

centraladn


www.centraladn.com



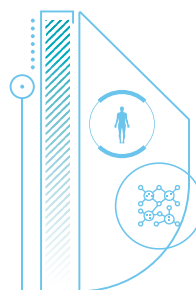
ventas@centraladn.com

01 443 320 1140

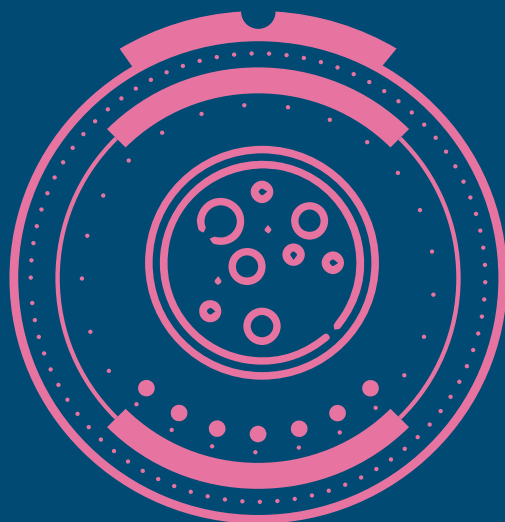
INFECCIONES Y ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (ITS/ETS).



Herramientas de vanguardia y
asequibles para el diagnóstico.



centraladn

www.centraladn.com

La introducción de pruebas basadas en amplificación de ácidos nucleicos (NAAT's) con mayor sensibilidad y especificidad, han dado lugar a nuevas herramientas diagnósticas para detectar infecciones y enfermedades de transmisión sexual (ETS/ITS); por lo tanto, la sensibilidad analítica de este tipo de pruebas es mucho mayor que las técnicas comúnmente utilizadas.

El fundamento de la especificidad de estas técnicas se basa en la detección de sondas o secuencias que son únicas en el microorganismo blanco o de interés; es decir, no se detectan otro tipo de patógenos, aunque pudieran estar estrechamente relacionados.



Las pruebas para identificación de ETS/ITS por NAAT's, permiten diagnosticar casos típicos, atípicos, asintomáticos o coinfecciones; además, de usos no diagnósticos como, detectar grupos de alto riesgo, dar un seguimiento al tratamiento, estudios epidemiológicos, validaciones y estandarización del manejo del cuadro clínico, aseguramiento de la calidad de las pruebas de laboratorio e investigaciones de frontera.

En suma, el desarrollo de estas estrategias de diagnóstico y la mejora de los ya existentes, contribuyen a un proceso más rápido y preciso de detección de ETS/ITS; por lo tanto, para nuestro departamento de salud humana en laboratorios CENTRAL ADN, el desarrollo de paneles (NAAT's) que han demostrado ventajas y utilidad clínicas mayores a los estudios convencionales, ha sido una prioridad, pues permiten una detección múltiple de diversos patógenos en la misma prueba; las cuales, están basadas en sus implicaciones clínicas, prevalencia/incidencia e información de frontera; con el objetivo de obtener respuestas concretas para el paciente.

PANEL: ETS BÁSICO

Candida spp

Neisseria gonorrhoeae

Mycoplasma spp

Ureaplasma spp

Chlamydia trachomatis

Trichomonas vaginalis

Herpes tipos 1 Y 2

Las infecciones y enfermedades de transmisión sexual (ITS/ETS) y vaginosis bacteriana (BV) representan un problema de salud muy importante en todo el mundo; debido a, la alta morbilidad, mortalidad y los costos asociados al manejo de éstas.

Las Organización Mundial de la Salud (WHO) en el "WHO global summit (2012), reportó 340 millones de nuevos casos de sífilis, gonorrea, clamidiasis y tricomoniasis, en el grupo etáreo de 15 a 49 años, en países desarrollados.

Globalmente, las ETS/ITS más comunes son las ocasionadas por *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), Herpes Simplex (HSV) y *Trichomonas vaginalis* (TV) [1-3].

Algunas de estas infecciones suelen cursar asintomáticas, que al no ser detectadas, derivan consecuencias en la salud reproductiva, salud materno-fetal; así como, un mayor riesgo de adquirir otro tipo de infecciones como HIV (virus de inmunodeficiencia humana) [3-6].

La utilización de NAAT's son consideradas las pruebas "gold standard" para la detección de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*; ya que son recomendadas por el centro de control de enfermedades (CDC) gracias a la alta especificidad, sensibilidad y rapidez, cuando son comparadas con las técnicas tradicionales (www.cdc.gov).

Aunque, TV, BV, y *Candida spp.* son responsables de aproximadamente el 90% de las vaginitis infecciosas, la infección por *Trichomonas vaginalis* (TV) es la principal ETS no viral con mayor prevalencia, estimando (WHO) una prevalencia aproximada de 190 millones de casos anuales; con lo cual, se mantiene como una de las infecciones más comunes [7, 8].

