

## *Mycoplasma genitalium* resistente a macrólidos: un problema de salud poco conocido en Cuba, y en aumento

### Macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium*: a hardly known health problem in Cuba, and on the rise

Mondeja, Brian; Curí, Javier; Rodríguez, Nadia; Orestes, Blanco; Fernández, Carmen; Ortega, Lilia; Sardiñas, Ruxana; Guilarte, Elias; Kourí, Vivian; Jensen, Jorgen

 Brian Mondeja

revistaacc@academiaciencias.cu

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

Javier Curí

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Nadia Rodríguez

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

Blanco Orestes

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Carmen Fernández

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Lilia Ortega

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Ruxana Sardiñas

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Elias Guilarte

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Vivian Kourí

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba, Cuba

 Jorgen Jensen

Statens Serum Institute. Copenhage, Dinamarca, Dinamarca

**Resumen: Introducción:** *Mycoplasma genitalium* constituye un patógeno de transmisión sexual emergente. En estudios preliminares realizados en Cuba, en el Laboratorio Nacional de Referencia de Micoplasma en el Instituto Pedro Kourí, se demuestra la circulación de genotipos resistentes a macrólidos y a tetraciclinas en aislados clínicos en células Vero. Sin embargo, esta metodología es laboriosa y larga, lo cual lo hace poco útil para el manejo clínico y tratamiento de los pacientes. **Objetivos:** implementar una herramienta de diagnóstico molecular rápido y sensible basada en PCR en tiempo real, para determinar la susceptibilidad antimicrobiana a los macrólidos de *M. genitalium*, directamente en las muestras clínicas. **Métodos:** Se implementó una PCR en tiempo real que permite determinar la presencia de *M. genitalium* y su susceptibilidad antimicrobiana a los macrólidos, directamente en las muestras clínicas, lo que disminuye el tiempo entre el diagnóstico y el tratamiento y erradicación de este microorganismo en los pacientes positivos. Este hecho contribuye a cortar las cadenas de transmisión de las ITS causadas por esta bacteria, incidiendo de forma positiva en el programa de control de las ITS en Cuba. Los resultados del método molecular fueron corroborados mediante el aislamiento en cultivos celulares y ensayos fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana, logrando una total coincidencia entre el resultado de la qPCR en la muestra clínicas y los aislados correspondientes. **Resultados:** Se detectó un incremento sustancial de la resistencia a macrólidos en *M. genitalium* desde un 18 % en 2014 hasta un 98 % en 2019, lo que han permitido a las autoridades sanitarias implementar protocolos de tratamiento sindrómicos antimicrobiano para las ITS más exactos, contribuyendo a un mejor uso de los antibióticos en nuestro país, en consonancia a las políticas actuales de la OMS para el uso racional de los antimicrobianos.

**Palabras clave:** *Mycoplasma genitalium*, resistencia antimicrobiana, Cuba, macrólidos, infecciones de transmisión sexual.

**Abstract: Introduction:** *Mycoplasma genitalium* is an emerging sexually transmitted pathogen. Preliminary studies conducted in Cuba, at the National Reference Laboratory of Mycoplasma

Anales de la Academia de Ciencias de Cuba

Academia de Ciencias de Cuba, Cuba  
 ISSN-e: 2304-0106  
 Periodicidad: Cuatrimestral  
 vol. 11, núm. 2, e837, 2021  
[revistaacc@academiaciencias.cu](mailto:revistaacc@academiaciencias.cu)

Recepción: 04 Mayo 2020  
 Aprobación: 23 Septiembre 2020

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/444/4442245031/index.html>

#### Financiamiento

Fuente: La presente investigación fue financiada como parte de un Proyecto de Investigación por el MINSAP y con la colaboración del Staten Serum Institute, Dinamarca.  
 Autor de correspondencia: [revistaacc@academiaciencias.cu](mailto:revistaacc@academiaciencias.cu)

