

# EVOLUȚIA INFECȚIILOR GENITALE CU *MYCOPLASMA HOMINIS* ȘI *UREAPLASMA UREALYTICUM* ÎN PERIOADA 2007-2009

## *Evolution of genital infection with *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the period 2007-2009*

Dr. A.V. Dragodan

Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, București

### REZUMAT

*Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*, bacterii Gram negative, frecvent saprofite ale căilor genitale și respiratorii umane, pot dezvolta tulpini patogene, care se transmit prin contact sexual. Infecțiile genitale cu aceste bacterii sunt considerate boli cu transmitere sexuală. În acest studiu s-a urmărit evoluția infecțiilor genitale cu micoplasmalele menționate în intervalul 2007-2009, evoluție condiționată, probabil, de intervenția diversilor factori socio-umani. Grupul de studiu a inclus 491 de pacienți care au fost testați în vederea decelării *Mycoplasmei hominis* și *Ureaplasmei urealyticum*. *Mycoplasma hominis*, ca agent etiologic unic, nu a fost evidențiată la nici unul dintre pacienții investigați. *Ureaplasma urealyticum*, ca agent etiologic unic, a fost decelată la 19,95% dintre cazurile testate. Etiologia dublă – *Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum* – a fost confirmată la 26,47% dintre pacienții testați. Cazurile cu teste pozitive pentru *Ureaplasma urealyticum* au caracterizat anul 2007 (45/283) și bărbații asimptomatici (15,27% /2007-2009); decelarea cumulată a ambelor bacterii (*Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum*) a fost semnalată la femeile asimptomatice (8,55%/2007-2009) și, mai ales, în anul 2007. Scăderea numărului de cazuri pozitive în anii 2008 și 2009 s-a datorat, probabil, informării pacienților (informare personală sau efectuată de medicii curanți), monogamiei, protecției în cazul relațiilor sexuale neprotejate și aleatorii, evitării automedicației (mai ales pentru pacienții cu antecedente de BTS), precum și factorilor economici (teste de diagnostic cu preț mare, tratamente și retestări).

**Cuvinte cheie:** *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, boli cu transmitere sexuală (BTS)

### ABSTRACT

*Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*, Gram negative bacteria, often saprophytic to genital and respiratory human tract can develop pathogenic strains which are transmitted through sexual contact. Genital infections with these bacteria are considered sexually transmitted diseases. This study aimed to follow *Mycoplasma* genital infections evolution listed in the period 2007-2009, a trend likely conditioned by various socio-human intervention. The study group included 491 patients who were tested for *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* detection. *Mycoplasma hominis*, as single etiologic agent was not present in any of the patients investigated. Meanwhile *Ureaplasma urealyticum*, as only etiologic agent, was detected in 19.95% of the cases tested. Double etiology – *Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum* was confirmed in 26.47% of patients tested. Cases who tested positive for *Ureaplasma urealyticum* characterized the year 2007 (45/283) and asymptomatic men (15.27% / 2007-2009), combined detection of both bacteria (*Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum*) was observed in asymptomatic women (8.55% / 2007-2009), and especially in 2007. Decrease in positive cases in 2008 and 2009 was due probably to information to the patients (or personal information made by treating physicians), monogamy, protection for unprotected and random sex, to avoid self-medication (especially for patients with a history of STDs) and economic factors (cost for diagnostic tests, high cost treatments and retesting).

**Key words:** *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, sexually transmitted diseases (STDs)

Address for correspondence:

Dr. A.V. Dragodan, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, Șos. Mihai Bravu, Nr. 285, Sector 3, Cod Poștal 030304, București

