

# Mycoplasma genitalium kao podcijenjen ili precijenjen uzročnik spolno prenosivih infekcija

---

Košar, Tian

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:650965>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Tian Košar**

***Mycoplasma genitalium* kao podcijenjen ili precijenjen  
uzročnik spolno prenosivih infekcija**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2023.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Službi za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ pod vodstvom prof. dr. sc. Sunčanice Ljubin Sternak, prim. dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## **POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA**

**CSW** – seksualni radnici (eng. commercial sex workers)

**DNA** – deoksiribonukleinska kiselina (eng. deoxyribonucleic acid)

**EUCAST** – Europsko povjerenstvo za testiranje antimikrobne rezistencije (eng. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

**FVU** – prvi mlaz urina (eng. first-void urine)

**GAPDH** – gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza (eng. glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

**GM-CSF** – čimbenik stimulacije granulocita-makrofaga (eng. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)

**HIV** – virus humane imunodeficijencije (eng. human immunodeficiency virus)

**HSV 1/2** – virus herpesa simpleksa 1/2 (eng. herpes simplex virus 1/2)

**MBC** – minimalna baktericidna koncentracija (eng. minimum bactericidal concentration)

**MCP-1** – čimbenik koji privlači monocite (eng. monocyte chemoattractant protein-1)

**MIC** – minimalna inhibitorna koncentracija (eng. minimum inhibitory concentration)

**MSM** – muškarci koji imaju spolne odnose s muškarcima (eng. men who have sex with men)

**NAATs** – testovi umnažanja nukleinskih kiselina (eng. nucleic acid amplification tests)

**NETs** – neutrofilne izvanstanične zamke (eng. neutrophil extracellular traps)

**NGU** – negonokokni uretritis

**NZZJZ** – Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“

**PCR** – lančana reakcija polimerazom (eng. polymerase chain reaction)

**PDH** – piruvat dehidrogenaza (eng. pyruvate dehydrogenase)

**PID** – upalna zdjelična bolest (eng. pelvic inflammatory disease)

**QRDR** – determinirajuća regija za rezistenciju na kinolone (eng. quinolone resistance-determining region)

**RGST** – sekvencijska terapija prema nalazu osjetljivosti (eng. resistance-guided sequential therapy)

**RNA** – ribonukleinska kiselina (eng. ribonucleic acid)

**rRNA** – ribosomska ribonukleinska kiselina (eng. ribosomal ribonucleic acid)

**SAD** – Sjedinjene Američke Države

**SARA** – reaktivni artritis vezan uz spolno prenosive infekcije (eng. sexually acquired reactive arthritis).

**SNP** – polimorfizam jednog nukleotida (eng. single nucleotide polymorphism)

**SZO** – Svjetska zdravstvena organizacija

**TLR** – receptori nalik na Toll (eng. Toll-like receptors)

**TOC** – kontrolni test nakon provedene terapije (eng. test of cure)

# SADRŽAJ

## Sažetak

## Summary

<b>1. Uvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2. <i>Mycoplasma genitalium</i> .....</b>	<b>3</b>
2.1. Osnovne osobine bakterije .....	3
2.2. Epidemiologija .....	4
2.3. Patogeneza .....	5
<b>3. <i>Mycoplasma genitalium</i> kao uzročnik spolno prenosivih infekcija.....</b>	<b>10</b>
3.1. Putevi prijenosa.....	10
3.2. Infekcije u muškaraca .....	10
3.2.1. Nagonokokni uretritis .....	10
3.2.2. Ostale infekcije genitourinarnoga sustava .....	11
3.3. Infekcije u žena .....	11
3.3.1. Infekcije u donjem genitalnom sustavu .....	11
3.3.2. Infekcije u gornjem genitalnom sustavu .....	12
3.4. Ekstragenitalne infekcije.....	13
3.5. Komplikacije infekcije <i>M. genitalium</i> .....	14
3.5.1. Reaktivni artritis.....	14
3.5.2. Neplodnost .....	15
3.5.3. Ishodi trudnoće.....	16
3.6. Dijagnostika infekcija .....	17
3.7. Trenutni terapijski protokol .....	19
<b>4. <i>Mycoplasma genitalium</i> i antimikrobna rezistencija.....</b>	<b>23</b>
4.1. Razvoj rezistencije .....	23
4.1.1. Primarna rezistencija.....	23
4.1.2. Sekundarna rezistencija .....	24
4.1.3. Mehanizmi rezistencije .....	25
4.2. Testiranje osjetljivosti na antibiotike .....	26
4.2.1. Fenotipske metode detekcije rezistencije.....	26
4.2.2. Molekularne metode detekcije rezistencije.....	27
4.3. Mehanizmi rezistencije <i>M. genitalium</i> .....	28

4.3.1. Intrinzična rezistencija na antibiotike .....	28
4.3.2. Rezistencija na makrolide .....	28
4.3.3. Rezistencija na kinolone .....	31
4.3.4. Istodobna rezistencija na makrolide i kinolone .....	32
4.4. Nove terapijske opcije.....	33
4.4.1. Prenamjena lijekova.....	33
4.4.2. Sekvencijska terapija prema nalazu osjetljivosti .....	34
4.4.3. Sekvencijska terapija s obzirom na rizične čimbenike .....	36
<b>5. Zaključak.....</b>	<b>38</b>
<b>6. Zahvale.....</b>	<b>39</b>
<b>7. Literatura.....</b>	<b>40</b>
<b>8. Životopis.....</b>	<b>52</b>

## Sažetak

*Mycoplasma genitalium* kao podcijenjen ili precijenjen uzročnik spolno prenosivih infekcija

Tian Košar

Rod *Mycoplasma* čini veliki broj vrsta koje kao komenzali ili patogeni žive na sluznicama ljudi i životinja. Ova se skupina bakterija razlikuje od ostalih prokariota po odsutnosti stanične stijenke zbog čega su svi pripadnici intrinzično rezistentni na antibiotike koji blokiraju sintezu peptidoglikana. Klinički najvažniji predstavnici jesu *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma genitalium* te *Mycoplasma hominis*.

*M. genitalium* emergentni je patogen i danas poznati uzročnik spolno prenosivih infekcija. Zbog reduciranoga genoma i značajnih restrikcija u metabolizmu, ova se bakterija izrazito teško kultivira te izravno ovisi o domaćinu kako bi preživjela. Ona posjeduje nekoliko čimbenika virulencije koji joj omogućuju prilagodbu na parazitski način života, od kojih je najvažnija terminalna struktura s adhezinima.

Kao uzročnik spolno prenosivih infekcija, *M. genitalium* prenosi se izravnim kontaktom među zaraženim sluznicama. Povećanu učestalost zaraze nalazimo u određenim rizičnim skupinama, dok je prevalencija u općoj populaciji niska. Najčešći sindromi koje ova mikoplazma uzrokuje jesu negonokokni uretritis, cervicitis te upalna zdjelična bolest, a perzistentna infekcija može dovesti i do neplodnosti u oba spola. Sve do razvoja molekularnih metoda, dijagnostika ove bakterije bila je gotovo nemoguća.

Sindromsko liječenje navedenih infekcija jednokratnom dozom azitromicina potaknulo je selekciju sojeva rezistentnih na makrolid s njihovim ubrzanim širenjem, posebice među visoko rizičnim populacijama. Stoga dolazi do povećane upotrebe moksifloksacina. Međutim, ubrzo je prepoznat i gen za rezistenciju na fluorokinolone, a sve se češće bilježi i kombinirana rezistencija na oba antibiotika. Zbog toga se javlja potreba za revizijom postojećih terapijskih opcija, kao i redovit nadzor nad rezistentnim sojevima u populaciji. U konačnici, ova bakterija trebala bi se uvrstiti u dijagnostički protokol za obradu najčešćih infekcija, uz uvođenje obaveznog kontrolnog testa za procjenu uspješnosti po završetku liječenja, kako bi suzbili daljnje širenje rezistencije.

**Ključne riječi:** antimikrobna rezistencija, *Mycoplasma genitalium*, spolno prenosive infekcije



## Summary

*Mycoplasma genitalium* as underestimated or overestimated cause of sexually transmitted infections

Tian Košar

The genus *Mycoplasma* comprises various species that live as commensals or pathogens on the mucous membranes of humans and animals. Unlike other prokaryotes, these bacteria lack the cell wall, making them intrinsically resistant to antibiotics that inhibit peptidoglycan synthesis. Clinically significant representatives include *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma genitalium*, and *Mycoplasma hominis*.

*M. genitalium* is an emerging pathogen and a known cause of sexually transmitted infections. Due to its reduced genome and significant metabolic restrictions, it directly depends on the host for its survival, but cultivating this bacterium is extremely challenging. Several virulence factors enable it to adapt to a parasitic way of life, with the terminal organelle being the most important among them.

As a sexually transmitted infection, *M. genitalium* spreads through direct contact between the infected mucous membranes. Increased infection rates are found in certain high-risk groups, while the prevalence in the general population is low. The most common syndromes caused by this mycoplasma are non-gonococcal urethritis, cervicitis, and pelvic inflammatory disease, whereas persistent infection can lead to infertility in both sexes. Molecular diagnostic methods revolutionized the detection of this bacterium, which was previously exceedingly challenging.

A single dose of azithromycin used as a syndromic treatment has led to the selection and rapid spread of macrolide-resistant strains, particularly among the high-risk populations, consequently increasing the use of moxifloxacin. However, the emergence of fluoroquinolone resistance genes has been recognised, and combined resistance to both antibiotics is being reported as well. Therefore, existing therapeutic options should be reevaluated and regular surveillance of resistant strains in the population should be implemented. Ultimately, this bacterium should be included in the diagnostic protocol for the management of common infections, along with the introduction of mandatory test of cure to assess treatment success to curb further spread of resistance.

**Key words:** antimicrobial resistance, *Mycoplasma genitalium*, sexually transmitted infections

## 1. Uvod

Rod *Mycoplasma*, iz porodice *Mycoplasmataceae*, obuhvaća brojne vrste bakterija koje su prepoznate kao komenzali ili patogeni u ljudi i životinja. U čovjeka, ove bakterije obično obitavaju na sluznicama usne šupljine i genitourinarnoga sustava. Uz srodne ureaplazme, za kliničku je medicinu danas važno pet vrsta za koje se zna da mogu uzrokovati infekcije: *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma parvum* te *Ureaplasma urealyticum* (1).

Za razliku od ostalih bakterija, pripadnici ove porodice ne sadrže staničnu stijenku. Uz to, citoplazmatska im membrana sadrži visok udio sterola. Zahvaljujući dvjema navedenim osobinama, ove su bakterije posebnost prokariotskoga svijeta. Nadalje, odsutnost stanične stijenke donijelo im je određene karakteristike koje im omogućavaju preživljavanje i prilagodbu na parazitski način života. To je u prvom redu intrinzična otpornost na antibiotike koji inhibiraju sintezu peptidoglikana, kao što su  $\beta$ -laktami i glikopeptidni antibiotici. Važnost otpornosti na navedene skupine antimikrobnih lijekova je u tome što su to skupine antibiotika koje sadrže najviše lijekova, kao i činjenica da su ti lijekovi među najčešće korištenim antibioticima (1).

Budući da nemaju stanične stijenke, mikoplazme se ne mogu klasificirati bojanjem po Gramu. Isto tako, zbog odsutnosti stijenke, stanice pokazuju značajan pleomorfizam što onemogućava morfološku podjelu bakterija. Međutim, sekvenciranje i analiza 16S rRNA pokazala je kako se ovaj rod bakterija razvio iz zajedničkog gram pozitivnoga pretka. Prema tome je postavljena teorija redukcijske evolucije što znači da se razvojem novih vrsta bakterijski kromosom smanjivao i tako postepeno gubio gene, kao one za sintezu stanične stijenke, što je razlog zašto danas neke mikoplazme imaju toliko reducirani genom (2).

Mikoplazme su najmanje poznate bakterije sposobne za izvanstanični život, s veličinom stanice sličnom najvećim virusima. Zbog te veličine, ali i mogućnosti promjene oblika, ove bakterije s lakoćom prolaze kroz pore raznih bakterioloških filtera. Upravo je to glavni razlog zbog čega su one i među najčešćim uzročnicima kontaminacije staničnih kultura u laboratorijima (1–3). Problem kontaminacije staničnih kultura mikoplazmama dodatno je otežan činjenicom da se ove bakterije teško dokazuju. Iako danas postoje razne molekularne metode za dokazivanje nukleinskih kiselina, zlatnim se standardom i dalje smatra kultivacija na agaru. Za neke vrste to ne

predstavlja značajan izazov, međutim postoje i one koje za rast u kulturi zahtijevaju posebne uvjete, pa čak i tada otežano i usporeno rastu. Drugi problem kod kontaminacije mikoplazmama je mogućnost njihove eradikacije. Jedan je pristup takvom događaju uništavanje zaraženih kultura, a drugi je primjena antimikrobnih sredstava (3). Već je rečeno kako su ove bakterije intrinzično otporne na određene skupine antibiotika, međutim neke vrste imaju i sposobnost brzog razvoja rezistencije na navedena sredstva, što značajno otežava dekontaminaciju staničnih kultura i eradikaciju bakterija. No ta sposobnost nije rezervirana samo za sojeve koji dovode do laboratorijske kontaminacije, već ovakav ubrzani razvoj i širenje rezistencije imaju ozbiljne posljedice i u kliničkom radu te važne implikacije na terapijske opcije za tretiranje mikoplazmatskih infekcija (1).

## 2. *Mycoplasma genitalium*

### 2.1. Osnovne osobine bakterije

*Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) fakultativni je anaerob te poznati uzročnik spolno prenosivih infekcija u ljudi. Ova je bakterija prvi put izolirana 1981. godine iz uretralnih obrisaka dvojice muškaraca s negonokoknim uretritisom (NGU, eng. nongonococcal urethritis) i već je tada potvrđeno, temeljem zajedničkih osobina, da se radi o mikoplazmama. Međutim, daljnjom analizom uzoraka otkriveno je kako ove bakterije ne reagiraju s protutijelima razvijenima za otkrivanje već poznatih pripadnika ovoga roda (4). Stoga je utvrđeno da se radi o novootkrivenoj vrsti koja naseljava genitourinarni trakt, a koja će s vremenom biti prepoznata kao jedan od najznačajnijih uzročnika spolno prenosivih bolesti.

Kao ni ostali pripadnici porodice *Mycoplasmataceae*, ni *M. genitalium* ne posjeduje staničnu stijenku. To za posljedicu ima raznolikost oblika među različitim vrstama. Ono što obilježava *M. genitalium* jest postojanje terminalne strukture, posebnog kompleksa proteina na jednom kraju stanice. Zahvaljujući tome, bakterije ove vrste poprimaju neuobičajen izgled poput boce. Iako nije specifična za jednu vrstu, terminalna struktura predstavlja jedan od najvažnijih čimbenika patogenosti za ovu bakteriju budući da joj omogućava pokretljivost, ali i prijanjanje na epitelne stanice genitourinarnoga trakta (5).

Genom *M. genitalium* sadrži svega 580 kb te se tako smatra najmanjim genomom u bakterija koje se mogu samostalno razmnožavati (6). U njemu postoji oko 470 gena koji su ključni za njezino preživljavanje. Međutim, redukcija u veličini genetskog materijala dovela je do značajnih restrikcija metabolizma. Upravo je to jedan od razloga zbog kojih se ova bakterija teško uzgaja na hranjivim podlogama, a kako joj nedostaju gotovo svi važni enzimi za sintezu aminokiselina, *de novo* sintezu nukleinskih kiselina te biosintezu masnih kiselina, *M. genitalium* ovisi o svojem domaćinu kako bi preživjela (5).

## 2.2. Epidemiologija

Zahvaljujući otežanoj kultivaciji na hranjivim medijima, detekcija *M. genitalium* u uzorcima nije bila jednostavna. Stoga, epidemiološka istraživanja tek su postala moguća, i značajno su olakšana, uvođenjem testova zasnovanih na metodama umnažanja nukleinskih kiselina (NAATs, eng. nucleic acid amplification tests) (7). Isto tako, korištenje molekularnih metoda detekcije bakterija u uzorku omogućilo je i jednostavnije uzorkovanje pa je zato analiza obrisaka uretre muškaraca zamijenjena analizom sedimenta prvog mlaza urina (8). Usprkos tome, istraživanja učestalosti ove bakterije u općoj populaciji su rijetkost, a većinu ispitanika čine simptomatski slučajevi koji se testiraju na spolno prenosive bolesti ili osobe pod povećanim rizikom. Kako je poznavanje učestalosti uzročnika u populaciji važno radi prepoznavanja potrebe i opravdanosti rutinskih skrining pregleda, posebice među rizičnim skupinama, Baumann i sur. (9) proveli su sustavni pregled literature i meta-analizu prevalencije *M. genitalium* za različite populacijske skupine. Prema tim podacima, prevalencija u općoj populaciji visoko razvijenih zemalja iznosi 1,3%, dok je za niže razvijene 3,9%, a podjednaka je u oba spola. Istraživanja na kliničkim uzorcima pokazuju veću prevalenciju od opće populacije, iako rezultati nisu toliko konzistentni (9,10). Prema rezultatima, učestalost *M. genitalium* kod muškaraca s NGU varira od 15% do 25% (7,11).

Rizični čimbenici za razvoj infekcije slični su kao i za ostale spolno prenosive bolesti. Na prvome mjestu to su učestalo mijenjanje partnera, mlađa životna dob, rano stupanje u spolne odnose te seropozitivitet na virus humane imunodeficijencije (HIV, eng. human immunodeficiency virus), a kao rizične skupine posebno se izdvajaju muškarci koji imaju spolne odnose s muškarcima (MSM, eng. men who have sex with men) i seksualni radnici (CSW, eng. commercial sex workers). Od navedenih, najjaču povezanost pokazuje učestalo mijenjanje partnera, posebice ukoliko ih je osoba imala više od 3 u zadnjih 6 mjeseci (12). Sljedeća je životna dob mlađa od 30 godina u kojima je prevalencija *M. genitalium* najveća (9,11). HIV status je jednako tako povezan s povećanim rizikom infekcije (13,14) te prevalencija raste i do 10,8% u HIV pozitivnih među MSM populacijom (13), s dvostruko većim rizikom za razvoj infekcije (14,15). Među HIV negativnom MSM populacijom, prevalencija u visoko razvijenim zemljama iznosi 3,7% (12), a čak 16% među ženama koje rade kao CSW (12,15). Kao važni zaštitni čimbenici, za muškarce se navodi stupanje u spolne odnose nakon 18. godine, a za žene stabilna veza s jednim partnerom duža od godinu dana (12). Međutim, upotreba kondoma, kao najčešći

oblik protekcije od spolno prenosivih bolesti, nije pokazala značajnu učinkovitost u zaštiti od *M. genitalium* infekcije (12).

