

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko - technologická

Onemocnění způsobená *Mycoplasma genitalium*,
laboratorní diagnostika a terapie

Bakalářská práce

2014

Markéta Šotolová

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta Šotolová**
Osobní číslo: **C09316**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Onemocnění způsobená Mycoplasma genitalium, laboratorní diagnostika a terapie**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Zpracujte literární rešerši obsahující:

1. Charakteristika Mycoplasma genitalium
2. Onemocnění, které způsobuje, včetně patogeneze
3. Epidemiologie
4. Laboratorní diagnostika
5. Možnosti terapie a prevence

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **ca 30 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Radek Sleha

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **3. října 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.



doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2011

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne: 14.7. 2014

Markéta Šotolová

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala panu Mgr. Radku Slehovi za odborné vedení a cenné rady, které mi pomohly při tvorbě této práce. Také bych mu ráda poděkovala za strávený čas věnovaný této práci. Dále bych chtěla moc poděkovat celé své rodině za veškerou podporu při studiu. A v neposlední řadě taky Kájovi za všechno co pro mě během studia udělal, za jeho přístup a doučování. Jsem mu za to moc vděčná.

Anotace

Bakalářská práce se zabývá patogenní bakterií *Mycoplasma genitalium*, která způsobuje onemocnění urogenitálního traktu. V práci jsou uvedeny informace o morfologii, taxonomii, patogenezí a onemocněních, která *Mycoplasma genitalium* způsobuje. Rovněž jsou popsány postupy laboratorní diagnostiky, léčby a prevence.

Klíčová slova

Mycoplasma genitalium, infekce, laboratorní diagnostika, léčba a prevence

Annotation

This bachelor thesis deals with the pathogenic bacteria *Mycoplasma genitalium*, which causes diseases of the urogenital tract. The work also provides information on the morphology, taxonomy, pathogenesis and laboratory diagnosis, treatment and prevention methods.

Key words

Mycoplasma genitalium, infection, laboratory diagnosis, treatment and prevention

Seznam použitých zkratek

ATB	antibiotikum
AZM	azithromycin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzymová imunoanalýza (z angl. Enzyme-Linked Immuno – Sorbent Assay)
HIV	virus lidského imunodeficitu (z angl. Human Immunodeficiency Virus)
HIV +	HIV pozitivní
HIV -	HIV negativní
IL-1 β	interleukin-1 β
IL-6	interleukin 6
LAMPs	lipidy asociované s membránovými proteiny (z angl. Lipid-associated membrane proteins)
<i>M.</i>	<i>Mycoplasma</i>
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MXF	moxifloxacin
NAATs	testy amplifikace nukleových kyselin (z angl. Nucleic acid amplification tests)
NGU	negonokoková uretritida
OHR	organický peroxid reduktáza (z angl. Organic hyperoxide reductas)
PBMC	Mononukleární buňky periferní krve (z angl. peripheral blood mononucleated cell)
PCR	polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase Chain Reaction)
PPLO	pneumonii podobné organismy (z angl. pleuropneumonia-like organism)

qPCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce (z angl. quantitative PCR)
STD	sexuálně přenosné choroby (z angl. Sexually transmitted diseases)
rRNA	ribozomální ribonukleová kyselina
TMA	transkripce zprostředkovaná amplifikace (z angl. Transcription mediated Amplification)
TNF- α	tumor necrosis factor- alfa
tRNA	Transferová ribozomální kyselina

Obsah

1. Úvod.....	11
1.1. Historie	12
1.2. Taxonomie	12
1.3. Morfologie a buněčné dělení	13
1.4. Genetické vlastnosti.....	14
1.5. Antigenní struktury a faktory virulence.....	15
1.6. Biochemické vlastnosti a citlivost k vnějším podmínkám	16
2. Patogeneze.....	16
2.1. Adheze na hostitelskou buňku	17
2.2. Produkce cytokinů	17
2.3. Imunologická odpověď	18
3. Onemocnění způsobená <i>M. genitalium</i>.....	18
3.1. Přenos a výskyt	18
3.2. Infekce urogenitálního traktu.....	19
3.2.1. Onemocnění vyskytující se u mužů.....	19
3.2.2. Onemocnění vyskytující se u žen	20
3.3. Ostatní infekce	21
3.3.1. Vliv <i>M. genitalium</i> na průběh infekce HIV.....	21
3.3.2. Vliv <i>M. genitalium</i> na plodnost a souvislost s dalšími onemocněními	22
4. Laboratorní diagnostika.....	23
4.1. Vyšetřovaný materiál.....	23
4.2. Přímá diagnostika	23
4.2.1. Mikroskopie.....	23
4.2.2. Kultivační vyšetření	24
4.2.3. Molekulárně biologické metod.....	25

4.2.4 Ostatní metody průkazu	26
4.3. Nepřímá diagnostika	27
5. Léčba a prevence.....	27
5.1. Citlivost k antimikrobiálním látkám	27
5.2. Prevence.....	31
6. Závěr.....	32
7. Seznam použité literatury.....	33

1. Úvod

Mycoplasma (M.) genitalium je sexuálně přenosný patogen, způsobující infekce urogenitálního traktu u mužů i žen. Mezi nejčastější projevy lze zařadit především akutní a chronické uretritidy. U žen způsobuje endometritidy, zánětlivá onemocnění pánve, pochvy a vejcovodů. Následkem urogenitálních infekcí vyvolaných *M. genitalium* mohou být poruchy reprodukce až neplodnost mužů i žen.

Kultivace mykoplazmat je velice náročná, vzhledem k jejich vysokým růstovým požadavkům. Provádí se nejčastěji na PPLO živných půdách. Pro pozorování buněčné morfologie mykoplazmat je nutno užít elektronového mikroskopu. V současné době nalézají v diagnostice *M. genitalium* stále většího uplatnění metody molekulárně biologické, především polymerázová řetězová reakce. V diagnostice lze také použít nepřímých metod. Nejčastěji je pro průkaz specifických protilátek volena metoda ELISA.

V léčbě *M. genitalium* jsou využívány tetracyklinová a makrolidová antibiotika. Problémem je narůstající rezistence mykoplazmat vůči uvedeným antimikrobiálním látkám, která byla zaznamenána také u *M. genitalium*. Vhodnou alternativou jsou fluorochinolony, které působí baktericidně.

Cílem bakalářské práce bylo vytvořit literární rešerši zaměřenou na *M. genitalium*, zahrnující infekce způsobené tímto patogenem, jeho laboratorní diagnostiku, možnosti terapie a prevence.

1.1. Historie

První zmínka o mykoplazmatech byla publikována v roce 1898, kdy Nocard a Roux poprvé izolovali *M. mycoides* ze skotu (Nocard a Roux, 1898). V roce 1937 byla popsána první zpráva o prokázané infekci vyvolané mykoplazmaty u člověka. Jednalo se pravděpodobně o *M. hominis*, které izolovali Dienes a Edsall z abscesu Bartholinské žlázy (Dienes *et al.*, 1937).

M. genitalium bylo poprvé izolováno v roce 1981 v souvislosti s negonokokovou uretritidou (NGU) u mužů (Tully *et al.*, 1981).

Z důvodů nepřítomnosti buněčné stěny, vysoké kultivační náročnosti, byla mykoplazmata zprvu považována za virové částice (Meiklejohn *et al.*, 1945). V 60. letech 20. století byla definitivně zařazena mezi prokaryota, a to na základě schopnosti růstu na bezbuněčných médiích (Chanock *et al.*, 1962).

1.2. Taxonomie

Mykoplazmata byla původně označována jako pleuropneumonia-like organism (PPLO). Taxonomicky se zařazují do třídy *Mollicutes*. Název je odvozen z latinského jazyka *mollis*-měkké a *cutis*-kůže (Waites *et al.*, 2009).

Taxonomie této třídy byla revidována na základě analýzy 16S rRNA. Třída *Mollicutes* v současnosti obsahuje čtyři čeledě. Čeleď *Mycoplasmataceae*, která zahrnuje patogeny způsobující infekce u lidí a zvířat. Dále pak *Acholeplasmataceae*, z nichž většina infikuje zvířata, rostliny a hmyz. *Anaeroplasmataceae* je čeleď, která se skládá z obligátních anaerobů, vyskytujících se především u ovcí a skotu. Poslední skupinou je *Enteroplasmataceae*, jejíž zástupci infikují hmyz a rostliny (Stülke *et al.*, 2009).