## INTRODUCERE

*Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*, micoplasme considerate specifice omului, aparțin familiei Mycoplasmataceae. Microorganisme des întâlnite la multe persoane în cadrul florei normale din uretră și vagin, cel mai frecvent comensale, micoplasmele pot fi prezente, uneori excesiv, în vagin și porțiunea terminală a uretrei (50% la femei și 20-30% la bărbați (1,15,16). Deseori, prezența micoplasmelor la nivelul tractului uro-genital poate fi urmată de infecția asimptomatică sau cu variate manifestări clinice. Infecțiile cu *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum* au fost asociate cu diverse afecțiuni uro-genitale la ambele sexe, iar faptul că aceste bacterii se transmit prin contact sexual a făcut ca bolile genitale generate de ele să fie considerate boli cu transmitere sexuală (BTS) (3,15,18). Printre acestea, asociate uneori cu prezența infecției sau doar cu portajul asimptomatic, sunt descrise: uretrita (19-50% dintre cazuri), balanita, vulvo-vaginita, cervicita, cistita (uneori hemoragică), bartholinita, salpingita, endometrita, pelvipéritonita, amniotita, abcese tubo-ovariene și periuretrale, oligoastenospemia, boala abortivă, nașterea prematură, febra puerperală, septicemia post-partum sau post-abortum, infertilitate (1,6,13,16,19,22).

*Mycoplasma hominis* (7 serotipuri), frecvent întâlnită la om în sfera uro-genitală, atât la persoanele sănătoase cât și la bolnavi, este prima micoplasmă izolată dintr-un abces al glandelor Bartholin. Portajul asimptomatic poate surveni la naștere, cu ocazia traversării filierei pelvi-genitale, fiind evidențiată la nou-născuți în secrețiile respiratorii și genitale (15). Până la adolescență, incidența prezenței *Mycoplasmei hominis* este în scădere, însă debutul vieții sexuale se pare că determină și creșterea incidenței portajului asimptomatic, cât și a infecției cu această micoplasmă. Studiile au arătat că rata portajului asimptomatic cu *Mycoplasma hominis* este mai mare la femei (7-22%) decât la bărbați (3-13%), microorganismul fiind mult mai frecvent izolat la femei, în special la cele cu variate afecțiuni uro-genitale (1,15,19). Portajul asimptomatic și infecția cu *Mycoplasma hominis* sunt condiționate de o serie de factori ca: activitatea sexuală crescută, aleatorie și fără protecție, parteneri sexuali multipli, promiscuitate sexuală, igienă deficitară, coinfectia sau suprainfecția cu alți agenți infecțioși (*Treponema pallidum*, *Trichomonas* spp., *Candida* spp., *Neisseria gonorrhoeae* etc.) modificări ale pH-ului local (3,4,7,13).

Portajul asimptomatic al *Ureaplasmei urealyticum* (8 serotipuri) poate surveni, de asemenea, la

naștere, în cursul traversării canalului genital al mamei infectată cu această micoplasmă, la nou-născuți evidențiindu-se în secrețiile conjunctivale, nazo-faringiene, genital (15,21). Incidența izolării scade treptat după naștere, fiind nulă în decurs de un an (aproximativ 45% dintre copiii nou-născuți sunt purtători asimptomatici de micoplasme). Prezența ei în secrețiile genitale este observată după pubertate, posibil din cauza începerii vieții sexuale; incidența izolării crește apoi cu vârsta, până la 50 de ani, pentru ca apoi să scadă. Microorganismul a fost izolat mai frecvent la femei decât la bărbați; la femei, din tractul uro-genital s-a izolat mai frecvent *Ureaplasma urealyticum* decât *Mycoplasma hominis* (15). Prezența *Ureaplasmei urealyticum* la nivelul tractului uro-genital și incidența izolării acesteia sunt influențate de activitatea sexuală, de starea de graviditate (modificări hormonale, pH), prezența altor infecții transmisibile prin contact sexual. În anumite condiții, această micoplasmă are proprietăți spermadsorbante, ceea ce explică transmisibilitatea genitală a infecției, persistența infecției la bărbat, diseminarea în tractul genital la femeie și rolul ei în infertilitatea masculină (2,5-7,9). Sursa de infecție este considerată, mai frecvent, femeia, al cărui tract uro-genital ar fi mai des colonizat cu *Ureaplasma urealyticum*, dar și bărbații se pare că pot fi în egală măsură purtători asimptomatici ai acestei bacterii. Ambele sexe sunt receptive în mod egal la portajul asimptomatic, infecția și reinfecția cu *Ureaplasma urealyticum* (3,15,18).