Epidemiološke studije incidencije i prevalencije infekcije uzrokovane bakterijom *M. genitalium* za hrvatsku su populaciju rijetke. Podatci o učestalosti za opću populaciju ne postoje, a istraživanja koja postoje, provedena su većinom na simptomatskim slučajevima. Tako je prevalencija 2,3-6,5% u muškaraca sa simptomima NGU-a (8,16) te 1,4% u neplodnih muškaraca (17). Kod žena je istraživanje provedeno na cervikalnim brisevima dobivenih od asimptomatskih slučajeva za vrijeme prenatalne obrade kod primarnih ginekologa, a *M. genitalium* detektirana je u 2,2% slučajeva, no u svim je slučajevima otkrivena i bakterija *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) (18).

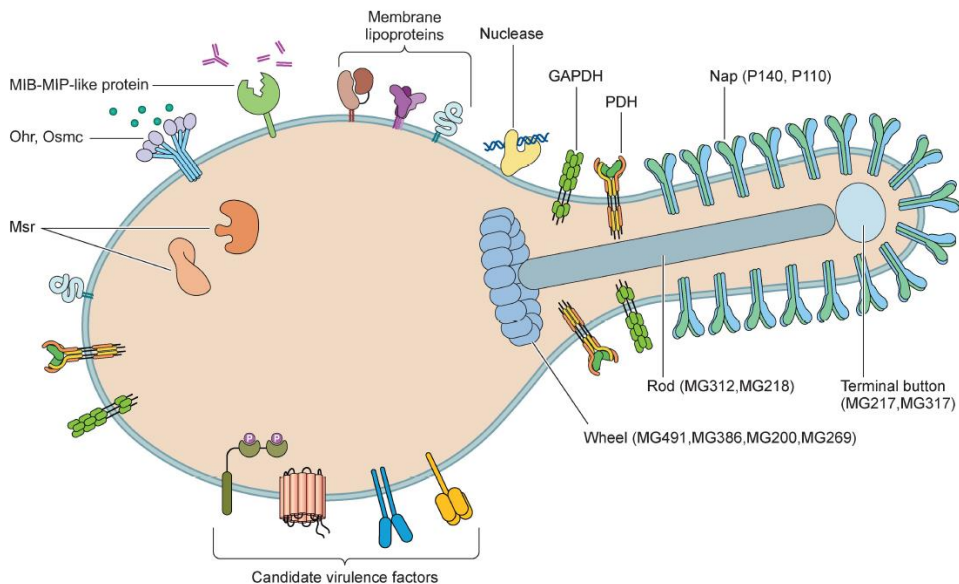
Na temelju ovako niske prevalencije u općoj populaciji, uvođenje rutinskih skrining testiranja u skupinama s niskim rizikom infekcije za sada nije opravdana. Međutim, probir bi trebalo provoditi u visoko rizičnih skupina, kao što su simptomatske osobe ili osobe s već prepoznatom infekcijom drugim uzročnikom, a zbog mogućih koinfekcija, s ciljem adekvatnog liječenja, sprečavanja komplikacija i smanjenja razvoja antimikrobne rezistencije (7,9,18–21).

### 2.3. Patogeneza

Iako je prvi puta izolirana iz obrisaka uretre dvojice muškarca u 1981., prošlo je skoro 10 godina dok se nisu razvile pouzdane metode detekcije *M. genitalium* kako bi se mogla potvrditi uzročnikom spolno prenosivih bolesti (7). Danas se zna da je njezina veza s razvojem infekcije genitourinarnoga sustava neupitna, međutim način na koji infekciju uzrokuje i dalje nije u potpunosti razjašnjen. Posebno je zanimljiva činjenica kako uspijeva uspostaviti zarazu usprkos malom genomu i ograničenom metabolizmu. Unatoč tomu, razvila je nekoliko čimbenika virulencije koji joj omogućuju preživljenje, izbjegavanje imunološkog sustava domaćina, pa čak i uspostavu perzistentne infekcije (15,19). Najznačajniji čimbenici su sposobnost adhezije, antigenska varijacija, sinteza enzima te fakultativna unutarstanična lokalizacija (22,23).

Adhezija za stanice genitourinarnoga sustava temeljna je sposobnost mikoplazme te primarni faktor za uspostavu zaraze. Ovaj je proces posredovan proteinima, od kojih se većina nalazi na terminalnoj strukturi, što pokazuje koliko važnu ulogu taj dio stanice igra u patogenezu.

Upravo je i na njoj najveća koncentracija dva najvažnija adhezina, P140 (MgPa) i P110 (MgPc) (slika 1). Uloga je proteina P140 vezanje za stanične receptore, dok P110 tu vezu dodatno stabilizira (23). Međutim, receptori koji vežu adhezine još uvijek nam nisu poznati, iako istraživanja pokazuju nekoliko mogućih kandidata, kao što su ciklofilin A (24,25) i histon H2B (26). Uz navedene, posebno treba istaknuti i proteine gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazu (GAPDH, eng. glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) i piruvat dehidrogenazu (PDH, eng. pyruvate dehydrogenase) koje izražava na svojoj staničnoj membrani. Iako su ti proteini iznimno važni u metabolizmu stanice, u istraživanjima na mikoplazmi je prepoznato kako oni imaju mogućnost vezanja za mucin (27) što bakteriji može predstavljati alternativni način adhezije koja nije posredovana terminalnom strukturom. Ovakva sposobnost promjene funkcije proteina ovisno o njihovoj lokalizaciji u stanici pokazuje kako *M. genitalium* maksimalno iskorištava svoj ograničeni genom u svrhu povećanja patogenosti i preživljenja (23).



Slika 1. Proteini stanične membrane *M. genitalium*. Prema: Yueyue (2022)

Osim adhezije, P140/P110 kompleks mikoplazmi omogućava dodatna svojstva kojima izbjegava imunološki sustav, a to su pokretljivost te ulazak u stanice domaćina (5,7,23). Pokretljivost je u mikoplazmama kompleksan proces čiji mehanizam i dalje nije u potpunosti objašnjen. Stanica mikoplazma ne sadržava bičeve ni srodne organele koje omogućuju pokretanje pa se smatra da veliku ulogu u tom procesu ima terminalna struktura s adhezinama i posebno organiziranim podležećim citoskeletom (23,28,29). P140/P110 kompleks važan je jer posreduje hvatanje, vezanje i otpuštanje bakterijske stanice kretanjama nalik stonozima (5,23,28), a što joj omogućava klizanje i penetraciju kroz mukozni sloj do epitelne stanice. Osim toga, taj kompleks omogućava internalizaciju bakterije u stanice domaćina (7,30). Iako se prije vjerovalo da je *M. genitalium* lokalizirana isključivo ekstracelularno na sluznicama te da su njena citotoksična svojstva posredovana aktivacijom imunološkog sustava, danas se zna da je ulazak u epitelne stanice jedan od važnih čimbenika virulencije. Po ulasku u stanicu, mikoplazma se tipično lokalizira perinuklearno, ali postoje i dokazi kako može prodrijeti u samu jezgru gdje uzrokuje degradaciju stanične DNA i tako potiče morfološke promjene nalik apoptozi (23,30). Naime, *M. genitalium* na svojoj membrani izražava protein MG186 koji ima funkciju nukleaze ovisne o kalcijevim ionima (31). Iako je jedan od rijetkih enzima koje bakterija sintetizira, navedena joj je nukleaza od iznimne važnosti za preživljenje budući da procesom razgradnje nukleinskih kiselina dobiva vrijedne supstrate potrebne za sintezu vlastitog genoma. Također, cijepanjem nukleinskih kiselina omogućena joj je razgradnja neutrofilnih izvanstaničnih zamki (NETs, eng. neutrophil extracellular traps), posebne struktura nalik mrežama koju čini stanična DNA, a u koju su uloženi različiti peptidi i proteini koji pokazuju antimikrobnu aktivnost (32). NETs-ove luče neutrofili u svrhu obrane od izvanstaničnih patogena, a mogućnost razgradnje DNA komponente ovih struktura omogućava mikoplazmi da izbjegne imunološki odgovor čime povećava vlastitu patogenost (23,31,32). Uz sve navedeno, intracelularna lokalizacija također je poznati mehanizam izbjegavanja domaćinova imunološkog sustava, kao i zaštita od djelovanja antibiotika, a dodatno omogućava uspostavljanje perzistentne infekcije koja je kod mikoplazmi opisana (7,23,33).

Vezanje bakterija na epitelne stanice genitourinarnoga trakta potiče lučenje raznih proupalnih citokina koji započinju snažni imunološki odgovor (33). Budući da do sada nisu otkriveni specifični toksini ili čimbenici virulencije koje mikoplazme luče (5), primarnim pokretačima tog odgovora smatraju se lipoproteini koje bakterije izražavaju na svojim membranama. Ti lipoproteini imaju mogućnost aktivacije NF- $\kappa$ B signalnoga puta vežući se za



receptore nalik na Toll 2 i 6 (TLR, eng. Toll-like receptors), a konačni odgovor je lučenje interleukina 6, 7 i 8, čimbenika stimulacije granulocita-makrofaga (GM-CSF, eng. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) te čimbenika koji privlači monocite (MCP-1, eng. monocyte chemoattractant protein-1) (33,34). Kao posljedica toga, dolazi do mobilizacije stanica imunološkog sustava, u prvom redu polimorfonuklearnih leukocita i makrofaga, u svrhu obrane domaćina, a ujedno, i ta snažna proupalna reakcija navedenih imunoloških stanica dovodi do destrukcije zdravoga tkiva (7,33). U daljnjem tijeku infekcije razvijaju se protutijela klase IgA i IgG na glavne adhezine stanične membrane koja sprečavaju adheziju, onemogućuju pokretanje bakterije te pojačavaju opsonizaciju (5,35). Međutim, *M. genitalium* razvila je sposobnost smanjenja učinka protutijela procesom antigenske varijacije koja pogađa upravo adhezine P140 i P110 kao najimunogeničnije dijelove stanice (23,36). Homolognom rekombinacijom specifičnih DNA sekvenci dolazi do promjene slijeda nukleotida, a time i do promjene antigenske strukture adhezina. Posljedica toga je smanjenje specifičnosti i avidnosti već stvorenih protutijela uz gubitak njihove obrambene funkcije. Nadalje, osim promjena antigenske strukture, u mikoplazmi spontano dolazi i do fazne varijacije u kojoj se smanjuje izražaj navedenih adhezina (37). Iako takvo svojstvo umanjuje djelovanje humoralne imunosti, gubitkom adhezina smanjuje se i mogućnost prianjanja za epitelne stanice, kretanja i internalizacije u stanice domaćina (23,30). Ovakav gubitak adhezina može biti i povoljno svojstvo jer bakteriji omogućava brzo oslobađanje od epitelnih stanica i lakše širenje, bilo na udaljenije mjesto istoga domaćina ili na drugog domaćina, a ukoliko je lokalizirana intracelularno, služi kao mehanizam očuvanja energije i supstrata budući da se ne troše na sintezu ovih proteina (37). U konačnici, obranu od humoralne imunosti, osim već spomenute unutarstanične lokalizacije, mikoplazmi omogućava i kompleks proteina M (MG281) i Duf3. Protein M je pokazao posebnu sposobnost vezanja i  $\lambda$  i  $\kappa$  lanaca imunoglobulina, dok funkcija Duf3 i dalje nije do kraja objašnjena (38). Međutim, primarna mu je struktura nalik MIP proteinu iz MIB-MIP kompleksa srodnih ureaplazma, a koji ima funkciju proteaze koja cijepa imunoglobuline klase G (39). Zbog navedenoga se vjeruje kako su i proteini M i Duf3 važni u izbjegavanju imunološkog odgovora jer stvaraju kompleks koji može uništavati domaćinova protutijela (23).

Osim navedenih, u mikoplazmi je prepoznat još jedan zanimljivi čimbenik koji može doprinijeti izbjegavanju imunološkog odgovora – biofilm. Biofilm je složena zajednica bakterija vezana za neku površinu supstrata i ukomponirana u posebno strukturiran izvanstanični matriks

koje same luče. Ovakav oblik organizacije omogućava im opstanak budući da su zaštićene od negativnih utjecaja okoliša, posebice antibiotika, a omogućava im i periodičko otpuštanje planktonskih formi čime se potiče daljnje širenje kroz organizam domaćina. U *M. genitalium* pronađen je poli-N-acetilglukozamin kao ekstracelularna polimerna tvar koja podržava formiranje biofilma, uočena je promjena fenotipa bakterija tipična za navedenu strukturu te je opisana pojačana otpornost na antibiotike kod formiranog biofilma (40). Iako je navedeno za sada dokazano *in vitro*, važno je razmišljati o mogućnosti razvoja biofilma kao jednom od mehanizama uspostave perzistentnih infekcija, ali i mehanizma razvoja antimikrobne rezistencije.

### **3. *Mycoplasma genitalium* kao uzročnik spolno prenosivih infekcija**

#### 3.1. Putevi prijenosa

Analiza uzoraka prvog mlaza urina (FVU, eng. first-void urine) te cervikalnih i uretralnih obrisaka lančanom reakcijom polimerazom (PCR, eng. polymerase chain reaction) pokazala je podudarnost u DNA sekvenci između parova zaraženih *M. genitalium*. Time je potvrđeno da se bakterija prenosi spolnim putem – izravnim kontaktom između sluznica genitourinarnoga trakta (19,20,41). Nadalje, mikoplazma je izolirana i iz obrisaka rektuma što ukazuje na činjenicu da se prenosi i analnim spolnim odnosom (10,42,43), dok se prijenos oralnim spolnim odnosom smatra malo vjerojatnim (20,43). Uz izravni kontakt, zanimljiv način prijenosa je i putem ejakulata gdje se bakterija veže za spermije. U tom slučaju, oni služe kao vektori koji mikoplazmu prenose u gornje dijelove ženskog spolnog sustava, a bakterija tamo zatim uspostavlja infekciju (44). U konačnici, vertikalni prijenos s majke na dijete do sada nije bio istražen, ali prijavljeni su slučajevi zaraze novorođenčeta ovom mikoplazmom (45,46).

#### 3.2. Infekcije u muškaraca

##### 3.2.1. Nagonokokni uretritis

Mikoplazmatska infekcija u muškaraca najčešće se prezentira slikom akutnog uretritisa. U 70% slučajeva, infekcija je simptomatska (47), a vodeći su simptomi uretralni iscjedak i disurija ili kombinacija navedenih simptoma, bez učestalog nagona za mokrenjem. Međutim, sindrom uretritisa u muškaraca može uzrokovati velik broj mikroorganizama, kako bakterijskih, tako i virusnih ili parazitskih, a razlikovanje uzročnika po kliničkoj slici nije moguće zbog nespecifičnosti simptoma. Iako neka istraživanja pokazuju da je povezanost između većeg broja partnera i pojave klamidijskog NGU-a veća nego u mikoplazmatskog uretritisa te da je period između zadnjeg spolnog odnosa i pojave simptoma gotovo pet puta kraći kod klamidijske infekcije, ovi čimbenici nemaju dovoljno dokaza da bi se mogli koristiti u kliničkoj praksi pri postavljanju sumnje na infekciju *M. genitalium* (48,49). Stoga se za liječenje uretritisa i dalje primjenjuje sindromski pristup.

Osim akutnog uretritisa, *M. genitalium* prepoznata je i kao uzročnik perzistentnih i rekurentnih infekcija (7,19). U istraživanju Wikströma i Jensena (50), čak 40% muškaraca pokazalo je perzistentni uretritis nakon liječenja doksiciklinom. Točan mehanizam uspostave takvih infekcija u mikoplazme nije jasan, ali zbog navedenoga, smjernice preporučaju ponovno testiranje pacijenata u svrhu procjene uspješnosti antimikrobnog liječenja (20).

Kao i kod većine ostalih spolno prenosivih infekcija, i kod zaraze mikoplazmom smjernice nalažu testiranje te eventualno liječenje trenutnih partnera kako bismo onemogućili reinfekciju među partnerima, spriječili komplikacije i smanjili mogućnost daljnjeg širenja zaraze (20,49).

### 3.2.2. Ostale infekcije genitourinarnoga sustava

Iako je uloga *M. genitalium* u razvoju uretritisa definitivno potvrđena, mogućnost uspostave infekcija ostalih sijela nije jasna. Međutim, razvoj perzistentne infekcije povećava vjerojatnost ascendentnog širenja bakterije i uspostave zaraze i u drugim dijelovima genitourinarnoga sustava. Tako je mikoplazma pronađena u ejakulatu, bioptatu te eksprimatu prostate muškaraca sa simptomima kroničnog prostatitisa (51–53), a učestalost je dodatno bila povećana u pacijenata koji su prethodno liječeni empirijskom antimikrobnom terapijom za uretritis (52). Uz prostatitis, *M. genitalium* bila je dokazana i u balanopostitisu, čak i bez simptoma akutnog uretritisa, te u akutnom epididimitisu, međutim često uz koinfekciju klamidijom (54,55). Iako nemamo potpune dokaze o mikoplazmi kao jasnom uzročniku navedenih infekcija, mogućnost širenje u navedena sijela ipak postoji pa upravo zbog te činjenice za pravilnu eradikaciju uzročnika trebalo bi koristiti etiološko liječenje čime bismo pravovremeno prevenirali ascendentno širenje.

## 3.3. Infekcije u žena

### 3.3.1. Infekcije u donjem genitalnom sustavu

Za razliku od infekcija u muškaraca koje su većinom simptomatske, infekcije *M. genitalium* u žena nisu praćene simptomima u 40% do 75% slučajeva (56,57). Ukoliko se jave, najčešće prijavljeni simptomi su promijenjen i pojačan vaginalni iscjedak, bolovi u donjem dijelu abdomena te postkoitalno krvarenje (58), a tipični su znakovi purulentni eksudat endocervikalnoga

kanala pri inspekciji i kontaktno cervikalno krvarenje (59). Ove promjene upućuju na infekciju cerviksa, što je ujedno i pandan uretritisu u muškaraca. Iako postoje i prijave simptoma uretritisa i cistitisa, kao dizurične tegobe i urgencija, infekcija mokraćne cijevi i mokraćnog mjehura ovom mikoplazmom nije dovoljno istražena da bismo je mogli navesti kao uzročnika (7,20).

