

Mycoplasma genitalium – uzročnik spolno prenosivih bolesti kojeg se ne smije zanemariti

Sunčanica LJUBIN-STERNAK^{1,2}, doc. dr. sc., prim. dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

Tatjana MARIJAN¹, mr. sc., dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

Jasmina VRANEŠ^{1,2}, prof. dr. sc., prim. dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

¹Nastavni zavod za javno zdravstvo "Dr. Andrija Štampar", Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Ključne riječi

Mycoplasma genitalium
mikrobiološka dijagnostika
spolno prenosive bolesti
učestalost

Key words

Mycoplasma genitalium
microbiological diagnostics
sexually transmitted diseases
prevalence

Primljeno: 2014–11–06

Received: 2014–11–06

Prihvaćeno: 2014–12–04

Accepted: 2014–12–04

Znanstveni rad

Iako je razvoj molekularnih metoda omogućio učinkovitu dijagnostiku infekcije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*), podaci o infekcijama uzrokovanih ovom bakterijom u Hrvatskoj su nedostadni, budući je dijagnostika vrlo zahtjevna te još uvijek nije rutinska metoda u mikrobiološkim laboratorijima. Cilj ovog rada bio je utvrditi učestalost *M. genitalium* u obriscima cerviksa i obriscima uretre muškaraca zaprimljenih u Službi za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo "Dr. Andrija Štampar" radi testiranja na *C. trachomatis*.

Istraživanje je provedeno u razdoblju od sedam mjeseci. Od ukupno 5057 zaprimljenih obrisaka cerviksa koji su bili testirani na *C. trachomatis*, 195 uzoraka je testirano na *M. genitalium* (99 *C. trachomatis* pozitivnih i 96 *C. trachomatis* negativnih). Testirano je i 52 obrisaka uretre muškaraca s negonokoknim uretritisom (18 *C. trachomatis* pozitivnih i 34 *C. trachomatis* negativnih). *M. genitalium* i *C. trachomatis* dokazivane su *real-time* PCR metodama, dok je gonokokna infekcija isključena pregledom izravnog mikroskopskog preparata. U obriscima cerviksa učestalost infekcije uzrokovane *C. trachomatis* iznosila je 2,04 % (103/5057). Od 195 testiranih obrisaka cerviksa, *M. genitalium* je dokazana u 6 uzoraka (3,08 %). Svi obrisci cerviksa pozitivni na *M. genitalium* bili su istodobno pozitivni i na *C. trachomatis* (6/99) dok niti jedan *C. trachomatis* negativan uzorak nije bio pozitivan na *M. genitalium* (0/96; $P < 0,05$). U obriscima uretre muškaraca s negonokoknim uretritisom *M. genitalium* je dokazana u jednom uzorku koji je bio *C. trachomatis* negativan.

M. genitalium je važan, ali u našoj sredini nedovoljno prepoznat i nedovoljno dijagnosticiran uzročnik spolno prenosivih bolesti. Sukladno rezultatima ove studije testiranje na *M. genitalium* opravdano je izvoditi u sklopu rutinskog testiranja na spolno prenosive bolesti u obriscima cerviksa žena kod kojih je dokazana *C. trachomatis* infekcija.

Mycoplasma genitalium – sexually transmitted pathogen that cannot be ignored

Scientific paper

The development of molecular methods has enabled efficient diagnosis of infections caused by *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*). However, data on *M. genitalium* infection in Croatia are scarce due to the complexity of detection method for this bacterium which is still not routinely used in clinical laboratories. The aim of this study was to determine the prevalence of *M. genitalium* in cervical swabs and male urethral swabs referred for *C. trachomatis* diagnostics to the Clinical Microbiology Department of the Teaching Institute for Public Health "Dr. Andrija Štampar".

