

Mollicutes (Mycoplasmes)

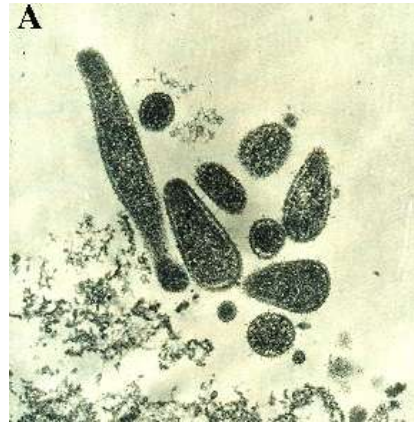
1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION

Ce sont des bactéries **sans paroi et incapables de produire les précurseurs de peptidoglycanes** contrairement aux formes L ou les protoplastes. On ne trouve donc pas de PLP, protéines liant la pénicilline, chez les mycoplasmes.

Elles formaient une classe aux côtés des classes des Firmicutes (Gram +) et Gracilicutes (Gram -), la classe des **Mollicutes** (peau molle) ou **Ténéricutes** mais sont très proches de bactéries Gram + en particulier *Erysipelothrix* et *Clostridium*.



[Mycoplasmes au milieu des cils de cellules ciliées](#)



[Mycoplasmes](#)

Les études génétiques (RNA 16S) les ont donc transférées dans la Classe II (Mollicutes) des Firmicutes (phylum XIII) (voir [Bergeys](#)).

phylum XIII : Firmicutes	Class I : Clostridia	Ordre I : Clostridiales	famille des Clostridiaceae
			famille des Peptostreptococcaceae
			famille des Eubacteriaceae
			famille des Peptococcaceae
			famille des Acidominococcaceae
	Class II : Mollicutes	Ordre I : Mycoplasmatales	famille des Mycoplasmataceae
		Ordre V : Incerta sedi	famille des Erysipelotrichaceae (genre Erysipelothrix)
	Class III : Bacilli	Ordre I : Bacillales	famille I des Bacillaceae (genres Bacillus, Amphibacillus, Virgibacillus...)
			famille II des Planococcaceae
			famille IV des Listeriaceae (genre Listeria et Brochothrix)
			famille V des Staphylococcaceae (genres Staphylococcus, Gemella...)
			famille VII des Paenibacillaceae
			famille I des Lactobacillaceae (genres Lactobacillus, Pediococcus...)
		Ordre II : Lactobacillales	famille II des Aerococcaceae
famille IV des Enterococcaceae (genres Enterococcus...)			
famille V des Leuconostocaceae			
famille VI des Streptococcaceae (genres Streptococcus, Lactococcus)			

Tous les mycoplasmes sont évidemment **résistants aux bêta-lactamines**.

Elles sont **très fines** (0,3 µm) et donc traversent les filtres de porosité 0,22 µm.

Elles sont très **polymorphes**, sont trouvées comme **parasites** (commensales ou pathogènes) des animaux et des plantes (spiroplasmes des agrumes), ou comme **saprophytes**.

Les Mycoplasmes parasites ont une forte tendance à se coller aux cellules car elles sont très généralement à la recherche de **cholestérol**, indispensable à la structure de leur membrane plasmique. Il existe des Mycoplasmes qui n'ont pas besoin de cholestérol.

Leur culture est difficile en particulier car leur **génomme est réduit** (0,5 Gg mol⁻¹ ou 0,9 Mpb). Elles furent prises parfois pour des virus avec leur culture sur oeuf embryonné mais elles sont toutefois capables de multiplication sur milieu acellulaire... Ce sont pourtant les bactéries qui ont le plus petit génome tout en étant capables de multiplication autonome. La plupart sont des bactéries parasites des muqueuses. Leur GC% va de 23 à 35 environ.

