



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
“ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)”
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

**Εργαστηριακή διερεύνηση σεξουαλικά μεταδιδόμενων
νοσημάτων από Chlamydia, Mycoplasma και Ureaplasma**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ
Σαμένθα Β. Μπόζιου

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2025



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
“ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)”
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

**Εργαστηριακή διερεύνηση σεξουαλικά μεταδιδόμενων
νοσημάτων από Chlamydia, Mycoplasma και Ureaplasma**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

Σαμένθα Β. Μπόζιου

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2025

«Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

ΟΝΟΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΦΟΙΤΗΤΗ

Σαμένθα Β. Μπόζιου

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης:

**«Εργαστηριακή διερεύνηση σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων
από Chlamydia, Mycoplasma και Ureaplasma »**

Ημερομηνία παρουσίασης: /04/2025

Επιβλέπων Καθηγητής:

Γκαρτζονίκα Κωνσταντίνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Μικροβιολογίας, Ιατρικό Τμήμα, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Εξεταστική επιτροπή:

Βεζυράκη Πατρόνα, Ομότιμη Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Ιατρικό
Τμήμα, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Μποζίδης Πέτρος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Μικροβιολογίας,
Ιατρικό Τμήμα, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Η διαδικασία επικυρώνεται από:

- Την/ον διευθυντή του ΠΜΣ ΒΒΕ
- Την/ον Πρόεδρο του Τμήματος

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Ιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κ. Κωνσταντίνα Γκαρτζονίκα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, για την ουσιαστική στήριξή της. Με ενθάρρυνε και με υποστήριξε εμπειριστατωμένα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της Διπλωματικής αυτής εργασίας, καθώς και σε οποιοδήποτε πρόβλημα προέκυπτε στην πορεία. Η καθοδήγησή της, η συνεχόμενη ανατροφοδότηση και παρακίνηση με οδήγησαν στο να τελειώσω με επιτυχία αυτό το όμορφο ταξίδι της μάθησης. Επιβλέποντες, τους οποίους και ευχαριστώ θερμά για την καθοδήγησή τους αλλά και στο ότι με βοήθησαν να βελτιώσω την επιστημονική μου κατάρτιση: η κ. Πατρόνα Βεζυράκη, Ομότιμη Καθηγήτρια Φυσιολογίας και ο κ. Πέτρος Μποζίδης Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Μικροβιολογίας.

Απευθύνω ευχαριστίες στον κ. Χαράλαμπο Αγγελίδη, Ομότιμο Καθηγητή Γενικής Βιολογίας για την δυνατότητα που έδωσε σε εμένα να συμμετάσχω σε αυτό το πολύ παραγωγικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον εκλιπόντα Επίκουρο Καθηγητή Μικροβιολογίας, Ηρακλή Σακκά για τη παρότρυνση, καθοδήγησή του και τη βοήθειά του στο σύνολο των μαθημάτων των Μεταπτυχιακών μου σπουδών. Η εργατικότητα, η αλληλεγγύη και η προσφορά του, με βοήθησαν στο να γίνω καλύτερη σε όλους τους τομείς της ζωής μου.

Ευχαριστώ ακόμα τους συμφοιτητές μου, Νικόλαο Ράρρα (Τεχνολόγο Ιατρικών Εργαστηρίων) για τη συνεργασία και τη συμπαράσταση σε όλη τη διάρκεια του Μεταπτυχιακού καθώς και την κα Αρίδα Πανωραία, Βιοπαθολόγο MD, Msc γιατί με την αμέριστη συμπαράστασή της συνέβαλε ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου που όπως πάντα έτσι και τώρα στάθηκαν δίπλα μου υποστηρίζοντάς με. Η ηθική τους υποστήριξη και η κατανόησή τους με βοήθησαν να ανταπεξέλθω στις δυσκολίες που παρουσιάστηκαν στην εκπόνηση της Διπλωματικής εργασίας αλλά και στο σύνολο των Μεταπτυχιακών σπουδών.

Στην κόρη μου και τον σύζυγό μου

Πίνακας περιεχομένων

1. Εισαγωγή.....	9
2. <i>Chlamydia trachomatis</i>	12
2.1. Δομή, Μορφολογία, Κύκλος ζωής	12
2.2. Παθογένεια, παθογόνος δράση από <i>Chlamydia trachomatis</i>	15
2.3. Επιδημιολογία λοιμώξεων από <i>Chlamydia spp</i>	18
2.4. Θεραπεία, πρόληψη λοιμώξεων από <i>Chlamydia spp</i>	22
3. <i>Mycoplasma spp</i> και <i>Ureaplasma spp</i>	23
3.1. Δομή, μορφολογία, είδη	24
3.2. Παθογένεια, παθογόνος δράση από <i>Mycoplasma</i> και <i>Ureaplasma</i>	27
3.3. Επιδημιολογία λοιμώξεων από <i>Mycoplasma</i> και <i>Ureaplasma</i>	32
3.4. Θεραπευτική προσέγγιση	36
4. Σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και κύηση	41
5. Εργαστηριακή διάγνωση STD.....	45
5.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	45
5.1.1. Προσυμπτωματικός έλεγχος (screening) για χλαμυδιακές λοιμώξεις.....	45
5.1.2. Είδη κλινικών δειγμάτων.....	47
5.1.3. Μεθοδολογίες ανίχνευσης <i>C. trachomatis</i>	48
5.1.3.1. Άμεσες μέθοδοι διάγνωσης χλαμυδιακών λοιμώξεων	49
5.1.3.2. Έμμεσοι μέθοδοι διάγνωσης χλαμυδιακών λοιμώξεων.....	60
5.2. <i>Mycoplasma genitalium</i> και <i>Ureaplasma spp</i>	64
5.2.1. Καλλιεργητικές μέθοδοι.....	64
5.2.2. Ορολογικός έλεγχος	68
5.2.3. Μοριακές Τεχνικές.....	70
5.2.4. Εμπορικές δοκιμασίες βιοχημικής ταυτοποίησης και μοριακής ανίχνευσης μυκοπλασμάτων.....	70
Συμπεράσματα.....	78
Περίληψη.....	82
Abstract	83
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	84
ΙΣΤΟΤΟΠΟΙ.....	104

1. Εισαγωγή

Οι μικροοργανισμοί *Mycoplasma*, *Ureaplasma* και *Chlamydia* συγκεντρώνουν τα τελευταία χρόνια την προσοχή των επιστημόνων, καθώς συνδέονται με διάφορες σεξουαλικά μεταδιδόμενες λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος. Η παρούσα μελέτη έχει ως σκοπό την ανάλυση των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των δεδομένων παθογόνων, την παρουσίαση των τεχνικών εργαστηριακής διάγνωσης και την αναφορά του επιπολασμού τους παγκόσμια και πανελλαδικά.

Τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα (ΣΜΝ), αν και ιδιαίτερα συχνά, χαρακτηρίζονται από μια σχετική υποεκτίμηση των συνεπειών τους, τόσο από το γενικό πληθυσμό, όσο και από τους υγειονομικούς. Φυσικά, το σύνολο των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων μεταβάλλονται στο πέρασμα των χρόνων. Οι κλασικές παθήσεις της βλεννόρροιας και της σύφιλης εντοπίζονται πλέον σπάνια, καθώς η έντονη συμπτωματολογία τους οδηγεί τον ασθενή στην άμεση αναζήτηση ιατρικής βοήθειας, ενώ η αντιμικροβιακή τους αντιμετώπιση αποτελεί πλέον ρουτίνα. Αντιθέτως, οι λοιμώξεις από παθογόνα μικρόβια, όπως τα χλαμύδια, τα μυκοπλάσματα και τα ουρεοπλάσματα ανιχνεύονται ολοένα και συχνότερα, ιδιαίτερα σε μικρότερες ηλικίες. Αν και η διάγνωσή τους καθυστερεί ή δεν πραγματοποιείται καθόλου, λόγω της ιδιαίτερα ήπιας κλινικής τους εικόνας, η χρονιότητά τους σχετίζεται με σοβαρές επιπλοκές, όπως ολιγοασθενοσπερμία στους άνδρες, υπογονιμότητα σαλπινγικής αιτιολογίας ή έκτοπη κύηση στις γυναίκες.

Τα *Chlamydia* αποτελούν μέλη της οικογένειας *Chlamydiaceae*. Είναι μικροί, μη κινητοί, Gram αρνητικοί μικροοργανισμοί. Ως υποχρεωτικά ενδοκυττάρια, αναπτύσσονται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων-ξενιστών (Mishori, McClaskey and WinklerPrins, 2012). Για τον άνθρωπο, δύο εξ' αυτών έχουν κλινική σημασία, το γένος *Chlamydia*, το οποίο περιλαμβάνει το είδος *Chlamydia trachomatis* και το γένος *Chlamydophila*, το οποίο περιλαμβάνει τα είδη *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila abortus* και *Chlamydophila psittaci*. Τα συγκεκριμένα παθογόνα διαθέτουν αρκετά κοινά χαρακτηριστικά με τα βακτήρια, καθώς είναι ευαίσθητα στα αντιβιοτικά, ενώ μοιάζουν και με τους ιούς, απαιτώντας ζωντανά κύτταρα για τον πολλαπλασιασμό τους. Η χλαμυδιακή λοίμωξη συνιστά ένα ιδιαίτερα συχνά εμφανιζόμενο αφροδίσιο νόσημα (Baud, 2011). Προκαλείται από το βακτήριο

Chlamydia trachomatis και εντοπίζεται κυρίως σε νεαρά άτομα με ενεργό σεξουαλική ζωή και πολλαπλούς συντρόφους. Μεταδίδεται με τη σεξουαλική πράξη, με την επαφή με τα γεννητικά όργανα, καθώς και από τη μολυσμένη μητέρα στο νεογνό κατά τη διέλευσή του από το γεννητικό σωλήνα.

Παρά την ύπαρξη αποτελεσματικής θεραπείας για τη χλαμυδιακή λοίμωξη, η απουσία εμφανών συμπτωμάτων σε μεγάλο ποσοστό των περιπτώσεων καθυστερεί την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση, γεγονός που εγείρει ανησυχίες λόγω των πιθανών σοβαρών επιπλοκών της. Η λοίμωξη από τα χλαμύδια χαρακτηρίζεται σιωπηλή νόσος, καθώς η πλειοψηφία των ασθενών είναι ασυμπτωματικοί. Στις γυναίκες, το 70-80% των περιστατικών δεν εμφανίζει συμπτώματα και επομένως η παρουσία της λοίμωξης ενδέχεται να διαπιστωθεί αρκετό καιρό μετά τη μόλυνση. Πρωτίστως προκαλείται τραχηλίτιδα ή σαλπινγίτιδα, ενώ στη συνέχεια οι βλάβες επεκτείνονται και σε άλλα όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν συνήθως τοπική ερυθρότητα, κνησμό ή οίδημα του κόλπου, βλεννοπυώδεις κολπικές εκκρίσεις, κολπική αιμόρροια, μητρορραγία, αιμορραγία μετά τη σεξουαλική επαφή, κοιλιακό άλγος, δυσπαρευνία, συχνουρία, πόνο στην ούρηση, ακόμη και πυρετό. Στους άνδρες, το 50% των περιστατικών δεν εμφανίζει κανένα σύμπτωμα, ενώ στο υπόλοιπο 50% εντοπίζονται συμπτώματα ουρηθρίτιδας, κυρίως πόνος ή κάψιμο στην ούρηση, επιδιδυμίτιδας, ακόμη και προστατίτιδας. Παρατηρούνται επίσης εκκρίσεις από το πέος, διογκωμένοι όρχεις και πυρετός. Σπανίως, η παρουσία των χλαμυδίων ενδέχεται να προκαλέσει ακόμη και υπογονιμότητα.

Η θεραπεία των χλαμυδιακών λοιμώξεων (Mestrovic and Ljubin-Sternak, 2018) πραγματοποιείται με τη λήψη βακτηριοστατικών αντιβιοτικών, όπως μακρολίδες (αζιθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, ερυθρομυκίνη) ή τετρακυκλίνες (δοξυκυκλίνη, τετρακυκλίνη), ενώ στις έγκυες και τις θηλάζουσες γυναίκες συνίσταται κυρίως η ερυθρομυκίνη και εναλλακτικά η αμοξικιλίνη. Κατά κανόνα, προτείνεται η λήψη θεραπείας και από την πλευρά του/της συντρόφου, κατόπιν προγενέστερης ιατρικής ενημέρωσης. Η λοίμωξη επανεμφανίζεται συχνά λόγω μη ανιχνεύσιμης πηγής μόλυνσης του άλλου συντρόφου, ακόμη και αν ο ένας από τους δύο έχει υποβληθεί σε θεραπεία. (Lewis, et al, 2017).

Τα γένη *Mycoplasma* και *Ureaplasma* συγκαταλέγονται στην οικογένεια των *Mycoplasmataceae* και στην κλάση των *Mollicutes*. Αποτελούν κυτταρικούς

μικροοργανισμούς, οι οποίοι ζουν ελεύθεροι στη φύση. Χαρακτηρίζονται από πλειομορφικό σχήμα. Στερούνται κυτταρικού τοιχώματος, περιβάλλονται από μία κυτταρική μεμβράνη, η οποία περιέχει στερόλες και σχηματίζουν πολύμορφα νημάτια. Είναι προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί και διαιρούνται με διχοτόμηση. Η γενετική πληροφορία που φέρουν είναι ελάχιστη, γι' αυτό και διαθέτουν περιορισμένες βιοσυνθετικές ικανότητες. Είναι ανθεκτικοί στα αντιβιοτικά οργανισμοί, λόγω της απουσίας κυτταρικού τοιχώματος (καθώς η πλειονότητα των αντιβιοτικών, όπως οι β-λακτάμες, δρουν εκεί). Δε βάφονται με τη χρώση Gram, ούτε αναπτύσσονται σε κοινά θρεπτικά υλικά, αλλά σε εξειδικευμένα μέσα, από τα οποία απουσιάζουν κύτταρα εμπλουτισμένα με χοληστερόλη.

Τα μυκοπλάσματα ενοχοποιούνται στο σύνολό τους για ποικίλες λοιμώξεις του αναπαραγωγικού συστήματος, όπως προστατίτιδα, μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα, κολπίτιδα, τραχηλίτιδα, σαλπινγίτιδα και πυελική φλεγμονή, ενώ ευθύνονται και για περιστατικά ανδρικής και γυναικείας υπογονιμότητας. Συνδέονται ακόμη με προωρότητα, αποβολές και γεννήσεις λιποβαρών νεογνών.

Η παρουσία των μυκοπλάσμάτων δεν οδηγεί απαραίτητως σε λοίμωξη. Μπορεί να αφορά φορία ή υποκλινική περίπτωση. Το *Mycoplasma* και το *Ureaplasma* πιθανολογείται πως δρουν ως ευκαιριακά παθογόνα. Αν και συσχετίζονται με αρκετές λοιμώξεις, ο παθογενετικός τους ρόλος αμφισβητείται, καθώς απομονώνονται συχνά και στη φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα. Το *Ureaplasma* αποικίζει τον κόλπο ασυμπτωματικών γυναικών σε ποσοστό 45-75%, ενώ το *Mycoplasma* σε ποσοστό 20-50% (Waites, Katz and Schelonka, 2005). Η ανεύρεσή τους στο σπέρμα ασυμπτωματικών ανδρών είναι ποσοστιαία χαμηλότερη. Ο αποικισμός εξαρτάται από το φύλο, την ηλικία, τη σεξουαλική ζωή και το ορμονικό προφίλ (Αρσένη, 1994), ενώ συνδέεται αναλογικά με το νεαρό της ηλικίας, το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, την πολλαπλότητα σεξουαλικών συντρόφων (Cassell, et al, 1993).

Τα χλαμύδια αποτελούν το συχνότερα διαγνωσθέν σεξουαλικά μεταδιδόμενο παθογόνο, συνδεδεμένο με σοβαρές επιπτώσεις και στα δύο φύλα, όπως έκτοπη κύηση στις γυναίκες και υπογονιμότητα τόσο στις γυναίκες όσο και στους άνδρες (Price, et al, 2016). Σε παγκόσμιο επίπεδο, πραγματοποιούνται εκτεταμένες επιδημιολογικές μελέτες για τη διερεύνηση των σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων και αξιολογείται διαρκώς η αποτελεσματικότητα των σχετικών παρεμβάσεων δημόσιας

υγείας (Chow & Bauer, 2016), με αντικρουόμενα αποτελέσματα αναφορικά με τη μείωση ή μη του επιπολασμού της πυελικής φλεγμονώδους νόσου (Gottlieb, Xu & Brunham, 2013; Public Health England, 2014; Van den Broek, Van Bergen & Brouwers, 2012; Andersen & Olesen, 2012; Woodhall, et al, 2016).

Στην Ελλάδα, τα επιδημιολογικά στοιχεία σχετικά με τον επιπολασμό των λοιμώξεων του γεννητικού συστήματος από χλαμύδια, μυκόπλασμα και ουρεόπλασμα είναι σχετικά περιορισμένα. Ωστόσο, έχουν υλοποιηθεί κάποιες μελέτες, έστω και περιορισμένες, σχετικά με τον προσδιορισμό της συχνότητας ανίχνευσής των δεδομένων παθογόνων. Συγκεκριμένα, το *Ureaplasma* εντοπίστηκε σε ασυμπτωματικές γυναίκες σε ποσοστό 16% (Kotrotsiou, et al, 2013), ενώ το *Ureaplasma urealyticum* σε ποσοστό 53% και το *Mycoplasma hominis* σε ποσοστό 3% σε γυναίκες με χρόνια γυναικολογικά συμπτώματα (Baka, et al, 2009). Τα *Chlamydia trachomatis* εντοπίστηκαν σε ποσοστό 0,58% στο σπέρμα ασυμπτωματικών ανδρών, ενώ στο 11,62% εντοπίστηκε τουλάχιστον ένας από τους μικροοργανισμούς *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* (Gerovassili, et al, 2017).

Ο αυξημένος επιπολασμός των χλαμυδίων, του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος, η συχνότητα αποικισμού τους, καθώς και η συμμετοχή τους στην παθογένεια διαφόρων λοιμώξεων, απαιτεί την εφαρμογή κατάλληλων διαγνωστικών μεθόδων, ευαίσθητων, αξιόπιστων, άμεσων και ταχέων, περισσότερο μοριακών και λιγότερο συμβατικών τεχνικών.

2. *Chlamydia trachomatis*

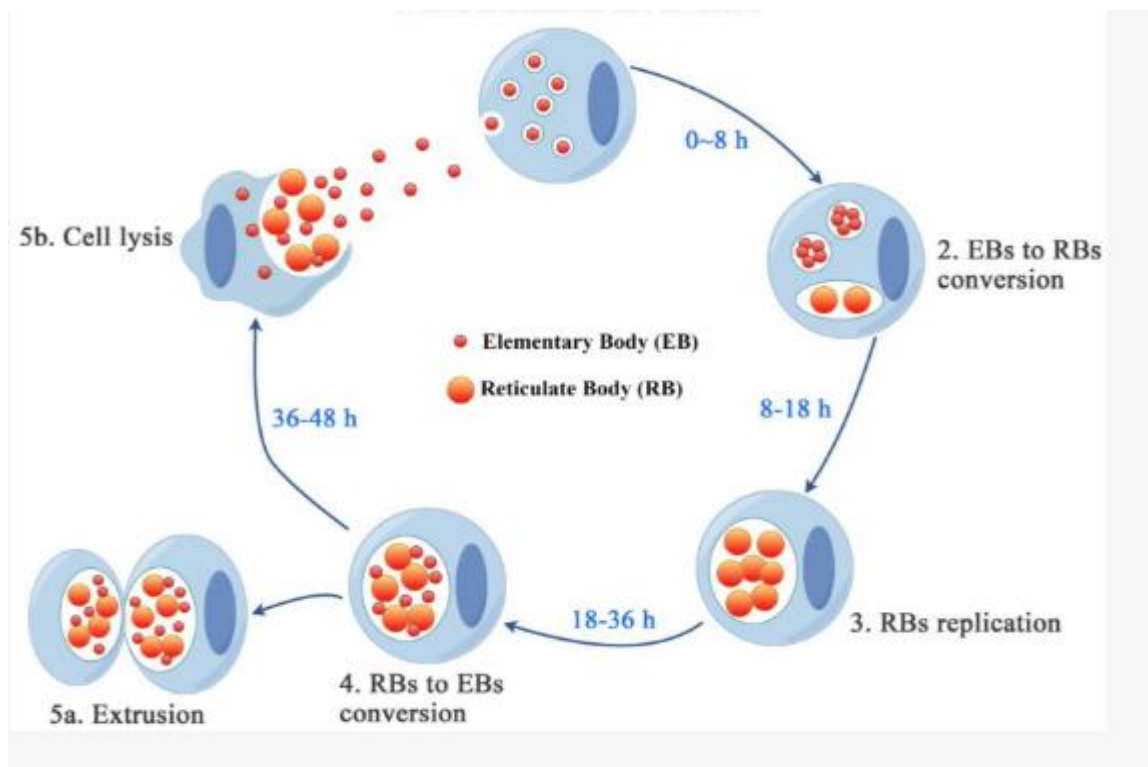
2.1. Δομή, Μορφολογία, Κύκλος ζωής

Τα χλαμύδια του τραχώματος (*Chlamydia trachomatis*) είναι παθογόνοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι προσβάλλουν αποκλειστικά τους ανθρώπους. Φυλογενετικά, ενδέχεται τα χλαμύδια να μοιράζονται ένα κοινό πρόγονο με τα κυανοβακτήρια, μια ομάδα η οποία περιέχει τον πρόγονο ενδοπαρασίτου στους χλωροπλάστες των φυτών. Έτσι, τα χλαμύδια διαθέτουν χαρακτηριστικά κοινά με των φυτών από άποψη φυσιολογίας και γενετικής (Bayramova, Jacquier and Greub, 2018). Ειδικότερα, το ένζυμο L,L- διαμινοπιμεταλική αμινοτρανσφεράση συνδέεται με την

παραγωγή της λυσίνης στα φυτά, ενώ σχετίζεται παράλληλα και με την κατασκευή του κυτταρικού τοιχώματος στα χλαμύδια (Liechti, et al, 2014). Στα χλαμύδια, στα κυανοβακτήρια και στα φυτά, η γενετική κωδικοποίηση των ενζύμων είναι εντυπωσιακά παρόμοια, υποδεικνύοντας μια στενά κοινή καταγωγή, ανακάλυψη η οποία μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών αντιβιοτικών και νέων οδών θεραπείας γενικότερα (Bayramova, Jacquier and Greub, 2018).

Τα βακτήρια είναι αυστηρά ενδοκυττάρια παθογόνα με χαρακτηριστικό κύκλο ζωής που διακρίνεται σε δυο ξεχωριστές φάσεις: μια εξοκυτταρική φάση, κατά την οποία το σωματίδιο είναι μη πολλαπλασιαζόμενο, μολυσματικό, γνωστό ως στοιχειώδες σωματίο (elementary body, EB με διάμετρο από 0,25 έως 0,3 μm), το οποίο απελευθερώνεται από μολυσμένα κύτταρα που έχουν υποστεί ρήξη και μπορεί να μεταδοθεί από άτομο σε άτομο και μια υποχρεωτικά ενδοκυτταρική φάση, κατά την οποία τα δικτυωτά όπως ονομάζονται σωματίδια (reticulate body, RB), με διάμετρο 0,5 έως 0,6 μm , πολλαπλασιάζονται και είναι μη μολυσματικά (Elwell, Mirrashidi and Engel, 2016).

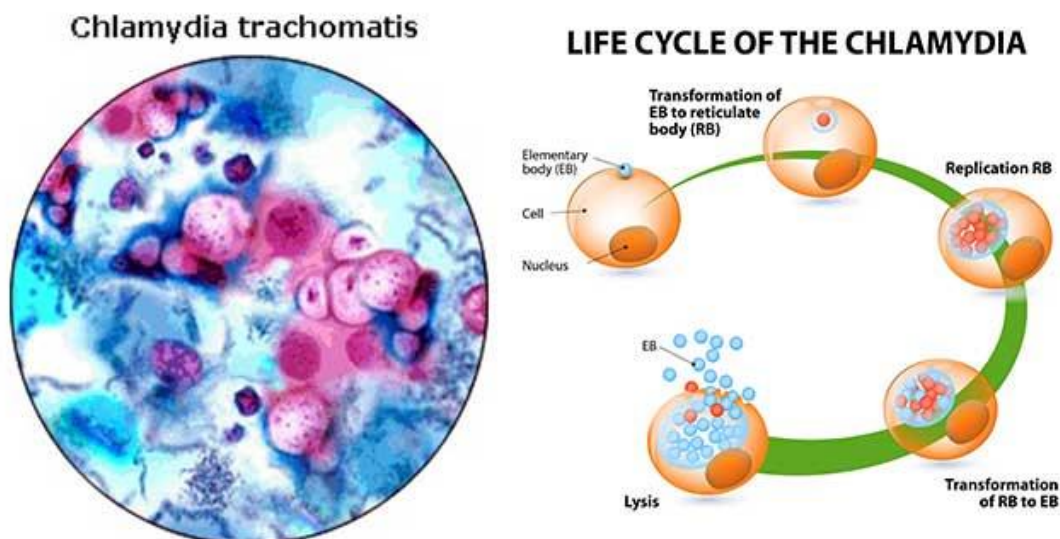
Το μολυσματικό στοιχειώδες σωματίο εξελίσσεται σε ένα μη μολυσματικό δικτυωτό σωματίο μέσα σε ένα κυτταροπλασματικό κενोटόπιο, “έγκλειστο”, του μολυσμένου κυττάρου. Συγκεκριμένα, η μολυσματική μορφή προσκολλάται στην κυτταρική μεμβράνη και εισάγεται στο κύτταρο μέσω ενός φαγοσώματος (Todd and Caldwell, 1985). Η ανάπτυξη του *C. trachomatis* διαρκεί περίπου 48-72 ώρες και αρχίζει όταν το στοιχειώδες σωματίο μολύνει το κύτταρο του ξενιστή, συνήθως τα επιθηλιακά κύτταρα των βλεννογόνων, και μορφολογικά μετατρέπεται σε δικτυωτό σωματίο μέσα σε ένα φαγοκυτταρικό κυστίδιο, που ονομάζεται έγκλειστο. Το τελευταίο είναι ένας προστατευμένος ενδοκυτταρικός χώρος που επιτρέπει στο βακτήριο να παρασιτεί στον ξενιστή για ενέργεια και θρεπτικά συστατικά και να αποφεύγει την ενδοκυτταρική αντίχρεση. Στη συνέχεια, τα δικτυωτά σωματίδια συμπυκνώνονται και μετά από 24-48 ώρες σχηματίζουν νέα στοιχειώδη σωματίδια (Saikku, 2003), τα οποία απελευθερώνονται από το κύτταρο συνήθως μέσω λύσης του έγκλειστου και του κυττάρου-ξενιστή, ξεκινώντας ένα νέο μολυσματικό κύκλο (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Αναπτυξιακός κύκλος χλαμυδίων. Ο κύκλος ξεκινά με την προσκόλληση μολυσματικών στοιχειωδών σωμάτων (EB) στα κύτταρα ξενιστές, ακολουθούμενη από την εισβολή τους στα κύτταρα για να σχηματίσουν κενोटόπια. Μέσα σε 8–18 ώρες, τα EB διαφοροποιούνται σε μη μολυσματικά δικτυωτά σώματα (RBs) και χρησιμοποιούν θρεπτικά συστατικά του κυττάρου ξενιστή για αντιγραφή. Μέσα σε 18–36 ώρες, τα RB διαφοροποιούνται εκ νέου σε EB. Μέσα σε 36–48 ώρες, τα EB απελευθερώνονται είτε μέσω λύσης ή εξώθησης του κυττάρου ξενιστή, μολύνοντας γειτονικά κύτταρα και ξεκινώντας έναν νέο γύρο ανάπτυξης (Yang, et al, 2024).

Τα χλαμύδια θεωρήθηκαν αρχικά ιοί, λόγω του μικρού μεγέθους τους και της εξάρτησής τους από το κύτταρο ξενιστή προκειμένου να ολοκληρώσουν τις μεταβολικές τους δραστηριότητες. Απαιτούν ενέργεια και άλλα προϊόντα, για τις βιοσυνθετικές τους οδούς (Murray and McKay, 2021). Εντούτοις, είναι βακτήρια, επειδή μπορούν να συνθέσουν τα δικά τους βασικά μακρομόρια και ανήκουν σε ομάδα υποχρεωτικών ενδοκυτταρικών προκαρυωτικών βακτηρίων (Εικόνα 2). Επιπλέον, τα χλαμύδια είναι εξαιρετικά ανθεκτικά, αν και δεν έχουν στιβάδα πεπτιδογλυκάνης που υπάρχει σε άλλα βακτήρια. Ο πυρήνας τους περιβάλλεται από κυτταροπλασματική μεμβράνη και διπλή εξωτερική μεμβράνη, η οποία διαθέτει κύρια εξωτερική δομική

πρωτεΐνη (Major Outer Membrane Protein, MOMP), υπεύθυνη για τους διαφορετικούς οροτύπους των χλαμυδίων. Το κυτταρικό τοίχωμα περιέχει λιποσακχαρίτη (LPS), με περιορισμένη δράση ενδοτοξίνης. (Murray and McKay, 2021).



Εικόνα 2: Η μορφολογία και ο κύκλος ζωής των χλαμυδίων του τραχώματος.
<http://dubaistdclinic.com>

2.2. Παθογένεια, παθογόνος δράση από *Chlamydia trachomatis*

Η ποικιλία των κυττάρων που μπορεί να προσβληθεί από *C. trachomatis* δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλη. Οι υποδοχείς αυτοί εντοπίζονται κυρίως σε κροσσωτά, κυλινδρικά, κυβοειδή και μεταβατικά επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία βρίσκονται στους βλεννογόνους της ουρήθρας, του ενδοτραχήλου, του ενδομητρίου, των σαλπίγγων, του ορθού και του πρωκτού, της αναπνευστικής οδού και του επιπεφυκότα. Τα στελέχη που προκαλούν διηθητικό λεμφοκοκκίωμα LGV αναπαράγονται εντός των μονοκυττάρων φαγοκυττάρων του λεμφικού συστήματος (Murray and McKay, 2021).

Τα χλαμύδια διαίρουνται σε 19 οροτύπους (A, B/Ba, C, D/Da, E, F, G/Ga, H, I/Ia, J, K, L1, L2/L2a και L3), ανάλογα με την ειδικότητα των επιτόπων της κύριας πρωτεΐνης της εξωτερικής μεμβράνης (MOMP). Η οροτυπία απαιτεί συνήθως μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας, οι οποίες είναι επίπονες και χρονοβόρες. Σήμερα, μέθοδοι μοριακής τυποποίησης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για γονοτύπηση, που περιλαμβάνει ανάλυση του γονιδίου *ompA* που κωδικοποιεί για την MOMP. Έτσι δεν

απαιτείται πλέον η καλλιέργεια κυτταρικών σειρών. Μερικές από τις μεθόδους τυποποίησης που εμπλέκονται είναι ο προσδιορισμός αλληλουχίας ompA, η αλληλούχιση πολλαπλών θέσεων (MLST), η ανάλυση επαναλαμβανόμενης σειράς μεταβλητών πολλαπλών θέσεων (MLVA) και η αλληλούχιση ολόκληρου (WGS) του γονιδιώματος (Rawre, Juyal and Dhawan, 2017).

Οι κύριες λοιμώξεις που προκαλούνται από χλαμύδια τραχώματος είναι το τράχωμα και λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος, όπως τραχηλίτιδα, ουρηθρίτιδα, διηθητικό λεμφοκοκκίωμα (LGV) κτλ.

Οι ορότυποι A, B και C προκαλούν το τράχωμα, που είναι η κύρια αιτία τύφλωσης στην Αφρική, τη Μέση Ανατολή, την Ασία και τη Νότια Αμερική, είναι ενδημικό σε περισσότερες από 50 χώρες και η πιο κοινή λοιμώδης αιτία τύφλωσης παγκοσμίως (Bébéar and Barbeyrac, 2009). Η υποτροπιάζουσα μόλυνση της πρόσθιας επιφάνειας του οφθαλμού οδηγεί σε εντρόπιο (τριχίαση) και τύφλωση λόγω θολερότητας του κερατοειδούς.

Οι ορότυποι L1-L3 σχετίζονται με το αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα (LGV) που είναι μια συστηματική, σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξη. Σε αντίθεση με στελέχη *C. trachomatis* που προκαλούν λοιμώξεις γεννητικού και οφθαλμικού βλεννογόνων, οι συγκεκριμένοι ορότυποι εισβάλλουν και καταστρέφουν τον λεμφικό ιστό. Οι κλινικές εκδηλώσεις της LGV μπορεί να περιλαμβάνουν έλκος γεννητικών οργάνων, λεμφαδενοπάθεια ή πρωκτοκολίτιδα. Η ορθική έκθεση μεταξύ ομοφυλόφιλων μπορεί να οδηγήσει σε πρωκτοκολίτιδα, η οποία είναι η πιο κοινή μορφή της λοίμωξης LGV και μπορεί να μιμείται τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου με κλινικά ευρήματα βλενώδους ή αιμορραγικής έκκρισης από το ορθό, πρωκτικό πόνο, δυσκοιλιότητα, πυρετό ή τενεσμό, που αν δεν αντιμετωπιστεί μπορεί να οδηγήσει σε συρίγγια. Μια κοινή κλινική εκδήλωση της LGV μεταξύ των ετεροφυλόφιλων είναι η επώδυνη βουβονική λεμφαδενοπάθεια που είναι συνήθως μονόπλευρη. Ένα αυτοπεριοριζόμενο γεννητικό έλκος μπορεί μερικές φορές να εμφανιστεί στο σημείο της μόλυνσης (<https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/lgv.htm>).

Οι ορότυποι D, E, F, G, H, I, J και K προσβάλλουν τα γεννητικά κύτταρα και τα επιθηλιακά κύτταρα του ορθού, προκαλώντας λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος. Μολύνουν ακόμη τα αναπνευστικά επιθηλιακά κύτταρα, οδηγώντας σε νεογνική πνευμονία.

Τα χλαμύδια συνιστούν την πλέον κοινή σεξουαλικά μεταδιδόμενη περίπτωση μικροβιακής αιτιολογίας (Carey and Beagley, 2010). Μεταδίδονται κατόπιν επαφής με τους βλενογόννους της ουρογεννητικής ή πρωκτικής οδού, μέσω του στοματοφάρυγγα, κατά τη σεξουαλική επαφή ή και κάθετα από τη μολυσμένη μητέρα στο νεογνό. Το 75% των γυναικών και το 50% των ανδρών είναι ασυμπτωματικοί (Nye, et al, 2019), ενώ επί συμπτωματολογίας, τα συμπτώματα εμφανίζονται μία έως τρεις εβδομάδες μετά την επαφή με το μικρόβιο. Ωστόσο, δεν είναι σαφές για πόσο καιρό τα άτομα με ασυμπτωματική νόσο μπορούν να φέρουν τη λοίμωξη.