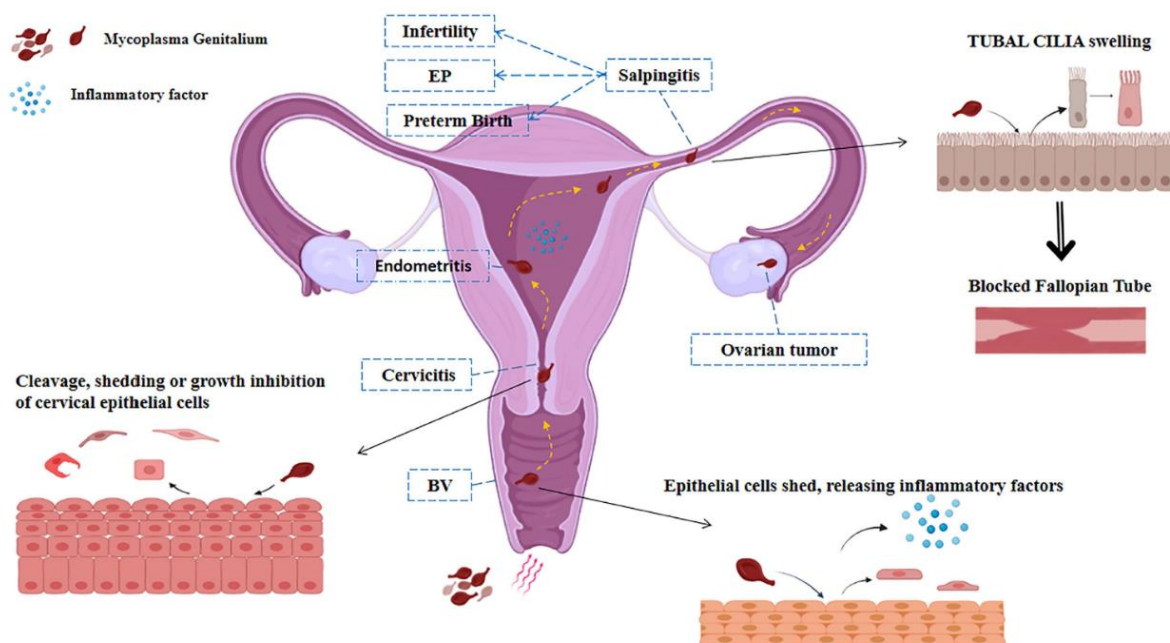
Kao i kod uretritisa u muškaraca, i simptomi su cervicitisa kod žena jednako nespecifični. Kad se uspoređuju klamidijaska i mikoplazmatska infekcija, prijavljuju se jednaki simptomi, iako kod mikoplazmi s manjom učestalošću. Jedini simptom koji je značajne bio vezan uz cervicitis uzrokovan *M. genitalium* je postkoitalno krvarenje (58), međutim ta veza nije toliko snažna da bismo pomoću njega mogli posumnjati na uzročnika infekcije. Zbog navedenoga je bitno razmišljati i o ovoj bakteriji kao mogućem etiološkom čimbeniku kod cervicitisa, a u svrhu pravodobnog liječenja i sprečavanja komplikacija.

S druge strane, mogućnost izazivanja vaginitisa kod *M. genitalium* i dalje nije prepoznata. Nekoliko je istraživanja pokazalo korelaciju između bakterijske vaginoze i izolacije bakterije, no potvrde kauzalnosti još nemamo (60–62). Međutim, veza je između srodne *M. hominis* i vaginoze potvrđena (62), a i *M. genitalium* je *in vitro* pokazala mogućnost adhezije i poticanja upale u stanicama vaginalne sluznice (33). Stoga mogućnost izazivanja ovoga sindroma ne možemo sa sigurnošću odbaciti.

### 3.3.2. Infekcije u gornjem genitalnom sustavu

Upalna zdjelična bolest (PID, eng. pelvic inflammatory disease) skupni je naziv za niz entiteta koji obuhvaća infekcije gornjih dijelova ženskog spolnog sustava. Infekcije se mogu prezentirati akutnim endometritisom, salpingitisom, tuboovarijskim apscesom te zdjeličnim peritonitisom, a obično su posljedica izravnog širenja bakterije iz donjih dijelova genitalnog sustava (slika 2) (59). PID je potencijalno životno ugrožavajuće stanje s mogućim teškim komplikacijama kao što su kronična zdjelična bolest, ožiljkivanje jajovoda te njegova opstrukcija, što dovodi do poteškoća sa začećem ili povećanog rizika od ektopične trudnoće. Iako je tipično vezan uz bakterije *C. trachomatis* ili *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), infekcije su često polimikrobne što otežava samo liječenje. Stoga je dokazivanje *M. genitalium* kao etiološkog uzročnika PID-a teško. Međutim, ova bakterija izolirana je iz uzoraka žena s endometritisom i akutnim salpingitisom što učvršćuje njezinu vezu s PID-om (58,63,64). Problem je što, u odnosu

na klamidijsku infekciju, kod zaraze ovom mikoplazmom upalni parametri nisu značajno promijenjeni, a sami simptomi su blagi i nespecifični (65), od kojih su bolovi u donjem dijelu abdomena najčešći (58). Zbog ovoga PID može ostati neprepoznat, a odgađanje liječenja povećava rizik od razvoja već navedenih teških komplikacija. Upravo je zbog toga važno dodatno istražiti načine kojima bi se dijagnosticiranje olakšalo i povećalo otkrivanje ovoga uzročnika.



Slika 2. Širenje *M. genitalium* kroz reproduktivni sustav žene. Prema: Yu (2023)

### 3.4. Ekstragenitalne infekcije

Proktitis je upalni sindrom sluznice rektuma i/ili analnoga kanala različitih etiologija. Infektivni proktitis može biti spolno prenosiva bolest koja nastaje u kontaktu između zaraženih sluznica za vrijeme nezaštićenih spolnih odnosa. Najčešći bakterijski uzročnici jesu *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* te *Treponema pallidum*, međutim i ova mikoplazma izolirana je iz rektalnih uzoraka kako simptomatskih, tako i asimptomatskih osoba (66,67). Iako je prevalencija najčešća među MSM populacijom (67), *M. genitalium* prepoznata je i kao mogući etiološki čimbenik proktitisa u žena, gdje se osim spolnim putem, bakterija može prenijeti autoinokulacijom, što je prepoznato i za druge patogene (42). Simptomi infekcije koji se javljaju uobičajeni su i nespecifični – bol u anorektalnom području, sukrvavi ili mukopurulentni iscjedak, konstipacija i tenezmi (68), no kao i za prethodno navedene sindrome, i kod ovoga su tegobe slabije

izražene kad se usporede s ostalim uzročnicima (69). Isto tako, postoje dokazi kako bi anorektalna infekcija ovom mikoplazmom mogla olakšati zarazu HIV-om, a i sam proktitis je značajno češći među HIV pozitivnim osobama (67). Značajno učestala je i koinfekcija s drugim bakterijskim uzročnicima koji se češće dokazuju (67). Iako europske smjernice preporučuju etiološko liječenje proktitisa (68), liječenje se češće provodilo jednokratnom dozom azitromicina (43). Zbog navedene koinfekcije, a i činjenice da *M. genitalium* dovodi do blage rektalne infekcije, o njoj se nije razmišljalo prilikom izbora antibiotika te se ova bakterija izlagala velikim dozama makrolida. Međutim makrolidi u potpunosti ne eradiciraju *M. genitalium* pa se time poticao razvoj rezistencije (43).

Kao što je već opisano, prijenos *M. genitalium* oralnim spolnim odnosom ne smatra se epidemiološki značajnim putem širenja infekcije. Ipak, PCR je dokazao postojanje bakterije u obriscima ždrijela muškaraca MSM populacije gdje je izolirana u jednakom omjeru kao i *C. trachomatis* (49). Muškarci s pozitivnim nalazom mikoplazme u ždrijelu češće su imali anorektalne infekcije te su to također češće bili HIV pozitivni. No bitno je naglasiti da niti jedan od navedenih slučajeva nije imao ni simptome ni znakove faringitisa. Iako uloga u zarazi ždrijela do sada nije istraživana, *M. genitalium* vjerojatno nije uzročnik akutnog faringitisa (43).

### 3.5. Komplikacije infekcije *M. genitalium*

#### 3.5.1. Reaktivni artritis

Poznata manifestacija vezana za spolno prenosive infekcije jest i pojava reaktivnog artritisa (SARA, eng. sexually acquired reactive arthritis). Riječ je o autoimunom odgovoru na genitourinarnu infekciju, a posebno se veže uz infekcije klamidijom i gonokokom. Značajni rizični faktori su muški spol te HLA-B27 pozitivitet, međutim povećana učestalost seronegativnih spondiloartropatija, u koje se ubraja i reaktivni artritis, povezuje se i s HIV infekcijom (70). Artritis se može javiti za vrijeme trajanja osnovne infekcije ili se može razviti nakon preboljele infekcije. Stoga je nužno uzeti adekvatnu anamnezu s naglaskom na spolne navike pacijenta, no problem se može javiti ukoliko je infekcija asimptomatska. Simptomi artritisa tipično su upalnog karaktera – jutarnja ukočenost preko 30 minuta i bolnost koja se smanjuje razgibavanjem te obično asimetrično zahvaća velike zglobove (70). Uz navedeno, zglob može biti otečen, topao i crven, a ukoliko se uz

artritis jave i simptomi uretritisa i konjunktivitisa, govorimo o Reiterovu sindromu. Moguće su i ekstraartikularne manifestacije u vidu genitalnih ulceracija te aftoznih promjena usne šupljine, hiperkeratotičnih plakova po koži i sustavnih simptoma poput umora i gubitka na težini. Infekcija bakterijom *M. genitalium* kao uzrokom reaktivnog artritisa do sada se opisivala jedino na razini prikaza slučaja (71,72), ali sličnost u profilu sindroma koje ima s poznatim patogenima ukazuje na mogućnost razvoja i ove komplikacije.

### 3.5.2. Neplodnost

Neplodnost se definira kao nemogućnost začeća nakon 12 mjeseci redovitih spolnih odnosa bez zaštite. Uzroka je mnogo, a među najčešćima se upravo nalaze spolno prenosive infekcije. Problem najviše predstavljaju u zemljama u razvoju zbog ograničene dostupnosti zdravstvenoj skrbi (73). Veza između neplodnosti i klamidijske te gonokokne infekcije je poznata, no za *M. genitalium* i dalje nije potvrđena (74). Međutim, promjene koje ova bakterija izaziva jasno pokazuju mogući razvoj neplodnosti. Istraživanja na kulturama stanica pokazala su kako ova mikoplazma dovodi do promjene morfologije epitelnih stanica jajovoda, s oteklinom trepetljika i ljuštenjem stanica uz mogući razvoj hidrosalpinga (59,75). Isto tako, ova je bakterija češće izolirana iz cervikalnih briseva i uzoraka abdominalne tekućine uzetih za vrijeme laparoskopije u neplodnih žena, nego kod žena koje nisu imale problema sa začećem (76,77). Navedeno je isto i za seropozitivitet na *M. genitalium* (59). Ove spoznaje govore o visokoj korelaciji između infekcije ovom mikoplazmom i neplodnosti u žena, međutim kauzalnost se tek treba potvrditi.

Radovi koji istražuju utjecaj *M. genitalium* na mušku neplodnost nisu brojni. Procjenjuje se da oko 15% neplodnosti otpada na spolno prenosive infekcije, među kojima su najčešći uzročnici *U. urealyticum*, *C. trachomatis* i *N. gonorrhoeae* (78). Za ovu je mikoplazmu poznato kako ima mogućnost vezanja za spermije (44), no ona se isto tako može vezati i za različite tipove stanica zbog čega ta činjenica po sebi ne znači ujedno i kliničku važnost. Međutim, istraživanja na uzorcima ejakulata pokazuju kako je veća učestalost smanjenog broja spermija u uzorku kod muškaraca koji su pozitivni na *M. genitalium* (79). Nadalje, vezanje ove bakterije na spermije u velikim količinama može utjecati na njihovu pokretljivost i dovesti do aglutinacije (44). Iako ove tvrdnje pokazuju kako *M. genitalium* može mijenjati kakvoću sjemene tekućine, postoje istraživanja koja vezu između infekcije i neplodnosti nisu uspjela pokazati te je ova bakterija, iz



uzoraka neplodnih muškaraca, izolirana u malom broju slučajeva (17,80). Kao što je vidljivo, iz trenutnih saznanja nismo u mogućnosti zaključiti o ulozi *M. genitalium* u muškoj neplodnosti.

### 3.5.3. Ishodi trudnoće

Poznato je kako strukturne i funkcionalne promjene u jajovodu dovode do smanjenja plodnosti, međutim te promjene mogu dovesti i do potencijalno smrtonosnih komplikacija u trudnoći. U prvom je redu riječ o ektopičnoj trudnoći, odnosno implantaciji zametka izvan tijela maternice. Promjene za vrijeme ovulatornog ciklusa važne su kako bi se tkivo maternice adekvatno pripremilo za moguću implantaciju, međutim ukoliko je jajovod oštećen, povećava se rizik da se zametak implantira upravo u njegovoj stijenci. Budući da stijenka jajovoda nije građena kako bi primila zametak, pri kritičnom porastu njegove mase može doći do rupture jajovoda i za život ugrožavajućega krvarenja. A kako modeli pokazuju da *M. genitalium* može promijeniti strukturu jajovoda, postavlja se pitanje hoće li infekcija u žena povećati i rizik za ektopičnom trudnoćom. Istraživanja na tu temu nema mnogo, a ni rezultati nisu jednoznačni. Serološko ispitivanje za *M. genitalium* nije pokazalo značajnu povezanost između mikoplazmatske infekcije i ektopične trudnoće (81), dok je PCR testiranje za dokaz ove mikoplazme na uzorcima jajovoda tu vezu potvrdilo (82). Nadalje, rizik za ektopičnu trudnoću značajnije se povećava ukoliko uz *M. genitalium* postoji i koinfekcija s *C. trachomatis* ili virusom herpesa simpleksa 1 ili 2 (HSV-1/2, eng. herpes simplex virus 1/2) (82). Budući da radovi pokazuju kontradiktorne rezultate, potrebno je dodatno istražiti ovu vezu u svrhu pravovremene prevencije.

Učinak *M. genitalium* na razvoj ploda *in utero* nije detaljno ispitan. Međutim, na temelju dostupnih radova provedena su dva sustavna pregleda literature s meta-analizom. Jedan je procjenjivao učinak infekcije na prijevremeni porod i spontani pobačaj (57), a drugi je, uz navedeno, procjenjivao učinak i na prijevremeno prsnuće plodovih ovoja, rođenje djeteta s niskom porođajnom masom i perinatalnu smrtnost (83). Od svih navedenih ishoda, infekcija je ovom mikoplazmom jedino povezana s prijevremenim porodom čeda i to su jasno pokazala oba sustavna pregleda. Nadalje, Lis i sur. (57) u svojem radu pokazuju i povezanost sa spontanim pobačajem, međutim u analizu su većinom uključeni radovi u kojima su žene same prijavljivale pobačaje, što je nepouzdana metoda koja može dovesti do precjenjivanja stvarnoga stanja. Nedostatak ovih

sustavnih pregleda je što obuhvaćaju mali broj radova i to nam umanjuje mogućnost sigurnog donošenja zaključaka.

Važno pitanje koje proizlazi iz ovih činjenica je treba li uvesti skrining preglede i rutinsko testiranje trudnica na *M. genitalium*. Za opravdanost tog postupka u ovom trenutku nemamo čvrste dokaze, a kako je prevalencija infekcije u niskorizičnih žena i trudnica niska, smatra se da rutinsko testiranje nije potrebno (18,83). Ono bi moglo biti od koristi u visokorizičnih trudnica koje su često mijenjale partnere ili u osobnoj anamnezi imaju povijest spolno prenosivih infekcija, ali potrebno je provesti još istraživanja kako bi se potvrdilo da liječenje infekcije *M. genitalium* ima povoljne učinke te da smanjuje rizik prijevremenog poroda (83).

### 3.6. Dijagnostika infekcija

Budući da stanica *M. genitalium* ne sadrži stijenku, ova se bakterija ne može prikazati bojenjem po Gramu. Također, kultivacija na hranjivim je podlogama izrazito teška. Uzgoj je moguć u staničnoj kulturi Vero stanica, međutim izolacija traje tjednima i nije pogodna za rutinsku dijagnostiku (19). Stoga se danas koriste NAATs testovi koji uvelike ubrzavaju i olakšavaju potvrdu infekcije ovom mikoplazmom. Osjetljivost i specifičnost ovih testova ovisi o početnicama koje se primjenjuju te je stoga potrebno birati one koje su klinički validirane (20).

Za uspješnu izolaciju uzročnika, uz dijagnostički test, potreban je adekvatan uzorak, njegova pravilna pohrana te transport do laboratorija. Naravno, potreban je i određeni vremenski period, takozvani dijagnostički prozor (eng. window period), koji mora proći kako bi uzročnik bio detektibilan u uzorku. Za *M. genitalium* ne postoje istraživanja za utvrđivanje tog perioda, stoga se uzima vrijednost analogna *C. trachomatis*, što je 14 dana (20). Uz navedeno, važno je odrediti i pravu indikaciju za testiranje (tablica 1). Indikacija će najčešće biti pojava simptoma, međutim u nekim će se slučajevima, čak uz simptomatsko stanje, testiranje tek provoditi ukoliko se ne pronađe vjerojatniji uzročnik, kao što je preporučeno kod sindroma proktitisa (20).

Pravilan se uzorak uzima s mjesta infekcije. Za izolaciju uzročnika uretritisa nekada se uzimao obrisak mokraćne cijevi, međutim europske smjernice te smjernice Hrvatskog društva za kliničku mikrobiologiju preporučaju detekciju iz FVU-a (20,84). Razlog tomu je neinvazivnost metode te mogućnost samostalnog uzimanja uzoraka što pacijentu značajno olakšava uzorkovanje.

Ukoliko postoji iscjedak, uzorak se uzima prije prvog mlaza urina. Uzorci bi se trebali što prije dostaviti u laboratorij, no ukoliko to nije moguće, stavljaju se u hranjivu podlogu odgovarajućeg testa te se dostavljaju na sobnoj temperaturi unutar 24 sata (84). Za orijentacijski pregled može se koristiti mikroskopiranje uzorka bojanog po Gramu, a nalaz od 5 ili više leukocita po vidnom polju na uvećanju 1000x, prema europskim smjernicama, ili nalaz preko 10 leukocita po vidnom polju na uvećanju 400x u sedimentu urina, prema hrvatskim smjernicama, potvrđuju upalu u mokraćnoj cijevi (20,84). Mikroskopiranje sedimenta urina omogućava brzu detekciju *N. gonorrhoeae*, dok za ostale uzročnike nije korisna te se tada primjenjuju NAATs testovi. Ukoliko u uzorku ne postoji značajan broj leukocita, a pacijenti nemaju simptome ili imaju mali rizik od spolno prenosivih infekcija, takve se uzroke dalje ne treba obrađivati (84).