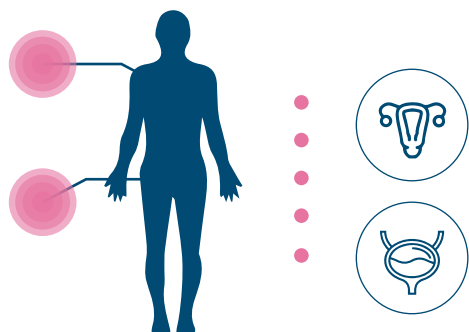
Trichomonas vaginalis

190 MILLONES

ETS no viral



La tricomoniasis ha sido asociada con cuadros clínicos de cervicovaginitis, uretritis, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) y un factor de riesgo para contraer infección por HIV [9]. Esta enfermedad es fácilmente tratable e incluso, prevenible, ya que frecuentemente es asintomática y la transmisión comúnmente se acompaña con otros tipos de ETS/ITS y BV [10].



La candidiasis vulvovaginal (VVC) se caracteriza por una infección de la mucosa genital, vulvar y vaginal por *Candida spp.*, representando una afección inflamatoria aguda con una elevada incidencia y una de los motivos constantes en la consulta ginecológica.

La enfermedad es consecuencia de factores que permiten la proliferación excesiva de la levadura, ya que esta es parte de la microbiota comensal vulvovaginal. Esta patología no es considerada una ITS/ETS; sin embargo, es una condición que puede favorecer la adquisición de alguna de estas [11].

La recurrencia de los síntomas y las recidivas a pesar del tratamiento convencional, colocan a esta enfermedad como "preocupante" a nivel global, impactando en las condiciones femeninas cotidianas y laborales.

Los síntomas clínicos, en diversos eventos, no son específicos y pueden ser asociados a una gran variedad de infecciones vaginales; siendo frecuentemente prurito y ardor vulvar, enrojecimiento, irritación y secreción vaginal similar al queso cottage [12].

Es común la implicación de una sola especie de *Candida*, principalmente *Candida albicans*; sin embargo, también se han aislado otras especies; debido a esto, la detección del género *Candida spp.* amplía la oportunidad de encontrar a más de una especie, puesto que, si es diferente a *Candida albicans*, puede encontrarse resistencia a los antimicóticos habituales como ocurre con *C. glabrata*, que presenta mayor resistencia al fluconazol [13].



La infección por Virus Herpes Simple (HSV) es otra de las infecciones más comunes, con una seroprevalencia en adultos entre el 80-90% ocasionado por HSV-1 y entre el 10-25% por HSV-2.

El cuadro clínico varía desde una infección asintomática hasta signos y síntomas mucocutáneos en región orofacial, ocular y herpes genital e incluso complicaciones graves en sistema neurológico central.

Las pruebas o NAAT's ofrecen rapidez, alta sensibilidad y especificidad, ya que este tipo de virus son complejos de cultivar y los dos más comúnmente detectados están estrechamente relacionados [14, 15].

Virus Herpes Simple (HSV)

80 - 90% HSV-1

10 - 25% HSV-2



Los microorganismos pertenecientes a Ureaplasmas forman parte de la microbiota urogenital; sin embargo, han sido asociados a uretritis no gonocócica (NGU) crónica, parto pretérmino; por lo que, la detección mediante ensayos NAAT's nos dan la oportunidad de detectar pacientes asintomáticos [16].

Las bacterias Mycoplasma contribuyen en el desarrollo de patologías **urogenitales, infertilidad y complicaciones relacionadas con el parto**. Para más información, consulte la sección de paneles de Ureaplasma y Mycoplasma.



PANEL: ETS COMPLEMENTARIO

Este panel está enfocado principalmente, en la detección simultánea de patógenos mayormente relacionados con enfermedades genitales ulcerativas, transmitidas por vía sexual, como son *T. pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, virus del herpes simple, virus del molusco contagioso (MCV) y *Klebsiella spp*.

Haemophilus ducreyi

Herpes tipos 1 y 2

Klebsiella spp

Staphylococcus aureus

Treponema pallidum

Virus del Molusco Contagioso

La **Sífilis**, enfermedad causada por *Treponema pallidum*, que recientemente se ha colocado como una ITS/ETS reemergente, tanto en USA como en todo el mundo [52,53]; se caracteriza por presentar, en su etapa primaria, **úlceras**, que al no ser tratadas, pueden progresar a estadios latentes, donde la ausencia de signos y síntomas es típico.