Στις γυναίκες, τα χλαμύδια προσβάλλουν πρωτίστως τον τράχηλο της μήτρας (Haggerty, et al, 2008). Σε αυτό το στάδιο, πιθανόν να παρατηρηθούν επίμονες κολπικές εκκρίσεις ή αίσθημα ήπιου άλγους. Σε περίπτωση μικτής λοίμωξης, στο τραχηλικό έκκριμα ενδέχεται να εντοπισθούν εκτός των χλαμυδίων, μύκητες, τριχομονάδα ή ιός του απλού έρπητα. Εάν η ασθενής δε λάβει θεραπεία, η λοίμωξη γίνεται ανιούσα και τα χλαμύδια μολύνουν σταδιακά τη μήτρα και τις σάλπιγγες, προκαλώντας τελικά φλεγμονώδη νόσο στην πύελο (Manavi, 2006). Η πυελική φλεγμονώδης νόσος δύναται να είναι ασυμπτωματική, αλλά και να συνοδεύεται από κοιλιακό ή πυελικό άλγος, πυρετό, παθολογικές εκκρίσεις, πόνο στην ούρηση ή κατά τη σεξουαλική επαφή, ενώ ενδέχεται να οδηγήσει ακόμη και σε μόνιμη βλάβη της μήτρας, των σαλπίγγων και των ωοθηκών. Θεραπευτικά, αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά, αλλά σε σοβαρά περιστατικά απαιτείται έως και χειρουργική επέμβαση (Haggerty, et al, 2014).

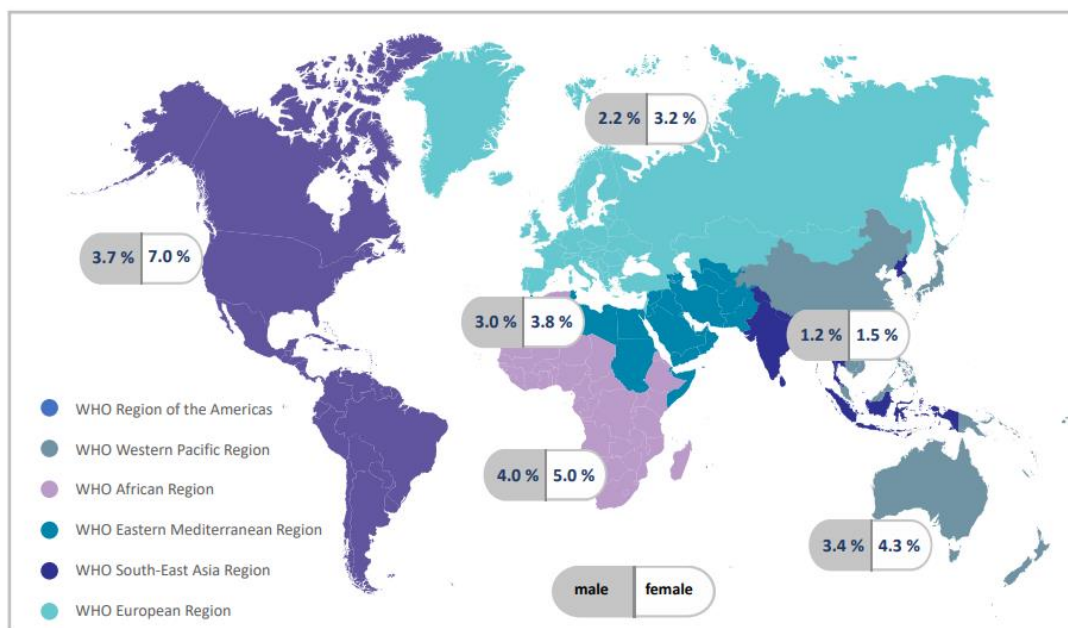
Επιπτώσεις της παρουσίας των χλαμυδίων αποτελούν η έκτοπη κύηση (Bébéar and Barbeyrac, 2009) και η αποβολή (Rahimkhani, Mordadi and Gilanpour, 2018), η φλεγμονή στα γεννητικά όργανα, η πρωκτίτιδα και η επιπεφυκίτιδα (Workowski and Berman, 2006). Ακόμη, αποτελούν κίνδυνο για την πρόκληση μη αναστρέψιμης υπογονιμότητας στις γυναίκες (Soper, 2010) και πνευμονίας στο νεογέννητο (Mylonas, 2012).

Τα χλαμύδια ευθύνονται για το 30–50% των περιπτώσεων μη γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας και στα δύο φύλα, μιας σεξουαλικά μεταδιδόμενης νόσου που συχνά συνυπάρχει με παθογόνα όπως ο γονόκοκκος, οι τριχομονάδες, τα μυκοπλάσματα και οι ερπητοϊοί. Ο μικροοργανισμός προσβάλλει τα επιθηλιακά κύτταρα της ουρήθρας στους άνδρες, ενώ στις γυναίκες, μέσω των κυττάρων της ουρήθρας μπορεί να μολύνει τα επιθηλιακά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (WHO, 2012). Στους άνδρες, το

ποσοστό ασυμπτωματικής λοίμωξης ποικίλλει σημαντικά, κυμαινόμενο από 40% έως 96%. Τα συμπτώματα της χλαμυδιακής ουρηθρίτιδας περιλαμβάνουν αίσθημα καύσου κατά την ούρηση, δυσουρία, ουρηθρικές εκκρίσεις, καθώς και άλγος ή οίδημα στους όρχεις. Το βακτήριο *Chlamydia trachomatis* αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες επιδιδυμίτιδας σε σεξουαλικά ενεργούς άνδρες, μαζί με τον γονόκοκκο (Μανανί, 2006), ενώ ενοχοποιείται επίσης για την πρόκληση χρόνιας προστατίτιδας και έχει συσχετιστεί με τη γονόρροια. Επιπλέον, διερευνάται ο ρόλος της χλαμυδιακής λοίμωξης στην ποιότητα και την ποσότητα του σπέρματος, καθώς και στη γενικότερη επίδρασή της στην ανδρική υπογονιμότητα και την έκβαση θεραπειών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (Paavonen, 2012).

2.3. Επιδημιολογία λοιμώξεων από *Chlamydia* spp

Τα χλαμύδια τραχώματος αποτελούν το συχνότερα εμφανιζόμενο μικροβιακό σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα σε παγκόσμιο επίπεδο με εκατομμύρια νέα περιστατικά γεννητικών χλαμυδιακών λοιμώξεων κάθε χρόνο. Το 2020, εκτιμάται ότι 128,5 εκατομμύρια νέες λοιμώξεις με *Chlamydia trachomatis* σημειώθηκαν παγκοσμίως μεταξύ ενηλίκων ηλικίας 15 έως 49 ετών, με επικράτηση σε αυτές τις ηλικίες 4,0% για τις γυναίκες και 2,5% για τους άνδρες (Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Ο επιπολασμός των χλαμυδίων του τραχώματος στον κόσμο. *World Health Organization*

Βάσει των καταγραφών της τελευταίας δεκαπενταετίας, η συχνότητα της λοίμωξης στα νεαρά άτομα είναι 3%, ενώ ο κίνδυνος μόλυνσης των γυναικών είναι διπλάσιος από των ανδρών (www.cdc.gov/std/stats12/default.htm). Καταγράφονται συνεχώς νέες περιπτώσεις, αν και οι αριθμοί ακόμη θεωρούνται υποεκτιμημένοι, με τον επιπολασμό στις ασυμπτωματικές γυναίκες να αγγίζει το 17% και στους άνδρες το 96%, εξαρτώμενος από την πληθυσμιακή και γεωγραφική κατανομή (Mylonas, 2012). Παλαιότερα δεδομένα στην Ελλάδα, αναφέρουν ότι από το 1998 έως το 2004 ένα ποσοστό 3,9% συμπτωματικών ασθενών νόσησε από *Chlamydia trachomatis*, με επικράτηση στους άνδρες (11,2%) έναντι των γυναικών (3,5%) (Levidiotou, et al, 2005), δεδομένο που άλλαξε τις επόμενες δεκαετίες μέχρι σήμερα, αναφορικά με την επικράτηση του φύλου.

Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, για τον ευρωπαϊκό χώρο το 2022, αναφέρθηκαν 216 508 επιβεβαιωμένα κρούσματα λοίμωξης από χλαμύδια σε 27 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ/ΕΟΧ), με 88 κρούσματα ανά 100 000 πληθυσμού. Αυτό αντιπροσωπεύει μια αύξηση 16% και 15% συγκριτικά με το 2021 και το 2018, αντίστοιχα (Πίνακας 1). Μετά την κορύφωση το 2019, οι δείκτες χλαμυδιακής λοίμωξης μειώθηκαν το 2020 και το 2021 κατά τη διάρκεια της πανδημίας COVID-19, με νέα καταγραφόμενα υψηλά ποσοστά το 2022, τόσο σε γυναίκες, κυρίως ηλικίας 20-24 ετών, όσο και σε άνδρες.

Κατά τη διάρκεια της πενταετίας από 2018 έως 2022, ο αριθμός των περιπτώσεων χλαμυδιακής λοίμωξης ως αποτέλεσμα μετάδοσης μεταξύ ανδρών που είχαν σεξουαλική επαφή με άνδρες αυξήθηκε κατά 72%. Σε εθνικό επίπεδο, για τις διαφορετικές χώρες που συμμετείχαν στην καταγραφή, οι περιπτώσεις από χλαμύδια κυμαίνονταν μεταξύ 0,1 και 709 ανά 100 000 πληθυσμού. Τα χαμηλότερα ποσοστά (λιγότερα από 3 κρούσματα ανά 100 000 πληθυσμού) αναφέρθηκαν στη Βουλγαρία, Κροατία, Κύπρο, Ελλάδα, Πολωνία και Ρουμανία (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>).

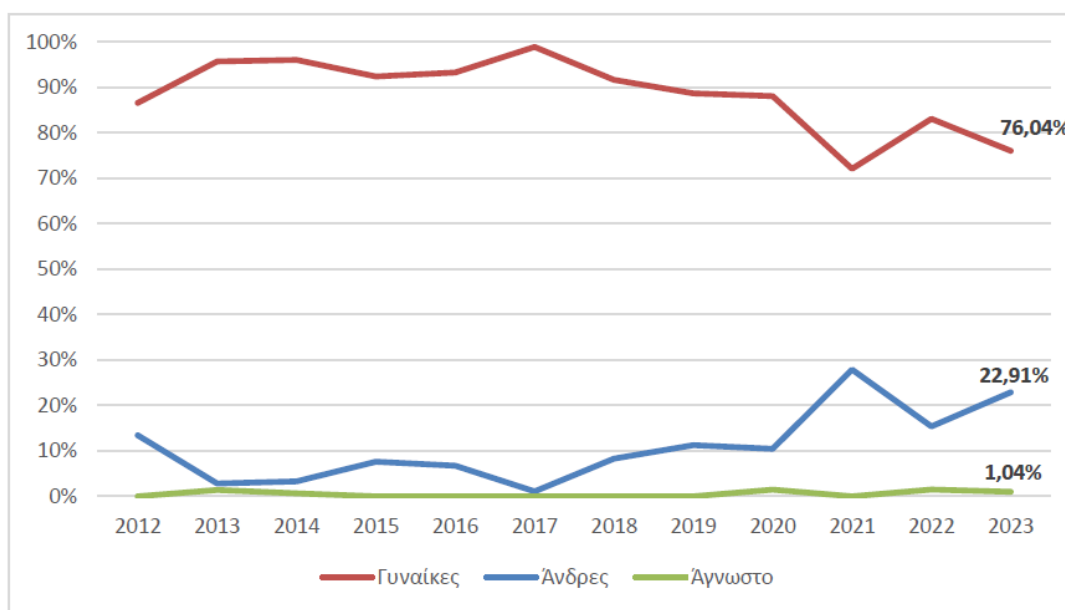
Table 1. Confirmed chlamydia cases and rates per 100 000 population by country and year, EU/EEA, 2018–2022

Country	2018		2019		2020		2021		2022	
	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate	Number	Rate
Austria	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC
Belgium	9 294	NRC	8 288	NRC	5 692	NRC	9 381	NRC	9 081	NRC
Bulgaria	189	2.7	121	1.7	50	0.7	31	0.4	26	0.4
Croatia	213	5.2	150	3.7	121	3.0	115	2.8	100	2.6
Cyprus	3	0.3	1	0.1	4	0.5	5	0.6	10	1.1
Czechia	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC
Denmark	33 415	578.0	35 680	614.5	34 681	595.6	36 632	627.3	41 634	708.9
Estonia	1 013	76.8	1 064	80.3	942	70.9	977	73.5	1 026	77.0
Finland	14 839	269.2	16 181	293.2	16 280	294.6	16 789	303.4	16 863	303.9
France	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	12 665	NRC	14 199	NRC
Germany	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC	NDR	NRC
Greece	61	0.6	62	0.6	66	0.6	45	0.4	59	0.6
Hungary	780	8.0	913	9.3	624	6.4	640	6.6	641	6.6
Iceland	1 834	526.3	1 795	502.8	1 788	491.0	1 807	490.0	1 853	492.5
Ireland	7 933	164.2	9 208	187.8	6 901	139.0	8 322	166.2	9 728	192.3
Italy	1 198	NRC	1 109	NRC	602	NRC	1 243	NRC	1 396	NRC
Latvia	1 248	64.5	1 253	65.3	1 202	63.0	998	52.7	909	48.5
Liechtenstein	NDR	NRC	NDR	NRC	30	77.4	33	84.5	38	96.7
Lithuania	257	9.1	248	8.9	174	6.2	228	8.2	257	9.2
Luxembourg	36	6.0	44	7.2	1 003	160.2	1 136	179.0	1 527	236.6
Malta	343	72.1	320	64.8	235	45.7	362	70.1	286	54.9
Netherlands	18 908	NRC	18 148	NRC	16 109	NRC	20 484	NRC	24 685	NRC
Norway	26 556	501.5	28 446	533.9	25 444	474.0	23 447	434.9	29 271	539.5
Poland	308	0.8	418	1.1	167	0.4	283	0.7	517	1.4
Portugal	613	6.0	787	7.7	765	7.4	914	8.9	1 501	14.5
Romania	9	0.0	14	0.1	5	0.0	4	0.0	12	0.1
Slovakia	526	9.7	780	14.3	682	12.5	888	16.3	1 060	19.5
Slovenia	332	16.1	397	19.1	280	13.4	369	17.5	412	19.6
Spain	12 847	31.9	15 612	38.5	15 254	36.0	20 603	48.5	26 615	62.6
Sweden	31 815	314.4	34 784	340.0	32 890	318.5	30 171	290.7	32 802	313.8
EU/EEA (30 countries)	164 570	70.9	175 823	77.8	161 991	72.7	188 572	75.8	216 508	87.9
UK	242 386	365.7	258 904	388.5	NDR	NRC	NA	NA	NA	NA
EU/EEA (31 countries)	406 956	146.1	434 727	157.2	161 991	72.7	NA	NA	NA	NA

Πίνακας 1: Αριθμός επιβεβαιωμένων περιστατικών λοίμωξης από C. trachomatis / 100.000 πληθυσμού / χώρα για τα έτη 2018-2022, ΕΕ/ΕΟΧ, (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>).

Τέλος, νεότερα επιδημιολογικά δεδομένα για τις χλαμυδιακές λοιμώξεις στην Ελλάδα, που συλλέχθηκαν μέσω του Συστήματος Υποχρεωτικής Δήλωσης και του Συστήματος Ανασκόπησης Εργαστηριακής Διάγνωσης ΣΜΝ για το έτος 2023, αναφέρουν 96 επιβεβαιωμένα κρούσματα χλαμυδιακών λοιμώξεων (<https://eody.gov.gr/wp->

[content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf](https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf)). Από τα δηλωθέντα κρούσματα, τα 73 αφορούν σε γυναίκες (76.04%), τα 22 αφορούν σε άνδρες (22.91%), και για ένα κρούσμα δεν αναφέρεται φύλο (Γράφημα 1). Ο συχνότερος τρόπος μετάδοσης είναι μέσω σεξουαλικής επαφής μεταξύ ετεροφυλόφιλων, ενώ για το 2023 παρατηρήθηκε μία μικρή αύξηση περιστατικών σε άνδρες μετά από σεξουαλική επαφή με άλλους άνδρες (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).

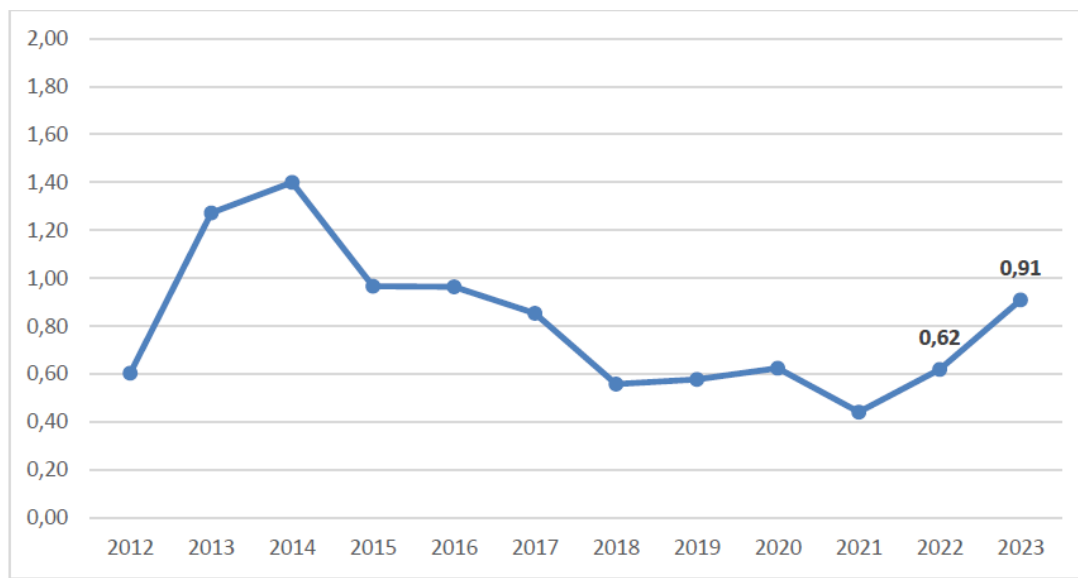


Γράφημα 1: Ποσοστιαία κατανομή χλαμυδιακών λοιμώξεων ανά φύλο 2012-2023, Ελλάδα, (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).

Οι νέες διαγνώσεις φαίνεται να έχουν μία πτωτική πορεία από το 2015 μέχρι το 2023. Μικρή αύξηση παρατηρείται στην Ελλάδα για το 2023 συγκριτικά με το 2022, εντούτοις παραμένουν τα νέα περιστατικά σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα και το 2023 (Γράφημα 2).

Τέλος αναφορικά με τις συλλοιμώξεις, φαίνεται ότι τουλάχιστον για τα περιστατικά στα οποία διενεργήθηκε εργαστηριακός έλεγχος, η γοννόρροια αποτέλεσε το σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα που ελέγχθηκε (22,36%) και διαγιγνώστηκε (5,5%) συχνότερα σε άτομα με χλαμυδιακή λοίμωξη, ενώ ακολούθησαν η σύφιλη και

η HIV λοίμωξη, ως οι επόμενες σε συχνότητα συλλοιμώσεις (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).



Γράφημα 2: Νέες διαγνώσεις χλαμυδιακών λοιμώξεων ανά 100 000 πληθυσμού στην Ελλάδα (2012-2023), (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).

2.4. Θεραπεία, πρόληψη λοιμώξεων από *Chlamydia spp*

Θεραπευτική αγωγή συνιστάται σε όλα τα άτομα που έχει τεθεί εργαστηριακά η διάγνωση της λοίμωξης, έχουν επιδημιολογικό ιστορικό υψηλού κινδύνου για χλαμυδιακές λοιμώξεις ή εμφανίζουν κλινική συμπτωματολογία χλαμυδιακών λοιμώξεων και δεν είναι δυνατή η άμεση διενέργεια διαγνωστικού ελέγχου με μεθόδους πολλαπλασιασμού νουκλεϊκού οξέος (Nucleic Acid Amplification Techniques, NAAT). Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα προτεινόμενα θεραπευτικά σχήμα τα και πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση των χλαμυδιακών λοιμώξεων (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).

Αντίστοιχα, η θεραπεία του LVG περιλαμβάνει κυρίως δοξυκυκλίνη για 21 ημέρες ή άλλα εναλλακτικά θεραπευτικά σχήματα.

Ουρηθρίτιδα, τραχηλίτιδα
1^η γραμμής
• Δοξυκυκλίνη 100mg x2 pos για 7 ημέρες (όχι σε κύηση) ή • Αζιθρομυκίνη 1gr pos άπαξ
2^η γραμμής (+TOC):
• Ερυθρομυκίνη 500mg x2 pos για 7 ημέρες ή • Λεβοφλοξασίνη 500mg x1 pos για 7 ημέρες (όχι σε κύηση) ή • Οφλοξασίνη 200mg x2 pos για 7 ημέρες (όχι σε κύηση)
Επί υποψίας ή επιβεβαιωμένης συλλοίμωξης με <i>M. genitalium</i>
• Αζιθρομυκίνη 500mg pos την πρώτη ημέρα και κατόπιν 250mg x1 για 4 ημέρες
Πρωκτίτιδα, φαρυγγίτιδα (όχι σε αφροδίσιο λεμφοκοκκίωμα)
• Δοξυκυκλίνη 100mg x2 pos για 7 ημέρες (προτιμάται σε πρωκτική εντόπιση) ή • Αζιθρομυκίνη 1gr pos άπαξ (+TOC)
Κύηση – Θηλασμός
1^η γραμμής
• Αζιθρομυκίνη 1gr pos άπαξ
2^η γραμμής
• Αμοξικιλίνη 500mg x3 pos για 7 ημέρες ή • Ερυθρομυκίνη 500mg x4 pos για 7 ημέρες
HIV λοίμωξη
Η αγωγή δεν τροποποιείται.
Επιτεφυκίτιδα
• Αζιθρομυκίνη 1gr pos άπαξ ή • Δοξυκυκλίνη 100mg x2 pos για 7 ημέρες

Πίνακας 2: Συνοπτική παρουσίαση θεραπείας χλαμυδιακών λοιμώξεων (https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf).

3. *Mycoplasma spp* και *Ureaplasma spp*

Τόσο τα μικρόβια του γένους *Mycoplasma*, όσο και αυτά του γένους *Ureaplasma* συμπεριλαμβάνονται στην οικογένεια των *Mycoplasmataceae* και στην κλάση των *Mollicutes*. Τα μυκοπλάσματα προήλθαν από προγονικά αναερόβια βακτήρια κατόπιν μιας εξελικτικής διαδικασίας εξάλειψης γονιδίων. Εντοπίζονται σε θηλαστικά, σε πτηνά και ψάρια, σε διάφορα άλλα σπονδυλωτά, σε φυτά και φυσικά στον άνθρωπο (Yoshida, et al, 2002).

Τα είδη *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* και *Ureaplasma urealyticum* συνδέονται με ασθένειες του ουροποιογεννητικού συστήματος (Jensen, et al, 1991; Deguchi, et al, 2004), ενώ αποικίζουν το γεννητικό

σύστημα και συγκεκριμένα, το αιδοίο, τον κόλπο, τον τράχηλο των γυναικών, την ουρήθρα και το ορθό (Munday, Furr and Taylor-Robinson, 1981).

3.1. Δομή, μορφολογία, είδη

Οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί αποτελούν τους μικρότερους και απλούστερους προκαρυωτικούς οργανισμούς, οι οποίοι διαθέτουν την ικανότητα αυτόνομου πολλαπλασιασμού. Το κύτταρό τους διαθέτει μονάχα τα απολύτως απαραίτητα οργανίδια για την περαιτέρω ανάπτυξή τους, αλλά και για την αντιγραφή (Εικόνα 4). Ειδικότερα περιέχουν ένα μόριο δίκλωνου δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος DNA, το οποίο παρέχει τις πληροφορίες για την έκφραση των γονιδίων, ριβοσώματα αναγκαία για τη μετέπειτα πρωτεϊνοσύνθεση και μια μεμβράνη, η οποία διαχωρίζει το κυτταρόπλασμα από το εξωτερικό περιβάλλον (Razin, 1978).

Το μυκόπλασμα και το ουρεόπλασμα διαθέτουν δίκλωνο κυκλικό DNA, το κλασικό γονιδίωμα των προκαρυωτών (Morowitz and Wallace, 1973), αν και εντοπίζονται διαφορές στο μέγεθος, μιας και περιέχει ιδιαίτερα χαμηλό ποσοστό γουανίνης και κυτοσίνης (G, C). Αυτοί οι μικροοργανισμοί, εν αντιθέσει με τους υπόλοιπους προκαρυώτες, στερούνται κυτταρικού τοιχώματος, αλλά περιβάλλονται από μία ελαστική κυτταροπλασματική μεμβράνη τριών στοιβάδων (Αρσένη, 1994). Χαρακτηρίζονται κατά βάση από σφαιρική μορφολογία, αν και σε αρκετά μυκοπλάσματα το σχήμα ποικίλει εμφανίζοντας ακόμη και εκβλαστήσεις (Razin, Yogen and Naot, 1998). Η δυνατότητα διατήρησης τόσο διαφορετικών σχημάτων, παρά την απουσία ενός άκαμπτου κυτταρικού τοιχώματος, οφείλεται στην παρουσία κυτταροσκελετού (Razin, 1978).

Ο μικροοργανισμός *Mycoplasma genitalium*, αν και καλύπτει τα γενικά χαρακτηριστικά του γένους, διαφέρει από τα υπόλοιπα μυκοπλάσματα σε ορισμένα μορφολογικά και μεταβολικά στοιχεία, αλλά και στη διαδικασία της καλλιέργειας. Χαρακτηρίζεται από φιαλοειδές σχήμα και διαθέτει ραβδοειδή οργανίδια. Στον κυτταροσκελετό του εντοπίζεται μια πρωτεΐνη, η οποία προσομοιάζει την τουμπουλίνη (Wasinger, et al, 1995).

Το *Mycoplasma genitalium* έχει ένα τερματικό οργανίδιο που αποτελείται από πολυάριθμες κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες θερμικού σοκ, μεταβολικά

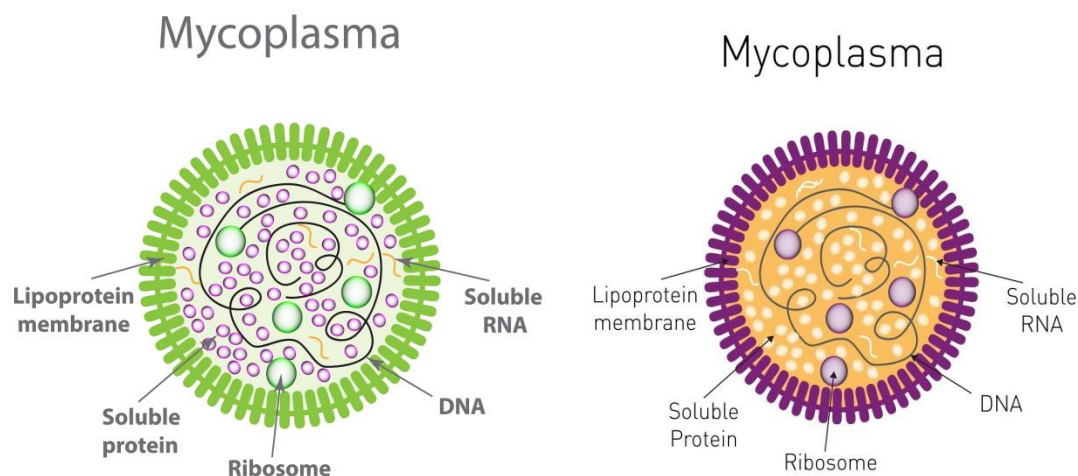
ένζυμα και πρωτεΐνες που σχετίζονται με την κυτταρική προσκόλληση, μία από τις οποίες είναι η προσκολλητίνη P140, γνωστή και ως προσκολλητίνη P1 του *Mycoplasma pneumoniae*, η οποία διευκολύνει την προσκόλληση και την εισβολή της στα επιθηλιακά κύτταρα του ξενιστή και τη διέγερση της ανοσολογικής απόκρισης (Yueyue, et al 2022).

Το *Mycoplasma genitalium* διαθέτει πρωτεΐνες, εκ των οποίων δύο, η MgPa και η P110, συμμετέχουν στην προσκόλλησή του στις επιφάνειες των καλλιιεργειών και ακόμη δύο, οι MG218 και MG317, οι οποίες συνεργάζονται στοχεύοντας στην πρόσδεσή του στα ανθρώπινα και ζωικά κύτταρα. Η πρωτεΐνη MG191 λειτουργεί ως προσκολλητίνη και ως πρωτεϊνικό αντιγόνο (Svenstrup, et al, 2008). Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη αποτελεί παράγοντα παθογονικότητας, καθώς σε περίπτωση που κάποιο στέλεχος περιέχει μία μετάλλαξη που αποτρέπει τη σύνθεση της MG191, παρεμποδίζεται ουσιαστικά η προσκόλληση των ερυθροκυττάρων στις αποικίες.

Το *Mycoplasma genitalium* θεωρείται μεταξύ όλων των βακτηρίων, ο μικρότερος, από άποψη γονιδιώματος, μικροοργανισμός που δύναται να αναπτυχθεί απουσία κυττάρου ξενιστή στο εργαστήριο. Το γονιδίωμά του είναι μεγέθους 580 kb, με 32% γουανίνη και κυτοσίνη (Taylor-Robinson, et al, 2012). Μεταβολίζει τη γλυκόζη, ενώ δε μεταβολίζει την ουρία και την αργινίνη (Tully, et al, 1981; Tully, et al, 1983; Taylor-Robinson and McCormack, 1980).

Το *Mycoplasma hominis*, ήταν το πρώτο μυκόπλασμα που απομονώθηκε από τον άνθρωπο. Αποτελεί ένα μυκόπλασμα του γεννητικού συστήματος, το οποίο χαρακτηρίζεται κοκκοβακτηριοειδές, κοκκιοειδές και νηματοειδές, αν και το μέγεθος και η μορφή του μεταβάλλονται συχνά και αυτόματα, λόγω του συσπαστικό-χαλαρωτικού μηχανισμού του (Αρσένη,1994). Διαθέτει μικρό σχετικά γονιδίωμα, της τάξης των 700-800 kb (Ladefoged and Christiansen, 1992).

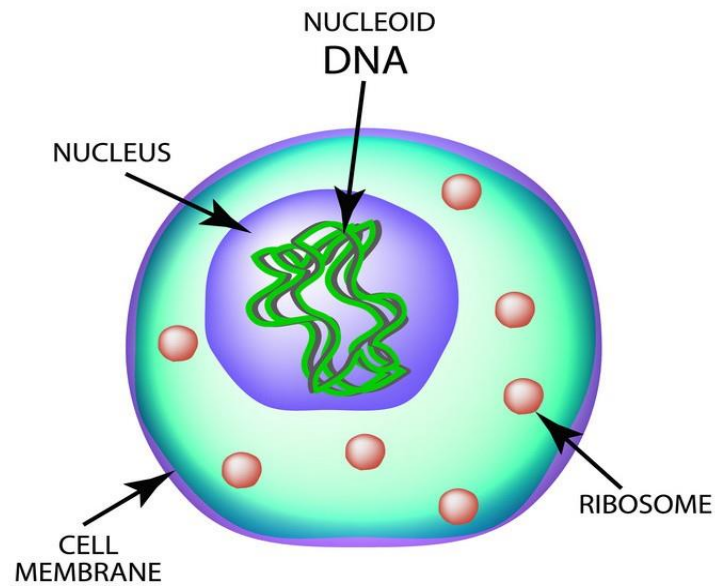
Στην επιφάνειά του εντοπίζονται τρία διακριτά, πλήρως και λεπτομερώς χαρακτηρισμένα, αντιγόνα. Δύο εξ αυτών, τα Lmp1 και Lmp3 συνιστούν πρωτεΐνες της οικογένειας Lmp (135 kDa) (Ladefoged, et al, 1995; 1996). Το τρίτο αντιγόνο, η P120 λιποπρωτεΐνη, συμβάλει ενεργά στην προσκόλληση του μικροβίου στα κύτταρα (Nyvold, Birkelund and Christiansen, 1997). Με βάση τα πρωτεϊνικά αντιγόνα προέκυψαν 7 διαφορετικοί ορότυποι.



Εικόνα 4: Η δομή του μυκοπλάσματος. <https://www.goldbio.com>

Τα μικρόβια *Ureaplasma parvum* και *Ureaplasma urealyticum* συγκαταλέγονται στο γένος *Ureaplasma*, το οποίο περιγράφηκε αρχικά και κατόπιν ταξινομήθηκε επισήμως στα μυκοπλάσματα (Shepard, et al, 1974). Πρωτίστως, θεωρήθηκε πως οι δύο μικροοργανισμοί αποτελούσαν διαφορετικούς υπότυπους του *Ureaplasma urealyticum*. Ωστόσο, κατόπιν φυλογενετικής ανάλυσης προτάθηκε η δημιουργία ενός νέου είδους, του *Ureaplasma parvum* (Kong, et al, 1999).

Τα δύο μικρόβια διαθέτουν τα μορφολογικά και καλλιεργητικά χαρακτηριστικά των μυκοπλάσμάτων. Χαρακτηρίζονται όμως από ένα ιδιαίτερο μεταβολικό δείκτη: το σύνολο των στελεχών τους, δε μεταβολίζουν την αργινίνη και τα σάκχαρα, υδrolύουν την ουρία, παράγουν φωσφατάση και δεν ανάγουν το τετραζόλιο (Αρσένη, 1994). Στερούνται κυτταρικού τοιχώματος (Εικόνα 5), όπως ακριβώς τα μυκοπλάσματα. Εντούτοις, περιβάλλονται από μία μεμβράνη γεμάτη ινιδοειδείς προσεκβολές.



Εικόνα 5: Η δομή του ουρεοπλάσματος. <https://www.bmglabtech.com>

3.2. Παθογένεια, παθογόνος δράση από *Mycoplasma* και *Ureaplasma*

Το *Mycoplasma genitalium* προκαλεί ποικίλες λοιμώξεις στο ουρογεννητικό σύστημα, τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες, ενώ ενοχοποιείται για υπογονιμότητα και στα δύο φύλα (Svenstrup, et al, 2008). Αποτελεί το ενδέκατο κατά σειρά είδος μυκοπλάσματος που απομονώθηκε από τον άνθρωπο (Tully, et al, 1983).