Classification de la Classe des Mollicutes (Mycoplasmes)

PHYLUM DES FIRMICUTES								
Classe II MOLLICUTES			Nombre d'espèces	Taille gélonne Gg.mol ⁻¹	GC%	Besoin choles-térol	Particularités	habitat
Ordre des Mycoplasmatales	Famille des Mycoplasmataceae	Genre <i>Mycoplasma</i>	69	0,5	23-41	+		vertébrés
		Genre <i>Ureaplasma</i>	2	0,5	27-30	+	Uréase +	Vertébrés
Ordre des Entomoplasmatales	Famille des Entomoplasmataceae		9	1,1		V	-	Insectes plantes
	Famille des Acholeplasmataceae	Genre <i>Spiroplasma</i>	3	1,6	25-31	V	Filaments hélicoïdes	Arthropodes plantes
Ordre des Acholeplasmatales	Famille des Acholeplasmataceae	Genre <i>Acholeplasma</i>	8	1,6	27-36	-	-	Animaux plantes
Ordre des Anaeroplasmatales			5	1,5	27-36	V	Anaérobies strictes	Rumen des ruminants

2. POUVOIR PATHOGÈNE

Il existe de nombreux mycoplasmes commensaux. Les espèces pathogènes sont très généralement des commensales. Les mycoplasmes pathogènes sont donc des **pathogènes opportunistes** dans l'état actuel de nos connaissances.

On peut distinguer de façon pratique :

- les **Mycoplasmes respiratoires** avec *Mycoplasma pneumoniae* est fréquemment responsable d'infections pulmonaires relativement bénignes (10 %) et suivies d'une bonne protection immunologique qui est essentiellement moléculaire (IgA, IgM des sécrétions)
- les **Mycoplasmes génitaux ou uro-génitaux** avec
 - *Ureaplasma urealyticum* est responsable d'urétrites chez l'homme (15 à 20 % des urétrites non gonococciques), d'infections génitales chez la femme bien que commensales chez 65 (15???) % des femmes...
 - *Mycoplasma hominis* responsable de salpingites chez la femme,
 - *Mycoplasma genitalium* qui semble responsable de métrites chez la femme.

On ne doit pas prendre ces données avec trop d'absolu : les infections à *M. hominis* sont possibles chez l'homme mais plus rares.

La comparaison du nombre de partenaires sexuels et de la positivité en mycoplasmes montre **une forte transmission sexuelle**. La recherche des mycoplasmes est importante pour le diagnostic des stérilités féminines.

3. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES MYCOPLASMES D'INTÉRÊT MÉDICAL

Le diagnostic est difficile pour deux raisons :

- la grande difficulté de la culture
- la nécessité de faire une numération avant d'affirmer le rôle pathogène de la souche. (on considère le rôle pathogène à partir de 10⁴ mycoplasmes par mL)

3.1 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés, obligatoirement isotoniques, sont à base de :

- NaCl
- glucose
- éventuellement DNA apportant les bases azotées nécessaires

- protéines
- extrait de levure
- sérum qui apporte notamment le cholestérol dans les lipoprotéines et bien d'autres ingrédients

Le pH doit être adapté aux espèces recherchées.

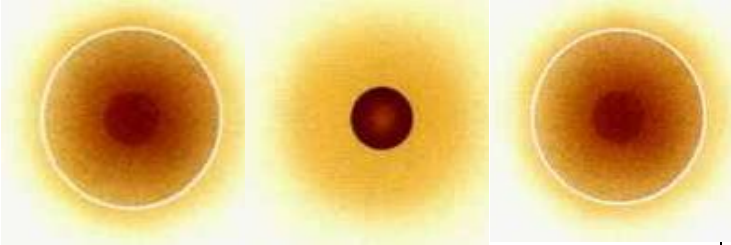
Exemples de milieux :

	Bouillon A3	Bouillon Arginine	Bouillon glucosé	Bouillon Urée (U9)	Gélose A6
peptones (mélange de peptones, extrait de levure... adaptées)	24 g	25 g	25 g	8 g	26 g
sérum de poulain non inactivé	200 mL			40 mL	200 mL
sérum de cheval		200 mL	200 mL		
Glucose	-	-	10 g	-	-
cystéine	10 mg			100 mg	100 mg
arginine		10 g			
Urée				0,5 g	1 g
sulfate de manganèse					0,3 g
NaCl				5 g	
KH ₂ PO ₄				0,2 g	
ampicilline	1 g	0,4 g	0,4 g	1 g	1 g
rouge de phénol 1%		20 mg	20 mg	10 mg	10 mg
agar					+++
eau qsp 1 L	eau qsp 1 L				
pH	7,2 ± 0,2	7,2 ± 0,2	7,8 ± 0,2	6,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2