Quince años atrás, se vislumbró que esta enfermedad estaba en declive; no obstante, en el período **2006-2010, la incidencia mundial se reportó en un 36%**, resultado de prácticas sexuales de alto riesgo, acceso restringido a atención sanitaria y a la apertura sexual entre personas del mismo sexo, especialmente entre hombres "men sex men (MSM)". [53].

Debido a la gravedad de esta enfermedad, particularmente, sífilis congénita, la detección de esta infección es primordial, derivando en la necesidad de diagnósticos más rápidos y específicos. *T. pallidum* no puede cultivarse en medios artificiales, por lo que los NAAT's permiten mediante amplificación de segmentos génicos específicos del DNA genómico de *T. pallidum* detectarlo [17].



Haemophilus ducreyi, es un bacilo gramnegativo que se transmite por contacto sexual, con invasión directa del microorganismo a través de la piel sana o erosionada, es predominantemente más común en hombres en una razón hombre:mujer que va desde 3:1 hasta 25:1 o incluso mayor.

Se ha reportado que los portadores asintomáticos de *H. ducreyi* contribuyen a la dispersión de la infección, ya que se han descrito casos de portadores en la piel sana [18] o en tracto genital femenino [19].

El diagnóstico de laboratorio se ha basado tradicionalmente en el aislamiento de *H. ducreyi* mediante cultivo, que es un procedimiento técnicamente exigente cuyo rendimiento es bajo.

La sensibilidad y la especificidad de la microscopía directa son muy bajas, por lo que su utilidad como herramienta diagnóstica es escasa. Las NAAT's [14, 20] han demostrado que tanto su sensibilidad como su especificidad se aproximan al 99%.



Staphylococcus aureus es un microorganismo poco frecuente con implicaciones importantes en la salud reproductiva, ya que tiene la capacidad de poder adaptarse a distintos microambientes.

Este patógeno se ha descrito como uno de los microorganismos aislados más comunes en cérvix [21]; además, se ha aislado en un 9 a 10% de mujeres asintomáticas, en 10% de las pacientes que han sido sujetas a un proceso quirúrgico ginecobstétrico y con una prevalencia de 75% en las muestras de semen de hombres infértiles.

Se ha propuesto que hay cepas específicas que a través de proteínas y polisacáridos inducen una espermaglutinación, lo cual deriva en el impedimento del desplazamiento de los espermatozoides [22]. Por otro lado, *S. aureus*, son dos patógenos que juegan un papel inductor de apoptosis en los espermatozoides humanos [21, 23].

Algunos casos de ITS e infertilidad, principalmente los ocasionados por hiperviscosidad y oligoastenoteratozoospermia, han sido relacionados con algunos patógenos como *Klebsiella* y *Haemophilus*

Una hipótesis de por qué la viscosidad se ha asociado con infertilidad, es debido a la infección de glándulas accesorias, inflamación y aumento significativo de leucocitos (leucocitospermia) [24], lo cual da lugar a una presencia excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), con la consecuente alteración del ciclo de oxidación de los lípidos y modificaciones en las proteínas intracelulares, ocasionando muerte celular.

Otros cuadros clínicos como la vaginitis aeróbica ha sido identificada en una proporción pequeña de mujeres en donde la microbiota está constituida predominantemente por anaerobios facultativos o bacterias aneróbicas, especialmente, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella spp.* [5, 7].



Otro de los patógenos incluidos en el panel, es el virus del molusco contagioso (MCV), el cual infecta la epidermis, a través del contacto directo entre humanos, incluyendo vía sexual o por fómites contaminados.

La infección por este virus puede confundirse clínicamente con otras infecciones virales, tales como, las ocasionadas por herpes simple, varicela zoster e incluso HPV, principalmente en pacientes inmunocomprometidos. Debido a esta posibilidad, los ensayos como los NAAT's, son una excelente oportunidad diagnóstica de este tipo de infecciones [25].



PANEL: ENFERMEDAD PÉLVICA INFLAMATORIA (EPI)

Chlamydia trachomatis

Neisseria gonorrhoeae

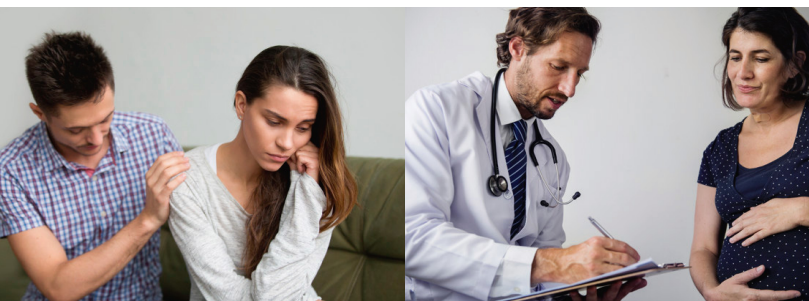
Mycoplasma genitalium

Ureaplasma parvum

Ureaplasma urealyticum

Atopobium vaginae

La entidad (EPI) se define como la infección e inflamación del tracto genital superior femenino; es decir, útero, trompas de Falopio y ovarios.



