

# Učestalost infekcije bakterijom Mycoplasma genitalium u pacijenata Splitsko - dalmatinske županije

---

Slapničar, Mia

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:002636>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Mia Slapničar**

**UČESTALOST INFEKCIJE BAKTERIJOM *MYCOPLASMA GENITALIUM*  
U PACIJENATA SPLITSKO – DALMATINSKE ŽUPANIJE**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2023./2024.**

**Mentor:**

**Izv. prof. prim. dr. sc. Vanja Kaliterna, dr. med.**

**Split, srpanj 2024.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Bakterije iz roda <i>Mycoplasma</i> .....	2
1.2. <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	2
1.2.1. Građa i osobitosti bakterije <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	3
1.2.2. Patogeneza bakterije <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	4
1.2.3. Infekcije uzrokovane bakterijom <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	5
1.2.3.1. Uretritis.....	6
1.2.3.2. Cervicitis .....	6
1.2.3.3. Proktitis .....	6
1.2.3.4. Zdjelična upalna bolest.....	7
1.2.3.5. Epididimitis .....	7
1.2.3.6. Reaktivni artritis .....	8
1.2.4. Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	8
1.2.5. Liječenje infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	9
1.2.6. Prevencija infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	11
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	12
2.1. Ciljevi istraživanja .....	13
2.2. Hipoteze istraživanja .....	13
3. ISPITANICI I POSTUPCI .....	14
4. REZULTATI.....	22
5. RASPRAVA.....	32
6. ZAKLJUČCI .....	36
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	38
8. SAŽETAK.....	41
9. SUMMARY .....	43

## **ZAHVALA**

*Hvala mojoj dragoj mentorici, Vanji Kaliterna, na posvećenom vremenu i korisnim savjetima koje je sa mnom podijelila, ne samo pri pisanju ovog rada, već i u svakodnevnim razgovorima.*

*Hvala mojim prijateljima s kojima sam dijelila i lijepe i zahtjevne trenutke školovanja. Obilježili ste moje studentske dane smijehom, veseljem i dobrim društvom.*

*Hvala mojoj obitelji, koja mi uvijek pruža neizmjernu ljubav i podršku.*

*Najveće hvala mojim roditeljima, sestri i Bartulu. Vi ste moji najbolji prijatelji i najveći uzori.*

## **POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU:**

*C. trachomatis* – *Chlamydia trachomatis*

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

gap – *gap* geni, geni praznine

GAPDH – gliceraldehid 3-fosfat dehidrogenaza

kb – kilobaza

*M. genitalium* – *Mycoplasma genitalium*

*M. hominis* – *Mycoplasma hominis*

MgPa – engl. *M. genitalium Protein of Adhesion*, adhezijski protein *M. genitalium*

MsrA – engl. *Peptide Methionine Sulfoxide Reductase*, reduktaza metionin sulfoksida

*N. gonorrhoeae* – *Neisseria gonorrhoeae*

NAATs – engl. *Nucleic Acid Amplification Tests*, testovi umnažanja nukleinskih kiselina

NZJZ – Nastavni zavod za javno zdravstvo

PCR – engl. *Polymerase Chain Reaction*, lančana reakcija polimerazom

PID – engl. *Pelvic inflammatory disease*, upalna zdjelična bolest

RH – Republika Hrvatska

rRNK – ribosomska ribonukleinska kiselina

SAD – Sjedinjene Američke Države

SDŽ – Splitsko – dalmatinska županija

*T. vaginalis* – *Trichomonas vaginalis*

*U. parvum* – *Ureaplasma parvum*

*U. urealyticum* – *Ureaplasma urealyticum*

## **1. UVOD**

### **1.1. Bakterije iz roda *Mycoplasma***

Porodica *Mycoplasmataceae* prokarioti su podijeljeni u četiri roda: *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Acholeplasma* i *Spiroplasma*. To su najmanje samoreplicirajuće bakterije, a smatra se da su evoluirale iz gram – pozitivnih bakterija. Nemaju staničnu stijenku, pa je oblik bakterija promjenjiv. Rezistentne su na sve beta – laktamske antibiotike zbog njihova mehanizma djelovanja na staničnu stijenku. Mikoplazme za rast i razvoj trebaju kolesterol, pa se za uzgoj kolonija koriste posebne mikrobiološke podloge. Za dijagnostiku bakterija iz roda *Mycoplasma* danas se uglavnom služimo metodama molekularne dijagnostike (1,2).