at the Pedro Kourí Institute, demonstrated the circulation of genotypes resistant to macrolides and tetracyclines in clinical isolates in Vero cells. However, this methodology is laborious and long, which makes it unhelpful for the clinical management and treatment of patients. **Aims:** the aim of this study was the implementation of a rapid and sensitive molecular diagnostic tool based on Real Time PCR *Mycoplasma genitalium* antimicrobial susceptibility to macrolides to be determined, directly in clinical samples. **Methods:** this study implemented a rapid and sensitive molecular diagnostic tool based on Real Time PCR, which allows the presence of *M. genitalium* and its antimicrobial susceptibility to macrolides to be determined, directly in clinical samples, which decreases the time between diagnosis and treatment and permits the eradication of this microorganism in positive patients. This fact helps to cut the transmission chains of STIs caused by this bacterium, having a positive impact on the STI control program in Cuba. The results of the molecular method were corroborated by phenotypic tests of antimicrobial susceptibility of isolates in cell cultures, achieving a total coincidence between the result of the qPCR in the clinical sample and the corresponding isolates. **Results:** A substantial increase in macrolide resistance in *M. genitalium* was detected from 18 % in 2014 to 98 % in 2019, which has allowed health authorities to implement more accurate syndromic antimicrobial treatment protocols for STIs, contributing to better use of antibiotics in our country, in line with current WHO policies for the rational use of antimicrobials.

**Keywords:** *antimicrobial resistance, Cuba.*

## INTRODUCCIÓN

*Mycoplasma genitalium* es un patógeno emergente de transmisión sexual y el aumento de la resistencia a los macrólidos se considera un problema de salud a nivel mundial <sup>(1)</sup>. En esta bacteria, la resistencia a los macrólidos está mediada principalmente por mutaciones puntuales en las posiciones A2058 y A2059 (numeración de *Escherichia coli*) en la región V del ARN ribosómico 23S. Estas mutaciones están asociadas con el fracaso del tratamiento con azitromicina y una concentración inhibitoria mínima (MIC) alta para los macrólidos como se documenta en varias cepas de *M. genitalium* <sup>(2,3)</sup>.

La prevalencia de cepas con mutaciones mediadoras de resistencia a macrólidos (MRM) es muy variable y desconocida en muchas regiones. En Europa, Australia y Asia, generalmente es superior al 30 % y, en casos extremos, como en Groenlandia, el 100 % de las cepas de *M. genitalium* portan MRM <sup>(4,5,6,7,8)</sup>. En Cuba, los macrólidos se usan como tratamiento de primera línea para los síndromes urogenitales causados por infecciones de transmisión sexual (ITS), incluidas las infecciones por *M. genitalium* y clamidia.

Desde 2007, el diagnóstico de *M. genitalium* se ha realizado en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), y en los últimos años se han detectado varios casos de fracaso del tratamiento con 1 g de dosis única y regímenes de azitromicina extendida en la clínica IPK - ITS. En 2015, se aisló una nueva cepa de *M.*

---

## NOTAS DE AUTOR

\*Autor para la correspondencia: [mondejabrian@gmail.com](mailto:mondejabrian@gmail.com)

*genitalium* resistente a macrólidos (mutación B19, A2059G) de uno de estos pacientes mediante el cultivo conjunto de células Vero<sup>(9)</sup> y los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos se determinaron mediante un procedimiento de clasificación celular<sup>(10)</sup>. Sin embargo, no hay datos disponibles sobre la frecuencia de cepas de *M. genitalium* con MRM en Cuba, pero la experiencia clínica de fracasos del tratamiento con macrólidos y el aislamiento de al menos una cepa con MRM sugiere la posible circulación de MRM con cepas de *M. genitalium* en pacientes cubanos después de 2015, que tiene implicaciones directas para la efectividad del tratamiento sintromico de las ITS.

El objetivo de la presente investigación fue implementar una PCR en Tiempo Real (qPCR) que permita determinar la frecuencia de MRMM en *M. genitalium* - muestras positivas conservadas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Investigación de Micoplasma de Cuba en IPK entre 2009 y 2019.

## MÉTODOS

Se implementó una PCR en tiempo real que permite determinar la presencia de *M. genitalium* y su susceptibilidad antimicrobiana a los macrólidos, directamente en las muestras clínicas, lo que disminuye el tiempo entre el diagnóstico y el tratamiento y erradicación de este microorganismo en los pacientes positivos. Este hecho contribuye a cortar las cadenas de transmisión de las ITS causadas por esta bacteria, incidiendo de forma positiva en el programa de control de las ITS en Cuba.