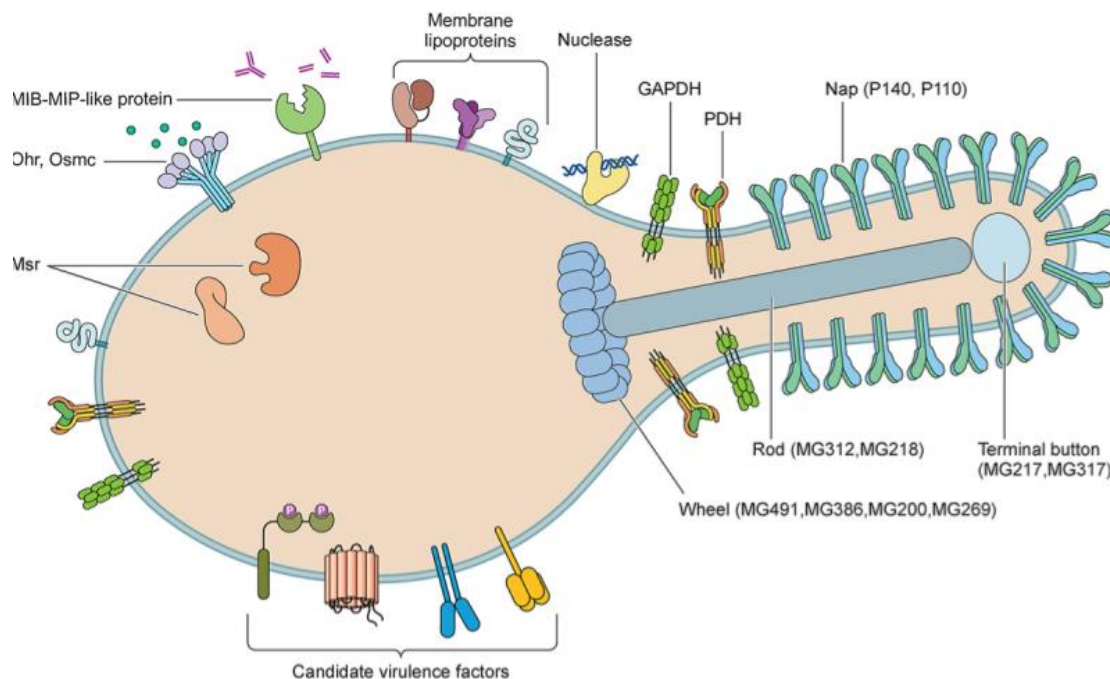
Το *Mycoplasma genitalium* συνδέεται με τα σπερματοζώαρια και τα ερυθροκύτταρα, εισβάλλει στα επιθηλιακά κύτταρα, με ενδείξεις πυρηνικού εντοπισμού, και παρουσιάζει κινητικότητα ολίσθησης. Μία σειρά επαναλαμβανόμενων στοιχείων DNA μαζί με το γονίδιο προσκολλητίνης MgPa παρέχει μία δεξαμενή για παραλλαγή αλληλουχίας. Η αντιγονική αυτή παραλλαγή βοηθά το mycoplasma να αποφύγει την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή, να βελτιστοποιήσει την προσκόλλησή του και να προσαρμοστεί σε διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα του ξενιστή του, διευκολύνοντας έτσι την επίμονη μόλυνση (Waites, et al, 2023).

Λόγω της αδυναμίας του να συνθέσει πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια, λιπίδια και στερόλες, το *M. genitalium* λαμβάνει αρκετά θρεπτικά συστατικά από τον ξενιστή που

το βακτήριο δεν είναι σε θέση να συνθέσει. Αυτός ο παρασιτικός τρόπος επιβίωσης κάνει αυτόν τον οργανισμό να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον ξενιστή του για βασικά θρεπτικά συστατικά που θα του επιτρέψουν την παράταση της επιβίωσής του (Yueyue, et al, 2022). Κωδικοποιεί νουκλεάση και χρησιμοποιεί πρόδρομες ενώσεις νουκλεοτιδίων για μεταβολικές διεργασίες και διάδοση, οι οποίες θεωρούνται απαραίτητες για τον θάνατο των κυττάρων του ξενιστή με τις επακόλουθες παθολογικές συνέπειες.

Ένας άλλος σημαντικός παθογόνος μηχανισμός του *M. genitalium* είναι η επαγωγή φλεγμονώδους απόκρισης στην ουρογεννητική οδό που μεσολαβείται κυρίως από εκτεθειμένες στην επιφάνεια λιποπρωτεΐνες, με αποτέλεσμα φλεγμονή και κυτταρική βλάβη (Εικόνα 6). Παραδόξως, το *M. genitalium* μπορεί να πολλαπλασιαστεί και να επιμείνει για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη μόλυνση ενός κατάλληλου ξενιστή, ακόμη και αντιμέτωπο με ένα περίπλοκο ανοσοποιητικό σύστημα (Yueyue, et al, 2022). Για τη δημιουργία λοίμωξης, το μυκόπλασμα έχει ένα ευρύ φάσμα στρατηγικών για την ανατροπή των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή, συμπεριλαμβανομένης της αντιγονικής παραλλαγής, της εισβολής σε ευκαρυωτικά κύτταρα, της διάσπασης των ανοσοσφαιρινών (Igs) και του σχηματισμού βιοφίλμ, τα οποία είναι όλα ευεργετικά για τη μακροχρόνια όρος επιβίωση του *M. genitalium* (McGowin and Totten, 2017). Η χρόνια λοίμωξη από *M. genitalium* μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο συνλοίμωξης με άλλα παθογόνα, ταυτόχρονα, η μακροχρόνια αλληλεπίδραση του *M. genitalium* με τα κύτταρα-ξενιστές μπορεί να οδηγήσει σε κακοήγη μετασχηματισμό των κυττάρων ξενιστών (Zarei, Rezanian and Mousavi, 2013).

Το πεπτιδίο MsrA (μεθειονίνης υπεροξειδίου δισμουτάσης), που υπάρχει στο *M. genitalium* και το *Ureaplasma spp* είναι πιθανός παράγοντας λοιμογόνου δράσης. Επιπλέον, η κατανάλωση της αργινίνης, η παραγωγή αμμωνίας και η δραστηριότητα των ενζύμων, έχουν συζητηθεί επίσης ως παράγοντες λοιμογονικότητας (Pereyre, Bebear C and Bebear Ce, 2002).



Εικόνα 6: Απεικόνιση των παθογόνων μορίων του *Mycoplasma genitalium* (Yueyue, et al, 2022).

Στους άνδρες, συσχετίζεται με τη μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα. Το *Mycoplasma genitalium* απομονώθηκε πρωτίστως σε καλλιέργειες ουρηθρικών δειγμάτων ανδρών, οι οποίοι έπασχαν από μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (Tully, et al, 1981). Αν και προτάθηκε ως αίτιο της ασθένειας, η ακριβής του σημασία στην πρόκληση της νόσου δεν εδραιώθηκε, λόγω της δυσχερούς απομόνωσής του από τα κλινικά δείγματα. Ωστόσο, η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών απλοποίησε την ανίχνευσή του, καταδεικνύοντας τη σύνδεση του μικροοργανισμού με τη συγκεκριμένη παθογένεια (Horner, et al, 1993; Jensen, et al, 1991; Jensen, et al, 1993). Πλέον, πως το *Mycoplasma genitalium* αφορά κυρίως τη συμπτωματική, παρά την ασυμπτωματική μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (Horner, et al, 2002; 2003), αναγνωρίζεται στους άνδρες ως αιτία, τόσο της οξείας όσο και της χρόνιας μη γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας, θεωρούμενο αποκλειστικά υπεύθυνο για το 30% των περιπτώσεων (Baczynska, et al, 2007), ενώ συνδέεται συχνά και με περιστατικά επιδιδυμίτιδας. Ο επιπολασμός του *M.genitalium* στους άνδρες με γονοκοκκική ουρηθρίτιδα κυμαίνεται από 10% έως 35%, συμβάλλοντας σημαντικά στη συνολική επιβάρυνση της νόσου. Συγκριτικά το *M.genitalium* ανιχνεύεται μόνο στο 1% έως 3,3% των ανδρών και γυναικών στο γενικό πληθυσμό (Jensen, et al, 2022).

Στις γυναίκες, αρκετές μελέτες έχουν δείξει τη συσχέτιση μεταξύ του *M.genitalium* και της ουρηθρίτιδας, της τραχηλίτιδας, της ενδομητρίωσης και της φλεγμονώδους νόσου της πυέλου (Jensen, et al, 2022). Επίσης, το *M.genitalium* σχετίζεται εκτός από τη μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα και με την τραχηλίτιδα. Το 1997 απομονώθηκε από τον τράχηλο της μήτρας πέντε γυναικών, οι οποίες έπασχαν από τραχηλίτιδα. Εντοπίστηκε συνεπώς στο 9% των γυναικών με τραχηλίτιδα και σε καμιά γυναίκα χωρίς τραχηλίτιδα. Πλέον, το *Mycoplasma genitalium* αποτελεί το μοναδικό εκ των μυκοπλασμάτων που συνδέεται αιτιωδώς με τη φλεγμονή του τραχήλου (Lusk, et al, 2011), ενώ σχετίζεται και με μία ακόμη φλεγμονή, αυτή της πυέλου (PID), η οποία όπως η πλειονότητα των νόσων του ουρογεννητικού συστήματος, δεν οφείλεται σε ένα και μοναδικό αίτιο. Το *Mycoplasma genitalium* αναφέρθηκε ως πιθανή αιτία της φλεγμονώδους νόσου της πυέλου το 1984 (Moller, et al, 2010). Έκτοτε, αρκετές μελέτες παγκόσμιας κλίμακας και ποικίλης γεωγραφικής κατανομής ενισχύουν τη θετική συσχέτιση ανάμεσα στο μικροοργανισμό και στην πυελική φλεγμονή (Simms, et al, 2003; Haggerty, et al, 2008).

Το *M. genitalium* μπορεί να προκαλέσει φλεγμονώδη νόσο της πυέλου (PID) με βάση (i) την ικανότητά του να προσκολλάται στα επιθηλιακά κύτταρα της σάλπιγγας και να προκαλεί βλεφαρική βλάβη στην καλλιέργεια οργάνων, (ii) την παραγωγή ενδομητρίτιδας και σαλπινγίτιδας μετά από πειραματικό ενοφθαλμισμό πρωτευόντων θηλαστικών εκτός του ανθρώπου, iii) η παρουσία του σε δείγματα βιοψίας ενδομητρίου στις περισσότερες γυναίκες που υποβάλλονται σε αυτή τη διαδικασία και οι οποίες φιλοξενούν τον οργανισμό στον τράχηλο της μήτρας, (iv) η ανίχνευσή του στη σάλπιγγα μιας γυναίκας με λαπαροσκοπικά διαγνωσμένη οξεία σαλπινγίτιδα, (v) η συσχέτιση του σαλπινγικού παράγοντα υπογονιμότητας με μια προηγούμενη λοίμωξη με *M. genitalium* και (vi) η επίδειξη αποκρίσεων αντισωμάτων *M. genitalium* σε γυναίκες με οξύ PID (Waites, et al, 2023).

Το *Mycoplasma hominis* συναντάται σε πληθώρα ασθενών με βακτηριακή κολπίτιδα (Taylor-Robinson and Furr,1998), ενοχοποιούμενο για την εμφάνισή της, μιας και εντοπίζεται ιδιαίτερα συχνά στον κόλπο των γυναικών με μη φυσιολογικά κολπικά ευρήματα. Ακόμη, στις γυναίκες με κολπίτιδα ανευρίσκονται υψηλά ποσοστά IgG αντισωμάτων για το μικροοργανισμό (Rosenstein, et al, 1996). Η πυελική φλεγμονή, εκτός των άλλων παραγόντων, οφείλεται πιθανώς και στο *Mycoplasma hominis*, καθώς το παθογόνο απομονώθηκε από τις σάλπιγγες και το ενδομήτριο στο 10% των

γυναικών με σαλπινγίτιδα, εύρημα το οποίο συνοδευόταν από ανοσολογική απόκριση (Mardh and Westrom, 1970). Το μυκόπλασμα ανευρίσκεται επίσης συχνά στο αίμα εμπύρετων γυναικών κατόπιν έκτρωσης ή φυσιολογικού τοκετού, ενώ σχετίζεται με ενδομητρίτιδα πνευμονία και αρθρίτιδα. Εντοπίζεται ακόμη στο αμνιακό υγρό, στον ομφάλιο λώρο, αλλά και στο αίμα των νεογνών, συνδεόμενο με αποβολή, ενδομήτριο θάνατο, χοριοαμνιονίτιδα και πρόωρο τοκετό. Καθώς συνυπάρχει κατά βάση με το *Ureaplasma urealyticum*, η διάκριση μεταξύ των δύο αναφορικά με την ακριβή αιτία των προαναφερθεισών επιπλοκών είναι ιδιαίτερα απαιτητική (Φωκάς και συν., 2003).

Οι μικροοργανισμοί *Ureaplasma parvum* και *Ureaplasma urealyticum* απομονώνονται από τα κλινικά δείγματα, είτε μαζί, είτε ξεχωριστά. Στο ουρογεννητικό σύστημα υγιών ατόμων, σχηματίζουν συνήθως συμβιωτικές αποικίες, εμπλέκονται όμως και σε λοιμώξεις.

Στις γυναίκες, το *Ureaplasma urealyticum* προκαλεί κολπίτιδα, τραχηλίτιδα, ενδομητρίτιδα, σαλπινγίτιδα, πυελική φλεγμονώδη νόσο (PID), καθώς και περιγεννητικές επιπλοκές. Σε κάποιες περιπτώσεις συνυπάρχει με χλαμυδιακή λοίμωξη, ενώ σχετίζεται με το ουρηθρικό σύνδρομο, την πυελονεφρίτιδα και τη λιθίαση του ουροποιητικού (Waites, et al, 2003). Στη χώρα μας, το *Ureaplasma urealyticum* ανιχνεύθηκε στο 47% των γυναικών με κολπίτιδα (Kechagia, Bersimis and Chatzipanagiotou, 2008) και στο 53% όσων διεγνώσθησαν με χρόνια ουρηθρικό σύνδρομο (Baka, et al, 2009).

Στους άνδρες, το *Ureaplasma urealyticum* συνδέεται με την προστατίτιδα, την επιδιδυμίτιδα αλλά και τη μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (McCormack and Rein, 2000). Συγκεκριμένα, ανευρίσκεται συχνότερα στους ασθενείς με μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα, απ' ότι σε όσους δεν πάσχουν από τη νόσο, γεγονός που υποδηλώνει τον ενδεχόμενο ρόλο του στην αιτιολογία της ασθένειας. Στους άνδρες, η ανεύρεση του *Ureaplasma urealyticum* στην ουρήθρα κυμαίνεται ανάμεσα σε 7,8-13,5% (Deguchi, et al, 2004), γεγονός που καθυστέρησε την παγίωση της άποψης περί συσχέτισής του με τη μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (Waites, Katz and Schelonka, 2005).

Στον πίνακα 3 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι συσχετίσεις των *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.* και *Mycoplasma genitalium*, με διάφορες λοιμώξεις τόσο στο γεννητικό σύστημα των ανδρών όσο και στο γεννητικό σύστημα των γυναικών (Pereyre, Bebear and Dupon, 2002).

Disease	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma</i> spp.	<i>M. genitalium</i>
Genital infections in men			
Acute NGU	-	+	+
Chronic NGU	-	+/-	+
Post-gonococcal urethritis	-	-	+
Balanoposthitis	-	-	+/-
Epididymitis, prostatitis	-	+/-	+/-
Gynecological infections			
Bacterial vaginosis	+	+/-	+/-
Cervicitis	-	-	+
Urethritis	-	+	+
Endometritis	+	-	+
Salpingitis	+	-	+
Pregnancy related disorders			
Chorioamnionitis	+/-	+	?
Post-partum fever	+	+	?
Ectopic pregnancy	-	-	?
Spontaneous abortion	+/-	+/-	+/-
Premature delivery	-	+	+/-
Tubular infertility	-	+/-	+/-
Neonatal infections	+	+	?
Extragenital infections			
Septic arthritis	+	+	+
Reactive arthritis	-	+	+
Other localizations	+	+	?

Πίνακας 3: Συσχετίσεις των *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp. και *Mycoplasma genitalium*, με διάφορες λοιμώξεις (Pereyre, Bebear and Dupon, 2002).

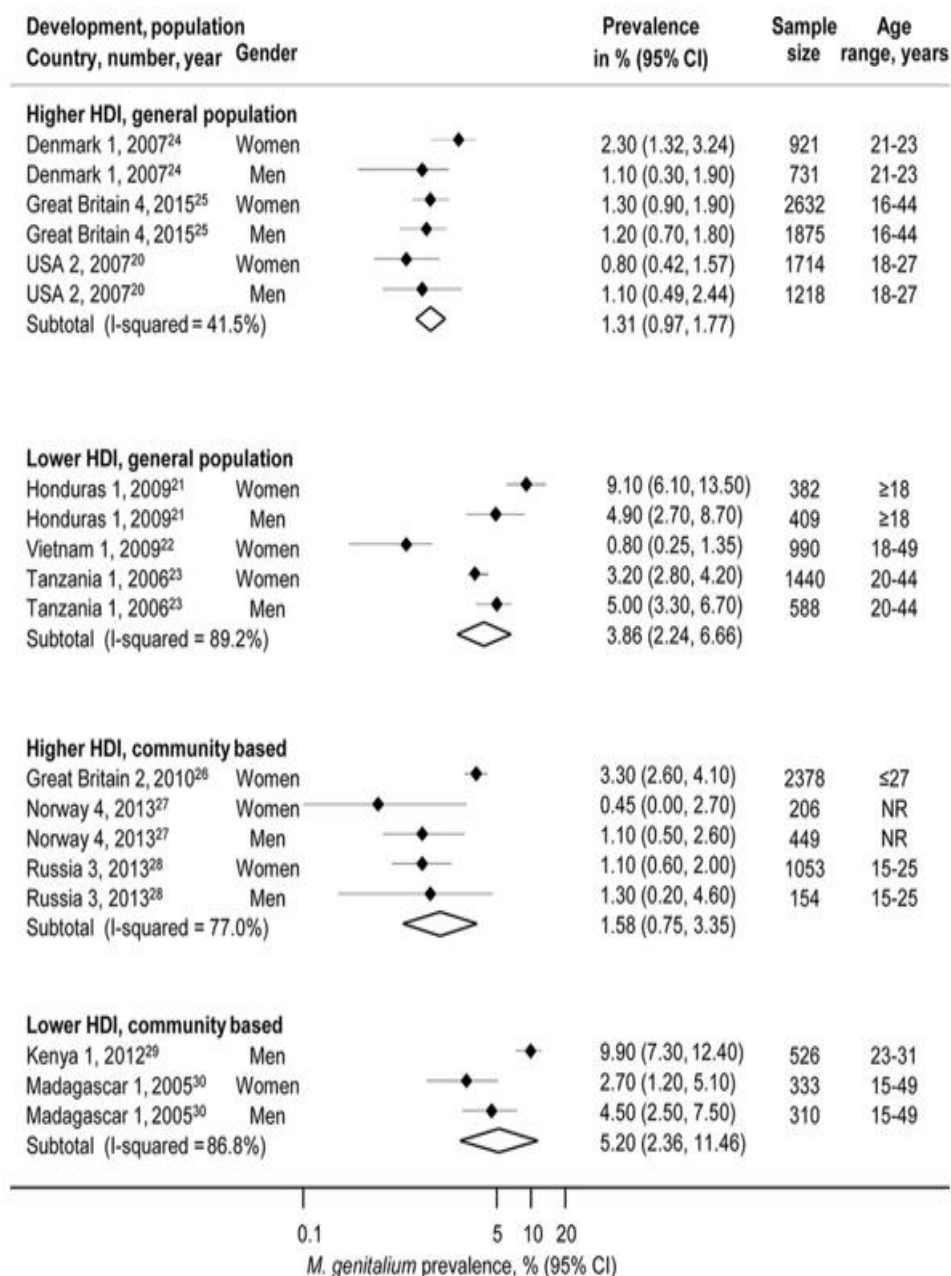
3.3. Επιδημιολογία λοιμώξεων από *Mycoplasma* και *Ureaplasma*

Ο επιπολασμός του μυκοπλάσματος είναι υψηλότερος στις γυναίκες, κυμαινόμενος από 0-45% (Αρσένη, 1994). Το *Mycoplasma hominis* εντοπίζεται κατά βάση στο κατώτερο γεννητικό σύστημα, ενώ στο ανώτερο γεννητικό σύστημα απομονώνεται συνδυαστικά με την παρουσία συγκεκριμένης αντιγονικής απάντησης, μονάχα επί συμπτωμάτων οξείας λοίμωξης (Thomsen, 1978).

Μελέτες παγκόσμιας κλίμακας διαπιστώνουν μια συνεχώς ενισχυόμενη επικράτηση νόσων από μυκοπλάσματα και ουρεοπλάσματα τα τελευταία χρόνια (Taylor-Robinson, et al, 2012). Ο επιπολασμός τους διαφοροποιείται γεωγραφικά και πληθυσμιακά και κυμαίνεται σε ποσοστά από 3,9-31%, 21,4%, 44,8% έως και 54,9%. (Rivera, et al, 2004; Ramirez, et al, 2004; Fagundo, Sanchez and Jauregui, 2006; Imudia, et al, 2008; Zuo, et al, 2006; Karabay, et al, 2006). Η μόλυνση συνδέεται με το φύλο, την ηλικία, τη σεξουαλική ζωή, το ορμονικό προφίλ και τις κρατούσες κοινωνικοοικονομικές συνθήκες κάθε χώρας (Αρσένη, 1994).

Στη χώρα μας τα στοιχεία αναφορικά με τον επιπολασμό των μυκοπλασμάτων και ουρεοπλάσμάτων είναι περιορισμένα, ενώ προέρχονται κυρίως από μελέτες της τελευταίας δεκαετίας. Το *Ureaplasma* εντοπίστηκε σε ποσοστό 16,13%, σε ασυμπτωματικές γυναίκες και συγκεκριμένα το 96,4% αυτών έφερε το *Ureaplasma parvum* και το 3,5% το *Ureaplasma urealyticum* (Kotrotsiou, et al, 2013). Σε 369 γυναίκες με κολπίτιδα, 137 (37,1%) έφεραν, είτε το *Mycoplasma hominis*, είτε το *Ureaplasma urealyticum*, είτε και τα δύο. Ακόμη, παρατηρήθηκε συνδυαστική συνύπαρξη και με άλλα μικρόβια του γεννητικού συστήματος. Στις θετικές γυναίκες, το 47% διαπιστώθηκε θετικό στο *Ureaplasma urealyticum*, το 0,7% στο *Mycoplasma hominis*, το 3% και στα δύο, ενώ συνυπήρχαν και άλλοι μικροοργανισμοί σε ποσοστό περίπου 49% (Kechagia, et al, 2008). Σε περιστατικά χρόνιου ουρηθρικού συνδρόμου, το *Ureaplasma urealyticum* ανευρέθηκε στο 53%, το *Mycoplasma hominis* στο 3%, ενώ σε άλλες 150 γυναίκες το *Mycoplasma genitalium* ανευρέθηκε σε ποσοστό 18% (Baka, et al, 2009).

Σε μία μεταανάλυση που πραγματοποίησε ο Baumann και οι συνεργάτες του (2018) για τον επιπολασμό του *Mycoplasma genitalium*, χρησιμοποιώντας 63 μελέτες, οι οποίες είχαν δημοσιευθεί από αρχές Ιανουαρίου του έτους 1991 έως και μέσα Ιουλίου του έτους 2016, αποτύπωσαν τον εκτιμώμενο επιπολασμό του *Mycoplasma genitalium* (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Εκτιμώμενος επιπολασμός του *Mycoplasma genitalium* σε τυχαία επιλεγμένα δείγματα του γενικού πληθυσμού ή σε άλλα δείγματα στην κοινότητα, με βάση τον Δείκτη Ανθρώπινης Ανάπτυξης (HDI). Ο συμπαγής ρόμβος δείχνει τη σειριακή εκτίμηση με 95% CI για κάθε μελέτη. Ο απλός ρόμβος δείχνει τη σημειακή εκτίμηση και το 95% CI της συνοπτικής εκτίμησης. Οι εκτιμήσεις επιπολασμού απεικονίζονται σε λογαριθμική κλίμακα. (Baumann, et al, 2018).

Συγκεκριμένα, σε 9.091 δείγματα που ήταν τυχαία επιλεγμένα μέσα από τον γενικό πληθυσμό σε χώρες με υψηλά επίπεδα ανάπτυξης, ο συνοπτικός επιπολασμός για το *Mycoplasma genitalium* ήταν 1,3%, ενώ αντίστοιχα 3,9% σε χώρες με χαμηλότερα επίπεδα ανάπτυξης σε δείγμα 3.809 άτομα γενικού πληθυσμού. Ο επιπολασμός του *Mycoplasma genitalium* δεν διαφοροποιήθηκε σημαντικά σε σχέση με το φύλο ($p=0,47$) αλλά σε σχέση με την συμπτωματολογία. Οι ασθενείς που εμφάνιζαν συμπτωματολογία είχαν αυξημένο επιπολασμό στο *Mycoplasma genitalium* σε σχέση με εκείνους που ήταν ασυμπτωματικοί. Σημαντικά ήταν τα ευρήματα της μελέτης σε σχέση με τις εγκυμονούσες γυναίκες επίσης. Οι συνοπτικές εκτιμήσεις του επιπολασμού στο *Mycoplasma genitalium* στις εγκυμονούσες ήταν μόλις 0,9%, ποσοστό πολύ χαμηλότερο σε σύγκριση με εκείνο του γενικού πληθυσμού. Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι χαμηλός εκτιμώμενος επιπολασμός του *Mycoplasma genitalium* στον γενικό πληθυσμό, τις έγκυες γυναίκες και τους ασυμπτωματικούς ασθενείς σε κλινικές δεν θα μπορούσε να υποστηρίξει μια επέκταση των δοκιμών σε αυτές τις ομάδες (Baumann, et al, 2018).

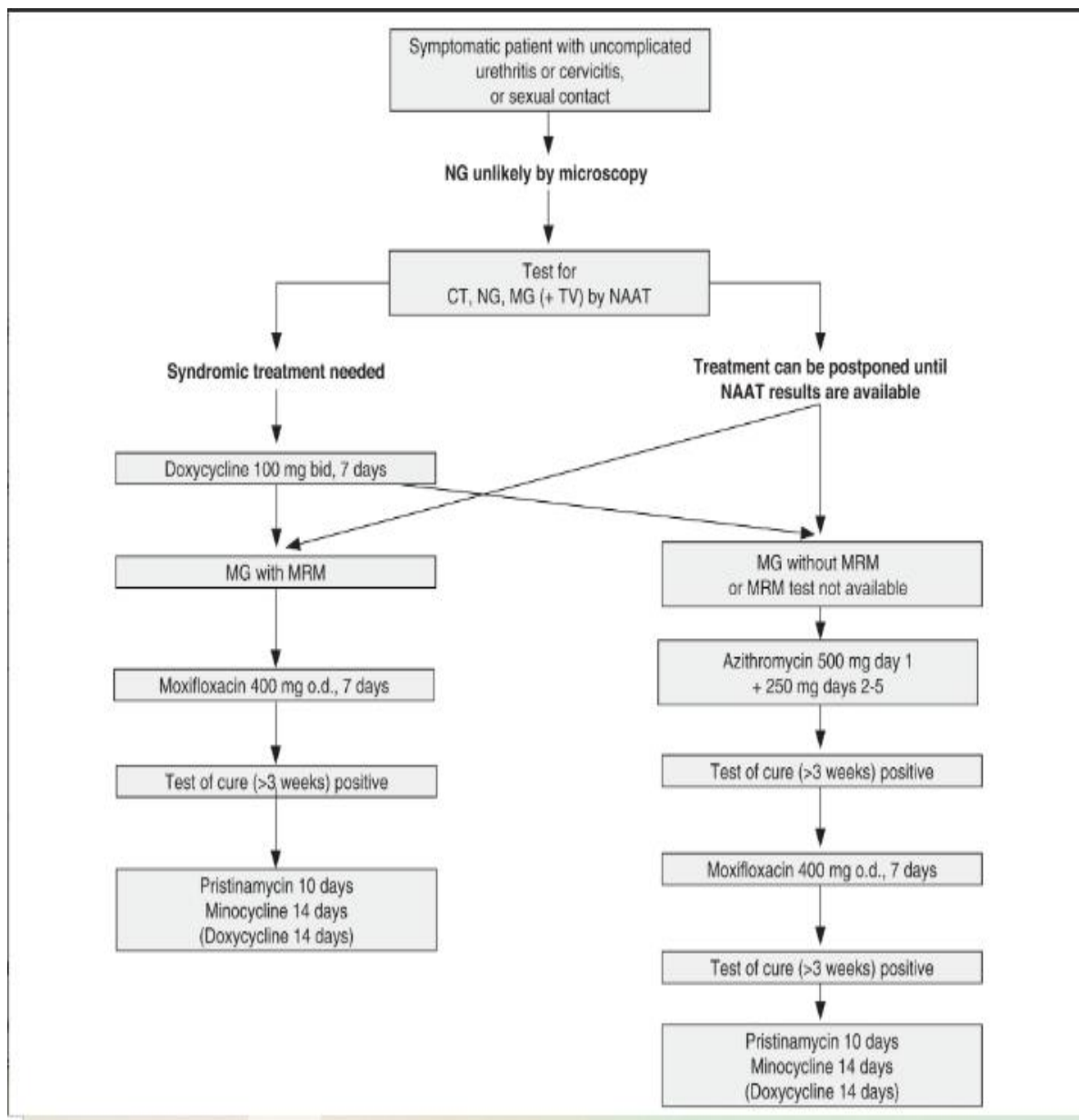
Αντίστοιχα σε Αμερικανούς άνδρες με συμπτωματολογία ουρηθρίτιδας (δείγμα 914 συμμετέχοντες), ο γενικός επιπολασμός στο *Mycoplasma genitalium* ανήλθε στο έτος αναφοράς 2017-2018 στο 28,7%. Στην εικόνα 8 που ακολουθεί φαίνεται το αντίστοιχο ποσοστό σε ορισμένες από τις πολιτείες των Ηνωμένων Εθνών που συμμετείχαν στην έρευνα. Από τους 914 συμμετέχοντες με αξιολογήσιμα αποτελέσματα στο *Mycoplasma genitalium* ήταν οι 763 (83,5%) που ολοκλήρωσαν και την έρευνα παρακολούθησης εντός 21 ημερών. Από αυτούς, 151 (19,8%) ανέφεραν ότι τα συμπτώματά τους δεν είχαν υποχωρήσει πλήρως, χωρίς ουσιαστική διαφορά από την αρχική κατάσταση. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης ευαισθησίας, συμφωνούσαν με την κύρια ανάλυση. (Bachmann, et al, 2020).

	Durham, NC		Greensboro, NC		Pittsburgh, PA	
	n	Prevalence (95% CI)	n	Prevalence (95% CI)	n	Prevalence (95% CI)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	93	24.7 (16.0–33.5)	152	38.8 (31.1–46.6)	174	27.6 (20.9–34.2)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	93	32.3 (22.8–41.8)	152	28.9 (21.7–36.2)	174	27.0 (20.4–33.6)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	93	41.9 (31.9–52.0)	152	42.8 (34.9–50.6)	174	25.9 (19.4–32.4)
<i>Trichomonas vaginalis</i> ^b	93	7.5 (3.1–14.9)	152	9.9 (5.6–15.8)	174	11.5 (7.2–17.2)
No pathogens ^b	93	20.4 (12.8–30.1)	152	16.4 (10.9–23.3)	174	34.5 (27.5–42.1)

Εικόνα 8: Επιπολασμός *M. genitalium* ανά περιοχή μελέτης (Ιούνιος 2017 – Ιούλιος 2018), σε άνδρες με ουρηθρίτιδα (Bachmann, et al, 2020).

3.4. Θεραπευτική προσέγγιση

Η θεραπεία των πασχόντων με ουρογεννητική λοίμωξη από *Mycoplasma genitalium* αποτρέπει τη μετάδοση μέσα από τη σεξουαλική οδό και μειώνει τον κίνδυνο των επιπλοκών συμπεριλαμβανομένης της στειρότητας. Η προτεινόμενη θεραπευτική στρατηγική συνοψίζεται στην εικόνα 9, βάσει των ενδείξεων που περιλαμβάνουν την ανίχνευση της ευαισθησίας του *M. genitalium* σε μακρολίδες μέσω μοριακών μεθόδων ανάλυσης νουκλεϊκού οξέος (βαθμός σύστασης Grade 1B). Οι σεξουαλικοί σύντροφοι των ασθενών με επιβεβαιωμένη ευαισθησία του *M. genitalium* στις μακρολίδες θα πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε διαγνωστικό έλεγχο και να λαμβάνουν την ίδια αντιμικροβιακή αγωγή (Jensen, et al, 2022).



Εικόνα 9: Συνιστώμενη στρατηγική θεραπείας για το *Mycoplasma genitalium*. (Jensen, et al, 2022).

Το μυκόπλασμα δεν έχει πεπτιδογλυκάνη, και γι' αυτό το λόγο παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε όλα τα ενεργά αντιβιοτικά που στοχεύουν στο κυτταρικό τοίχωμα, όπως είναι οι β-λακτάμες, τα γλυκοπεπτίδια και η φωσφομυκίνη. Σημαντική ανθεκτικότητα παρουσιάζουν επίσης στις σουλφοναμίδες, την τριμεθοπρίμη, τις πολυμυξίνες και το ναλιδιξικό οξύ. Τα πιο κοινά αντιβιοτικά που έχουν δράση έναντι των μυκοπλάσμάτων περιλαμβάνονται στις τρεις κύριες κατηγορίες φαρμάκων:

τετρακυκλίνες, μακρολίδες-λινκοσαμίδες-στρεπτογραμίνες-κετολίδες (ομάδα MLSK) και φθοριοκινολόνες.

Ωστόσο, παρουσιάζονται κάποιες διαφορές ανάλογα με το είδος, κυρίως για την ομάδα μακρολίδων-λινκοσαμίδων-στρεπτογραμμινών-κετολίδων, όπου έχει περιγραφεί επίκτητη αντοχή. Αυτά τα αντιβιοτικά δίνουν επίσης υψηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις, με αποτέλεσμα να εγείρουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον μιας και αρκετά είδη μυκοπλάσματος, όπως το *M. hominis* και το *M. genitalium*, εντοπίζονται και επιβιώνουν μέσα στα κύτταρα. Άλλες κατηγορίες αντιμικροβιακών, όπως οι αμινογλυκοσίδες και η χλωραμφενικόλη μερικές φορές επιδεικνύουν δράση *in vitro*. Επειδή όμως έχουν μεγάλη τοξικότητα, δεν θεωρούνται κατάλληλα αντιμικροβιακά για τον ανθρώπινο οργανισμό, εκτός από την περιστασιακή χρήση χλωραμφενικόλης για τη θεραπεία συστηματικών λοιμώξεων σε νεογνά που προκαλούνται από στελέχη *M. hominis* ή *Ureaplasma spp.* ανθεκτικά στα αντιβιοτικά ή με κλινική αποτυχία σε άλλους παράγοντες (Pereyre, Bebear and Dupon, 2002). Στον πίνακα 4 που ακολουθεί φαίνεται η *in vitro* ευαισθησία με τις αναφερόμενες τιμές MIC των *M. hominis*, *M. genitalium* και *Ureaplasma spp.*

<i>Antibiotics</i>	<i>M. genitalium</i>	<i>M. hominis</i>	<i>Ureaplasma spp.</i>
<i>Tetracyclines**</i>			
Doxycycline	≤0.01-0.3	0.1-2	0.02-1
Minocycline	≤0.01-0.2	0.03-1	0.06-1
<i>MLS group</i>			
Erythromycin	≤0.01	32->1 000	0.02-16
Roxithromycin	<0.01	>16	0.1-2
Clarithromycin	≤0.01-0.06	16->256	≤0.004-2
Azithromycin	≤0.01-0.03	4->64	0.06-4
Josamycin	0.01-0.02	0.05-2	0.03-4
Clindamycin	0.2-1	≤0.008-2	0.2-64
Pristinamycin	≤0.01-0.02	0.1-0.5	0.1-1
Quinupristin/ Dalfopristin	0.05	0.03-2	0.05-0.5
<i>Ketolides</i>			
Telithromycin	≤0.015	2-32	≤0.015-0.25
Solithromycin	≤0.000000063- 0.000125	0.002-0.008	0.002-0.063
<i>Fluoroquinolones**</i>			
Ciprofloxacin	2	0.1-4	0.1-16
Ofloxacin	1-2	0.1-4	0.2-4
Levofloxacin	0.5-1	0.1-2	0.2-2
Moxifloxacin	0.03-0.06	0.06-0.125	0.125-1
<i>Other agents</i>			
Chloramphenicol	0.5-25	4225	0.4-8
Gentamicin	ND	2-16	0.1-13

Πίνακας 4: Ευαισθησία των *M. hominis*, *M. genitalium* και *Ureaplasma spp.* σε αντιβιοτικά. (Pereyre, Bebear, and Dupon, 2002).