Nejvíce patogenů, způsobujících infekce u lidí, je z třídy *Mollicutes*, rodu *Mycoplasma*. Jedná se především o původce infekcí respiračního nebo urogenitálního traktu (Pitcher *et al.*, 2005). Nejvýznamnějšími patogenními druhy mykoplazmat vyskytující se u člověka jsou *M. hominis*, *M. genitalium* a *M. pneumoniae*.

Tabulka č. 1: Taxonomické zařazení *M. genitalium* (Tully *et al.*, 1993)

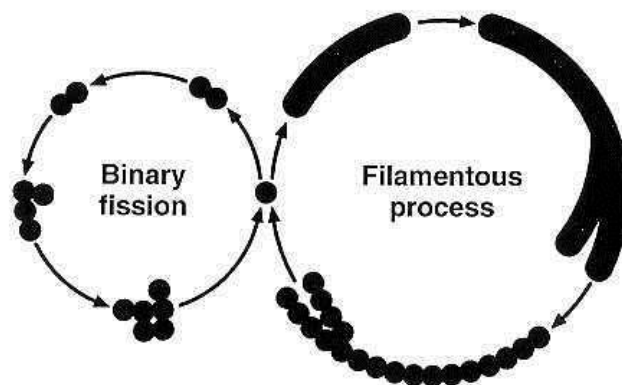
Třída	<i>Mollicutes</i>
Řád	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod	<i>Mycoplasma</i>
Druh	<i>Mycoplasma genitalium</i>

1.3. Morfologie a buněčné dělení

Mykoplazmata jsou nejmenší prokaryotické buňky, pro něž je typická absence buněčné stěny. Ta je nahrazena třívrstevnou membránou, složenou z fosfolipidů, proteinů a cholesterolu. Nepřítomnost buněčné stěny vede k charakteristickým biologickým vlastnostem mykoplazmat, jako je značná plasticita buněk a pleomorfní charakter buněk. Mykoplazmata se nebarví dle Grama (Quinn *et al.*, 1994).

Dalším typickým znakem mykoplazmat jsou velmi malé rozměry bakteriálních buněk. Jejich velikost se pohybuje v rozmezí 200 - 300 nm, což jim společně s plastickým charakterem buněk umožňuje procházet i bakteriologickými filtry (Robinson *et al.*, 2011).

Všechny druhy mykoplazmat se množí binárním dělením. Ačkoliv *M. genitalium* má tvar baňky, bylo zaznamenáno, že dělení cytoplazmatické membrány neprobíhá synchronizovaně s replikací jádra. Opožděným dělením vznikají mnohojaderná vlákna a řetízky, které se mohou opět rozpadat na základní elementy. Tento replikační cyklus je příčinou značné pleomorfie mykoplazmat, jak je znázorněno na Obr. č. 1 (Bednář *et al.*, 1996).



Obrázek č. 1: Schématické znázornění rozmnožování mykoplazmat.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Přestože binární dělení je klíčovým faktorem při samotné replikaci, nejsou jasné faktory, které tento proces koordinují. U eubakterií byl nalezen FtsZ protein, jenž se nachází v místě separace. Tento protein byl také prokázán u *M. genitalium* nebo *M. pneumoniae* (Robinson *et al.*, 2011). FtsZ protein pracuje v raném stádium dělení buněk a nachází se na vnitřní straně buněčné membrány (Miyata *et al.*, 1999).

1.4. Genetické vlastnosti

Délka dvoušroubovice DNA v genomu *M. genitalium* dosahuje délky 580 kb (Sethi *et al.*, 2012). Kompletní sekvenování genomu *M. genitalium* bylo provedeno v roce 1995. *M. genitalium* má nejmenší velikost genomu ze všech dosud vyšetřených mykoplazmat (Peterson *et al.*, 1995).

Obsah cytosinu a guaninu v genomu *M. genitalium* činí přibližně 32 %. Pro srovnání, u *M. pneumoniae* je tato hodnota okolo 40 % (Robindson *et al.*, 2011).

Navzdory své malé velikosti bylo prokázáno, že 4,7 % z celkové genomové sekvence zaujímá MgPa adhezivní operon a jeho opakující se sekvence. Tyto opakované sekvence nazývané MgPars, nejsou uspořádány pohromadě, ale jsou rozptýlené po celém genomu (Svenstrup *et al.*, 2002). Bylo prokázáno, že umístění a variabilita

trinukleotidových tandemových opakování (TTRs) v MgPa operonu a MgPars, má značný význam na kolonizaci hostitelské buňky a také na schopnost vyhnout se imunitnímu systému hostitele (Liang Ma *et al.*, 2012).

Studie autorů Lonbi Li *et al.* (2010) ukazuje, že MG_186 představuje zástupce mykoplazmových nukleáz. Stejně jako ostatní nukleázy mykoplazmat i MG_186 vyžaduje Ca^{2+} pro svou optimální aktivitu. Zatímco Mn^{2+} a Zn^{2+} její aktivitu inhibují. Dále bylo prokázáno, že Mg^{2+} nestimuluje u MG_186 enzymatickou činnost (Lonbi Li *et al.*, 2010).

M. genitalium má velmi omezenou velikost genomu, což má za důsledek absenci některých genů, které jsou běžně přítomné u ostatních bakterií. Je známo, že geny které kódují antioxidanty, jako jsou superoxid-distimutáza nebo peroxid-kataláza u *M. genitalium* chybí, dále že obsahuje MG_454, což je protein s vlastnostmi jako organický peroxid reduktáza (OHR)(Saikolappan *et al.*, 2009).

M. genitalium je původcem urogenitálních a respiračních infekcí a je pravděpodobné, že tento patogen při kolonizaci sliznic u obou prostředí, narazí na oxidační stres. Je známo, že mykoplazmata produkují reaktivní formy kyslíku (ROS), které jim slouží jako mechanismus virulence. Díky této skutečnosti je *M. genitalium* schopno bránit se proti oxidačnímu stresu (Saikolappan *et al.*, 2009).

1.5. Antigenní struktury a faktory virulence

Na povrchu membrány *M. genitalium* se nachází řada důležitých antigenů, které slouží především k adhezi na hostitelskou buňku a k deaktivaci imunitního systému hostitele. Tyto proteiny způsobují neschopnost spustit reakci imunitního systému proti *M. genitalium*, které má poté schopnost tvořit chronickou infekci.

Důležitý význam v antigenní struktuře zaujímají MgPa a P110, což jsou imunogenní adhezivní proteiny. Tyto antigeny hrají významnou roli v imunitních reakcích (Sluijter *et al.*, 2009). Pomocí elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že se fragment C-terminální části MgPa nachází na povrchu *M. genitalium* resp. ve špičce struktury a účastní se adheze (Svenstrup *et al.*, 2002).

Nejvýznamnějšími membránovými proteiny jsou MgpB a MgpC, které jsou zakódovány v jednom expresivním místě na MgPa operonu. Bylo zjištěno, že antigenní variace těchto proteinů mohou pomoci *M. genitalium* vyhnout se imunitní odpovědi a tvořit tak trvalé infekce. Kdy MgpB má funkci přilnavosti na povrch buněk a tím se stává nejvíce imunogenním proteinem *M. genitalium* (Liang Ma *et al.*, 2012).

U *M. genitalium* zatím nebyla prokázána produkce toxinu jako u *M. pneumoniae*. Nicméně byl identifikován protein MG-186, který má vliv na schopnost *M. genitalium* rozkládat buněčné nukleové kyseliny hostitele jako zdroj nukleotidových prekurzorů pro svůj růst. Peroxid vodíku i superoxid, které jsou produkty metabolismu mykoplazmat, mají vliv na hostitelskou buňku a poškození tkání (Sethi *et al.*, 2012).

1.6. Biochemické vlastnosti a citlivost k vnějším podmínkám

Mykoplazmata jsou fakultativně anaerobní, takže ke svému množení nepotřebují O₂. Optimální pH pro růst mykoplazmat je 7,5 (Quinn *et al.*, 1994).