The study was conducted over a period of seven months. From a total of 5057 received cervical swabs that were tested for *C. trachomatis*, 195 samples were tested for *M. genitalium* (99 positive and 96 negative for *C. trachomatis*). Additionally, 52 urethral swabs collected from men with nongonococcal urethritis were tested for *M. genitalium* (18 positive and 34 negative for *C. trachomatis*). Both, *C. trachomatis* and *M. genitalium* were detected using *real-time* PCR methods, while gonococcal infection was excluded by direct microscopy.

The incidence of *C. trachomatis* infection in cervical swabs was 2.04 % (103/5057). Out of 195 cervical swabs tested *M. genitalium* was proved in six

samples (3.08 %). All samples found positive for *M. genitalium* were positive for *C. trachomatis* as well (6/99), while not a single *C. trachomatis* negative sample was positive for *M. genitalium* (0/96; $P < 0.05$). In the urethral swabs of men with NGU, *M. genitalium* was detected in one sample that was *C. trachomatis* negative.

Uvod

Mycoplasma genitalium (*M. genitalium*) pripadnik je velike skupine bakterija svrstanih unutar porodice *Mycoplasmataceae* čija je glavna značajka da ne posjeduju staničnu stijenku i tek su nešto malo veće od najvećih virusa. Najmanje 16 vrsta iz rodova *Mycoplasma* i *Ureaplasma* izolirano je u čovjeka. Većina predstavlja normalnu floru usne šupljine i spolno-mokraćnog sustava, dok se pet vrsta uključujući i *M. genitalium* smatra patogenima [1]. *M. genitalium* je prvi puta izolirana 1981. godine iz obriska uretre dvojice muškaraca s negonokoknim uretritom (NGU) koji su neuspješno liječeni tetraciklinom [2]. Njezin genom smatra se jednim od najmanjih genoma u bakterija koje se mogu samostalno razmnožavati; veličine je 580 kb i kodira samo one gene koji su neophodni za preživljavanje [3]. Kruškastog je oblika ili oblika boce s terminalnim, štapičastim strukturama na užem kraju [4]. Posjeduje nekoliko činitelja patogenosti: a) specifične proteine odgovorne za pokretljivost – kreće se kličujući po površini; b) adhezijske proteine odgovorne za prijanjanje na stanice domaćina; c) ima svojstvo antigene izmjene površinskih proteina i fakultativni je unutarstanični patogen što joj omogućava lakše izbjegavanje imunog odgovora domaćina te d) producira enzime: nukleazu koja joj pribavlja građevne elemente iz okoline i metionin sulfoksid reduktazu, antioksidans koji služi za zaštitu bakterijskih enzima [1, 5]. Teško je uzgojiva, pa iako je od njenog otkrića prošlo više od 30 godina, tek uvođenjem molekularnih dijagnostičkih metoda postaje priznata kao važan uzročnik spolno prenosivih bolesti (STD od engl. *sexually transmitted disease*) [6, 7]. Uzročnik je 15 % do 25 % slučajeva akutnih NGU u muškaraca [1, 8, 9] i ima značajnu ulogu u patogenezi cervicitisa i zdjelčne upalne bolesti (PID od engl. *pelvic inflammatory disease*) u žena [10–12]. Prevalencija infekcije uzrokovane *M. genitalium* u žena kreće se između prevalencija infekcija uzrokovanih bakterijama *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) i *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) [10, 13]. Podaci o ovoj infekciji za Hrvatsku su nedostadni budući je dijagnostika vrlo zahtjevna te još uvijek nije rutinska metoda u mikrobiološkim laboratorijima.

Cilj ovoga rada bio je odrediti učestalost *M. genitalium* infekcije u uzrocima koji su zaprimljeni i obrađeni u Službi za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo (NZJZ) "Dr. Andrija Štampar", te ju usporediti s učestalosti infekcije uzrokovane *C. trachomatis*,

M. genitalium is important, but in our midst under-recognized and under-diagnosed sexually transmitted pathogen. Based on the results of the study, testing for *M. genitalium* should become an integral part of routine protocol for diagnosis of sexually transmitted diseases in women with *C. trachomatis* infection.

kako bi mogli procijeniti opravdanost uvođenja dijagnostike ove bakterije u standardni postupnik mikrobiološke obrade bolesnika sa simptomima bolesti spolno mokraćnog sustava i/ili sumnjom na STD.