Το *Mycoplasma genitalium* είναι ευαίσθητο σε αρκετά αντιβιοτικά και ειδικότερα στις τετρακυκλίνες, στις μακρολίδες και στις φθοροκινολόνες (Taylor-Robinson, et al, 2012). Οι υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών, όπως η πενικιλίνη G και η αμφοτερικίνη B, λειτουργούν ανασταλτικά στην ανάπτυξη των στελεχών *Mycoplasma*

genitalium αγρίου τύπου. Ωστόσο, τα συγκεκριμένα αντιβιοτικά, η πενικιλίνη σε συγκέντρωση 200 IU/ml και η πολυμυκίνη σε συγκέντρωση 500 µg/ml, χρησιμοποιούνται ως εκλεκτικά μέσα σε καλλιέργειες κυττάρων Vero, ώστε να αποφευχθεί τυχόν βακτηριακή υπερανάπτυξη (Hamasuna, Osada and Jensen, 2007).

Η προσέγγιση της θεραπείας από *Mycoplasma genitalium* με καθοδηγούμενη αντίσταση έχει ποσοστό ίασης μεγαλύτερο από το 90% γι' αυτό και όταν υπάρχει αυτή η δυνατότητα θα πρέπει να επιλέγεται και να χρησιμοποιείται. Αυτό απαιτεί πρόσβαση σε δοκιμασίες αντοχής στις μακρολίδες. Μέσα από μία τέτοια προσέγγιση, η δοξυκυκλίνη προτείνεται ως αρχική επιλογή θεραπευτικού σχήματος, καθώς μειώνει το φορτίο στον οργανισμό διευκολύνοντας την ίαση. Σε άλλες λοιμώξεις ευαίσθητες στις μακρολίδες επιλέγεται η αντιμετώπιση με υψηλές δόσεις αζιθρομυκίνης ενώ στην περίπτωση που έχουμε ανθεκτικότητα στις μακρολίδες, επιλέγεται η αντιμετώπιση με μοξιφλοξασίνη.

Συνιστώμενα σχήματα εάν είναι διαθέσιμος έλεγχος αντίστασης του *M. genitalium*:

- Εάν είναι ευαίσθητο στις μακρολίδες: Δοξυκυκλίνη 100 mg από του στόματος 2 φορές/ημέρα για 7 ημέρες, ακολουθούμενη από αζιθρομυκίνη 1 g από του στόματος αρχική δόση, ακολουθούμενη από 500 mg από του στόματος μία φορά την ημέρα για 3 επιπλέον ημέρες (2,5 g συνολικά)
- Εάν είναι ανθεκτικό στις μακρολίδες: Δοξυκυκλίνη 100 mg από του στόματος 2 φορές/ημέρα για 7 ημέρες ακολουθούμενη από μοξιφλοξασίνη 400 mg από του στόματος μία φορά την ημέρα για 7 ημέρες
- Συνιστώμενο σχήμα εάν δεν είναι διαθέσιμος έλεγχος αντίστασης *M. genitalium*: Εάν ανιχνευτεί *M. genitalium* από μεθοδολογία NAAT συνιστάται δοξυκυκλίνη 100 mg από το στόμα 2 φορές/ημέρα για 7 ημέρες, ακολουθούμενη από μοξιφλοξασίνη 400 mg από το στόμα μία φορά την ημέρα για 7 ημέρες (Workowski, et al, 2021).

Σε συνθήκες που δεν έχουμε πρόσβαση σε δοκιμασίες αντοχής και όταν η μοξιφλοξασίνη δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί, τότε μπορεί να εφαρμοστεί ένα εναλλακτικό σχήμα, με βάση περιορισμένα δεδομένα όπως: δοξυκυκλίνη 100 mg από του στόματος 2 φορές/ημέρα για 7 ημέρες, ακολουθούμενη από αζιθρομυκίνη (1 g από το στόμα την ημέρα 1 ακολουθούμενη από 500 mg μία φορά την ημέρα για 3 ημέρες)

και δοκιμασία ίασης 21 ημέρες μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας. Λόγω του υψηλού επιπολασμού της αντοχής στις μακρολίδες και της υψηλής πιθανότητας αποτυχίας της θεραπείας, αυτό το σχήμα θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο όταν είναι δυνατή μια δοκιμή ίασης και δεν υπάρχουν άλλες εναλλακτικές λύσεις. Εάν αποτύχει η συμπτωματική θεραπεία ή ένα θετικό τεστ ίασης μετά από αυτό το σχήμα, συνιστάται η συμβουλή ειδικού. Τα δεδομένα είναι περιορισμένα σχετικά με τη χρήση της μινोकυκλίνης σε περιπτώσεις αποτυχίας της θεραπείας (Workowski, et al, 2021).

Μεταβολικά, το *Mycoplasma hominis* διασπά την αργινίνη, αλλά δε διασπά την ουρία και τη γλυκόζη. Ακόμη, δεν το κυανούν του μεθυλενίου και το τετραζόλιο. Είναι ευαίσθητο στη ζοσαμυκίνη (Pereyre, et al, 2002), αλλά παρουσιάζει ισχυρή αντοχή στην ερυθρομυκίνη (Bebear, et al, 2000a) και στις κετολίδες. Αντιβιοτικά όπως οι φλουοροκινολόνες και ειδικότερα η τροβαφλοξακίνη, δρουν στοχεύοντας τις τοποϊσομεράσες του μικροβίου (Bébéar, et al, 2000b). Σε κύτταρα HeLa και κύτταρα κυτταροκαλλιιεργειών εμβρύου όρνιθας οι αποικίες του αναπτύσσονται σε pH 5,5 έως 8,0 και σε χρόνο από 1 έως 5 ημέρες.

Ως προς τα αντιβιοτικά, τα ουρεοπλάσματα είναι ευαίσθητα στις κινολόνες και στις μακρολίδες (Hannan, 1998) και ανθεκτικά στις τετρακυκλίνες (Roberts and Kenny, 1986), στις κεφαλοσπορίνες και στην πενικιλίνη, μιας και δε διαθέτουν κυτταρικό τοίχωμα. Ειδικότερα, το *Ureaplasma urealyticum* είναι ευαίσθητο στην εβερνιμυκίνη, στην κουνινοπριστίνη, στη δαλφοπριστίνη και στην τελιθρομυκίνη, ενώ το *Ureaplasma parvum* παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις κινολόνες, στην αζιθρομυκίνη και στην ερυθρομυκίνη, λόγω μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα γονίδια (Kenny and Cartwright, 2001).

4. Σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και κύηση

Αν και η επίπτωση του μυκοπλάσματος στη γονιμότητα ως συνέπεια της σαλπινγίτιδας παραμένει αδιευκρίνιστη, εν τούτοις εξετάζεται η εμπλοκή του στην υπογονιμότητα, λόγω της συχνότατης απομόνωσής του στις υπογόνιμες γυναίκες με πυελική φλεγμονή (Miller, et al, 1985).

Σε μια μετα-ανάλυση, βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του *M. genitalium* και της τραχηλίτιδας (ομαδική αναλογία πιθανοτήτων (OR) 1,66 [95% CI 1,35–2,04]) και

PID (ομαδοποιημένη OR 2,14 [95%CI 1,39–3]) (Jensen, et al, 2022). Το *M. genitalium* σχετίζεται με τραχηλίτιδα και φλεγμονώδη νόσο της πυέλου, αλλά λίγα είναι γνωστά για τον ρόλο του στην εγκυμοσύνη. Σε μία μελέτη της Oakeshott και των συνεργατών της (2004), διερευνήθηκε ο επιπολασμός του *M. genitalium* με ανάλυση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε δείγματα ούρων από 1216 έγκυες γυναίκες που είχαν μέση ηλικία τα 31 έτη και διένυαν κύηση έως και δέκα εβδομάδων. Ο επιπολασμός του *M. genitalium* ήταν 0,7% (6/915, 95% CI 0,1-1,2). Ήταν πιο συχνή η λοίμωξη σε γυναίκες ηλικίας < 20 ετών, σε γυναίκες αфро-καραϊβικής ή μαύρης αφρικανικής καταγωγής, σε γυναίκες μεσαίων κοινωνικών τάξεων και σε ανύπαντρες γυναίκες. Μόνο μία γυναίκα με λοίμωξη από *M. genitalium* απέβαλε και καμία από αυτές που παρακολουθήθηκε μέχρι τη λήξη δεν είχε πρόωρο τοκετό. Ο χαμηλός επιπολασμός της λοίμωξης από *M. genitalium* υποδηλώνει ότι είναι απίθανο να αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για δυσμενή έκβαση εγκυμοσύνης σε υγιείς γυναίκες στην κοινότητα (Oakeshott et al, 2004). Το *M. genitalium* έχει συσχετιστεί με πρόωρο τοκετό (ομαδικό OR 1,89 [95%CI 1,25-2,85]) και αυθόρμητη αποβολή (ομαδικό OR 1,82) [95%CI 1,10-3,03], αλλά ο επιπολασμός του *M. genitalium* σε έγκυες γυναίκες στην Ευρώπη είναι χαμηλός και ως εκ τούτου, η σχετική σημασία του στο γεννητικό σύστημα είναι μάλλον μικρή (Jensen et al, 2022).

Επιπλέον, η λοίμωξη από μυκόπλασμα των γεννητικών οργάνων συσχετίστηκε σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο τραχηλίτιδας (συλλογική αναλογία πιθανοτήτων [OR], 1,66 [95% διάστημα εμπιστοσύνης {CI}, 1,35-2,04]), φλεγμονώδη νόσο της πυέλου (ομαδική OR, 2,14 [95% CI, 1,31- 3,49]), πρόωρο τοκετό (ομαδοποιημένο OR, 1,89 [95% CI, 1,25-2,85]), και αυθόρμητη αποβολή (ομαδική OR, 1,82 [95% CI, 1,10-3,03]). Ο κίνδυνος υπογονιμότητας παρουσιάζεται παρομοίως αυξημένος (ομαδοποιημένο OR, 2,43 [95% CI, 0,93-6,34]) (Lis, Rowhani-Rahbar and Manhart, 2015).

Αναφορικά με το ρόλο που διαδραματίζει το *Ureaplasma spp* στην υπογονιμότητα, δεν έχουν προκύψει έως τώρα σαφή και οριστικά συμπεράσματα, ενώ τα αποτελέσματα είναι ορισμένες φορές αντιφατικά. Εντούτοις, στις υπογόνιμες γυναίκες το ουρεόπλασμα εντοπίζεται πιο συχνά, επηρεάζοντας αρνητικά την έκβαση των τεχνικών εξωσωματικής γονιμοποίησης (Fenkci, Yilmazer and Aktepe, 2002). Στους υπογόνιμους άνδρες η φορεία του μικροοργανισμού στο γεννητικό σύστημα δε σχετίζεται ξεκάθαρα με επιρροή της γονιμότητας, ενώ στη χώρα μας οι

ασυμπτωματικοί άνδρες δεν παρουσιάζουν παθολογικά ευρήματα στο σπέρμα, ακόμη και όντες θετικοί στο βακτήριο (Gregoriou, et al, 1989).

Σε συστηματική ανασκόπηση με σκοπό τη διερεύνηση του ρόλου των μυκοπλασμάτων των γεννητικών οργάνων (*Mycoplasma hominis*, το *Ureaplasma urealyticum* και το *Ureaplasma parvum*), που αποικίζουν συνήθως την ουρογεννητική περιοχή σε έγκυες γυναίκες δεν στοιχειοθετήθηκε ερμηνεία η οποία να δείχνει αιτιώδεις συσχετίσεις μεταξύ του αποικισμού με *M. hominis*, *U. urealyticum* ή *U. parvum* κατά την εγκυμοσύνη και ορισμένων δυσμενών εκβάσεων εγκυμοσύνης. Αυτή η μετα-ανάλυση περιελάμβανε 53 μελέτες σχετικά με συσχετίσεις μεταξύ *M. hominis*, *U. urealyticum* και *U. parvum* και πέντε ανεπιθύμητες εκβάσεις εγκυμοσύνης. Μόνο 6/53 μελέτες ανέφεραν οποιαδήποτε πολυμεταβλητή ανάλυση. Σε 51 μελέτες, οι μετα-αναλύσεις μη προσαρμοσμένων ORs διαπίστωσαν ότι το *M. hominis* συσχετίστηκε με αύξηση των πρόωρο τοκετό (PTB), πρόωρη ρήξη μεμβρανών (PROM), χαμηλό βάρος γέννησης (LBW) και νεογνικό θάνατο 9PND), το *U. urealyticum* με αύξηση σε πρόωρο τοκετό (PTB), πρόωρη ρήξη μεμβρανών (PROM) και αυτόματη αποβολή (SA) και το *U. parvum* με αύξηση σε πρόωρο τοκετό (PTB). Σε δύο μελέτες από τις οποίες μπορούσαν να εξαχθούν δεδομένα τόσο για τα μυκοπλάσματα των γεννητικών οργάνων όσο και για την βακτηριακή κολπίτιδα (BV), το *M. hominis* και το *U. parvum* συσχετίστηκαν λιγότερο έντονα με τον πρόωρο τοκετό (PTB) με απουσία βακτηριακής κολπίτιδας (BV) παρά παρουσία (Jonduo, et al, 2023).

Η θεραπεία BV συνιστάται για όλες τις συμπτωματικές έγκυες γυναίκες επειδή η συμπτωματική BV έχει συσχετιστεί με δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένης της πρόωρης ρήξης των μεμβρανών, του πρόωρου τοκετού, της ενδοαμνιακής λοίμωξης και της ενδομητρίτιδας μετά τον τοκετό. Έχουν διεξαχθεί μελέτες για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας της θεραπείας BV σε αυτόν τον πληθυσμό, συμπεριλαμβανομένων δύο δοκιμών που έδειξαν ότι η από του στόματος μετρονιδαζόλη ήταν αποτελεσματική κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης χρησιμοποιώντας το σχήμα των 250 mg 3 φορές/ημέρα. Ωστόσο, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί μετρονιδαζόλη από του στόματος χορηγούμενη ως σχήμα 500 mg 2 φορές/ημέρα. Μια άλλη δοκιμή έδειξε ποσοστό ίασης 85% χρησιμοποιώντας κριτήρια χρώσης Gram μετά από θεραπεία με κλινδαμυκίνη 300 mg από του στόματος 2 φορές/ημέρα για 7 ημέρες. Αν και παλαιότερες μελέτες έδειξαν πιθανή σχέση μεταξύ της χρήσης κολπικής κλινδαμυκίνης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και των

δυσμενών εκβάσεων για το νεογνό, νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι αυτή η θεραπευτική προσέγγιση είναι ασφαλής για τις έγκυες γυναίκες. Παρόλο που η μετρονιδαζόλη διαπερνά τον πλακούντα, δεν έχουν αναφερθεί ενδείξεις τερατογένεσης ή μεταλλαξιογόνων επιδράσεων στα βρέφη σε πολλαπλές μελέτες διατομής, ελέγχου περιπτώσεων και των εγκύων γυναικών. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η θεραπεία με μετρονιδαζόλη ενέχει χαμηλό κίνδυνο κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τα δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους είναι περιορισμένα σχετικά με τη χρήση της τινιδαζόλης στην εγκυμοσύνη. Ωστόσο, δεδομένα από ζώα δείχνουν ότι μια τέτοια θεραπεία ενέχει μέτριο κίνδυνο. Έτσι, η τινιδαζόλη θα πρέπει να αποφεύγεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τα δεδομένα είναι ανεπαρκή σχετικά με την αποτελεσματικότητα και τις ανεπιθύμητες ενέργειες της σεκνιδαζόλης, της κολπικής κρέμας Clindesse 2%, της κολπικής γέλης μετρονιδαζόλης 1,3% και των δισκίων κολπικής μετρονιδαζόλης 750 mg κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Επομένως, η χρήση τους θα πρέπει να αποφεύγεται.

Η από του στόματος θεραπεία δεν έχει αναφερθεί ότι είναι ανώτερη από την τοπική θεραπεία για τη θεραπεία της συμπτωματικής BV στην αποτελεσματική θεραπεία ή την πρόληψη ανεπιθύμητων εκβάσεων της εγκυμοσύνης. Οι έγκυες γυναίκες μπορούν να υποβληθούν σε θεραπεία με οποιοδήποτε από τα συνιστώμενα σχήματα για μη έγκυες γυναίκες, επιπλέον των εναλλακτικών σχημάτων κλινδαμυκίνης από του στόματος και ωαρίων κλινδαμυκίνης.

Η θεραπεία της ασυμπτωματικής BV μεταξύ εγκύων γυναικών υψηλού κινδύνου για πρόωρο τοκετό (δηλαδή, εκείνες με προηγούμενο πρόωρο τοκετό ή καθυστερημένη αποβολή) έχει αξιολογηθεί από πολλαπλές μελέτες, οι οποίες έχουν αποδώσει μικτά αποτελέσματα. Επτά δοκιμές αξιολόγησαν τη θεραπεία εγκύων γυναικών με ασυμπτωματική BV σε υψηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό: μία αποκάλυψε βλάβη, δύο ανέφεραν κανένα όφελος και τέσσερις απέδειξαν όφελος. Η θεραπεία της ασυμπτωματικής BV μεταξύ εγκύων γυναικών με χαμηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό δεν έχει αναφερθεί ότι μειώνει τις ανεπιθύμητες εκβάσεις της εγκυμοσύνης. Ως εκ τούτου, δεν συνιστάται ο τακτικός έλεγχος για την BV μεταξύ ασυμπτωματικών εγκύων με υψηλό ή χαμηλό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό για την πρόληψη του πρόωρου τοκετού.

Η μετρονιδαζόλη εκκρίνεται στο μητρικό γάλα. Με τη μητρική από του στόματος θεραπεία, τα βρέφη που θηλάζουν λαμβάνουν μετρονιδαζόλη σε δόσεις μικρότερες από αυτές που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία λοιμώξεων μεταξύ των βρεφών, αν και ο ενεργός μεταβολίτης προσθέτει στη συνολική έκθεση των βρεφών. Τα επίπεδα του φαρμάκου και του μεταβολίτη στο πλάσμα είναι μετρήσιμα, αλλά παραμένουν λιγότερα από τα επίπεδα στο πλάσμα της μητέρας. Αν και πολλές αναφερόμενες σειρές περιπτώσεων δεν εντόπισαν ενδείξεις ανεπιθύμητων ενεργειών που σχετίζονται με τη μετρονιδαζόλη για βρέφη που θηλάζουν, ορισμένοι κλινικοί γιατροί συνιστούν την αναβολή του θηλασμού για 12-24 ώρες μετά τη μητρική θεραπεία με μία δόση μετρονιδαζόλης 2 g. Οι χαμηλότερες δόσεις παράγουν χαμηλότερη συγκέντρωση στο μητρικό γάλα και θεωρούνται συμβατές με το θηλασμό (Workowski, et al, 2021).

5. Εργαστηριακή διάγνωση STD

5.1. *Chlamydia trachomatis*

5.1.1. Προσυμπτωματικός έλεγχος (screening) για χλαμυδιακές λοιμώξεις

Υπηρεσίες πρόληψης των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής συνιστούν να υποβάλλονται σε ετήσιο έλεγχο για χλαμύδια όλες οι σεξουαλικά ενεργές γυναίκες ηλικίας 24 ετών ή νεότερες. Παρόμοια πρωτόκολλα θα πρέπει να εφαρμόζονται σε γυναίκες 25 ετών και άνω που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης, λόγω νέου σεξουαλικού συντρόφου ή πολλαπλών σεξουαλικών συντρόφων ή συντρόφου που συνευρίσκεται ταυτόχρονα με πολλούς σεξουαλικούς συντρόφους ή σύντροφος με διαγνωσμένο σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα (Grygiel-Górnaiak and Folga, 2023). Επιπλέον, οι έγκυες γυναίκες άνω των 25 ετών που έχουν αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης, θα πρέπει να υποβάλλονται σε έλεγχο κατά την πρώτη επίσκεψη προγεννητικού ελέγχου και να επανεξετάζονται κατά το πρώτο τρίμηνο επι αυξημένου κινδύνου (Workowski, et al, 2021).

Το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) συνιστά επίσης τον έλεγχο ορισμένων πληθυσμών, κυρίως σεξουαλικά ενεργών ανδρών σε περιοχές με υψηλό επιπολασμό. Η ετήσια εξέταση θα πρέπει να πραγματοποιείται σε άνδρες που έχουν σεξουαλικές σχέσεις με άνδρες, σε ομάδες που ενέχονται σε σεξουαλικές συνήθειες

υψηλού κινδύνου ή αν οι σεξουαλικοί σύντροφοι έχουν πολλαπλούς σεξουαλικούς συντρόφους. Επιπλέον, το CDC συνιστά τον έλεγχο για γυναίκες κάτω των 35 ετών και άνδρες κάτω των 30 ετών κατά την είσοδό τους σε σωφρονιστικό ίδρυμα (Workowski, et al, 2021). Σε όλες τις προαναφερθείσες καταστάσεις, οι ασθενείς θα πρέπει επίσης να ελέγχονται για γονόρροια, η οποία συχνά συνυπάρχει με χλαμυδιακή λοίμωξη (Grygiel-Górnaiak and Folga, 2023). Σε περιπτώσεις χλαμυδιακής ή γονοκοκκικής λοίμωξης, ο ασθενής θα πρέπει να επανεξετάζεται τρεις μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας (Workowski, et al, 2021).

Σύμφωνα με τον Εθνικό Οργανισμό Δημόσιας Υγείας (ΕΟΔΥ), σύσταση για διενέργεια εργαστηριακού ελέγχου για χλαμυδιακές λοιμώξεις έχουν (ΕΟΔΥ, 2022).

- άτομα με παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση χλαμυδιακών λοιμώξεων ή ΣΜΝ
- άτομα που έχουν προηγουμένως διαγνωσθεί με άλλα ΣΜΝ
- σεξουαλικοί σύντροφοι ατόμων με ΣΜΝ ή χρόνια φλεγμονώδη νόσο της πυέλου
- άτομα με κλινική εικόνα πρωκτίτιδας ή πρωκτοκολίτιδας
- ενήλικες ή νεογνά με πυώδη επιπεφυκίτιδα και νεογνά με εικόνα άτυπης πνευμονίας
- άνδρες 25 ετών με υψηλού κινδύνου σεξουαλική συμπεριφορά και γυναίκες που έχουν λάβει θεραπεία για χλαμυδιακή λοίμωξη. Η τελευταία ομάδα γυναικών συνιστάται να επανελεγχθεί κατά προσέγγιση 3 μήνες μετά το τέλος της θεραπευτικής αγωγής
- γυναίκες που εμφανίζουν κολπικό/τραχηλικό έκκριμα και παράγοντες κινδύνου για ΣΜΝ
- γυναίκες με οξύ πυελικό άλγος ή σημεία και συμπτώματα χρόνιας φλεγμονώδους νόσου της πυέλου
- όλες οι έγκυες γυναίκες ηλικίας 25 ετών με υψηλού κινδύνου σεξουαλική συμπεριφορά και όλες οι έγκυες γυναίκες στο 3ο τρίμηνο της κύησης. Έγκυες που έχουν λάβει θεραπεία για χλαμυδιακή λοίμωξη και έχουν ελεγχθεί εργαστηριακά 4 εβδομάδες μετά το τέλος της θεραπευτικής αγωγής, χρήζουν επανελέγχου μέσα σε χρονικό διάστημα 3 μηνών
- έγκυες με μη αναμενόμενη διακοπή κύησης, καθώς και με ενδομήτριες παρεμβάσεις ή χειρισμούς

- άνδρες που έχουν σεξουαλική επαφή με άλλους άνδρες τουλάχιστον ετησίως ανεξάρτητα από τη χρήση προφυλακτικού και κάθε 3-6 μήνες επί σεξουαλικής συμπεριφοράς υψηλού κινδύνου
- σεξουαλικά ενεργά άτομα με HIV λοίμωξη κατά τη πρώτη διάγνωση της λοίμωξης και τουλάχιστον ετησίως ή συχνότερα ανάλογα με την επικινδυνότητα της σεξουαλικής τους συμπεριφοράς
- διεμφυλικά άτομα με βάση την ανατομία τους

5.1.2. Είδη κλινικών δειγμάτων

Η διάγνωση της χλαμυδιακής λοίμωξης περιλαμβάνει διάφορες άμεσες και έμμεσες εργαστηριακές μεθόδους, η αποτελεσματικότητα των οποίων εξαρτάται κυρίως από την επαρκή συλλογή και μεταφορά κλινικών δειγμάτων. Επιπρόσθετα, το είδος των κατάλληλων δειγμάτων μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την κλινική εντόπιση και τη μέθοδο εξέτασης (Bébéar and Barbeyrac, 2009). Τα χλαμύδια είναι ένα υποχρεωτικό ενδοκυτταρικό βακτήριο, οπότε τα δείγματα που συλλέγονται πρέπει να περιλαμβάνουν κύτταρα-ξενιστές που φέρουν το παθογόνο, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται άμεσες μέθοδοι διάγνωσης (Black, 1997).

Τα επιχρίσματα γεννητικών οργάνων είναι τα πιο συχνά και ενδεδειγμένα δείγματα που συλλέγονται για την ανίχνευση χλαμυδιακών λοιμώξεων. Προτιμούνται για τη συλλογή οι στυλεοί Dacron, Rayon, βαμβακοφόροι και αλγινικού ασβεστίου (Black, 1997; Barnes, 1989). Στις γυναίκες, τα τραχηλικά επιχρίσματα μόνα τους ή σε συνδυασμό με ουρηθρικά επιχρίσματα και στους άνδρες τα ουρηθρικά επιχρίσματα θεωρούνται τα καταλληλότερα για την απομόνωση των χλαμυδίων. Ο έλεγχος για εξωγεννητικές λοιμώξεις CT ή σε άνδρες που έχουν σεξουαλική επαφή με άλλους άνδρες, απαιτεί δειγματοληψία από περιοχή του ορθού ή/και του φάρυγγα.

Σημαντική είναι η συλλογή μη επεμβατικών δειγμάτων για διαγνωστικές εξετάσεις, όπως αυτοσυλλεγόμενα κολπικά επιχρίσματα σε γυναίκες και ούρα πρώτου ρεύματος σε άνδρες και σε γυναίκες (Schachter, et al, 2003; Ferrero, et al, 2017). Τα μη επεμβατικά δείγματα είναι προτιμώμενα δείγματα, ιδιαίτερα για τον έλεγχο ασυμπτωματικών ατόμων. Τα ουρηθρικά επιχρίσματα και ούρα πρώτου ρεύματος από άνδρες ασθενείς είναι ισοδύναμα όσον αφορά την απόδοση των NAATs. Η συλλογή ούρων, ωστόσο, είναι πολύ καλύτερα αποδεκτή και επομένως ο προτεινόμενος τύπος

δείγματος στους άνδρες (Van der Pol, et al, 2001). Καθώς η συγκέντρωση των χλαμυδίων μειώνεται κατά την ούρηση, είναι σημαντικό να χρησιμοποιείται το πρώτο ρεύμα της ούρησης (περίπου 20 mL) (Wisniewski, et al, 2008).

Αντίθετα, η συγκέντρωση χλαμυδίων σε γυναίκες με ουρογεννητική λοίμωξη είναι συγκριτικά υψηλότερη στα επιχρίσματα των γεννητικών οργάνων παρά στα ούρα (Michel, et al, 2007). Τα ενδοτραχηλικά επιχρίσματα και τα κολπικά επιχρίσματα (δείγματα αυτοσυλλογής ή από τον κλινικό γιατρό) είναι ο προτεινόμενος τύπος δείγματος για τις γυναίκες. Το δείγμα ούρων πρώτου ρεύματος είναι λιγότερο κατάλληλο για εξέταση CT σε γυναίκες και όταν αυτό χρησιμοποιηθεί ως δείγμα για προσυμπτωματικό έλεγχο με NAAT μέθοδο, θα πρέπει να θεωρείται ότι το ποσοστό ανίχνευσης είναι έως και 10% χαμηλότερο σε σύγκριση με τα κολπικά και ενδοτραχηλικά επιχρίσματα (Papp, et al, 2014).

Η αξιοπιστία των δειγμάτων του ουρογεννητικού που συλλέγονται από διαφορετικές ανατομικές θέσεις φαίνεται να επηρεάζεται από την διαφορά του βακτηριακού φορτίου, με το υψηλότερο φορτίο να παρατηρείται βέβαια σε συμπτωματικούς ασθενείς, άνδρες και γυναίκες (Wijers, et al, 2019). Στους άνδρες, τα ουρηθρικά επιχρίσματα και τα δείγματα ούρων πρώτου ρεύματος θεωρούνται εξίσου επαρκή καθώς δεν υπάρχει σημαντική διακύμανση ως προς το βακτηριακό φορτίο των χλαμυδίων σε αυτά. Στις γυναίκες, τα ενδοτραχηλικά επιχρίσματα είναι τα δείγματα εκλογής, εντούτοις και τα δείγματα αυτοσυλλογής έχουν αποδειχθεί ότι έχουν συγκριτικά αξιόπιστα αποτελέσματα (Michel, et al, 2007).

5.1.3. Μεθοδολογίες ανίχνευσης *C. trachomatis*

Υπάρχουν διάφορα διαγνωστικά εργαλεία για την ανίχνευση λοίμωξης από *C. trachomatis*. Ο έλεγχος για χλαμύδια ενδείκνυται σε ασθενείς με ουρογεννητικά, πρωκτικά και οφθαλμικά συμπτώματα, σε ασθενείς με ΣΜΝ εκτός των χλαμυδίων, σε σεξουαλικές επαφές ατόμων με ΣΜΝ και σε άτομα που προορίζονται για έλεγχο χλαμυδίων (Lanjouw, et al, 2016). Οι διαγνωστικές διαδικασίες για την ανίχνευση λοιμώξεων με CT περιλαμβάνουν τόσο άμεσες όσο και έμμεσες μεθόδους. Οι εντοπισμένες λοιμώξεις ελέγχονται με δοκιμασίες άμεσης ανίχνευσης παθογόνου, όπως κυτταρολογική εξέταση, καλλιέργεια, δοκιμασίες ανίχνευσης αντιγόνου [EIA, άμεσος ανοσοφθορισμός (Direct Immunofluorescence, DFA) και

ανοσοχρωματογραφικές (Rapid Diagnostic Tests, RDTs), υβριδισμό νουκλεϊκού οξέος και δοκιμασίες ενίσχυσης και πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού (NAATs). Οι έμμεσες μέθοδοι εξαρτώνται από την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του *C. trachomatis* που μπορούν να εφαρμοστούν κυρίως για τη διαγνωστική αξιολόγηση χρόνιας/διηθητικής λοίμωξης (PID, LGV) και επιπλοκών. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα παθογόνα έχουν διασχίσει το επιθήλιο και μπορεί να μην είναι πλέον ανιχνεύσιμα σε επιχρίσματα. Από την άλλη πλευρά, ο ορολογικός έλεγχος είναι ακατάλληλος για τη διάγνωση οξέων λοιμώξεων του κατώτερου γεννητικού και του πρωκτού, καθώς η αναζήτηση των αντισωμάτων γίνεται ανιχνεύσιμη μόνο μετά από εβδομάδες έως μήνες και συχνά είναι λιγότερο έντονη (Meye, 2016).

5.1.3.1. Άμεσες μέθοδοι διάγνωσης χλαμυδιακών λοιμώξεων

Κυτταρολογική εξέταση

Για τη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων χρησιμοποιήθηκε αρχικά η χρώση Giemsa, με την οποία επιτεύχθηκε η πρώτη περιγραφή των τυπικών χλαμυδιακών εγκλείστων (Halberstaedter and von Powazek, 1997). Τα ώριμα εγκλείστα εμφανίζονται σκούρες περιοχές μέσα στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων. Άλλες χρώσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί ήταν το πορτοκαλί της ακριδίνης και το ιώδιο. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα χαμηλή ευαισθησία και δε συνιστάται (Land, et al, 2010).

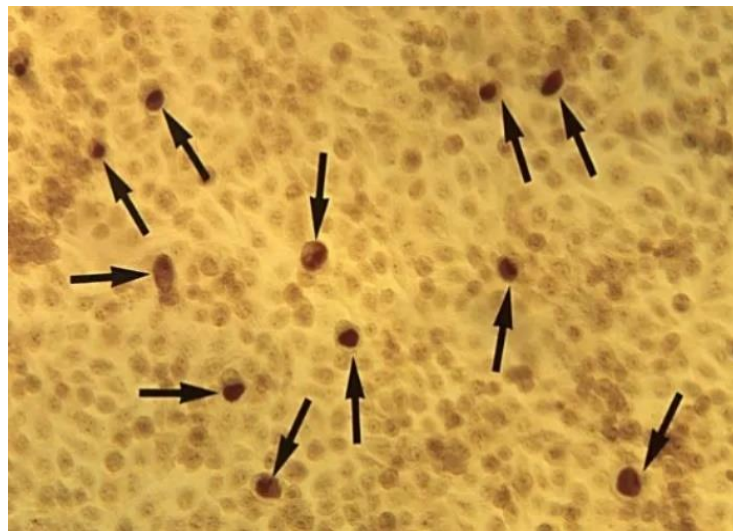
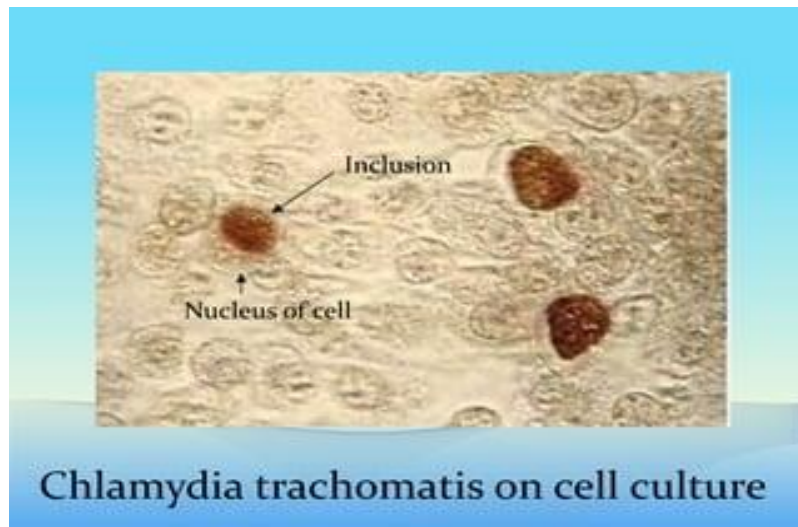
Κυτταροκαλλιέργεια

Τα χλαμύδια απομονώνονταν μέσω της καλλιέργειάς τους σε έμβρυα όρνιθας πρωτίστως (Tang, et al, 1957) και σε κυτταροκαλλιέργειες κυτταρικών σειρών αργότερα. Οι συνήθεις κυτταρικές σειρές για την απομόνωση των *C. trachomatis* περιλαμβάνουν τα κύτταρα McCoy, HeLa 229 ή Buffalo Green Monkey Kidney (BGMK) και HEp-2 στη συνέχεια. Τα επιχρίσματα από διάφορες ανατομικές θέσεις (ενδοτραχήλιος, ουρήθρα, πρωκτικός σωλήνας, επιπεφυκότας) είναι κατάλληλα δείγματα για καλλιέργεια αλλά πρέπει να συλλέγονται χρησιμοποιώντας ειδικές συσκευές και μέσα μεταφοράς (Papp, et al, 2014). Μετά τη φυγοκέντρηση και τον ενοφθαλμισμό των δειγμάτων σε ένα στρώμα κυτταρικής σειράς, ελέγχονται οι

καλλιέργειες για την ανάπτυξη χαρακτηριστικών ενδοκυτταροπλασματικών εγκλείστων (Εικόνα 10) μετά από 48–72 ώρες με χρώση Giemsa, ιώδιο ή φθορισμό με τη χρήση, σημασμένων με φθορίζουσες ουσίες, αντισωμάτων ειδικών για γλαμυδιακά αντιγόνα (LPS ή MOMP). Όταν χρησιμοποιούνται αντισώματα ειδικά για το MOMP, η ανίχνευση είναι εξαιρετικά ειδική (Johnson, et al, 2002).

