

Izvorni znanstveni rad | Original scientific paper

Učestalost detekcije spolno prenosivih bakterija *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* i genitalnih mikoplazmi u obriscima uretre i vrata maternice izvanbolničkih pacijenata zagrebačke regije

The frequency of detection of sexually transmitted pathogens *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and genital mycoplasmas in urethral and cervical swabs from outpatients in the Zagreb region

Sunčanić Ljubin-Sternak^{1,2}, Nada Pražić¹, Tatjana Marijan¹, Neda Jarža Davila¹, Branko Kolarić^{1,3}, Jasmina Vraneš^{1,2}

¹ Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

³ Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Ključne riječi:

spolno prenosive infekcije
Chlamydia trachomatis
Mycoplasma genitalium
Neisseria gonorrhoeae
prevalencija

Keywords:

sexually transmitted infections
Chlamydia trachomatis
Mycoplasma genitalium
Neisseria gonorrhoeae
prevalence

Primljeno: 24-07-2023

Received: 24-07-2023

Prihvaćeno: 26-09-2023

Accepted: 26-09-2023

Sažetak

Spolno prenosive infekcije (SPI) iznimno su čest uzrok poboljšavanja obaju spolova generativne dobi u cijelom svijetu i imaju značajan utjecaj na reproduktivno zdravlje. Cilj ovog rada bio je utvrditi i usporediti učestalost detekcije bakterija *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) i genitalnih mikoplazmi u izvanbolničkoj populaciji u urbanoj sredini – zagrebačkoj regiji, te podatke o učestalosti analizirati s obzirom na dob testiranih ispitanika i uputne dijagnoze.

U razdoblju od godine dana na najčešće bakterijske uzročnike SPI testirano je 4.906 uzoraka obriska vrata maternice i 532 uzorka obriska uretre muškaraca. *C. trachomatis* i *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) dokazivane su metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) dok su *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) i *Ureaplasma spp.* dokazivane standardnim metodama kultivacije.

C. trachomatis dokazana je u 1,8% obrisaka vrata maternice i 7,0% obrisaka uretre muškaraca, *M. genitalium* u 0,3% obrisaka vrata maternice i 1,1% obrisaka uretre muškaraca, *Ureaplasma spp.* u 39,7% obrisaka vrata maternice i 17,8% obrisaka uretre i *M. hominis* u 3,8% obrisaka vrata maternice i 1,7% obrisaka uretre muškaraca. Tijekom ispitivanog razdoblja *N. gonorrhoeae* dokazana je u 1,1% muškaraca i niti u jedne žene. Ukupna prevalencija SPI značajno se razlikovala s obzirom na dob ($P < 0,001$) i opada s dobi bolesnika. Najveća prevalencija SPI u žena je u dobnoj skupini adolescentica, a kod muškaraca u dobi od 20 do 29 godina. U žena se prevalencija pojedinih infekcija nije razlikovala ovisno o uputnoj dijagnozi ($P > 0,05$). U muškaraca je učestalost infekcije uzrokovane *C. trachomatis* najveća u osoba s uputnom dijagnozom uretritisa ($P < 0,001$), a učestalost infekcije uzrokovane *N. gonorrhoeae* u osoba s uputnom dijagnozom SPI ($P < 0,05$).

Niska učestalost detekcije najčešćih bakterijskih uzročnika SPI rezultat je činjenice da većina pacijenata upućenih na testiranje nije imala simptome infekcije.

Summary

Sexually transmitted infections (STIs) are extremely common cause of morbidity in both sexes of generative age around the world, and have a significant impact on reproductive health. The aim of this study was to determine and compare the frequency of detection of *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), and genital mycoplasmas in the outpatient population in the urban area – the Zagreb region, and to analyse the data in relation to the participants' age and their corresponding referral diagnosis.

In the period of one year, a total of 4906 samples of cervical swab and 532 male urethral swab specimens were tested for the most common bacterial STIs. *C. trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) were detected using polymerase chain reaction (PCR), while *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) and *Ureaplasma spp.* were detected by standard methods of cultivation.

C. trachomatis was detected in 1.8% of cervical swabs and 7.0% of male urethral swabs, *M. genitalium* in 0.3% of cervical swabs and 1.1% of male urethral swabs, *Ureaplasma spp.* in 39.7% of cervical swabs and 17.8% of male urethral swabs, and *M. hominis* in 3.8% of cervical swabs and 1.7% of male urethral swabs. During the study period, *N. gonorrhoeae* was isolated in 1.1% of males and was not detected in any of the tested females. The

✉ Adresa za dopisivanje:

Izv. prof. dr. sc. Sunčanić Ljubin-Sternak, prim. dr. med.
Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“
Mirogojska 16, 10000 Zagreb
e-pošta: sljsternak@stampar.hr

overall prevalence of STIs differed significantly with regards to age ($P < 0.001$) and decreased with patients' age. The highest prevalence of STIs in women was recorded in the age group of adolescents, and in males aged 20-29 years. In women, the prevalence of certain infections did not differ according to referral diagnosis ($P > 0.05$). In males, *C. trachomatis* prevalence was highest in patients with referral diagnosis of urethritis ($P < 0.001$), and *N. gonorrhoeae* prevalence was highest in patients who had an STI referral diagnosis ($P < 0.05$).