Materijali i metode

U razdoblju od 1. svibnja do 30. studenog 2014. g. u Odjelu za molekularnu mikrobiologiju Službe za kliničku mikrobiologiju NZJZ "Dr. Andrija Štampar" prikupljeno je i testirano na *C. trachomatis* 5057 obriska cerviksa i 475 obrisaka uretre muškaraca. Od uzoraka koji su bili testirani na *C. trachomatis*, izdvojeno je i testirano na *M. genitalium* 195 obriska cerviksa (99 obriska cerviksa koji su bili pozitivni na *C. trachomatis* i slučajnim odabirom izdvojenih 96 obriska cerviksa koji su bili negativni na *C. trachomatis*). Također je na *M. genitalium* testirano 52 obriska uretre (18 pozitivnih i 34 *C. trachomatis* negativnih) muškaraca sa simptomima akutnog uretritisa (gnojno sluzavi iscjedak, učestalo morenje, bol i/ili peckanje pri mokrenju). U svim obriscima uretre isključena je infekcija uzrokovana *N. gonorrhoeae*. Cervikalni obrisci prikupljeni su u ginekološkim ordinacijama zagrebačkog područja i transportirani u M4RT transportnom hranilištu (Remel, SAD), dok su obrisci uretre prikupljeni u prijamoj ambulanti NZJZ "Dr. Andrija Štampar", te odmah dostavljeni u laboratorij u M4RT hranilištu. Infekcija uzrokovana *N. gonorrhoeae* isključena je pretraživanjem izravnog mikroskopskog preparata obriska uretre.

C. trachomatis je određivana kvalitativnom metodom pomoću lančane reakcije polimerazom (PCR od engl. *polymerase chain reaction*) u stvarnom vremenu (engl. *real-time*) pomoću Cobas® Taqman® CT v2.0 testa, na Cobas® Taqman® Analyzer aparatu (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Ovaj test pomoću dva para početnica detektira odsječak kriptičkog plazmida veličine 206 nukleotida kao i dio kromosomalne DNA koja kodira *ompA* gen veličine 182 nukleotida.

M. genitalium određivana je također PCR metodom u stvarnom vremenu pomoću LightMix® Kit *Mycoplasma genitalium* testa (TIB MOLBIOL, GmbH, Berlin, Njemačka), na aparatu LightCycler 480 II (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Ovaj test detektira 224 nukleotida dugačak odsječak gena za gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazu (*gap* gen).

Rezultati

Tijekom sedam mjeseci, *C. trachomatis* je dokazana u 103 (2,04 %) od ukupno 5057 testiranih obriska cerviksa. *M. genitalium* detektirana je u 6 (3,08 %) od ukupno 195 testiranih obriska cerviksa. Svi obrisci cerviksa u kojih je bila detektirana *M. genitalium* bili su istodobno pozitivni i na *C. trachomatis*, tj. prevalencija *M. genitalium* u skupini žena u kojih je dokazana infekcija uzrokovana *C. trachomatis* iznosila je 6,06 % (6/99) nasuprot 0 % (0/96) u skupini žena čiji su obrisci cerviksa bili negativni na *C. trachomatis* (Tablica 1). Srednja dob žena inficiranih sa *C. trachomatis* iznosila je 27,1 ± 6,5 godina, dok je srednja dob žena u kojih je dokazana *M. genitalium* iznosila 25,3 ± 7,0 godina.