Los resultados del método molecular fueron corroborados mediante el aislamiento en cultivos celulares y ensayos fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana, logrando una total coincidencia entre el resultado de la qPCR en la muestra clínicas y los aislados correspondientes

## RESULTADOS

### Resultados de la implementación del qPCR para la detección de resistencia a macrólidos

Con la modificación realizada a la metodología desarrollada por Kristiansen et al.<sup>(11)</sup> se obtuvo una correcta identificación de las cepas utilizadas, tanto de las resistentes como de las sensibles. Comparando el presente ensayo con los resultados publicados en el artículo original se obtuvieron los mismos patrones gráficos, distribuyéndose cada genotipo (sensible y resistente) en las agrupaciones espaciales previamente explicadas. Todas las muestras amplificaron en los dos canales de emisión de fluorescencia (rojo y verde).

Por otra parte, el límite de detección del qPCR MRM fue 1 geq/ $\mu$ L. El bajo límite de detección que presenta el qPCR le confiere una alta sensibilidad, y por tanto una mayor eficiencia para confirmar la presencia de mutaciones que condicionan la resistencia a macrólidos.

Los macrólidos son considerados la primera línea de tratamiento contra las infecciones causadas por *Mycoplasma genitalium*. Sin embargo, los altos niveles de resistencia desarrollados por dicho patógeno, hacia esta clase de antibióticos, constituyen una problemática a nivel mundial. Por ello se hace necesario el desarrollo y puesta en práctica de nuevos métodos moleculares que identifiquen con una mayor rapidez y precisión los determinantes genéticos que condicionan este fenotipo<sup>(12)</sup>.

Hasta el momento, la metodología planteada en este estudio para identificación de mutaciones puntuales, basadas en el polimorfismo del simple nucleótido constituye una de las mejores alternativas para el diagnóstico de infecciones de transmisión sexual asociadas a *M. genitalium*. La alta sensibilidad de esta técnica y el fácil manejo de la misma condicionan su uso como ensayo rutinario en las distintas clínicas del mundo.

### *Frecuencia de aislados resistentes a macrólidos en muestras clínicas positivas a *Mycoplasma genitalium**

La frecuencia total de *M. genitalium* resistente a macrólidos, en este estudio, fue de un 49 % (301/615). Las mutaciones A2058G/A2059G fueron registradas en 279 de las muestras con genotipo resistente; mientras que en las 22 restantes se registraron las mutaciones A2058C/T. Los valores referentes a la cantidad de muestras positivas a *M. genitalium*, en cada año de la investigación, así como la cantidad de muestras sensibles, resistentes y aquellas que no amplificaron; se recogen en una tabla (tabla 1). Fueron encontradas diferencias, estadísticamente significativas, en la frecuencia de positividad a MRM, por años, de las muestras clínicas analizadas ( $p = 0,0352^*$ ).

La prevalencia de MRM en Cuba, después del año 2014, fue alta (32,1 %) y con un marcado incremento en el 2016 (89,7 %) ( $p = 0,0391^*$ ). En el año 2015, todas las muestras tomadas que se identificaron con el genotipo mutante presentaron fallos al tratamiento con azitromicina y la infección fue erradicada con una terapia combinada de levofloxacina y doxiciclina. Para el 2019 prácticamente todas las muestras positivas a *M. genitalium* portaban MRM (98 %) lo que nos da una idea de los altos niveles de circulación de este genotipo en el país.

El incremento de la resistencia a macrólidos también se informa en Groenlandia, donde alcanzan el 100 %. En dicha región, se emplea el manejo sindrómico contra los cuadros clínicos de síndrome uretral y cervicitis. Además, mantienen un tratamiento de régimen extendido, incluso, con las infecciones por *Chlamydia trachomatis* <sup>(5)</sup> Este sistema de tratamiento se relaciona, directamente, con la selección de resistencia a macrólidos; de ahí el elevado índice. El nivel de resistencia y los genotipos de las mutaciones más frecuentes publicados en la presente investigación, son similares a los reportados en Dinamarca, Reino Unido y Australia, donde se registran índices de prevalencia del 40 %, 41 % y 43 % respectivamente <sup>(4,3,8)</sup>. Sin embargo, en Australia, en el año 2017,

*M. genitalium* MRM se ha incrementado hasta 63 % (estudio en Melbourne); semejante a los niveles en Nueva Zelanda (74 %) <sup>(13,14)</sup>. A pesar de la inexistencia de datos acerca de *M. genitalium* MRM en otras regiones de América Latina o que simplemente esa información no se encuentra disponible, no debería ser alarmante encontrar niveles de *M. genitalium* MRM en otras regiones donde se empleen estrategias de tratamientos, con macrólidos, en el caso de las infecciones de transmisión sexual.