Studiul de față are drept obiectiv urmărirea evoluției infecțiilor genitale cu *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum* în intervalul 2007-2009, precum aportul unor posibili factori socio-umani care au condiționat această evoluție.

## MATERIALE ȘI METODE

În intervalul 2007-2009 au fost luați în studiu 491 de pacienți, cu vârsta cuprinsă între 17-75 de ani și cu următoarele diagnostice: uretrită, prostatită, vaginită, boală inflamatorie pelvină, infertilitate, investigații la cerere, infecții urinare, pielonefrită. Pacienții s-au adresat cabinetului de consultanță și diagnostic al Institutului de Virusologie „Ștefan S. Nicolau” în vederea testării pentru *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum* atât din proprie inițiativă, cât și la sugestia medicului curant. După informarea și obținerea consimțământului de participare la studiu (consimțământ verbal), fiecare participant a fost invitat să completeze un chestionar cu privire la datele personale, care au inclus: vârsta, sexul (M/F), diagnosticul clinic, status-ul bolii

(simptome prezente – s/absente – as), antecedentele de boli cu transmitere sexuală (BTS) și indicația de testare pentru *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*. În urma testărilor prealabile (examene bacteriologice și micotice, testări pentru evidențierea Chlamydiei trachomatis), s-a exclus prezența altor agenți microbieni (Streptococcus grup B, Candida spp., Chlamydia trachomatis, E. coli, Staphilococcus spp. etc.) capabili să genereze afecțiunile menționate.

Probele biologice utilizate pentru evidențierea *Mycoplasmei hominis* și a *Ureaplasmei urealyticum* au fost:

- prelevate din uretră, secreții uretrale (la bărbați) → prelevarea s-a făcut dimineața, înainte de micțiune, prin inserarea unui recoltor (din calciu alginat sau poliester, cu mânere de aluminiu sau plastic, subțire) pe uretră (1,5-2 cm) care este rotit ușor (5-10 secunde) pentru a desprinde celulele de la nivelul canalului uretral, după care se scoate fără a atinge tegumentele învecinate. Manevra este invazivă și șocogenă, putând declanșa sângerări locale, care pot compromite testul. Pentru fiecare test solicitat s-a prelevat câte o probă. Fiecare prelevat uretral a fost transportat la laborator în vederea testării imediate.
- secreția cervico-vaginală → prelevarea secrețiilor s-a făcut în primele 10 zile după ciclul menstrual, pe masa ginecologică. Cu un recoltor steril s-a îndepărtat excesul de secreții sau mucus (care pot compromite testul), apoi s-a inserat în cervix un alt recoltor (1-1,5 cm) care se rotește (5-10 secunde) pentru a desprinde celulele de la nivelul canalului endocervical, după care se scoate fără a atinge mucoasa vaginală; cu un alt recoltor s-a prelevat secreție de pe pereții vaginului. Probele au fost transportate la laborator în vederea testării imediate.
- urină (atât la bărbați, cât și la femei) → s-au utilizat primii 10-30 ml din primul jet de

urină (recoltat dimineața, la prima oră, după o toaletă locală cu apă și săpun). Urina a fost transportată la laborator, în maximum 1 oră din momentul recoltării și centrifugată la 2500 g, 20 minute; sedimentul obținut în urma centrifugării a fost transportat la laborator în vederea testării imediate.