U istom razdoblju testirano je 475 obrisaka uretre muškaraca na *C. trachomatis* i 31 (6,53 %) ih je bilo pozitivno. Od 52 obrisaka uretre muškaraca s NGU testiranih na *M. genitalium* jedan je bio pozitivan. Uzorak uretre pozitivan na *M. genitalium* bio je negativan na *C. trachomatis* (Tablica 2). Srednja dob muškaraca inficiranih s *C. trachomatis* iznosila je 28,6 ± 5,7 godina, dok je muškarac s dokazanom infekcijom s *M. genitalium* bio u dobi od 24 godine.

Rasprava

S obzirom na način prijenosa, infekcija uzrokovana *M. genitalium* klasična je spolno prenosiva bolest [11]. Iako je *M. genitalium* izolirana iz raznih uzoraka (uzorci iz spolno-mokračnog, respiratornog i probavnog sustava) njeno primarno mjesto obitavanja je spolno-mokraćni sustav. Detekcija *M. genitalium* u žena povezana je s kliničkim

sindromima cervicitisa i upalnom zdjeličnom bolesti [10, 14, 15]. Jedna od prvih studija koja je pokazala da je *M. genitalium* povezana s cervicitisom je studija japanskih istraživača iz 1997. godine koja je detektirala ovu bakteriju u 9 % žena s cervicitisom za razliku od 0 % u kontrolnoj skupini [16]. Recentna studija pokazuje da je *M. genitalium* jedina mikoplazma/ureaplazma koja se može uzročno povezati s kliničkim sindromom cervicitisa [12]. Rezultat ovog istraživanja pokazao je prevalenciju *M. genitalium* od 3,07 % u testiranim obriscima cerviksa, što je vrlo slično rezultatima studije Nilsena i suradnika koji je također pretraživao uzorke koji su prvotno poslani na analizu na *C. trachomatis* u kojoj je *M. genitalium* detektirana u 2 % slučajeva [17]. Značajno je, međutim, da su svi pozitivni obrisci bili istodobno koinficirani s *C. trachomatis*. Koinfekcija s *C. trachomatis* nije neočekivana s obzirom na isti put prijenosa i neke iste rizične čimbenike za obje infekcije kao što su mlađa dob i spolni kontakt s više od jednog partnera unutar godine dana [18]. Nadalje, i jedna i druga infekcija danas se liječe istom terapijskom shemom – azitromicinom u dozi od 1 g, budući je *M. genitalium* u većini slučajeva rezistentna na tetraciklin, te je za pretpostaviti da se radi o uzorcima bolesnica koje do sada nisu primale terapiju [19]. Koinfekcija je dakle utvrđena u 6 % žena s klamidijskom infekcijom u zagrebačkoj regiji. Istraživanje Svenstrupa i suradnika koje je obuhvatilo više od 4500 žena u Londonu utvrdilo je da je 9 % žena imalo istovremeno obje infekcije [18]. Ova studija nije dokazala niti jednu samostalnu infekciju s *M. genitalium* u žena što ukazuje na vrlo nisku prevalenciju ove bakterije u uzrocima cerviksa koje zaprima NZJZ tj. koji potječu od žena s relativno niskim rizikom od obolijevanja od STD. Nedostatak ove studije je što ne može povezati detekciju *M. genitalium* s određenim kliničkim sindromom, budući da

Tablica 1. Učestalost *M. genitalium* u obriscima cerviksa testiranih na *C. trachomatis*

Table 1. Prevalence of *M. genitalium* in cervical swabs tested for *C. trachomatis*

		<i>M. genitalium</i>		Ukupno/Total N (%)
		Pozitivni/Positive N (%)	Negativni/Negative N (%)	
<i>C. trachomatis</i>	Pozitivni/Positive	6 (6,06)	93 (93,94)	99 (50,77)
	Negativni/Negative	0 (0)	96 (100)	96 (49,23)
Ukupno/Total		6 (3,08)	189 (96,92)	195 (100)

$$\chi^2 = 4,14; P < 0,05$$

Tablica 2. Učestalost *M. genitalium* u obriscima uretre muškaraca s negonokoknim uretritisom

