

BIO MED 2024

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

JEUDI 23 &
VENDREDI 24
MAI 2024

Mycoplasmes urogénitaux : dans quel cas leur diagnostic est-il encore nécessaire?

Pr Sabine Pereyre

université
de BORDEAUX



CENTRE
HOSPITALIER
UNIVERSITAIRE
BORDEAUX



CNR
des IST bactériennes

Mycoplasmes humains

- 18 espèces : colonisation muqueuses respiratoires ou génitales
- 5 espèces pathogènes:

- *M. pneumoniae* → infections respiratoires



- *M. hominis* (Mh)

- *U. urealyticum*

- *U. parvum*

- *M. genitalium* (Mg)



infections urogénitales
Infections sexuellement
transmissibles (Mg)



U. parvum + *U. urealyticum* = *Ureaplasma* spp. (U)

Ureaplasma spp. et *M. hominis*

- **Commensaux du tractus urogénital**

- *Ureaplasma* spp. (30%) >> *M. hominis* (<10%)

- ✓ Femmes +++, mais hommes aussi

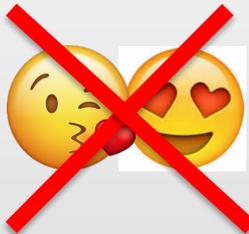
- ✓ *U. parvum* +++

- **Portage variable selon**

- ✓ Age, activité sexuelle, groupe ethnique, grossesse, niveau socio-économique

- **Pathogènes opportunistes**

- **Pas des agents d'IST !**





M. genitalium, un agent d'IST



- **Prévalence dans la population générale**
 - 1-2% aux USA, UK, Danemark (France ?)
- **Population ciblées en France**
 - HSH asymptomatiques : 10,5% (cohorte Ipergay)¹
 - PrEPeurs : 13,5% (IC95% 8,5-20,1)²
- **2^{ème} agent d'IST en fréquence après *C. trachomatis***
 - Avant le gonocoque
- **Infections asymptomatiques +++ (70-90%)**

Homme	Femme
Urétrites	Cervicites, endométrites, salpingites Naissance prématurée, avortement spontané (preuves encore insuffisantes)

Infections dues aux mycoplasmes urogénitaux

Pathologies	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma</i> spp.	<i>M. genitalium</i>
Infections masculines			
Urétrites	-	+ <i>U. urealyticum</i> ++	+
Epididymite, prostatite	-	+/-	+/-
Infections gynécologiques			
Vaginose bactérienne	+	-	+/-
Cervicite	-	-	+
Endométrite salpingite	+	+/-	-
Infections de la grossesse			
Chorioamniotite	+/-	+	?
Avortement spontané, prématurité	+/-	+/-	+/-
Fièvres, endométrites post-partum	+	+	+/-
Infections néonatales (préma, hypotrophes)			
Inf. respiratoires, méningites	+/-	+	?
Dysplasie bronchopulmonaire	+/-	+/-	?
Infections extragénitales			
Arthrites	+/-	+	+/-
Autres (hyperammoniémies)	+	+	-

+ , Association confirmée
 +/- , Association possible, non confirmée
 - , Pas d'association
 ? , Inconnu

- **Inf. extragénitales : hypogammaglobulinémie, transplantés +++ mais pas toujours**
- **Quid de U et Mh en biologie de la reproduction?**
 - Adhèrent aux spermatozoïdes et perturbent certains paramètres du sperme.
 - Contaminants de culture cellulaire.
 - Pas de preuve tangible d'une baisse des résultats des procédures d'AMP