- lichid seminal → a fost necesar aproximativ 1 ml lichid seminal de la fiecare pacient. S-a recomandat ca recoltarea să fie făcută dimineața, la aproximativ o oră de la prima urinare, precum și respectarea anumitor condiții de colectare și păstrare a probelor (ideal, prin masturbare, în container de plastic cu capac etanș, iar dacă recoltarea se face în afara clinicii, proba să fie transportată la laborator la temperatura corpului și în maximum 30 de minute). Probele de lichid seminal prelevate au fost transportate la laborator și omogenizate (30 de secunde) cu ajutorul unui agitator tip vortex. Din fiecare probă omogenizată a fost transferat 1 ml într-un tub steril care a fost transportat la laborator în vederea testării imediate.

Recoltarea și transportul adecvat al probelor biologice constituie o necesitate absolută pentru un diagnostic corect și eficient. Sensibilitatea și specificitatea testelor de diagnostic sunt direct relaționate cu recoltarea unui produs biologic adecvat. Folosirea unui produs biologic neconform poate produce serioase perturbări în programele de screening sau cercetare (8,10-12,20).

Grupul de studiu a inclus 491 de persoane, structura grupului de studiu în funcție de anul prezentării la investigații, sexul și status-ul clinic fiind detaliate în **Tabelul 1**.

Pentru decelarea *Mycoplasmei hominis* și a *Ureaplasmei urealyticum* s-a utilizat un test comercial – Mycoplasma IST 2, bioMerieux SA, Franța (test de cultivare, identificare, apreciere cantitativă și testarea susceptibilității la 9 antibiotice). Principiul testului este următorul: Mycoplasma IST 2 combină cultura în bulionul selectiv cu strip-ul ce conține 22 de teste. Bulionul furnizează condiții

**TABELUL 1.** Structura grupului de studiu în funcție de sex, status clinic și anul investigației

Nr. pacienți testați: 2007-2009 = 491	2007 = 283	2008 = 127	2009 = 81
M = 278 (56,62%) s = 66 (13,44%) as = 212 (43,17%)	M = 156 s = 35 / as = 121	M = 73 s = 15 / as = 58	M = 49 s = 16 / as = 33
F = 213 (43,38%) s = 80 (16,30%) as = 133 (27,9%)	F = 127 s = 56 / as = 71	F = 54 s = 17 / as = 37	F = 32 s = 7 / as = 25

optime de creștere a micoplasmelor (pH, substraturi, asocierea mai multor factori de creștere). Dacă o cultură în bulion este pozitivă, atunci substraturile specifice și indicatorul de culoare roșu fenol prezente în bulion (uree pentru *Ureaplasma urealyticum* și arginină pentru *Mycoplasma hominis*) vor duce la schimbarea culorii, datorită creșterii pH-ului. Combinația a 3 antibiotice și a unui agent antifungic permite selectivitatea, asigurând că nici o floră bacteriană contaminantă prezentă în proba recoltată să nu afecteze testul. După inoculare, bulionul este dispersat în strip. Acest strip furnizează simultan rezultate pentru identificare, apreciere cantitativă și testarea susceptibilității la 9 antibiotice. Etapele protocolului de lucru sunt următoarele: → se aduc reactivii din test la temperatura camerei → tamponul prelevat (uretral, cervico-vaginal) și materialul lichid (200 μl sediment urinar și 200 μl lichid seminal) se suspendă în reactivul R1 (inclus în test), posibil cât mai protejate de lumină; este necesară respectarea perioadei maxime de păstrare (în cazul nerespectării acestor condiții există riscul obținerii de rezultate eronate).

Temperatura	18-25°C	2-8°C
Timp maxim de păstrare pentru soluția Mycoplasma R1 inoculată	5 ore	48 ore

După omogenizare se transferă 3 ml din soluția Mycoplasma R1 inoculată în flaconul Mycoplasma R2; se agită cu ajutorul unui vortex pentru dizolvarea completă a stratului liofilizat → stripul, adus la temperatura camerei, scos din ambalaj, este acoperit

cu capacul inclus în test → se notează pe partea laterală a stripului numărul de identificare al probei recoltate → imediat, se transferă 55 μl bulion în fiecare dintre cele 22 de godeuri de testare ale stripului Mycoplasma IST 2 cu pipeta automată, se adaugă 2 picături de ulei mineral în fiecare godeu și se pune capacul pe strip → se incubează stripul și bulionul rămas în flaconul de Mycoplasma R2 timp de 24 h și 48 h la 36°C ± 2°C → interpretarea testului se face conform protocolului de interpretare (inclus în test).