Tablica 1. Indikacije za testiranje na infekciju *M. genitalium*. Prema: Jensen (2022)

Testiranje u muškaraca kod:	Testiranje u žena kod:
Simptoma ili znakova uretritisa	Mukopurulentnog cervicitisa
Akutnog epididimoorhitisa u <50 godina	Intermenstrualnog ili postkoitalnog krvarenja
Proktitisa nakon isključenja <i>N. gonorrhoeae</i> i <i>C. trachomatis</i> kao uzročnih patogena	Dizurije bez druge poznate etiologije
	Akutnog bola u zdjelici i/ili PID-a
Trenutni spolni partner osobe pozitivne na <i>M. genitalium</i>	

Za detekciju *M. genitalium* kao uzročnika epididimitisa također se koristi prvi mlaz urina, dok se za dokazivanje infekcije prostate mogu koristiti sekret istisnut digitalnom masažom ili uzorak urina uzet neposredno nakon masaže prostate. U tim je slučajevima potrebno uzeti i uzorke za detekciju mikroorganizama u mokraćnoj cijevi kako bi se isključila mogućnost kontaminacije uzoraka iz prostate s uzročnicima koji su prisutni u uretri (84).

Za detekciju mikoplazmatske infekcije iz donjeg urogenitalnog sustava u žena kao uzorci se koriste obrisci rodnice ili cerviksa te obrisak uretre ili prvi mlaz urina ukoliko se sumnja na uretritis. Kod sumnje na PID, uzorci iz donjeg dijela genitalnog sustava nisu pogodni za detekciju uzročnika infekcije pa se kao uzorak može koristiti aspirat endometrija učinjen transvaginalno ili aspirat jajovoda, tuboovarijskoga apscesa te peritoneja učinjen laparoskopski (84). Navedeni se uzorci koriste za PCR dijagnostiku pomoću koje dokazujemo DNA *M. genitalium*, a budući da je bakterija primarni patogen u urogenitalnom sustavu, njezina izolacija iz navedenih sijela označava infekciju.

Zahvaljujući rastućoj rezistenciji na makrolidne antibiotike, u slučaju pozitivnog nalaza na *M. genitalium*, europske smjernice preporučaju provođenje testova za određivanje osjetljivosti na navedene lijekove. Budući da ovu bakteriju teško uzgajamo u kulturi, klasični antibiogram nije metoda izbora, već se rezistencija u navedenom slučaju određuje molekularnim metodama koje detektiraju značajne mutacije u genomu. Navedeno vrijedi i za detekciju rezistencije na fluorokinolone, međutim smjernice preporučaju testiranje osjetljivosti tek nakon neadekvatnog odgovora na antimikrobnu terapiju (20).

### 3.7. Trenutni terapijski protokol

Adekvatno i pravovremeno liječenje osnova je za prevenciju daljnjeg širenja infekcije, kao i smanjenje rizika za razvoj raznih komplikacija koje mogu biti posljedica infekcije. Stoga je dokaz nukleinskih kiselina *M. genitalium* u uzorku dovoljna indikacija za početak antimikrobnog liječenja (20). Iako je mikoplazma osjetljiva na nekoliko klasa antibiotika, od kojih su najznačajniji tetraciklini, makrolidi te fluorokinoloni, važno je poznavati njihovu učinkovitost u eradikaciji navedene bakterije.

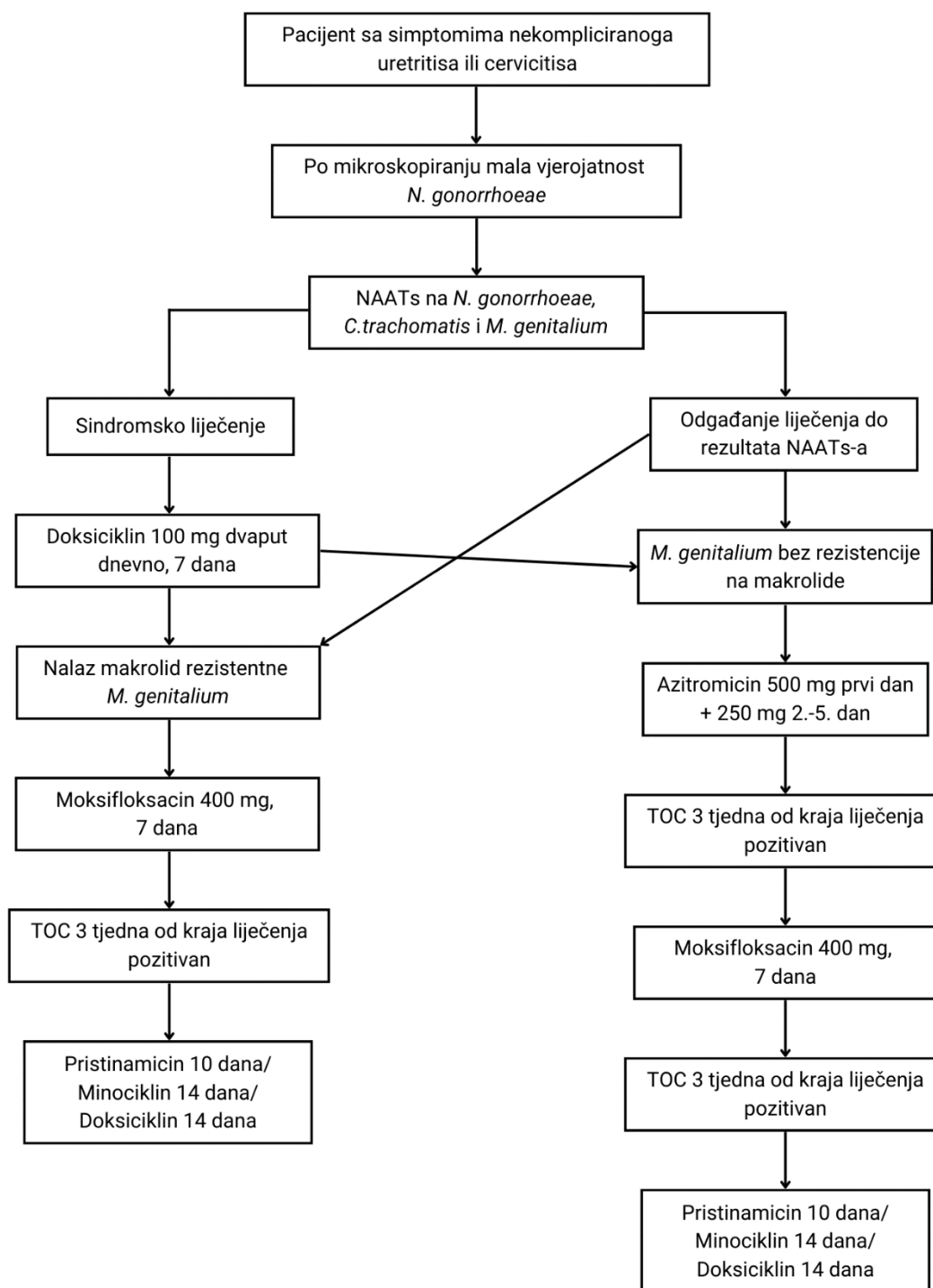
Doksiciklin, kao predstavnik tetraciklina, često se koristio za liječenje NGU-a prije nego što je *M. genitalium* prepoznata kao mogući etiološki čimbenik tog sindroma (7). Njegova primjena bila je učestala budući da je lijek izbora za najčešćeg uzročnika NGU-a – *C. trachomatis*. Međutim, po otkriću *M. genitalium* kao emergentnoga patogena, istraživanja su pokazala kako doksiciklin ima smanjenu učinkovitost u njezinoj eradikaciji, sa stopom izlječenja između 30% i 40% (85–88). Također, neadekvatna eliminacija uzročnika povezana je i s pojavom kroničnog uretritisa (7,87). Stoga se terapijski protokol promijenio i krenuo se primjenjivati azitromicin,

predstavnik makrolida. Uz to što je i on učinkovit u liječenju klamidijske infekciju, pokazuje bolju aktivnost *in vitro* od tetraciklina te bolje prodire u stanice sluzničnog epitela, važna prednost azitromicina jest i mogućnost primjene lijeka jednokratno, što značajno olakšava liječenje i povećava suradljivost među pacijentima (7). Azitromicin u dozi od 1 grama jednokratno pokazao je veću učinkovitost u liječenju infekcije ovom mikoplazmom od doksiciklina te su stope izlječenja bile 85% kod muškaraca i 88% u žena (87,89,90). Usprkos tome, učinkovitost eradikacije manja od 95% ne smatra se prihvatljivom u liječenju spolno prenosivih infekcija (89). S vremenom se prepoznalo da ovakav terapijski režim dovodi do sve manje stope izlječenja (86), a istraživanja su pokazala da je za to zadužen razvoj antimikrobne rezistencije među sojevima koji nisu uspjeli biti eradikirani (91). Razvoju je rezistencije doprinijelo i započinjanje sindromskog liječenja NGU-a jednokratnom dozom azitromicina prije konačnog dokazivanja uzročnika, a po završetku liječenja nije se provodio kontrolni test (TOC, eng. test of cure) u svrhu procjene uspješnosti terapije (20) te je na taj način omogućeno slobodno širenje rezistentnih sojeva u populaciji. Zbog toga se krenuo primjenjivati novi petodnevni režim liječenja azitromicinom gdje se 500 mg uzima prvi dan, a od 2. do 5. dana doza od 250 mg. Tako je ukupno primijenjena doza od 1,5 grama pokazala veću učinkovitost od jednokratne primjene, uz stopu izlječenja od 96% do 100% te uz manji rizik od razvoja antimikrobne rezistencije (88–90).

Navedeni je režim po europskim smjernicama (slika 3) i danas prvi oblik liječenja nekompliciranih *M. genitalium* infekcija u kojih je potvrđena osjetljivost na makrolide, uz provođenje TOC-a 3 tjedna nakon završetka liječenja (20). Ukoliko test izlječenja pokaže neuspjeh terapije ili se u ovoj bakteriji dokaže postojanje mutacije za rezistenciju na makrolide, lijek izbora je moksifloksacin (20). Ovaj fluorokinolon pokazao je stopostotnu stopu izlječenja u nekoliko studija (88,91,92), bilo kao prvi izbor liječenja, bilo kao sekundarna linija liječenja perzistentnog uretritisa. Ipak, počeli su se pojavljivati sojevi s mutacijama za rezistenciju na fluorokinolone zbog kojih stopa neuspjeha raste i do 30% (93–96). Ovakav trend razvoja rezistencije zabrinjava budući da su fluorokinoloni rezervirani kao druga linija liječenja *M. genitalium* infekcija kod kojih postoji rezistencija na makrolide, a posebice je opasan istodoban razvoj rezistencije na oba antibiotika u istih sojeva (94,96). U tim slučajevima, europske smjernice navode pristinamicin, predstavnika streptogramina, kao terapijsku mogućnost, no stope su izlječenja za ovaj antibiotik u makrolid rezistentnih sojeva svega 75% (97,98). Kao treću liniju liječenja smjernice spominju i dvotjednu terapiju doksiciklinom koja je u 60% slučajeva uspjela eradikirati infekciju (99). Usprkos ovako

niskoj stopi izlječenja, dvotjedna terapija doksiciklinom pokazala je veću uspješnost u eradikaciji *M. genitalium* od uobičajenog sedmodnevnog režima, no konačnu ocjenu učinkovitosti još nemamo (20).

Liječenje mikoplazmatske infekcije u trudnoći predstavlja poseban klinički problem. Iako čvrstih dokaza nemamo, *M. genitalium* povezuje se s prijevremenim porodom (57,83) zbog čega eradikaciju bakterije treba pravovremeno provesti. Europske smjernice nalažu da je petodnevni režim liječenja azitromicinom sigurna i dostatna opcija za liječenje infekcija ovom mikoplazmom u slučaju dobre osjetljivosti na makrolide (20). Međutim liječenje makrolid rezistentnih sojeva predstavlja terapijski problem budući da preostali antimikrobni lijekovi nisu sigurni za primjenu u trudnoći (20). Stoga bi pristup liječenju trebao biti individualiziran te procjenom rizika trebalo bi utvrditi postoji li potreba za liječenjem infekcije tijekom trudnoće ili pričekati s liječenjem te ga započeti po porodu. Također je bitno opreznije pratiti novorođenčeta za moguće znakove infekcije, u prvom redu pratiti znakove konjunktivitisa i infekcije respiratornog sustava (20). Jasni dokazi o *M. genitalium* kao uzročniku perinatalnih infekcija ne postoje, međutim prijavljeno je nekoliko slučajeva zaraze novorođenčeta ovom mikoplazmom (45,46).



Slika 3. Terapijski protokol za *M. genitalium*. Prema: Jensen (2022)

## **4. *Mycoplasma genitalium* i antimikrobna rezistencija**

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) antimikrobna je rezistencija definirana kao povećana otpornost mikroorganizma na lijek koji se prije uspješno koristio za liječenje infekcija uzrokovanih tim mikroorganizmom (100). Kako je postala široko rasprostranjena u svijetu, a nemogućnost liječenja uobičajenih infekcija može završiti i fatalno, SZO je 2019. godine antimikrobnu rezistenciju proglasila jednom od 10 prijetnji globalnom zdravlju (101). Isto tako, izdala je listu patogena koji predstavljaju najveću prijetnju ljudskome zdravlju i za koje postoji prioritet u istraživanju novih antibiotika. Posebno je zabrinjavajuća pojavnost mikroorganizama koji su rezistentni na nekoliko skupina antibiotika pa tako govorimo o multirezistentnim bakterijama, koje su otporne na barem jedan antibiotik iz tri ili više različitih skupina antibiotika, te panrezistentnim bakterijama, koje su otporne na sve antibiotike iz svih skupina (102).

Otpornost bakterija na antibiotike nije nova pojava. Brojni organizmi, uključujući i same bakterije, u prirodi proizvode spojeve koje oslobađaju u okolinu, a koji usporavaju rast drugih bakterija ili ih ubijaju. Na taj se način vodi bitka za preživljenje i prevlast za iskorištavanje ograničenih nutrijenata koji omogućuju daljnje umnažanje (103). Kako bi u takvoj okolini preživjele, bakterije razvijaju nekoliko mehanizma kojima se brane od štetnog djelovanja navedenih spojeva.

### 4.1. Razvoj rezistencije

#### 4.1.1. Primarna rezistencija

Otpornost bakterija na određenu skupinu antibiotika može biti posljedica posebnosti građe stanice pri kojoj ona ne sadrži mjesto djelovanja tih antibiotika. Takva je bakterija primarno rezistentna na određeni antibiotik. Primjer za primarnu rezistenciju je otpornost mikoplazma na antibiotike koji blokiraju sintezu stanične stijenke, kao što su  $\beta$ -laktami i glikopeptidi, budući da stanica mikoplazme stijenku ne sadrži. Posebnost građe može označavati i specifičnu kemijsku strukturu staničnih elemenata zbog kojih antibiotici u stanicu ne mogu ući, kao što je primjer s mikobakterijama koje imaju visok udio lipida u staničnoj stijenci, što ograničava prodiranje hidrofилnih molekula (104). Nadalje, bakterija može biti rezistentna na antibiotik zbog njezinih



fenotipskih obilježja. Tako u nepovoljnim uvjetima okoline, kao prisutnost antibiotika inhibitora stanične stijenke, neke bakterije mogu preći u L-formu stanice koja ne sadrži stijenku. U toj se fazi bakterije slobodno dijele te se odsutnost stijenke, a time i otpornost na određene skupine antibiotika, prenosi kroz nekoliko generacija (105). Otpornosti na antibiotike doprinosi i smanjena metabolička aktivnost stanica što je vidljivo kod perzistencije mikobakterija u tkivima za vrijeme latentnih infekcija (106), ali i intracelularna lokalizacija koja bakterije štiti od antibiotika koji slabo prodiru u stanice domaćina. Već spomenuto formiranje biofilma također smanjuje osjetljivost na antibiotike (1,106).

#### 4.1.2. Sekundarna rezistencija

Sekundarna je rezistencija stečeno svojstvo koje nastaje kao posljedica mutacija bakterijskog genoma ili horizontalnim prijenosom gena rezistencije. Kako se slučajne promjene na bakterijskom kromosomu događaju frekvencijom od  $10^{-12}$  do  $10^{-7}$  po nukleotidu po generaciji, spontane se mutacije smatraju rjeđim oblikom razvoja rezistencije i dovode do stvaranja rezistentnih sojeva isključivo unutar iste vrste (1). S druge strane, procesima transdukcije, transformacije i konjugacije bakterija steče nove gene rezistencije putem plazmida ili sljedova DNA koje može inkorporirati u vlastiti genom pa se tako horizontalnim prijenosom može izmijeniti veća količina genetskog materijala u kraćem vremenu. Zbog navedenoga, ovaj se način smatra ključnim za širenje rezistencije, a osim toga, prepoznato je da se horizontalni prijenos može odvijati i između vrsta, što je posebno zabrinjavajuće kod polimikrobnih infekcija (2,107,108).

Pojava rezistencije na jedan antibiotik može značiti gubitak osjetljivosti i na druge antibiotike. Ova se pojava naziva križnom rezistencijom, a razvija se zbog sličnosti u kemijskoj građi među lijekovima ili zbog sličnog mehanizma djelovanja (1). Primjerice, razvoj enzima koji hidrolizira  $\beta$ -laktamski prsten penicilina može dovesti i do hidrolize drugih antibiotika s  $\beta$ -laktamskim prstenom, kao što su cefalosporini. Iako unutar iste grupe antibiotika možemo imati puno spojeva koji su kemijski slični, istraživanja ipak pokazuju kako je strukturna sličnost loš prediktor razvoja križne rezistencije te da važniju ulogu ima zajednički mehanizam djelovanja (109).

Bitno je napomenuti da je razvoj sekundarne rezistencije slučajan te da nije izravno potaknut uporabom antibiotika, već antibiotici dovode do selekcije sojeva među kojima se rezistencija ranije razvila.

#### 4.1.3. Mehanizmi rezistencije

Promjene genetskog materijala, bilo mutacijama samog bakterijskog kromosoma, bilo stjecanjem gena rezistencije izvana, dovode do razvoja antimikrobne rezistencije na više načina. Četiri osnovna tipa su ograničavanje unosa lijekova, promjena veznog mjesta lijeka, inaktivacija lijekova te mehanizmi izbacivanja lijekova iz stanice (104).

