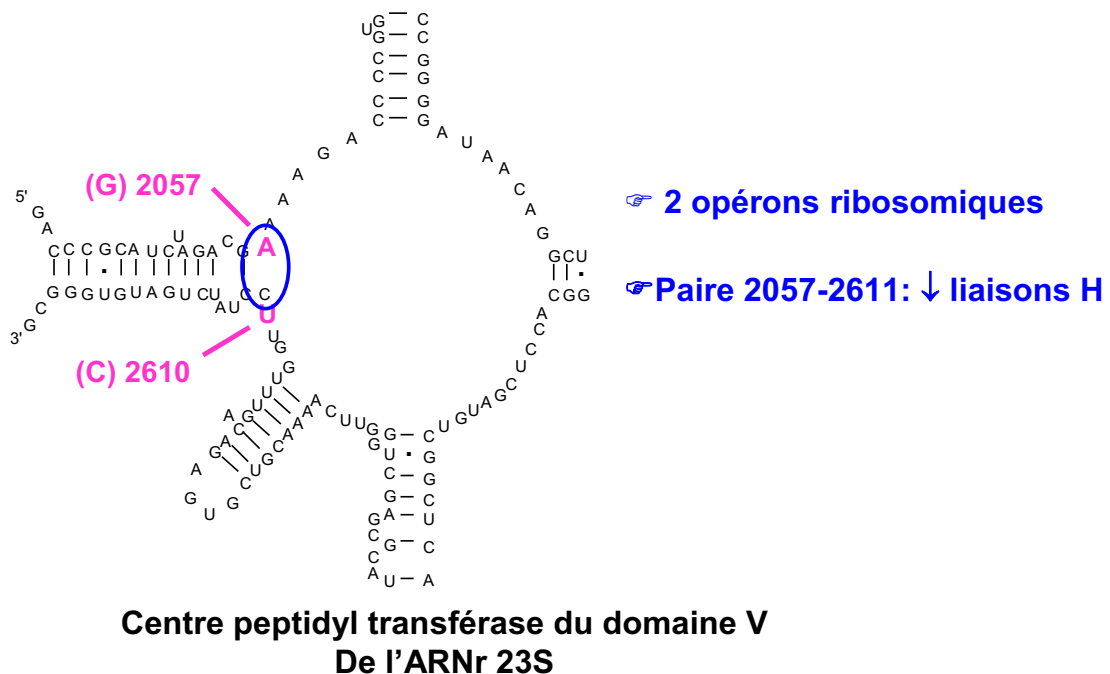
R macrolides : érythromycine (14 chaînons), azithromycine (15 chaînons)

S josamycine (macrolide à 16 chaînons)

⇒ Bases moléculaires de cette résistance intrinsèque

⇒ Mutations intrinsèques domaine V de l'ARNr 23S de *M. hominis* / ARNr 23S de *M. pneumoniae* (2057, 2610)

Résistance intrinsèque de *M. hominis* à l'érythromycine



2. *Chlamydiae*

✓ R β -lactamines, glycopeptides, aminosides.

C. Antibiotiques actifs

1. *Mycoplasmes*

- ✓ Atb actifs : **tétracyclines (TC), MLSK, fluoroquinolones (FQ)**,
- ✓ Bonne concentration intracellulaire
- ✓ Ecart des CMI (mg/l)

Antibiotiques	<i>M. pneumoniae</i>	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma</i> spp.	<i>M. genitalium</i>
Tétracyclines				
Tétracycline	0,06-0,25	0,2-2	0,05-2	0,06-0,12
Doxycycline	0,02-0,5	0,03-2	0,02-1	≤0,01-0,3
Fluoroquinolones				
Ciprofloxacin	0,5-2	0,5-4	0,1-4	2
Ofloxacin	0,05-2	0,5-4	0,2-4	1-2
Lévofoxacin	0,5-1	0,1-2	0,12-2	0,5-1
Moxifloxacin	0,06-0,25	0,06-0,12	0,12-0,5	0,03-0,06

2. *Chlamydiae*

- ✓ Atb à bonne concentration intracellulaire, doivent traverser plusieurs membranes (cellule, vacuole, bactérie)
- ✓ S TC, MLS, FQ et rifampicine