Table 2. Prevalence of *M. genitalium* in urethral swabs of men with nongonococcal urethritis

		<i>M. genitalium</i>		Ukupno/Total N (%)
		Pozitivni/Positive N (%)	Negativni/Negative N (%)	
<i>C. trachomatis</i>	Pozitivni/Positive	0 (0)	18 (100)	18 (34,62)
	Negativni/Negative	1 (2,94)	33 (97,06)	34 (65,38)
Ukupno/Total		1 (1,92)	51 (98,08)	52 (100)

su uputne dijagnoze pri zaprimanju obrisaka vrata materice često nepouzdana ili neodređene.

Brojne studije dokazale su povezanost detekcije ove bakterije s NGU u muškaraca [5, 6, 9]. *M. genitalium* je detektirana u 15–25 % muškaraca sa simptomatskim NGU i u 1/3 muškaraca s neklamidijskim NGU, za razliku od 5–10 % u kontrolnim skupinama bez znakova bolesti [1]. U oko 90 % muškaraca u kojih je detektirana *M. genitalium* uretritis je dokazan mikroskopski, a oko 75 % muškaraca ima i simptome; najčešći i vodeći simptom je iscjedak [20]. U ovoj studiji *M. genitalium* je detektirana u 1,92 % muškaraca s NGU. Na relativno nisku učestalost *M. genitalium* u našoj populaciji već su prije upozorile dvije studije: jedna provedena u muškaraca s uretritismom i učestalošću od 2,9 % [21] i druga provedena u muškaraca s kliničkim sindromom neplodnosti u kojih je dokazana prevalencija od 1,4 % [22].

Jedan od glavnih razloga nedostatka podataka o ovoj infekciji u našoj sredini je zahtjevna i skupa dijagnostika. Iako se tehnika uzgoja ove bakterije unaprijedila od njene prvotne izolacije, još uvijek su za njezin uzgoj potrebni tjedni, pa čak i mjeseci što ovu metodu čini neprikladnom za rutinsku dijagnostiku u kliničkoj praksi [6]. Nadalje, *M. genitalium* dijeli zajedničke antigene s *Mycoplasma pneumoniae* što je razlog križno reaktivnih reakcija i nedostatka specifičnosti kod seroloških metoda, kao i kod nekih molekularnih testova [23]. Stoga su osnova njene identifikacije metode molekularne mikrobiologije koje se najčešće zasnivaju na amplifikacijskim metodama nukleinskih kiselina izvođenim bilo konvencionalnom metodologijom ili kao *real-time* PCR. Specifičnost i osjetljivost ovih testova ovisi o odabiru početnica. Većina do danas opisanih testova koristi početnice za detekciju gena koji kodira adhezivski protein MgPa, koji pokazuje veliku varijabilnost, te se neki od ovih testova nisu pokazali dovoljno osjetljivima tijekom testiranja kliničkih uzoraka [24]. Drugi najčešći cilj za detekciju ove bakterije je gen za 16S rRNA koji pak pokazuje visoku homologiju (98 %) između *M. genitalium* i *M. pneumoniae*, što može utjecati na specifičnost testa, a kompeticija s drugim uzročnicima STD osobito iz roda *Ureaplasma* može utjecati i na osjetljivost testa. Dizajnirani su i testovi koji detektiraju *gap* gen koji je relativno konzerviran i specifičan (72 % homolognosti s *M. pneumoniae*) [25]. To je i ciljna sekvenca testa korištena u ovome istraživanju. Noviji, *real-time* PCR testovi omogućuju i kvantifikaciju *M. genitalium* u uzorku [25] što otvara pitanje kliničkog značenja utvrđivanja količine detektirane DNA u uzorku. Mada brojni, od kojih su neki i komercijalno dostupni [26], niti jedan test do sada nije odobren od Američke agencije za kontrolu hrane i lijekova (FDA od engl. *Food and Drug Administration*), što dodatno otežava izbor testa za rutinsku dijagnostiku ove infekcije.