Významnou složkou membrány u mykoplazmat je cholesterol, který napomáhá k osmotické stabilitě membrány, což přispívá k tomu, že snášíjí izotonické prostředí. Mykoplazmata jsou také velmi náchylná na vyschnutí a jsou citlivá na teploty vyšší než 50°C (Bednář *et al.*, 1999).

M. genitalium je schopno metabolizovat glukózu za produkce organických kyselin. Tohoto faktu se využívá hlavně k detekci (He *et al.*, 2011). Růst *M. genitalium* v médiích s obsahem glukózy se projevuje změnou pH. Je-li v médiu přítomen acidobazický indikátor, projevuje se pokles pH barevnou změnou. *M. genitalium* není schopno metabolizovat arginin (Robinson *et al.*, 2011).

2. Patogeneze

Charakteristickou schopností mykoplazmat je indukovat chronické infekce, které mohou přetrvávat i přes správné ukončení antimikrobiální léčby. *M. genitalium* vyvolává infekce především na sliznici urogenitálního traktu. Z hlediska patogeneze patří mezi nejvýznamnější u *M. genitalium* schopnost přilnout k hostitelské buňce pomocí adhezínů,

intracelulární lokalizace, a schopnost vyhnout se imunitní odpovědi hostitele podle antigenní variace (Sethi *et al.*, 2012).

McGowin *et al.*, (2007) uvedli, že intracelulární lokalizace umožňuje schopnost přežití u *M. genitalium* v urogenitálním traktu ženy. Rychlá intracelulární lokalizace má za následek množení a tvorbu prozánětlivých cytokinů (McGowin *et al.*, 2007).

2.1. Adheze na hostitelskou buňku

V přilnavosti u *M. genitalium* hraje nemalou roli jeho tvar připomínající baňku, kde v samotné špičce se nacházejí adhezivní struktury. U *M. genitalium* bylo identifikováno 21 proteinů, ale jen málo z nich bylo charakterizováno jako adhezivní proteiny (Sethi *et al.*, 2011). Proteiny P140 a P110 jsou považovány v současné době za hlavní cytoadhezivní proteiny u *M. genitalium* (Burgos *et al.*, 2006). Ve studii Bugros *et al.*, (2007) provedli funkční analýzu proteinu MG312 a prokázali, že tento strukturální protein je zapojen nejen do adheze, ale také se podílí na klouzavém pohybu. Další studie by mohly přispět k lepšímu pochopení buněčného pohybu u *M. genitalium* (Burgos *et al.*, 2007).

Adheze neboli přilnavost je velice složitý proces. Na povrchu *M. genitalium* se nachází MgPa protein, který je zapojen do procesu adheze k hostitelské epiteliální buňce (Burgos *et al.*, 2012). MgPa je nejvíce imunogenní protein u *M. genitalium* (Svenstrup *et al.*, 2002). U *M. genitalium* byly detekovány také P140 a P110, což jsou cytoadhezivní proteiny, které se rovněž nachází na povrch buněk. Tyto proteiny jsou imunogenní u lidí i zvířat (Sethi *et al.*, 2011).

2.2. Produkce cytokinů

Na povrchu mykoplazmat se nacházejí lipidy asociované s membránovými proteiny tzv. LAMPs. Tyto proteiny mohou být zodpovědné za interakce s různými složkami okolního prostředí. LAMPs mohou aktivovat buňky imunitního systému produkující celou řadu prozánětlivých cytokinů. Mohou také indukovat apoptózu a nekrózu (Jun He *et al.*, 2009)

LAMPs jsou schopné vyvolat v lidské monocytární linii THP-1 produkci proánětlivých cytokinů jako je tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α) a IL-1 β a IL-6 (You *et al.*, 2007).

Biologické účinky cytokinů jsou pleiotropní, na jedné straně mohou vyvolat vrozené imunitní mechanismy k odstranění patogenu, na straně druhé produkce cytokinů ovlivňuje průběh zánětlivé reakce (Xiaoxing You *et al.*, 2007).

2.3. Imunologická odpověď

Na membráně mykoplazmat se nacházejí dva druhy proteinů. Jedná se o integrální a periferní membránové proteiny.

Imunologické reakce do značné míry přispívají k patogenezi *M. genitalium*. Při primární infekci dochází ke zvýšení množství polymorfonukleárních leukocytů (PML). Při testování epitelových buněk *in vitro* bylo zjištěno, že *M. genitalium* indukuje rychlou buněčnou invazi, prostřednictvím imunogenního proteinu MG_149. Dochází k aktivaci NF-kappa B nukleárního faktoru přes Toll-Like receptory (Schimizu *et al.*, 2008).

McGowin *et al.*, (2007) ve své studii testovali citlivost *M. genitalium* na fagocytózu makrofágy. Test byl proveden s kmeny MG37 a M2300. Tyto kmeny byly vystaveny lidským monocytům a makrofágům (MDM). Postupně došlo ke ztrátě ribozomů a ztrátě životaschopnosti. Došli tak k závěru, že *M. genitalium* je náchylné k fagocytóze (McGowin *et al.*, 2007).

3. Onemocnění způsobená *M. genitalium*

3.1. Přenos a výskyt

M. genitalium řadíme mezi pohlavně přenosná onemocnění, které v posledních letech vykazují zvýšený nárůst (Manhart *et al.*, 2010). Infekce způsobené *M. genitalium* zasahují urogenitální trakt mužů i žen. Podle WHO lze *M. genitalium* detekovat u 1-3% sexuálně aktivních mužů i žen. *M. genitalium* bylo detekováno, již u velmi mladých jedinců, a to z důvodu jejich časných pohlavních zkušeností. Časté střídání sexuálních

partnerů je také rizikovým faktorem pro získání infekce způsobené *M. genitalium* (Manhart *et al.*, 2010). Tosh *et al.*, (2007) informovali, že s každým dalším sexuálním partnerem se riziko detekce *M. genitalium* zvýší téměř o 45%. Byl zaznamenán pouze jeden případ o přenosu infekce z matky na dítě vertikální cestou (Taylor-Robinson, 2007).

3.2. Infekce urogenitálního traktu

3.2.1. Onemocnění vyskytující se u mužů

M. genitalium je jedním z možných původců způsobující NGU. Jedná se o infekci močové trubice, která je způsobena i jinými patogeny než je *Neisseria gonorrhoeae*, mezi něž řadíme i *M. genitalium*. Infekce močové trubice tzv. uretritidy jsou běžnými sexuálně přenosnými chorobami (STD). Základním symptomem u této infekce je pálení při močení. Dále se u této infekce mohou objevit hnisavé výtoky z penisu, časté nutkání na močení a bolesti v oblasti břicha a podbřišku. Bylo prokázáno, že při nesprávné léčbě se akutní NGU může změnit na chronickou formu. Toho onemocnění se vyznačuje také častou recidivou. *M. genitalium* bylo spojeno s 6,5 násobným zvýšením rizika uretritidy, což podtrhuje roli tohoto infekčního agens v etiologii NGU (Totten *et al.*, 2001).

U mužů byla také prokázána spojitost *M. genitalium* se zánětem žaludu a předkožky penisu zvaným (balanoposthitis). Navzdory tomu, že se *M. genitalium* podílí na chronických NGU, nebyla doposud prokázána spojitost s chronickými prostatitidami (Cazanave *et al.*, 2012). Klinické studie prokázaly, že *M. genitalium* může být příčinou akutní epididymitidy, což je zánět nadvarlete. Onemocnění může mít akutní i chronickou formu. Zánět se může projevovat mírně, až velmi bolestivě. Šourek může být oteklý, teplý a může mít i rudou barvu. U tohoto onemocnění se může objevit také horečka a nevolnost (Robinson *et al.*, 2011). *M. genitalium* bylo také detekováno v souvislosti s prostatitidami (Ross *et Jersen*, 2006).

Prostatitida je onemocnění a mezi základní příznaky patří pálení a dráždění při močení. Mohou se objevit také urogenitální, pánevní nebo rektální bolesti. Někdy je spojována i se sexuální dysfunkcí. Mezi patogeny způsobující dané onemocnění řadíme i *M. genitalium* (Lipsky *et al.*, 2010).