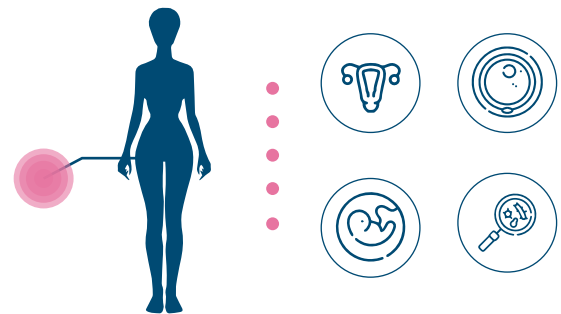
Aunque el diagnóstico, depende mayoritariamente de la clínica, la EPI representa un desafío para el clínico. Esta patología puede ocasionar secuelas reproductivas de impacto, tales como, **infertilidad, dolor pélvico crónico y EPI recurrente**.

Las patologías tubéricas están relacionadas en aproximadamente una cuarta parte de casos de infertilidad [26].

La infertilidad es definida como la **falta de concepción en un período de 12 meses de constante contacto sexual sin protección** [27, 28], representando un problema de salud pública mundial con una tendencia en aumento, que se observa actualmente en 15% de las parejas en edad reproductiva [29] donde los factores masculinos de manera independiente o en combinación con factores femeninos, participan de manera importante en esta etiología; por ejemplo, las infecciones del tracto urogenital masculino son una de las causas significativas de bacteriospermia e infertilidad masculina [30].

El panel de EPI nos permite concentrar aquellos patógenos que han sido clásicamente relacionados, además de otros microorganismos que juegan un papel importante y que cada vez más, a medida que se utilizan técnicas de diagnóstico más precisas, se correlacionan más fuertemente con estos procesos patológicos. Si bien la EPI es una complicación derivada de la infección de los patógenos *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*; en más de 70% de los casos la etiología es desconocida.

Muchos estudios han encontrado distintos patógenos que ocasionan EPI no gonocócica o no clamidiasica; uno de ellos es el microorganismo anaerobio *Atopobium vaginae*, un patógeno asociado a patologías como el **absceso tubo ovárico, infertilidad, endometritis, muerte fetal y salpingitis** [31-34].



Otros patógenos implicados es *Mycoplasma genitalium*, con una participación importante en la etiología de EPI. El rol de otros Mollicutes como *Ureaplasma urealyticum* y *Ureaplasma parvum* se ha asociado con **EPI e infertilidad, además de uretritis en hombres** [34].

Una proporción considerable de mujeres debe recibir tratamiento EPI oportuno, utilizando **antibióticos de amplio espectro**, para cubrir aquellos patógenos ampliamente relacionados con esta enfermedad; no obstante, en caso que el tratamiento no sea el adecuado, podrían surgir cuadros recurrentes de EPI e infertilidad.

En suma, los exámenes basados en la amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) de estos patógenos, nos permiten informar acerca de algunos de los componentes convencionalmente relacionados; así como los que se encuentran de; dictando un

PANEL: RIESGO OBSTÉTRICO

El objetivo de este panel es la detección de tres de los patógenos mayormente relacionados con algunas patologías obstétricas.

El *Streptococcus agalactiae*, también conocido como estreptococo del grupo B de Lancefield (GBS), se ha aislado en pacientes grávidas y puerperales que presenta cuadros de vaginitis, o amenaza de aborto y ruptura prematura de membranas; además, es conocido como un factor de riesgo para la infección del canal de parto asociada con patologías graves en el recién nacido, con altas tasas de mortalidad y morbilidad, lo que refleja la importancia de la transmisión vertical de madres a neonatos [35].



Como medida de prevención de la infección neonatal de GBS, la CDC (Centers for Disease Control and Prevention) en el año 2002 emitió las pautas que recomiendan el tamizaje de GBS en mujeres embarazadas a partir de las 35 semanas de gestación, con el posterior uso del tratamiento antimicrobiano en aquellas pacientes positivas a este agente [36].

Mycoplasma hominis y *Ureaplasma urealyticum*, son otros patógenos oportunistas importantes que causan infecciones urogenitales y parto pretérmino; a su vez, los micoplasmas genitales se han implicado en diferentes enfermedades neonatales, como neumonía, sepsis y meningitis, un fenómeno que nuevamente denota la importancia de la detección oportuna para evitar la transmisión vertical de micoplasma y ureaplasma en los recién nacidos [37].