TABLA 1.  
Total de muestras positivas a *Mycoplasma genitalium*, con el número de muestras sensibles, resistentes y las que no amplificaron en cada año del estudio

| Año de estudio | Número de muestras sensibles (%) | Número de muestras resistentes (%) | Total de muestras positivas a <i>M. genitalium</i> | Muestras no amplificables |
|----------------|----------------------------------|------------------------------------|--|---------------------------|
| 2009           | 3 (100 %)                        | -                                  | 3  | 0                         |
| 2010           | 5 (100 %)                        | -                                  | 8  | 3                         |
| 2011           | 21 (100 %)                       | -                                  | 24   | 3                         |
| 2012           | 8 (100 %)                        | -                                  | 8  | 0                         |
| 2013           | 28 (100 %)                       | -                                  | 39   | 11                        |
| 2014           | 38 (67,9 %)                      | 18 (32,1 %)                        | 77   | 21                        |
| 2015           | 31 (73,8 %)                      | 11 (26,2 %)                        | 65   | 23                        |
| 2016           | 4 (10,3 %)                       | 5 (89,7 %)                         | 56   | 17                        |
| 2017           | 37 (46 %)                        | 44 (54,0 %)                        | 81   | 0                         |
| 2018           | 28 (27 %)                        | 77 (73,0 %)                        | 105  | 0                         |
| 2019           | 3 (2,0 %)                        | 146 (98,0 %)                       | 149  | 0                         |

En el 2016 las Guías Europeas para el diagnóstico y el tratamiento de las infecciones por *M. genitalium* sugieren la detección inicial del patógeno mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, seguidas por ensayos para determinar la resistencia a macrólidos, con el objetivo de establecer una línea a seguir en las decisiones terapéuticas sobre el tratamiento de elección. La necesidad de emplear un segundo ensayo para determinar la resistencia a macrólidos está aparejado a la rápida distribución y diseminación geográfica de MRM en *M. genitalium*. En la mayoría de las clínicas, la azitromicina constituye una de las primeras líneas de elección frente a la uretritis y cervicitis y si bien es cierto que fue inicialmente, altamente, efectiva contra *M. genitalium*; los niveles de cura luego de haber sido administrado una dosis de 1g han disminuido en un 69 %, según estudios, después del 2009 <sup>(15,16,17)</sup>.

Ante este análisis, en enero del 2017, se estableció en el LNRM-IPK una nueva estrategia de diagnóstico molecular para las muestras que llegaban al laboratorio con posibles infecciones con *M. genitalium*. Primeramente, a las muestras se les realizaba el PCR mgpB para identificar la presencia del patógeno y aquellas que resultaron positivas se les realizó el qPCR MRM. Solo las muestras con una carga bacteriana por debajo de 1geq/ $\mu$ L resultaron negativas al qPCR MRM.

Esta nueva estrategia de diagnóstico justifica la disminución en la prevalencia de MRM en el 2017 ya que se cambió del manejo sintomático de las muestras al diagnóstico etiológico del agente infeccioso, evitando de esta manera la administración de dosis subóptimas de azitromicina que seleccionen la resistencia en pacientes que estuviesen infectados

con cepas sensibles. El nuevo tratamiento a seguir consistía en la aplicación de un régimen extendido de azitromicina, donde a cada paciente se le administró 1,5 g del antibiótico. En caso de fallo al tratamiento con persistencia de la infección fueron administradas, en combinación, doxiciclina y levofloxacina. La doxiciclina

se administró 100 mg, cada doce horas, durante catorce días y la levofloxacin 400 mg cada doce horas también durante la misma cantidad de días.

Se lograron obtener un total de catorce aislados; de los cuales 6 (B1, B5, B6, B8, B10 y B11) fueron previamente obtenidos, en el laboratorio, antes del presente estudio. Los 8 aislados restantes fueron: B25, B26, B27, B28, B29, B30, B31 y B32.