3.2.2. Onemocnění vyskytující se u žen

M. genitalium má také spojitost s infekcemi horní části pohlavního ústrojí (Sethi *et al.*, 2012). PID neboli pánevní zánětlivé onemocnění je klinický syndrom, který je způsoben šířením mikroorganismů z dolní do horní části pohlavního traktu. Více bakterií, které naleznete u bakteriální vaginózy, může způsobit PID.

Short *et al.*, (2009) vydali studii, kde porovnávali klinické příznaky a klinické vlastnosti při mikrobiální etiologii u populace žen s klinickým podezřením na PID. Jak tato studie naznačuje, ženy s infekcí způsobenou *M. genitalium* mohou mít méně symptomatickou PID (Short *et al.*, 2009).

Endometritida je zánětlivé onemocnění děložní sliznice, které se také může vyskytovat v akutní a chronické formě. Cohen *et al.*, (2002) prokázali, že *M. genitalium* je schopno zapříčinit akutní endometritidu. V této studii bylo testováno 115 žen, a v polovině případů byla endometritida potvrzena. Dalším testováním bylo zjištěno, že u 9 % žen bylo dané onemocnění způsobené *M. genitalium*. Toto onemocnění je úzce spjato s cervicitidou (Cohen *et al.*, 2002).

Cervicitida, která se také řadí mezi STD, je u žen jedno z nejčastějších onemocnění způsobené *M. genitalium* (Robinson *et al.*, 2011). Jedná se o zánět děložního hrdla bakteriálního původu. Mezi symptomy zánětu děložního čípku patří abnormální vaginální krvácení (intermenstruální, krvácení po styku, menopausální), výtok, dyspareunie, může se také objevit vaginální bolest a tlaky v podbříšku (McGowin *et al.*, 2011). Neléčená cervicitida zvyšuje riziko infekce pánevní zánětlivé nemoci a díky chronické iritaci se může podílet i na etiopatogenezi cervikální dysplazie a rakoviny děložního čípku (Muñoz *et al.*, 2003).

Bylo provedeno několik studií zabývajících se infekcí *M. genitalium* u těhotných žen (Taylor-Robinson 2007). Prevalence *M. genitalium* v těhotenství se pohybuje v rozmezí od 0,7 % - 8,7 %. Nebyl doposud prokázán vztah mezi *M. genitalium* a mimoděložním těhotenstvím. Negativní vliv *M. genitalium* na zdraví novorozenců infikovaných matek nebyl doposud prokázán (Cazanave *et al.*, 2012).

DNA mykoplazmat byla nalezena ve tkáních s nádorem vaječníků v 59%. Jednalo se o 15 kmenů mykoplazmat. *In vitro* může *M. genitalium* způsobit epiteliální změnu lidských vejcovodů (Idahl *et al.*, 2011).

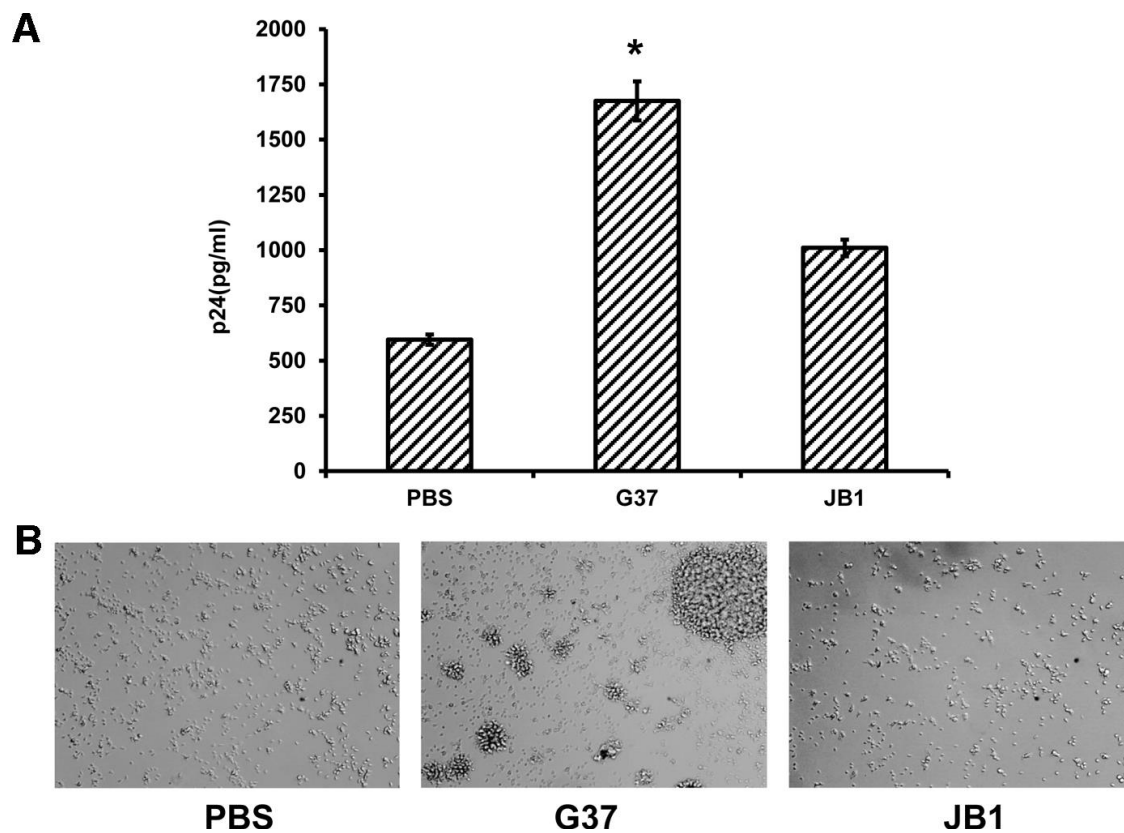
3.3. Ostatní infekce

3.3.1. Vliv *M. genitalium* na průběh infekce HIV

Martinelli *et al.* (1998) sledovali vliv *M. genitalium* na infekci HIV. V nedávné době bylo *M. genitalium* mnohem více často nalezeno v močové trubici a konečníku u HIV+ mužů, než u HIV- pacientů (Martinelli *et al.*, 1998). Nové studie ukazují, že je pravděpodobné, že *M. genitalium* má vliv na virus HIV (Das *et al.*, 2014).

Během sexuálního kontaktu, dojde k přenosu HIV. Jestliže se virus nachází ve spermatu, prochází tak přes genitální-slizniční bariéry v ženském reprodukčním traktu a infikuje buňky v subepiteliální lamina propria. V urogenitálním traktu, je zánět částečně zapříčiněn STD patogeny, mezi něž řadíme i *M. genitalium*. Infekce těmito patogeny indukuje sekreci prozánětlivých cytokinů, které vedou k příčině vzniku cervicitidy nebo bakteriální vaginózy. Tyto okolnosti mohou ohrozit epiteliální bariéru v urogenitálním traktu a umožňují tak HIV-1 dosažení cílových buněk. Test by prováděn s HIV-1_{BA-L}, jedná se o R5-tropní laboratorní kmen HIV. Bylo prokázáno, že *M. genitalium* je schopno indukovat sekreci prozánětlivých cytokinů v epiteliálních buňkách. *M. genitalium* je schopno infikovat lidskou endocervikální buněčnou linii End1/E6E7. Tím dochází ke snížení integrity bariéry a zvyšuje riziko průniku HIV (Das *et al.*, 2014).

Je zajímavé poznamenat, že expozice mononukleárních buněk periferní krve (PBMC) na epitelové buňky infikované *M. genitalium*, zvyšuje množení HIV v PBMC. Je pravděpodobné, že to může být i vlivem cytokinů vylučovaných interakcí *M. genitalium* s hostitelskou buňkou. Studie byla testována na kmenech *M. genitalium* a to konkrétně na G37 a JB1. *M. genitalium* G37 napomáhá rychlejší replikaci HIV viru. Obrázek č. 2(A) ukazuje, že HIV-infikované PBMC vystavené kmenu G37 produkují mnohem více replikovaných virů 5 dnů po infekci, než u kmenu JB1 a u PBS. Tato G37-specifická elevace v produkci viru byla také spojena s výraznou přilnavostí a hromaděním se PBMC, jak je patrné z obr. č. 2(B) (Das *et al.*, 2014).