Diagnostic biologique

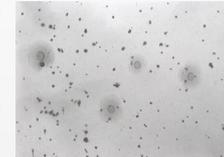
- **Pas de sérologie!**

- Diagnostic uniquement direct



- ***Ureaplasma spp.* et *M. hominis***

- Culture +++ (kits commercialisés)
- PCR pour augmenter la sensibilité

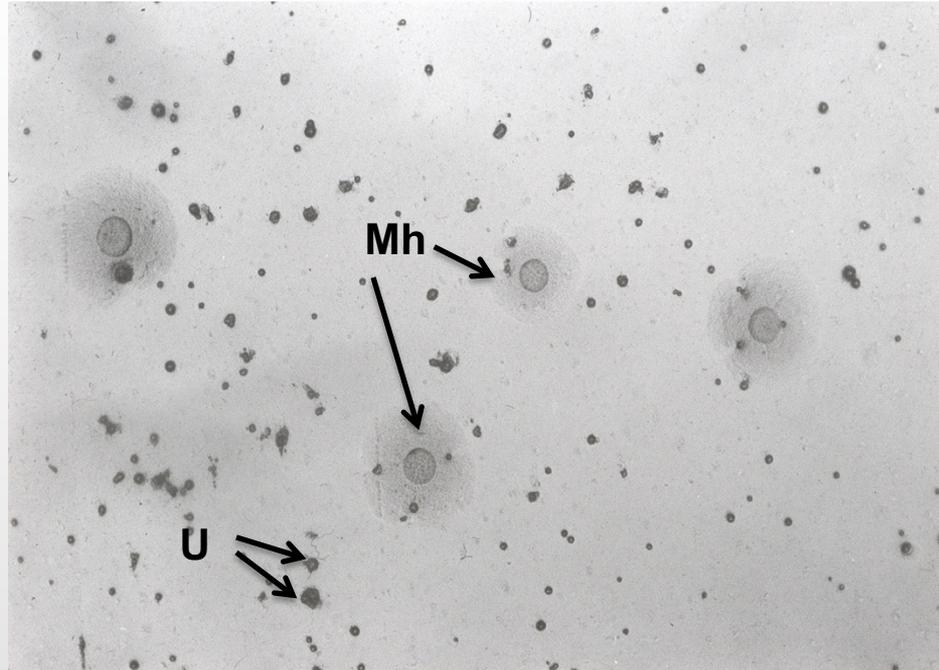


- ***M. genitalium***

- Pas de culture : espèce extrêmement fastidieuse
- **Amplification génique +++**
 - ✓ Détection
 - ✓ Résistance aux antibiotiques



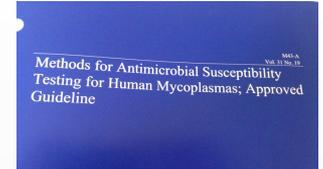
Ureaplasma spp. et *M. hominis*



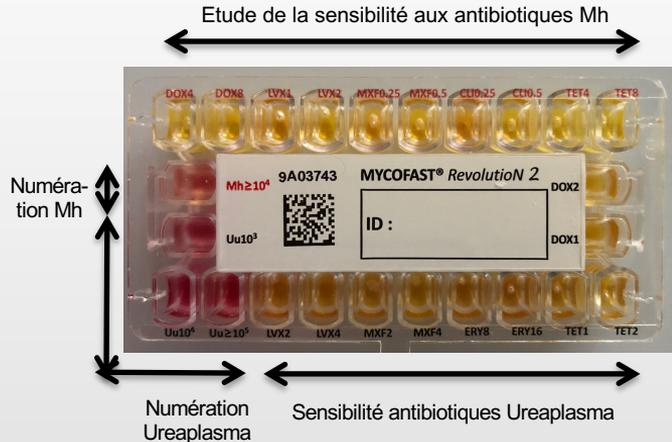
Kits de culture pour *Ureaplasma* spp et *M. hominis*

- **Identification, numération, sensibilité aux antibiotiques**

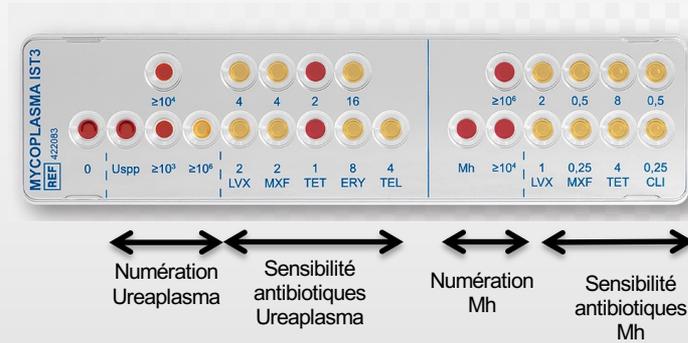
- Kits utilisant la dilution en milieu liquide (CLSI 2011)
- Directement à partir de l'échantillon ou après primoculture (inoculum contrôlé)
- Ne différencie pas *U. parvum* de *U. urealyticum*



kit MYCOFAST *Revolution* 2, ELITECH



kit IST3, bioMérieux



Interprétation des cultures de myco urogénitaux



Prélèvement	Seuil
Sites ou liquides stériles	Pas de seuil Isolement = infection
Hommes	
Urètre, sperme	$U \geq 10^4$ UCC/ml
1 ^{er} jet d' urine	$U \geq 10^3$ UCC/ml
	Urérite : après élimination des étiologies plus fréquentes
Femmes (cervico-vaginal)	La recherche de U et Mh dans échantillons cervico-vaginaux n'est <u>pas recommandée</u> en raison de leur présence à l'état commensal
Nouveau-nés	
Endotrachéal	U ou $Mh \geq 10^3$ UCC/ml