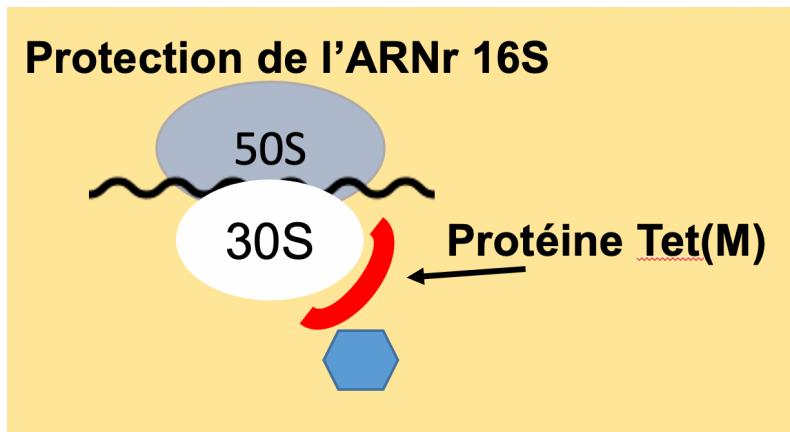
D. Résistance acquise

1. *Mycoplasmes*

- ✓ Support génétique de la résistance :
 - mutations chromosomiques ++
mycoplasmes déficients pour certains systèmes de réparation de l'ADN $\Rightarrow$ $\uparrow$ fréquences de mutation
 - transposons ++
 - pas de plasmide de résistance
- ✓ Mécanisme biochimique de la résistance
 - résistance par altération ou protection de la cible +++
 - pas d'enzyme inactivatrice, pas d'efflux

a) Tétracyclines

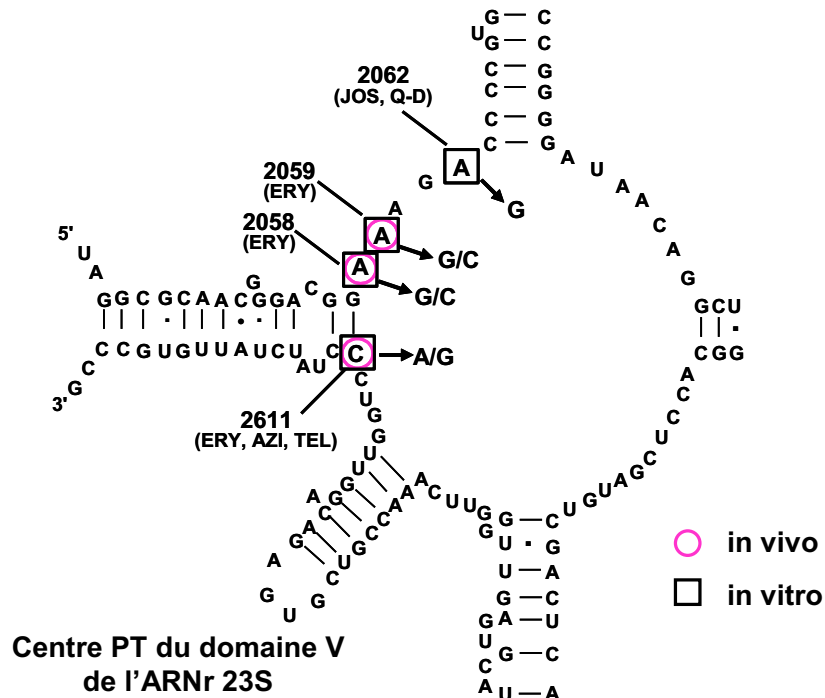
- ✓ Résistance acquise, souches cliniques par acquisition du gène *tet(M)* chez *Ureaplasma* spp. et *M. hominis*.
 - fréquence : 15% *Mh*, 2% *U. parvum*, 12%, % *U. urealyticum* en France en 2021 (CNR IST bactériennes)
 - résistance croisée à toutes les tétracyclines, de haut niveau (CMI > 8 mg/l)
 - échecs thérapeutiques décrits
- ✓ *tet(M)* {
 - code une protéine qui protège le ribosome (petite sous-unité 30S)
 - bactéries sphère génitale ++
 - transfert horizontal (transposon *Tn* 916)



b) Macrolides

- ✓ Résistance décrite essentiellement pour *M. pneumoniae* et *M. genitalium*
- ✓ *M. pneumoniae*
 - Avant 2000 : très rare, quelques cas Europe et USA
 - Après 2000 :
 - * fréquence en augmentation en Asie (Japon, Chine), jusqu'à 90% des souches de *M. pneumoniae* en 2010 en Chine
 - * apparition de souches résistantes aux USA et en Europe avec 7-10% de souches résistantes décrites en France entre 2005 et 2015, <5% en 2020
 - Phénotype MLS_B : résistance aux macrolides, lincosamides et streptogramines B (CMI de l'érythromycine > 64 mg/l)
 - Mécanisme moléculaire
 - Mutations domaine V rRNA 23S

in vivo chez les malades (mutations 2058, 2059 +++) et chez des mutants obtenus *in vitro* au laboratoire



✓ *M. genitalium* :

- Emergence d'une résistance clinique depuis 2005 en Australie, Scandinavie, Japon, Amérique et France.
- 36% des échantillons en 2021 (CNR IST).
- Mutations ARNr 23S, positions 2058-2059, acquises sous traitement par azithromycine.