Vrste *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum* klinički su značajne bakterije koje pronalazimo u urogenitalnom sustavu ljudi. Bakterija *Ureaplasma parvum* dio je fiziološke flore, dok su *Ureaplasma urealyticum* i *Mycoplasmae* važan uzrok infekcija spolnog sustava i neplodnosti. Prenose se spolnim putem, a zaražene osobe često su asimptomatske, zbog čega infekcije bakterijama iz porodice mikoplazmi predstavljaju važan javnozdravstveni problem (3).

*Mycoplasma pneumoniae* uvijek je patogena. Uzrokuje atipične pneumonije i druge infekcije dišnog sustava, a može biti i uzročnik infekcija koštano – zglobnog sustava (3).

### **1.2. *Mycoplasma genitalium***

*Mycoplasma genitalium* bakterija je koja boravi na sluznicama mokraćno – spolnog i dišnog sustava u ljudi. Za rast *M. genitalium* potrebne su komponente živih stanica, zbog čega je bakteriju vrlo teško uzgojiti u kulturi te se dokazuje isključivo metodama molekularne dijagnostike. Prvi je put izolirana iz brisa uretre dvojice muškaraca s negonokoknim uretritisom 1981. godine (4).

Još uvijek nije poznato nalazimo li *M. genitalium* kao dio fiziološke flore ili je uvijek patogena. Fakultativni je unutarstanični patogen, preživljava i izvan stanice, ali joj unutarstanična lokalizacija omogućava izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina (4).

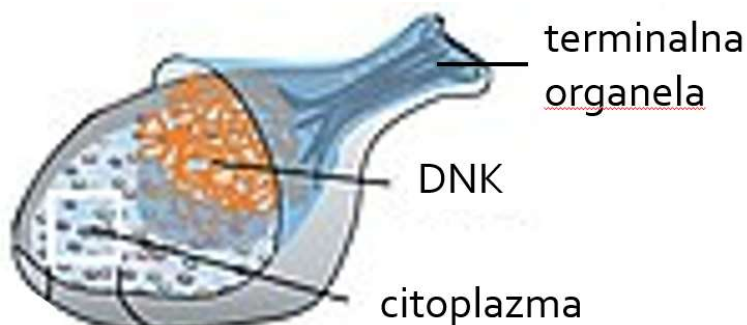
Infekcija *M. genitalium* često je neprepoznata i otkriva se slučajno, a potrebno je liječiti sve partnere zaražene osobe zbog spolnog načina prijenosa te bakterije. Komplikacije neliječene infekcije *M. genitalium* mogu biti ozbiljne, a uključuju upalnu zdjeličnu bolest, epididimitis i u konačnici neplodnost (5).

### 1.2.1 Građa i osobitosti bakterije *Mycoplasma genitalium*

*M. genitalium* vrlo je mala bakterija veličine 0,2 – 0,3  $\mu\text{m}$  koja se ne može vidjeti svjetlosnim mikroskopom. Ne posjeduje staničnu stijenku, već joj citoplazmu obavijaju tri tanke membrane koje nose zajednički naziv trilaminarna membrana. Za održavanje trilaminarne membrane potrebni su steroli i lipidi koje bakterija iskorištava iz stanica domaćina. Zbog nepostojanja stanične stijenke, *M. genitalium* su pleomorfní organizmi pa ih na elektronskom mikroskopu možemo vizualizirati u raznim oblicima (3).

*M. genitalium* najmanji je poznati živi prokariot. Genom joj sadrži 580 kb što je dovoljno za kodiranje osnovnih proteina ključnih za život te bakterije. Neki od tih gena koriste se za detekciju bakterije pomoću PCR-a, npr. MgPa DNK gen, rRNK geni i gap gen. Glavni antigeni bakterije *M. genitalium* su membranski proteini i glikolipidi, a glavni faktori virulencije su adhezijski proteini i terminalna organela (4).

*M. genitalium* razmnožava se binarnom fisijom. Najpovoljniji oblik stanice za razmnožavanje je oblik boce (Slika 1.), dok u drugim oblicima replikacija DNK ne slijedi podjelu citoplazme pa se bakterija ne može dijeliti (6).



**Slika 1.** Shematski prikaz građe bakterije *M. genitalium* (Preuzeto i prilagođeno prema: Yu I, Mori T, Ando T, Harada R, Jung J, Sugita Y i sur. Biomolecular interactions modulate macromolecular structure and dynamics in atomistic model of a bacterial cytoplasm. Elife. 2016;5:e19274.)



### 1.2.2. Patogeneza bakterije *Mycoplasma genitalium*

*M. genitalium* fakultativni je unutarstanični patogen. Obitava na sluznicama urogenitalnog sustava ili unutar epitelnih stanica. Infekcije uzrokovane *M. genitalium* kronične su i nespecifične, a svojom unutarstaničnom lokalizacijom bakterija izbjegava imunološki odgovor domaćina. Još jedno svojstvo koje pridonosi tome jest antigena varijabilnost, tj. učestale izmjene antigena u svojim membranskim proteinima. *M. genitalium* u uvjetima izvan domaćina ne može preživjeti dulje vrijeme (2).