- **Recherche directe par biologie moléculaire**

- Echantillons génitaux hauts et extra-génitaux +++
- Meilleure sensibilité



- Pas de corrélation fiable avec les concentrations issues de la culture (UCC/ml)

- **Résistance aux antibiotiques peu fréquente**

- Pas de paroi : Résistance naturelle bêta-lactamines

%	<i>U. parvum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>
Tétracycline	1,2	11,8	11,1
Lévofloxacine	5,2	2,9	2,2
Moxifloxacine	0,8	1,5	2,2
Erythromycine	0	0	Résist. naturelle
Clindamycine	Résist. naturelle	Résist. naturelle	0



2020-2021

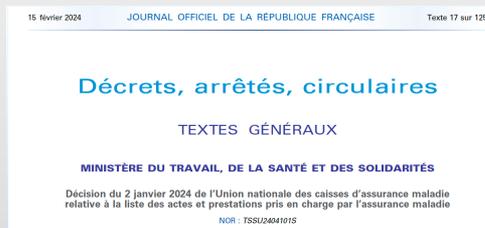
Pereyre, *J Clin Microbiol*, 2024, in press

Quand rechercher *Ureaplasma* et *M. hominis*?

- **Echantillons génitaux hauts obtenus par coelioscopie**
- **Echantillons extra-génitaux**
 - ✓ Immunodéprimés : transplantés, hypo ou agammaglobulinémiques
 - ✓ Sang, liq. articulaires, ech. respiratoires, pus profonds, ...
- **Spermes** (Biologie de la reproduction)... selon les centres...
- **Nouveaux nés prématurés, hypotrophes ?**
 - ✓ Aspiration naso-pharyngée, aspiration trachéale (si intubé)
- **Pas de recherche dans les échantillons génitaux bas**
 - ✓ **Déremboursés** (disparition de 5253, B40)



Commensaux
fréquents
Présence
vaginale, urétrale
non prédictive
d'une infection



Seul intérêt (limité) : rares cas d'urétrite masculine négative pour Ct, Ng et Mg

Ce qui toujours est remboursé..



Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DU TRAVAIL, DE LA SANTÉ ET DES SOLIDARITÉS

Décision du 2 janvier 2024 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie

NOR : TSSU2404101S

5204	<p>Produit d'origine pelvienne obtenu par coelioscopie</p> <p>Outre les recherches incluses dans la cotation forfaitaire, l'examen comprend :</p> <ul style="list-style-type: none"> - la <u>numération par unité de volume (si possible par ml)</u> de chaque espèce bactérienne isolée <u>dont les mycoplasmes</u> ; - la recherche de <i>Chlamydia trachomatis</i> par une technique d'amplification génique. <p>La cotation de l'acte 5204 n'est pas cumulable avec celle des actes 5301, 5302, 5303</p>	B220
5205	<p>Sperme</p> <p>Outre les recherches incluses dans la cotation forfaitaire, l'examen comprend la <u>numération par unité de volume (si possible par ml)</u> de chaque espèce bactérienne isolée <u>dont les mycoplasmes</u>.</p> <p>Les recherches de <i>Chlamydia trachomatis</i> et/ou <i>Neisseria gonorrhoeae</i> par amplification génique sont effectuées et facturée en sus uniquement sur prescription explicite et selon les indications suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - infection aiguë en primo-diagnostic avant traitement et après traitement ; - infection chronique et/ou exploration d'une éventuelle hypofertilité. 	B90

Et les autres échantillons?

Ech. extra-génitaux, urétrites Ct/Ng/Mg négatifs, nouveaux nés

BIOLOGIE MEDICALE
NOMENCLATURE DES ACTES

CHAPITRE 6

MICROBIOLOGIE

SOUS-CHAPITRE 6-01

EXAMENS MICROBIOLOGIQUES D'UN OU
PLUSIEURS PRELEVEMENTS DE MEME
NATURE



B. Recherche d'une bactérie nommément désignée

Recherche soit isolée, soit sur prescription explicite prévue supra.
(Sauf agents infectieux du sous-chapitre 6-03).