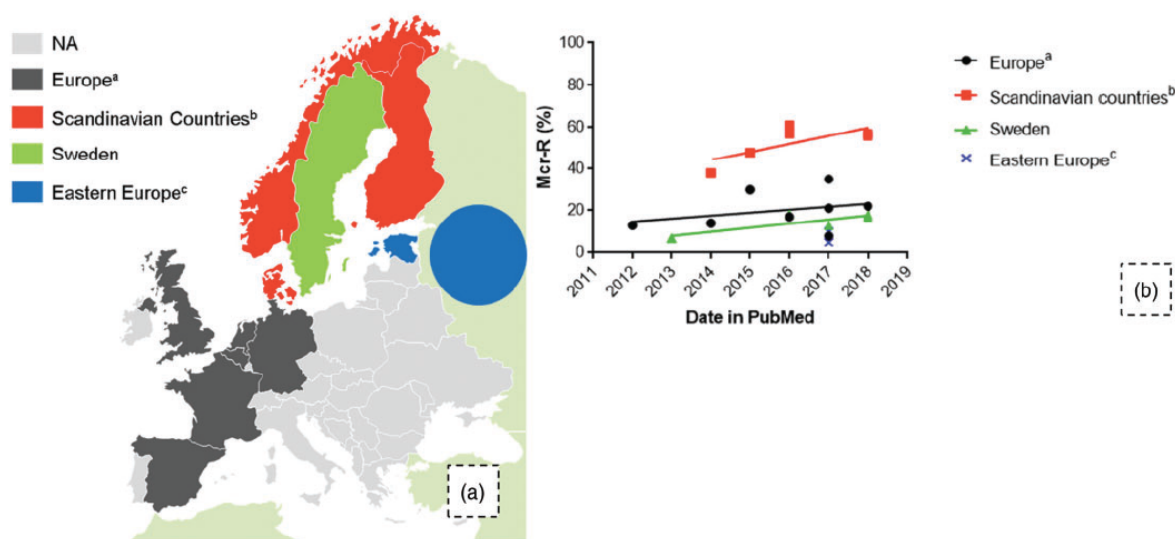


Figure 1. Antibiotic resistance in Europe, overview from Table I. (a) European mapping of countries with antimicrobial resistance data reported since 2012. (b) Macrolide resistance epidemiology in Europe. The graph only includes the 18 investigations from eight countries in which more than 50 infections were studied. Also, the study from the United Kingdom is excluded, since antibiotic resistance is overrepresented.²⁰ The estimates are plotted by their year of publication in PubMed. Mcr-R: macrolide resistance; NA: not available.

Fernandez-Huerta et al., International Journal of STD & AIDS · January 2020

c) Fluoroquinolones, plus rare

Résistance clinique décrite chez *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium*

- ✓ R par altération des cibles → mutations entraînant des changements d'acides aminés au niveau de régions appelées QRDR (« Quinolone Resistance Determining Region ») des gènes codant pour les enzymes cibles de ces antibiotiques :
 - *gyrA* et *gyrB* (ADN gyrase)
 - *parC* et *parE* (topoisomérase IV)
- ✓ R croisée aux FQ.
- ✓ Echecs thérapeutiques décrits (*M. genitalium* ++), prise de FQ antérieure ++, contexte d'immunodépression.

- ✓ En augmentation chez *M. genitalium* : 21% des souches en France en 2021 (mutations *parC*++), CNR IST.