Obrázek č. 2: Vliv *M. genitalium* na HIV-1 (Das *et al.*, 2014).

3.3.2. Vliv *M. genitalium* na plodnost a souvislost s dalšími onemocněními

Bylo prokázáno, že *M. genitalium* má vliv na mužskou i ženskou plodnost (McGowin *et al.*, 2011; Svenstrup *et al.*, 2003). U mužů má vliv na pohyblivost spermií. Spermie, které jsou ještě schopné pohybu a jsou infikované *M. genitalium* mohou u žen zapříčinit záněty horní části pohlavního ústrojí u žen. Jak již bylo řečeno, *M. genitalium* způsobuje PID, což má za následek poškození vejcovodů a následnou neplodnost ženy (Svenstrup *et al.*, 2003, Robinson *et al.*, 2011).

Svenstrup *et al.* (2003) prokázali, že je *M. genitalium* schopné adhezace na všechny části spermie, jedná se o hlavu, spojovací oddíl i bičík. *M. genitalium* po vazbě na spermie zapříčiní jejich aglutinaci. Tato adheze má také vliv na pohyblivost spermií.

U žen byly potvrzeny důkazy, že *M. genitalium* má vliv na zánět vejcovodů, což následně může způsobit trvalé poškození vejcovodů a tedy neplodnost ženy. V nedávné studii polských žen bylo prokázáno, že *M. genitalium* bylo častěji detekováno z cervikálních stěrů u neplodných žen, v porovnání se zdravými ženami v reprodukčním věku (McGowin *et al.*, 2011). Ještě není úplně prokázáno, zda *M. genitalium* po průniku do dělohy a vejcovodů kolonizuje řasinkový epitel a způsobuje tak neplodnost ženy. Tato informace bude předmětem dalšího zkoumání (Svenstrup *et al.*, 2003).

Spojitosť *M. genitalium* byla prokázána také u sexuálně získaných revmatoidních artritid (SARA) a u Reiterovy nemoci. Tato onemocnění se vyskytují převážně u mužů, kteří prodělávají či již prodělali NGU. U žen je výskyt velmi nepatrný. Při léčbě se využívá antimikrobiálních látek a v kombinaci s nimi se pacientovi předepisují i nesteroidní antirevmatika (Chrisment *et al.*, 2013; Robinson *et al.*, 2011).

4. Laboratorní diagnostika

4.1. Vyšetřovaný materiál

Pro průkaz *M. genitalium* se nejčastěji používají tampónové stěry z uretry u mužů, vaginální výtěry a endocervikální stěry žen. Lze použít také močové sedimenty nebo ejakulát (Hamasuna, 2013).

4.2. Přímá diagnostika.

4.2.1. Mikroskopie

Pro mikroskopické stanovení mykoplazmat je nutné užít elektronovou mikroskopii. Pro *M. genitalium* je typický tvar baňky jak je patné na obr. č. 3.

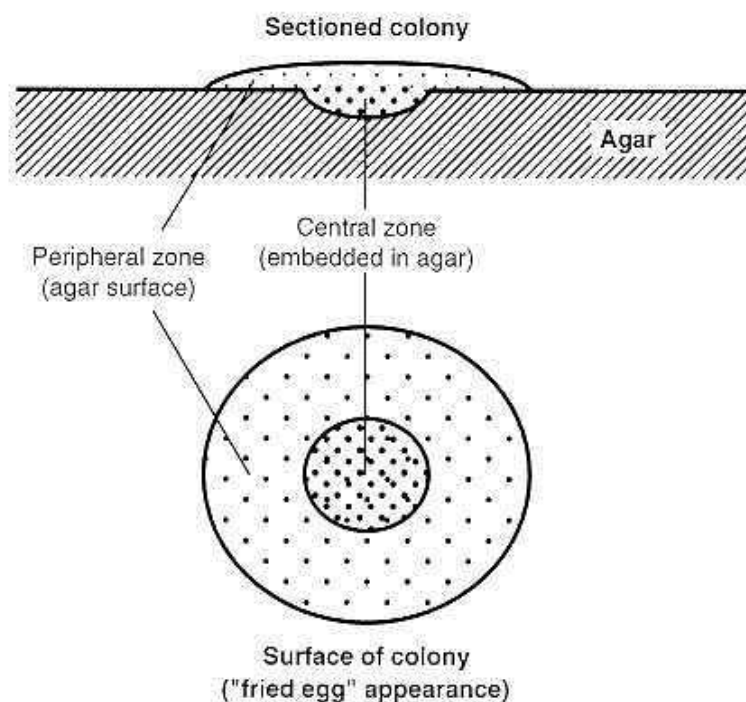


Obrázek č. 3: Buněčná morfolgie *M. genitalium* zachycené transmisivní elektronovou mikroskopií (Robinson *et al.*, 2011).

4.2.2. Kultivační vyšetření

Mykoplazmata řadíme mezi fakultativně anaerobní bakterie, která jsou kultivačně velmi náročná. K jejich pěstování jsou nejčastěji využívány PPLO agary a bujóny s obsahem infuze z hovězích srdcí, půdy jsou dále obohacovány o kvasničný extrakt a koňské sérum. Pro potlačení růstu možné doprovodné mikroflóry se do půd přidává octan thalný a ampicilin. Při kultivaci *M. genitalium* se využívá skutečnosti, že je schopno fermentovat glukózu za vzniku kyselin. Tím dojde ke změně pH v médiu, kde je přítomna fenolová červeň, což způsobí barevnou změnu z červené na žlutou (He *et al.*, 2011).

Mykoplazmata inkubujeme při teplotě 37°C a jelikož se jedná o fakultativní anaeroby, použijeme 5% CO₂. *M. genitalium* má na PPLO agaru velmi pomalý růst a je velmi obtížné ho kultivovat. Oproti jiným mykoplazmatům, inkubace může trvat až 8 týdnů (Plečko *et al.*, 2013). Kolonie jsou asi 0,5 mm velké s charakteristickým vzhledem tzv. sázeného vejce (Obr. č. 4). Střední část kolonie je vnořena do média a má tmavou barvu, zatímco periferní část roste pouze na povrchu média (Quinn *et al.*, 1994).



Obrázek č. 4: Růst mykoplazmat na pevných půdách

<http://intranet.tdmu.edu.te.ua>

Jako nejúčinnější metoda byla v roce 1994 použita tzv. vero kultivace (Hamana, 2013). Jedná se o kultivaci s živými buňkami. Touto metodou bylo *M. genitalium* úspěšně izolováno z výtěru z močové trubice a krku, dále pak z močového sedimentu (Hamana *et al.*, 2007).

4.2.3. Molekulárně biologické metod

Pro identifikaci *M. genitalium* se využívají testy amplifikace nukleových kyselin (NAATs). Jsou známy různé technologie patřící do skupiny NAATs. K určení *M. genitalium* je nejčastěji volena metoda polymerázová řetězová reakce (PCR) a transkripční zprostředkovaná amplifikace (TMA) (Shipitsyna *et al.*, 2010).

Jednou z biologických metod pro stanovení *M. genitalium* je již zmíněná PCR. Jedná se o metodu, kdy dochází k mnohonásobným replikacím krátkých specifických

úseků DNA a k detekci je použita gelová elektroforéza. Pro stanovení *M. genitalium* byla použita i metoda real-time PCR z důvodu větší citlivosti a rychlosti oproti klasické PCR.

Real-time PCR neboli kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR) je užitečným nástrojem pro stanovení *M. genitalium*. Jedná se o metodu, kdy se stanovuje relativní množství DNA ve vzorku (Müller *et al.*, 2012).

Většina PCR testů je založena na detekci sekvencí v MgPa adhezinů genu *M. genitalium*. Některé části genu MgPa jsou však velmi variabilní (Shipitsyna *et al.*, 2010). Gen 16S rRNA je také používán jako cíl stanovení *M. genitalium* metodou PCR (Jensen *et al.*, 2003).