0214

Bactérie aérobie ou microaéroophile

B 60

0215

Bactérie anaérobie

B 80

Ces examens comprennent :

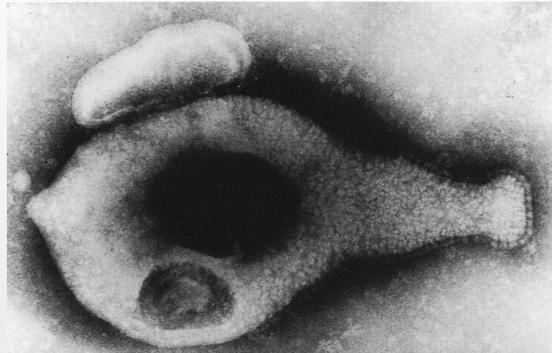
- l'examen microscopique d'orientation direct bactériologique, mycologique et parasitologique après colorations adaptées avec cytologie courante dans le cas d'une recherche isolée ;
- les cultures d'isolement après enrichissement si nécessaire ;
- l'identification biochimique du germe recherché et/ou antigénique lorsqu'elle est praticable.

Si recherche par PCR de *Ureaplasma* et *M. hominis*?

- **Liste complémentaire RIHN 2023**
 - PCR classique ou temps réel qualitative simplex sur ADN infectieux (hors parasites et champignons) : N134
 - BHN 250 = 62,5 €

- **Liste RIHN 2023**
 - PCR classique ou temps réel qualitative multiplex pour < 10 couples d'amorces : N131
 - BHN 500 = 125 €

Mycoplasma genitalium



Tully, Int J Syst Bacteriol 1983



Diagnostic biologique

- **Pas de sérologie!**

- Diagnostic uniquement direct



- *Ureaplasma spp.* et *M. hominis*

- Culture +++ (kits commercialisés)
- PCR pour augmenter la sensibilité

- *M. genitalium*

- Pas de culture, pas d'antibiogramme
- **Amplification génique +++**
 - ✓ Détection
 - ✓ Résistance aux antibiotiques



Quand faut-il rechercher *Mycoplasma genitalium*?



HAS juillet 2022



- **Symptômes**

- Urétrite chez l'homme, aigue, persistante, récurrente
- Cervicite aigue, persistante, récurrente

Reco Eur 2021 mais pas HAS

- Métrorragies ou saignements post-coïtaux
- Dysurie sans autre étiologie chez la femme
- Douleurs pelvienne aigue, endométrite, salpingite
- Orchi-epididymite aigue chez l'homme <50 ans
- Rectite après exclusion de Ct et Ng

- **Pas de screening chez les patients asymptomatiques**

- Infections asymptomatiques >70%
- Clairance spontanée
- Limiter l'utilisation d'azithromycine et donc la résistance aux macrolides

- **Sauf partenaires sexuels)**

- Partenaires sexuels des patients infectés par *M. genitalium* (HAS, Reco Eur 2021)

Que peut-on prélever?



- **Homme** : 1er jet d'urine > écouvillonnage urétral
- **Femme**: Ecouvillonnage vaginal^{1,2} (auto-prélèvement) > écouvillon endocervical
- **NB** : 1^{er} jet d'urine non recommandé chez la femme
- Ecouvillonnage anal : rectite (après exclusion de Ct et Ng)
- Prélèvements sous coelioscopie



¹Coorevits Clin Microbiol Infect 2018, ²Murray J Clin Microbiol 2019

Nouvellement remboursé !



Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DU TRAVAIL, DE LA SANTÉ ET DES SOLIDARITÉS

Décision du 2 janvier 2024 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie

NOR : TSSU2404101S

5305	<p>Recherche par amplification génique simple de <i>M. genitalium</i> :</p> <ul style="list-style-type: none">– chez des patients ayant des <u>symptômes</u> d'urétrites ou de cervicites récurrents ou persistants en particulier lorsque <i>M. genitalium</i> n'a pas été recherché auparavant– pour le contrôle microbiologique post traitement de l'infection à <i>M. genitalium</i> à réaliser au-delà de trois semaines après la fin du traitement. <p>Chez l'homme, sur un prélèvement urétral ou mieux un premier jet d'urine Chez la femme, sur un prélèvement vaginal ou endocervical Cet acte n'est pas cumulable avec l'acte 5301 et 5304.</p>	<div style="border: 2px solid green; padding: 5px; text-align: center;">B60</div>
------	--	---

➤ Pas au niveau rectal, ni ech. génitaux hauts...

Nouvellement remboursé !