Low frequency of detection of the most common bacterial pathogens of STIs was the result of the fact that most patients referred for testing did not have symptoms of infection.

Uvod

Spolno prenosive infekcije (SPI) iznimno su čest uzrok pobolijevanja obaju spolova generativne dobi u cijelom svijetu. Dio ovih infekcija može se učinkovito liječiti antimikrobnim lijekovima, prvenstveno one bakterijske i parazitarne etiologije (klamidijaza, gonoreja, sifilis, čankroid, trihomonoza), dok za brojne SPI uzrokovane virusima nema adekvatne medikamentozne terapije (npr. za infekcije uzrokovane humanim papilomavirusima i virusom hepatitisa B) ili je ona vrlo skupa i praćena brojnim nepoželjnim nuspojavama (npr. za sindrom stečene imunodeficijencije, hepatitis C).^[1]

Neliječene SPI mogu rezultirati raznim komplikacijama kao što su upalna bolest zdjelice, izvanmaternična trudnoća, karcinom vrata maternice, neplodnost oba spola, prijevremeni porođaj, smrt fetusa, mala porođajna težina djeteta i infekcije novorođenčeta. Stoga, unatoč postojećoj učinkovitoj terapiji, zbog načina prijenosa, prirode bolesti, utjecaja na reproduktivno zdravlje obaju spolova i zdravlje njihovog potomstva, SPI su trajan javnozdravstveni problem kako nerazvijenog tako i razvijenog dijela svijeta.^[2]

Najčešće bakterijske SPI uzrokovane obvezno patogenim uzročnicima jesu one uzrokovane bakterijama *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) i *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*). Procjenjuje se da se godišnje u svijetu javlja 90 milijuna novih slučajeva infekcija uzrokovanih klamidijom i 62 milijuna novih infekcija uzrokovanih gonokokom.^[1] Sifilis i čankroid, bolesti uzrokovane bakterijama *Treponema pallidum* odnosno *Haemophilus ducreyi* znatno su rjeđe, s incidencijom od 12 i 6 – 7 milijuna novih slučajeva godišnje u svijetu.^[1] Osim ovih dobro poznatih obvezno patogenih uzročnika, sve više se proučava uloga genitalnih mikoplazmi u etiopatogenezi SPI. U genitalne mikoplazme ubrajamo više vrsta bakterija koje pripadaju rodovima *Mycoplasma* i *Ureaplasma*, od kojih su najznačajnije *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*), *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) i *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*).^[3] Najznačajnijim uzročnikom SPI iz skupine genitalnih mikoplazmi danas se smatra *M. genitalium*, dok se druge dvije prethodno spomenute vrste u spolno-mokraćnom sustavu mogu naći i kao apatogeni komenzali.^[4]

Poznato je više rizičnih čimbenika koji određuju populaciju čine sklonijom pobolijevanju od SPI. Mlađa dob rizični je čimbenik koji je zajednički za skoro sve SPI. Adolescenti i mlađe odrasle osobe (15 – 25 godina) čine svega 25% spolno aktivne populacije, a istovremeno se u toj dobnoj skupini bilježi 50% svih novih slučajeva SPI.^[5]

Cilj ovog rada bio je utvrditi učestalost detekcije najčešćih bakterijskih SPI iz izvanbolničkoj populaciji u urbanoj sredini – zagrebačkoj regiji, te podatke o učestalosti analizirati s obzirom na dob testiranih ispitanika i uputne dijagnoze.

Materijali i metode

Istraživanje je retrospektivnog tipa i obuhvaća rezultate testiranja obrisaka vrata maternice i obrisaka uretre muškaraca na bakterijske spolno prenosive patogene obrađene tijekom razdoblja od 1. rujna 2015. do 30. kolovoza 2016. u Službi za kliničku mikrobiologiju Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo (NZJZ) „Dr. Andrija Štampar“. Cervikalni obrisci uzimani su u ginekološkim ordinacijama zagrebačkog područja i transportirani u odgovarajućim transportnim podlogama u laboratorij (Amies s dodatkom ugljena za transport gonokoka, M4RT za klamidije i TSB transportno hranilište za mikoplazme), dok su obrisci uretre uzeti u prijamnoj ambulanti NZJZ „Dr. Andrija Štampar“.

C. trachomatis je određivana kvalitativnom metodom pomoću lančane reakcije polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu (engl. *real-time*) pomoću testa Cobas® Taqman® CT v2.0, na uređaju Cobas® Taqman® Analyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Ovaj test pomoću dva para početnica detektira odsječak kriptičkog plazmida veličine 206 nukleotida, kao i dio kromosomalne DNA koja kodira *ompA* gen veličine 182 nukleotida. *M. genitalium* određivana je također *real-time* PCR metodom pomoću testa LightMix® Kit *Mycoplasma genitalium* (TIB MOLBIOL, GmbH, Berlin, Njemačka), na uređaju LightCycler 480 II (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Ovaj test detektira 224 nukleotida dugačak odsječak gena za gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazu (*gap* gen). *M. hominis* i *Ureaplasma*

spp. određivane su standardnim metodama kultivacije na A8 urea agaru te identificirane biokemijskim testovima, mikroskopijom i/ili komercijalnim testom za identifikaciju i određivanje osjetljivosti *Mycoplasma* IST 2 (bioMérieux SA, Lyon, Francuska). *N. gonorrhoeae* je dokazana standardnim postupkom kultivacije na čokoladnom agaru uz dodatak CV (kolistin, vankomicin) diska, a identificirana komercijalnim biokemijskim testom API NH (bioMérieux SA, Lyon, Francuska) i masenom spektrofotometrijom uz pomoć sistema MALDI BioTyper 3.0 (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Njemačka).