Considerando las implicaciones globales de estos patógenos, llevar a cabo pruebas de detección en mujeres embarazadas a partir de la semana 34, representa una oportunidad preventiva, tanto para la madre como para el neonato.

PANELES: UREAPLASMA Y MICOPLASMA

Los microorganismos *Ureaplasmas* forman parte de la microbiota uretral y vaginal, ya que se ha aislado hasta en más del 40% de pacientes asintomáticos; sin embargo, *Ureaplasma spp.* ha sido asociados a uretritis no gonocócica, parto pretérmino y complicaciones en el neonato prematuro.

Es importante destacar que de los *Ureaplasmas* con mayor prevalencia son *Ureaplasma urealyticum* y *parvum*; no obstante, existe evidencia que respalda una mayor implicación de *U. urealyticum* en la fisiopatología de la uretritis no gonocócica [34, 38].

Mycoplasma genitalium contribuye en la patogénesis de distintas enfermedades urogenitales, con predominancia de cuadros clínicos de uretritis, principalmente en hombres, mientras que en mujeres, con cuadros de cervicitis, además de otras morbilidades, uretritis, EPI, embarazo ectópico, salpingitis e infertilidad de origen tubárico.

Referente a *Mycoplasma hominis*, se ha descrito como un factor importante en el parto prematuro y corioamnionitis, aunado a un mayor riesgo de trabajo de parto prematuro y restricción del crecimiento intrauterino [37, 39].



La detección de estos patógenos por técnicas de biología molecular, proporcionan una alternativa rápida, sensible y precisa cuando se comparan con metodologías convencionales, gracias al discernimiento entre microorganismos altamente relacionados, como *Ureaplasmas* y *Mycoplasmas*, lo cual, permite reforzar las distintas correlaciones entre patologías y abordar la relevancia clínica entre colonización e infección.

DETECCIÓN Y GENOTIPIFICACIÓN DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (HPV)

El HPV es la infección de transmisión sexual (ITS) más común a nivel mundial, ya que afecta aproximadamente al 100% de todos los individuos que han experimentado algún tipo de contacto sexual de alto o bajo riesgo, contagiándose al menos por algunos de los genotipos de HPV.

Uno de los problemas concerniente a la infección por HPV es la correlación con el desarrollo de lesiones precancerosas, tales como las de alto grado (HSIL) e incluso, cancer cervical invasor (ICC), ya que se ha descrito que en más del 95% de los ICC, el genotipo de HPV 16 está presente [40].

HPV de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73, 82

HPV de bajo riesgo: 6, 11, 34, 42, 70, 81

Como medida de prevención internacional, el enfoque mayormente conocido y aplicado, es el tamizaje por citología cervical o Papanicolau (Pap smear), que exitosamente ha logrado reducir hasta un 80% el ICC; no obstante, ya que la sensibilidad es baja [41], se requieren de pruebas más específicas y sensibles que nos permitan mejorar los algoritmos de tamizaje clásicos.

Estas nuevas estipulaciones, han sido respaldadas por distintas asociaciones de talla mundial, que respaldan la detección del DNA (ácido desoxirribonucléico) de HPV y los genotipos virales que se han descrito y caracterizado con un potencial carcinogénico alto [42, 43].

El panel de detección de DNA de HPV, ofrece la genotipificación de múltiples tipos de HPV en una misma reacción; es decir, genotipos de alto y bajo riesgo de HPV están enfocados a un abordaje clínico, diagnóstico y preventivo de mayor cobertura.

CONCLUSIÓN

Los hallazgos clínicos, epidemiológicos y el avance tecnológico subrayan la necesidad de implementar métodos de tamizaje para enriquecer la evaluación clínica en los casos o cuadros infecciosos, tanto masculinos como femeninos, con tasas de mortalidad y morbilidad elevada, con el objetivo ejercer la medicina preventiva y diagnóstica precisa posible, especialmente en aquellos casos asintomáticos.