Sposobnost adhezije najvažnije je svojstvo patogenosti *M. genitalium*. Adhezijom bakterije na epitel sluznica dolazi do oslobađanja proupalnih čimbenika što se klinički očituje upalom i infekcijom. Osim proupalnih citokina, važnu ulogu u nastanku upale imaju i oslobođene tvari iz same bakterije, kao što su slobodni radikali kisika. Glavni adhezijski protein ove bakterije je MgPa, protein trilaminarne membrane, antigen na kojega imunološki sustav domaćina stvara protutijela. Uz membranske proteine, u adheziji bakterije na epitel sluznica važnu ulogu ima i terminalna organela. To je struktura na kraju bakterijske stanice sačinjena od proteina, važnih za adheziju i od bazalne strukture, važne za pokretljivost bakterije (7).

Osim adhezina, patogenosti *M. genitalium* pridonose i enzimi, posebice enzim glikolize GAPDH kojeg bakterija prebacuje iz unutrašnjosti stanice na površinu, gdje djeluje kao ligand za mucin na sluznicama domaćina. Još jedan važan enzim je MsrA koji sudjeluje u popravku genoma bakterije djelujući kao antioksidans (4).

### 1.2.3. Infekcije uzrokovane bakterijom *Mycoplasma genitalium*

Infekcija *M. genitalium* važna je spolno – prenosiva bolest. Prevalencija infekcija uzrokovanih *M. genitalium* uvelike varira u različitim dijelovima svijeta, procjenjuje se na oko 1% u razvijenim zemljama i oko 5% u zemljama u razvoju. Jednako je zastupljena u muškaraca i u žena, a glavni čimbenik za dobivanje infekcije *M. genitalium* rizično je spolno ponašanje. U osoba koje učestalo mijenjaju spolne partnere i ne koriste mehaničku zaštitu pri spolnom odnosu, prevalencija ove infekcije doseže i 38%. Također je učestala i koinfekcija *M. genitalium* s drugim uzročnicima spolno – prenosivih bolesti, posebice bakterijama *C. trachomatis* i *N. gonorrhoeae* (8).

Infekcije uzrokovane *M. genitalium* često su asimptomatske, pa se kod zaraženih osoba slučajno otkrije prisutnost bakterije. Zbog toga nije sa sigurnošću utvrđeno jesu li asimptomatske infekcije ujedno i patološke. Kod potvrđene infekcije *M. genitalium* treba provesti liječenje zaražene osobe i njezinih spolnih partnera (4).

Infekcije uzrokovane bakterijom *M. genitalium* dijelimo na **nekomplikirane**, koje se očituju blažim simptomima i lako se liječe, i na **komplikirane**, koje mogu dovesti do ozbiljnih stanja koja teško liječimo (Tablica 1).

**Tablica 1.** Nekomplirane i komplikirane infekcije uzrokovane bakterijom *M. genitalium*

<b>Nekomplikirane infekcije</b>	<b>Komplikirane infekcije</b>
Uretritis	Zdjelična upalna bolest
Cervicitis	Neplodnost
Proktitis	Spontani pobačaj i prijevremeni porod
	Ektopična trudnoća
	Epididimitis
	Reaktivni artritis

Zbog različitosti u spolnim sustavima muškaraca i žena, razlikuju se kliničke slike ovih infekcija prema spolu (Tablica 2) (5).

**Tablica 2.** Klinička slika infekcija uzrokovanih bakterijom *M. genitalium* u muškaraca i žena

<b>Muškarci</b>	<b>Muškarci i žene</b>	<b>Žene</b>
Balanopostitis	Uretritis	Vaginitis
Prostatitis	Neplodnost	Cervicitis
Epididimitis	Reaktivni artritis	Upalna bolest zdjelice

#### **1.2.3.1. Uretritis**

Uretritis je upala mokraćne cijevi. Može biti uzrokovana bakterijama, virusima ili gljivama. Klinički se očituje iscjetkom iz uretre, dizurijom i polakisurijom. Dijagnoza se potvrđuje analizom uretralnog sekreta u kojem pronalazimo polimorfonuklearne leukocite koji ukazuju na upalu. Molekularnom dijagnostikom mogu se detektirati najčešći uzročnici uretritisa, a to su *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* i *M. genitalium* (5).