Demografski podatci i uputne dijagnoze prikupljene su retrogradno iz uputnica i laboratorijskih zapisa sukladno zahtjevima liječnika primarne zdravstvene zaštite. Statistička analiza: razlika među skupinama izračunata je hi-kvadrat testom uz razinu značajnosti $P < 0,05$.

Rezultati

U razdoblju od 1. rujna 2015. do 30. kolovoza 2016. u Službi za kliničku mikrobiologiju NZJZ „Dr. Andrija Štampar“ prikupljeno je i testirano 4.906 obrisaka vrata maternice žena u dobi od 16 do 88 godina i 532 obrisaka uretre muškaraca u dobi od 18 do 75 godina. Srednja dob testiranih osoba ženskog spola iznosila je $35,3 \pm 10,2$, a srednja dob osoba muškog spola iznosila je $36,6 \pm 12,4$ godina. Medijan dobi žena iznosio je 34, a muškaraca 33 godine.

Najčešće uputne dijagnoze kod žena bile su: displazija vrata maternice (1.321/4.906; 26,9%), kontrola tijekom trudnoće (864/4.906; 17,6%), upala rodnice (795/4.906; 16,2%), upala vrata maternice (599/4.906; 12,2%) te neplodnost žene (517/4.906; 10,5%). Preostalih 810 (16,6%) žena upućeno je na testiranje s raznim drugim dijagnozama od kojih samo manji broj upućuje na SPI. Najčešće uputne dijagnoze u muškaraca bile su: uretritis (186/532; 35%), sumnja na SPI uključujući i kontakt s osobom oboljelom od SPI (73/532, 13,7%), prostatitis (57/532; 10,7%), cistitis (29/532, 5,4%), muška neplodnost (18/532; 3,4%) i druge dijagnoze (169/532; 31,7%).

Jedna ili više bakterija dokazana je u 2.103 (42,9%) žena i 139 (26,1%) muškaraca, od čega je koinfekcija dvjema ili više bakterija dokazana u 138 (2,8%) bolesnica, odnosno 13 (2,4%) bolesnika. *C. trachomatis* dokazana je u 86 (1,8%) obrisaka vrata maternice i 37 (7,0%) obrisaka uretre muškaraca, *M. genitalium* u 17 (0,3%) obrisaka vrata maternice i šest (1,1%) obrisaka uretre muškaraca, *Ureaplasma spp.* u 1.949 (39,7%) obrisaka vrata maternice i 94 (17,8%) obrisaka uretre muškaraca i *M. hominis* u 189 (3,8%) obrisaka vrata

maternice i devet (1,7%) obrisaka uretre muškaraca. Tijekom ispitivanog razdoblja *N. gonorrhoeae* je dokazan u šest (1,1%) uzoraka uretre muškaraca i niti u jednom uzorku obriska vrata maternice.

Učestalost detekcije testiranih bakterija značajno se razlikuje s obzirom na dob kod oba spola ($P < 0,001$) i opada sa starošću bolesnika, što je prikazano u tablicama 1 i 2. Najveća učestalost detekcije infekcije ili kolonizacije uzrokovanih bakterijama *C. trachomatis*, *Ureaplasma spp.* i *M. hominis* kod žena je u dobnoj skupini adolescentica i djevojaka mlađih od 19 godina, dok je učestalost detekcije infekcije *M. genitalium* najveća u dobnoj skupini žena od 20 do 29 godina (tablica 1). Najveća učestalost detekcije bakterija *C. trachomatis*, *Ureaplasma spp.*, *M. genitalium* i *N. gonorrhoeae* kod muškaraca opažena je u dobnoj skupini od 20 do 29 godina, dok je *M. hominis* najčešće detektirana u dobnoj skupini od 40 do 49 godina (tablica 2).

U žena se učestalost detekcije pojedinih infekcija ne razlikuje ovisno o uputnoj dijagnozi ($P = 0,997$, $P = 0,293$ i $P = 0,123$, za *C. trachomatis*, *M. genitalium* i *M. hominis*). Detekcija pak *Ureaplasma spp.* ($P < 0,001$), koja je češće odraz kolonizacije nego infekcije, veća je u osoba koje su pretragu učinile tijekom kontrole trudnoće (368/864; 42,6%) ili su upućene s dijagnozom nespecifičnom za SPI (454/810; 56%) u odnosu na osobe s uputnim dijagnozama upale rodnice (288/795; 36,2%) i upale vrata maternice (193/599; 32,2%).