Ograničavanje unosa antibiotika nastaje promjenama u genima koji kodiraju za porine, transmembranske proteine koji omogućuju transport polarnih molekula. Tako dolazi do smanjenja propusnosti za određene lijekove, a koja nastaje kao posljedica smanjenog izražaja porina ili promjena u strukturi proteina zbog koje se gubi selektivnost porinskog kanala (104,110).

Promjene veznog mjesta antibiotika također nastaju kao posljedica mutacija. Ona može zahvatiti bilo koju strukturu koja je kodirana bakterijskim genomom (enzimi ključni za sintezu stanične stijenke, vezna mjesta na ribosomskim podjedinicama, enzimi ključni za metabolizam) što bakterijama omogućava razvoj rezistencije na cijelu antimikrobnu skupinu, a ponekad i razvoj rezistencije na kemijski različite skupine antibiotika (104). U ovaj mehanizam rezistencije spada i razvoj novih proteina koji imaju istu funkciju kao osnovni, međutim smanjeni afinitet za vezanje antibiotika (1,111).

Inaktivacija lijekova omogućena je stvaranjem enzima u bakterijskim stanicama koji prepoznaju specifične skupine antibiotika. Ovaj se oblik rezistencije najčešće razvija stjecanjem plazmida koji nose gene za sintezu navedenih proteina. Inaktivacija se vrši na dva različita načina: potpuna razgradnja antibiotika (primjer za to su  $\beta$ -laktamaze koje razgrađuju  $\beta$ -laktamske antibiotike) ili inaktivacija vezanjem određenih kemijskih skupina na lijek zbog čega on postaje nefunkcionalan (104,111).

Izbacivanje lijekova iz stanice (efluks) omogućeno je posebnim pumpama koje se nalaze na staničnoj membrani. Te su pumpe kodirane bakterijskim kromosomom te mogu biti konstitutivno izražene ili njihova sinteza može biti inducirana određenim čimbenikom okoline.

Važnost ovakvog mehanizma rezistencije leži u tome što jedna pumpa može izbacivati velik broj različitih molekula te tako bakterijama omogućava otpornost na velik broj skupina antibiotika (111–113).

#### 4.2. Testiranje osjetljivosti na antibiotike

Zadaća je mikrobiološke dijagnostike, uz potvrdu uzročnika infekcije, i određivanje osjetljivosti na antibiotike kako bi se liječenje moglo provoditi najučinkovitijim lijekom. Na taj je način moguće skratiti trajanje liječenja, povećati sigurnost liječenja umanjivanjem nuspojava te smanjiti rizik od razvoja antimikrobne rezistencije. Međutim, kako bi testiranje osjetljivosti bilo pouzdano, ono se mora provoditi standardiziranim metodama. Na razini Europe, za standardizaciju postupaka zaduženo je Europsko povjerenstvo za testiranje antimikrobne rezistencije (EUCAST, eng. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) koje izdaje smjernice za interpretaciju rezultata nakon provedenih testova (114).

U određivanju osjetljivosti na određeni antibiotik prate se dva parametra – minimalna inhibitorna koncentracija (MIC, eng. minimum inhibitory concentration) i minimalna baktericidna koncentracija (MBC, eng. minimum bactericidal concentration). MIC označava najmanju koncentraciju lijeka koja zaustavlja rast bakterija, dok je MBC najmanja koncentracija lijeka koja bakterije ubija. Kako se vrijednost MIC-a lakše odredi, ta se koncentracija češće koristi u kliničkoj praksi. Na temelju dobivenih MIC-ova određuju se granične vrijednosti temeljem kojih se osjetljivost bakterija svrstava u jednu od tri kategorije: osjetljiva, uz standardni režim doziranja antibiotika (S), osjetljiva, uz povećanu izloženost antibiotiku (I) te rezistentna (R) (115).

##### 4.2.1. Fenotipske metode detekcije rezistencije

Brojne se fenotipske metode mogu koristiti u svrhu određivanja osjetljivosti na antibiotike, međutim u kliničkoj su praksi najzastupljenije dilucijska i difuzijska metoda te epsilometarski test. Navedene se metode baziraju na inhibiciji rasta bakterija pri određenim koncentracijama antibiotika što se može jasno prepoznati vizualnom inspekcijom podloga na kojima te bakterije uzgajamo. Temeljem ovako jednostavnog postupka, fenotipske metode omogućuju kvantitativno

i/ili semikvantitativno određivanje glavnih parametara kojima procjenjujemo osjetljivost na lijekove zbog čega su i postale zlatni standard za testiranje antimikrobne rezistencije (114).

Dodatne su prednosti ovih metoda i jeftinije provođenje testova, one ne zahtijevaju posebnu tehnološku opremljenost laboratorija te su dugogodišnjim iskustvom postale ustaljene u svakodnevnoj kliničkoj praksi uz jasne smjernice za interpretaciju dobivenih rezultata (115). Međutim za pravilno provođenje zahtijevaju i kultivaciju bakterija na hranjivim podlogama, što za neke vrste, uključujući i *M. genitalium*, može biti dugotrajno i teško. U takvim slučajevima one prestaju biti metodom izbora te se za utvrđivanje antimikrobne rezistencije koristi molekularna dijagnostika (1,114).

#### 4.2.2. Molekularne metode detekcije rezistencije

Uz prethodno navedenu otežanu kultivaciju bakterija, fenotipske se metode također ne koriste u slučajevima hitne potrebe za rezultatima, kada nemamo vremena čekati da bakterije porastu, ili kada uzorak nije adekvatan za izolaciju uzročnika uobičajenim metodama. Tada se, radi bržeg i lakšeg testiranja, koriste molekularne metode. Iako su skuplje od klasičnih antibiograma, pravilnim postavljanjem indikacije za njihovo korištenje svakako iskorištavamo sve njihove prednosti (114,116).

Najraširenija molekularna metoda detekcije je PCR. Bazirana je na ponavljajućim ciklusima denaturacije DNA, vezanja početnica te elongacije lanaca DNA polimerazom, a svakim ciklusom dolazi do amplifikacije DNA molekule. Nakon umnažanja lanaca DNA, potrebno je potvrditi postojanje tražene mutacije. Danas se u dijagnostici koristi posebna vrsta PCR uređaja – PCR u realnom vremenu, koji omogućava praćenje umnažanja fragmenata za vrijeme provođenja amplifikacije. To je omogućeno fluorescentnim bojama koje su vezane za nukleotide. Kako se nukleotide ugrađuju u DNA lanac, fluorescentne se boje oslobađaju te otpuštaju signal koji detektori prepoznaju. Budući da se u dijagnostici koriste početnice koje nama osiguravaju amplifikaciju željenog segmenta, zabilježeni signal potvrda nam je da traženi segment u uzorku postoji (117). Međutim, u tome leži i najveći problem molekularne dijagnostike. Ove nam metode omogućavaju otkrivanje isključivo onog gena kojega mi tražimo, što znači da bakteriju možemo pogrešno proglasiti osjetljivom na antibiotik na koji je rezistentna, ukoliko ima mutaciju u genu koji mi nismo istraživali (116). Danas je u upotrebi i takozvani multipleks PCR koji omogućava

istodobno umnažanje nekoliko fragmenata te na taj način istražuje više gena istovremeno. Ova tehnika ubrzava i olakšava molekularnu dijagnostiku osjetljivosti, međutim zahtjeva unaprijed poznate i moguće mutacije bakterijskog genoma koji dovode do rezistencije, što još uvijek nije jednostavan zadatak (117).

#### 4.3. Mehanizmi rezistencije *M. genitalium*

##### 4.3.1. Intrinzična rezistencija na antibiotike

Uz već navedenu rezistenciju na  $\beta$ -laktame, glikopeptide te fosfomicin, koja je posljedica odsutnosti stanične stijenke, ova mikoplazma pokazuje intrinzičnu rezistenciju i na nekoliko drugih skupina antibiotika – rifamicine, polimiksine, sulfonamide te trimetoprim (118). Glavni je predstavnik rifamicina rifampicin. Mehanizam djelovanja ovog lijeka je blokiranje transkripcije DNA vezanjem za  $\beta$  podjedinicu o DNA ovisne RNA polimeraze. U svih članova roda *Mycoplasma* postoji mutacija na *rpoB* genu koji kodira za  $\beta$  podjedinicu RNA polimeraze čime je promijenjeno vezno mjesto za lijek i onemogućeno njegovo djelovanje (6,119). Otpornost na polimiksine posljedica je nedostatka lipopolisaharida u bakterijskoj stanici koji su normalno prisutni u vanjskoj membrani gram-negativnih bakterija, a rezistencija na sulfonamide i trimetoprim nastaje zbog toga što mikoplazme nemaju enzime za sintezu folata, već iskorištavaju folat iz okoline (120).

##### 4.3.2. Rezistencija na makrolide

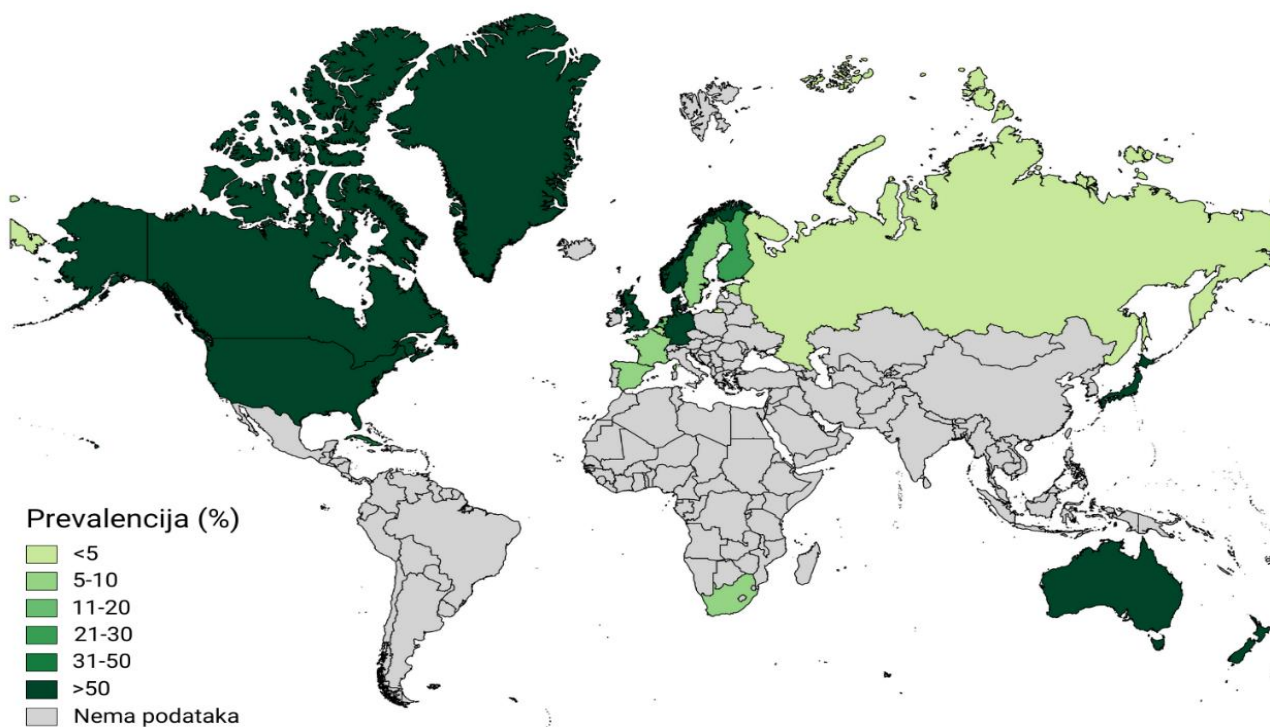
Kao što je već opisano, razvoj rezistencije na makrolide, prvenstveno azitromicin, pratio je promjene u terapijskom protokolu za liječenje spolno prenosivih infekcija. Budući da doksiciklin nije pokazao dobru učinkovitost, a vođeni činjenicom da srodna *M. pneumoniae* dobro odgovara na terapiju azitromicinom, ovaj je makrolid postao glavni lijek izbora za liječenje NGU-a. Iako je u početku pokazao obećavajuće rezultate, 2006. godine izašao je australski članak koji je prepoznao značajnu redukciju u uspješnosti terapije na eliminaciju *M. genitalium* i tako je prvi izvijestio o pojavi rezistencije na makrolide u određenim sojevima (91). Nakon toga članka, sve učestalija pojava rezistencije počela se prijavljivati i u drugim državama (11,121–123).

Molekularni je mehanizam rezistencije na makrolide mutacija jednog nukleotida na regiji V gena koji kodira za 23S rRNA, od kojih su A2058G i A2059G najčešće (96,124). Kako je bakterijski kromosom haploidan, a *M. genitalium* u svom genomu sadrži jedan skup gena za rRNA, pojava polimorfizama jednog nukleotida (SNP, eng. single nucleotide polymorphism) može imati veliki utjecaj na fenotipska obilježja stanice (6). Na taj će način ova mutacija dovesti do promjene u veznom mjestu na 50S podjedinici ribosoma te se makrolidi za njega više neće moći vezati. U rezistentnih je sojeva, uz navedene SNP-ove, također prepoznata i mutacija gena za ribosomalne proteine L4 (H69R) i L22 (E123K) koji čine 50S podjedinicu bakterijskog ribosoma (124). Iako je navedena mutacija poznata kao mogući mehanizam rezistencije u drugim vrstama roda *Mycoplasma* (125), još nije u potpunosti utvrđeno ima li ulogu u rezistenciji i kod *M. genitalium* (124).

Selekcija rezistentnih sojeva najvjerojatnije je posljedica sindromskog liječenja NGU-a jednokratnom dozom azitromicina od 1 grama (90,126). Navedena je pretpostavka potkrijepljena radovima koji su pokazali širenje rezistentnih sojeva nakon neuspješno provedenog liječenja ovim režimom (88,91,96), ali i istraživanjima prevalencije rezistencije koje su opisivale njezinu proširenost po svijetu (slika 4). Iako europske smjernice za liječenje NGU-a jasno navode kako bi se takav pristup trebao izbjegavati u sindromskom liječenju (127), terapija se među državama može razlikovati ovisno o nacionalnim smjernicama koje su utemeljene na lokalnoj epidemiološkoj situaciji ili dostupnosti lijekova na tržištu (128). Tako je u Švedskoj prevalencija makrolidne rezistencije ostala niska, ispod 20% (128,129), upravo zbog toga što se za liječenje NGU-a i *C. trachomatis* preferirao doksiciklin, a u slučaju infekcije *M. genitalium* koristio se produljeni režim liječenja azitromicinom (130). U ostalim je europskim zemljama prevalencija znatno viša. Podatci Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ (NZZJZ) iz perioda 2018.-2021. pokazuju da je rezistencija na makrolide u Hrvatskoj prepoznata u 37,5% do 80% sojeva te je tijekom navedenog razdoblja imala tendenciju rasta (131). Europske zemlje s najvišom zabilježenom rezistencijom su: Norveška (56%), Ujedinjeno Kraljevstvo (74%) te Grenland (100%) (129). Ovakve razlike u proširenosti rezistencije između Švedske i ostatka Europe, čak i među susjednim zemljama, nastale su zbog što su ostale države prihvatile liječenje jednokratnom dozom azitromicina te time potaknule širenje rezistentnih sojeva (128).

Antimikrobna je rezistencija na makrolide u svijetu najviše zastupljena u zemljama zapadnog Pacifika – u Australiji ona iznosi 66%, u Japanu 69%, a u Novom Zelandu 75% (126,129). Preko 50% rezistentnih sojeva prijavljuje i Sjeverna Amerika gdje je prevalencija 57% u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) te 54% u Kanadi. Suprotno tome, u Africi je rezistencija ostala niska. Međutim, broj je radova ograničen te svi istražuju proširenost rezistencije samo u Južnoj Africi koja iznosi 10%. (129).

Osim geografskih razlika u proširenosti, prevalencija makrolidne rezistencije razlikuje se i prema demografskim karakteristikama. Tako je veća učestalost rezistencije zabilježena među muškarcima, u osoba mlađe životne dobi te među pripadnicima MSM populacije (129). Prevalencija rezistentnih sojeva u MSM populaciji kreće se između 73% i 90% (129,132–134), a njihova je izolacija češća iz rektalnih uzoraka (133,135). Također, terapija azitromicinom unutar 12 mjeseci od dijagnoze mikoplazmatske infekcije u MSM populaciji nije značajno povezana s izolacijom rezistentnih sojeva što je vjerojatno posljedica učestalog širenja već postojećih rezistentnih bakterija (132).



Slika 4. Proširenost rezistencije na makrolide u svijetu. Prema: Machalek (2020)

#### 4.3.3. Rezistencija na kinolone

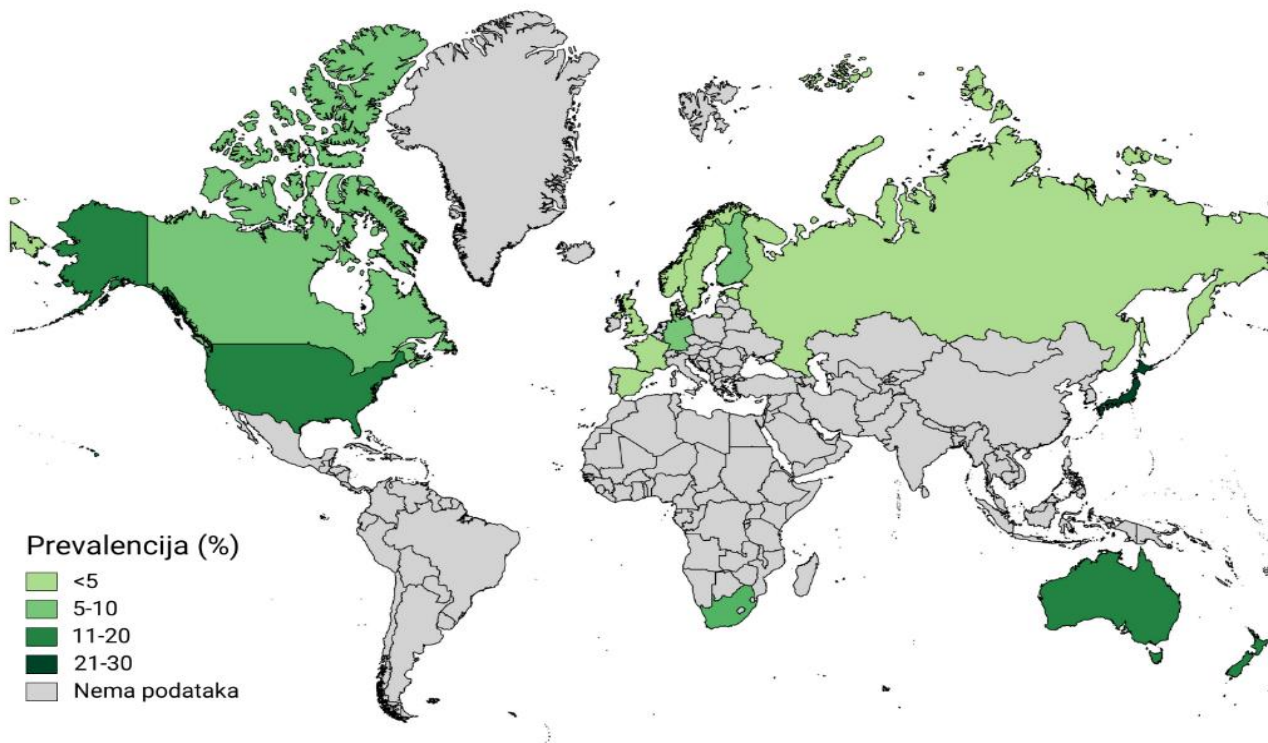
Prema europskim smjernicama za liječenje infekcija uzrokovanih *M. genitalium* (20), fluorokinoloni predstavljaju drugu liniju liječenja ukoliko inicijalna terapija azitromicinom nije bila uspješna ili prvu liniju liječenja kod makrolid rezistentnih sojeva. Najvišu učinkovitost u liječenju infekcije ovom mikoplazmom pokazuje moksifloksacin, fluorokinolon četvrte generacije (136). Iako je i ovaj lijek pokazivao velik terapijski uspjeh, 2013. godine australski je rad po prvi put prepoznao smanjenje u terapijskom odgovoru na terapiju fluorokinolonima te tako prvi prepoznao pojavu rezistencije i na ove lijekove (94).