#### **1.2.3.2. Cervicitis**

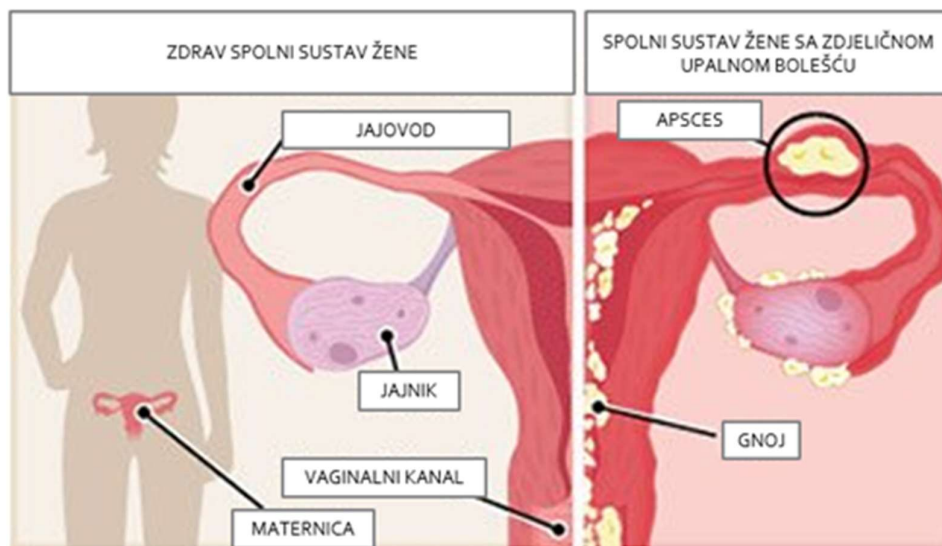
Cervicitis je upala vrata maternice. Znakovi cervicitisa su sluzav i gnojan iscjedak iz rodnice i spontano nemenstrualno krvarenje, praćeni bolnim spolnim odnosom. Ginekološkim pregledom vidi se crveni edematozni cerviks (5).

#### **1.2.3.3. Proktitis**

Proktitis je upala rektalne sluznice. Može nastati kao posljedica infekcije, mehaničkog oštećenja ili upalne bolesti crijeva. Klinička slika uključuje bol i sluzavo – krvave proljeve. Najčešće se javlja u homoseksulaca (9).

#### 1.2.3.4. Zdjelična upalna bolest

Zdjelična upalna bolest (PID, *pelvic inflammatory disease*) upala je unutrašnjih organa ženskog spolnog sustava: jajnika, jajovoda, maternice i peritoneuma koji se naslanja na te organe (Slika 2.). Očituje se kroničnom boli u zdjeličnom području, a sa sobom nosi ozbiljne komplikacije, kao što su kronične upale i apscesi zdjeličnih organa, stvaranje priraslica, neplodnost i sklonost razvoju ektopične trudnoće. PID najčešće nastaje kao posljedica koinfekcije različitim spolno – prenosivim uzročnicima, od kojih su najvažniji *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* i *M. genitalium*. Uglavnom započinje asimptomatskom infekcijom koja poprimi kronični tijek i proširi se na okolne organe (5,10).



**Slika 2.** Zdjelična upalna bolest (preuzeto i prilagođeno prema: Eastside Gynecology. Pelvic Inflammatory Disease and You [Internet]. [citirano 2. lipnja 2024.] Dostupno na: <https://eastsidegynecology.com/blog/pelvic-inflammatory-disease-and-you/>).

#### 1.2.3.5. Epididimitis

Epididimitis je upala dosjemenika, tj. epididimisa, koji služi za pohranu zrelih spermija. Epididimitis je komplicirana infekcija koja može dovesti do neplodnosti ukoliko se pravovremeno ne liječi. Očituje se bolnošću i otokom epididimisa, a može ga pratiti i upala testisa (epididimoorhitis) (9).

### 1.2.3.6. Reaktivni artritis

Reaktivni artritis (Reiterov sindrom) je spondiloartritis za koji je karakterističan trijas simptoma kojeg čine artritis, uretritis i konjunktivitis. Povezan je s infekcijom, a uzročnik može biti i *M. genitalium*. Liječi se nesteroidnim antireumaticima. U većine pacijenata liječena bolest prolazi kroz par mjeseci, ali rizik od ponovnog pojavljivanja je velik. Ponekad kao posljedica reaktivnog artritisa ostaju deformiteti zglobova i kralježnice s ireverzibilnim oštećenjem funkcije (11).