U muškaraca je učestalost infekcije uzrokovane *C. trachomatis* najveća u osoba s uputnom dijagnozom uretritisa (24/186, 12,9%; $P < 0,001$), a učestalost infekcije uzrokovana *N. gonorrhoeae* u osoba s uputnom dijagnozom spolno prenosive bolesti (3/73,4, 1%, $P = 0,04$). Isto kao i kod žena, *Ureaplasma spp.* češće se izolira u osoba s drugim, za SPI nespecifičnim uputnim dijagnozama (41/169, 25%; $P = 0,024$). Učestalost detekcije *M. genitalium* i *M. hominis* u muškaraca se ne razlikuje ovisno o uputnoj dijagnozi ($P = 0,588$ i $P = 0,148$).

Od šest izoliranih sojeva *N. gonorrhoeae* za njih pet učinjen je test osjetljivosti na antimikrobne lijekove, budući da je tijekom presađivanja nakon identifikacije jedan soj devitalizirao. Dva soja su bila osjetljiva na sve ispitivane lijekove (benzilpenicilin, cefiksime, azitromicin, tetraciklin, ceftriakson i ciprofloksacin), jedan soj intermedijarno osjetljiv na benzilpenicilin i osjetljiv na ostale testirane antibiotike, jedan soj rezistentan na ciprofloksacin, intermedijarno osjetljiv na benzilpenicilin, azitromicin i tetraciklin te osjetljiv na cefalosporine, i jedan soj rezistentan na azitromicin i ciprofloksacin, a intermedijarno osjetljiv na benzilpenicilin i tetraciklin i osjetljiv na cefalosporine.

TABLICA 1. UČESTALOST DETEKCIJE SPOLNO PRENOSIVIH BAKTERIJA U OBRISCIMA VRATA MATERNICE PREMA DOBI ISPITANICA
TABLE 1. FREQUENCY OF DETECTION OF SEXUALLY TRANSMITTED PATHOGENS IN CERVICAL SWABS ACCORDING TO PATIENTS' AGE

Dokazani uzročnik / Detected pathogen	Dob (godine) / Age (years)					P vrijednost P value
	< 19 (n = 102)	20 – 29 (n = 1350)	30 – 39 (n = 2089)	40 – 49 (n = 873)	> 50 (n = 492)	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	5 (4,9%)	39 (2,8%)	35 (1,7%)	4 (0,5%)	3 (0,6%)	< 0,001
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 (0%)	10 (0,7%)	6 (0,3%)	1 (0,1%)	0 (0%)	0,046
<i>Mycoplasma hominis</i>	8 (7,8%)	67 (5,0%)	69 (3,3%)	26 (3,0%)	19 (3,9%)	0,015
<i>Ureaplasma spp.</i>	56 (54,9%)	710 (52,6%)	751 (36%)	288 (33%)	144 (29,3%)	< 0,001
Total	62 (60,8%)	769 (57,0%)	812 (38,9%)	305 (35%)	155 (31,5%)	< 0,001

TABLICA 2. UČESTALOST DETEKCIJE SPOLNO PRENOSIVIH BAKTERIJA U U OBRISCIMA URETRE MUŠKARACA PREMA DOBI ISPITANIKA
TABLE 2. FREQUENCY OF DETECTION OF SEXUALLY TRANSMITTED PATHOGENS IN URETHRAL SWABS OF MALES ACCORDING TO PATIENTS' AGE

Dokazani uzročnik / Detected pathogen	Dob (godine) / Age (years)					P vrijednost P value
	< 19 (n = 10)	20 – 29 (n = 161)	30 – 39 (n = 188)	40 – 49 (n = 83)	> 50 (n = 90)	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0 (0%)	22 (13,7%)	12 (6,4%)	2 (2,4%)	1 (1,1%)	0,002
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	0 (0%)	4 (2,5%)	1 (0,5%)	0 (0%)	1 (1,1%)	0,364
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0 (0%)	2 (1,2%)	2 (1,1%)	1 (1,2%)	1 (1,1%)	0,998
<i>Mycoplasma hominis</i>	0 (0%)	5 (3,1%)	0 (0%)	3 (3,6%)	1 (1,1%)	0,117
<i>Ureaplasma spp.</i>	2(20%)	39 (24,2%)	32 (17,0%)	11 (13,3%)	10 (11,1)	0,071
Total	2 (20%)	63 (39,1%)	46 (24,5%)	16 (19,3%)	12 (13,3%)	< 0,001

Rasprava

Infekcija uzrokovana *C. trachomatis* najčešća je bakterijska SPI, što su potvrdili i rezultati ovog istraživanja. U populaciji zagrebačke regije u istraživanom razdoblju utvrđena je sljedeća učestalost detekcije obvezno patogenih spolno prenosivih bakterija: *C. trachomatis* je dokazana u 1,8% žena i 7% muškaraca, *M. genitalium* u 0,3% žena i 1,1% muškaraca, i *N. gonorrhoeae* u 0% žena i 1,1% muškaraca. Od uvjetno patogenih bakterija najčešće je dokazana *Ureaplasma spp.* (u 39,7% žena i 17,8% muškaraca), dok je *M. hominis* dokazana u 3,8% žena i 1,7% muškaraca. Učestalost detekcije svih bakterija praćenih u ovom istraživanju opada s dobi ispitanika, što je u skladu s već poznatim rezultatima mnogih studija koje su mlađu životnu dob identificirale kao jedan od najznačajnijih rizičnih čimbenika za stjecanje većine SPI.^[6,7]