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DU TRAVAIL, DE LA SANTÉ ET DES SOLIDARITÉS

Décision du 2 janvier 2024 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie

NOR : TSSU2404101S

5304	<p>Recherche par amplification génique multiplex de <i>C. trachomatis</i>, <i>N. gonorrhoeae</i> et <i>M. genitalium</i> exclusivement :</p> <ul style="list-style-type: none">– chez un patient ayant des symptômes d'urétrite ou une patiente ayant une cervicite aiguë– chez les partenaires actuels de patients infectés par <i>M. genitalium</i> <p>Chez l'homme, sur un prélèvement urétral ou mieux un premier jet d'urine Chez la femme, sur un prélèvement vaginal ou endocervical</p> <p>N.B. : il ne convient pas de rechercher ce mycoplasme en dehors de ces indications, en particulier à des fins de dépistage d'infections sexuellement transmissibles chez un sujet <u>asymptomatique</u> : en cas d'utilisation d'un outil technique recherchant simultanément plusieurs microorganismes, de type PCR multiplexe, le biologiste ne doit pas rendre le résultat concernant <i>M. genitalium</i>.</p> <p>Cet acte n'est pas cumulable avec l'acte 5301 et 5305.</p>	B85
------	--	-----

Même cotation B85 que la PCR Ct/Ng

5301	<p>C. TRACHOMATIS ET/OU N. GONORRHOEAE : AMPLIFICATION GENIQUE - 1 SITE</p> <p>Recherche directe de Chlamydia trachomatis et/ou de Neisseria gonorrhoeae par amplification génique sur tous types d'échantillons à partir de sites possiblement infectés.</p> <p>Une seule cotation 5301 par patient</p> <p>La recherche de Chlamydia trachomatis et/ou de Neisseria gonorrhoeae s'inscrit principalement dans le cadre :</p> <ul style="list-style-type: none">- du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique d'une infection génitale symptomatique haute ou d'une rectite ;- du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique d'une pneumopathie néonatale à C. trachomatis ou d'une conjonctivite ;- du dépistage des infections génitales asymptomatiques dans des circonstances particulières :<ul style="list-style-type: none">- dépistage des personnes à risque,- bilan d'hypofertilité ; <p>du diagnostic étiologique et du suivi d'efficacité thérapeutique des arthrites réactionnelles.</p>	B85
------	---	-----

Résistance acquise aux macrolides

- Traitement de 1^{ère} intention
- Résistance croisée par mutation ponctuelle de l'ARNr 23S (A2058G, A2059G)

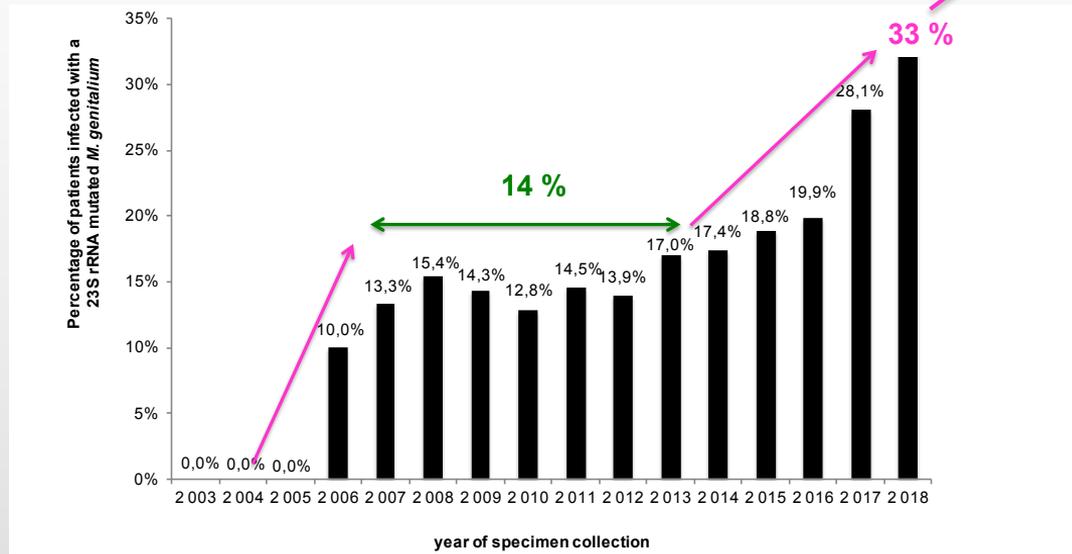
- Enquête CNR des IST, MG-MET 2022 :

38,6% de R en 2022 en France métropolitaine

- ✓ Hommes 51% vs femmes 25% ($p < 0,001$)
- ✓ HSH 71% vs HSF 33% ($p < 0,001$)