Dutro *et al.*, (2003) vyvinuli vysoce výkonný a specifický PCR test na detekci *M. genitalium*. Test MgPa-IMW PCR byl 100% shodný (50 pozitivních a 50 negativních) s Southern-blottingem na bázi PCR s cervikálními vzorky. Obdobně, tento test byl 89% shodný s Southern-blottingem u vzorků testující mužskou moč. Jednalo se o 64 vzorků, z nichž bylo 25 pozitivních, 32 negativní. Pouze v sedmi případech se výsledky lišily. Stanovení MgPa-IMW je citlivá a specifická metoda pro detekce *M. genitalium* ve vzorcích pacientů a měla by usnadnit rozsáhlý screening pro tento organismus (Dutro *et al.*, 2003).

Jako alternativu k metodě PCR je možno použít TMA. Cílem této metody je vyrábět velké množství kopií cílové sekvence nukleové kyseliny. Pro detekci *M. genitalium* je test zaměřen na přítomnost 16S rRNA ve vzorku. Při použití TMA dochází k produkci 100-1000 kopií RNA za cyklus, což přispívá k větší citlivosti ve srovnání se standardní PCR (Shipitsyna *et al.*, 2010).

4.2.4 Ostatní metody průkazu

M. genitalium bylo detekováno i pomocí bezdrátového magneto-elastického imunosenzoru. Součástí testu je magneto-elastická páska, na které jsou umístěny polyklonální protilátky po obou stranách. Specifická vazba *M. genitalium* na povrch imunosenzoru má za následek snížení rezonanční frekvence, což umožňuje detekci tohoto patogenu ve vzorcích. (Bo He *et al.*, 2011).

4.3. Nepřímá diagnostika

V nepřímé diagnostice je sledován průkaz specifických protilátek. Nejčastější používanou metodou je metoda ELISA. Zásadní význam u nepřímých metod má sledování dynamiky tvorby protilátek.

K detekci přítomnosti *M. genitalium* byly využity i vaginální point-of-care testy. Bylo prokázáno, že zvýšení vaginálního pH je spojeno s přítomností tohoto patogenu. Je zřejmé, že ženy s přítomností aminů mají nižší pravděpodobnost infekčního onemocnění spojeného s *M. genitalium*. Vaginální pH testy a testy aminů jsou levné a široce dostupné nástroje a mohou tak pomoci k přímé péči o ženy se záněty pochvy (Huppert *et al.*, 2013).

5. Léčba a prevence

5.1. Citlivost k antimikrobiálním látkám

Z důvodu absence buněčné stěny jsou mykoplazmata přirozeně rezistentní na beta-laktamová antibiotika (ATB), jako například penicilin nebo ampicilin (Bednář *et al.*, 1999).

Mezi ATB, která nejčastěji volíme při léčbě onemocnění způsobených *M. genitalium*, řadíme tetracykliny, makrolidy nebo fluorochinolony. Tetracyklinová a makrolidová ATB patří do skupiny bakteriostatických ATB (Hamasuna, 2013 vol. 19).

Tetracykliny jsou obecně širokospektrá ATB, která se po průniku do buňky váží na 30S podjednotku ribozomu a brání tak vazbě komplexu aminoacyl - tRNA na příslušné místo ribozomu (Chopra *et al.*, 2008). Běžně používané ATB u NGU je doxycyklin (Jensen, 2009).

Makrolidy difundují do bakterií a dochází k vazbě na 50S podjednotku ribozomu. Dojde ke vzniku peptidické vazby, která brání uvolnění tRNA. Mezi běžně používaná ATB řadíme především azithromycin nebo erytromycin (Hagiwara *et al.*, 2011).

Fluorochinolony, patřící do skupiny bakteriocidních ATB, inhibují syntézu DNA tím, že blokují enzym gyrázu. Některé druhy fluorochinolonů, jako sitafloxacin a moxifloxacin, mají silnější účinky proti *M. genitalium*. Bylo prokázáno, že při terapii mají daleko lepší účinnost než doxycyklin (Mena *et al.*, 2009). Do této skupiny ATB patří také Gatifloxacin (GFLX). Byla zjištěna vysoká míra účinnosti u tohoto ATB. Z 18 pacientů s NGU měli pouze 3 po řádné léčbě pořad pozitivní výsledky na přítomnost *M. genitalium*. Jednalo se tedy o 83% úspěšnost tohoto ATB. V poslední době však dochází ke zvyšování rezistence i vůči fluorochinolovým ATB (Hamasuna, 2013).

Rezistence vůči ATB se stala velkým problémem i v léčbě onemocnění způsobených mykoplazmaty. Důvodem rezistence je mutace genů u mykoplazmat. U *M. genitalium* byla již zaznamenána mutace v 23S rRNA genu a tím došlo k rezistenci vůči makrolidům. Byly zaznamenány také mutace v genech gyrázy. Jedná se o geny gyrA a parC. Tato mutace rovněž způsobuje rezistenci především vůči fluorochinolovým ATB (Hamasuna, 2013).

Tabulka č. 2: Minimální inhibiční koncentrace vybraných ATB inhibující 90% růst *M. genitalium*. Publikováno více autory.

MIC ₉₀ (mg/l)				
Antibiotikum	Hamasuna (2013)	Hamasuna (2013)	Bébéar <i>et al.</i> (2008)	Terada <i>et al.</i> (2012)
Azithromycin	0,002	0,002	-	0,002
Clarithromycin	0,008	0,008	-	0,008
Ciprofloxacin	8	8	-	8
Doxycyklin	0,25	0,25	0,12	0,25
Erytromycin	-	-	0,015	-
Garenoxacin	-	-	0,25	-
Gatifloxacin	0,25	0,5	0,25	0,25
Gemifloxacin	-	-	0,25	-
Levofloxacin	2	2	1	2
Minocyclin	0,25	0,25	-	0,25
Moxifloxacin	0,125	0,125	0,12	0,125
Norfloxacin	64	64	-	64
Ofloxacin	-	-	2	-
Sitafloxacin	0,125	0,125	-	0,125
Tetracyklin	0,5	0,5	-	0,5

Tagg *et al.*,(2013) ve své studii popsali mutace genů *M. genitalium*, které jsou odpovědné za zvýšení rezistence proti ATB. Za rezistenci vůči azithromycinu (AZM) může genová mutace 23S rRNA. Nedávné studie ukazují, že výběr azithromycinu k léčbě onemocnění způsobených *M. genitalium*, vykazuje až 55 % selhání léčby. Tagg *et al.* (2013) také uvedli, že mutace genu parC přispívá k rezistenci *M. genitalium* proti moxifloxacinu (MXF). K dispozici bylo 143 vzorků, ze kterých za použití PCR došlo k analýze třech genů. Tato analýza je uvedena v tabulce č. 3 (Tagg *et al.*, 2013).

Tabulka č. 3: Mutace genů u kmenů *M. genitalium* rezistentních na ATB (Tagg *et al.*, 2013)

Mutace genů u kmenů <i>M. genitalium</i> rezistentních na ATB (n= 143 kmenů)				
Profil mutace	Geny mutace			Počet pacientů
	23S rRNA	parC	gyrA	
Wild type	-	-	-	73
AZM mutace	+	-	-	48
MXF mutace	-	+	-	8
AZM + MXF mutace	+	+	-	13
AZM + MXF mutace	+	-	+	1

5.2. Prevence

Mezi prevenci proti přenosu *M. genitalium* řadíme především použití bariérové ochrany při pohlavním styku. Jestliže dojde k přenosu s následným propuknutím onemocnění, je na místě okamžité započetí správné a ověřené antimikrobiální léčby. Možností prevence je také zamezit pohlavního kontaktu s nemocným. Mezi další možnosti lze zařadit omezení počtu sexuálních partnerů (Manhart *et Noa*, 2010).

V současné době ještě neexistuje vakcína proti *M. genitalium*, na jejím vývoji se v současné době intenzivně pracuje (Butt *et al.*, 2012).

6. Závěr

V bakalářské práci byla věnována pozornost patogennímu mikroorganismu *M. genitalium*, který je původcem onemocnění urogenitálního traktu u lidí. *M. genitalium* řadíme mezi mykoplazmata. Jedná se o nejmenší prokaryotické buňky, které jsou schopny samostatné replikace a jsou schopná samostatného růstu na bezbuněčných médiích. Mykoplazmata se také vyznačují malou velikostí genomu, z nichž *M. genitalium* má nejmenší genetickou informaci ze všech mykoplazmat.