Rezultati ove studije pokazuju da su najčešće uputne dijagnoze kod žena one koje nisu povezane s nekom infekcijom (svega 28,4% dijagnoza odnosi se na vaginitis i cervicitis), već se na testiranje u javnozdrav-

stveni laboratorij većinom upućuju zdrave žene s ciljem probira. Infekcije u žena uzrokovane klamidijom i gonokokom često su asimptomatskog tijeka, zbog čega se i preporučuje probir, osobito rizične populacije.^[8] Klamidijska i gonokokna infekcija u muškaraca najčešće je praćena izrazitim simptomima, stoga se oni češće od žena (48,7% je uputnih dijagnoza koje označavaju neku infekciju) javljaju na testiranje s ciljem utvrđivanja uzročnika njihovih simptoma. U ovoj studiji značajno je češće dokazana *C. trachomatis* kod muškaraca s uputnom dijagnozom uretritisa i *N. gonorrhoeae* kod muškaraca s dijagnozom SPI u odnosu na druge nespecifične uputne dijagnoze.

Prevalencija infekcije uzrokovane *C. trachomatis* u ovoj studiji najveća je u dobnoj skupini žena mlađih od 19 godina i iznosi 4,9%, a kod muškaraca u dobi od 20 – 29 godina i iznosi 13,7%. Ovi su rezultati u skladu s trendom prevalencije ove infekcije u zemljama razvijenog dijela svijeta^[9] kao i s podacima prethodno provedenih studija u Hrvatskoj. Hiršl-Hečej i suradnici u

istraživanju iz 2006. godine provedenom u Centru za reproduktivno zdravlje kod spolno aktivnih adolescentica u dobi od 15 – 19 godina zabilježila je visoku učestalost infekcije *C. trachomatis* od 16,4%.^[10] U studiji provedenoj iste godine kod muškaraca testiranih u javnozdravstvenom laboratoriju prevalencija infekcije *C. trachomatis* iznosila je 8,8% s najvećom učestalošću u dobnoj skupini od 18 – 25 godina starosti (14,3%).^[11] Rezultat novijeg istraživanja provedenog u mlađih odraslih spolno aktivnih djevojaka i mladića starosti od 18 – 25 godina iz 2011. godine navodi učestalost infekcije *C. trachomatis* od 5,3% u djevojaka i 7,3% u mladića.^[12]

Neprepoznata i neliječena klamidijska infekcija prelazi u kroničan oblik, a imunološki posredovana upalna reakcija i posljedično oštećenje tkiva može ostaviti trajne posljedice na reproduktivno zdravlje obaju spolova.^[2,13,14] Metode detekcije ove infekcije koje se zasnivaju na amplifikaciji nukleinskih kiselina (engl. *nucleic acid amplification test*, NAAT) zlatni su standard i rutinska metoda za dijagnostiku ove infekcije u NZJZ-u, a liječenje je olakšano činjenicom da je rezistencija ove bakterije još uvijek iznimno rijedak događaj u svijetu. Istraživanja o kliničkoj učinkovitosti terapije ove infekcije u Hrvatskoj^[15-17], kao i testovi osjetljivosti *in vitro* pokazuju dobru osjetljivost *C. trachomatis* prema azitromicinu, doksiciklinu i kinolonima.^[18-20]

M. genitalium je teško uzgojiva bakterija, pa iako je od njenog otkrića prošlo više od trideset godina, tek uvođenjem molekularnih dijagnostičkih metoda postaje jasna njena uloga u etiopatogenezi SPI.^[21] Uzročnik je 15–25% slučajeva akutnih negonokoknih uretritisa u muškaraca^[22] i igra značajnu ulogu u patogenezi cervicitisa i upalnoj bolesti zdjelice.^[23,24] Učestalost detekcije *M. genitalium* u ovom istraživanju na 4.906 pretraženih obrisa vrata maternice bez obzira na dob ispitanica iznosi 0,3%, a najveća je u dobnoj skupini od 20 do 29 godina (0,7%), dok učestalost detekcije ove bakterije u muškaraca u ukupno pretražena 532 obriska uretre iznosi 1,1% i podjednaka je u svim dobnim skupinama. Na relativno nisku učestalost *M. genitalium* u izvanbolničkoj populaciji već su prije upozorile tri studije: studija u žena testiranih u javnozdravstvenom laboratoriju koja je pokazala da se *M. genitalium* značajno češće dokazuje u žena s klamidijskom infekcijom u usporedbi sa ženama koje imaju negativan test na klamidiju (6,06% nasuprot 0%)^[25], studija provedena u muškaraca sa uretritisom i učestalošću od 2,9%^[26], i ona provedena u muškaraca s kliničkim sindromom neplodnosti u kojih je dokazana prevalencija od 1,4%.^[27] Na ovu infekciju treba posumnjati osobito u slučaju neadekvatnog od-