Mehanizam djelovanja fluorokinolona blokada je bakterijske DNA topoizomeraze II (DNA giraza) i DNA topoizomeraze IV. Na taj se način ometa umnažanje DNA molekula koje je ključno za pravilno dijeljenje bakterija. Zahvaljujući takvom učinku, sami lijekovi mogu dovesti do mutacija u genomu bakterije pa i sami slučajno potaknuti stvaranje rezistencije (136). Mutacije za rezistenciju na fluorokinolone najčešće pogađaju determinirajuće regije za rezistenciju na kinolone (QRDR, eng. quinolone resistance-determining region), posebne lokuse unutar gena koji kodiraju za navedene proteine. Geni koji su najčešće zahvaćeni su *parC*, koji kodira za topoizomerazu IV, i *gyrA*, koji kodira za DNA girazu. Točkaste mutacije u regijama navedenih gena dovode do strukturnih promjena enzima, a time i do promjena veznog mjesta za fluorokinolone zbog čega oni postanu nedjelotvorni (137,138).

Proširenost rezistencije na fluorokinolone u svijetu (slika 5) manja je od rezistencije na makrolide budući da se ovi lijekovi koriste kao rezervni antibiotici u slučajevima kada terapija azitromicinom pokaže neuspjeh. Međutim, kao i za makrolide, najviša se rezistencija bilježi u zemljama zapadnog Pacifika. U Novom Zelandu iznosi 16%, u Australiji 11%, a Japanu ona iznosi i do 30% (129). Ovako visoka stopa rezistencije posljedica je liječenja NGU-a sitafloksacinom (129). Navedeni je fluorokinolon sličan moksifloksacinu te je prema japanskim nacionalnim smjernicama za liječenje NGU-a lijek izbora ukoliko postoji sumnja da je *M. genitalium* uzročnik uretritisa (139). Zahvaljujući širokoj empirijskoj primjeni sitafloksacina u liječenju navedenog sindroma, došlo je do selekcije rezistentnih sojeva (140). Nešto višu prevalenciju rezistencije još pokazuje i SAD s 13% rezistentnih sojeva, dok je u ostalim dijelovima svijeta rezistencija ispod 10%, a najniža je u Europi gdje u prosjeku iznosi oko 3%. Među europskim zemljama, najvišu stopu rezistencije pokazuje Njemačka s 5%, a najnižu Švedska s 2% (129). U Hrvatskoj je, prema



podacima NZZJZ-a, rezistencija na fluorokinolone prepoznata u 4 soja, no 3 od 4 soja istodobno su imali i mutaciju vezanu uz rezistenciju na makrolide (131).



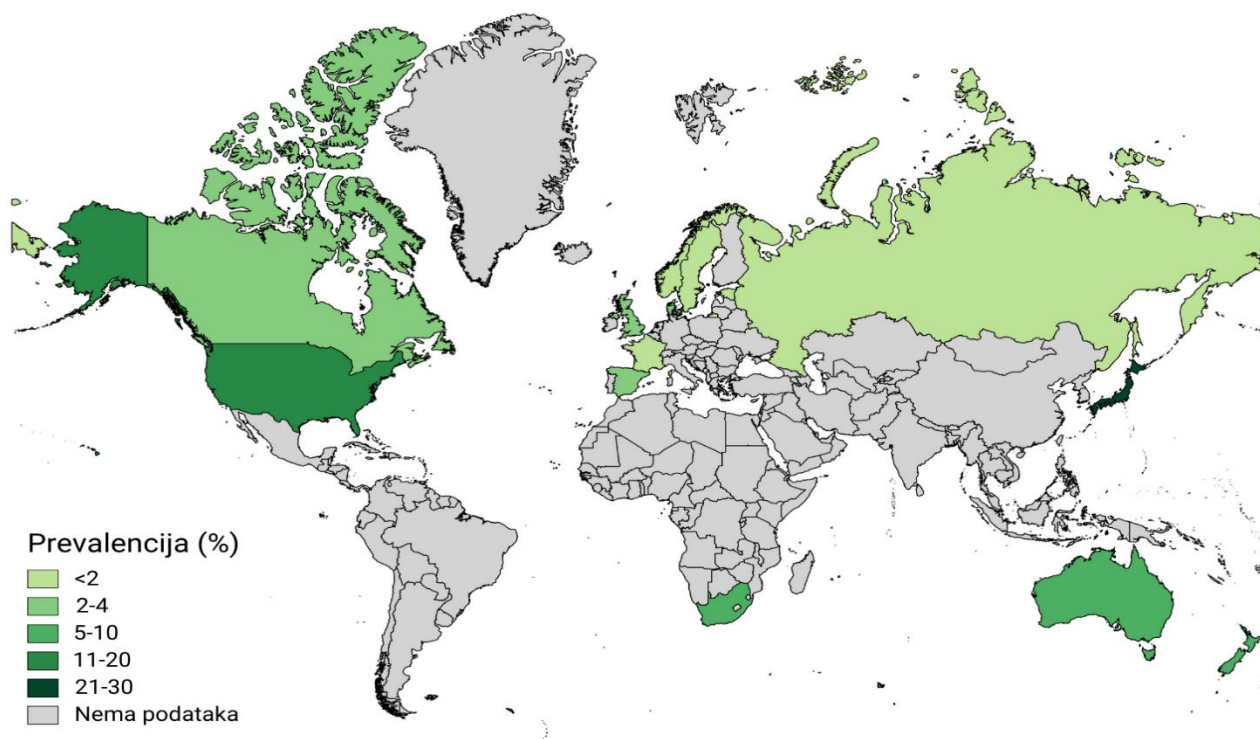
Slika 5. Proširenost rezistencije na kinolone u svijetu. Prema: Machalek (2020)

#### 4.3.4. Istodobna rezistencija na makrolide i kinolone

Pojava istodobne rezistencije na makrolide i kinolone posebno zabrinjava. Infekcije postaju sve teže za liječiti, a izbor mogućih antibiotika se suzuje. Nadalje, još uvijek ne postoje istraživanja koja bi utvrdila učinkovitost antibiotika kao treće linije terapije (20). Iz tog se razloga primjena antibiotika za liječenje infekcija uzrokovanih *M. genitalium* mora racionalnije pripisivati kako bi se usporilo širenje rezistencije.

Iako istraživanja koja opisuju istodobnu rezistenciju još nema dovoljno da se utvrde jasni zaključci, prema dostupnim podacima vidljivo je da proširenost dualne rezistencije prati proširenost rezistencije na kinolone (129). Tako je i u ovom slučaju rezistencija najviše proširena zemljama zapadnog Pacifika (slika 6), među kojima najveću prevalenciju pokazuje Japan s 26% sojeva te SAD s 11%. U Europi je proširenost ovakvih sojeva i dalje niska, oko 1% (129), no

svejedno zahtjeva oprezno praćenje budući da može imati ozbiljne implikacije na izbor moguće antibiotske terapije.



Slika 6. Proširenost istodobne rezistencije na makrolide i kinolone. Prema: Machalek (2020)

#### 4.4. Nove terapijske opcije

Zahvaljujući brzo rastućoj antimikrobnoj rezistenciji, izbor je mogućih terapija za liječenje infekcija *M. genitalium* sve manji. Stoga postoji i velika potreba za istraživanjem novih terapijskih pristupa bilo kombiniranim liječenjem s više antibiotika, bilo upotrebom starijih lijekova, dok se oni novi i učinkovitiji ne razviju (129). Europske smjernice za liječenje *M. genitalium* infekcija već predlažu moguće alternative iako za navedene terapijske režime još nema dovoljno dokaza o njihovoj učinkovitosti (20).

##### 4.4.1. Prenamjena lijekova

Jedan od preporučenih lijekova je pristinamicin. Ovaj je streptogramin zapravo kombinacija dvaju lijekova – pristinamicina IA i pristinamicina IIA, koji pojedinačno pokazuju

bakteriostatsku aktivnost, međutim sinergistički djeluju baktericidno. Oba se spoja vežu za 50S podjedinicu bakterijskog ribosoma te im je učinak nalik makrolidima. Ipak, istraživanje provedeno na uzorku od 114 osoba, kod kojih je prethodno liječenje azitromicinom i moksifloksacinom bilo neuspješno, pokazalo je terapijski uspjeh u 75% slučajeva (97). Slično je istraživanje provedeno i dvije godine kasnije (98) te je pokazalo jednake rezultate. Iako postotak izlječenja nije zadovoljavajući, pristinamicin može predstavljati vrijedan lijek, pogotovo zbog nedostatka mogućih alternativa, kao treća linija terapije, kada prethodna terapija ne daje dobre rezultate (20). Navedeni antibiotik također ima prednost zbog dobre podnošljivosti i niske stope prijave nuspojava, a i siguran je za primjenu u trudnoći, za razliku od fluorokinolona (97). Uz već spomenutu nižu stopu izlječenja, mana je pristinamicina što nije široko dostupan te je u Europi registriran jedino u Francuskoj (20).

Kao moguća treća linija liječenja navodi se i minociklin, lijek iz skupine tetraciklina (20). Iako mu je mehanizam djelovanja jednak doksiciklinu, čini se da različita kemijska struktura ima za posljedicu bolju aktivnost *in vivo* (141). Istraživanje provedeno na 35 osoba koji su prethodno neuspješno liječeni azitromicinom i moksifloksacinom, pokazalo je stopu izlječenja od 71%. Nadalje od 11 pacijenata kod kojih je terapija pristinamicinom bila neučinkovita, minociklin je eradikirao bakteriju u 7 slučajeva (98). Uz to, prikaz slučaja dvojice pacijenata pokazao je terapijski uspjeh minociklina nakon četveromjesečnog i peteromjesečnog neuspješnog režima liječenja azitromicinom, doksiciklinom te moksifloksacinom u različitim dozama (141). Iako postoje ograničeni dokazi o uspješnosti terapije minociklinom, navedeni je lijek dostupniji od prethodno spomenutog pristinamicina te zbog toga može predstavljati vrijednu alternativu u liječenju rezistentnih sojeva *M. genitalium* (141).

#### 4.4.2. Sekvencijska terapija prema nalazu osjetljivosti

Iako doksiciklin nije pokazao željeni terapijski uspjeh, uvidjelo se da ovaj antibiotik ipak dovodi do smanjenja bakterijskog opterećenja, bez selekcije rezistentnih sojeva (142). Ova činjenica je važna budući da je za nekoliko antibiotika, uključujući azitromicin i pristinamicin, pokazano da uspjeh u liječenju izravno ovisi o količini opterećenja (96,97). Stoga se razvio novi terapijski protokol – sekvencijska terapija prema nalazu osjetljivosti (RGST, eng. resistance-guided sequential therapy) (142). Prema RGST-u liječenje se započinje sedmodnevnom kurom

doksiciklina u dozi od 100 mg dvaputa dnevno. Ova se terapija uzima u svrhu redukcije bakterijskog opterećenja dok se čekaju rezultati testiranja na uzročnika infekcije, a ukoliko se izolira *M. genitalium*, provodi se i testiranje osjetljivosti na antibiotike. Po završetku liječenja doksiciklinom, terapija se nastavlja ovisno o rezultatima antimikrobne osjetljivosti – azitromicinom, ukoliko je izolirani soj osjetljiv na makrolide, ili moksifloksacinom, u slučaju makrolidne rezistencije. Ukoliko je izolirani soj istodobno rezistentan na oba navedena antibiotika, terapija se provodi pristinamicinom ili minociklinom, međutim ako ovi lijekovi nisu dostupni, može se probati terapija moksifloksacinom, uz napomenu da se očekuje smanjeni terapijski učinak zbog čega je obavezno provesti TOC (slika 7) (20,143).

Doziranje azitromicina u ovom je slučaju drugačije u odnosu na monoterapiju. Pri RGST-u, liječenje azitromicinom provodi se davanjem 1 g lijeka prvi dan te 500 g dnevno kroz sljedeća tri dana. Na taj je način ukupna doza 2,5 g što je pokazalo značajno manju pojavu *de novo* rezistencija za vrijeme liječenja od uobičajenog produženog režima s 1,5 g azitromicina (144).

Ovakav terapijski protokol pokazao je visoku učinkovitost u eradikaciji *M. genitalium*. Sekvencijska terapija doksiciklinom i azitromicinom dovela je do izlječenja u 96%, dok je terapija doksiciklinom i moksifloksacinom imala terapijski uspjeh u 92% slučajeva (144). Iako je među uzorcima 22% sojeva imalo gene za rezistenciju na kinolone, oni ipak nisu toliko snažno vezani uz *in vivo* otpornost kao što je to u slučaju za makrolide. Budući da moksifloksacin u kombinaciji s doksiciklinom uspijeva prevladati smanjenu osjetljivost, po nalazu gena rezistencije na kinolone ne bi odmah trebalo odustati od primjene ovog antibiotika (144).

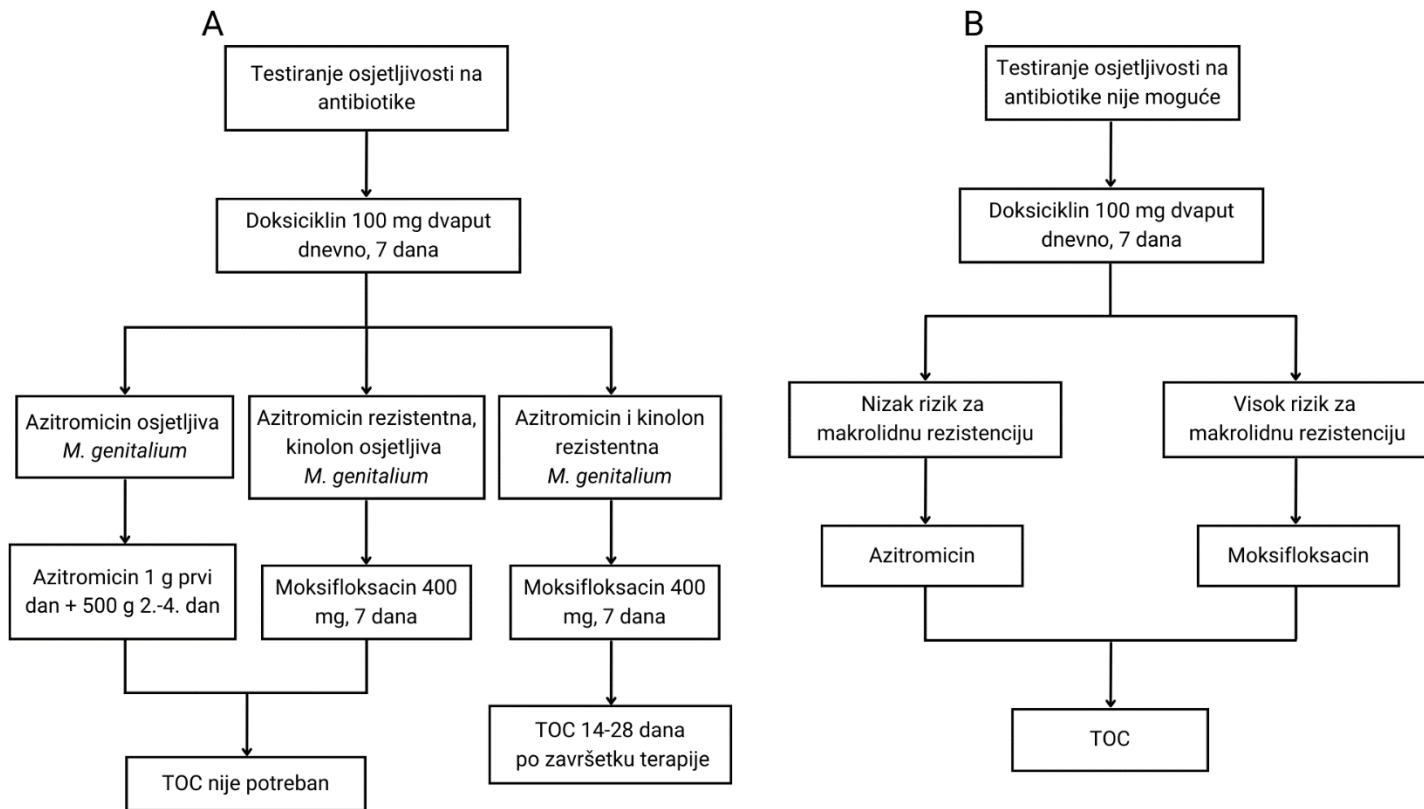
Kako je RGST režim pokazao zadovoljavajući terapijski učinak, uvršten je u nacionalne smjernice za zbrinjavanje spolno prenosivih infekcija Australije i Ujedinjenog Kraljevstva (145,146). Međutim, svi navedeni rezultati nastali su iz opažajnih istraživanja te su za konačnu presudu potrebni kontrolirani klinički pokusi. Usprkos tome, navedeni je protokol uvršten i europske smjernice za liječenje mikoplazmatske infekcije, pogotovo u slučajevima kada se zbog težine simptoma ne mogu čekati rezultati testiranja, već se odmah treba započeti s terapijom (20).