Al realizar el ensayo de genotipificación a cada aislado y compararlos con las secuencias depositadas en el Gene- Bank se observaron 5 diferentes genotipos, entre los que se encontraban el genotipo 4, el genotipo 7, los genotipos Cuba 1 y 2 y una secuencia no registrada hasta el momento en la literatura que se identificó, en este estudio, como Cuba 3.

### *Determinación de los patrones de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de Mycoplasma genitalium*

De los catorce aislados empleados en este ensayo (sin contar los 3 controles), un total de diez aislados (B1, B5, B6, B8, B10, B11, B27, B28, B29 y B32) se caracterizaron como genotipo salvaje mediante la genotipificación con el qPCR MRM y dicho resultado se corresponde con el análisis fenotípico mediante el CMI, donde todos fueron sensibles a la azitromicina con valores de CMI  $\leq 0,125$  mg/L. Los 4 aislados

restantes (B25, B26, B30 y B31) fueron resistentes a la azitromicina con valores de CMI  $\geq 16$  mg/L y estos resultados también coincidieron con la caracterización por el qPCR MRM, donde fueron identificados como resistentes a macrólidos con las posibles mutaciones A2058G y A2059G.

Para las tetraciclinas los valores de CMI también oscilaban entre 0,125-2 mg/L en la mayoría de los aislados. El aislado B11 fue el único que resultó ser resistente a esta droga con un valor de CMI  $\geq 16$  mg/L. Por otra parte, en el caso de las fluoroquinolonas, la moxifloxacin fue el antibiótico del ensayo con mayor actividad; siendo todos los aislados sensibles a este antimicrobiano con valores de CMI  $\leq 0,125$  mg/L. En cuanto a la levofloxacin, tampoco se detectó resistencia con valores de CMI que oscilaban entre 0,125-2 mg/L.

Aunque no se hayan encontrado aislados resistentes a fluoroquinolonas, no podemos afirmar la no circulación de cepas con este genotipo, ya que la cantidad de aislados obtenidos en este estudio, no son representativos para indicar la prevalencia de resistencia a esta clase de antimicrobiano. El primer reporte de resistencia a moxifloxacin fue en Australia, Sydney<sup>(18)</sup> (Couldwell et al., 2015). Al igual en Japón se registran valores cercanos al 47 % de prevalencia<sup>(19)</sup>.