govora na antimikrobnu terapiju te kod kroničnih i perzistirajućih infekcija. Testiranje na *M. genitalium* neophodno je u slučaju dokazane klamidijske infekcije s obzirom na veću učestalost u toj skupini žena kao i mogućnost pojave rezistencije *M. genitalium*, osobito nakon uobičajene terapije klamidijske infekcije od 1 g azitromicina jednokratno.^[28] Kako bi se mogućnost nastajanja sojeva *M. genitalium* rezistentnih na azitromicin svela na najmanju moguću mjeru, danas se preporučuje produljena petodnevna terapija klamidijske infekcije (500 mg prvi dan i 250 mg kroz slijedeća četiri dana).^[29-31]

U ovoj studiji u žena nije otkrivena niti jedna infekcija uzrokovana gonokokom, dok je kod muškaraca učestalost ove infekcije iznosila 1,1%, te se ovi podatci slažu s podacima Europskog centra za kontrolu i prevenciju bolesti (ECDC) za Hrvatsku koji bilježi vrlo nisku incidenciju ove bolesti u našoj zemlji (< 1/100.000 stanovnika).^[32] Isti izvještaj navodi da se ova infekcija tri puta češće detektira u muškaraca nego u žena. Rutinska dijagnostika gonokokne infekcije izvodi se metodom kultivacije. Za ovu vrstu dijagnostike neophodan je izuzetno dobro organiziran transport uzoraka budući da se radi o bakteriji vrlo osjetljivoj na vanjske uvjete te je uzorak preporučljivo dostaviti unutar šest sati od uzimanja obriska u odgovarajućoj transportnoj podlozi na sobnoj temperaturi.^[33] Obrisci vrata maternice uzimani u ginekološkim ordinacijama dostavljani su u odgovarajućim transportnim podlogama, ali u slučajevima kada su uzimani u poslijepodnevnim satima transport je trajao dulje od šest sati, ali ne dulje od dozvoljenih 24 sata. Uzorci muške uretre uzimani su u prijemnoj ambulanti NZJZ-a i dostavljani u laboratorij te nasađivani odmah po uzimanju. Nadalje, najbrža i najosjetljivija metoda za dokaz *N. gonorrhoeae* jest metoda NAAT koja ne zahtijeva vijabilni mikroorganizam. Osim što ne zahtijeva rigorozne uvjete transporta, osjetljivost NAAT-a znatno je veća u odnosu na metodu kultivacije, a omogućava i detekciju iz neinvazivnih uzoraka (prvi mlaz urina), što je značajna prednost za muškarce i adolescentsku populaciju. Međutim, glavni nedostaci NAAT-a su cijena i nemogućnost određivanja osjetljivosti bakterija na antibiotike, što kultivaciju još uvijek čini nezamjenjivom u slučaju kada želimo pratiti rezistenciju ove bakterije.^[34]

N. gonorrhoeae je bakterija koja brzo razvija rezistenciju. Rezistencija na penicilin pojavila se još 1970-ih godina, na tetracikline 1980-ih, a na kinolone 1990-ih te se vrlo brzo proširila po svijetu. Pojava rezistencije i na ostale raspoložive antibiotike za liječenje gonokokne infekcije (cefalosporini, makrolidi) dovela je do sveopće zabrinutosti i pojačanog praće-

nja rezistencije gonokoka u svijetu u svrhu boljeg liječenja i prevencije rezistencije. Stoga ECDC od 2009. godine provodi program nadzora nad antimikrobnom rezistencijom gonokoka u Europi (EuroGASP, engl. *European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme*). Prema skupnim podacima iz 2013. godine u Europi je udio sojeva rezistentnih na cefiksim iznosio 4,7%, na ciprofloksacin 52,9% i na azitromicin 5,4%. Udio penicilina za producirajuće sojeve gonokoka bio je 12,9%.^[35] Hrvatska se uključila u EuroGASP krajem 2014., a prve prikupljene izolate poslala je tijekom 2015. godine.^[36] U ovom istraživanju svi sojevi gonokoka (ukupno testiranih pet) bili su osjetljivi na cefiksim i ceftriakson koji su terapija izbora za liječenje gonokokne infekcije prema preporukama Referentnog centra Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi RH za infekcije mokraćnog sustava.^[37] Rezistencija na azitromicin zabilježena je kod jednog soja, a u dva rezistencija na ciprofloksacin.

Nakon puberteta *M. hominis* i *Ureaplasma spp.* izoliraju se iz donjeg dijela spolno-mokraćnog sustava mnogih spolno aktivnih i zdravih osoba^[3], ali zbog neupitnog načina prijenosa i njihove moguće uloge u etiopatogenezi nekih bolesti spolno-mokraćnog sustava infekcije uzrokovane ovim bakterijama ubrajamo u SPI u širem smislu.