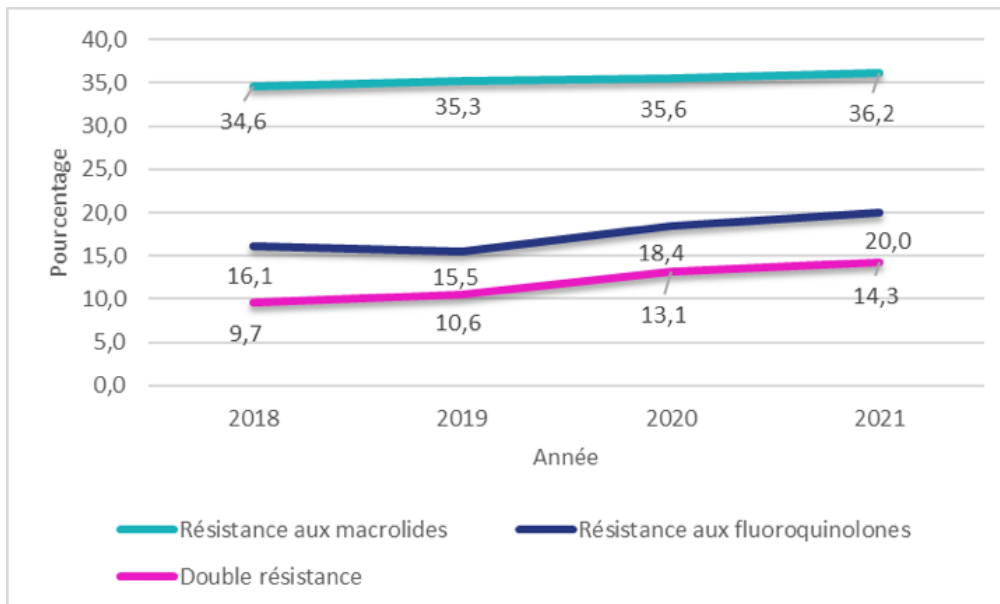


Figure. Prévalence de la résistance aux macrolides, aux fluoroquinolones et de la double résistance chez *M. genitalium* sur les 12 laboratoires ayant participé les quatre années de l'étude (2018 et 2021), rapport CNR IST, www.cnr-ist.fr

- ✓ Stable chez *M. hominis* et *Ureaplasma* spp : entre 2-5% des souches résistantes en 2021 (CNR IST).

2. *Chlamydia*

R acquise exceptionnelle et peu documentée

III- TRAITEMENT DES INFECTIONS A MYCOPLASMES ET CHLAMYDIA

→ Choix fonction de critères bactériologiques, pharmacocinétiques et cliniques

A. Infections respiratoires (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*)

Traitement souvent probabiliste qui doit tenir compte des différentes étiologies des pneumopathies atypiques.

1-3 semaines

1. Macrolides et apparentés (1^{ère} intention)

- ✓ Erythromycine, roxithromycine, clarithromycine, azithromycine, josamycine
- ✓ Infections bénignes chez l'enfant++

2. Tétracyclines

- ✓ Doxycycline, pas chez l'enfant <8 ans
- ✓ Actifs sur autres atypiques type *Coxiella*

3. Fluoroquinolones

- ✓ Alternative pour les infections sévères, pas chez l'enfant
- ✓ Lévofloxacine

B. Infections génitales

- ✓ Attention à l'interprétation pour *M. hominis* et *U. urealyticum* présents à l'état commensal → appréciation quantitative avec seuils pour certains sites
- ✓ *M. genitalium* doit être considéré comme pathogène
- ✓ *C. trachomatis*, toujours pathogène
- ✓ Autres pathogènes associés

1. Infections basses

- ✓ UNG : - doxycycline 7 j
- azithromycine, traitement dose unique -DU- (1/2 vie longue)
- ✓ Cervicites à *C. trachomatis* : - doxycycline 7-10 j
- azithromycine, traitement DU

Si urétrite ou cervicite identifiée à Mg, préférer un traitement par azithromycine 5 j. Si échec de l'azithromycine, traitement par moxifloxacine. Traitement guidé par la résistance (PCR de détection de résistance aux macrolides).

2. Infections hautes

- ✓ Caractère polymicrobien de ces infections
- ✓ Association d'antibiotiques :
β-lactamines + tétracycline + imidazolé
ou fluoroquinolone + imidazolé +/- bêta-lactamine
- ✓ 10-14 j

C. Infections néonatales

- ✓ ATB habituellement utilisés : β -lactamines et aminosides
→ inactifs ici
- ✓ TC et FQ contre-indiqués chez l'enfant
- ✓ Macrolides +++ dans les infections respiratoires

D. Infections extragénitales et chez l'immunodéprimé

- ✓ A mycoplasmes
- ✓ Association de plusieurs atb: lincosamide +doxycycline
Doxycycline + FQ
 ≥ 14 j
- ✓ Traitement de l'immunosuppression

IV- CONCLUSION

- ✓ Méthodes d'étude de la sensibilité aux atb standardisées pour les mycoplasmes Mh et Uu (CLSI), méthodes moléculaires pour *M. genitalium* et *M. pneumoniae*.
- ✓ Résistance acquise pour les mycoplasmes. Traitement guidé par la résistance pour *M. genitalium*.
- ✓ Durée du traitement fonction de la localisation et de la gravité de l'infection et actif sur bactéries possiblement associées dans certaines infections.
- ✓ Attention chez les immunodéprimés :
 - penser à l'infection à mycoplasmes
 - Traitement nécessaire de l'immunodépression