Η κυτταροκαλλιέργεια αποτέλεσε τη μέθοδο αναφοράς για την ανίχνευση των γλαμυδίων και κατέστησε δυνατή την καλλιέργειά τους σε ευρεία κλίμακα. Από την άλλη πλευρά, καθώς η καλλιέργεια εξαρτάται από τη βιωσιμότητα του μικροοργανισμού, το ποσοστό ανίχνευσης κυμαίνεται στην μεταξύ 60%–80%, ακόμη και όταν πραγματοποιείται σε εργαστήρια με έμπειρο προσωπικό και τεχνογνωσία (Robinson and Ridgway, 1996).

Η ευαισθησία της καλλιέργειας μπορεί να επηρεαστεί από ανεπαρκή συλλογή, αποθήκευση και μεταφορά των δειγμάτων, τοξικές ουσίες στα κλινικά δείγματα και υπερβολική ανάπτυξη συμβιωτικών μικροβίων στην κυτταροκαλλιέργεια. Η χρήση της στην κλινική πράξη περιορίστηκε λόγω της μειωμένης ευαισθησίας (Lefebvre, et al, 1998), της κοπιώδους και εντατικής εργαστηριακής εργασίας, της χρονοβόρου διαδικασίας έκδοσης των αποτελεσμάτων (3-7 ημέρες), της δυσκολίας στην τυποποίηση, της υποκειμενικότητας, αλλά και της εισαγωγής των μοριακών μεθόδων πολλαπλασιασμού των νουκλεϊνικών οξέων (Black, 1997; Land, et al, 2010). Έτσι, η κυτταροκαλλιέργεια σπάνια χρησιμοποιείται σήμερα στα διαγνωστικά εργαστήρια, αλλά η μεθοδολογία εξακολουθεί να είναι απαραίτητη, τουλάχιστον σε ορισμένα εργαστήρια αναφοράς, για την παρακολούθηση της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά, των αλλαγών της λοιμογονικότητας και ικανότητας πρόκλησης λοιμώξεων, ή όταν απαιτείται μια δοκιμασία με την υψηλότερη ειδικότητα, όπως στην περίπτωση υποψίας σεξουαλικής κακοποίησης.



Εικόνα 10: Παρατήρηση ενδοκυτταρικών χλαμυδιακών εγκλείστων (καφέ χρώμα)

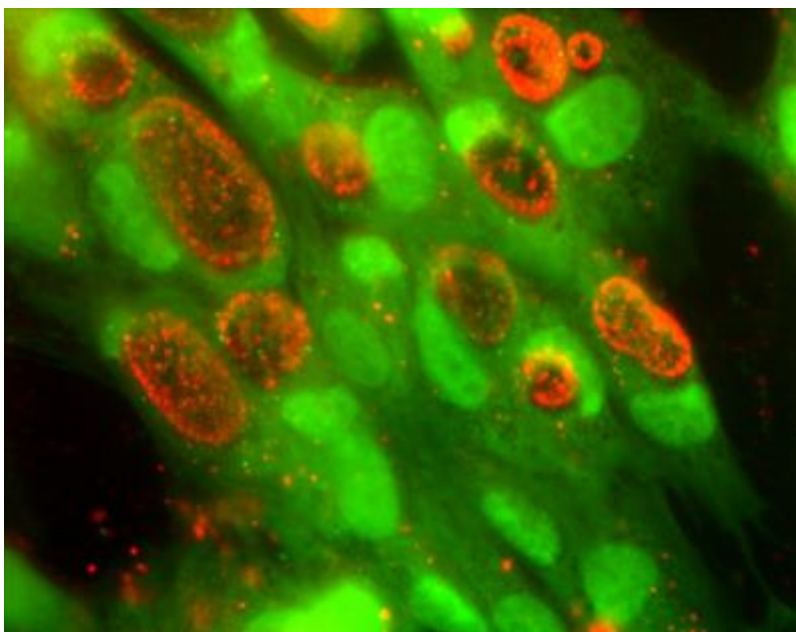
Ανίχνευση αντιγόνων

Άμεσες μέθοδοι για τη διάγνωση λοίμωξης από *C. trachomatis*, έχουν αναπτυχθεί και βασίζονται στην ανίχνευση αντιγόνων του *C. trachomatis* σε κλινικά δείγματα. Αυτές οι μέθοδοι δεν είναι ιδιαίτερα πολύπλοκες γιατί δεν απαιτούν ειδικό χειρισμό και μεταφορά των δειγμάτων, δεδομένου ότι δεν ανιχνεύουν βιώσιμα βακτήρια, όπως η κυτταροκαλλιέργεια, ενώ μπορεί να εφαρμοστούν σε εργαστήρια που δεν έχουν την δυνατότητα να αναπτύξουν και να διατηρήσουν κυτταροκαλλιέργειες (Shetty, et al, 2021).

Άμεσος ανοσοφθορισμός (DFA)

Η τεχνική του ανοσοφθορισμού επιτρέπει τη χρήση ανιχνευτών DNA, ενζύμων, άμεσων φθορίζόντων αντισωμάτων και αντιγόνων, με στόχο την άμεση ανίχνευση των χλαμυδίων σε κάθε κλινικό δείγμα. Παρόλα αυτά, η ευαισθησία και η ειδικότητα των δεδομένων αναλύσεων θεωρούνται υποδεέστερες εκείνων της καλλιέργειας (Barnes, 1989; Gratton, et al, 1990). Ο άμεσος ανοσοφθορισμός (DFA) που πραγματοποιείται απευθείας σε κλινικά δείγματα είναι μια από τις πιο χρήσιμες μεθόδους που διατίθενται για τη διάγνωση. Βασίζεται στην κύρια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης, ειδικής για τα χλαμύδια, επιτυγχάνοντας την ανίχνευση μόνο των χλαμυδίων του τραχώματος, μέσω της ομοιόμορφης κατανομής στο χλαμυδιακό σωματίο. Από την αρχή της εφαρμογής του DFA διαπιστώθηκε ότι διέθετε ευαισθησία 80-85% και ειδικότητα 98-99%, ενώ δεν μπορούσε να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις πολλαπλών δειγμάτων (Chernesky, et al, 1986).

Η ανάπτυξη των μονοκλωνικών αντισωμάτων πέτυχε την ανίχνευση των χλαμυδίων άμεσα και γρήγορα στα κλινικά δείγματα και αύξησε την ευαισθησία του άμεσου ανοσοφθορισμού (Εικόνα 11). Για την ανίχνευση χλαμυδιακών εγκλείστων χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα σημασμένα με ισοθιοκυανική φλουορεσκεΐνη που στρέφονται κατά του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) ή του MOMP του χλαμυδιακού κυττάρου (Black, et al, 2002). Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικά για το MOMP των CT έχει οδηγήσει σε 98–99% ειδικότητα και 80–90% ευαισθησία σε σύγκριση με μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας. Η πολύ υψηλή ειδικότητα του DFA οφείλεται στην οπτικοποίηση της χαρακτηριστικής μορφολογίας και των ιδιοτήτων χρώσης των χλαμυδιακών εγκλείστων, όπως στα καλλιεργημένα κύτταρα. Αυτή η τεχνική είναι σχετικά γρήγορη και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε περίπου 30 λεπτά. Εντούτοις απαιτεί εξειδίκευση και εμπειρία, δεδομένου ότι υπεισέρχεται ο υποκειμενικός παράγοντας του εξεταστή, χρόνο στην παρατήρηση καθώς και στην αξιολόγηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων, καθιστώντας τη χρήση της περιορισμένη. Ωστόσο, λόγω της υψηλής ειδικότητας που διαθέτει, έχει χρησιμοποιηθεί ως επιβεβαιωτική δοκιμασία για θετικά αποτελέσματα που λαμβάνονται από άλλα τεστ εκτός της κυτταροκαλλιέργειας (Barnes, 1989; Black, 1997; Malhotra et al, 2013).



Εικόνα 11 : Άμεσος ανοσοφθορισμός με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (DFA). Πράσινα (Hela Cells) και Κόκκινα (Χλαμύδια) (Hosseinzadeh, et al, 2009)

Ανοσοενζυμικές μέθοδοι (EIA)

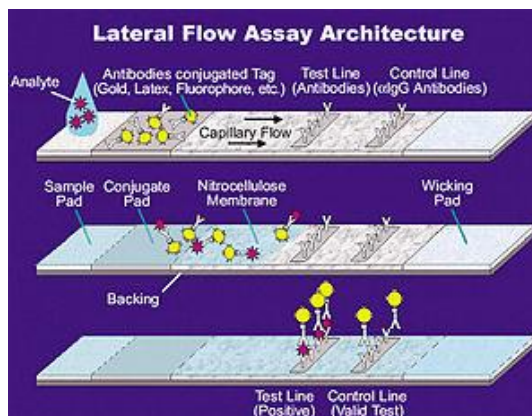
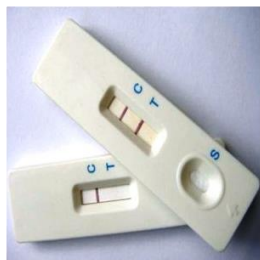
Οι ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες (EIA) που βασίζονται στην ανίχνευση του ειδικού για το γένος των χλαμυδίων LPS αντιγόνου εισήχθησαν αργότερα στη διαγνωστική. Επιλέγεται το αντιγόνο του λιποπολυσακχαρίτη των χλαμυδίων, το οποίο θεωρείται ποσοτικά επαρκέστερο και πιο υδατοδιαλυτό σε σύγκριση με το αντιγόνο MOMP, αν και συχνά προκαλεί διασταυρούμενες αντιδράσεις με το λιποπολυσακχαρίτη άλλων Gram αρνητικών βακτηρίων, όπως και χλαμυδίων άλλου είδους (Black, 1997). Η δεδομένη τεχνική υπολείπεται επίσης των μοριακών μεθόδων πολλαπλασιασμού των νουκλεϊκών οξέων, τόσο σε ευαισθησία, όσο και σε ειδικότητα (Land, et al, 2010).

Προκειμένου να βελτιωθεί η ειδικότητα της μεθόδου, πραγματοποιούνται διαδικασίες επανελέγχου των θετικών δειγμάτων παρουσία μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικών για το χλαμυδιακό LPS. Αυτές οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες αύξησαν την ειδικότητα των EIA από 97 σε > 99% καθιστώντας τις ως κατάλληλες δοκιμές προσυμπτωματικού ελέγχου, ακόμη και σε πληθυσμό με χαμηλό επιπολασμό (Black, 1997; Chernesky,

2005). Η αποτελεσματικότητα εμπορικών κιτ EIA αναλύσεων έχει συγκριθεί με κυτταροκαλλιέργεια και άλλες μεθόδους μη καλλιεργητικές, όπως DFA, υβριδισμός νουκλεϊκού οξέος και NAAT και η ευαισθησία τους κυμαινόταν από 65-75% με ειδικότητα 97-99% (Shetty, et al, 2021).

Τεχνικές ανοσοχρωματογραφίας (RDTs)

Εκτός από την επαρκή ακρίβεια των διαγνωστικών τεχνικών για τα χλαμύδια, ο χρόνος διενέργειας και αναφοράς των αποτελεσμάτων των εξετάσεων είναι επίσης σημαντικός όσον αφορά την έγκαιρη έναρξη της θεραπείας. Συνήθως, οι μοριακές μέθοδοι πολλαπλασιασμού (NAATs) πραγματοποιούνται σε Κεντρικά Εργαστήρια, με μεγαλύτερη εμπειρία του προσωπικού και εξειδίκευση, όπου απαιτείται η μεταφορά των δειγμάτων, η διενέργεια της εξέτασης και η αναφορά σε δεύτερο χρόνο του αποτελέσματος στον κλινικό ιατρό. Ως εκ τούτου, η διαγνωστική των χλαμυδιακών λοιμώξεων που βασίζεται σε τεχνικές NAAT απαιτεί μια δεύτερη επίσκεψη ασθενών, η οποία δυνητικά θα οδηγήσει σε καθυστερημένη θεραπεία ή και καθόλου θεραπεία εάν οι ασθενείς δεν επισκεφτούν εκ νέου τον θεράποντα, γεγονός που μπορεί να συμβάλει στην υψηλή συχνότητα μόλυνσης και διασποράς της λοίμωξης. Οι POC (point of care) δοκιμασίες επιτρέπουν τη διενέργεια δοκιμασιών «παρά την κλίνη» του ασθενούς και παρέχουν αποτελέσματα σε λίγα λεπτά, έτσι ώστε οι ασθενείς να λαμβάνουν αντιβιοτική θεραπεία αμέσως μετά τη θετικοποίηση του δείγματός τους. Αρκετά από τα POC είναι ανοσοχρωματογραφικές εξετάσεις (RDTs) που βασίζονται στην τεχνολογία πλευρικής ροής και ανιχνεύουν το αντιγόνο του λιποπολυσακχαρίτη (LPS) των χλαμυδίων σε επιχρίσματα γεννητικών οργάνων ή στα ούρα (Εικόνα 12). Σε σύγκριση με την καλλιέργεια και την PCR, αυτές οι ταχείες δοκιμασίες που ανιχνεύουν αντιγόνο είναι σημαντικά λιγότερο ευαίσθητες και ειδικές (Meye, 2016).



Εικόνα 12: Ανοσοχρωματογραφία πλευρικής ροής (<https://el.wikipedia.org/immunochromatography>)

Μελέτη ανασκόπησης έχει δώσει συγκεντρωτικά ικανοποιητικά αποτελέσματα για την απόδοση αυτών των δοκιμασιών, με ευαισθησία αντίστοιχα 77% και 80% για δείγματα ούρων πρώτου ρεύματος και κολπικά επιχρίσματα και ειδικότητα 99% (Hislop et al, 2010). Σε νεότερη μελέτη, παρόλο που βρέθηκαν επίσης χαμηλές ευαισθησίες για αρκετά κιτ (37%-63%), υπήρξε και ένα εμπορικό κιτ, που είχε συγκρίσιμα αποτελέσματα με την NAAT, με ευαισθησία στο 88,2% για τραχηλικά επιχρίσματα και 93,8% σε δείγματα ούρων και ειδικότητα από 94,7% έως 96,8% (Kelly, et al, 2017). Ωστόσο, αυτά τα δεδομένα δεν επιβεβαιώθηκαν σε μεταγενέστερες μελέτες που ανέφεραν ευαισθησία 41,2% και 74,2% για κολπικά επιχρίσματα (Van der Helm, et al, 2012; Hurly, et al, 2014) και 41,4% και 20% σε άνδρες με δείγματα ούρων πρώτου ρεύματος (Hurly, et al, 2014; Abbai Shaik, et al, 2016). Τα αποτελέσματα ήταν περισσότερο απογοητευτικά σε άλλη προγενέστερη μελέτη που πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή τριών μεθόδων ταχείας διαγνωστικής σε κολπικά επιχρίσματα από μεγάλο πληθυσμό ασθενών, η ευαισθησία των οποίων στην ανίχνευση των χλαμυδίων ήταν 11,6%-27,3% σε σύγκριση με την PCR, η οποία αποτελούσε τη δοκιμασία αναφοράς (Van Dommelen, et al, 2010). Η χαμηλή ευαισθησία τους μπορεί να σχετίζεται με το χαμηλό βακτηριακό φορτίο των ασυμπτωματικών ασθενών, εντούτοις χαμηλή ευαισθησία της τάξης 22,7%-37,7% παρατηρήθηκε και με την εφαρμογή αυτών σε ενδοτραχηλικά επιχρίσματα συμπτωματικών ασθενών (Nunez-Foreno, et al, 2016). Συμπερασματικά, οι RDTs που ανιχνεύουν αντιγόνο δεν συνιστώνται για έλεγχο

χλαμυδίων, τόσο σε ασυμπτωματικούς (προληπτικό έλεγχο), όσο και σε συμπτωματικούς ασθενείς (Meye, 2016; Kelly, et al, 2017).

Μοριακή διάγνωση

Οι κλασικές μέθοδοι για τη διάγνωση των CT λοιμώξεων παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα, όπως η χαμηλή ευαισθησία, η απαίτηση «επεμβατικών» δειγμάτων, ο μεγαλύτερος χρόνος διεκπεραίωσης, ολοκλήρωσης της εξέτασης και αναφοράς του αποτελέσματος καθώς και το σχετικά υψηλό κόστος. Επίσης, αυτές οι εξετάσεις μπορεί να παράγουν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα, τα οποία με τη σειρά τους μπορούν να οδηγήσουν σε εξάπλωση λοιμώξεων και αύξηση των επιπλοκών. Αυτοί οι περιορισμοί υποδεικνύουν την ανάγκη ανάπτυξης δοκιμασιών με υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν είτε ως τυπικά αυτόνομα εργαλεία αναφοράς είτε σε συνδυασμό με άλλες παραδοσιακές μεθόδους. Η εισαγωγή αυτών των μεθόδων οδήγησε σε ένα δραστικό άλμα στη διάγνωση της CT λοίμωξης, επιτρέποντας την καλύτερη αναγνώριση των περιστατικών, προσυμπτωματικών και συμπτωματικών, τη διαχείριση και θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών (Shetty, et al, 2021).

Μέθοδοι υβριδισμού νουκλεϊκών οξέων

Οι εμπορικά διαθέσιμες μέθοδοι υβριδισμού νουκλεϊκών οξέων (Nucleic Acid Hybridization, NAH), βασίζονται κυρίως στον υβριδισμό DNA-RNA και έχουν χρησιμοποιηθεί σε πιο εξειδικευμένα εργαστήρια, με το πιο συχνά εφαρμοσμένο κιτ της PACE 2 (Gen-Probe, San Diego, CA). Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί έναν ανιχνευτή DNA χημειοφωταύγειας που υβριδοποιείται με μια ειδική για το είδος αλληλουχία του χλαμυδιακού 16S rRNA. Νεότερης γενιάς PACE είναι αυτό που ανιχνεύει ταυτόχρονα τόσο τα *Chlamydia trachomatis* όσο και τη *Neisseria gonorrhoeae* σε ένα μόνο δείγμα (Malhotra, et al, 2013). Επίσης, άλλο τεστ είναι το Hybrid Capture II (Digene Corporation, ΗΠΑ), που χρησιμοποιεί ένα στοιχείο ενίσχυσης σήματος, έτσι ώστε η ευαισθησία να μπορεί να αυξηθεί (Chernesky, et al, 2006; Chernesky, et al, 2017). Αυτές οι σχετικά γρήγορες, απλές δοκιμασίες είναι κατάλληλες για την εφαρμογή σε μεγάλο όγκο δειγμάτων. Συγκριτικά εντούτοις με τις

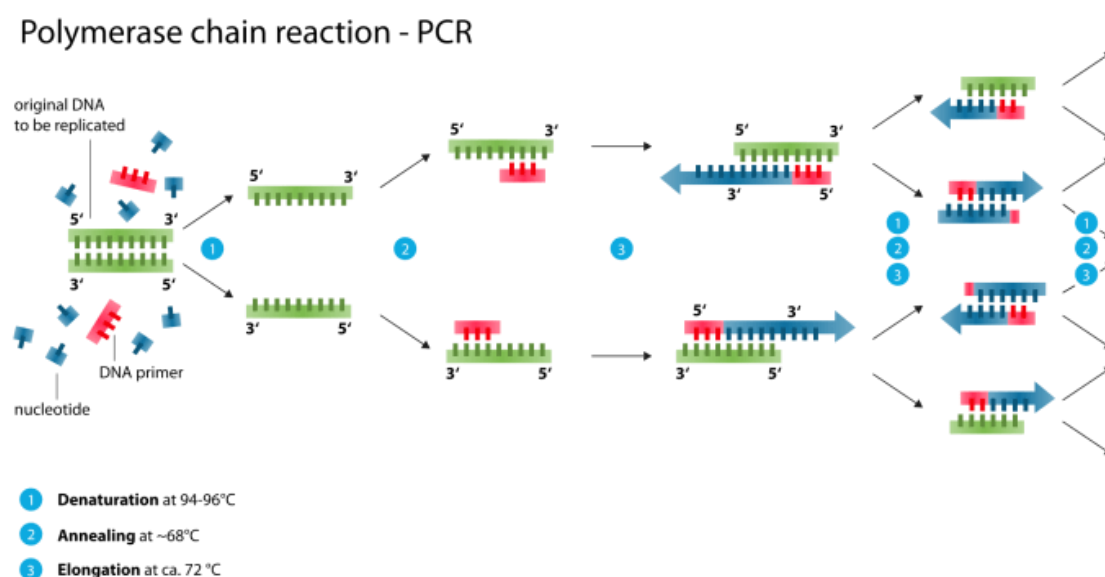
μεθόδους πολλαπλασιασμού του DNA, φαίνεται να διαθέτουν χαμηλότερη ευαισθησία (Black, et al, 2002).

Μέθοδοι πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού - NAATs (Nucleic Acid Amplification Tests)

Η ανάπτυξη τεχνικών ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος (NAAT) έχει θεωρηθεί ως μια σημαντική ανακάλυψη στη διάγνωση CT και έχει μεταμορφώσει εντελώς το διαγνωστικό πεδίο αυτών των λοιμώξεων. Οι μεθοδολογίες NAATs μπορούν να ανιχνεύσουν χλαμυδιακό DNA ή RNA με βάση την τεχνολογία ενίσχυσης και έχουν σχεδόν καταφέρει να αντικαταστήσουν τις μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας, ενώ αναφέρονται ως το gold standard (μέθοδος αναφοράς) στη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων. Έχουν υψηλή ευαισθησία, καθώς είναι αρκετά αποτελεσματικές για να ανιχνεύσουν την παρουσία μιας μοναδικής νουκλεϊνικής αλληλουχίας στο κλινικό δείγμα και είναι ταυτόχρονα εξαιρετικά ειδικές (Papp, et al, 2014).

Ο κύριος ρόλος των τεχνολογιών NAAT στη διάγνωση των χλαμυδίων εκτιμήθηκε με την ανάπτυξη τεχνικών αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και αλυσιδωτής αντίδρασης λιγάσης (LCR). Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) αποτελεί την ευρύτερα γνωστή δοκιμή ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων. Περιγράφηκε από τον Kary Banks Mullis το 1983 (Mullis and Faloona, 1987). Χρησιμοποιεί τους εκκινητές, δύο σχεδιασμένες ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες, συμπληρωματικές με περιοχές DNA του οργανισμού στόχου. Εφαρμόζονται υψηλές θερμοκρασίες, μέσω των οποίων αποδιατάσσεται η διπλή έλικα του DNA στις συγκεκριμένες περιοχές, καθιστώντας τις προσβάσιμες στους εκκινητές, οι οποίοι προσδένονται στα άκρα της αλληλουχίας-στόχου, οριοθετώντας το τμήμα του DNA που θα πολλαπλασιασθεί. Τελικά, η θερμοσταθερή DNA πολυμεράση Taq αντιγράφει τους δύο κλώνους. Η αντίδραση συνίσταται από κυκλικές επαναλήψεις και περιλαμβάνει συνοπτικά τα τρία στάδια, της αποδιάταξης και του διαχωρισμού της δίκλωνης αλυσίδας του DNA σε υψηλή θερμοκρασία, του υβριδισμού και της σύνδεσης των ολιγονουκλεοτιδίων με τις συμπληρωματικές περιοχές του DNA-στόχου σε χαμηλότερη θερμοκρασία και τέλος της επιμήκυνσης των 3' άκρων των ολιγονουκλεοτιδίων από τη θερμοανθεκτική DNA πολυμεράση Taq και τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας. Τα τρία βήματα συνιστούν έναν κύκλο PCR. Τελικά, τα μόρια DNA που φέρουν την αλληλουχία-στόχο

διπλασιάζονται. Κατόπιν, η διεργασία επαναλαμβάνεται και τα μόρια DNA πολλαπλασιάζονται. Το νέο DNA συντίθεται με κατεύθυνση 5'-3' και η διαδικασία ολοκληρώνεται στον πρώτο κύκλο, με τις αλυσίδες να χρησιμοποιούνται και στο δεύτερο κύκλο, ως πρότυπα (Εικόνα 13). Η διεργασία επαναλαμβάνεται συνήθως για αρκετούς κύκλους, συνθέτοντας εκατομμύρια αντίγραφα της αλληλουχίας-στόχου (Black, et al, 1997).



Εικόνα 13: Τα στάδια της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης.

<https://microbeonline.com>

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης συνιστά την πλέον εφαρμοζόμενη μοριακή διαδικασία ανίχνευσης των λοιμώξεων από τα παθογόνα *Mycoplasma*, *Ureaplasma* και *Chlamydia*. Χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα, τόσο στη μοριακή επιδημιολογία όσο και για διαγνωστικούς σκοπούς. Η τεχνική της PCR πλεονεκτεί έναντι των κλασικών μεθόδων, διακρίνεται από ιδιαίτερη ευαισθησία, ενώ είναι γρήγορη με τα αποτελέσματά της άμεσα διαθέσιμα (Waites, et al, 2005).

Το πρώτο τεστ PCR που εγκρίθηκε το 1993 από τον FDA (Food and Drug Administration) ήταν το Amplicor (Roche Molecular Systems, Incorporated, Branchburg, NJ), για δείγματα ενδοτραχήλου σε γυναίκες, ουρηθρικό επίχρισμα και

ούρα σε άνδρες. Η τεχνική εμφάνισε υψηλότερη ευαισθησία σε σύγκριση με τις μεθόδους καλλιέργειας καθώς και με τις μη καλλιεργητικές (Dyck, et al, 2001; Livengood and Wrenn, 2001). Ωστόσο, η παρουσία αναστολέων σε κλινικά δείγματα και ο κακός χειρισμός των δειγμάτων έχει βρεθεί ότι μεταβάλλει την απόδοση αυτής της τεχνικής PCR. Το 1995, η LCR πήρε έγκριση από τον FDA για διαγνωστική χρήση. Η δοκιμασία LCx (Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill), μια δοκιμασία που βασίζεται σε ολιγονουκλεοτιδικό ανιχνευτή, χρησιμοποιεί δύο ανιχνευτές που συνδέονται όταν γειτνιάζουν μεταξύ τους και υβριδοποιούνται σε έναν κλώνο του DNA στόχου. Η αξιολόγηση αυτής της μεθόδου έδειξε καλή ευαισθησία και ειδικότητα σε σύγκριση με την κυτταροκαλλιέργεια, καθιστώντας την ένα χρήσιμο εργαλείο για τον έλεγχο των ουρογεννητικών λοιμώξεων (Schachter, et al, 1994; Gaydos, et al, 1998; Gaydos, et al, 2013). Η PCR και η LCR επιδεικνύουν σχεδόν παρόμοια αποτελέσματα όταν χρησιμοποιούνται στη διάγνωση των CT λοιμώξεων και θεωρούνται ως μέθοδοι αναφοράς για τον έλεγχο και την επιβεβαίωση των λοιμώξεων (de Barbeyrac, et al, 1995). Εντούτοις, παρά την διαγνωστική τους απόδοση, η εμφάνιση της σουηδικής γενετικής παραλλαγής το 2006 (*C. trachomatis* στέλεχος E/SW2) δεν ανιχνεύθηκε από ορισμένα εμπορικά CT NAATs λόγω διαγραφής στην περιοχή-στόχο αυτών των δοκιμασιών. Η χρήση διπλού στόχου ήταν μια σημαντική βελτίωση των NAAT, επιτρέποντας την ανίχνευση νέων παραλλαγών με διαγραφές ή ανασυνδιασμό σε μία από τις περιοχές-στόχους (Möller, Pedersen and Persson, 2010).

Ο συνδυασμός των NAATs με αυτόματη εκχύλιση του νουκλεϊκού οξέος, συμβάλλει στην λήψη των αποτελεσμάτων μέσα σε λίγες ώρες. Η διαγνωστική ευαισθησία τους ενισχύθηκε με τη χρήση μαγνητικών σφαιριδίων για την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων σε μεγαλύτερη ποσότητα και καλύτερη ποιότητα (Chernesky, et al, 2006).

Όλα τα κλινικά δείγματα ουρογεννητικού μπορούν να ελεγχθούν με NAATs. Τα εμπορικά NAATs είναι εγκεκριμένα από τον FDA για έλεγχο σε δείγματα ούρων πρώτου ρεύματος, ουρηθρικά, τραχηλικά επιχρίσματα, και τα περισσότερα από αυτά επίσης για κολπικά επιχρίσματα (Papp, et al, 2014). Η λοίμωξη από *C. trachomatis* σε άνδρες που έχουν σεξουαλική επαφή με άλλους άνδρες (MSM) εντοπίζεται συχνά στο ορθό ή στο φάρυγγα χωρίς να προκαλεί συμπτώματα. Η πλειονότητα αυτών των λοιμώξεων θα υποεκτιμώνταν κατά τον έλεγχο μόνο δειγμάτων ούρων, για αυτό απαιτείται ο πλήρης έλεγχος και άλλων δειγμάτων, όπως φαρυγγικών ή πρωκτικών επιχρισμάτων, για τη διάγνωση (Meye, 2016). Συνήθως, τα εμπορικά NAATs δεν είναι

εγκεκριμένα για τον έλεγχο δειγμάτων μη ουρογεννητικής προέλευσης, αλλά έχει αποδειχθεί σε μελέτες ότι και σε αυτά τα δείγματα η ανίχνευση με μεθόδους NAATs των χλαμυδίων υπερτερεί της κυτταροκαλλιέργειας ή της ανίχνευσης αντιγόνου (Ota, et al, 2009).

Μελέτες έχουν δείξει την αποτελεσματικότητά των NAATs στην ανίχνευση CT σε δείγματα αυτοσυλλογής. Καθώς η πλειονότητα αυτών των λοιμώξεων είναι ασυμπτωματική, η συλλογή μη επεμβατικών δειγμάτων έχει αποδειχθεί ευεργετική για προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου. Σχετικά με την απόδοση της μοριακής ανίχνευσης των *C.trachomatis* χλαμυδίου με NAAT σε ένα αυτοσυλλεγόμενο δείγμα σε άνδρες έναντι του ουρηθρικού επιχρίσματος που συλλέχθηκε από τον κλινικό ιατρό ή/και του δείγματος ούρων πρώτου ρεύματος, τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα αποτελέσματα από την NAAT στο δείγμα αυτοσυλλογής ήταν συγκρίσιμα με τα άλλα ουρογεννητικά δείγματα (Dize, et al, 2016; Chernesky, et al, 2017; Ferrero, et al, 2017; Berry and Stanley, 2017). Η αναφερόμενη ευαισθησία και η ειδικότητα του επιχρίσματος αυτοσυλλογής ήταν 91,1% και 99,2% αντίστοιχα, με συνολική συμφωνία 97,7% με το ουρηθρικό επίχρισμα που συλλέχθηκε από τον κλινικό ιατρό και 90,4% με το δείγμα ούρων πρώτου ρεύματος (Ferrero, et al, 2017). Το 90% μάλιστα των ανδρών αξιολόγησε τη λήψη αυτού του δείγματος εύκολη (Chernesky, et al, 2017). Έτσι διαφαίνεται ότι η αυτοσυλλογή δειγμάτων για CT NAAT σε άνδρες θα μπορούσε να διευκολύνει περαιτέρω τις προσπάθειες προσυμπτωματικού ελέγχου, ειδικά εάν ανιχνεύονται περισσότερες λοιμώξεις με την λήψη και τον έλεγχο αυτών των δειγμάτων αυτοσυλλογής συγκριτικά με τα ούρα πρώτου ρεύματος. Από την άλλη, στις γυναίκες προτιμώνται κολπικά επιχρίσματα που συλλέγονται από τις ίδιες ή από τον κλινικό ιατρό για τον έλεγχο με τεχνικές NAAT (Shetty, et al, 2021). Μάλιστα σε μια μελέτη που ανέλυσε επιχρίσματα ούρων, κολπικού και τραχηλικού επιχρίσματος που ελήφθησαν ταυτόχρονα από ασυμπτωματικές γυναίκες, έδειξε ότι το ποσοστό ανίχνευσης NAAT ήταν υψηλότερο σε κολπικά επιχρίσματα που είχαν συλλεχθεί από τις ίδιες (Schachter, et al, 2003).

Μετά την PCR και την LCR, έχουν αναπτυχθεί νεότερες μοριακές τεχνολογίες για τη διάγνωση CT, οι οποίες περιλαμβάνουν τη δοκιμασία ενίσχυσης με μεσολάβηση μεταγραφής (TMA), το APTIMA Combo 2 και το ProbeTec που βασίζεται σε ενίσχυση μετατόπισης κλώνου. Η δοκιμασία TMA, η οποία εγκρίθηκε το 2005 από τον FDA για τον έλεγχο χλαμυδίων σε δείγματα γεννητικού και ούρα, στοχεύει κατά του

ριβοσωμικού RNA, και λειτουργεί ως ισοθερμικό σύστημα χρησιμοποιώντας ενζυμική ενίσχυση του στόχου και ανίχνευση χημειοφωταύγειας. Έχει αναφερθεί ευαισθησία 94,2 και 94,7% και ειδικότητα 97,6 και 98,9% κατά τον έλεγχο ενδοτραχηλικών επιχρισμάτων και ούρων πρώτου ρεύματος αντίστοιχα (Gaydos, et al, 2019). Σε μια συγκριτική μελέτη που διεξήχθη από τους Lowe P et al., ο προσδιορισμός APTIMA Combo 2 έδειξε πολύ υψηλή ευαισθησία (100%) και ειδικότητα (> 99%) σε σύγκριση με τον προσδιορισμό CT/NG Amplicor (Shetty, et al, 2021).