Prema novoj klasifikaciji, *Ureaplasma spp.* uključuje dvije vrste koje su izolirane u ljudi, prethodno poznate kao biovari *U. urealyticum* (prije biovar 2) i *U. parvum* (prije biovar 1). *U. urealyticum* smatra se uzročnikom negonokoknog uretritisa, dok je uloga *U. parvum* u patogenezi istoga nejasna.^[38] Povlsen i suradnici su pokazali da je 80% sojeva PCR pozitivnih na *Ureaplasma spp.* karakterizirano kao biovar 1, tj. *U. parvum*, 13,5% kao biovar 2 odnosno *U. urealyticum*, a 6,5% sojeva je kombinacija obje vrste^[39], što navodi na zaključak da samo manji dio sojeva *Ureaplasma spp.* dokazanih metodom kultivacije može uzrokovati sindrom uretritisa. Stoga je potrebno ispitati potrebu uvođenja molekularnih, za *Ureaplasma urealyticum* specifičnih metoda u laboratorije za dijagnostiku SPI.

Laboratorijski podatci o učestalosti SPI na određenom geografskom području nezamjenjivi su u nadzoru nad SPI i planiranju preventivnih mjera. Točnosti ovih podataka pridonosi sve osjetljivija molekularna mikrobiološka dijagnostika. Kombinacija molekularnih metoda detekcije (npr. uporaba *multiplex* PCR-a pomoću kojeg se istovremeno detektira više uzročnika SPI) i kultivacije optimalan je pristup dijagnostici SPI koji uvažava visoku osjetljivost i specifičnost molekularnih metoda, ali i važnost određivanja antimikrobne osjetljivosti izolirane bakterije.

LITERATURA

- [1] Gewirtzman A, Bobrick L, Conner K, Tying SK. Epidemiology of Sexually Transmitted Infections. U: Gross G, Tying SK, ur. Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2011, str. 13–34.
- [2] Ljubin-Sternak S, Meštrović T. Chlamydia trachomatis and genital mycoplasmas – pathogens with an impact on human reproductive health. J Pathog. 2014;2014: 183167.
- [3] Waites KB, Taylor-Robinson D. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. U: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW, ur. Manual of Clinical Microbiology. 11. izd. Washington: ASM Press; 2015, str. 1088–105.
- [4] Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011; 24:498–514.
- [5] Da Ros CT, Schmitt Cda S. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. Asian J Androl. 2008;10:110–4.
- [6] Bunnell RE, Dahlberg L, Rolfs R, Ransom R, Gershman K, Farshy C i sur. High prevalence and incidence of sexually transmitted diseases in urban adolescent females despite moderate risk behaviors. J Infect Dis. 1999;180:1624–31.
- [7] Svenstrup HF, Dave SS, Carder C, Grant P, Morris-Jones S, Kidd M i sur. A cross-sectional study of *Mycoplasma genitalium* infection and correlates in women undergoing population-based screening or clinic-based testing for Chlamydia infection in London. BMJ Open. 2014;4:e003947.
- [8] Low N, Redmond S, Uusküla A, van Bergen J, Ward H, Andersen B i sur. Screening for genital chlamydia infection. Cochrane Database Syst Rev. 2016;9(9):CD010866.
- [9] Datta SD, Torrone E, Kruszon-Moran D, Berman S, Johnson R, Satterwhite CL i sur. Chlamydia trachomatis trends in the United States among persons 14 to 39 years of age, 1999–2008. Sex Transm Dis. 2012;39:92–6.
- [10] Hirsl-Hečej V, Pustisek N, Sikanić-Dugić N, Domljan LM, Kani D. Prevalence of chlamydial genital infection and associated risk factors in adolescent females at an urban reproductive health care center in Croatia. Coll Antropol. 2006;30(Suppl 2):131–7.
- [11] Ljubin-Sternak S, Kruzic V, Vilibić-Čavlek T, Škerk V. Chlamydia trachomatis infection in Croatian symptomatic and asymptomatic men. J Men's Health & Gender. 2006;3:80–1.
- [12] Božičević I, Grgić I, Židovec-Lepej S, Čakalo JI, Belak-Kovačević S, Štulhofer A i sur. Urine-based testing for Chlamydia trachomatis among young adults in a population-based survey in Croatia: feasibility and prevalence. BMC Public Health. 2011;11:230.
- [13] Škerk V, Čajić V, Markovinović L, Roglić S, Zekan S, Škerk V i sur. Etiology of chronic prostatitis syndrome in patients treated at the university hospital for infectious diseases "Dr. Fran Mihaljević" from 2003 to 2005. Coll Antropol. 2006;30(Suppl 2):145–9.
- [14] Pasini M, Kotarski V, Škerk V, Markotić A, Tambić Andrašević A, Židovec Lepej S i sur. The significance of Chlamydia trachomatis in prostatitis syndrome. J Chemother. 2014;26:382–4.
- [15] Škerk V, Krhen I, Lisić M, Begovac J, Roglić S, Škerk V i sur. Comparative randomized pilot study of azithromycin and doxycycline efficacy in the treatment of prostate infection caused by Chlamydia trachomatis. I Int J Antimicrob Agents. 2004;24:188–91.