REFERENCIAS

1. Coleman JS, Gaydos CA, Witter F. Trichomonas vaginalis vaginitis in obstetrics and gynecology practice: new concepts and controversies. *Obstet Gynecol Surv.* 68(1):43-50. Epub 2013/01/17. doi: 10.1097/OGX-.0b013e318279fb7d. PubMed PMID: 23322080; PubMed Central PMCID: PMC3586271.
2. Blake DR, Maldeis N, Barnes MR, Hardick A, Quinn TC, Gaydos CA. Cost-effectiveness of screening strategies for Chlamydia trachomatis using cervical swabs, urine, and self-obtained vaginal swabs in a sexually transmitted disease clinic setting. *Sex Transm Dis.* 2008;35(7):649-55. Epub 2008/05/08. doi: 10.1097/OLQ.0b013e31816ddb9a. PubMed PMID: 18461013; PubMed Central PMCID: PMC2711851.
3. Abou Tayoun AN, Burchard PR, Caliendo AM, Scherer A, Tsongalis GJ. A multiplex PCR assay for the simultaneous detection of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and Trichomonas vaginalis. *Exp Mol Pathol.* 98(2):214-8. Epub 2015/01/18. doi: S0014-4800(15)00013-1 [pii] 10.1016/j.yexmp.2015.01.011. PubMed PMID: 25595915.
4. Katusiime C, Schlech WF, 3rd, Parkes-Ratanshi R, Sempa J, Kambugu A. Characteristics of Sexually Transmitted Infections among High-Risk HIV-Positive Patients Attending an Urban Clinic in Uganda. *J Int Assoc Provid AIDS Care.* 15(1):36-41. Epub 2013/10/23. doi: 2325957413506493 [pii] 10.1177/2325957413506493. PubMed PMID: 24144639.
5. Al-Moushaly A. Considerations on male infertility in genital infections with Chlamydia Trachomatis (CT). *J Med Life.* 6(3):283-6. Epub 2013/10/23. PubMed PMID: 24146687; PubMed Central PMCID: PMC3786487.2007;44(1):23-5. Epub 2006/12/05. doi: CID41124 [pii]

6. Gottlieb SL, Newman LM, Amin A, Temmerman M, Broutet N. Sexually transmitted infections and women's sexual and reproductive health. *Int J Gynaecol Obstet.* 123(3):183-4. Epub 2013/10/23. doi: S0020-7292(13)00446-3 [pii] 10.1016/j.ijgo.2013.09.013. PubMed PMID: 24144238.
7. Van der Pol B. Trichomonas vaginalis infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection receives the least public health attention. *Clin Infect Dis.* 2007;44(1):23-5. Epub 2006/12/05. doi: CID41124 [pii] 10.1086/509934. PubMed PMID: 17143810.
8. Schwebke JR. Update of trichomoniasis. *Sex Transm Infect.* 2002;78(5):378-9. Epub 2002/10/31. PubMed PMID: 12407245; PubMed Central PMCID: PMC1744553.
9. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. Trichomonas vaginalis, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis.* 2001;7(6):927-32. Epub 2001/12/19. doi: 10.3201/eid0706.010603. PubMed PMID: 11747718; PubMed Central PMCID: PMC2631893.
10. Asmah RH, Blankson HNA, Seanefu KA, Obeng-Nkrumah N, Awuah-Mensah G, Cham M, et al. Trichomoniasis and associated co-infections of the genital tract among pregnant women presenting at two hospitals in Ghana. *BMC Womens Health.* 17(1):130. Epub 2017/12/15. doi: 10.1186/s12905-017-0489-5 10.1186/s12905-017-0489-5 [pii]. PubMed PMID: 29237446; PubMed Central PMCID: PMC5729291.
11. Brandolt TM, Klafke GB, Goncalves CV, Bitencourt LR, Martinez AM, Mendes JF, et al. Prevalence of Candida spp. in cervical-vaginal samples and the in vitro susceptibility of isolates. *Braz J Microbiol.* 48(1):145-50. Epub 2016/10/21. doi: S1517-8382(16)30903-0 [pii] 10.1016/j.bjm.2016.09.006. PubMed PMID: 27756539; PubMed Central PMCID: PMC5220630.
12. Achkar JM, Fries BC. Candida infections of the genitourinary tract. *Clin Microbiol Rev.* 23(2):253-73. Epub 2010/04/09. doi: 23/2/253 [pii] 10.1128/CMR.00076-09. PubMed PMID: 20375352; PubMed Central PMCID: PMC2863365.
13. Cassone A. Vulvovaginal Candida albicans infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. *BJOG.* 122(6):785-94. Epub 2014/07/24. doi: 10.1111/1471-0528.12994. PubMed PMID: 25052208.
14. Orle KA, Gates CA, Martin DH, Body BA, Weiss JB. Simultaneous PCR detection of Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum, and herpes simplex virus types 1 and 2 from genital ulcers. *J Clin Microbiol.* 1996;34(1):49-54. Epub 1996/01/01. PubMed PMID: 8748271; PubMed Central PMCID: PMC228728.
15. Spicknall IH, Looker KJ, Gottlieb SL, Chesson HW, Schiffer JT, Elmes J, et al. Review of mathematical models of HSV-2 vaccination: Implications for vaccine development. *Vaccine.* Epub 2018/04/08. doi: S0264-410X(18)30254-8 [pii] 10.1016/j.vaccine.2018.02.067. PubMed PMID: 29625767.
16. Frolund M, Bjornelius E, Lidbrink P, Ahrens P, Jensen JS. Comparison between culture and a multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction assay detecting Ureaplasma urealyticum and U. parvum. *PLoS One.* 9(7):e102743. Epub 2014/07/23. doi: 10.1371/journal.pone.0102743 PONE-D-14-09968 [pii]. PubMed PMID: 25047036; PubMed Central PMCID: PMC4105565.
17. Kriesel JD, Bhatia AS, Barrus C, Vaughn M, Gardner J, Crisp RJ. Multiplex PCR testing for nine different sexually transmitted infections. *Int J STD AIDS.* 27(14):1275-82. Epub 2015/11/06. doi: 0956462415615775 [pii] 10.1177/0956462415615775. PubMed PMID: 26538551.
18. Houinei W, Godornes C, Kapa A, Knauf S, Mooring EQ, Gonzalez-Beiras C, et al. Haemophilus ducreyi DNA is detectable on the skin of asymptomatic children, flies and fomites in villages of Papua New Guinea. *PLoS Negl Trop Dis.* 11(5):e0004958. Epub 2017/05/11. doi: 10.1371/journal.pntd.0004958 PNTD-D-15-02173 [pii]. PubMed PMID: 28489855; PubMed Central PMCID: PMC5425006.
19. Hawkes S, West B, Wilson S, Whittle H, Mabey D. Asymptomatic carriage of Haemophilus ducreyi confirmed by the polymerase chain reaction. *Genitourin Med.* 1995;71(4):224-7. Epub 1995/08/01. PubMed PMID: 7590712; PubMed Central PMCID: PMC1195517.
20. West B, Wilson SM, Chagalucha J, Patel S, Mayaud P, Ballard RC, et al. Simplified PCR for detection of Haemophilus ducreyi and diagnosis of chancroid. *J Clin Microbiol.* 1995;33(4):787-90. Epub 1995/04/01. PubMed PMID: 7540625; PubMed Central PMCID: PMC228040.