#### 4.4.3. Sekvencijska terapija s obzirom na rizične čimbenike

Potaknuti ovakvim pristupom, skupina španjolskih mikrobiologa predlaže drugačiji režim liječenja, onaj koji je vođen rizičnim čimbenicima (147). Iako hvale RGST, ova skupina znanstvenika tvrdi kako dijagnostičke metode koje omogućuju testiranje osjetljivosti na antibiotike nisu široko dostupne i zbog toga tek mali broj centara omogućava provođenje terapijskog režima prema rezistenciji. U takvim slučajevima, gdje je nedostatak tehnologije ograničavajući faktor, oni predlažu odabir terapije koji se bazira na rizičnim čimbenicima.

Već je navedeno kako je makrolidna rezistencija više proširena među MSM populacijom. Na temelju toga se podataka ova skupina svrstava u visoko rizičnu skupinu za prijenos makrolid rezistentnih sojeva. Stoga se pri uzimanju uzoraka za testiranje na *M. genitalium* odmah započne sa sedmodnevnom kurom doksiciklina od 100 mg dvaput na dan. Ukoliko su rezultati testiranja pozitivni na mikoplazmatsku infekciju, kod pacijenata se procjenjuje postojanje rizičnih faktora, u prvom redu pripadnost MSM populaciji ili nedavno neuspješno liječenje azitromicinom. Ako osoba ne spada u skupinu povećanoga rizika, po završetku terapije doksiciklinom, nastavlja se terapija azitromicinom. Međutim, ukoliko je osoba u skupini povećanoga rizika, tada će se na doksiciklin nastaviti terapija moksifloksacinom. Svakako je u oba slučaja nužno, po završetku antibiotskog liječenja, potvrditi uspješnost terapije TOC-om (slika 7) (147).

Kako ovakav terapijski pristup ne zahtjeva provođenje skupih i ponegdje teško dostupnih dijagnostičkih testova, postoji mogućnost njegove implementacije u siromašnija područja. Međutim, još ne postoje rezultati koji bi zaista pokazali učinkovitost ovoga režima. Također, zbog povećane raširenosti infekcije *M. genitalium* među MSM populacijom, terapija bi prema ovom protokolu značajno favorizirala korištenje moksifloksacina. Ovaj je antibiotik puno skuplji od azitromicina, uz značajnije nuspojave, a javlja se i bojazan od selekcije rezistentnih sojeva što može dodatno potaknuti širenje rezistencije na kinolone. S druge strane, pojava mutacija za rezistenciju na kinolone nije toliko snažno vezana uz klinički neuspjeh, kao što je to s makrolidima, te primjena moksifloksacina kao prve terapijske linije u populaciji s visokim rizikom za makrolidnu rezistenciju jednostavno zaobilazi korak terapijskog neuspjeha koji bi se u toj skupini sigurno dogodio da je prva linija liječenja azitromicin. U konačnici, korištenjem moksifloksacina za bržu eliminaciju na makrolid rezistentnih sojeva moglo bi se usporiti daljnje širenje ove rezistencije među visoko rizičnim skupinama (147).



Slika 7. Hodogram sekvencijske terapije prema nalazu osjetljivosti (A). Prema: Durukan (2020). Hodogram sekvencijske terapije s obzirom na rizične čimbenike (B). Prema: Fernández-Huerta (2020)

## 5. Zaključak

*M. genitalium* emergentni je uzročnik spolno prenosivih infekcija kojega se u kliničkoj praksi često previđa. Upravo zbog toga, primjenom sindromskoga liječenja, došlo je do selekcije rezistentnih sojeva i njihove ubrzane diseminacije u populaciji, posebice među osobama povećanoga rizika.

Kako je jedan od glavnih faktora u širenju rezistencije neadekvatna detekcija *M. genitalium*, ključni postupci kojima bismo to usporili jest osiguravanje učinkovitih metoda otkrivanja ove mikoplazme te njeno uključivanje u obavezno testiranje koje se provodi za vrijeme dijagnostike uzročnika najčešćih genitourinarnih infekcija. Nadalje, trebalo bi prepoznati ograničenja empirijske terapije, i u ovom je slučaju izbjegavati, a naglasak stavljati na uzročno liječenje prema dostupnim smjernicama. Također, u rutinsku bi se praksu trebalo uvesti kontrolno testiranje nakon provedenog antimikrobnog liječenja kojim bismo potvrdili uspješnost terapije. Time bismo na vrijeme prepoznali neadekvatan odgovor na liječenje, poboljšali zbrinjavanje pacijenata te umanjili rizik od daljnjeg prijenosa rezistentnih sojeva.

Za kraj, *M. genitalium* podcijenjen je patogen i zahtjeva povećanu pažnju pri obradi spolno prenosivih infekcija. No, iako je pojava rezistencije u svijetu zabrinjavajuća, ona je ipak dovela do povećanja svijesti o navedenoj bakteriji. Međutim, njena pojava nalaže i potrebu za stalnim praćenjem rezistentnih sojeva u populaciji, kao i daljnja istraživanja koja bi dodatno pojasnila mehanizme rezistencije. Time bi se postojeći terapijski protokoli mogli poboljšati, a razvoj novih bio bi olakšan.

Tek ovakvim sveobuhvatnim pristupom, kojega čine pravovremeno otkrivanje infekcije, provođenje liječenja učinkovitim terapijskim režimom, implementacija TOC-a u svakodnevnoj praksi i redovitim nadzorom nad rezistentnim sojevima, možemo pravilno kontrolirati širenje otpornosti na antibiotike i povećati vjerojatnost uspješnog rješavanja ovoga javnozdravstvenoga problema.

## 6. Zahvale

Prije svega, zahvalio bih svojoj mentorici, prof. dr. sc. Sunčanici Ljubin Sternak, na pomoći, stručnom vodstvu i vrijednim savjetima za vrijeme izrade ovoga rada.

Također, zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na pruženoj podršci, pokazanom razumijevanju te motiviranju za vrijeme studiranja.

Za kraj, veliko hvala najdražoj *Sekciji*. Vi ste ovaj studij učinili zabavnim i nezaboravnim.



## 7. Literatura

1. Riedel S, Morse SA, Mietzner T, Miller S, Hobden JA, Detrick B, i sur., ur. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 28. izd. New York: McGraw Hill Professional; 2019.
2. Sirand-Pugnet P, Citti C, Barré A, Blanchard A. Evolution of mollicutes: down a bumpy road with twists and turns. *Res Microbiol.* 2007;158(10):754-66.
3. Weiskirchen S, Schröder SK, Buhl EM, Weiskirchen R. A beginner's guide to cell culture: practical advice for preventing needless problems. *Cells.* 2023;12(5):682.
4. Tully JG, Cole RM, Taylor-Robinson D, Rose DL. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract. *Lancet.* 1981;317(8233):1288-91.
5. McGowan CL, Totten PA. The unique microbiology and molecular pathogenesis of *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis.* 2017;216(2):382-90.
6. Fraser CM, Gocayne JD, White O, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD, i sur. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science.* 1995;270(5235):397-403.
7. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(3):498-514.
8. Tičić V, Vraneš J, Knežević J, Jarža-Davila N, Celjak MK, Marijan T, i sur. Usporedba zastupljenosti spolno prenosivih patogena u uzorcima prvog mlaza urina muškaraca zagrebačke regije. *Medica Jadertina.* 2019;49(3-4):237-43.
9. Baumann L, Cina M, Egli-Gany D, Goutaki M, Halbeisen FS, Lohrer GR, i sur. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in different population groups: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect.* 2018;94:254-61.
10. Perry MD, Jones S, Bertram A, de Salazar A, Barrientos-Durán A, Schiettekate G, i sur. The prevalence of *Mycoplasma genitalium* (MG) and *Trichomonas vaginalis* (TV) at testing centers in Belgium, Germany, Spain, and the UK using the cobas TV/MG molecular assay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2023;42(1):43-52.
11. Getman D, Jiang A, O'Donnell M, Cohen S. *Mycoplasma genitalium* prevalence, coinfection, and macrolide antibiotic resistance frequency in a multicenter clinical study cohort in the United States. *J Clin Microbiol.* 2016;54(9):2278-83.
12. Andersen B, Sokolowski I, Østergaard L, Møller JK, Olesen F, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence and behavioural risk factors in the general population. *Sex Transm Infect.* 2007;83(3):237-41.
13. Dionne-Odom J, Geisler WM, Aaron KJ, Waites KB, Westfall AO, Van Der Pol B, i sur. High prevalence of multidrug-resistant *Mycoplasma genitalium* in human immunodeficiency virus-infected men who have sex with men in Alabama. *Clin Infect Dis.* 2018;66(5):796-8.

14. Mavedzenge SN, Weiss HA. Association of *Mycoplasma genitalium* and HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*. 2009;23(5):611-20.
15. Cohen CR, Nosek M, Meier A, Astete SG, Iverson-Cabral S, Mugo NR, i sur. *Mycoplasma genitalium* infection and persistence in a cohort of female sex workers in Nairobi, Kenya. *Sex Transm Dis*. 2007;34(5):274-9.
16. Plečko V, Žele Starčević L, Tripković V, Rezo Vranješ V, Skerlev M. *Mycoplasma genitalium*: clinical significance and diagnosis. *Acta Dermatovener Cr*. 2013;21(4):236-40.
17. Plečko V, Žele-Starčević L, Tripković V, Skerlev M, Ljubojević S, Pleško S, i sur. Unusually low prevalence of *Mycoplasma genitalium* in urine samples from infertile men and healthy controls: a prevalence study. *BMJ Open*. 2014;4(8):e005372.
18. Ljubin Sternak S, Meštrović T, Kolarić B, Jarža-Davila N, Marijan T, Vraneš J. Assessing the need for routine screening for *Mycoplasma genitalium* in the low-risk female population: a prevalence and co-infection study on women from Croatia. *Int J Prev Med*. 2017;8:51.
19. Gnanadurai R, Fifer H. *Mycoplasma genitalium*: a review. *Microbiology*. 2020;166(1):21-9.
20. Jensen JS, Cusini M, Gomberg M, Moi H, Wilson J, Unemo M. 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol*. 2022;36(5):641-50.
21. Ljubin Sternak S, Marijan T, Vraneš J. *Mycoplasma genitalium* – uzročnik spolno prenosivih bolesti kojeg se ne smije zanemariti. *Infektološki glasnik*. 2014;34(4):183-7.
22. Ljubin Sternak S, Meštrović T. *Chlamydia trachomatis* and genital mycoplasmas: pathogens with an impact on human reproductive health. *J Pathog*. 2014;2014:1-15.
23. Yueyue W, Feichen X, Yixuan X, Lu L, Yiwen C, Xiaoxing Y. Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: unraveling Ariadne's thread. *Virulence*. 2022;13(1):1161-83.
24. Liao Y, Luo D, Peng K, Zeng Y. Cyclophilin A: a key player for etiological agent infection. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021;105(4):1365-77.
25. Deng X, Dai P, Yu M, Chen L, Zhu C, You X, i sur. Cyclophilin A is the potential receptor of the *Mycoplasma genitalium* adhesion protein. *Int J Med Microbiol*. 2018;308(3):405-12.
26. Liao Y, Deng X, Peng K, Dai P, Luo D, Liu P, i sur. Identification of histone H2B as a potential receptor for *Mycoplasma genitalium* protein of adhesion. *Pathog Dis*. 2021;79(7):ftab053.
27. Alvarez RA, Blaylock MW, Baseman JB. Surface localized glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Mycoplasma genitalium* binds mucin. *Mol Microbiol*. 2003;48(5):1417-25.

28. García-Morales L, González-González L, Querol E, Piñol J. A minimized motile machinery for *Mycoplasma genitalium*. *Mol Microbiol*. 2016;100(1):125-38.
29. Miyata M. Unique centipede mechanism of *Mycoplasma* gliding. *Annu Rev Microbiol*. 2010;64:519-37.
30. Ueno PM, Timenetsky J, Centonze VE, Wewer JJ, Cagle M, Stein MA, i sur. Interaction of *Mycoplasma genitalium* with host cells: evidence for nuclear localization. *Microbiology*. 2008;154(10):3033-41.
31. Li L, Krishnan M, Baseman JB, Kannan TR. Molecular cloning, expression, and characterization of a Ca<sup>2+</sup>-dependent, membrane-associated nuclease of *Mycoplasma genitalium*. *J Bacteriol*. 2010;192(19):4876-84.
32. Cacciotto C, Alberti A. Eating the enemy: mycoplasma strategies to evade neutrophil extracellular traps (nets) promoting bacterial nucleotides uptake and inflammatory damage. *Int J Mol Sci*. 2022;23(23):15030.
33. McGowin CL, Popov VL, Pyles RB. Intracellular *Mycoplasma genitalium* infection of human vaginal and cervical epithelial cells elicits distinct patterns of inflammatory cytokine secretion and provides a possible survival niche against macrophage-mediated killing. *BMC Microbiol*. 2009;9:139.
34. McGowin CL, Radtke AL, Abraham K, Martin DH, Herbst-Kralovetz M. *Mycoplasma genitalium* infection activates cellular host defense and inflammation pathways in a 3-dimensional human endocervical epithelial cell model. *J Infect Dis*. 2013;207(12):1857-68.
35. Iverson-Cabral SL, Manhart LE, Totten PA. Detection of *Mycoplasma genitalium*-reactive cervicovaginal antibodies among infected women. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(10):1783-6.
36. Hakim MS, Annisa L, Jariah ROA, Vink C. The mechanisms underlying antigenic variation and maintenance of genomic integrity in *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma genitalium*. *Arch Microbiol*. 2021;203(2):413-29.
37. Burgos R, Wood GE, Iverson-Cabral SL, Tottena PA. *Mycoplasma genitalium* nonadherent phase variants arise by multiple mechanisms and escape antibody-dependent growth inhibition. *Infect Immun*. 2018;86(4):e00866.
38. Grover RK, Zhu X, Nieuwma T, Jones T, Boreo I, Macleod AS, i sur. A unique human mycoplasma protein that generically blocks antigen-antibody union. *Science*. 2014;343(6171):656-61.
39. Arfi Y, Minder L, Di Primo C, Le Roy A, Ebel C, Coquet L, i sur. MIB-MIP is a mycoplasma system that captures and cleaves immunoglobulin G. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(19):5406-11.

40. Daubenspeck JM, Totten AH, Needham J, Feng M, Balish MF, Atkinson TP, i sur. *Mycoplasma genitalium* biofilms contain poly-GlcNAc and contribute to antibiotic resistance. *Front Microbiol.* 2020;11:585524.
41. Hjorth SV, Björnelius E, Lidbrink P, Falk L, Dohn B, Berthelsen L, i sur. Sequence-based typing of *Mycoplasma genitalium* reveals sexual transmission. *J Clin Microbiol.* 2006;44(6):2078-83.
42. Khosropour CM, Jensen JS, Soge OO, Leipertz G, Unutzer A, Pascual R, i sur. High prevalence of vaginal and rectal *Mycoplasma genitalium* macrolide resistance among female sexually transmitted disease clinic patients in Seattle, Washington. *Sex Transm Dis.* 2020;47(5):321-5.
43. Latimer RL, Vodstrcil L, De Petra V, Fairley CK, Read TRH, Williamson D, i sur. Extragenital *Mycoplasma genitalium* infections among men who have sex with men. *Sex Transm Infect.* 2020;96(1):10-8.
44. Svenstrup HF, Fedder J, Abraham-Peskir J, Birkelund S, Christiansen G. *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa. *Hum Reprod.* 2003;18(10):2103-9.
45. Luki N, Lebel P, Boucher M, Doray B, Turgeon J, Brousseau R. Comparison of polymerase chain reaction assay with culture for detection of genital mycoplasmas in perinatal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17(4):255-63.
46. Justel M, Alexandre I, Martínez P, Sanz I, Rodriguez-Fernandez A, Fernandez I, i sur. Vertical transmission of bacterial eye infections, Angola, 2011-2012. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(3):471-3.
47. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Symptomatic urethritis is more prevalent in men infected with *Mycoplasma genitalium* than with *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Infect.* 2004;80(4):289-93.
48. Wetmore CM, Manhart LE, Lowens MS, Golden MR, Whittington WLH, Xet-Mull AM, i sur. Demographic, behavioral, and clinical characteristics of men with nongonococcal urethritis differ by etiology: a case-comparison study. *Sex Transm Dis.* 2011;38(3):180-6.
49. Horner PJ, Martin DH. *Mycoplasma genitalium* infection in men. *J Infect Dis.* 2017;216 Suppl 2:S396-S405.
50. Wikström A, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. *Sex Transm Infect.* 2006;82(4):276-79.
51. Karami AA, Javadi A, Salehi S, Nasirian N, Maali A, Shadkam MB, i sur. Detection of bacterial agents causing prostate infection by culture and molecular methods from biopsy specimens. *Iran J Microbiol.* 2022;14(2):161-7.
52. Mo X, Zhu C, Gan J, Wang C, Wei F, Gong W, i sur. Prevalence and correlates of *Mycoplasma genitalium* infection among prostatitis patients in Shanghai, China. *Sex Health.* 2016;13(5):474-9.

53. Mändar R, Raukas E, Türk S, Korrovits P, Punab M. Mycoplasmas in semen of chronic prostatitis patients. *Scand J Urol Nephrol*. 2005;39(6):479-82.
54. Horner PJ, Taylor-Robinson D. Association of *Mycoplasma genitalium* with balanoposthitis in men with non-gonococcal urethritis. *Sex Transm Infect*. 2011;87(1):38-40.
55. Ito S, Tsuchiya T, Yasuda M, Yokoi S, Nakano M, Deguchi T. Prevalence of genital mycoplasmas and ureaplasmas in men younger than 40 years-of-age with acute epididymitis. *Int J Urol*. 2012;19(3):234-8.
56. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Infect*. 2005;81(1):73-8.
57. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2015;61(3):418-26.
58. Bjartling C, Osser S, Persson K. *Mycoplasma genitalium* in cervicitis and pelvic inflammatory disease among women at a gynecologic outpatient service. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206(6):476.e1-8.
59. Yu J, Zhou Y, Luo H, Su X, Gan T, Wang J, i sur. *Mycoplasma genitalium* infection in the female reproductive system: diseases and treatment. *Front Microbiol*. 2023;14:1098276.
60. Moore KR, Tomar M, Taylor BD, Gyax SE, Hilbert DW, Baird DD. *Mycoplasma genitalium* and bacterial vaginosis-associated bacteria in a non-clinic-based sample of African American women. *Sex Transm Dis*. 2021;48(2):118-22.
61. Nye MB, Harris AB, Pherson AJ, Cartwright CP. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in women with bacterial vaginosis. *BMC Womens Health*. 2020;20(1):62.
62. Cox C, Watt AP, McKenna JP, Coyle PV. *Mycoplasma hominis* and *Gardnerella vaginalis* display a significant synergistic relationship in bacterial vaginosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016;35(3):481-7.
63. Cohen CR, Mugo NR, Astete SG, Odondo R, Manhart LE, Kiehlbauch JA, i sur. Detection of *Mycoplasma genitalium* in women with laparoscopically diagnosed acute salpingitis. *Sex Transm Infect*. 2005;81(6):463-6.
64. Yusuf H, Trent M. Management of pelvic inflammatory disease in clinical practice. *Ther Clin Risk Manag*. 2023;19:183-92.
65. Seña AC, Lee JY, Schwebke J, Philip SS, Wiesenfeld HC, Rompalo AM, i sur. A silent epidemic: the prevalence, incidence and persistence of *Mycoplasma genitalium* among young, asymptomatic high-risk women in the United States. *Clin Infect Dis*. 2018;67(1):73-9.