### 1.2.4. Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom *Mycoplasma genitalium*

*M. genitalium* bakterija je koja nema staničnu stijenu pa se ne može bojati po Gramu. Također, zbog svoje veličine, nije vidljiva svjetlosnim mikroskopom. Osim toga, nije ju moguće uzgojiti u kulturi. Serološko testiranje na prisustvo protutijela na antigene *M. genitalium* ne može se koristiti zbog križne reaktivnosti s antigenima ostalih bakterija iz roda mikoplazmi (kao npr. *Mycoplasma pneumoniae*). Zbog svega navedenog, u dijagnostici *M. genitalium* ne koriste se konvencionalne metode (9).

**Molekularna dijagnostika** jedini je rutinski način dokazivanja ove bakterije. Za to se koristi PCR metoda (engl. *Polymerase Chain Reaction*, lančana reakcija polimerazom), odnosno NAATs testovi (engl. *Nucleic Acid Amplification Tests*, testovi umnažanja nukleinskih kiselina) koji umnažanjem genoma bakterije potvrđuju prisutnost ili odsutnost bakterije u uzorku. Bakterijski geni koji se koriste pri tome su MgPa DNK gen, rRNK geni i gap gen. Pri dijagnostici *M. genitalium* također se analizira rezistencija na antibiotike iz skupine makrolida i kinolona kako bi se odredilo pravilno liječenje.

*M. genitalium* se u današnje vrijeme uglavnom dokazuje u sklopu sindromskog testiranja na spolno – prenosive bolesti – *multiplex PCR* kojim se mogu istovremeno iz istog uzorka dokazati više spolno – prenosivih patogena.

Uzorci za testiranje su obrisak cerviksa, obrisak uretre ili prvi mlaz jutarnjeg urina. Uzorak se treba staviti u transportni medij za molekularnu dijagnostiku i obraditi unutar 3 mjeseca (12).

### 1.2.5. Liječenje infekcija uzrokovanih bakterijom *Mycoplasma genitalium*

*M. genitalium* bakterija je koja nema staničnu stijenku pa beta – laktamski antibiotici, kao što su penicilini i cefalosporini, zbog njihovog mehanizma djelovanja (inhibicija sinteze stanične stijenke) nisu učinkoviti u liječenju infekcija uzrokovanih ovom bakterijom.

Još jedan problem u liječenju ovih infekcija je visoka stopa rezistencije bakterije na antibiotike kojima ih liječimo. Kako bi se odredilo pravilno liječenje, pri određivanju prisutnosti bakterije uz pomoć PCR-a određuje se i postojanje rezistencije na makrolide i kinolone. Rezistencija na makrolide među testiranim sojevima u RH iznosi 60,4%, a na kinolone 19,2% dok prisutnost ko-rezistencije na antibiotike iz obje skupine iznosi 18,2% (13,14).

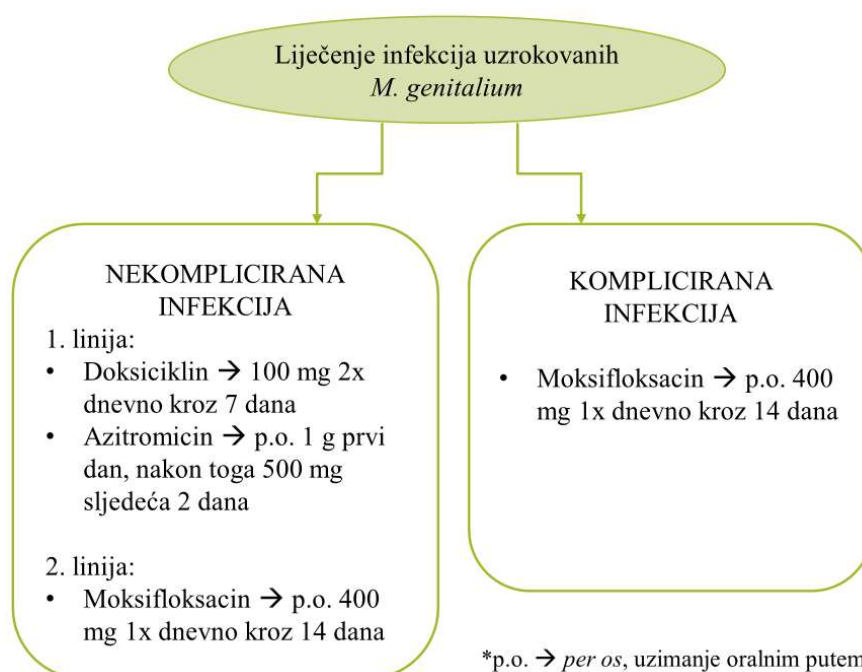
**Makrolidi** (azitromicin) i **tetraciklini** (doksiciklin) bakteriostatski su antibiotici, što znači da zaustavljaju rast bakterija. Vezanjem na bakterijske ribosome sprječavaju daljnju reprodukciju bakterija i tako omogućuju imunološkom sustavu domaćina da se bori protiv infekcije. U visokim koncentracijama ovi antibiotici mogu biti baktericidni, tj. izravno ubijaju bakterije.