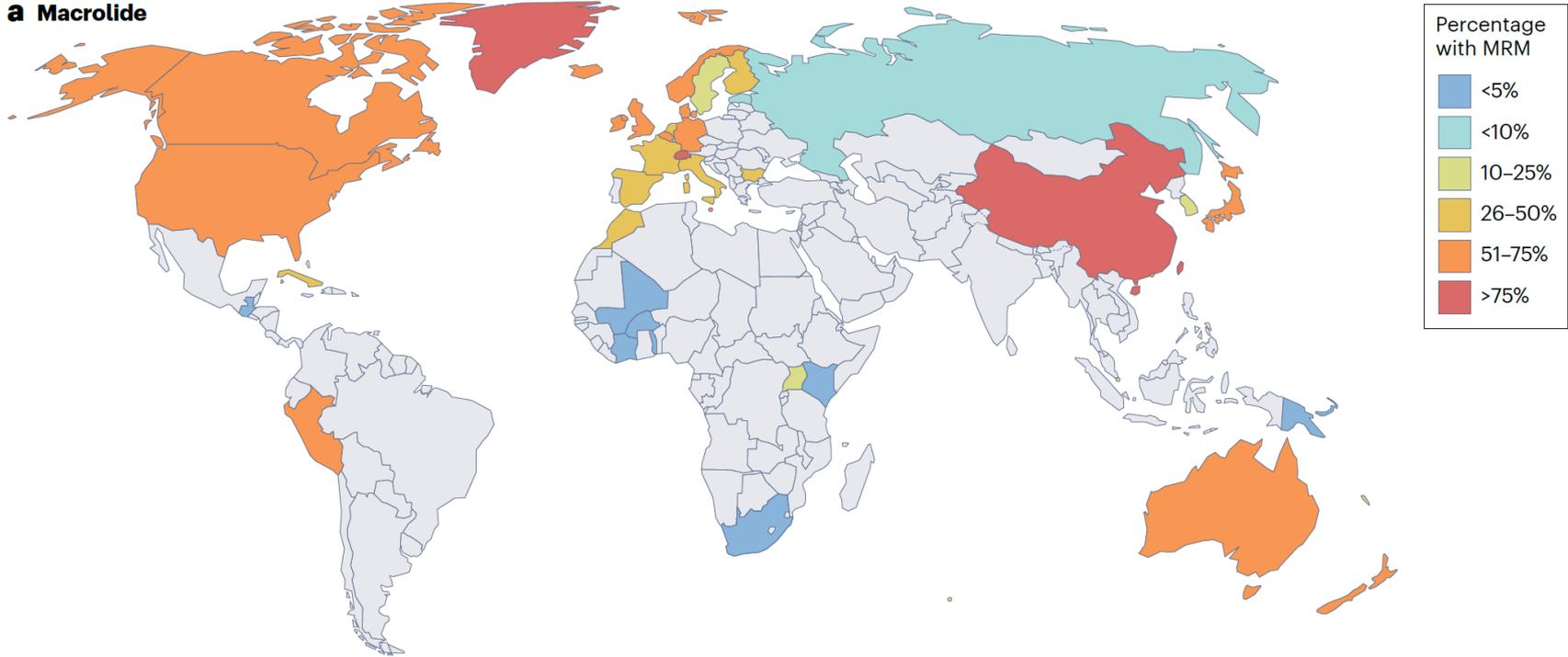


38,6% en 2022 en France



Prevalence of macrolide resistance in *M. genitalium*

a Macrolide



Détection de la résistance aux macrolides

• Quand?

- Recommandé pour tout échantillon positif à *M. genitalium* en vue de guider le traitement

• Comment?

- Nombreux kits de PCR en temps réel multiplex : détection de *M. genitalium* et 4-5 mutations associées à la résistance



• Récente inscription nomenclature

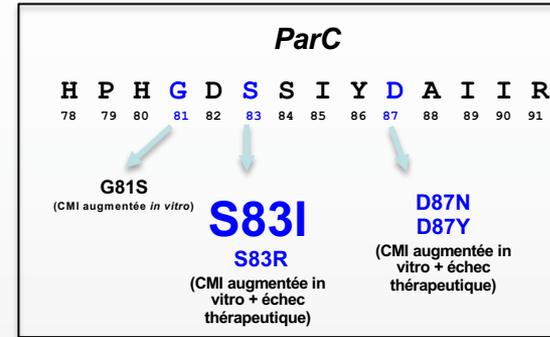
5306	<p>Recherche par amplification génique de la résistance aux macrolides chez <i>M. genitalium</i> en cas de test de détection de <i>M. genitalium</i> positif.</p> <p>Test effectué sur l'échantillon positif à <i>M. genitalium</i></p> <p>Les résultats des deux tests (détection et résistance) doivent être rendus simultanément. La technique employée doit être capable de détecter au minimum les mutations de résistance aux macrolides les plus fréquentes, c'est à dire localisées dans la région V du gène ribosomal de l'ARN 23S de <i>M. genitalium</i>, et en particulier les mutations A2058G et A2059G (numérotation de <i>E. coli</i>)</p>	B85
------	--	-----