21. Akhi MT, Esmailkhani A, Sadeghi J, Niknafs B, Farzadi L, Akhi A, et al. The Frequency of *Staphylococcus aureus* Isolated from Endocervix of Infertile Women in Northwest Iran. *Int J Fertil Steril*. 11(1):28-32. Epub 2017/04/04. PubMed PMID: 28367302; PubMed Central PMCID: PMC5215708.
22. Kaur K, Prabha V. Spermagglutinating *Escherichia coli* and its role in infertility: in vivo study. *Microb Pathog*. 69-70:33-8. Epub 2014/04/02. doi: S0882-4010(14)00043-6 [pii] 10.1016/j.micpath.2014.03.010. PubMed PMID: 24685696.
23. Villegas J, Schulz M, Soto L, Sanchez R. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. *Apoptosis*. 2005;10(1):105-10. Epub 2005/02/16. doi: 10.1007/s10495-005-6065-8. PubMed PMID: 15711926.
24. Isaiah IN, Nche BT, Nwagu IG, Nnanna, II. Current studies on bacterospermia the leading cause of male infertility: a protege and potential threat towards mans extinction. *N Am J Med Sci*. 3(12):562-4. Epub 2012/03/01. doi: 10.4297/najms.2011.3559 NAJMS-3-562 [pii]. PubMed PMID: 22363079; PubMed Central PMCID: PMC3271420.
25. Taghinezhad SS, Mohseni AH, Keyvani H, Ghobadi N. Molecular Screening and Single Nucleotide Polymorphism Typing of *Molluscum Contagiosum Virus* (MCV) from Genital Specimens, between 2012 and 2015. *Iran Biomed J*. 2018;22(2):129-33. Epub 2017/08/16. PubMed PMID: 28806866; PubMed Central PMCID: PMCPMC5786659.
26. Mitchell C, Prabhu M. Pelvic inflammatory disease: current concepts in pathogenesis, diagnosis and treatment. *Infect Dis Clin North Am*. 2013;27(4):793-809. Epub 2013/11/28. doi: 10.1016/j.idc.2013.08.004. PubMed PMID: 24275271; PubMed Central PMCID: PMCPMC3843151.
27. Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G, Fiore C, Andrisani A, Ambrosini G, et al. Genital tract infections and infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;140(1):3-11. Epub 2008/05/06. doi: S0301-2115(08)00136-X [pii] 10.1016/j.ejogrb.2008.03.009. PubMed PMID: 18456385.
28. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(12):4177-88. Epub 1998/12/16. doi: 10.1210/jcem.83.12.5296. PubMed PMID: 9851748.
29. Kim JY, Sung JH, Chang KH, Choi SJ, Oh SY, Roh CR, et al. Abnormal vaginal colonization by gram-negative bacteria is significantly higher in pregnancy conceived through infertility treatment compared to natural pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 30(5):556-61. Epub 2016/04/14. doi: 10.1080/14767058.2016.1177819. PubMed PMID: 27072161.
30. Isaiah IN, Nche BT, Nwagu IG, Nnanna, II. Current studies on bacterospermia the leading cause of male infertility: a protege and potential threat towards mans extinction. *N Am J Med Sci*. 2011;3(12):562-4. Epub 2012/03/01. doi: 10.4297/najms.2011.3559. PubMed PMID: 22363079; PubMed Central PMCID: PMCPMC3271420.
31. Geissdorfer W, Bohmer C, Pelz K, Schoerner C, Frobenius W, Bogdan C. Tuboovarian abscess caused by *Atopobium vaginae* following transvaginal oocyte recovery. *J Clin Microbiol*. 2003;41(6):2788-90. Epub 2003/06/07. PubMed PMID: 12791933; PubMed Central PMCID: PMCPMC156532.
32. Hebb JK, Cohen CR, Astete SG, Bukusi EA, Totten PA. Detection of novel organisms associated with salpingitis, by use of 16S rDNA polymerase chain reaction. *J Infect Dis*. 2004;190(12):2109-20. Epub 2004/11/20. doi: 10.1086/425929. PubMed PMID: 15551209.
33. Yamagishi Y, Mikamo H, Tanaka K, Watanabe K. A case of uterine endometritis caused by *Atopobium vaginae*. *J Infect Chemother*. 2011;17(1):119-21. Epub 2010/08/14. doi: 10.1007/s10156-010-0100-6. PubMed PMID: 20706763.
34. Haggerty CL, Totten PA, Tang G, Astete SG, Ferris MJ, Norori J, et al. Identification of novel microbes associated with pelvic inflammatory disease and infertility. *Sex Transm Infect*. 2016;92(6):441-6. Epub 2016/01/31. doi: 10.1136/sextrans-2015-052285. PubMed PMID: 26825087; PubMed Central PMCID: PMCPMC5013099.