Τέλος, τεχνικές ισοθερμικής ενίσχυσης, όπως βρόχος -η μεσολαβούμενη ισοθερμική ενίσχυση (LAMP) ή η ενίσχυση πολυμεράσης ανασυνδυασμού (RPA) είναι περισσότερο ταχείες από την PCR και μπορεί να επεκτείνουν περαιτέρω την «παρά την κλίνη» του ασθενούς χρήση των NAATs (Meye, 2016).

Ταχείες μέθοδοι μοριακής διάγνωσης

Τα μοριακά ταχέα διαγνωστικά τεστ (RDT) που χρησιμοποιούν τεχνικές πολλαπλασιασμού του νουκλεϊκού οξέος έχουν υψηλή διαγνωστική ακρίβεια, συγκρίσιμη με τα τυπικά NAAT. Μία τέτοια εμπορικά διαθέσιμη NAAT που έχει εγκριθεί από το FDA είναι το Cepheid Xpert CT/NG. Πρόκειται για ένα POCT που βασίζεται σε PCR πραγματικού χρόνου, πραγματοποιείται σε κλειστό σύστημα, ολοκληρώνεται σε περίπου 90 λεπτά και μπορεί να διενεργηθεί παρά την κλίνη του ασθενούς. Μετά την εισαγωγή του κλινικού δείγματος σε ένα cartridge (φυσίγγιο), τα επόμενα βήματα της απομόνωσης νουκλεϊκού οξέος, της ενίσχυσης και της ανίχνευσης των προϊόντων PCR γίνονται με πλήρως αυτοματοποιημένη διαδικασία. Το Xpert CT/NG μπορεί να παρέχει αποτελέσματα υψηλής ακρίβειας, συγκρίσιμα με τα NAAT και έχει αποδειχθεί ότι είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό στη δοκιμασία δειγμάτων ουρογεννητικού συστήματος, τόσο από συμπτωματικό όσο και από ασυμπτωματικό πληθυσμό (Gaydos, et al, 2013). Εξίσου καλή απόδοση καταδείχθηκε κατά τον έλεγχο δειγμάτων εξωγεννητικών οργάνων (Shetty, et al, 2021).

5.1.3.2. Έμμεσοι μέθοδοι διάγνωσης χλαμυδιακών λοιμώξεων

Ορολογικός έλεγχος-Αναζήτηση αντισωμάτων

Οι ορολογικές μέθοδοι αποτελούν χρήσιμο εργαλείο, ιδίως σε περιπτώσεις επιδημιολογικών μελετών. Ο έλεγχος για την αναζήτηση αντισωμάτων έναντι χλαμυδίων του τραχώματος, εντούτοις, δεν είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για τη διάγνωση εντοπισμένων και οξέων επιθηλιακών λοιμώξεων του κατώτερου γεννητικού συστήματος. Αυτό οφείλεται στο ότι τα αντισώματα καθίστανται ανιχνεύσιμα αρκετές εβδομάδες μετά την αρχική μόλυνση και έναρξη της λοίμωξης, οι τίτλοι των αντισωμάτων μπορεί να είναι χαμηλοί και μη ανιχνεύσιμοι και επιπλέον πολλές ορολογικές δοκιμασίες δεν μπορούν να διαφοροποιήσουν τα αντισώματα έναντι διαφορετικών ειδών χλαμυδίων. Η παρουσία επίσης των αντισωμάτων IgM, όπως αναμένεται στις οξείες λοιμώξεις, δεν είναι πάντα εμφανής και η εξέταση ενός μόνο δείγματος με ELISA αποτυγχάνει να διακρίνει μεταξύ προηγούμενης και παρούσας λοίμωξης. Συμπερασματικά, οι ορολογικές δοκιμασίες μειονεκτούν σε σχέση με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις, κυρίως λόγω των εμφανιζόμενων διασταυρούμενων αντιδράσεων, αλλά και λόγω της αργής παραγωγής ή/και παραμονής των αντισωμάτων, γεγονός το οποίο καθιστά δυσχερή τη διάκριση ανάμεσα στην πρόσφατη και στην παρελθούσα λοίμωξη (Bébéar and de Barbeyrac, 2009).

Ο ορολογικός έλεγχος μπορεί να είναι χρήσιμος στη διάγνωση χρόνιων και διεισδυτικών λοιμώξεων, όπως της χρόνιας πυελικής φλεγμονώδους νόσου (PID, και του αφροδίσιου λεμφοκοκκιώματος (LGV). Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις, τα βακτήρια είναι μη ανιχνεύσιμα σε επιχρίσματα ή στα ούρα και τα ορολογικά δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση της αιτιολογικής λοίμωξης από χλαμύδια. Καθώς οι επίμονες λοιμώξεις από CT και οι επιπλοκές της ανιούσας λοίμωξης συνδέονται συνήθως με παρουσία και αύξηση των αντισωμάτων, ο αρνητικός ορολογικός έλεγχος έχει αυξημένη αρνητική προγνωστική αξία και πιθανότατα αποκλείει τη συμμετοχή των χλαμυδίων. Από την άλλη πλευρά, το θετικό αποτέλεσμα σε ορολογικό έλεγχο δεν αποτελεί σαφή απόδειξη λοίμωξης από χλαμύδια (Domeika, et al, 2009; Meye, 2016).

Μερικές από τις ορολογικές εξετάσεις που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση των χλαμυδιακών λοιμώξεων είναι ο μικροανοσοφθορισμός (Microimmunofluorescence,

MIF) και η ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA).

Η δοκιμασία μικροανοσοφθορισμού (MIF) χαρακτηρίστηκε μέθοδος αναφοράς για την αναζήτηση αντισωμάτων έναντι των χλαμυδίων, επειδή θεωρήθηκε ως η πιο ευαίσθητη ορολογική δοκιμασία, η οποία ανίχνευε αντισώματα έναντι ειδών χλαμυδίων και οροτύπων. Η MIF είναι τεχνική χρονοβόρα και εργώδης και η ανάγνωση των σημάτων φθορισμού είναι επιρρεπής σε υποκειμενική αξιολόγηση. Έτσι δεν έχει καθιερωθεί στη διαγνωστική πρακτική λόγω τεχνικών περιορισμών και κόστους (Bax, et al., 2003).

Ως εκ τούτου, οι ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες (EIA) και η ανοσοαποτύπωση χρησιμοποιούνται σήμερα πιο συχνά, συγκριτικά με τη MIF, για την ανίχνευση αντισωμάτων σε χλαμυδιακές λοιμώξεις (Forsbach-Birk, et al, 2010). Η ερμηνεία των ορολογικών αποτελεσμάτων επηρεάζεται από τη διασταυρούμενη αντίδραση σε είδη χλαμυδίων παθογόνων για τον άνθρωπο καθώς και μη παθογόνων περιβαλλοντικών ειδών (ψευδώς θετικά αποτελέσματα). Ορισμένες EIA που ανιχνεύουν αντισώματα έναντι του αντιγόνου LPS δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρέως λόγω της μη διαφοροποίησης μεταξύ των διαφορετικών ειδών χλαμυδίων. Ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) των χλαμυδίων θεωρείται ένα ειδικό του γένους των χλαμυδίων αντιγόνο, αλλά, όπως και με τις ανοσοδοκιμασίες ανίχνευσης αντιγόνου, έχει παρατηρηθεί διασταυρούμενη αντίδραση με αντισώματα έναντι LPS άλλων Gram-αρνητικών βακτηρίων (Haralambieva, et al, 2001). Η διαγνωστική απόδοση βελτιώθηκε με τη χρήση ειδικών για το είδος πρωτεϊνών ή πεπτιδίων. Ανοσογόνες πρωτεΐνες του *C. trachomatis* που ταυτοποιήθηκαν με 2D PAGE (Forsbach-Birk, et al, 2010) χρησιμοποιήθηκαν μαζί με ανάλογες πρωτεΐνες του *C. pneumoniae* και του *C. psittaci* σε μία εμπορική δοκιμασία για να γίνει εφικτή και διακριτή η διαφορική αξιολόγηση των αντισωμάτων Chlamydia.

Πρόσφατα, αναπτύχθηκε μια συστοιχία πρωτεϊνών, που περιέχει πρωτεΐνες που αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των γνωστών «ανοιχτών αναγνωστικών πλαισίων» (ORF) του γονιδιώματος των χλαμυδίων. Χρησιμοποιώντας αυτή τη συστοιχία, εντοπίστηκαν 27 ανοσοκυρίαρχες πρωτεΐνες που αντιδρούσαν με >50% των ανθρώπινων ορών από ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη CT (Wang, et al, 2010). Σε μια άλλη μελέτη, η συστοιχία πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση του ορολογικού προφίλ αντισωμάτων ασθενών με υπογονιμότητα και φυσιολογική γονιμότητα. Ταυτοποιήθηκαν πρωτεΐνες που αντιδρούσαν μόνο με ορούς από ασθενείς

με υπογονιμότητα, όπως και με ορισμένους ορούς από ασθενείς με οξεία λοίμωξη. Οι τελευταίοι οροί, εντούτοις, εμφάνισαν αντίδραση και με άλλες πρωτεΐνες που δεν παρατηρούνται σε ορούς ασθενών με χρόνιες λοιμώξεις. Αυτά τα αποτελέσματα είναι πολλά υποσχόμενα, υποδεικνύοντας διαφορετική αντιδραστικότητα αντισωμάτων σε οξεία και χρόνια λοίμωξη CT που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να χαρακτηρίσει συγκεκριμένα πάνελ αντισωμάτων, ως πιθανούς δείκτες για διαφορετικά στάδια μόλυνσης (Budrys, et al, 2012).

5.2. *Mycoplasma genitalium* και *Ureaplasma spp*

5.2.1. Καλλιεργητικές μέθοδοι

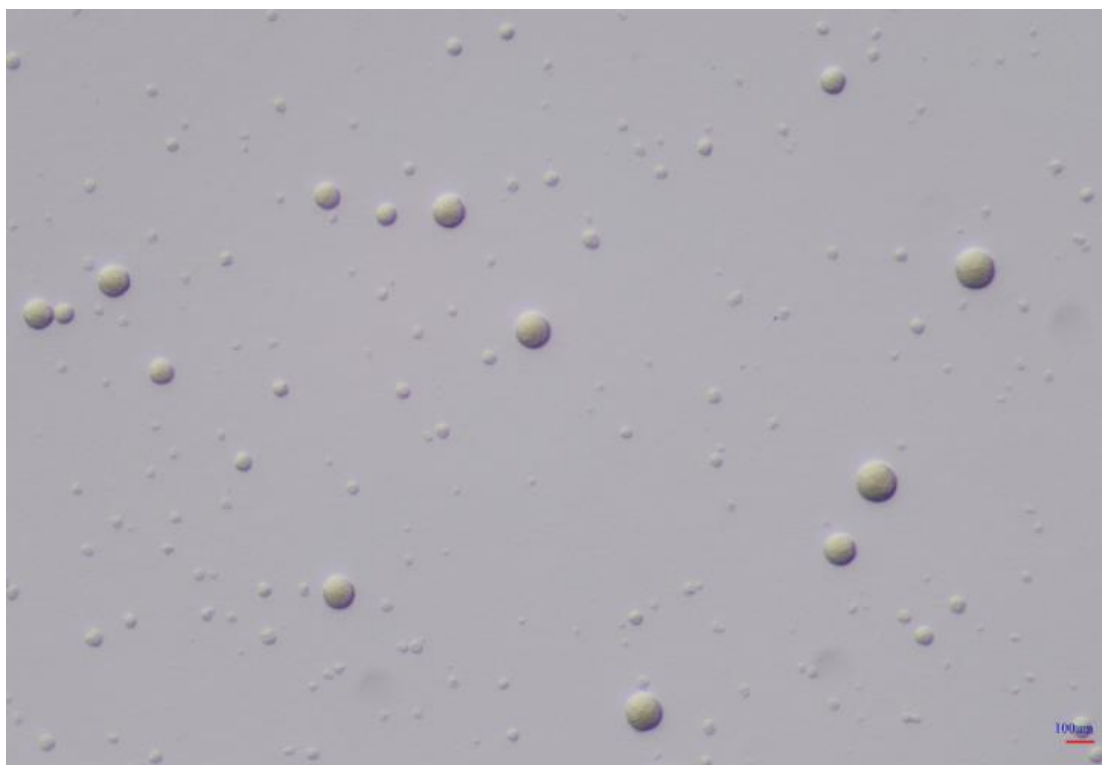
Η καλλιέργεια του κλινικού δείγματος συνιστά την κυριότερη εργαστηριακή διαδικασία για τον εντοπισμό της αιτίας της λοίμωξης και την επιλογή της κατάλληλης αντιμικροβιακής θεραπείας. Η καλλιέργεια στοχεύει στην απομόνωση και στην ταυτοποίηση του μικροβίου και η έκβασή της εξαρτάται από τον τρόπο λήψης και μεταφοράς του δείγματος, την καταλληλότητά του, την επιλογή των καλλιεργητικών θρεπτικών μέσων είτε κοινής είτε ειδικής χρήσης, την εφαρμογή των απαραίτητων ελέγχων ποιότητας και την τήρηση των βασικών κανόνων καλλιέργειας.

Κατά την καλλιέργεια, πραγματοποιείται εμβολιασμός του δείγματος στην επιφάνεια του θρεπτικού μέσου στο τρυβλίο για την απομόνωση των παθογόνων. Η επώαση διενεργείται σε κλίβανο, σε θερμοκρασία 35-37C και χρόνο 18-24 ώρες, ενώ σε περιπτώσεις μικροοργανισμών με βραδεία πορεία ανάπτυξης (π.χ. μυκοβακτηρίδια) η διάρκεια εκτείνεται σε ημέρες ή εβδομάδες.

Η μέθοδος του άμεσου εμβολιασμού του δείγματος στο μέσο SP4 που χρησιμοποιήθηκε από τον Tully και τους συναδέλφους του για τη λήψη των πρώτων κλινικών απομονώσεων του *M. genitalium* από επιχρίσματα ανδρικής ουρήθρας (Tully et al, 1981), αποδείχθηκε μη ευαίσθητη, οδηγώντας στην ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν οι κυτταρικές καλλιέργειες Vero που εμβολιάστηκαν με δείγματα και χρησιμοποιήθηκε PCR για την παρακολούθηση του βακτηριακού πολλαπλασιασμού (Hamasuna, Osada and Jensen, 2007). Όταν η PCR

έδειξε στοιχεία πολλαπλασιασμού, η κυτταρική καλλιέργεια υποκαλλιεργήθηκε σε μέσο μυκοπλάσματος. Το εργαστήριο UAB Diagnostic Mycoplasma Laboratory ήταν επιτυχές στην απομόνωση του *M. genitalium* από δείγματα ούρων χρησιμοποιώντας μια τροποποίηση της άμεσης μεθόδου του Tully και των συνεργατών του (1981), εμβολιάζοντας συμπτωκνωμένα ούρα σε ζωμό SP4, επωάζοντας το δείγμα για αρκετές εβδομάδες και πραγματοποιώντας περιοδικές τυφλές υποκαλλιέργειες σε ζωμό και σε άγαρ SP4. Έχουν πραγματοποιηθεί επιτυχείς καλλιέργειες σε δείγματα ούρων από άτομα που είχαν υψηλό φορτίο *M. genitalium* όπως προσδιορίστηκε με ποσοτική PCR (qPCR). Ωστόσο, δεδομένης της δυσκολίας στην άμεση καλλιέργεια, προσαρμόστηκε από ορισμένους ερευνητές, μια μέθοδος Vero cell-PCR προκειμένου να ληφθούν περισσότερα κλινικά απομονωμένα στελέχη. Αυτή η τεχνική ενισχυμένης καλλιέργειας εξακολουθεί να είναι πολύ χρονοβόρα, απαιτώντας αρκετές εβδομάδες για τη λήψη αποικιών σε άγαρ, όπως φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί όμως ήταν μία τεχνική αρκετά δαπανηρή. Αν και η καλλιέργεια δεν είναι χρήσιμη για διαγνωστικούς σκοπούς, παίζει ρόλο στην απόκτηση απομονώσεων για δοκιμές και έρευνα αντιμικροβιακής αντοχής. Μόλις τα κλινικά απομονωμένα στελέχη έχουν αναπτυχθεί σε άγαρ, μπορούν να διατηρηθούν για παρατεταμένες περιόδους καταψύχοντάς τα στους -80°C σε κατάλληλο μέσο μεταφοράς ή μέσο καλλιέργειας SP4. Η αποθήκευση στους -20°C δεν συνιστάται καθώς μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια βιωσιμότητας (Waites, et al, 2023).

Η αλληλουχία των τεχνικών, οι οποίες οδηγούν στην ταυτοποίηση του αναπτυσσόμενου στα θρεπτικά υλικά πρωτοκαλλιέργειας παθογόνου μικροοργανισμού αφορά: τη μακροσκοπική μελέτη των αποικιών και των μεταβολών της μορφολογίας τους στο θρεπτικό υλικό για τον εντοπισμό της αποικίας του παθογόνου μικροβίου, τη μικροσκοπική μελέτη του μικροοργανισμού και της συμπεριφοράς του στη Gram χρώση και την ανακαλλιέργεια της ύποπτης αποικίας σε ένα εκλεκτικό και ένα μη εκλεκτικό θρεπτικό υλικό με αραίωση στο άγαρ, με απόρροια τη λήψη μεμονωμένων αποικιών, οι οποίες θα χρησιμοποιηθούν στις ταυτοποιητικές δοκιμές, αλλά και για το διαχωρισμό των αποικιών από τυχόν συνυπάρχοντα μικρόβια.



Εικόνα 14: Σφαιρικές αποικίες *M.genitalium* (G37) που αναπτύσσονται σε άγαρ SP4 μετά από 10 ημέρες επώασης στους 37 C⁰ σε 5% CO₂ στον αέρα. Μεγέθυνση χ100 (Waites, et al, 2023).

Δυστυχώς, εντοπίζονται παράγοντες που περιορίζουν την καθολική εφαρμογή της καλλιέργειας ή δυσχεραίνουν τη διάγνωση. Ειδικότερα, υφίστανται μικροοργανισμοί οι οποίοι αναπτύσσονται αργά, ενώ απαιτείται άμεση διάγνωση καθώς εμπλέκονται σε σοβαρές ασθένειες, όπως το *Mycobacterium tuberculosis* που προκαλεί τη φυματίωση (Huard, et al, 2003) ή μικροοργανισμοί οι οποίοι δεν αναπτύσσονται στα κοινά υλικά και χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερες θρεπτικές απαιτήσεις, όπως η *Kingella kingae*. Ακόμη, η χορήγηση αντιμικροβιακής θεραπείας οδηγεί συχνά σε αδυναμία απομόνωσης του παθογόνου με καλλιέργεια, ενώ η διάγνωση ιογενών λοιμώξεων είναι αδύνατη.

Τα μικρόβια *Mycoplasma* και *Ureaplasma* αναπτύσσονται σε τεχνητά μέσα, υγρά ή στερεά, έχοντας ιδιαίτερες διατροφικές απαιτήσεις, ώστε να συνθέσουν την κυτταροπλασματική τους μεμβράνη. Το άγαρ A7 συνιστά στερεό θρεπτικό υλικό. Εμπεριέχει ζωμό σόγιας και τρυπτικάσης, ορό ίππου, υδροχλωρική L-κυστεΐνη, αστέρα θειικού μαγγανίου, εκχύλισμα μαγιάς, πενικιλίνη και ουρία σε pH 6 (Shepard and

Lunceford, 1976). Το κλινικό δείγμα ενοφθαλμίζεται στο θρεπτικό υλικό και επωάζεται για 48 ώρες σε κλίβανο 36C και 10% CO₂. Σε 2-4 ημέρες διενεργείται με οπτικό μικροσκόπιο έλεγχος τυχόν αποικιών. Οι αποικίες του μυκοπλάσματος είναι μικρές και άχρωμες, ενώ του ουρεοπλάσματος ποικίλων μεγεθών, στρογγυλές, κοκκώδεις και σκούρες, λόγω του διοξειδίου του μαγγανίου, το οποίο προκύπτει όταν η αμμωνία αντιδρά με τον εστέρα του θειικού μαγγανίου (Kotrotsiou, et al, 2010).

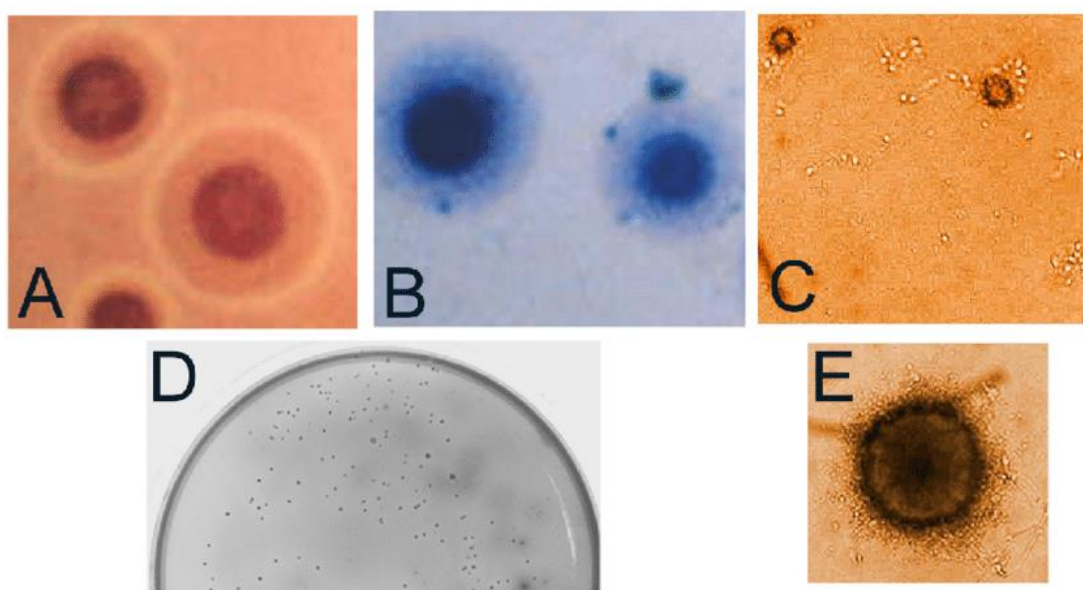
Τα δεδομένα μικρόβια δεν αναπτύσσονται σε τυπικά θρεπτικά μέσα, αλλά σε ειδικά υλικά, εμπλουτισμένα με ορό αίματος (Αρσένη, 1994).

Ο ρυθμός ανάπτυξης του μυκοπλάσματος είναι ιδιαίτερα αργός και κυμαίνεται περίπου από 30 έως 50 ημέρες. Φυσικά, δύναται να αυξηθεί κατόπιν επαναλαμβανόμενων ανακαλλιεργειών. Η ανάπτυξη του συγκεκριμένου στελέχους στα κοινά θρεπτικά μέσα καλλιέργειας είναι αδύνατη, διότι παρουσιάζει ευαισθησία στο οξικό θάλλιο. Αναπτύσσεται αναερόβια, σε συνθήκες θερμοκρασίας 37oC και CO₂ 5% σε κύτταρα Vero και σε άγαρ SP4 και σχηματίζει μικρές σχετικά αποικίες, βαθιά ριζωμένες στο καλλιεργητικό υλικό. (Jensen, Hansen and Lind, 1996; Tully, et al, 1981).



Εικόνα 15: Το άγαρ A7. <https://www.elitechgroup.com>

Τα μικρόβια *Ureaplasma parvum* και *Ureaplasma urealyticum* αναπτύσσονται σε pH 6-6,5 σε 1 έως 4 ημέρες στα θρεπτικά υλικά των μυκοπλασμάτων, σχηματίζοντας μικρές αποικίες της τάξης των 15-25μm χωρίς απλωτή περιφέρεια (Shepard, et al, 1974). Προσκολλώνται σε διάφορα κύτταρα, όπως στα ερυθροκύτταρα, στα επιθηλιακά κύτταρα της ουρήθρας και στα σπερματοζώαρια (Xiao, et al, 2010), με τη διαμεσολάβηση των πρωτεϊνών που εκφράζονται στην επιφάνεια του κυττάρου τους (Smith, Russel and Thirkell, 1994). Οι MBA συνιστούν μια σημαντική οικογένεια πρωτεϊνών της επιφάνειας δρώντας, τόσο ως πρωτεϊνικά αντιγόνα, όσο και ως μέσα ανάπτυξης διαγνωστικών αντιδραστηρίων (Kong, et al, 2000a; Kong, et al, 2000b; Xiao, et al, 2010). Συμμετέχουν ακόμη στο διαχωρισμό των οροτύπων, οδηγώντας σε 4 ορότυπους για το *Ureaplasma parvum* (UPA1, 3, 6, 14) (Kong, et al, 1999; Kong, et al, 2000a) και σε 10 ορότυπους για το *Ureaplasma urealyticum* (UUR2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13) (Harasawa and Kanamoto, 1999).



Εικόνα 16: Καλλιέργειες των μυκοπλασμάτων. <https://www.researchgate.net>

5.2.2. Ορολογικός έλεγχος

Πριν από τη διαθεσιμότητα της τεχνολογίας NAAT, έγιναν προσπάθειες να αναπτυχθούν ορολογικές δοκιμές ως έμμεσο μέσο ταυτοποίησης λοιμώξεων από *M. genitalium*, αλλά παρουσιάστηκαν προβλήματα λόγω των διασταυρούμενων αντιδράσεων των αντιδραστηρίων με το *M. pneumoniae*. Εκτός από τις ενζυμικές ανοσοδοκιμασίες, αναπτύχθηκε μια δοκιμασία μικροανοσοφθορισμού και γυναίκες με

σαλπιγγίτιδα. Αυτή η μέθοδος αποδείχθηκε ότι είναι γρήγορη, αναπαραγώγιμη, ευαίσθητη και ειδική, με λιγότερη διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με το *M. pneumoniae* από άλλες μεθόδους. (Waites, et al, 2023). Μια ορολογική δοκιμασία για το *M. genitalium* χρησιμοποιώντας μεμβρανικές πρωτεΐνες που σχετίζονται με λιπίδια (LAMPs) ως αντιγόνα χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με Western immunoblotting για την αξιολόγηση της ανοσοαντιδραστικότητας γυναικών που ήταν θετικές σε καλλιέργεια για *M. genitalium*. Συγκρίθηκαν ενζυμικά συνδεδεμένοι ανοσοπροσροφητικοί προσδιορισμοί (ELISAs) και προσδιορισμοί ανοσοστύπωσης PCR σε γυναίκες θετικές σε καλλιέργεια *M. genitalium* από 1 έως 3 χρόνια κλινικών επισκέψεων για να προσδιοριστεί η χρησιμότητα ανεξάρτητων διαγνωστικών στρατηγικών. Μέσα από αυτή τη διαδικασία, φάνηκε ότι ούτε η ELISA ούτε η PCR, μόνες τους ή σε συνδυασμό, παρέχουν την ευαισθησία που απαιτείται για να προβλεφθεί με σιγουριά η ύπαρξη βιώσιμων οργανισμών *M. genitalium* σε δείγματα του τραχήλου της μήτρας και του κόλπου. Επιπρόσθετα, οι θετικές στην καλλιέργεια γυναίκες εμφάνισαν μια σειρά αντισωμάτων απόκρισης στο *M. genitalium* με βάση τις αξιολογήσεις ELISA και ανοσοστύπωμα, υποδεικνύοντας την ανοσολογική ποικιλομορφία σε αυτόν τον πληθυσμό υψηλού κινδύνου (Baseman, et al, 2004). Η ανοσοστύπωση χρησιμοποιώντας ένα κλωνοποιημένο θραύσμα του C-τερματικού τμήματος της προσκολλητίνης MgPa ως αντιγόνου έχει χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της ορολογικής απόκρισης στο *M. genitalium* σε υπογόνιμες γυναίκες. Ωστόσο, με την ανάπτυξη των NAAT, οι ορολογικές δοκιμές για το *M. genitalium* δεν απέκτησαν ποτέ ευρεία χρήση και δεν υπάρχουν διαθέσιμες δοκιμασίες που έχουν εκκαθαριστεί από το FDA (Svenstrup, et al, 2008).

Οι ορολογικές δοκιμές στηρίζονται στις αντιδράσεις ανάμεσα στα αντιγόνα και στα αντισώματα. Εφαρμόζονται για την εκτίμηση του βαθμού ανοσίας του πληθυσμού κατόπιν λοίμωξης ή εμβολιασμού, αλλά και για διαγνωστικούς σκοπούς, ενώ εκτελούνται και σε περιπτώσεις αναζήτησης μικροβιακών αντιγόνων εφόσον είναι παρόντα τα αντισώματα. Θεμελιώδη αρχή των τεχνικών αυτών αποτελεί η ένωση αντιγόνου-αντισώματος και η οπτικοποίησή της, ενισχύοντας παράλληλα την ευαισθησία και την ειδικότητα. Ως αντιγόνο δύναται να λειτουργήσει το ίδιο το κύτταρο, το κυτταρικό τοίχωμα ή ουσίες που παράγονται και εκκρίνονται από το μικρόβιο, όπως τοξίνες και ένζυμα. Ως αντίσωμα λειτουργεί πάντοτε μια ανοσοσφαιρίνη.

Στην περίπτωση του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος ωστόσο, ο ορολογικός έλεγχος δε χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερη διαγνωστική αξία, καθώς τα αντισώματα εντοπίζονται και σε ασυμπτωματικούς φορείς (Αρσένη, 1994).

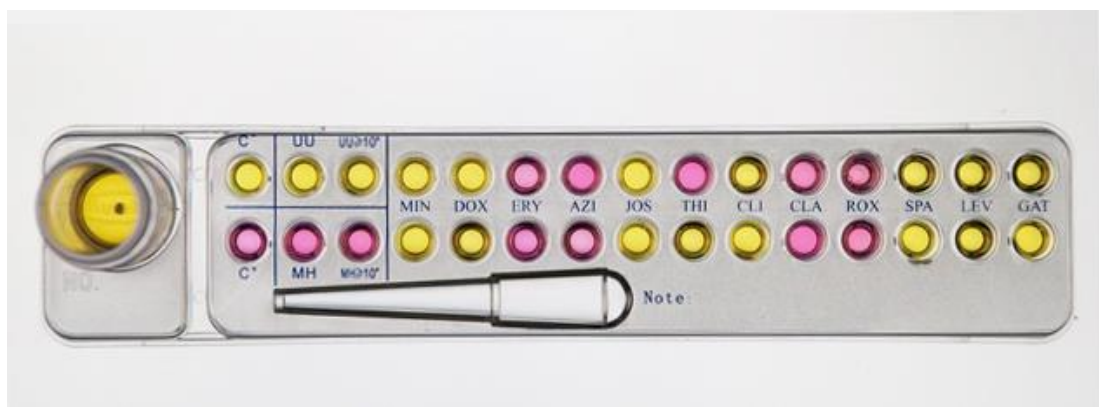
5.2.3. Μοριακές Τεχνικές

Το 1980 ήταν η δεκαετία που αναπτύχθηκαν ορισμένοι μη ενισχυμένοι ανιχνευτές DNA για το *M. genitalium*. Αμέσως μετά στις αρχές του 1990 εγκαταλείφθηκαν οι ανιχνευτές αυτοί καθώς εισήχθη μία περισσότερο ευαίσθητη τεχνολογία ανίχνευσης, η τεχνολογία NAAT, η οποία θεωρείται μία από τις πλέον συνιστώμενες μεθόδους για την ανίχνευση του *M. genitalium* στα κλινικά δείγματα.

5.2.4. Εμπορικές δοκιμασίες βιοχημικής ταυτοποίησης και μοριακής ανίχνευσης μυκοπλασμάτων

Στο εμπόριο κυκλοφορούν τυποποιημένες τεχνικές ανίχνευσης του μυκοπλάσματος και του ουρεοπλάσματος, απλές, πρακτικές και με επαναληψιμότητα. Διαθέτουν βοθρία, τα οποία περιέχουν εκλεκτικό καλλιεργητικό ζωμό, όπου αναπτύσσονται οι μικροοργανισμοί όταν βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση. Επιπρόσθετα, πλην της δυνατότητας ταυτοποίησης, διαθέτουν αντιμικροβιακά φάρμακα, με τον έλεγχο των οποίων μπορεί να χαρακτηριστεί το υπό διερεύνηση στέλεχος ως ευαίσθητο ή ανθεκτικό. Συναντώνται σε λυοφιλοποιημένη μορφή και συνήθως σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, διαθέτοντας όρια ευαισθησίας αντίστοιχα με των κοινών μικροοργανισμών. Τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων τεχνικών είναι συγκρίσιμα με αυτά των πρότυπων μεθόδων προσδιορισμού της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης του αντιβιοτικού. Οι εμπορικές συσκευασίες πλεονεκτούν κατά την εφαρμογή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική, εφόσον παρέχουν τη δυνατότητα ελέγχου μεμονωμένων στελεχών. Ακόμη, οι αναλογίες των υποστρωμάτων των βοθρίων και οι συγκεντρώσεις των φαρμάκων είναι προκαθορισμένες και έτοιμες για χρήση. Έτσι, ο παράγοντας «χειριστής» παρεμβάλλεται ελάχιστα, σε σύγκριση με τις μεθόδους αναφοράς, οι οποίες απαιτούν ιδιαίτερα καταρτισμένο εργαστηριακό προσωπικό (Pereyre, Bebear and Dupon, 2002).

Για την ανίχνευση του *Mycoplasma* και του *Ureaplasma* διατίθενται ποικίλες εμπορικές δοκιμασίες [Mycoplasma GU Screen (Bioplus)], [Mycoplasma IES (Autobio Diagnostics)], [Mycoplasma IST 2 (Biomerieux)], μέσω των οποίων επιτυγχάνεται, τόσο η ταυτοποίηση και η ποσοτικοποίηση των μικροοργανισμών, βάσει βιοχημικών αντιδράσεων, όσο και ο έλεγχος της ευαισθησίας τους στα αντιμικροβιακά (Εικόνα 17).

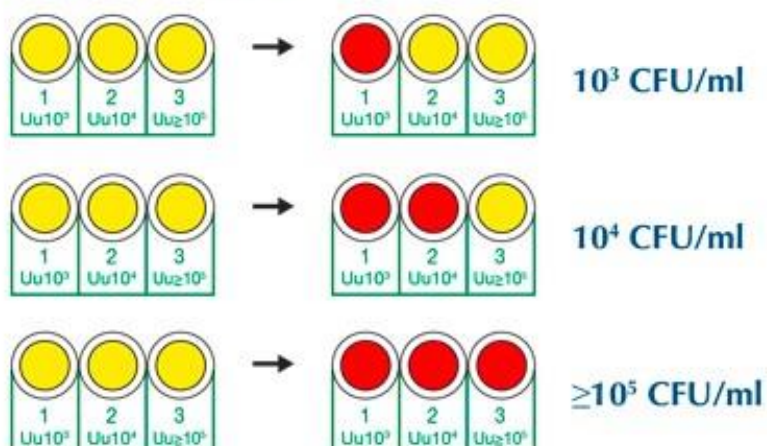




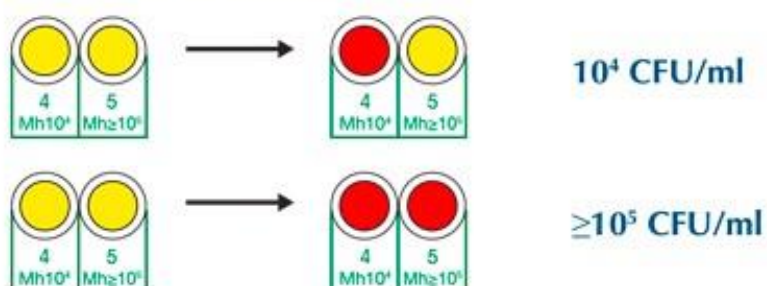
Εικόνα 17: Διάφορες διαθέσιμες εμπορικές δοκιμασίες ανίχνευσης μυκοπλάσματος και ουρεοπλάσματος. <https://www.biomerieux-diagnostics.com>; <http://www.biobest.com>; <https://www.medicalexpo.com>

Η ταυτοποίηση βασίζεται συνήθως σε βιοχημικές ιδιότητες των μυκοπλάσμάτων και ουρεοπλάσμάτων να διασπούν την αργινίνη και την ουρία αντίστοιχα. Με τη διάσπασή τους το pH του υλικού γίνεται αλκαλικό και το χρώμα του αλλάζει από πορτοκαλί σε κόκκινο. Το θετικό αποτέλεσμα με συγκέντρωση του μικροοργανισμού $\geq 10^4$ CFU/ml γίνεται διακριτό σε περίπου 24 ώρες. Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός υπολογίζεται με βάση την ποσότητα αργινίνης και της ουρίας (Εικόνα 18). Επίσης, στην Ευρώπη διατίθενται διάφορα κιτ δοκιμών ευαισθησίας, τα οποία χρησιμοποιούν μία τεχνική μικροαραίωσης ζωμού.