Résistance acquise aux fluoroquinolones (moxifloxacin)

- **Mutations dans les gènes cibles des fluoroquinolones**

- Gène *parC* (topoisomerase IV) surtout : **S83I**
- Quelques mutations dans *gyrA* (ADN gyrase)
généralement associées à S83I

☞ Echecs plus fréquents si double mutation *parC* + *gyrA*¹



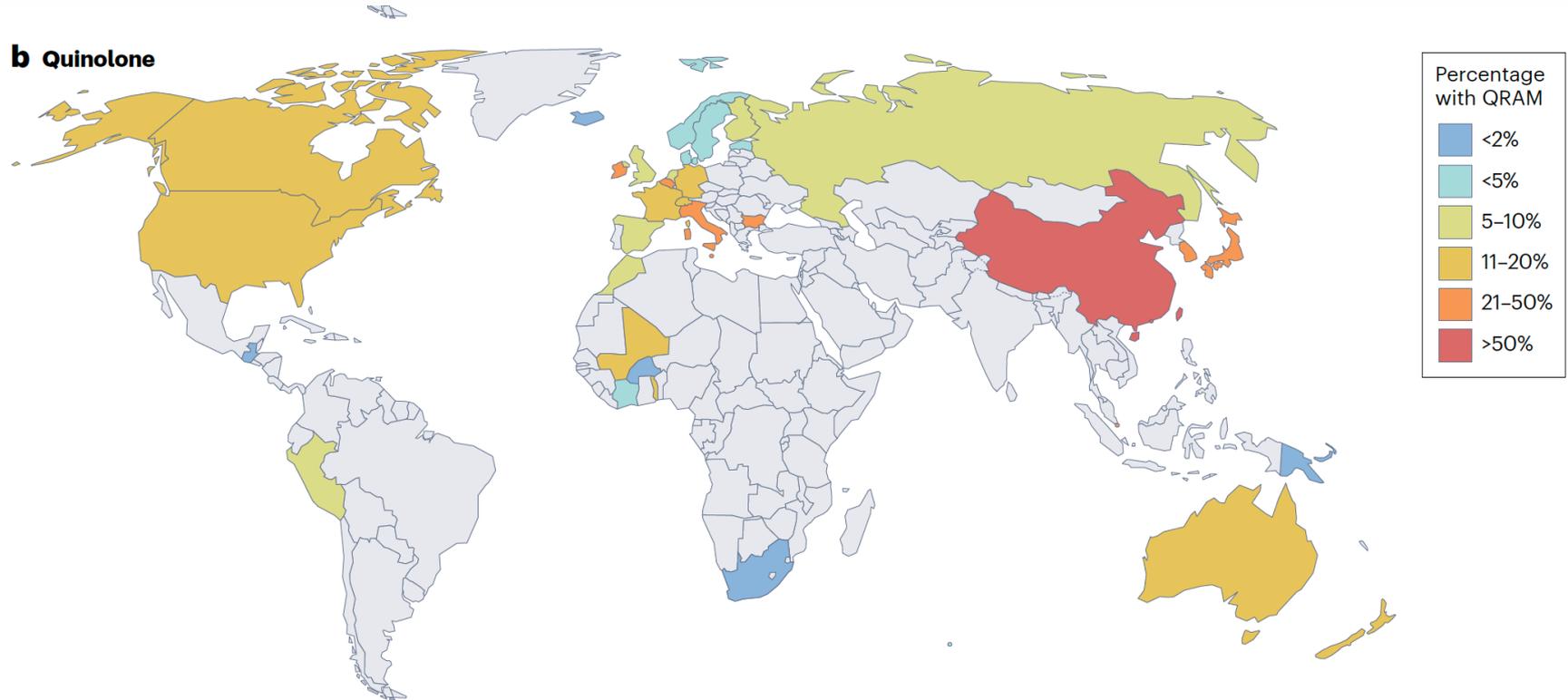
- **Enquête CNR des IST, MG-MET 2022²**

17,1% de R en France métropolitaine

- ✓ Hommes 25,8% vs femmes 10,8% (p<0,001)
- ✓ HSH 25% vs HSF 0 %



Prevalence of fluoroquinolone resistance-associated mutations



Détection de la résistance aux fluoroquinolones

- **Détection**

- Amplification et séquençage du gène *parC* (*gyrA*)
- Kits commerciaux de PCR en temps réel pour les mutations dans *parC*