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

*Mycoplasma hominis*, ca agent etiologic unic, nu a fost evidențiată la nici unul dintre pacienții investigați.

*Ureaplasma urealyticum*, ca agent etiologic unic, a fost decelată la 19,95% dintre participanții la studiu. Distribuția *Ureaplasmei urealyticum*, în funcție de an, sex și status clinic este ilustrată în **Tabelul 2**.

Etiologia dublă – *Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum* – a caracterizat 26,47% dintre pacienți. În **Tabelul 3** este evidențiată prezența cumulată a micoplasmelor menționate, în funcție de an, sex și status clinic.

La 242 (48,28%) dintre pacienții investigați, testele au fost negative pentru *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*; în cazul celor simptomatici (79/242), etiologia este dată, probabil, de alți agenți microbieni (*Chlamydia trachomatis*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., enterobacteriaceae etc.) care implică alte

**TABELUL 2.** Distribuția *Ureaplasmei urealyticum* în funcție de sex, status clinic și anul investigației

Cazuri pozitive pentru <i>Ureaplasma urealyticum</i> : 2007-2009 = 98 /491	2007 = 45/283	2008 = 14 /127	2009 = 39/81
M = 92 s = 17 / as = 75	M = 42 s = 10 / as = 32	M = 12 s = 2 / as = 10	M = 38 s = 5 / as = 33
F = 6; s = 0 / as = 6	F = 3; s = 0 / as = 3	F = 2; s = 0 / as = 2	F = 1; s = 0 / as = 1

**TABELUL 3.** Distribuția asocierii *Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum* în funcție de sex, status clinic și anul investigației

Cazuri pozitive pentru <i>Mycoplasma hominis</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i> : 2007-2009 = 130/491	2007 =78/283	2008 = 35/127	2009 = 17/81
M = 55 s = 13 / as = 42	M = 36 s = 8 / as = 28	M = 13 s = 2 / as = 11	M = 6 s = 3 / as = 3
F = 75 s = 33 / as = 42	F = 42 s = 21 / as = 21	F = 22 s = 11 / as = 11	F = 11 s = 1 / as = 10

procoloale de investigare. Rezultatele, la 21 de pacienți, au fost neconcludente pentru micoplasmale investigate, ca atare au fost sugerate retestări (la interval de 14 zile de la prima testare) plus teste pentru decelarea altor agenți etiologici microbieni. Nici unul dintre participanții la studii nu a declarat antecedente de boli cu transmitere sexuală sau parteneri sexuali multipli (concomitenți sau succesivi).

Datele obținute au arătat că adresabilitatea pentru evidențierea *Mycoplasmei hominis* și *Ureaplasmei urealyticum* a caracterizat sexul masculin, atât la nivelul fiecărui an (156/2007, 73/2008, 49/2009), cât și cumulativ, în intervalul de timp studiat (56,62%/2007-2009). Dintre bărbații testați, cei asimptomatici au dominat solicitările pentru testare, atât la nivelul fiecărui an (121/2007, 58/2008, 33/2009), cât și cumulativ în intervalul de timp studiat (43,17%/2007-2009). În studiul de față, ca agent etiologic unic a fost evidențiată numai *Ureaplasma urealyticum* la 19,95% dintre persoanele testate, bărbații asimptomatici fiind cei mai frecvent afectați (15,27%/2007-2009); testele pozitive la bărbații asimptomatici au fost relativ egale ca număr în anii 2007 (32/2007) și 2009 (33/2009) și în număr mai mic în 2008 (10/2008), fapt datorat, probabil, monogamiei temporare, abstenenței sexuale sau reducerii adresabilității pentru testări. Rezultatele pozitive numai pentru *Ureaplasma urealyticum* au caracterizat femeile asimptomatice, în special pentru anul 2007 (3/2007; 1,22%/2007-2009). Predominanța pacienților asimptomatici cu teste pozitive pentru *Ureaplasma urealyticum* este predictivă pentru infecția clinic inaparentă, care, ulterior, influențată de activitatea sexuală a persoanelor respective, modificări locale de pH, modificări hormonale sau alte infecții concomitente în sfera genitală, pot evolua către stadiul de boală acută simptomatică.