M. genitalium je patogen, který nejčastěji napadá sliznici urogenitálního traktu. Onemocnění mohou přecházet z akutní formy do formy chronické. U mužů nejčastěji způsobuje NGU. *M. genitalium* bylo detekováno i v souvislosti se zánětlivými onemocněními prostaty a nadvarlete. U žen uvedené agens způsobuje endometritidu. Dále se pak podílí na infekci zvané cervicitida. Infekce *M. genitalium* zvyšuje riziko přenosu viru HIV. Byl také popsán vliv *M. genitalium* na lidskou plodnost.

Léky první volby při léčbě onemocnění způsobených *M. genitalium* jsou makrolidová a tetracyklinová ATB. V současné době ovšem vzrůstá rezistence k ATB. Jako vhodná alternativa se využívají fluorochinolová ATB, která jsou ovšem více toxická. Byla také zaznamenána rezistence *M. genitalium*, a to na azithromycin, doxycyklin a moxifloxacin. Zvýšení rezistence k daným ATB je zapříčiněna mutacemi v genomu *M. genitalium*.

V laboratorní diagnostice *M. genitalium* se využívají přímé i nepřímé metody. V dnešní době mezi nejčastěji používanými patří kultivace na PPLO půdách. Ta je však velmi náročná a proto se velmi často využívá molekulárně biologických metod, které zajišťují přesnější a hlavně časově méně náročné stanovení. Mezi uvedené techniky řadíme PCR a qPCR. Jako alternativu lze zvolit TMA. Při použití nepřímé diagnostiky se využívá specifických protilátek a nejčastější používanou metodou je ELISA.

7. Seznam použité literatury

BÉBÉAR, C. M., BARBEYRAC, B., PEREYRE, S., RENAUDIN, H., CLEC, M., BÉBÉR, C. Activity of moxifloxacin against the urogenital mycoplasmas *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* and *Chlamydia trachomatis*. *Clinical Microbiology and Infection* 2008, č. 14, s. 801-805.

BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SUČEK, A., VÁVRA, J. Lékařská mikrobiologie. Marvil 1999, kap. 22, s. 319- 324.

BURGOS, R., PICH, Q. O., FERRER-NAVARRO, M., BASEMAN, B. J., QUEROL, E., PIÑOL, J. *Mycoplasma genitalium* P140 and P110 Cytadhesins Are Reciprocally Stabilized and Required for Cell Adhesion and Terminal-Organelle Development. *Journal of Bacteriology*. 2006, roč. 188, č. 24, s. 8627-8637.

BURGOS, P., WOOD, G. E., YOUNG, L., GLASS, J. I., TOTTEN, P. A. RecA mediates MgpB and MgpC phase and antigenic variation in *Mycoplasma genitalium*, but plays a minor role in DNA repair. *Molecular Microbiology*. 2012, roč. 85, č. 4, s. 669-683.

BURGOS, R., PICH, Q. O., QUEROL, E., PIÑOL, J. Functional Analysis of the *Mycoplasma genitalium* MG312 Protein Reveals a Specific Requirement of the MG312 N-Terminal Domain for Gliding Motility. *Journal of Bacteriology*. 2007, roč. 189, č. 19, s. 7014-7023.

BUTT, A. M., TAHIR, S., NASRULLASH, I., IDRESS, M., LU, J., TONG, Y. *Mycoplasma genitalium*: A comparative genomics study of metabolic pathways for the identification of drug and vaccine targets. *Infection, Genetics and Evolution*. 2012, č. 12, s. 53–62.

CAZANAVE, C., MANHART, E., L., BÉBÉAR, C. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. *Médecine et maladies infectieuses*. 2012, roč. 42, s. 381-392. COHEN, R. C., MANHART, E. L., BUKUSI, A. E., ASTETE, S., BRUNHAM, C. R.,

DAS, K., GARZA, G., SIWAK, E. B., SCOFIELD, V. L., DHANDAYUTHAPANI, S. *Mycoplasma genitalium* promotes epithelial crossing and peripheral blood mononuclear cell infection by HIV-1. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014, č. 23, s. 31-38.

DIENES, L., EDSALL, G. Observations on the L-Organism of Klieneberger. *Experimental Biology and Medicine*. 1937, roč. 36, č. 5, s. 740-744.

DUTRO, M. S., HEBB, K. J., GARIN, A. CH., HUGHES, P. J., KENNY, E. G., TOTTEN, A. P. Development and Performance of a Microwell-Plate-Based Polymerase Chain Reaction Assay for *Mycoplasma genitalium*. *Sexually Transmitted Diseases*. 2003, roč. 30, č. 10, s. 756-763.

HAGIWARA, N., YASUDA, M., MAEDA, S., DUGUCHI, T. In vitro activity of azithromycin against *Mycoplasma genitalium* and its efficacy in the treatment of male *Mycoplasma genitalium*-positive nongonococcal urethritis. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2011, č. 8, s. 821–824.

HAMASUNA, R., OSADA, Y., JENSEN, J. S. Isolation of *Mycoplasma genitalium* from First-Void Urine Specimens by Coculture with Vero Cells. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007, roč. 45, č. 3, s. 847–850.

HAMASUNA, R. Identification of treatment strategies for *Mycoplasma genitalium*-related urethritis in male patients by culturing and antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2013, č. 19, s. 1-11.

HAMASUNA, R. *Mycoplasma genitalium* in male urethritis: Diagnosis and treatment in Japan. *International Journal of Urology*. 2013, č. 20, s. 676–684.

HE, B., LIAOA, L., XIAOA, X., GAOA, S., WUD, Y. Detection of *Mycoplasma genitalium* using a wireless magnetoelastic immunosensor. *Analytical Biochemistry*. 2011, č. 408, s. 1-4.

HE, J., YOU, X., ZENG, Y., YU, M., ZUO, L., WU, Y. *Mycoplasma genitalium*-Derived Lipid-Associated Membrane Proteins Activate NF- κ B through Toll-Like Receptors 1, 2, and 6 and CD14 in a MyD88-Dependent Pathway. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2009, roč. 16, č. 12, s. 1750–1757.

HUPPERT, J. S., BATES, J. R., WEBER, A. F., QUINN, N., GAYDOS, CH. A. Abnormal Vaginal pH and *Mycoplasma genitalium* Infection. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2013, č. 26 s. 36-39.

CHANOCK, R. M., HAYFLICKI, L., BARILE, M. F. Growth on artificial medium of an agent associated with typical pneumonia and its identification as a PPLO. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1962, roč. 48, č. 1, s. 41-49.

CHRISMENT, D., MACHELART, I., WIRTH, G., LAZARO, E., GREIB, C., PELLEGRIN, L. J., BÉBÉAR, C., PEUCHANT, O. Reactive arthritis associated with *Mycoplasma genitalium* urethritis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013, roč. 77, s. 278-279.

IDAHL, A., LUNDIN, E., JURSTREAND, M., KUMLIN, U., ELGH, F., OHLSON, N., OTTANDER, U. *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* Plasma Antibodies in Relation to Epithelial Ovarian Tumors. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2011, doi:10.1155/2011/824627.darz.

JERSEN, J. S. Single-Dose Azithromycin Treatment for *Mycoplasma genitalium*-Positive Urethritis: Best but Not Good Enough. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, č. 48, s. 1655-1656.

LI, L., KRISHNAN, M., BASEMAN, J. B., KANNAN, T. R. Molecular Cloning, Expression, and Characterization of a Ca²⁺-Dependent, Membrane-Associated Nuclease of *Mycoplasma genitalium*. *Journal of Bacteriology*. 2010, roč. 192, č. 19, s. 4876–4884.

LIPSKY, A. B., BYREN, I., HOEY, CH. Treatment of Bacterial Prostatitis. *Clinical Infectious Diseases*. 2010, roč. 50, č. 12, s. 1641-1652.