De esta forma se implementa una herramienta de diagnóstico molecular rápido y sensible basada en PCR en tiempo real, que permite determinar la presencia de *M. genitalium* y su susceptibilidad antimicrobiana a los macrólidos, directamente en las muestras clínicas, lo que disminuye el tiempo entre el diagnóstico y el tratamiento y erradicación de este microorganismo en los pacientes positivos. Este hecho contribuye a cortar las cadenas de transmisión de las ITS causadas por esta bacteria, incidiendo de forma positiva en el programa de control de las ITS en Cuba. Los resultados del método molecular fueron corroborados mediante el aislamiento en cultivos celulares y ensayos fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana, logrando una total coincidencia entre el resultado de la qPCR en las muestras clínicas y los aislados correspondientes. La detección del incremento sustancial de la resistencia a macrólidos en *M. genitalium* desde un 18 % en 2014 hasta un 98 % en 2019, ha permitido a las autoridades sanitarias implementar protocolos de tratamiento sintomáticos antimicrobiano para las ITS más exactos, lo cual se corrobora en las bases normativas para el manejo de las ITS, recogidas en el Plan Estratégico Nacional para el Control de las ITS, el VIH, y las hepatitis 2019-2023, vigente en Cuba, contribuyendo a un mejor uso de los antibióticos en nuestro país, en consonancia a las políticas actuales de la OMS para el uso racional de los antimicrobianos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar su agradecimiento a Brad Spiller, Celeste Ramírez, Darien Fonseca, María Isela Lantero, Bárbara Venegas, Gilda Toraño, Adalberto Águila, Laboratorio de Infecciones Respiratorias Virales-IPK, Laboratorio de ETS virales- IPK, Laboratorio de Treponemas y Patógenos Especiales-IPK, Laboratorio Nacional de Micología-IPK, por su colaboración en este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Unemo M, Jensen JS. Antimicrobial-resistant sexually transmitted infections: gonorrhoea and *Mycoplasma genitalium*. *Nat Rev Urol*. 2017;14(3):139-52.
2. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in *Mycoplasma genitalium*-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. *Clin Infect Dis*. 2008; 47(12):1546-53.
3. Jensen JS, Fernandes P, Unemo M. In vitro activity of the new fluoroketolide solithromycin (CEM-101) against macrolide-resistant and – susceptible *Mycoplasma genitalium* strains. *AAC*. 2014; 58 (6):3151-6.
4. Salado-Rasmussen K, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* testing pattern and macrolide resistance: a Danish nationwide retrospective survey. *Clin Infect Dis*. 2014;59(1):24-30.
5. Gesink DC, Mulvad G, Montgomery-Andersen R, Poppel U, Montgomery-Andersen S, Binzer A, et al. *Mycoplasma genitalium* presence resistance and epidemiology in Greenland. *Int J Circumpolar Health*. 2012; 71:1-8.
6. Pond MJ, Nori AV, Witney AA, Lopeman RC, Butcher PD, Sadiq ST. High prevalence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* in nongonococcal urethritis: the need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. *Clin Infect Dis*. 2014; 58:631-7.
7. Nijhuis RH, Severs TT, Van der Vegt DS, Van Zwet AA, Kusters JG. High levels of macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* warrant antibiotic susceptibility-guided treatment. *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70:2515-8.
8. agg KA, Jeffreys NJ, Couldwell DL, Donald JA, Gilbert GL. Fluoroquinolone and macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. *J Clin Microbiol*. 2013;51(7):2245-9.
9. Jensen JS, Hansen HT, Lind K. Isolation of *Mycoplasma genitalium* strains from the male urethra. *J Clin Microbiol*. 1996; 34(2):286-91.
10. Mondeja BA, Rodriguez NM, Barroto B, Blanco O, Jensen JS. Antimicrobial susceptibility patterns of recent Cuban *Mycoplasma genitalium* isolates determined by a modified cell-culture-based method. *PLoS One*. 2016;11(9): e0162924.
11. Kristiansen GQ, Lisby JG, Schønning K. A 5' Nuclease Genotyping Assay for Identification of Macrolide Resistant *Mycoplasma genitalium* Clinical Specimens. *J Clinical Microbiol*. 2016;54(6):1593-7.
12. Touti A, Peachant O, Jensen JS, Bebear C, Pereyre S. Direct detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* isolates from clinical specimens from France by use of real-time PCR and melting curve analysis. *J Clinical Microbiology*. 2014;52(5):1549-55.
13. Tabrizi SN, Su J, Bradshaw CS, et al. Prospective evaluation of resistance Plus MG, a new multiplex qPCR assay for detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance. *J Clin Microbiol*. 2017 ;(6):1915-9.
14. Basu I, Roberts SA, Bower JE, Henderson G, Reid M. High macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* strains causing infection in Auckland, New Zealand. *J Clin Microbiol*. 2017;55(7):2280-2.
15. Manhart LE, Jensen JS, Bradshaw CS, Golden MR, Martin DH. Efficacy of antimicrobial therapy for *Mycoplasma genitalium* infections. *Clin Infect Dis*. 2015;61(Suppl 8): S802-17.

16. Lau A, Bradshaw C S., Lewis D, Fairley C K., Chen M Y, Kong F Y. S., J S. Hocking. The Efficacy of Azithromycin for the Treatment of Genital *Mycoplasma genitalium*: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2015; 61(9) :1389–1399
17. Manhart LE, Trent M. *Mycoplasma genitalium*: A Review of Current Issues and Challenges. *Contemporary OB/GYN*. [Internet] 2017 [citado 12 Jul 2017]. Disponible en: <https://www.contemporaryobgyn.net/view/mycoplasma-genitalium-review-current-issues-and-challenges>.
18. Couldwell DL, Lewis DA. *Mycoplasma genitalium* infection: current treatment options, therapeutic failure, and resistance-associated mutations. *Infect Drug Resist*. 2015; 8:148-61.
19. Deguchi T, Yasuda M, Horie K, Seike K, Kikuchi M, Mizutani K, et al. Drug resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in female sex workers, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(6):1062- 4.