3.2 Identification

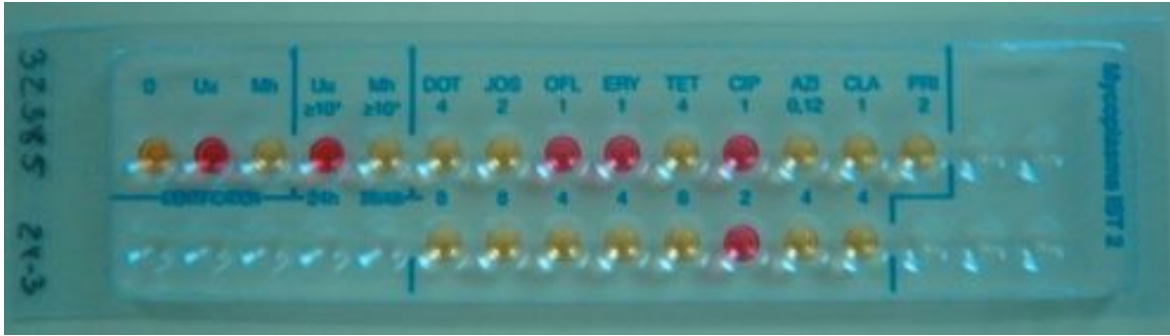
L'identification peut reposer sur : (voir fiche Mérieux)

- la mise en évidence de l'**ADH** et de l'**Uréase**
- l'**examen macroscopique** des colonies et éventuellement de leur coloration par le MnO₂.

	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
Voie d'attaque du glucose	fermentative du glucose	fermentative du glucose	glucose -	glucose -
Uréase	-	-	-	+
ADH	-	+	+	-
pH optimum	6,5 - 7,5	7,3 - 8	5,5 - 8	5,5 - 6,5
Taille des colonies	-	100-300µm	100-300 µm	10-50 µm
Forme	-	oeuf sur le plat	oeuf sur le plat	en oursin (brunes sur milieu au Mn)
Colonies				

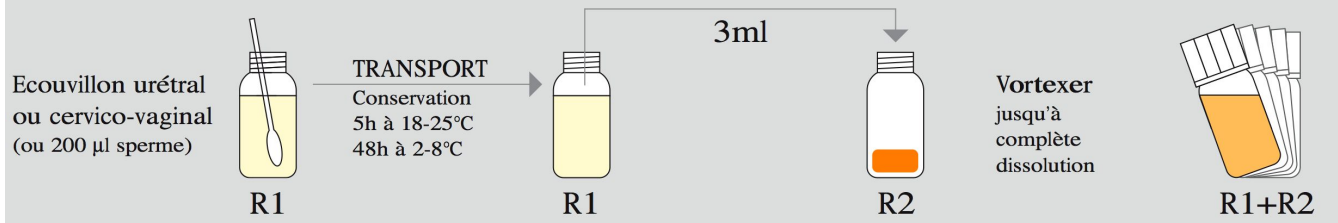
3.3. Un ex. de microplaque d'identification-numération

La technique présentée est MYCOPLASMA IST 2 de Biomérieux. Il existe d'autres techniques très proches de celle-ci sur le principe.