MA, L., JERSEN, J. S., MANCUSO, M., HAMASUNA, R., JIA, Q., MCGOWIN, L. CH., MARTIN, H. D. Variability of trinucleotide tandem repeats in the MgPa operon and its repetitive chromosomal elements in *Mycoplasma genitalium*. *Journal of Medical Microbiology*. 2012, s. 191-197.

MANHART, L. E., NOA, K. *Mycoplasma genitalium*: Is It a Sexually Transmitted Pathogen. *Current Infectious Disease Reports*. 2010, č. 12, s. 306-313.

MARTINELLI, F., GARRAFA, E., TURANO, A., CARUSO, A. Increased Frequency of Detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* in AIDS Patients without Urethral Symptoms. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, roč. 37, č. 6, s. 2042–2044.

MEIKLEJOHN, G., EATON M. D., VAN HERICH, W. A clinical report on cases of primary atypical pneumonia caused by a new virus. *The Journal of Clinical Investigation*. 1945, roč. 24, č. 2, s. 241-250.

MENA, L. A., MROCZKOWSKI, T. F., NSUAMI, M., MARTIN, D. H. A Randomized Comparison of Azithromycin and Doxycycline for the Treatment of *Mycoplasma genitalium*–Positive Urethritis in Men. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, s. 1649-1654.

MIYATA, M., SETO, S., Cell reproduction cycle of mycoplasma. *Department of Biology*. 1999, roč. 81, s. 873-878.

MCGOWIN, L. CH., POPOV, L. V., PYLES, B. R. 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. *BioMed Central Microbiology*. 2009, doi:10.1186/1471-2180-9-139.

MCGOWIN, L. CH., ANDERSON-SMITS, C. *Mycoplasma genitalium*: An Emerging Cause of Sexually Transmitted Disease in Women. *Public Library of Science Patogens*. 2011, roč. 7, č. 5, doi:10.1371/journal.ppat.1001324.

MUÑOZ, N., BOSCH, X. F., SANJOSE, S., HERRERO, R., CASTELLSAGUÉ, X., SHAH, V. K., SNIJDERS, F. J. P., MEIJER, M. L. J. CH. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2003, roč. 348, s. 518-527.

MÜLLER, E. E., VENTER, J. M. E., MAGOOA, M. P., MORRISON, CH., LEWIS, D. A., MAVEDZENGE, S. N. Development of a rotor-gene real-time PCR assay for the detection and quantification of *Mycoplasma genitalium*. *Journal of Microbiological Methods*. 2012, č. 88, s. 311-315.

PITCHER, D. G., NICHOLAS, R. A. *Mycoplasma* host specificity: fact or fiction? *The Veterinary Journal* 2005, roč. 170, č. 3, s. 300-306.

PLEČKO, V., STARČEVIĆ, Ž. L., TRIPKOVIĆ, V., VRANJEŠ, R. V., SKERLEV, M. *Mycoplasma genitalium*: Clinical Significance and Diagnosis. *Department of Clinical and Molecular Microbiology*. 2013, roč. 21, č. 4, s. 236-240.

QUINN, P. J., CARTER, M. E., MARKEY, B., CARTER, G. R. Clinical veterinary microbiology. 1994, kap. 35.

ROBINSON, D. T., JERSEN, J. S. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to Multicolored Butterfly. *Clinical Microbiology Reviews*. 2011, roč. 24, č. 3, s. 498-514.

ROSS, C. D. J., JENSEN, S. J. *Mycoplasma genitalium* as a sexually transmitted infection: implications for screening, testing, and treatment. *Sexually transmitted infections*. 2006, roč: 82, č. 4, s.

SAIKOLAPPAN, S., SASINDRAN, S. J., YU, H. D., BASEMAN, J. B., DHANDAYUTHAPANI, S. The *Mycoplasma genitalium* MG_454 Gene Product Resists Killing by Organic Hydroperoxides. *Journal of Bacteriology*. 2009, roč. 191, č. 21, s. 6675–6682.

SHIPITSYNA, E., SAVICHEVA, A., SOKOLOVSKIY, E., BALLARD R. C., DOMEIKA, M., UNEMO, M., JENSEN, J. S. Guidelines for the Laboratory Diagnosis of *Mycoplasma genitalium* Infections in East European Countries. *Acta Dermato-Venereologica*. 2010, roč. 90, s. 461–467.

SHORT, L. V., TOTTEN, A. P., NESS, B. R., ASTETE, G. S., KELSEY, F. S., HAGGERTY, L. C. Clinical Presentation of *Mycoplasma genitalium* Infection versus *Neisseria gonorrhoeae* Infection among Women with Pelvic Inflammatory Disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, roč. 48, s. 41-47.

STÜLKE, J., EILERS, H., SCHMIDL, R. S. Mycoplasma and Spiroplasma. *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*. 2009, s. 208-219.

SVENSTRUP, F. H., FEDDER, J., ABRAHAM-PESKIR, J., BIRKELUND, S., CHRISTIANSEN, G. *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa. *Human Reproduction*. 2003, roč. 18, č. 10. s. 2103-2109.

SVENSTRUP, F. H., NIELSEN, K. P., DRASBEK, M., BIRKELUND, S., CHRISTIANSEN, G. Adhesion and inhibition assay of *Mycoplasma genitalium* and *M. pneumoniae* by immunofluorescence microscopy. *Journal of Medical Microbiology*. 2002, č. 51, s. 361-373.

SETHI, S., GAGANDEEP, S., PALASH, S., MEERA, S. *Mycoplasma genitalium*: An emerging sexually transmitted pathogen. *Indian Journal of Medical Research*. 2012, č. 136, s. 942-955.

TAGG, K. A., JEOFFREYS, N. J., CLOUDWELL, D. L., DONALD, J. A., GILBERT, G. L. Fluoroquinolone and Macrolide Resistance-Associated Mutations in *Mycoplasma genitalium*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013, roč. 51, č. 7, s. 2245-2249.

TERADA, M., IZUMI, K., OHKI, E., YAMAGISHI, Y., MIKAMO, H. Antimicrobial efficacies of several antibiotics against uterine cervicitis caused by *Mycoplasma genitalium*. *Journal Infect Chemotherapy*. 2012, č. 18, s. 313–317.

TOTTEN, P. A., SCHWARTZ, M. A., SJÖSTRÖM, K. E., KENNY, G. E., HANDSFIELD, H. H., WEISS, J. B., WHITTINGTON, W. L. H. Association of *Mycoplasma genitalium* with Nongonococcal Urethritis in Heterosexual Men. *The Journal of Infectious Diseases*. 2001, č. 183, s. 269-276.

TULLY, G. J., TAYLOR-ROBINSON, D., COLE, R. M., ROSE, D. L. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract. *The Lancet*. 1981, s. 1288-1291.

TULLY, G. J., BOVE, M. J., LAIGRET, F., WHITCOMB, F. R. Revised Taxonomy of the Class *Mollicutes*: Proposed Elevation of a Monophyletic Cluster of Arthropod-Associated *Mollicutes* to Ordinal Rank (*Entomoplasmatales* ord. nov.), with Provision for Familial Rank To Separate Species with Nonhelical Morphology (*Entomoplasmataceae* fam. nov.) from Helical Species (*Spiroplasmataceae*), and Emended Descriptions of the Order *Mycoplasmatales*, Family *Mycoplasmataceae*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1993, roč. 42, č. 2, s. 378-385.

YOU, X., WU, Y., ZENG, Y., DENG, Z., QIU, H., YU, M. *Mycoplasma genitalium* - derived lipid-associated membrane proteins induce activation of MAPKs, NF- κ B and AP-1 in THP-1 cells. *Immunology and Medical Microbiology*. 2008, č. 52, s. 228–236.

WAITES, K. B., CRABB D. M., DUFFY, L. B. Comparative In Vitro Susceptibilities of Human *Mycoplasmas* and *Ureaplasmas* to a New Investigational Ketolide, CEM-101. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009, roč. 53, č. 5, s. 2139-2141.

Elektronické zdroje

Obrázek č. 1:

Dostupné z:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7637/figure/A2045/?report=objectonly>. [online]. 10.7.2014 [cit. 2014-07-10].

Obrázek č. 4:

Dostupné z:

<http://intranet.tdmu.edu.te.ua/data/cd/disk2/ch037.htm>. [online]. 10.7.2014 [cit. 2014-07-10].