**Fluorokinoloni** (moksifloksacin) pokazuju baktericidni učinak koji se postiže inhibicijom enzima DNK giraze (topoizomeraze II) ili DNK topoizomeraze IV u bakterijama. Ovaj mehanizam sprječava normalnu replikaciju i sintezu DNK, što dovodi do oštećenja bakterijske DNK i smrti stanice. Iako fluorokinoloni općenito imaju baktericidni učinak, u nekim slučajevima mogu djelovati bakteriostatski.

Pristinamicin spada u skupinu antibiotika nazvanu **streptogramini**, a djeluju tako što inhibiraju proteinsku sintezu u bakterijskoj stanici. Pristinamicin se koristi u liječenju različitih infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim bakterijama, posebno onih koje su otporne na druge antibiotike. Međutim, zbog svoje toksičnosti i složenog režima doziranja, pristinamicin se često koristi samo u teškim slučajevima infekcija kada su drugi antibiotici nedjelotvorni.

Lijekovi koji se koriste u prvoj liniji liječenja infekcija uzrokovanih *M. genitalium* su azitromicin i doksiciklin, koji se mogu davati u kombinaciji. U slučaju rezistencije na makrolide, kao drugu liniju liječenja koristimo moksifloksacin. Ukoliko se i dalje infekcija održi, daje se pristinamicin. Režim doziranja prikazan je na shemi (Slika 3).

Pri liječenju infekcija uzrokovanih *M. genitalium* treba isključiti postojanje ko – infekcija s ostalim uzročnicima spolno – prenosivih bolesti, kao što su *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* i *U. urealyticum*, jer ukoliko ko – infekcija postoji treba odabrati terapiju koja djeluje na sve prisutne uzročnike (15).



**Slika 3.** Shematski prikaz režima liječenja infekcija uzrokovanih bakterijom *M. genitalium* (preuzeto i prilagođeno prema: Conway R, Cook S, Soni S. Antibiotic treatment of *Mycoplasma genitalium* infection. The Pharmaceutical Journal. 2019;73:13.)

### **1.2.6. Prevencija infekcija uzrokovanih bakterijom *Mycoplasma genitalium***

*M. genitalium* bakterija je koja se prenosi spolnim putem. Kao i za sve ostale spolno prenosive bolesti, odgovorno spolno ponašanje najučinkovitiji je oblik prevencije od zaraze ovom bakterijom (2). Najvažniji čimbenici rizika koji pogoduju nastanku infekcije *M. genitalium* su:

1. rizično spolno ponašanje (nekorištenje mehaničke zaštite tijekom spolnog odnosa, učestalo mijenjanje spolnih partnera);
2. mlađa životna dob, posebice adolescentska;
3. homoseksualnost;
4. zaraženost drugim spolno – prenosivim bolestima;
5. bakterijska vaginoza i ostala stanja koja narušavaju pH vrijednost vagine.

Pravilna edukacija mladih osoba o odgovornom spolnom ponašanju i korištenju odgovarajuće zaštite ključna je za prevenciju širenja spolno – prenosivih bolesti, uključujući i *M. genitalium*. Također, uvođenjem probira na prisutnost bakterije *M. genitalium* u prvom mlazu urina ispitanika, znatno bi se smanjila učestalost komplikacija povezanih s infekcijom ovom bakterijom (5).



## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

## 2.1. Ciljevi istraživanja

Istraživanje je provedeno u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku.

Ciljevi istraživanja bili su:

1. Utvrditi prevalenciju mikrobiološki potvrđene infekcije *M. genitalium* u populaciji SDŽ.
2. Utvrditi učestalost rezistencije izolata *M. genitalium* na kinolone i makrolide.
3. Utvrditi demografske karakteristike (dob, spol) osoba zaraženih *M. genitalium*.
4. Utvrditi učestalost ko-infekcije *M. genitalium* sa ostalim uzročnicima spolno – prenosivih bolesti (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *T. vaginalis*).