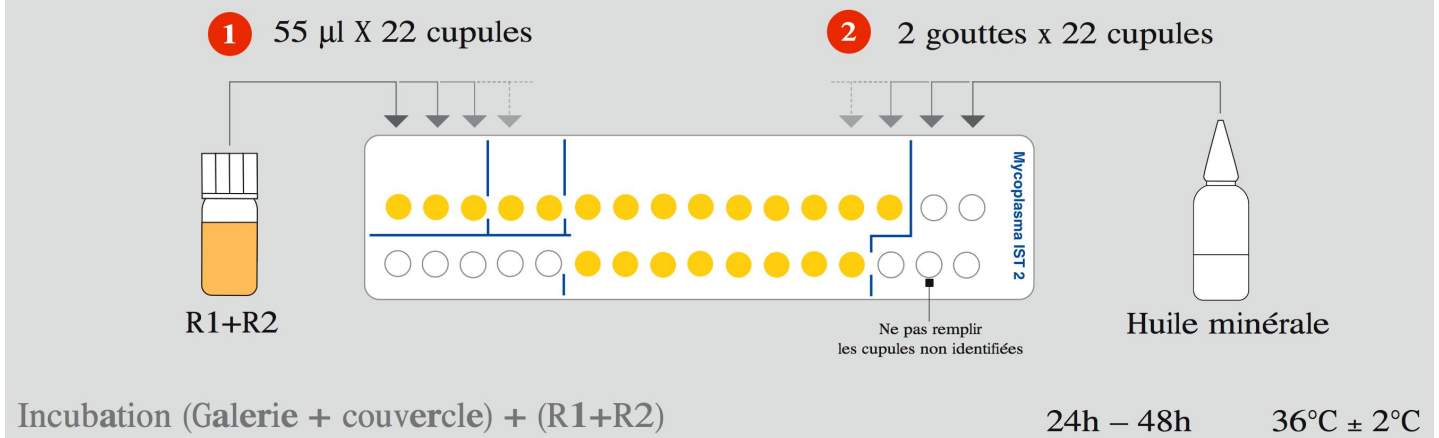
Étape 1 : Prélèvement

Prélèvement




Étape 2 : Inoculation de la galerie et incubation

Répartition



Étape 3 : Lecture du témoin de culture



Le milieu contient les deux substrats, Urée et Arginine, et l'indicateur de pH à une concentration telle que la présence d'un minimum de bactéries déclenche l'alcalinisation. Il y a évidemment un seuil de détection non précisé.

Une coloration rouge signe la présence de Mh, Uu ou des deux à la fois.

Étape 4 : Identification

L'identification repose sur l'utilisation des substrats. Il est probable que la cupule contienne un inhibiteur de l'un ou l'autre bactérie. On peut supposer que la cupule M contient de l'érythromycine (résistance naturelle de Mh) et la cupule Uu de la lincomycine.

La détection peut se faire aussi avec le reste du milieu d'inoculation

Détection : R1+R2

	Négatif Absence de <i>Ureaplasma</i> spp. et <i>M. hominis</i>		Positif Présence de <i>Ureaplasma</i> spp.		Positif Présence de <i>M. hominis</i>		Positif Présence de <i>Ureaplasma</i> spp. et/ou <i>M. hominis</i>
--	--	--	--	--	---	--	--

Étape 5 : Numération

Les cupules suivantes permettent la numération. On peut supposer des compositions analogues aux deux précédentes avec une optimisation de la concentration en substrat permettant une alcalinisation uniquement quand le seuil de 10^4 est atteint.

Étape 6 : Exemples

	CONCLUSION : Mh à moins de 10^4 Uu -		CONCLUSION : Mh à plus de 10^4 Uu à moins de 10^4
	CONCLUSION : Mh à plus de 10^4 Uu -		CONCLUSION : Mh - Uu à moins de 10^4
	CONCLUSION : Mh à moins de 10^4 Uu à moins de 10^4		CONCLUSION : Mh - Uu à plus de 10^4

Étape 6 : Antibiogramme

L'antibiogramme utilise deux concentrations critiques, en général. la mise en évidence de la positivité par le rouge de phénol signe la culture et donc l'inefficacité de l'antibiotique dans la cupule correspondante.

Les antibiotiques testés sont la Doxycététracycline, la Josamycine, l'Ofloxacin, l'érythromycine, la tétracycline, la ciprofloxacine, l'azithromycine, la clindamycine ?, la pristinamycine



Ici, on conclura que la souche est S à tous les antibiotiques sauf CIP (R) et OFL (I)

- **Remarque : la sérologie peut apporter des arguments intéressants notamment avec *M. pneumoniae*.**

Une autre technique est développée : Mycofast. Elle sera développée prochainement. (International Microbio) Mais il est impossible de savoir via internet si elle est encore commercialisée.



4. TRAITEMENT

Des vaccins sont en cours d'étude.

Les Mycoplasmes sont évidemment insensibles aux β -lactamines, mais aussi aux sulfamides, rifampicine et quinolones.

On utilise essentiellement les tétracyclines, y compris pour les citronniers...

Un antibiogramme en milieu spécial est possible par utilisation des galeries ATB ensemencées à l'aide d'un milieu approprié ou par la technique des dilutions par mesure de l'inhibition métabolique en microplaques. (voir ci-dessus)

5. PROPHYLAXIE

Dans une certaine mesure, les protections adoptées dans le cadre de la [lutte contre les MST](#) sont efficaces pour les Mycoplasmes transmis génitalement.