Može se zaključiti da je *M. genitalium* važan, ali u našoj sredini nedovoljno prepoznat i nedovoljno dijagnosti-

ciran uzročnik infekcija spolno-mokraćnog sustava. Testiranje na *M. genitalium* treba postati sastavni dio rutinskog postupnika za obradu infekcija spolno-mokraćnog sustava za određene uzorke i pri određenim indikacijama. Na ovu infekciju treba posumnjati osobito u slučaju neadekvatnog odgovora na antimikrobnu terapiju, te kod kroničnih i perzistirajućih infekcija.

Zaključak

Na temelju rezultata ove studije testiranje na *M. genitalium* u našoj sredini s vrlo malom prevalencijom *M. genitalium* infekcije opravdano je izvoditi u obriscima cerviksa žena kod kojih je dokazana *C. trachomatis* infekcija. Istraživanje je potrebno proširiti na veći broj muškaraca, iako se na temelju dostupnih podataka raznih studija može zaključiti da bi svakog muškaraca s uretritismom trebalo testirati i na infekciju uzrokovanu *M. genitalium*. Potrebna su daljnja istraživanja prevalencije ove bakterije u jasno definiranim skupinama bolesnika s cervicitisom, PID-om i uretritismom.

I na kraju, ali ne najmanje važno: relativno niska prevalencija u našoj populaciji može biti i odraz visoke potrošnje antibiotika prvenstveno azitromicina u našoj sredini [27]; tim više s pojavom rezistentnih sojeva koji su u nekim zemljama zapadne Europe već prošireni [28, 29], trebat će veću pažnju posvetiti dijagnostici infekcija uzrokovanih *M. genitalium*.

Literatura

- [1] Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: form chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev 2011; 24: 498–514.
- [2] Tully JG, Cole RM, Taylor-Robinson D, Rose DL. A newly discovered *Mycoplasma* in the human urogenital tract. Lancet 1981; 317: 1288–91.
- [3] Fraser CM, Gocayne JD, White O, i sur. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. Science 1995; 270: 397–404.
- [4] Tully JG, Taylor-Robinson D, Rose DL, Cole RM, Bove JM. *Mycoplasma genitalium*, a new species from human urogenital tract. Int J Syst Bacteriol 1983; 33: 387–96.
- [5] Sethi S, Singh G, Samanta P, Sharma M. *Mycoplasma genitalium*: an emerging sexually transmitted pathogen. Indian J Med Res 2012; 136: 942–55.
- [6] Jensen JS, Hansen HT, Lind K. Isolation of *Mycoplasma genitalium* strains from the male urethra. J Clin Microbiol 1996; 34: 286–91.
- [7] Jensen JS, Borre MB, Dohn B. Detection of *Mycoplasma genitalium* by PCR amplification of the 16S rRNA gene. J Clin Microbiol 2003; 41: 261–66.
- [8] Mena L, Wang X, Mroczkowski TF, Martin DM. *Mycoplasma genitalium* infections in asymptomatic men and men with urethritis attending a sexually transmitted diseases clinic in new Orleans. Clin Infect Dis 1993; 17: 83–89.