NYtor

Seegene

AusDiagnostics

- **Quand les rechercher?**

- Souches résistantes aux macrolides ou échec d'un traitement aux macrolides
- Echec d'un traitement à la moxifloxacin
- Infections compliquées

- **Non inscrit à la nomenclature**

- Gratuit au CNR des IST



Contrôle après traitement?

- **Europe, recos 2021¹**

- « Should be considered » chez tous les patients
- Au moins 3 semaines après la fin du traitement



- **USA²**

- Non recommandé pour les patients cliniquement guéris ayant reçu un des traitements recommandés



- **France³**

- HAS : minimum 3 semaines après la fin du traitement
- Inscription nomenclature (5305, B60)

- Est-il vraiment nécessaire si guérison clinique à l'issue du traitement?
- Nouvelle recos (CNS-ANRS-HAS) attendues en 2024

¹Jensen, JEADV 2022; ²Workowski, MMWR Recommend Rep 2021; ³Avis n° 2022.0046/AC/SEAP du 21 juillet 2002,

Quand diagnostic est il nécessaire / remboursé ? ...

M. hominis et *Ureaplasma* spp.

- **Commensaux**
- **Pas agents d'IST**
- **Culture et ATB**
- **PCR**
- **Ech. génitaux hauts** (5204)
- **Ech. extra-génitaux immunodéprimés** (0214, RIHN)
- **Spermes en AMP** (5205)
- **Urétrites Ct/Ng/Mg négatives** (0214)
- **Ech respiratoires de nouveaux nés?** (0214, RIHN)

M. genitalium

- **Non commensal**
- **Agent d'IST**
- **Pas de culture ni ATB**
- **PCR = seul outil pour détection et résistance**
- **Urétrites (1^{er} jet urine, urètre)** (5304 ou 5305)
- **Cervicites (ec. vaginal ou endocervical)** (5304 ou 5305)
- **Ne pas rendre si patient asymptomatique**
 - ↓ si +
- **Détection R aux macrolides** (5306)
 - ↓ si R
- **Détection R aux FQ** (gratuit)



NB: rectum et éch. génitaux hauts ne sont pas à la nomenclature

Remerciements

Membres du CNR des IST, Bordeaux :

- Cécile Bébéar
- Olivia Peuchant
- Jennifer Guiraud
- Marie Gardette
- Cécile Laurier-Nadalié
- Arabella Touati
- Carla Balcon
- Amandine Dolzy
- Nadège Hénin
- Laurie Madras



<https://www.cnr-ist.fr/>

cnr.ist@chu-bordeaux.fr



Participants enquêtes Mycomet 2020, 2021 et MG-MET 2021, 2022, 2023: C. Alauzet, K. Allouche, J. Amzalag, G. Auger, J. Bador, G. Barnaud, K. Barrial-Lochet, A. Beby-Defaux, K. Belliot, C. Bencimon, B. Berçot, A. Bianchi, L. Billon, P-A. Billy, L. Bonzon, N. Bourgeois Nicolaos, L. Breit, A. Chavant, D. Christment, P. Coudene, S. Daure, D. Decré, J. Delmas, D. Descamps, C. Domergue, M. Domine, C. Duployez, A. Ebel, C. Eckert, S. Edouard, F. Ennouchi, P. Floch, M. Frayssinoux, J. Gallou, V. Gazzano, S. Gibaud-Papin, G. Gonfrier, S. Gonzalo, C. Guillaume, A. Henry, S. Huck, C. Koebel, P. Lanotte, S. Lastere, H. Lebars, M. Lebsir, A. Lesenne, L. Lotte, L. Luciani, P. Maroye, S. Marque Juillet, L. Mendes Martin, F. Micas, M. Michel, A-L Michon, S. Millet, P. Patoz, G. Potiron, A. Potron, J-P. Rault, E. Rondinaud, F. Roumanet, A-L. Roux, G. Royer, H. Salord, C. Schanen, N. Traversier, L. Sobanska, S. Trombert, A-L Toyer, H. Valade, V. Vieillefond, X. Vuillemin, J-B Vuillemont, C. Zins, F. Zouak.