- [16] Škerk V, Krhen I, Lisić M, Begovac J, Čajić V, Zekan S i sur. Azithromycin: 4.5- or 6.0- gram dose in the treatment in patients with chronic prostatitis caused by *Chlamydia trachomatis* – a randomized study. J Chemother. 2004;16:408–10.
- [17] Škerk V, Ljubin Sternak S, Roglić S, Škerk V, Lisić M. Diagnosis and treatment of chronic prostatitis caused by *Chlamydia trachomatis*. J Chemoter. 2005;17:570–1.
- [18] Ljubin Sternak S, Škerk V. Određivanje antimikrobne rezistencije *Chlamydia trachomatis* i primjena dosadašnjih spoznaja u svakodnevnoj praksi. Med Glas. 2010;7:26–31.
- [19] Ljubin-Sternak S, Meštrović T, Vilibić-Čavlek T, Mlinarić-Galinović G, Sviben M, Markotić A i sur. In vitro susceptibility of urogenital *Chlamydia trachomatis* strains in a country with high azithromycin consumption rate. Folia Microbiol (Praha). 2013;58:361–5.
- [20] Mestrovic T, Ljubin-Sternak S, Sviben M, Bedenić B, Vraneš J, Markotić A i sur. Antimicrobial sensitivity profile of *Chlamydia trachomatis* isolates from Croatia in McCoy cell culture system and comparison with the literature. Clin Lab. 2016;62:357–64.
- [21] Taylor-Robinson D, Jensen JS. Mycoplasma genitalium: form chrysalis to multicoloured butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011; 24:498–514.
- [22] Mena L, Wang X, Mroczkowski TF, Martin DM. Mycoplasma genitalium infections in asymptomatic men and men with urethritis attending a sexually transmitted diseases clinic in new Orleans. Clin Infect Dis. 1993;17:83–89.
- [23] McGowin CL, Anderson-Smits C. Mycoplasma genitalium: An emerging cause of sexually transmitted disease in women. PLOS Pathog. 2011;7:e1001324.
- [24] Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. Mycoplasma genitalium infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2015;61:418–26.
- [25] Ljubin-Sternak S, Marijan T, Vraneš J. Mycoplasma genitalium-uzročnik spolno prenosivih bolesti kojeg se ne smije zanemariti. Infektol Glasn. 2014;34:183–7.
- [26] Plečko V, Žele Starčević L, Tripković V, Rezo Vranješ V, Skerlev M. Mycoplasma genitalium: clinical significance and diagnosis. Acta Dermatovenereol Croat. 2013;21:236–40.
- [27] Plečko V, Žele-Starčević L, Tripković V, Skerlev M, Ljubojević S, Pleško S i sur. Unusually low prevalence of *Mycoplasma genitalium* in urine samples from infertile men and healthy controls: a prevalence study. BMJ Open. 2014;4:e005372.
- [28] Twin J, Jensen JS, Bradshaw CS, Garland SM, Fairley CK, Min LY i sur. Transmission and selection of macrolide resistant Mycoplasma genitalium infections detected by rapid high resolution melt analysis. PLoS One. 2012;7:e35593.
- [29] Jensen SJ, Bradshaw C. Management of *Mycoplasma genitalium* infections – can we hit a moving target? BMC Infect Dis. 2015;15:343.
- [30] Unemo M, Endre KMA, Moi H. Five-day azithromycin treatment regimen for *Mycoplasma genitalium* infection also effectively eradicates *Chlamydia trachomatis*. Acta Derm Venerol. 2015;95:730–2.
- [31] Moi H, Blee K, Horner PJ. Management of non-gonococcal urethritis. BMC Infect Dis. 2015;15:294.
- [32] European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance report: Sexually transmitted infections in Europe, 2013; Dostupno na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/sexual-transmitted-infections-europe-surveillance-report-2013.pdf>[Pristupljeno 10.12.2022.]
- [33] Elias J, Frosch M, Vogel U. Neisseria. U: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW, ur. Manual of Clinical Microbiology. 11. izd. Washington: ASM Press; 2015, str. 635–51.
- [34] Whiley DM, Tapsall JW, Sloots TP. Nucleic acid amplification testing for *Neisseria gonorrhoeae*: an ongoing challenge. J Mol Diag. 2006;8:3–15.
- [35] European Centre For Disease Prevention and Control. Surveillance report: Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe, 2013. Dostupno na: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/gonococcal-antimicrobial-susceptibility-surveillance-europe-2013.pdf>[Pristupljeno 10.12.2022.]
- [36] Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Uvođenje programa praćenja antimikrobne rezistencije gonokoka (EuroGASP) u Hrvatskoj, 2016: Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/tag/euro-gasp/>[Pristupljeno 10.12.2022.]
- [37] Škerk V, Markotić A. Urogenitalne infekcije – antimikrobno liječenje. Med Glas. 2010;7:1–11.
- [38] Povlsen K, Bjørnelius E, Lidbrink P, Lind I. Relationship of *Ureaplasma urealyticum* biovar 2 to nongonococcal urethritis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002;21:97–101.
- [39] Povlsen K, Jensen JS, Lind I. Detection of *Ureaplasma urealyticum* by PCR and biovar determination by liquid hybridization. J Clin Microbiol. 1998;36:3211–6.