## 2.2. Hipoteze istraživanja

1. Infekcija bakterijom *M. genitalium* infekcija je spolnog sustava s prevalencijom u SDŽ većom od 1 %.
2. Infekcija bakterijom *M. genitalium* u SDŽ jednako je učestala u muškoj i ženskoj populaciji.
3. Infekcija bakterijom *M. genitalium* u SDŽ učestalija je u populaciji mlađoj od 25 godina.
4. Rezistencija izoliranih bakterija *M. genitalium* na antibiotike iz skupine makrolida u SDŽ veća je od 40 %.
5. Rezistencija izoliranih bakterija *M. genitalium* na antibiotike iz skupine kinolona u SDŽ veća je od 10 %.
6. U više od 30% uzoraka pozitivnih na *M. genitalium* izoliran je kao ko-infekcija jedan ili više od navedenih patogena: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *T. vaginalis*.
7. Postoji statistički značajna povezanost ko-infekcija bakterije *M. genitalium* i *C. trachomatis* u SDŽ.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

Istraživanje je provedeno u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku, a napravljeno je kao retrospektivna studija. Ispitano je kolika je prevalencija infekcija uzrokovanih bakterijom *M. genitalium* u populaciji SDŽ i osjetljivost pozitivnih izolata na antibiotike iz skupine makrolida i kinolona kako bi se utvrdio stupanj rezistencije. Podatci su prikupljeni u periodu od 15. rujna 2023. do 15. lipnja 2024. Ovo istraživanje odobreno je od strane Etičkog povjerenstva NZJZ – SDŽ.

U istraživanje je bilo uključeno 6042 ispitanika s područja SDŽ. Ispitanici su podijeljeni u dvije kategorije, prema spolu i dobi.

Od 6042 ispitanika, testirano je 5235 (86,6 %) žena i 807 (13,4 %) muškaraca. U dobnoj skupini ≤ 25 godina bilo je 619 ispitanika (10,2 %), a u skupini starijih od 25 godina 5423 ispitanika (89,8 %).

Kao uzorci za analizu korišteni su prvi mlaz urina, obrisak cerviksa ili obrisak uretre.

Ispitanici koji su kao uzorak donosili prvi mlaz urina dobili su uputstva za dostavljanje uzorka: nisu smjeli mokriti barem 2 sata prije sakupljanja urina, a skupljali su prvih 20 ml urina u sterilnu posudicu te je uzorak trebalo što prije donijeti u laboratorij.

U žena u kojih je kao uzorak korišten bris cerviksa, on je uziman od strane ginekologa te se trebao što prije dostaviti u laboratorij.

U muškaraca u kojih je kao uzorak korišten obrisak uretre, uziman je u Ambulanti za uzorkovanje NZJZ-a.

Nakon zaprimanja, uzorci su testirani na razne spolno – prenosive patogene: *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *T. vaginalis*.

Za dijagnostiku je korišten uređaj *Seegene STAR<sup>LET</sup>* koji radi potpuno automatsku izolaciju uzorka i odrađuje PCR na navedene patogene te daje informaciju koji uzorak je pozitivan na koji patogen (Slika 4.).



**Slika 4.** Uređaj *Seegene STAR<sup>LET</sup>* u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku NZJZ – SDŽ

Specifičnost i osjetljivost ove pretrage vrlo je visoka. Kao dokaz da je rezultat testa ispravan, uređaj koristi kontrole: pozitivnu, negativnu i internu kontrolu (humani DNK).

**Pozitivna kontrola** je dio nukleinskih kiselina traženih patogena, a služi za uspoređivanje s nukleinskom kiselinom iz uzorka u kojem tražimo navedene patogene.

U slučaju amplifikacije **negativne kontrole** treba ponoviti uzimanje uzorka zbog toga što je došlo do kontaminacije uzorka.

**Interna kontrola** upućuje na prisutnost ljudske DNK u uzorku, a ukoliko ona izostane to znači da je uzorak nepravilno uzet i treba ponoviti uzimanje.

Uzorci koji su bili pozitivni na *M. genitalium* nadalje su se obrađivali u svrhu određivanja osjetljivosti na antibiotike iz skupine makrolida i kinolona. Za ovu svrhu korišteni su uređaji *AusDiagnostics MT – PROCESSOR* i *AusDiagnostics MT – ANALYSER* (Slika 5.)



**Slika 5.** Uređaji *AusDiagnostics MT – PROCESSOR* (gore) i *AusDiagnostics MT – ANALYSER* (dolje) u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku NZJZ – SDŽ

Set reagensa za ovu pretragu, *Urogenital and resistance 12 well*, koristi se kao panel za testiranje uzročnika urogenitalnih infekcija, u koje spadaju *M. genitalium*, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *U. parvum*, te istovremeno utvrđivanje rezistencije *M. genitalium* na makrolide i kinolone kao i *N. gonorrhoeae* na cefalosporine. Ovi testovi koriste multipleks – tandem lančanu reakciju polimerazom (MT-PCR) za amplifikaciju ciljane DNK ili RNK za identifikaciju patogena u izolatima nukleinskih kiselina iz odgovarajućih tipova uzoraka.