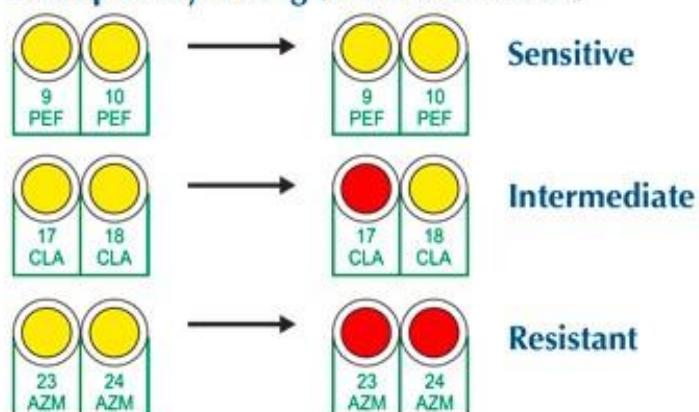
Ureaplasma spp.



Mycoplasma hominis



Susceptibility Testing (double concentration)



Εικόνα 18: Εργαστηριακή διερεύνηση των *Ureaplasma* spp και *Mycoplasma hominis*.

<https://www.liofilchem.com>

Εξαιτίας της δυσκολίας καλλιέργειας του *M.genitalium*, σημαντικές προσπάθειες έγιναν για την ανάπτυξη ανιχνευτών DNA συμπληρωματικών γενετικών

περιοχών αυτού του είδους μυκοπλάσματος. Στα τέλη της δεκαετίας του 1980 αναπτύχθηκε τεχνική PCR, η οποία άρχισε να εφαρμόζεται ευρύτερα ως ένα εργαλείο ανίχνευσης των μικροοργανισμών (Taylor-Robinson and Jensen, 2011). Οι αρχικές προσπάθειες για να μειωθεί το κενό στη διαγνωστική των λοιμώξεων από *M. genitalium*, περιλάμβαναν, όπως αναφέρεται σε μια μελέτη ανασκόπησης, μοριακές μεθοδολογίες που πραγματοποιήθηκαν σε ερευνητικά περιβάλλοντα τις δεκαετίες 1980-1990. Αυτές αφορούσαν είτε τη χρήση ραδιομετρικής δοκιμασίας dot hybridization για να ανιχνεύσουν το DNA του *M. genitalium* σε 203 δείγματα ουρηθρικών επιχρισμάτων ανδρών, είτε την ανίχνευση, στοχεύοντας το γονίδιο της πρωτεΐνης προσκόλλησης 140-kDa, του *M. genitalium* (MgPa) σε 150 ουρογεννητικά δείγματα, με επιτυχία ανίχνευσης στο 6,7% των δειγμάτων (Munson, 2017). Η αρχική επιτυχία της χρήσης της PCR πυροδότησε μελέτες και άλλων ερευνητών, οι οποίοι διαχρονικά επινόησαν τεχνικές τροποποίησης αυτής. Οι Hardick et al. προσδιόρισαν την ευαισθησία του ερευνητικού πρωτοκόλλου PCR πολλαπλών στόχων (γονίδιο 16S rRNA, MgPa) καθώς και της μεθοδολογίας με μεσολάβηση μετάδοσης ενίσχυσης (transmission-mediated amplification, TMA) για την ανίχνευση του *M. genitalium* στο 88,8% και 100,0%, αντίστοιχα, σε έλεγχο 286 δειγμάτων ούρων ανδρών (Hardick, et al, 2006). Επιπρόσθετα, καθώς ένας σημαντικός αριθμός δειγμάτων φέρει πολύ χαμηλό φορτίο DNA του *M. genitalium*, η επιλογή της δοκιμασίας ενίσχυσης και της μεθόδου εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την ευαισθησία της μεθόδου (Taylor-Robinson and Jensen, 2011).

Αναφορικά με τις εμπορικές δοκιμασίες ανίχνευσης RNA, οι Tabrizi et al., αξιολόγησαν την TMA *M. genitalium* στην αυτοματοποιημένη πλατφόρμα Panther (Hologic) συγκριτικά με ένα σύνθετο μοριακό πρότυπο που αποτελείται από έναν εναλλακτικό προσδιορισμό TMA στόχο, 16S rRNA PCR και MgPa PCR (Tabrizi et al, 2016). Επίσης, οι πλατφόρμες για το Aptima MG (*M. genitalium*) (Hologic, Inc.), MG (Roche Molecular Systems) και το Alinity m STI (Abbott Molecular Diagnostics) που έχουν προταθεί από το FDA προσφέρουν πλήρη αυτοματοποίηση και παρέχουν ποιοτικά αποτελέσματα, χωρίς την ανάγκη για ξεχωριστή διαδικασία απομόνωσης DNA ή RNA. Η δοκιμασία Aptima MG, η οποία στοχεύει το γονίδιο 16S rRNA, έχει αξιολογηθεί εκτενέστερα συγκριτικά με οποιοδήποτε άλλο εμπορικό NAAT. Αυτή η δοκιμασία περιλαμβάνει σύλληψη στόχου, ένα στάδιο TMA και ανίχνευση στόχου με υβριδισμό με χρήση συμπληρωματικών ανιχνευτών συνδεδεμένων με μόρια χημειοφωταύγειας. Το στάδιο TMA περιλαμβάνει μια μέθοδο ενίσχυσης νουκλεϊκού

οξέος στόχου χρησιμοποιώντας RNA πολυμεράση και αντίστροφη μεταγραφή (RT) για να παραχθεί ένα αμπλικόνιο από τον συγκεκριμένο στόχο. Σύμφωνα με τις προδιαγραφές του κατασκευαστή, η αναλυτική ευαισθησία είναι 0,01 CFU/mL. Η δοκιμασία Aptima MG εγκρίθηκε από τον FDA το 2019 μετά τη διενέργεια μιας πολυκεντρικής κλινικής μελέτης που περιελάμβανε 11.556 δείγματα που ελήφθησαν από 1.778 γυναίκες και 1.583 άνδρες στις Ηνωμένες Πολιτείες. Καθώς το Aptima MG βασίζεται στην ανίχνευση του 16S rRNA, για το οποίο υπάρχει πολύ μεγαλύτερος αριθμός αντιγράφων από τους DNA στόχους, έχει αποδειχθεί ότι έχει υψηλότερη κλινική ευαισθησία από άλλες PCR που έχουν αναπτυχθεί στο εργαστήριο ή με σήμανση CE στο εμπόριο (Shipitsyna and Unemo, 2020). Τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η ανάλυση Aptima, που πραγματοποιείται στην αυτοματοποιημένη πλατφόρμα Panther, προσφέρει μια απλή, ακριβή και ευαίσθητη μέθοδο για χρήση από διαγνωστικά εργαστήρια για την ανίχνευση αυτού του παθογόνου (Tabrizi, et al, 2016).

Το LightMix *Mycoplasma genitalium* είναι μια εμπορικά διαθέσιμη PCR σε πραγματικό χρόνο πριν την πραγματοποίηση της οποίας απαιτείται εκχύλιση νουκλεϊκού οξέος του δείγματος. Η δοκιμασία, που στοχεύει μια αλληλουχία *gap* 224 bp, εφαρμόζεται στον αναλυτή cobas z480. Σε μια μελέτη 104 αρχειοθετημένων εκχυλισμάτων ουρογεννητικού DNA, ο εσωτερικός μάρτυρας ελέγχου της συνολικής διαδικασίας ενισχύθηκε σε όλες τις περιπτώσεις. Συγκριτικά με τη μέθοδο αναφοράς *M.genitalium* PCR, η ευαισθησία και η ειδικότητα του LightMix *Mycoplasma genitalium* ήταν 92,6% και 100%, αντίστοιχα (Munson, 2017). Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της απόδοσης του TIB MOLBIOL/Roche και της PCR πραγματικού χρόνου Diagenode *M.genitalium* (DIA-MG-050 vs2) στην ανίχνευση του *M. genitalium* σε ουρογεννητικά δείγματα κατά τη σύγκρισή τους με PCR μέθοδο αναφοράς (Πίνακας 5). Βρέθηκαν συμφωνίες της τάξης του 96% και 93% για τις μεθόδους TIB MOLBIOL και Diagenode, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα της εσωτερικής μεθόδου (Le Roy, Pereyre and Bebear, 2014).

Χημική δοκιμή	Αποτέλεσμα	Αριθμός δειγμάτων με αποτέλεσμα εσωτερικής PCR		% ευαισθησία ^a (95% CI)	% ειδικότητα ^a (95% CI)	NPV ^b (%)	PPV ^b (%)
		Θετικός	Αρνητικός				
TIB MOLBIOL	Θετικός	50	0	92,6 (82,4–97,1)	NA	92,6	100
	Αρνητικός	4	50	NA	100 (92,9–100)		
Diagenode	Θετικός	47	0	87 (75,6–93,4)	NA	87,7	100
	Αρνητικός	7	50	NA	100 (92,9–100)		

^{ένα} Τα αποτελέσματα των εμπορικών αναλύσεων συγκρίθηκαν με τα εσωτερικά αποτελέσματα χρησιμοποιώντας τη δοκιμή McNemar. Οι τιμές *P* ήταν >0,05. CI, διάστημα εμπιστοσύνης. NA, δεν ισχύει.

^{αι} NPV, αρνητική προγνωστική αξία. PPV, θετική προγνωστική αξία.

Πίνακας 5: Κλινικά χαρακτηριστικά απόδοσης των δύο εμπορικών αναλύσεων PCR που πραγματοποιήθηκαν στον αναλυτή cobas z 480 για την ανίχνευση του *M. genitalium* (Le Roy, Pereyre and Bebear, 2014).

Επιπλέον, το σύστημα Hyplex STD *Mycoplasma* (Amplex BioSystems, Lich, Γερμανία) είναι μια πολυπλεκτική PCR με σήμανση CE για την ανίχνευση των *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* και *U. parvum*. Σε μία μελέτη αναφέρθηκε 87% ευαισθησία και 96% ειδικότητα για την ανίχνευση του *M. genitalium* με ανίχνευση MgPa. Από άλλους ερευνητές χρησιμοποιήθηκε αυτή η δοκιμασία, σε συνδυασμό με εμπορικές μεθόδους RNA για την ανίχνευση *C.trachomatis*, *N. gonorrhoeae* και *Trichomonas vaginalis*, για την αξιολόγηση συμπτωματικών ανδρών στο Ηνωμένο Βασίλειο. Το DNA του *M. genitalium* ανιχνεύθηκε σε 11 από τα 83 (13,3%) δείγματα ούρων πρώτου ρεύματος και ήταν ο μόνος μικροβιακός παράγοντας που ανιχνεύθηκε σε έξι από αυτά τα δείγματα. Ένα σύνολο 42,2% των δειγμάτων σε αυτήν την μελέτη δεν είχε ανιχνεύσιμο νουκλεϊκό οξύ ειδικό για *C.trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T.vaginalis*, *M.genitalium* ή *U. urealyticum* (Munson, 2017).

Τα panel ταχείας ανίχνευσης περιλαμβάνουν έναν αριθμό ποιοτικών PCR, πολλαπλών στόχων, με σήμανση CE για τους παθογόνους παράγοντες των ΣΜΝ, οι

οποίοι επιτρέπουν την ανίχνευση του *M. genitalium* MgPa από δείγματα πρώτου ρεύματος ούρων, ορθικά και δείγματα γεννητικού συστήματος. Οι μεθοδολογίες περιλαμβάνουν εσωτερικό μάρτυρα ελέγχου και απαιτούν επιπλέον όργανα για εξαγωγή DNA και ενίσχυση/ανίχνευση του στόχου. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη μελετών που έχουν αξιολογήσει και συγκρίνει την απόδοση αυτών των εξετάσεων με άλλες μοριακές διαγνωστικές μεθόδους. Το kit ResistancePlus MG με σήμανση CE (SpeedX, Σίδνεϊ, Αυστραλία) χρησιμοποιεί την τεχνολογία PlexZyme/PlexPrime για την ανίχνευση του *M. genitalium* μέσω ποσοτικής PCR (qPCR) σε πραγματικό χρόνο σε πλατφόρμα ανοιχτού καναλιού. Η πολυπλεκτική PCR περιλαμβάνει εσωτερικό έλεγχο και μπορεί να εντοπίσει μεταλλάξεις σε ακολουθίες 23S rRNA που κωδικοποιούν και την ανθεκτικότητα σε μακρολίδες (Munson, 2017).

Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη ήταν μία προσπάθεια να αναλυθούν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των μυκοπλασμάτων, των ουρεοπλασμάτων και των χλαμυδίων που αποικίζουν το ουρογεννητικό σύστημα, να παρουσιασθούν οι τεχνικές εργαστηριακής διάγνωσης τους και να σχολιασθεί ο επιπολασμός τους στην Ελλάδα και τον κόσμο.

Τα επιχρίσματα γεννητικών οργάνων είναι τα πιο συχνά και ενδεδειγμένα δείγματα που συλλέγονται για την ανίχνευση χλαμυδιακών λοιμώξεων, ενώ τα δείγματα αυτοσυλλογής θεωρούνται επίσης αξιόπιστα, ιδιαίτερα σε προσυμπτωματικούς ελέγχους. Στις γυναίκες, τα ενδοτραχηλικά επιχρίσματα είναι τα δείγματα εκλογής για εξέταση CT, ενώ το δείγμα ούρων πρώτου ρεύματος είναι λιγότερο κατάλληλο. Αντίθετα, ο προτεινόμενος για άρρενα άτομα και περισσότερο αποδεκτός από αυτά, τύπος δείγματος ελέγχου CT λοιμώξεων είναι τα ούρα πρώτου ρεύματος. Ο έλεγχος σε εξωγεννητικές λοιμώξεις CT ή σε άνδρες που έχουν σεξουαλική επαφή με άλλους άνδρες, απαιτεί δειγματοληψία από περιοχή του ορθού ή/και του φάρυγγα.

Οι εντοπισμένες λοιμώξεις ελέγχονται με δοκιμασίες άμεσης ανίχνευσης παθογόνου, όπως κυτταρολογική εξέταση, καλλιέργεια, δοκιμασίες ανίχνευσης αντιγόνου, άμεσος ανοσοφθορισμός και ανοσοχρωματογραφικές, υβριδισμό νουκλεϊκού οξέος και δοκιμασίες ενίσχυσης και πολλαπλασιασμού του γενετικού υλικού. Οι έμμεσες μέθοδοι αφορούν στην ανίχνευση αντισωμάτων κατά του *C. trachomatis*.

Η κυτταροκαλλιέργεια σπάνια χρησιμοποιείται σήμερα στα διαγνωστικά εργαστήρια για την απομόνωση χλαμυδίων, έχει χαμηλή ευαισθησία, εντούτοις εξακολουθεί να εφαρμόζεται σε ορισμένα εργαστήρια αναφοράς, ειδικά όταν απαιτείται μια δοκιμασία με υψηλότερη ειδικότητα, όπως στην περίπτωση υποψίας σεξουαλικής κακοποίησης.

Ο ρόλος των ορολογικών τεχνικών στη διάγνωση της CT είναι πολύ περιορισμένος, καθώς έχει αποδειχθεί ανεπαρκής. Οι περισσότερες από αυτές τις τεχνικές ανιχνεύουν αντι-χλαμυδικά αντισώματα που στρέφονται κατά του αντιγόνου LPS, με ψευδώς θετικά αποτελέσματα, ενώ τα παραγόμενα αντισώματα παραμένουν για αρκετό διάστημα στην κυκλοφορία του αίματος. Ως αποτέλεσμα, αυτές οι εξετάσεις δεν συνιστώνται ως μέρος των προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου, ενώ δεν είναι χρήσιμες για τη διάκριση πρόσφατης από παρελθούσα χλαμυδιακή λοίμωξη. Μπορούν να εφαρμοστούν κυρίως για τη διαγνωστική αξιολόγηση χρόνιας/διηθητικής

λοίμωξης (PID, LGV) και επιπλοκών ή να υποδείξουν πιθανά το αίτιο μιας υπογονιμότητας.

Τα NAATs ήταν οι πιο αποτελεσματικές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν για τη διάγνωση των CT λοιμώξεων με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Το γεγονός ότι τα μη «επεμβατικά» δείγματα είναι αποδεκτά για εξέταση έχει επεκτείνει τη χρήση αυτών των μεθοδολογιών στον έλεγχο και του ασυμπτωματικού πληθυσμού. Είναι σχετικά ταχείες, ενώ παρέχουν ακριβή αποτελέσματα. Θεωρούνται ακόμη και αρκετά αποτελεσματικές για να αντικαταστήσουν τις μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας στην εξέταση κλινικών δειγμάτων που εμπλέκονται με νομικά ζητήματα (π.χ. σεξουαλική κακοποίηση). Οι περισσότερες από αυτές τις NAATs δοκιμασίες έχουν σχεδιαστεί για να ανιχνεύουν τόσο τα *C. trachomatis* όσο και τη *N. gonorrhoeae* στην ίδια ανάλυση, χρησιμοποιώντας ένα μόνο δείγμα και επομένως επιτρέπουν την καλύτερη διαχείριση του ασθενούς. Ωστόσο, η απαίτηση καλά εκπαιδευμένου προσωπικού για την διενέργεια της εξέτασης των δειγμάτων και η αναγκαιότητα εξελιγμένης εργαστηριακής υποδομής για τις περισσότερες από αυτές τις δοκιμασίες έχουν περιορίσει τη χρήση τους σε υγειονομικές δομές και εργαστηριακές εγκαταστάσεις υψηλής ποιότητας. Επιπλέον, το υψηλό οικονομικό κόστος αυτών των μεθόδων έχει αποτρέψει τη εφαρμογή τους σε χώρες χαμηλού κοινωνικοοικονομικού και βιοτικού επιπέδου. Η εφαρμογή τους εντούτοις στο κλινικό διαγνωστικό εργαστήριο καθίσταται αναγκαία, χωρίς ωστόσο την παράκαμψη των συμβατικών τεχνικών, μιας και ο συνδυασμός τους εγγυάται το βέλτιστο διαγνωστικό αποτέλεσμα.

Το *M.genitalium* χαρακτηρίζεται ως ένας εξαιρετικά αργά αναπτυσσόμενος οργανισμός. Αυτό εξ ορισμού σημαίνει την αδυναμία της καλλιέργειας να αποτελέσει αποτελεσματική μέθοδο διάγνωσης μιας και μπορεί να διαρκέσει μέχρι έξι (6) μήνες και η ικανότητα του τεχνικού εργαστηρίου περιορίζεται σε ερευνητικές εγκαταστάσεις. Το FDA έχει εγκρίνει τις NAAT δοκιμασίες ως ενδεδειγμένη μέθοδο διάγνωσης του *M.genitalium* οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε δείγματα ούρων και σε επιχρίσματα ουρήθρας, πέους, ενδοτραχηλικού και κολπικού. Επιπλέον οι μοριακές δοκιμασίες για δείκτες αντοχής στις μακρολίδες, όπως είναι η αζιθρομυκίνη ή στις κινολόνες, όπως είναι η μοξιφλοξασίνη, δεν είναι διαθέσιμες εμπορικά σε όλες τις χώρες. Από την άλλη οι μοριακές αναλύσεις που ενσωματώνουν την ανίχνευση μεταλλάξεων που σχετίζονται με την αντοχή στις μακρολίδες είναι υπό αξιολόγηση.

Έλεγχος για *M. genitalium* συνιστάται σε άνδρες με υποτροπιάζουσα μη γονοκοκκική ουρηθρίτιδα (NGU), με χρήση μεθόδολογιών NAATs. Σε περιπτώσεις όπου είναι διαθέσιμη η μοριακή δοκιμασία ανίχνευσης αντοχής στις μακρολίδες, η εφαρμογή της είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την καθοδήγηση της θεραπευτικής προσέγγισης. Αντίστοιχα, γυναίκες με υποτροπιάζουσα τραχηλίτιδα ή PID θα πρέπει επίσης να υποβάλλονται σε έλεγχο για *M. genitalium*, σε συνδυασμό με δοκιμή αντοχής, εφόσον είναι διαθέσιμη. Σε περιπτώσεις όπου ο μοριακός έλεγχος δεν είναι εφικτός, η πιθανότητα λοίμωξης από *M. genitalium* θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη σε περιπτώσεις εμμένουσας ή υποτροπιάζουσας ουρηθρίτιδας ή τραχηλίτιδας, και να εξετάζεται το ενδεχόμενο εξέλιξης σε PID.

Η έλλειψη αυστηρών κανονιστικών απαιτήσεων για διαγνωστικές δοκιμασίες σε χώρες εκτός των Ηνωμένων Πολιτειών έχει οδηγήσει στην ευρεία κυκλοφορία πολλών μεθόδων NAAT για την ανίχνευση του *Mycoplasma genitalium* και την ταυτοποίηση μεταλλάξεων που σχετίζονται με μικροβιακή αντοχή. Παρά την ύπαρξη αρκετών δημοσιεύσεων που περιγράφουν την αποδοτικότητα αυτών των δοκιμών, οι περισσότερες βασίζονται σε περιορισμένο αριθμό θετικών δειγμάτων. Απαιτούνται επιπλέον μελέτες για την αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας των εμπορικά διαθέσιμων NAAT, ώστε να προσδιοριστεί ποιες μπορούν να προταθούν για χρήση με μεγαλύτερη αξιοπιστία. Ωστόσο, παραμένει αβέβαιο εάν οι κατασκευαστικές εταιρείες θα επενδύσουν σε αυστηρές μελέτες που απαιτούνται για την έγκριση από τον FDA. Οι εν λόγω δοκιμές θα πρέπει προς το παρόν να αξιοποιούνται κυρίως σε ερευνητικά περιβάλλοντα, στο πλαίσιο μελετών που αποσκοπούν στη συλλογή τεκμηριωμένων στοιχείων για τη διαγνωστική τους αξία, καθώς και στην κατανόηση της εξέλιξης συμπτωματικών και ασυμπτωματικών λοιμώξεων στις γυναίκες, όπως η φλεγμονώδης νόσος της πυέλου (PID), προκειμένου να θεμελιωθεί η εφαρμογή προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου.

Απαιτούνται επίσης πρόσθετες μελέτες για να βελτιώσουμε την κατανόησή μας σχετικά με τη συμβολή του *M. genitalium* στη δυσμενή έκβαση σε έγκυες γυναίκες και νεογνά. Αν και η καλλιέργεια δεν αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη διάγνωση, είναι σημαντικό περισσότερες ερευνητικές ομάδες και εργαστήρια αναφοράς να συνεχίσουν τις προσπάθειες καλλιέργειας, προκειμένου να αποκτηθούν περισσότερα κλινικά απομονωμένα στελέχη του *Mycoplasma genitalium*. Η παγκόσμια διαθεσιμότητα τέτοιων απομονώσεων είναι κρίσιμη για τη διενέργεια μελετών σχετικά με την

επιδημιολογία, την κυτταρική βιολογία και την παθογένεια των λοιμώξεων, καθώς και για την αξιολόγηση της δραστηριότητας νέων αντιμικροβιακών παραγόντων *in vitro*. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η απόκτηση στελεχών με πολυανθεκτικότητα, καθώς συμβάλλει στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών αντοχής και των κλινικών συνεπειών που προκύπτουν από συγκεκριμένες γενετικές μεταλλάξεις.

Περίληψη

Οι προκαλούμενες από τα μυκοπλάσματα και τα χλαμύδια λοιμώξεις εντοπίζονται με διαρκώς αυξανόμενη συχνότητα σε ολοένα μικρότερες ηλικίες. Στην οικογένεια των *Mycoplasmataceae* και στην κλάση των *Mollicutes* συγκαταλέγονται οι μικροοργανισμοί *Mycoplasma hominis* και *Ureaplasma urealyticum*, οι οποίοι ενοχοποιούνται για λοιμώξεις του αναπαραγωγικού ή και ουροποιητικού συστήματος, ενώ η οικογένεια των *Chlamydiaceae* και η τάξη των *Chlamydiales* περιλαμβάνει το γένος *Chlamydia* και συγκεκριμένα το είδος *Chlamydia trachomatis*. Προκαλούν κολπίτιδα, σαλπινγίτιδα, προστατίτιδα, επιδιδυμίτιδα, μη-γονοκοκκική ουρηθρίτιδα και οξεία πυελική φλεγμονή, ενοχοποιούνται για ανδρική και γυναικεία υπογονιμότητα, ενώ εμπλέκονται και σε ποικίλες μαιευτικές και περιγεννητικές επιπλοκές.

Η ανίχνευση και η ταυτοποίηση των δεδομένων παθογόνων στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο χαρακτηρίζεται δυσχερής, μιας και δεν αναπτύσσονται στα κοινά θρεπτικά υλικά, ενώ απαιτούνται μοριακές μέθοδοι για την διάγνωση των λοιμώξεων που προκαλούν.

Abstract

Mycoplasma and chlamydia infections are increasingly occurring at younger ages. The Mycoplasmataceae family and the Mollicutes class include the microorganisms *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*, which are responsible for infections of the reproductive and/or urinary tract, while the Chlamydiaceae family and the Chlamydiales class include the *Chlamydia* genus and specifically the *Chlamydia trachomatis* species. They cause vaginitis, salpingitis, prostatitis, epididymitis, non-gonococcal urethritis and acute pelvic inflammation, are responsible for male and female infertility, and are also involved in various obstetric and perinatal complications.

The detection and identification of these pathogens in the Microbiology Laboratory is difficult, since they do not grow on common nutrient media, while molecular methods are required for the diagnosis of the infections they cause.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbai Shaik N.S., Reddy, T., Govender, S., Ramjee, G. (2016). Poor performance of the Chlamydia Rapid Test device for the detection of asymptomatic infections in South African men: A pilot study. *J. Sex. Transm. Dis.*
- Andersen. B., and Olesen, F. (2012). Screening for Chlamydia trachomatis, *BMJ*, 345: 4231.
- Αρσένη, Α., (1994). Κλινική μικροβιολογία και εργαστηριακή διάγνωση λοιμώξεων, τόμος 2, 4η έκδοση, εκδόσεις ZHTA.
- Bachmann, L.H., Kirkcaldy, D.R., Geisler, M.W., Wiesenfeld, C.H., Manhart, E.L., Taylor, N.S., Seña, C.A., McNeil, J.C., Newman, L., Myler, N., Fuchs, R., Bowden, E.K., MAGNUM Laboratory Working Group (2020). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* Infection, Antimicrobial Resistance Mutations, and Symptom Resolution Following Treatment of Urethritis, *Clinical Infectious Diseases*, 71(10): 624 – 632.
- Baczynska, A., Funch, P., Fedder, J., Knudsen, H.J., Birkelund, S., Christiansen, G. (2007). Morphology of human Fallopian tubes after infection with *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis*--in vitro organ culture study. *Hum Reprod*, 22(4): 968 - 979.
- Baka, S., Kouskouni, E., Antonopoulou, S., Sioutis, D., Papakonstantinou, M., Hassiakos, D., Logothetis, E., Liapis, A. (2009). Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in women with chronic urinary symptoms, *Urology*, 74(1): 62 - 66.
- Baka, S., Tsirmpa, I., Tsouma, I., Logothetis, E., Kouskouni, E. (2012) Increased quinolone-resistant *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* isolated in reproductive-age women with vulvovaginitis, 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2012), Available at: http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT_ID=142204&XNSP_RACHE_ID=2&XNKONGRESS_ID=161&XNMASKEN_ID=900
- Barnes, R.C. (1989). Laboratory diagnosis of human Chlamydial infections, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2: 119 - 136.

- Baseman, J.B., Cagle, M., Korte, J.E., Herrera, C., Rasmussen, W.G., Baseman, J.G., Shain, R., Piper, J.M. (2004). Diagnostic assessment of *Mycoplasma genitalium* in culture-positive women. *J Clin Microbiol* 42: 203 – 211.
- Baud, D. (2011). Intracellular bacteria and adverse pregnancy outcomes, *Clin Microbiol Infect*, 17: 1312 - 1322.
- Baumann, L., Cina, M., Egli-Gany, D., Goutaki, M., Halbeisen, S.F., Lohrer, G., Ali, H., Scott, P., Low, N. (2018). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in different population groups: systematic review and meta-analysis *Sexually Transmitted Infections*, 94: 255 - 262.
- Bayramova, F., Jacquier, N., Greub, G. (2018). Insight in the biology of Chlamydia-related bacteria., *Microbes Infect.*, 20 (7-8): 432 - 440.
- Bax, C.J., Mutsaers, JAEM, Jansen, CL. (2003). Comparison of Serological Assays for Detection of *Chlamydia trachomatis* Antibodies in Different Groups of Obstetrical and Gynecological Patients. *Clin Vaccine Immunol*. 10: 174 –176.
- Bébéar, C.M., Grau, O., Charron, A., Renaudin, H., Gruson, D., Bébéar, C. (2000a). Cloning and nucleotide sequence of the DNA gyrase (*gyrA*) gene from *Mycoplasma hominis* and characterization of quinolone-resistant mutants selected in vitro with trovafloxacin, *Antimicrob. Agents Chemother*, 44(10): 2719 - 2727.
- Bébéar, C.M., Renaudin, H., Bryskier, A., Bébéar, C. (2000b). Comparative Activities of Telithromycin (HMR 3647), Levofloxacin, and other antimicrobial agents against human *Mycoplasmas*, *Antimicrob. Ag. And Chemoth.*, 1980-1982.
- Bébéar, C., and Barbeyrac, B. (2009). Genital *Chlamydia trachomatis* infections, *Clinic Microbiol Infect.*, 15(1): 4 - 10.
- Berry, L., and Stanley, B. (2017). Comparison of self-collected meatal swabs with urine specimens for the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in men. *J Med Microbiol*, 66: 134 – 136.
- Black, C.M. (1997). Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections, *Clin Microbiol Rev.*, 10(1): 160 - 184.

- Black, C.M., Marrazzo, J., Johnson, R.E., Hook, W.E., Jones, B.R., Green, A.T., Schachter, J., Stamm, E.W., Bolan, G., Louis, E.M., Martin, H.D. (2002). Head-to-head multicenter comparison of DNA probe and nucleic acid amplification tests for *Chlamydia trachomatis* infection in women performed with an improved reference standard. *J Clin Microbiol.* 40: 3757 – 3763.
- Budrys, N.M., Gong, S., Rodgers, A.K., Wang, J., Loudon, C., Shain, R. (2012). Schenken R.S., Zhong G. *Chlamydia trachomatis* antigens recognized in women with tubal factor infertility, normal fertility, and acute infection. *Obstet. Gynecol.* 119: 1009 – 1016.
- Carey, A.J., and Beagley, K.W. (2010). *Chlamydia trachomatis*, a hidden epidemic: effects on female reproduction and options for treatment, *Am J Reprod Immunol.*, 63(6): 576 - 586.
- Cassell, G. H., Waites, K. B., Watson, H. L., Crouse, D. T., Harasawa, R. (1993). *Ureaplasma urealyticum* Intrauterine Infection: Role in Prematurity and Disease in Newborns, *Clin. Microb. Rev.* 6(1): 69 - 87.
- Center for Disease Control and Prevention, CDC. (2021). Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. Lymphogranuloma Venereum (LGV). Available at <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/lgv.htm>
- Chernesky, M.A., Mahoney, J.B., Castriano, S., Mores, M., Stewart, I.O., Landis, S.F., Seidelman, W., Sargeant, E.J., Leman, C. (1986). Detection of *Chlamydia trachomatis* antigens by enzyme immunoassay and immunofluorescence in genital specimens from symptomatic and asymptomatic men and women, *J. Infect. Dis.*, 154: 141 - 148.
- Chernesky, M.A. (2005). The laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 16: 39 – 44.
- Chernesky, M., Jang, D., Smieja, M., Cai, W.J., Hayhoe, B., Portillo, E., MacRitchie, C., Main, C. (2017). Urinary meatal swabbing detects more men infected with *Mycoplasma genitalium* and four other sexually transmitted infections than first catch urine. *Sex Transm Dis*, 44: 489 –491.

- Chernesky, M.A., Jang, D.A., Luinstra, K., Chong, S., Smieja, M., Cai, W.J., Hayhoe, B., Portillo, E., MacRitchie, C., Main, C. (2006). High analytical sensitivity and low rates of inhibition may contribute to detection of *Chlamydia trachomatis* in significantly more women by the APTIMA Combo 2 assay. *J. Clin. Microbiol.* 44: 400 – 405.
- Chow, J.M., and Bauer, H.M. (2016). What data are really needed to evaluate the population impact of chlamydia screening programs? *Sex Transm Dis*, 43: 9 – 11.
- De Barbeyrac, B., Rodriguez, P., Dutilh, B., Roux, P., Bebear, C. (1995). Detection of *Chlamydia trachomatis* by ligase chain reaction compared with polymerase chain reaction and cell culture in urogenital specimens. *Genitourin Med.* 71: 382 –386.
- Deguchi, T., Yoshida, T., Miyazawa, T., Yasuda, M., Tamaki, M., Ishiko, H., Maeda, S. (2004). Association of *Ureaplasma urealyticum* (biovar 2) with nongonococcal urethritis. *Sex. Transm. Dis.* 31(3): 192 - 195.
- Dize, L., Barnes, P.Jr., Barnes, M., Hsieh, Y., Marsiglia, D.D., Hardick, J., Gaydos, C. (2016). Performance of self-collected penile-meatal swabs compared to clinician-collected urethral swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, and *Mycoplasma genitalium* by nucleic acid amplification assays. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 86: 131 – 135.
- Domeika, M., Savicheva, A., Sokolovskiy, E., Frigo, N., Brilene, T., Hallen, A., Unemo, M., Ballard, M., Ward, M. (2009). Guidelines for the laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections in East European countries. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 23: 1353 – 1363.
- Dyck, E., Ieven, M., Pattyn, S., Damme, L. (2001). Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by enzyme immunoassay, culture, and three nucleic acid amplification tests, *J Clin Microbiol*, 39: 1751 – 1756.
- Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, ΕΟΔΥ (2024). Επιδημιολογική και Εργαστηριακή Επιτήρηση Σεξουαλικά Μεταδιδόμενων Νοσημάτων (Σύφιλη, Γονόρροια, Χλαμυδιακή Λοιμώξεις) στην Ελλάδα. Δηλωθέντα Στοιχεία έως

31.12.2023. Τμήμα Σεξουαλικά Μεταδιδόμενων Νοσημάτων. Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, Υπουργείο Υγείας, Αθήνα.

Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, ΕΟΔΥ (2022). Κατευθυντήριες Οδηγίες για τα Σεξουαλικά Μεταδιδόμενα Νοσήματα. Διεύθυνση Πρόληψης και Επιδημιολογικής Επιτήρησης HIV/AIDS, ΣΜΝ και Ηπατίτιδων. Τμήμα Σεξουαλικά Μεταδιδόμενων Νοσημάτων. Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, Υπουργείο Υγείας, Αθήνα.

Elwell, C., Mirrashidi, K., and Engel, J. (2016). Chlamydia cell biology and pathogenesis, *Nat Rev Microbiol.*, 14(6): 385 - 400.

European Centre for Disease Prevention and Control. Chlamydia. (2022). In: ECDC. Annual Epidemiological Report for 2022. Stockholm: ECDC; 2024. Available at <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>

Fagundo, R., Sanchez, A., and Jauregui, J. (2006). Comportamiento antimicrobiano de aislamientos clinicos de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* asi como la evolucion de su Resistencia en un period de cinco anos, *Labciencia*, 14(2): 75 - 79.

Fenkci, V., Yilmazer, M., and Aktepe, O. (2002). Have *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections any significant effect on female fertility? *Le Infezioni in Medicina*, 9(5): 965 - 976.

Ferrero, D.V., Meyers, H.N., Ferrero, G.M., Schultz, D.E. (2017). Self-collected glans/meatal “dry” swab specimen and NAAT technology detects *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—implications for public policy changes. *Int J STD AIDS* 28: 985 – 990.

Forsbach-Birk, V., Simnacher, U., Pfrepper, K.I., Soutschek, E., Kiselev, A.O., Lampe, M.F., Meyer, T., Straube, E., Essig, A. (2010). Identification and evaluation of a combination of Chlamydial antigens to support diagnosis of severe and invasive *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin. Microbiol. Infect*, 16: 1237 – 1244.

- Φωκάς, Σπ., Φωκάς, Στ., και Μαρκάτου Φ. (2003). Κλινική Μικροβιολογία, Τόμος 1, Αθήνα.
- Gaydos, C.A., Manhart, L.E., Taylor, S.N., Lillis, R.A., Hook, E.W., Klausner, J.D., Remillard, C.V., Love, M., McKinney, B., Getman, D.K. (2019). Molecular Testing for *Mycoplasma genitalium* in the United States: Results from the AMES Prospective Multicenter Clinical Study. *J Clin Microbiol*, 57(11): e01125-19.
- Gaydos, C.A., Howell, M.R., Quinn, T.C., McKee, K.T. (1998). Use of ligase chain reaction with urine versus cervical culture for detection of *Chlamydia trachomatis* in an asymptomatic military population of pregnant and nonpregnant females attending Papanicolaou smear clinics. *J Clin Microbiol*. 36: 1300 – 1304.
- Gaydos, C.A., Van Der Pol, B., Jett-Goheen, M., Barnes, M., Quinn, C.C., Daniel, G., Dixon, P., Hook, E.W. (2013). Performance of the cepheid CT/NG Xpert Rapid PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol*. 51: 1666 – 1672.
- Grovassili, A., Marcandona, O., Asimakopoulos, B., Karavasilis, V., Panopoulou, M., Ikonmidis, A. (2017). Relationship between *Chlamydia-Ureaplasma-Mycoplasma genital* detection with semen concentration and motility among greek men, *Int. J. Fertil. Steril.*, 11(2): 130 - 133.
- Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections – 2008. Available at: www.who.int/gho/sti/statistical_reports/en/
- Gottlieb, S.L., Xu, F., and Brunham, R.C. (2013). Screening and treating *Chlamydia trachomatis* genital infection to prevent pelvic inflammatory disease: interpretation of findings from randomized controlled trials, *Sex Transm Dis.*, 40(2): 97 – 102.
- Gratton, C.A., Lim-Fong, R., Prasad, E., Kibsey, P.C. (1990). Comparison of a DNA probe with culture for detecting *Chlamydia trachomatis* directly from genital specimens, *Mol. Cell. Probes*, 4: 25 - 31.

- Gregoriou, O., Botsis, D., Papadias, K., Kassanos, D., Liapis, A., Zourlas, P.A. (1989). Culture of seminal fluid in infertile men and relationship to semen evaluation. *Int. Gynaecol. Odstet.*, 28(2): 149 - 153.
- Grygiel-Górniak, B., and Folga, B.A. (2023). Chlamydia trachomatis-An Emerging Old Entity? *Microorganisms*. 11(5): 1283.
- Haggerty, C.L., Gottlieb, S.L., Taylor, B.D., Low, N., Xu, F., Ness, R.B. (2014). Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women, *J Infect Dis.*, 201(2): S134 – 155.
- Haggerty, C.L., Totten, P.A., Astete, S.G., Lee, S., Hoferka, S.L., et al. (2008). Failure of cefoxitin and doxycycline to eradicate endometrial Mycoplasma genitalium and the consequence for clinical cure of pelvic inflammatory disease, *Sex. Transm. Infect.*, 84: 338 – 342.
- Halberstaedter, L. and von Powazek, S. (1997). Zur Aetiologies, Trachoms, *Deutsch Med Wschr.*, 1285 - 1287.
- Hamasuna, R., Osada, Y., Jensen, J.S. (2007). Isolation of Mycoplasma genitalium from first-void urine specimens by coculture with Vero cells. *J Clin Microbiol* 45: 847 – 850.
- Hannan, P. C. T. (1998). Comparative susceptibilities of various AIDS associated and human genital tract Mycoplasmas and strains of Mycoplasma pneumoniae to 10 classes of antimicrobial agent in vitro, *J. Med. Microbiol.*, 47: 1115 – 1122.
- Haralambieva, I., Iankov, I., Petrov, D., Ivanova, R., Kamarinchev, B., Mitov, I. (2001). Cross-reaction between the genus-specific lipopolysaccharide antigen of Chlamydia spp. and the lipopolysaccharides of Porphyromonas gingivalis, Escherichia coli O119 and Salmonella newington: Implications for diagnosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 41: 99 – 106.
- Harasawa, R., and Kanamoto, Y. (1999). Differentiation of two biovars of Ureaplasma urealyticum based on the 16S-23S rRNA intergenic spacer region, *J Clin. Microbiol.*, 37(12): 4135 – 4138.

- Hardick, J., Giles, J., Hardick, A., Hsieh, Y., Quinn, T., Gaydos, C. (2006). Performance of the Gen-Probe Transmission-Mediated Amplification Research Assay Compared to That of a Multitarget Real-Time PCR for *Mycoplasma genitalium* Detection. *J Clin Microbiol.*, 44: 1236 – 1240.
- Hislop, J., Quayyum, Z., Flett, G., Boachie, C., Fraser, C., Mowatt, G. (2010). Systematic review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of rapid point-of-care tests for the detection of genital chlamydia infection in women and men. *Health Technol.* 14: 12 – 14.
- Hosseinzadeh, S., and Fazeli M. (2009). Immuno-Gold Labelling Of Chlamydia Trachomatis' Elementary Bodies, *Medicine, Biology*
- Horner, P.J., Gilroy, C.B., Thomas, B.J., Naidoo, R.O., Taylor-Robinson. D. (1993). Association of *Mycoplasma genitalium* with acute non-gonococcal urethritis, *Lancet*, 342: 582 - 585.
- Horner, P.J., Thomas, B., Gilroy, C.B., Egger, M., Taylor-Robinson., D. (2002). Do all men attending departments of genitourinary medicine need to be screen for non-gonococcal urethritis? *Int.J. STD AIDS*, 13: 667 -673.
- Horner, P., Thomas, B., Gilroy, C., Egger, M., McClure, M., Taylor-Robinson, D. (2003). Antibodies to *Chlamydia trachomatis* heat-shock protein 60 kDa and detection of *Mycoplasma genitalium* and *ureaplasma urealyticum* are associated independently with chronic nongonococcal urethritis. *Sex Transm Dis.* 30(2): 129 - 133.
- Huard, R., Luiz Claudio de Oliveira Lazzrini, C., Butler, W., Dick van Soolingen, R., Ho, J.L. (2003). PCR-Based Method To Differentiate the Subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex on the Basis of Genomic Deletions, *J Clin Microbiol.*, 41(4): 1637–1650.
- Hurly, D.S., Buhrer-Skinner, M., Badman, S.G., Bulu, S., Tabrizi, S.N., Tarivonda, L., Muller, R. (2014). Field evaluation of the CRT and ACON chlamydia point-of-care tests in a tropical, low-resource setting. *Sex. Transm. Infect.* 90: 179 – 184.

- Imudia, A.N., Detti, L., Puscheck, E.E., Yelian, F D., Diamond, M P. (2008). 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.*, 25(1): 43 - 46.
- Jensen, J.S., Cusini, M., Gomberg, M., Hoi, H., Wilson, J., Unemo, M. (2022). 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 36(5): 641 - 650.
- Jensen, J.S., Orsum, R., Dohn, B., Uldum, S., Worm, A.M., Lind, K.(1993). *Mycoplasma genitalium*: a cause of male urethritis? *Genitourin. Med.*, 69: 265 - 269.
- Jensen, J.S., Hansen, H.T., and Lind. K. (1996). Isolation of *Mycoplasma genitalium* strains from the male urethra, *J. Clin. Microbiol.*, 34: 286 - 291.
- Jensen, J.S., Uldum, S.A., Søndergård-Andersen, J., Vuust, J., Lind, K. (1991). Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma genitalium* in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 29(1): 46 - 50.
- Jonduo, M.E., Vallely, L.M., Wand, H., Sweeney, E.L., Egli-Gany, D., Kaldor, J., Vallely, A.J., Low, N. (2023). Adverse pregnancy and birth outcomes associated with *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum*: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 12(8): e062990. Erratum in: *BMJ Open*. 22;13(9): e062990
- Johnson, R.E., Newhall, W.J., Papp, J.R., Knapp, J.S., Black, C.M., Gift, T.L., Steece, R., Markowitz, L.E., Devine, O.J., Walsh, C.M. (2002). Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. *MMRW Recomm. Rep.* 11: 1 – 38.
- Karabay, O., Topcuoglu, A., Kocoglu, E., Gurel, S., Gurel, H., Ince, N. K. (2006). Prevalence and antibiotic susceptibility of genital *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in a university hospital in Turkey, 33(1): 36 - 38.

- Kechagia, N., Bersimis, S., and Chatzipanagiotou, S. (2008). Incidence and antimicrobial susceptibilities of genital *Mycoplasmas* in outpatients women with clinical vaginitis in Athens, Greece., *J. antimicrob. Chemother.*, 62(1): 122 - 125.
- Kelly, H., Coltart CEM, Pant Pai N., Klausner, J.D., Unemo, M., Toskin, I., Peeling, R.W. (2017). Systematic reviews of point-of-care tests for the diagnosis of urogenital *Chlamydia trachomatis* infections. *Sex Transm Infect.* 93(S4): S22-S30.
- Kenny, G.E., and Cartwright F.D. (2001). Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to GAR-936, Dalbapristin, Dirithromycin, Evernimicin, Gatifloxacin, Linezolid, Moxifloxacin, Quinupristin- Dalbapristin, and Telithromycin Compared to Their Susceptibilities to Reference Macrolides, Tetracyclines, and Quinolones, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(9): 2604 - 2608.
- Kotrotsiou, Tz., and Exindari, M. (2010). *Ureaplasma Urealyticum*: so common but so disregarded microorganism, *J. Hellenic microbiol. Society*, 55(4): 295-303.
- Kotrotsiou, Tz., Exindari, M., Diza, E., Gioula, G., Melidou, A., Kaplanis, K., Malisiovas, N. (2013). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* in asymptomatic women in Northern Greece, *Hippokratia*, 17(4): 319-321.
- Kong, F., James, G., Ma, Z., Gordon, S., Bin, W., Gilbert, G.L. (1999). Phylogenetic analysis of *Ureaplasma urealyticum*—support for the establishment of a new species, *Ureaplasma parvum*, *Int J Syst Bacteriol*, 49(4): 1879 – 1889.
- Kong, F., Ma, Z., James, G., Gordon, S., Gilbert, G.L. (2000). Species identification and subtyping of *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* using PCR-based assays, *J. Clin. Microbiol.*, 38(3): 1175 – 1179.
- Kong, F., Ma, Z., James, G., Gordon, S., Gilbert, G.L. (2000). Molecular genotyping of human *Ureaplasma* species based on multiple-banded antigen (MBA) gene sequences, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50(5): 1921 – 1929.

- Ladefoged, S.A. and Christiansen, G. (1992). Physical and genetic mapping of the genomes of five *Mycoplasma hominis* strains by pulsed-field gel electrophoresis, *J. Bacteriol.* 174(7): 2199.
- Ladefoged, S.A., Birkelund, S., Hauge, S., Brock, B., Jensen, L. T. Christiansen, G. (1995). A 135-kilodalton surface antigen of *Mycoplasma hominis* PG21 contains multiple directed repeated sequences. *Infect Immun.*, 63: 212 - 223.
- Ladefoged, S.A. Jensen, L.T., Brock, B., Bikerlund, S. Christiansen, G. (1996). Analysis of 05-kilobase-pair repeats in the *Mycoplasma hominis* Imp gene system and identification of gene products., *J. Bacteriol.*, 178: 2775 - 2784.
- Land, J.A., van Bergen, JEAM, Morré, S.A., Postma, M.J. (2010). Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* infection in women and the cost-effectiveness of screening. *Hum Reprod Update*, 16: 189-204.
- Lanjouw, E., Ouburg, S., de Vries, H.J., Stary, A., Radcliffe, K., Unemo, M. (2016). European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* λοιμώξεις. *Int. J. STD AIDS*. 27: 333 – 348.
- Le Roy, C., Pereyre, S., and Bébéar, C. (2014). Evaluation of Two Commercial Real-Time PCR Assays for Detection of *Mycoplasma genitalium* in Urogenital Specimens. *J Clin Microbiol*, 52(3): 971 – 973.
- Lefebvre, J., Laperriere, H., Rousseau, H., Masse, R. (1998). Comparison of three techniques for detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical specimens from asymptomatic women, *J. Clin. Microbiol.*, 26: 726 - 731.
- Levidiotou, S., Vrioni, G., Papadogeorgaki, H., Avdeliodi, K., Kada, H., Kaparos, G., Kouskouni, E., Fragouli, E., Legakis, N.J. (2005). *Chlamydia trachomatis* infections in Greece: first prevalence study using nucleic acid amplification tests, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 24(3): 207 - 213.
- Lewis, J., Malcolm, J., Price, P., Horner, J., Peter, J. (2017). White , Genital *Chlamydia trachomatis* Infections Clear More Slowly in Men Than Women, but Are Less Likely to Become Established. *The Journal of Infectious Diseases*, 216: 237 – 244.

- Liechti, G.W., Kuru, E., Hall, E., Kalinda, A., Brun, Y.V., VanNieuwenhze, M. (2014). A new metabolic cell-wall labelling method reveals peptidoglycan in *Chlamydia trachomatis*, *Nature*, 506: 507 - 510.
- Lis, R., Rowhani-Rahbar, A., and Manhart, L.E. (2015). *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clinical Infection Disease*, 61(3): 418 - 426.
- Livengood, C.H., and Wrenn, J.W. (2001). Evaluation of COBAS AMPLICOR (Roche): Accuracy in the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by co-amplification of endocervical specimens. *J Clin Microbiol.* 39: 2928 – 2932.
- Lusk, M.J., Konecny, P., Naing, Z.W., Garden, F.L., Cumming, R.G., Rawlinson, W.D. (2011). *Mycoplasma genitalium* is associated with cervicitis and HIV infection in an urban Australian STI clinic population. *Sex Transm Infect.* 87(2): 107 - 109.
- Malhotra, M., Sood, S., Mukherjee, A., Muralidhar, SBM. (2013). Genital *Chlamydia trachomatis*. *Indian J Med Res*, 138: 303 – 316.
- Manavi, K. (2006). A review on infection with *Chlamydia trachomatis*, *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*, 20: 941 - 951.
- Mardh, P.A., and Westrom, L. (1970). Tubal and cervical cultures in acute salpingitis with special reference to *Mycoplasma hominis* and T -strain *Mycoplasmas*. *Br J Vener Dis*, 46: 179 - 186.
- McGowin, C.L., and Totten, P.A. (2017). The unique microbiology and molecular pathogenesis of *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis*, 216(2): 382 – 388.
- McCormack, W. and Rein, M.F. (2000). Urethritis. In *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Mndell, G. L., Bennet, G E., Dolin, R., Churchill Livindstone, New York, 10(5): 1208 - 1217.
- Mestrovic, T., and Ljubin-Sternak, S. (2018). Molecular mechanisms of *Chlamydia trachomatis* resistance to antimicrobial drugs, *Front Biosci. (Landmark Ed).*, 1(23): 656 - 670.

- Meye, T. (2016). Diagnostic Procedures to Detect Chlamydia trachomatis Infections. *Microorganisms*, 4(3): 25.
- Michel, C.E., Sonnex, C., Carne, C.A., White, J.A., Magbanua, J.P., Nadala, E.C., Jr, Lee, H.H. (2007). Chlamydia trachomatis load at matched anatomic sites: implications for screening strategies. *J Clin Microbiol.* 45(5): 1395 - 1402.
- Miller, B.R., Taylor-Robinson, D., Furr, P.M., Toft, B., Allen, J. (1985). Serological evidence that Chlamydiae and Mycoplasmas are involved in infertility of women. *J Reprod Fertil*, 73: 237- 240.
- Mishori, R., McClaskey, E.L., and WinklerPrins, V.J. (2012). Chlamydia trachomatis infections: screening, diagnosis and management, *Am Fam Physician.*, 86(12): 1127 – 1132.
- Möller, J.K., Pedersen, L.N., and Persson, K. (2010). ComParison of the Abbott RealTime CT new formulation assay with two other commercial assays for detection of wild-type and new variant strains of Chlamydia trachomatis. *J. Clin. Microbiol.* 48: 440 – 443.
- Morowitz, H.J., and Wallace, D.C. (1973). Genome size and life cycle of the Mycoplasma. *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 225: 62 - 73.
- Mullis, K.B., and Faloona, F.A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.*, 55: 335 – 350.
- Munday, P., Furr, P., Taylor-Robinson, D. (1981). The prevalence of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in the cervix and anal canal of women. *J.Infect.*, 31(4): 253 - 257.
- Munson, E. (2017). Molecular Diagnostics Update for the Emerging (If Not Already Widespread) Sexually Transmitted Infection Agent Mycoplasma genitalium: Just About Ready for Prime Time. *J Clin Microbiol.*, 55(10): 2894 - 2902.
- Murray, S.M., and McKay, P.F. (2021). Chlamydia trachomatis: Cell biology, immunology and vaccination. *Vaccine*, 39(22):2965 - 2975.
- Mylonas, I. (2012). Female genital Chlamydia trachomatis infection: Where are we heading? *Arch. Gynecol. Obstet.*, 285: 1271 – 1285.

- Nunez-Foreno, L., Moyano-Ariza, L., Gaitan-Duarte, H., Ángel-Müller, E., Ruiz-Parra, A., González, P., Rodríguez, A., Tolosa, J.E. (2016). Diagnostic accuracy of rapid tests for sexually transmitted infections in symptomatic women. *Sex. Transm. Infect.* 92: 24 – 28.
- Nye, M.B., Osiecki, J., Lewinski, M, Liesenfeld, O., Young, S., Taylor, S.N., Lillis, R.A., Body, B.A., Eisenhut, C., Hook Iii, E.W., Van Der Pol, B. (2019). Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* with the cobas CT/NG v2.0 test: performance compared with the BD ProbeTec CT Qx and GC Qx amplified DNA and Aptima AC2 assays., *Sex Transm Infect.*, 95(2): 87 - 93.
- Nyvold, C., Birkelund, R., and Christiansen, G. (1997). The *Mycoplasma hominis* P120 membrane protein contains a 216 amino acid hypervariable domain that is recognized by the human immune response. *Microbiology*, 143: 675 - 688.
- Oakeshott, P., Hay, P., Taylor-Robinson, D., Hay, S., Dohn, B., Kerry, S., Jensen, J.S. (2004). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in early pregnancy and relationship between its presence and pregnancy outcome. *BJOG*. 111(12): 1464 -1467.
- Ota, K.V., Tamari, I.E., Smieja, M., Jamieson, F., Jones, K.E., Towns, L., Juzkiw, J., Richardson, S.E. (2009). Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD ProbeTec ET system, the Gen-Probe Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex. Transm. Infect.* 85: 182 – 186.
- Paavonen J. (2012). *Chlamydia trachomatis* infections of the female genital tract: state of the art, *Ann Med.*, 44(1): 18 - 28.
- Papp, J.R., Schachter, J., Gaydos, C.A., van der Pol, B. (2014). Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014. *MMWR Recomm. Rep.* 63: 1 – 19.
- Pereye, S., Bebear, C., and Dupon, M. (2002). *Mycoplasma hominis*, *M.genitalium* and *Ureaplasma* spp. Antimicrobe, Available at <http://www.antimicrobe.org/m06.asp#r60>

- Pereyre, S.P. Gonzalez, B., de Barbeyrac, A., Darnige, H., Renaudin, A., Charron, S., Raheison, C., Bebear, C., Bebear, M. (2002). Mutations in 23S rRNA Account for Intrinsic Resistance to Macrolides in *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma fermentans* and for Acquired Resistance to Macrolides in *M. hominis*, *Antimicrob. Ag. And Chemoth.*, 46(10): 3142-3150.
- Price MJ, Ades A, Soldan K, Welton, J.N., Macleod, J., Simms, I., DeAngelis, D., Tunner, KI., Horner, J.P. (2016). The natural history of *Chlamydia trachomatis* infection in women: a multi-parameter evidence synthesis, *Health Technol Assess*, 20:22.
- Public Health England. (2014). Opportunistic chlamydia screening of young adults in England: an evidence summary. London: Public Health England.
- Rahimkhani, M., Mordadi, A., Gilanpour, M. (2018). Detection of urinary *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and human papilloma virus in the first trimester of pregnancy by PCR method, *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*, 17(1): 25.
- Ramirez, C., Casanova, G., Menoca, G., Ortiz, F., Ahued, R. (2004). Prevalencia de la infeccion cervico-vaginal por *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en pacientes ginecologicas del Instituto Nacional de Perinatologia. *Enf. Inf. Microbiol.*, 24(1): 107 - 111.
- Razin, S. (1978). The Mycoplasmas. *Microbiological Reviews*, 42: 414 - 470.
- Razin, S., Yogen, D., Naot, Y. (1998). Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(4): 1094 - 1156.
- Rawre, J., Juyal, D., and Dhawan, B. (2017). Molecular typing of *Chlamydia trachomatis*: An overview. *Indian J Med Microbiol.* 35: 17 – 26.
- Rivera, J.A., Centeno, M., Santellan, O.M., Rodriguez, N.M. (2004). Prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en mujeres. *Rev. Mex. Pato. Clin.*, 51(1): 33 - 36.

- Roberts, M.C., and Kenny, G.E. (1986). Dissemination of the tetM tetracycline resistance determinant to *Ureaplasma urealyticum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29: 350 – 352.
- Robinson, A.J., and Ridgway, G.L. (1996). Modern diagnosis and management of genital *Chlamydia trachomatis* infection. *Br. J. Hosp. Med.* 55: 388 – 393.
- Rosenstein, I.J., Morgan, D.J., Sheehan, M., Lamont, R.F., Taylor-Robinson, D. (1996). Bacterial vaginosis in pregnancy: distribution of bacterial species in different gram-stain categories of the vaginal flora. *J Med Microbiol*, 45: 120-126.
- Schachter, J., McCormack, W.M., Chernesky, M.A., Martin, D.H., Van Der Pol, B., Rice, P.A., Hook, E.W., Stamm, W.E., Quinn, T.C., Chow, J.M. (2003). Vaginal swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol.* 41(8): 3784 - 3789.
- Schachter, J., Stamm, W.E., Quinn, T.C., Andrews, W.W., Burczak, J.D., Lee, H.H. (1994). Ligase chain reaction to detect *Chlamydia trachomatis* infection of the cervix. *J Clin Microbiol.* 32(10): 2540 - 2543
- Saikku, P. (2003). *Chlamydia*. In: Cohen, J. *Infectious Diseases*, 2nd ed. Orlando, Florida, USA, Mosby.
- Sexually Transmitted Diseases Surveillance, (2012). Available at: www.cdc.gov/std/stats12/default.htm
- Shepard, M.C., Luncford, C.D., Ford, D.K., Purcell, R.H., Taylor-Robinson, D., Razin, S., Black, F.T. (1974). *Ureaplasma urealyticum* gen. nov. sp. nov.: proposed nomenclature for the human T 7 (T-strain) *Mycoplasmas*. *Int J Syst Bacteriol*, 24: 160 – 171.
- Shepard, M.C., and Luncford, C.D. (1976). Differential agar medium (A7) for identification of *Ureaplasma Urealyticum* (Human T *Mycoplasmas*) in primary cultures of clinical material. *J. Clin. Microbiol.*, 3: 613 - 625.
- [Shetty](#), S., Kouskouti, C., Schoen, U., Evangelatos, N., [Vishwanath](#), S., Satyamoorthy, K., [Kainer](#), F., [Brand](#), A. (2021). Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genital infections in the era of genomic medicine. *Braz J Microbiol.* 52(3): 1327 - 1339.

- Shipitsyna, E., and Unemo, M. (2020). A profile of the FDA-approved and CE/IVD-marked Aptima Mycoplasma genitalium assay (Hologic) and key priorities in the management of M. genitalium infections. *Expert Rev Mol Diagn.*, 20(11): 1063 - 1074.
- Simms, I., Eastick, K., Mallinson, H., Thomas, K., Gokhale, R., Hay, P., Herring, A., Rogers, P.A. (2003). Associations between Mycoplasma genitalium, Chlamydia trachomatis and pelvic inflammatory disease. *J Clin Pathol.* 56(8): 616 - 618.
- Smith, D.G., Russell, W.C. and Thirkell, D. (1994). Adherence of Ureaplasma urealyticum to human epithelial cells. *Microbiology*, 140: 2893 – 2898.
- Soper, D.E. (2010). Pelvic inflammatory disease, *Obstet Gynecol.*, 116(21): 419 – 428.
- Svenstrup, H.F., Fedder, J., Kristoffersen, S.E., Trolle, B., Birkelund, S., Christiansen, G. (2008). Mycoplasma genitalium, Chlamydia trachomatis, and tubal factor infertility--a prospective study. *Fertil Steril.* 90(3): 513 - 520.
- Tabrizi, S.N., Costa, A.M., Su, J., Lowe, P., Bradshaw, C.S., Fairley, C.K., Garland, S.M. (2016). Evaluation of the Hologic Panther Transcription-Mediated Amplification Assay for Detection of Mycoplasma genitalium . *J Clin Microbiol* 54(8): 2201 – 2203.
- Tang, F.F., Chang, H.L., Huang, Y.T., Wang, K.C. (1957). Studies on the etiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo. *Chin Med J.* 75: 429 - 447.
- Taylor-Robinson, D., and McCormack, W.M. (1980). The genital Mycoplasmas. *N Engl Med*, 302: 1003 - 1010.
- Taylor-Robinson, D., and Furr, P.M. (1998). Update on sexually transmitted Mycoplasmas. *Lancet*, 351(3): 12 - 15.
- Taylor-Robinson, D., and Jensen. J.S. (2011). Mycoplasma genitalium: from Chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev.*, 24(3): 498 - 514.

- Taylor-Robinson, D., Jensen, J.S., Svenstrup, H., Stacey, C.M. (2012). Difficulties experienced in defining the microbial cause of pelvic inflammatory disease. *Int. J. STD AIDS*, 23(1): 18 - 24.
- Thomsen, A.C. (1978). Mycoplasmas in human pyelonephritis: demonstration of antibodies in serum and urine. *J Clin Microbiol.*, 8: 197 - 202.
- Todd, W.J., and Caldwell, H.D. (1985). The interaction of *Chlamydia trachomatis* with host cells ultrastructural studies of the mechanism of release of a biovar II strain from HeLa 229 cells, *J Infect Dis*, 151: 1037 - 1044.
- Tully, J.G., Taylor-Robinson, D., Cole, R.M., Rose, D.L. (1981). A newly discovered *Mycoplasma* in the human urogenital tract. *Lancet*, i: 1288 - 1291.
- Tully, J.G., Taylor-Robins, D., Rose, L., Cole, R.M., Boye, J.M. (1983). *Mycoplasma genitalium*, a new species from the human urogenital tract. *Int Syst Bacteriol*, 33: 387 - 396.
- Van den Broek, I.V., van Bergen, J.E., Brouwers, E.E. (2012). Effectiveness of yearly, register based screening for chlamydia in the Netherlands: controlled trial with randomised stepped wedge implementation, *BMJ*, 345: 4316.
- Van Dommelen, L., van Tiel, F.H., Ouburg, S., Brouwers, E.E., Terporten, P.H., Savelkoul, P.H., Morré, S.A., Bruggeman, C.A., Hoebe, C.J. (2010). Alarming poor performance in *Chlamydia trachomatis* point-of-care testing. *Sex. Transm. Infect.* 86: 355 – 359.
- Van der Helm, J.J., Sabajo, L.O.A., Grunberg, A.W., Morré, S.A., Speksnijder, A.G., de Vries, H.J. (2012). Point-of-care test for detection of urogenital *Chlamydia* in women show low sensitivity. A performance evaluation study in two clinics in Surinam. *PLoS ONE*. 7:25.
- Van der Pol, B., Ferrero, D., Buck-Barrington, L., Hook, E.W., III, Lenderman, C., Quinn, T., Gaydos, C.A., Lovchik, J., Schachter, J., Moncada, J. (2001). Multicenter evaluation of the BD ProbeTec ET system for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine specimens, female endocervical swabs, and male urethral swabs. *J. Clin. Microbiol.* 39: 1008–1016.

- Waites, K.B., Rikihisu, Y., and Tylor-Robinson, D.J. (2003). Mycoplasmas and obligate intracellular bacteria, Murray P R., Jo Baron, E., Jorgensen, J H., Phaller, M. A., Tenover, R. H., Manual of Clinical Microbiology, 8th Edition, vol. 1, ASM Press Washington DC, 972 - 990.
- Waites, K.B., Crabb, D.M., Ratliff, A.E., Geisler, W.M., Atkinson, T.P., Xiao, L. (2023). Latest Advances in Laboratory Detection of *Mycoplasma genitalium*. Journal Clinical Microbiology, 61:e00790-21.
- Waites, K.B., Katz, B., and Schelonka, R.L. (2005). Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens, Clin. Microb. Rev., 757–789.
- Wang, J., Zhang, Y., Lu, C., Lei, L., Yu, P., Zhong, G. (2010). A genome-wide profiling of the humoral immune response to *Chlamydia trachomatis* infection reveals vaccine candidate antigens expressed in humans. J. Immunol. 185: 1670 – 1680.
- Wasinger, V.C., Cordwell, S.J., Cerpa-Poljak, A., Yan, J.X., Gooley, A.A., Wilkins, M.R., Duncan, M.W., Harris, R., Williams, K.L., Humphery-Smith, I. (1995). Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. Electrophoresis. 16(7): 1090 - 1094.
- Wijers, J.N.A.P., Hoebe, C.J.P.A., van Lier, G.A.F.S. (2019). *Chlamydia trachomatis* bacterial load, estimated by Cq values, in urogenital samples from men and women visiting the general practice, hospital or STI clinic. PLoS ONE. 14:e0215606.
- Wisniewski, C.A., White, J.A., Michel, C.E., Mahilum-Tapay, L., Magbanua, J.P.V., Nadala, E.C.B., Jr., Barber, P.J., Goh, B.T., Lee, H.H. (2008). Optimal method of collection of first-void urine for diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in men. J. Clin. Microbiol. 46: 1466–1469.
- Woodhall, S.C., Soldan, K., Sonnenberg, P., Mercer, C.H., Clifton, S., Saunders, P., da Silva, F., Alexander, S., Wellings, K., Tanton, C., Field, N., Copas, A.J., Ison, C.A., Johnson, A.M. (2016). Is chlamydia screening and testing in Britain reaching young adults at risk of infection? Findings from the third National

- Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal-3). *Sex Transm Infect.* 92(3): 218 - 227.
- Workowski, K.A., and Berman, S.M. (2006). Sexually transmitted diseases treatment guidelines, *MMWR Recomm Rep.* 55(11): 1 – 94.
- Workowski, K.A., Bachmann, L.H., Chan, P.A., Johnston, C.M., Muzny, C.A., Park, I., Reno, H., Zenilman, J.M., Bolan, G.A. (2021). Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recomm. Rep.* 70: 1 – 187.
- World Health Organization, (WHO). (2012). Global Incidence and Prevalence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections—2008. Geneva: World Health Inst.
- Xiao, L., Glass, J.I., Paralanov, V., Yooseph, S., Cassell, G.H., Duffy, L.B., Waites, K.B. (2010). Detection and characterization of human *Ureaplasma* species and serovars by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 48(8): 2715 – 2723.
- Yoshida, T., Maeda, S., Deguchi, T., Ishiko, H. (2002). Phylogeny-based rapid identification of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* from urethritis patients. *J. Clin. Microb.*, 105-110.
- Yang, S., Zeng, J., Yu, J., Sun, R., Tuo, Y., Bai, H. (2024). Insights into Chlamydia Development and Host Cells Response. *Microorganisms*, 12(7): 1302.
- Yueyue, W., Feichen, X., Yixuan, X., Lu, L., Yiwen, C., Xiaoxing, Y. (2022). Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: Unraveling Ariadne's Thread. *Virulence*, 13(1): 1161-1183.
- Zarei, O., Rezaia, S., Mousavi, A. (2013). *Mycoplasma genitalium* and cancer: a brief review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 14(6):3 425 – 3428.
- Zuo, C.X., Huang, J.H., Chen, J., Lu, J.Y., Xiang, Y.P. (2006). Female urogenital *Mycoplasma* infection nad drug sensitivity statuw in Changsha. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 26(6): 831 - 836.

ΙΣΤΟΤΟΠΟΙ

<http://dubaistdclinic.com>

<https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/lgv.htm>

www.cdc.gov/std/stats12/default.htm

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/05/smn_dedomena_2023.pdf

<https://www.goldbio.com>

<https://www.bmglabtech.com>

<https://el.wikipedia.org/immunochromatography>

<https://microbeonline.com>

<https://www.elitechgroup.com>

<https://www.researchgate.net>

<https://www.biomerieux-diagnostics.com>

<http://www.biobest.com>

<https://www.medicalexpo.com>

<https://www.liofilchem.com>

http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT_ID=142204&XNSPRACHE_ID=2&XNKONGRESS_ID=161&XNMASKEN_ID=900

<https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/lgv.htm>

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-annual-epidemiological-report-2022>

www.who.int/gho/sti/statistical_reports/en/

<http://www.antimicrobe.org/m06.asp#r60>

www.cdc.gov/std/stats12/defaultl.htm