- [9] Totten PA, Schwartz MA, Sjöström KE, i sur. Association of *Mycoplasma genitalium* with nongonococcal urethritis in heterosexual men. *J Infect Dis* 2001; 183: 269–76.
- [10] McGowin CL, Anderson-Smits C. *Mycoplasma genitalium*: An emerging cause of sexually transmitted disease in women. *PLOS Pathog* 2011; 7: e1001324.
- [11] Angarius C, Lore B, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect* 2005; 81: 458–62.
- [12] Lusk MJ, Konecny P, Naing ZW, Garden FL, Cumming RG, Rawlinson WD. *Mycoplasma genitalium* is associated with cervicitis and HIV infection in an urban Australian STI clinic population. *Sex Transm Infect* 2011; 87: 107–9.
- [13] Dehon PM, McGowin CL. *Mycoplasma genitalium* infection is associated with microscopic signs of cervical inflammation in liquid cytology specimens. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 2398–405.
- [14] Haggerty CL, Totten PA, Astete SG, i sur. Failure of cefoxitin and doxycycline to eradicate endometrial *Mycoplasma genitalium* and the consequence for clinical cure of pelvic inflammatory disease. *Sex Transm Infect* 2008; 84 : 338–42.
- [15] Moi H, Reinton N, Moghaddam A. *Mycoplasma genitalium* in women with lower genital tract inflammation. *Sex Transm Infect* 2009; 85: 10–4.
- [16] Uno M, Deguchi T, Komeda H, i sur. *Mycoplasma genitalium* in the cervixes of Japanese women. *Sex Transm Dis* 1997; 24: 284–6.
- [17] Nilsen E, Vik E, Roed MA. Low prevalence of *Mycoplasma genitalium* in patients examined for Chlamydia trachomatis. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2011; 131: 2232–4.
- [18] Svenstrup HF, Dave SS, Carder C, i sur. A cross-sectional study of *Mycoplasma genitalium* infection and correlates in women undergoing population-based screening or clinic-based testing for Chlamydia infection in London. *BMJ Open* 2014; 4: e003947.
- [19] Ljubin-Sternak S, Meštrović T. *Chlamydia trachomatis* and genital mycoplasmas – pathogens with an impact on human reproductive health. *J Pathog* 2014; 2014: 183167.
- [20] Wetmore CM, Manhart LE, Lowens MS, i sur. Demographic, behavioral, and clinical characteristics of men with nongonococcal urethritis differ by etiology: a case-comparison study. *Sex Transm Dis* 2011; 38: 180–6.
- [21] Plečko V, Žele Starčević L, Tripković V, Rezo Vranješ V, Skerlev M. *Mycoplasma genitalium*: clinical significance and diagnosis. *Acta Dermatovenerol Croat* 2013; 21: 236–40.
- [22] Plečko V, Žele-Starčević L, Tripković V, i sur. Unusually low prevalence of *Mycoplasma genitalium* in urine samples from infertile men and healthy controls: a prevalence study. *BMJ Open* 2014; 4: e005372.
- [23] Lind K, Lindhart BQ, Schütten BH, Blom J, Christiansen C. Serological cross-reactions between *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1984; 20: 1036–43.
- [24] Shipitsyna E, Savicheva A, Sokolovskiy E, i sur. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections in East European countries. *Acta Derm Venereol* 2010; 90: 461–7.
- [25] Svenstrup HF, Jensen JS, Björnelius E, Lidbrink P, Birkelund S, Christiansen G. Development of a quantitative real-time PCR assay for detection of *Mycoplasma genitalium*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3121–8.
- [26] Le Roy C, Pereyre S, Bebear C. Evaluation of two commercial real-time PCR assays for detection of *Mycoplasma genitalium* in urogenital specimens. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 971–3.
- [27] Vojvodić Ž. Antimicrobial use and indication-based prescribing among general practitioners in Eastern Croatia: comparison with data from the European Surveillance of Antimicrobial Consumption project. *Croat Med J* 2010; 51: 524–533.
- [28] Tagg KA, Jeoffreys NJ, Couldwell DL, i sur. Fluoroquinolone and macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 2245–9.
- [29] Twin J, Jensen JS, Bradshaw CS, i sur. Transmission and selection of macrolide resistant *Mycoplasma genitalium* infections detected by rapid high resolution melt analysis. *PLOS One* 2012; 7(4): e35593.