Cazurile pozitive la ambele bacterii (*Mycoplasma hominis* + *Ureaplasma urealyticum*) au caracterizat femeile (15,27%/2007-2009) și, mai ales, cele asimptomatice (8,55%/2007-2009); cele mai multe au fost semnalate în anul 2007, la sexul feminin (42/283) și bărbați asimptomatici (28/283). De asemenea, anii 2008 și 2009 au fost caracterizați de reducerea numărului de pacienți pozitivi pentru ambele bacterii, predominând totuși femeile simpto-

matice (33 /2008-2009; 12/2008-2009). Adresabilitatea mai mare a bărbaților asimptomatici s-ar datoră, probabil, relațiilor sexuale neprotejate cu mai multe parteneri (simultan sau succesiv) sau antecedentelor de BTS (testarea fiind, probabil, o măsură de precauție pentru a nu contamina o viitoare parteneră sexuală). O creștere a numărului de simptomatici a fost observată în 2009, unde femeile au predominat, cauzele fiind fie o contaminare recentă de la un partener sexual, fie o reactualizare a unei infecții netratate în antecedente, fie o reinfecție cu ocazia unui contact sexual aleatoriu și neprotejat.

## CONCLUZII

Datele experimentale obținute în urma studiului de față au dus la următoarele concluzii:

- interesul pentru detecția bacteriilor menționate a predominat la bărbați în 2007-2008, în 2009 femeile fiind cele interesate în investigația etiologiei micoplasmice a afecțiunilor sferei genito-urinare;
- caracteristic pentru grupul de studiu a fost lipsa *Mycoplasmei hominis* ca agent etiologic unic sau colonizare unică (în tot intervalul de timp studiat);
- adresabilitatea pentru evidențierea etiologiei micoplasmice a diverselor afecțiuni uro-genitale a regresat în intervalul de timp studiat, probabil datorită informării pacienților (informare personală sau efectuată de medicul curant), monogamiei, protecției în cazul relațiilor sexuale neprotejate și aleatorii, evitării automedicației (mai ales pentru pacienții cu antecedente de BTS), precum și factorilor economici (teste de diagnostic cu preț mare, tratamente și retestări);
- introducerea tehnicilor de biologie moleculară (detecția acizilor nucleici bacterieni) în diagnosticul de laborator de uz curent al infecțiilor cu *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum*, mai ales în cazul formelor asimptomatice, permite instituirea tratamentelor adecvate, previne complicațiile, contaminarea potențialilor parteneri sexuali, precum și reducerea numărului de cazuri de BTS.