66. Read TRH, Murray GL, Danielewski JA, Fairley CK, Doyle M, Worthington K, i sur. Symptoms, sites, and significance of *Mycoplasma genitalium* in men who have sex with men. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(4):719-27.
67. Bissessor M, Tabrizi SN, Bradshaw CS, Fairley CK, Hocking JS, Garland SM, i sur. The contribution of *Mycoplasma genitalium* to the aetiology of sexually acquired infectious proctitis in men who have sex with men. *Clin Microbiol Infec*. 2016;22(3):260-5.
68. de Vries HJC, Nori AV, Kiellberg Larsen H, Kreuter A, Padovese V, Pallawela S, i sur. 2021 European guideline on the management of proctitis, proctocolitis and enteritis caused by sexually transmissible pathogens. *J Eur Acad Dermatol*. 2021;35(7):1434-43.
69. Ong JJ, Aung E, Read TRH, Fairley CK, Garland SM, Murray G, i sur. Clinical characteristics of anorectal *Mycoplasma genitalium* infection and microbial cure in men who have sex with men. *Sex Transm Dis*. 2018;45(8):522-6.
70. Carlin E, Flew S. Sexually acquired reactive arthritis. *Clin Med*. 2016;16(2):193-9.
71. Chrisment D, Machelart I, Wirth G, Lazaro E, Greib C, Pellegrin JL, i sur. Reactive arthritis associated with *Mycoplasma genitalium* urethritis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;77(3):278-9.
72. Taylor-Robinson D, Gilroy CB, Horowitz S, Horowitz J. *Mycoplasma genitalium* in the joint of two patients. *Euro J Clin Microbiol Infect Dis*. 1994;13(12):1066-9.
73. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015;21(4):411-26.
74. Tsevat DG, Wiesenfeld HC, Parks C, Peipert JF. Sexually transmitted diseases and infertility. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(1):1-9.
75. Baczynska A, Funch P, Fedder J, Knudsen HJ, Birkelund S, Christiansen G. Morphology of human fallopian tubes after infection with *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis*-in vitro organ culture study. *Hum Reprod*. 2007;22(4):968-79.
76. Rekha S, Nooren M, Kalyan S, Mohan M, Bharti M, Monika R, i sur. Occurrence of *Mycoplasma genitalium* in the peritoneal fluid of fertile and infertile women with detailed analysis among infertile women. *Microb Pathog*. 2019;129:183-6.
77. Adesola Ajani T, Oluwasola TAO, Ajani MA, Bakare RA. The prevalence of, and risk factors for, *Mycoplasma genitalium* infection among infertile women in Ibadan: a cross-sectional study. *Int J Reprod Biomed*. 2017;15(10):613-18.
78. Keck C, Gerber-Schäfer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M. Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update*. 1998;4(6):891–903.

79. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, i sur. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. *BMC Infect Dis*. 2007;7:129.
80. Al-Sweih NA, Al-Fadli AH, Omu AE, Rotimi VO. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Ureaplasma urealyticum* infections and seminal quality in infertile and fertile men in Kuwait. *J Androl*. 2012;33(6):1323-9.
81. Jurstrand M, Jensen JS, Magnuson A, Kamwendo F, Fredlund H. A serological study of the role of *Mycoplasma genitalium* in pelvic inflammatory disease and ectopic pregnancy. *Sex Transm Infect*. 2007;83(4):319-23.
82. Ashshi AM, Batwa SA, Kutbi SY, Malibary FA, Batwa M, Refaat B. Prevalence of 7 sexually transmitted organisms by multiplex real-time PCR in fallopian tube specimens collected from Saudi women with and without ectopic pregnancy. *BMC Infect Dis*. 2015;15:569.
83. Frenzer C, Egli-Gany D, Valley LM, Valley AJ, Low N. Adverse pregnancy and perinatal outcomes associated with *Mycoplasma genitalium*: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2022;98(3):222-7.
84. Tonkić M, Sušić E, Goić-Barišić I, Kaliterna V, Tambić Andrašević A. Bakteriološka dijagnostika infekcija mokraćnog i spolnog sustava: smjernice za mikrobiološku dijagnostiku Hrvatskog društva za kliničku mikrobiologiju Hrvatskog liječničkog zbora. Zagreb: Hrvatsko društvo za kliničku mikrobiologiju; 2017.
85. Manhart LE, Gillespie CW, Lowens MS, Khosropour CM, Colombara DV, Golden MR, i sur. Standard treatment regimens for nongonococcal urethritis have similar but declining cure rates: a randomized controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2013;56(7):934-42.
86. Schwebke JR, Rompalo A, Taylor S, Seña AC, Martin DH, Lopez LM, i sur. Reevaluating the treatment of nongonococcal urethritis: emphasizing emerging pathogens – a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis*. 2011;52(2):163-70.
87. Mena LA, Mroczkowski TF, Nsuami M, Martin DH. A randomized comparison of azithromycin and doxycycline for the treatment of *Mycoplasma genitalium*-positive urethritis in men. *Clin Infect Dis*. 2009;48(12):1649-54.
88. Anagrus C, Loré B, Jensen JS. Treatment of *Mycoplasma genitalium*: observations from a Swedish STD clinic. *PLoS One*. 2013;8(4):e61481.
89. Björnelius E, Anagrus C, Bojs G, Carlberg H, Johannisson G, Johansson E, i sur. Antibiotic treatment of symptomatic *Mycoplasma genitalium* infection in Scandinavia: a controlled clinical trial. *Sex Transm Infect*. 2008;84(1):72-6.
90. Horner P, Ingle SM, Garrett F, Blee K, Kong F, Muir P, i sur. Which azithromycin regimen should be used for treating *Mycoplasma genitalium*: a meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2018;94(1):14-20.

91. Bradshaw CS, Jensen JS, Tabrizi SN, Read TRH, Garland SM, Hopkins CA, i sur. Azithromycin failure in *Mycoplasma genitalium* urethritis. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(7):1149-52.
92. Jernberg E, Moghaddam A, Moi H. Azithromycin and moxifloxacin for microbiological cure of *Mycoplasma genitalium* infection: an open study. *Int J STD AIDS.* 2008;19(10):676-9.
93. Terada M, Izumi K, Ohki E, Yamagishi Y, Mikamo H. Antimicrobial efficacies of several antibiotics against uterine cervicitis caused by *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Chemother.* 2012;18(3):313-7.
94. Couldwell DL, Tagg KA, Jeffreys NJ, Gilbert GL. Failure of moxifloxacin treatment in *Mycoplasma genitalium* infections due to macrolide and fluoroquinolone resistance. *Int J STD AIDS.* 2013;24(10):822-8.
95. Gundevia Z, Foster R, Jamil MS, McNulty A. Positivity at test of cure following first-line treatment for genital *Mycoplasma genitalium*: follow-up of a clinical cohort. *Sex Transm Infect.* 2015;91(1):11-3.
96. Bissessor M, Tabrizi SN, Twin J, Abdo H, Fairley CK, Chen MY, i sur. Macrolide resistance and azithromycin failure in a *Mycoplasma genitalium*-infected cohort and response of azithromycin failures to alternative antibiotic regimens. *Clin Infect Dis.* 2015;60(8):1228-36.
97. Read TRH, Jensen JS, Fairley CK, Grant M, Danielewski JA, Su J, i sur. Use of pristinamycin for macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* infection. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(2):328-35.
98. Doyle M, Vodstrcil LA, Plummer EL, Aguirre I, Fairley CK, Bradshaw CS. Nonquinolone options for the treatment of *Mycoplasma genitalium* in the era of increased resistance. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(8):ofaa291.
99. Gossé M, Nordbø SA, Pukstad B. Evaluation of treatment with two weeks of doxycycline on macrolide-resistant strains of *Mycoplasma genitalium*: a retrospective observational study. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):1-7.
100. World Health Organization [internet]. Geneva: World Health Organization; c2023. Antimicrobial resistance; 17.11.2021. [pristupljeno 3.6.2023.].  
Dostupno na: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
101. World Health Organization [internet]. Geneva: World Health Organization; c2023. Ten threats to global health in 2019; 2019. [pristupljeno 4.6.2023.].  
Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>



102. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, i sur. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81.
103. Spagnolo F, Trujillo M, Dennehy JJ. Why do antibiotics exist? *mBio.* 2021;12(6):e0196621.
104. Reygaert WC. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol.* 2018;4(3):482-501.
105. Errington J. L-form bacteria, cell walls and the origins of life. *Open Biol.* 2013;3(1):120143.
106. Corona F, Martinez JL. Phenotypic resistance to antibiotics. *Antibiotics.* 2013;2(2):237-55.
107. Horne T, Orr VT, Hall JP. How do interactions between mobile genetic elements affect horizontal gene transfer? *Curr Opin Microbiol.* 2023;73:102282.
108. Quan J, Hu H, Zhang H, Meng Y, Liao W, Zhou J, i sur. Investigating possible interspecies communication of plasmids associated with transfer of third-generation cephalosporin, quinolone, and colistin resistance between simultaneously isolated *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol Spectr.* 2023;11(3):e0355422.
109. Lázár V, Nagy I, Spohn R, Csörgo B, Györkei Á, Nyerges Á, i sur. Genome-wide analysis captures the determinants of the antibiotic cross-resistance interaction network. *Nat Commun.* 2014;5:4352.
110. Ghai I. A barrier to entry: examining the bacterial outer membrane and antibiotic resistance. *Appl Sci.* 2023;13(7):4238.
111. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13(1):42-51.
112. Du D, Wang-Kan X, Neuberger A, van Veen HW, Pos KM, Piddock LJV, i sur. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(9):523-39.
113. Kumar S, Mukherjee MM, Varela MF. Modulation of bacterial multidrug resistance efflux pumps of the major facilitator superfamily. *Int J Bacteriol.* 2013;2013:204141.
114. Khan ZA, Siddiqui MF, Park S. Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics.* 2019;9(2):49.
115. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters [Internet]. Version 13.0. 2023. Dostupno na: <http://www.eucast.org/>
116. Banerjee R, Patel R. Molecular diagnostics for genotypic detection of antibiotic resistance: current landscape and future directions. *JAC Antimicrob Resist.* 2023;5(1):dlad018.

117. Anjum MF, Zankari E, Hasman H. Molecular methods for detection of antimicrobial resistance. *Microbiol Spectr*. 2017;5(6).
118. Taylor-Robinson D, Bebear C. Antibiotic susceptibilities of mycoplasmas and treatment of mycoplasmal infections. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40(5):622-30.
119. Gaurivaud P, Laigret F, Bove JM. Insusceptibility of members of the class *Mollicutes* to rifampin: studies of the *Spiroplasma citri* RNA polymerase beta-subunit gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40(4):858-62.
120. Gautier-Bouchardon AV. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma spp*. *Microbiol Spectr*. 2018;6(4).
121. Björnelius E, Magnusson C, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* macrolide resistance in Stockholm, Sweden. *Sex Transm Infect*. 2017;93(3):167-8.
122. Salado-Rasmussen K, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* testing pattern and macrolide resistance: a Danish nationwide retrospective survey. *Clin Infect Dis*. 2014;59(1):24-30.
123. Pond MJ, Nori AV., Witney AA, Lopeman RC, Butcher PD, Sadiq ST. High prevalence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* in nongonococcal urethritis: the need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. *Clin Infect Dis*. 2014;58(5):631-7.
124. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in *Mycoplasma genitalium*-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. *Clin Infect Dis*. 2008;47(12):1546-53.
125. Pereyre S, Guyot C, Renaudin H, Charron A, Bébéar C, Bébéar CM. *In vitro* selection and characterization of resistance to macrolides and related antibiotics in *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(2):460-5.
126. Sethi S, Zaman K, Jain N. *Mycoplasma genitalium* infections: current treatment options and resistance issues. *Infect Drug Resist*. 2017;10:283-92.
127. Horner PJ, Blee K, Falk L, Van Der Meijden W, Moi H. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. *Int J STD AIDS*. 2016;27(11):928-37.
128. Fernández-Huerta M, Barberá MJ, Serra-Pladevall J, Esperalba J, Martínez-Gómez X, Centeno C, i sur. *Mycoplasma genitalium* and antimicrobial resistance in Europe: a comprehensive review. *Int J STD AIDS*. 2020;31(3):190-7.
129. Machalek DA, Tao Y, Shilling H, Jensen JS, Unemo M, Murray G, i sur. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(11):1302-14.
130. Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, i sur. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep*. 2021;70(4):80-2.

131. Ljubin Sternak S. *Mycoplasma genitalium* – novoprepoznati patogen. Izlaganje na: CROCMID2022; 20.-23.10.2022.; Šibenik, Hrvatska.
132. McIver R, Jalocon D, McNulty A, Jeffreys NJ, Chen SCA, Power M, i sur. Men who have sex with men with *Mycoplasma genitalium*-positive nongonococcal urethritis are more likely to have macrolide-resistant strains than men with only female partners: a prospective study. *Sex Transm Dis.* 2019;46(8):513-7.
133. Couldwell DL, Jalocon D, Power M, Jeffreys NJ, Chen SCA, Lewis DA. *Mycoplasma genitalium*: high prevalence of resistance to macrolides and frequent anorectal infection in men who have sex with men in western Sydney. *Sex Transm Infect.* 2018;94(6):406–10.
134. Wang L, Li Z, Wan C, Tian X, Liu H, Li Y. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection with antimicrobial resistance mutations among gay sex workers in China. *Int J STD AIDS.* 2023;34(8):518-24.
135. Barberá MJ, Fernández-Huerta M, Jensen JS, Caballero E, Andreu A. *Mycoplasma genitalium* macrolide and fluoroquinolone resistance: prevalence and risk factors among a 2013-2014 cohort of patients in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis.* 2017;44(8):457-62.
136. van der Schalk TE, Braam JF, Kusters JG. Molecular basis of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(4):105911.
137. Braam JF, Zondag HCA, van Dam AP, de Vries HJC, Vergunst C, Hetem D, i sur. Prevalence of fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* among clients of two sexual health centres in the Netherlands: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 2022;12(12):e066368.
138. Murray GL, Plummer EL, Bodiya K, Vodstrcil LA, Huaman JL, Danielewski JA, i sur. GyrA mutations in *Mycoplasma genitalium* and their contribution to moxifloxacin failure: time for the next generation of resistance-guided therapy. *Clin Infect Dis.* 2023;76(12):2187-95.
139. Hamasuna R, Yasuda M, Takahashi S, Uehara S, Kawai Y, Miyairi I, i sur. The JAID/JSC guidelines to clinical management of infectious disease 2017 concerning male urethritis and related disorders. *J Infect Chemother.* 2021;27(4):546-54.
140. Deguchi T, Ito S, Yasuda M, Sato Y, Uchida C, Sawamura M, i sur. Surveillance of the prevalence of macrolide and/or fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in Japan. *J Infect Chemother.* 2018;24(11):861-7.
141. Glaser AM, Geisler WM, Ratliff AE, Xiao L, Waites KB, Gaisa M. Two cases of multidrug-resistant genitourinary *Mycoplasma genitalium* infection successfully eradicated with minocycline. *Int J STD AIDS.* 2019;30(5):512-4.
142. Read TRH, Fairley CK, Murray GL, Jensen JS, Danielewski J, Worthington K, i sur. Outcomes of resistance-guided sequential treatment of *Mycoplasma genitalium* infections: a prospective evaluation. *Clin Infect Dis.* 2019;68(4):554-60.

143. Sweeney EL, Whiley DM, Murray GL, Bradshaw CS. *Mycoplasma genitalium*: enhanced management using expanded resistance-guided treatment strategies. *Sex Health*. 2022;19(4):248-54.
144. Durukan D, Read TRH, Murray G, Doyle M, Chow EPF, Vodstrcil LA, i sur. Resistance-guided antimicrobial therapy using doxycycline–moxifloxacin and doxycycline–2.5 g azithromycin for the treatment of *Mycoplasma genitalium* infection: efficacy and tolerability. *Clin Infect Dis*. 2020;71(6):1461-8.
145. Ong JJ, Bourne C, Dean JA, Ryder N, Cornelisse VJ, Murray S, i sur. Australian sexually transmitted infection (STI) management guidelines for use in primary care 2022 update. *Sex Health*. 2022;20(1):1-8.
146. Soni S, Horner P, Rayment M, Pinto-Sander N, Naous N, Parkhouse A, i sur. British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with *Mycoplasma genitalium* (2018). *Int J STD AIDS*. 2019;30(10):938-50.
147. Fernández-Huerta M, Serra-Pladevall J, Pich OQ, Barberá MJ, Espasa M. From resistance-guided to risk-guided antimicrobial therapy in *Mycoplasma genitalium*. *Sex Transm Dis*. 2020;47(6):409-11.

## 8. Životopis

Rođen sam 24. studenoga 1998. godine u Zagrebu gdje sam pohađao osnovnu i srednju školu. Gimnaziju Tituša Brezovačkog završavam 2017. godine te iste godine upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme studija, u akademskoj godini 2021./2022. radio sam kao demonstrator na predmetu „Klinička propedeutika“, a u akademskoj godini 2022./2023. ulazim u vodstvo Studentske sekcije za infektologiju. Kao član vodstva sekcije, imao sam priliku sudjelovati u organizaciji nekoliko projekata, od kojih posebno ističem multidisciplinarni simpozij *Abeceda hepatitisa*. Područja interesa u medicini su mi klinička mikrobiologija, infektologija te imunologija.