35. Morozumi M, Chiba N, Igarashi Y, Mitsuhashi N, Wajima T, Iwata S, et al. Direct identification of *Streptococcus agalactiae* and capsular type by real-time PCR in vaginal swabs from pregnant women. *J Infect Chemother*. 2015;21(1):34-8. Epub 2014/10/08. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.024. PubMed PMID: 25287153.
36. Verani JR, McGee L, Schrag SJ, Division of Bacterial Diseases NCfl, Respiratory Diseases CfDC, Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep*. 2010;59(RR-10):1-36. Epub 2010/11/23. PubMed PMID: 21088663.
37. Sobouti B, Fallah S, Mobayen M, Noorbakhsh S, Ghavami Y. Colonization of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women and their transmission to offspring. *Iran J Microbiol*. 2014;6(4):219-24. Epub 2015/03/25. PubMed PMID: 25802703; PubMed Central PMCID: PMC4367936.
38. Weinstein SA, Stiles BG. A review of the epidemiology, diagnosis and evidence-based management of *Mycoplasma genitalium*. *Sex Health*. 2011;8(2):143-58. Epub 2011/05/20. doi: 10.1071/SH10065. PubMed PMID: 21592428.
39. Donders GGG, Ruban K, Bellen G, Petricevic L. *Mycoplasma/Ureaplasma* infection in pregnancy: to screen or not to screen. *J Perinat Med*. 2017;45(5):505-15. Epub 2017/01/19. doi: 10.1515/jpm-2016-0111. PubMed PMID: 28099135.
40. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol*. 2012;13(6):607-15. Epub 2012/05/12. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70137-7. PubMed PMID: 22575588.
41. Geldenhuys L, Murray ML. Sensitivity and specificity of the Pap smear for glandular lesions of the cervix and endometrium. *Acta Cytol*. 2007;51(1):47-50. Epub 2007/03/03. doi: 10.1159/000325682. PubMed PMID: 17328495.
42. Mirabello L, Clarke MA, Nelson CW, Dean M, Wentzensen N, Yeager M, et al. The Intersection of HPV Epidemiology, Genomics and Mechanistic Studies of HPV-Mediated Carcinogenesis. *Viruses*. 2018;10(2). Epub 2018/02/14. doi: 10.3390/v10020080. PubMed PMID: 29438321; PubMed Central PMCID: PMC5850387.
43. Jeronimo J, Holme F, Slavkovsky R, Camel C. Implementation of HPV testing in Latin America. *J Clin Virol*. 2016;76 Suppl 1:S69-S73. Epub 2015/12/25. doi: 10.1016/j.jcv.2015.11.035. PubMed PMID: 26699418.