## BIBLIOGRAFIE

1. **Baczynska A, Fedder J, Schougaard H, Christiansen G.** Prevalence of mycoplasmas in the semen and vaginal swabs of Danish stallions and mares. *Vet Microbiol.* 2007;121:138–43. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.11.021.
2. **Bamberger E, Madeb R, Steinberg J, Paz A, Satinger I, Kra-Oz Z, Nativ O, Srugo I.** Detection of sexually transmitted pathogens in patients with hematospermia. *Isr Med Assoc J.* 2005 Apr;7(4):224-7.
3. **Centers for Disease Control and Prevention, Workowski K.A., Berman S.M.** Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006, *MMWR Recomm Rep.* 2006; 55(RR-11):1-94.
4. **Deguchi T, Yasuda M, Maeda S.** Non-chlamydial non-gonococcal urethritis *Nippon Rinsho.* 2009 Jan;67(1):167-71.
5. **Diaz-García FJ, Herrera-Mendoza AP, Giono-Cerezo S, Guerra-Infante FM.** Mycoplasma hominis attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 2006 Jun;21(6):1591-8.
6. **Fenkci V, Yilmazer M, Aktepe OC.** Have Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infections any significant effect on women fertility? *Infez Med.* 2002 Dec;10(4):220-3.
7. **Fernando Tadeu Andrade-Rocha.** Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in Men Attending for Routine Semen analysis, *Urologia Internationalis* 2003; 71:377-381.
8. **Fischbach Frances.** A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 7<sup>th</sup> Edition, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
9. **Francisco Javier Díaz-García, Alma Patricia Herrera-Mendoza, Silvia Giono-Cerezo and Fernando Martín Guerra-Infante.** Mycoplasma hominis attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa, *Human Reproduction* 2006 21(6):1591-1598; doi:10.1093/humrep/del032.
10. **Freidank Heike.** Clinical Laboratory Diagnostic, edited by Thomas Lothar, *TH Book Verlagsgesellschaft*, Frankfurt, 1998.
11. **Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L, Chakroun N, Sellemi A, Znazen A, Rebai T, Hammami A.** Assessment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Mycoplasma hominis, and Mycoplasma genitalium in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of infertile couples, *J Androl.* 2008 Mar-Apr; 29(2):198-206.
12. **Henry J.B.** Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Twentieth Edition, Wb Saunders, 2001.
13. **Horner P, Thomas B, Gilroy CB, Egger M, Taylor-Robinson D.** Role of Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum in acute and chronic nongonococcal urethritis, *Clin Inf Dis,* 2001; 32: 995-1003.
14. **Imudia AN, Detti L, Puscheck EE, Yelian FD, Diamond MP.,** The prevalence of ureaplasma urealyticum, mycoplasma hominis, chlamydia trachomatis and neisseria gonorrhoeae infections, and the rubella status of patients undergoing an initial infertility evaluation., *J Assist Reprod Genet.* 2008 Jan;25(1):43-6.
15. **Judlin P.** Genital mycoplasmas, *Gynecol Obstet Fertil.* 2003 Nov; 31(11):954-9.
16. **Kataoka S, Yamada T, Chou K, Nishida R, Morikawa M, Minami M, Yamada H, Sakuragi N, Minakami H.** Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasmas in early pregnancy, *J Clin Microbiol.* 2006 Jan;44(1):51-5.
17. **Schlicht MJ, Lovrich SD, Sartin JS, Karpinsky P, Callister SM, Agger WA.** High prevalence of genital mycoplasmas among sexually active young adults with urethritis or cervicitis symptoms in La Crosse, Wisconsin, *J Clin Microbiol.* 2004 Oct; 42(10): 4636-40.
18. **Uuskula A, Kohl PK.** Genital mycoplasmas, including Mycoplasma genitalium, as sexually transmitted agents. *Int J STD AIDS,* 2002; 13:79-85.
19. **Vogel I, Thorsen P, Hogan VK, Schieve LA, Jacobsson B, Ferre CD.** The joint effect of vaginal Ureaplasma urealyticum and bacterial vaginosis on adverse pregnancy outcomes, *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(7):778-85.
20. **Waites K.B., Bebear C.M., Robertson J.A., Talkington D.F., Kenny G.E.** – CUMITECH 34: Laboratory diagnosis of mycoplasmas infections, Ed. American Society for Microbiology, 2001, pag.1-30.
21. **Zdrodowska-Stefanow B, Klosowska WM, Ostaszewska-Puchalska I, Bułhak-Kozioł V, Kotowicz B.** Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in women with urogenital diseases, *Adv Med Sci.* 2006; 51:250-3.
22. **Zdrodowska-Stefanow B, Klosowska WM, B, Ostaszewska-Puchalska I, Bułhak-Kozioł V, Kotowicz B** Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum infections in male urethritis and its complications, *Advances in Medical Sciences*, Vol. 51, 2006, pag. 254-257.