Prilikom našeg istraživanja, ovaj uređaj korišten je samo za određivanje rezistencije na antibiotike kod pozitivnih izolata *M. genitalium*. Otpornost na makrolide i fluorokinolone kod *M. genitalium* detektira se amplifikacijom divljih, tj. nemutiranih sekvenci određenih gena. Sojevi koji sadrže mutacije povezane s rezistencijom amplificirani su s manjom učinkovitošću. Usporedba koncentracija gena izračunatih u genomu *M. genitalium* omogućava identifikaciju mutiranih sojeva i određivanje rezistencije na makrolide i fluorokinolone.

Uređaj *AusDiagnostics MT – PROCESSOR* nije automatski izolator, pa je prije pokretanja rada ovog uređaja potrebno napraviti izolaciju. Uzorci se pipetiraju na pločicu s reagensima koja se stavlja u automatizirani izolator *GeneRotex 96* u kojem se iz uzoraka izolira čista nukleinska kiselina ako je uzorak pozitivan (Slika 6).



**Slika 6.** Uređaj *GeneRotex 96* s ubačenim uzorcima za izolaciju u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku NZJZ – SDŽ

Nakon izolacije, automatizirani pipetor *Myra* prebacuje izolate u jažice mikrotitarske pločice prilagođene za stavljanje u *AusDiagnostics* uređaje. Također pipetira pozitivne i negativne kontrole u odgovarajuće jažice pločice. Potom pipetor automatski pipetira odgovarajuću količinu reakcijske smjese za PCR redom u svaku jažicu (kontrola i uzoraka) (Slika 7.).



**Slika 7.** Automatizirani pipetor *Myra* s ubačenim izolatima u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku NZJZ – SDŽ



Nakon pipetiranja, pločica je spremna za ubacivanje u uređaj *AusDiagnostics* (Slika 8.).



**Slika 8.** Uređaj *AusDiagnostics MT – PROCESSOR* napunjen izolatima iz uzoraka pozitivnih na *M. genitalium* i pripremljen za testiranje osjetljivosti na makrolide i kinolone

Nakon prikupljanja svih podataka, napravljena je statistička analiza, a rezultati su prikazani tablično i grafički, u obliku cijelih brojeva i postotaka. Testiranja statističkih značajnosti razlika napravljena su korištenjem hi – kvadrat ( $\chi^2$ ) testa. Razina statističke značajnosti određena je na  $P < 0,05$ .

## **4. REZULTATI**

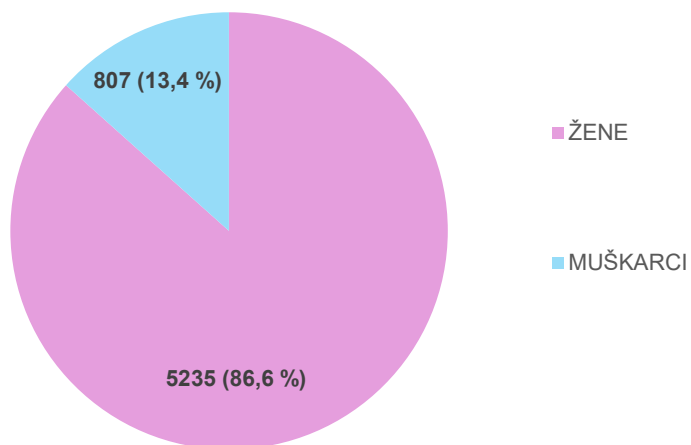
U razdoblju od 15. rujna 2023. do 15. lipnja 2024., u NZJZ – SDŽ, testirano je ukupno 6042 uzorka na *M. genitalium*, *C. trachomatis*, *U. urealyticum* i *M. hominis*, a 953 na *N. gonorrhoeae* i 783 na *T. vaginalis* (Tablica 3.).

**Tablica 3.** Učestalost infekcije spolno – prenosivim patogenima u SDŽ

<b>Patogen</b>	<b>Ukupni br. testiranih uzoraka</b>	<b>Pozitivni</b>	<b>Negativni</b>
<i>M. genitalium</i>	6042 (100%)	36 (0,6 %)	6006 (99,4 %)
<i>C. trachomatis</i>	6042 (100%)	90 (1,5 %)	5952 (98,5 %)
<i>U. urealyticum</i>	6042 (100%)	428 (6,9 %)	5614 (92,9 %)
<i>M. hominis</i>	6042 (100%)	284 (4,5 %)	5758 (95,3%)
<i>N. gonorrhoeae</i>	953 (100%)	11 (1,15 %)	942 (98,8%)
<i>T. vaginalis</i>	783 (100%)	18 (2,3 %)	765 (97,7 %)

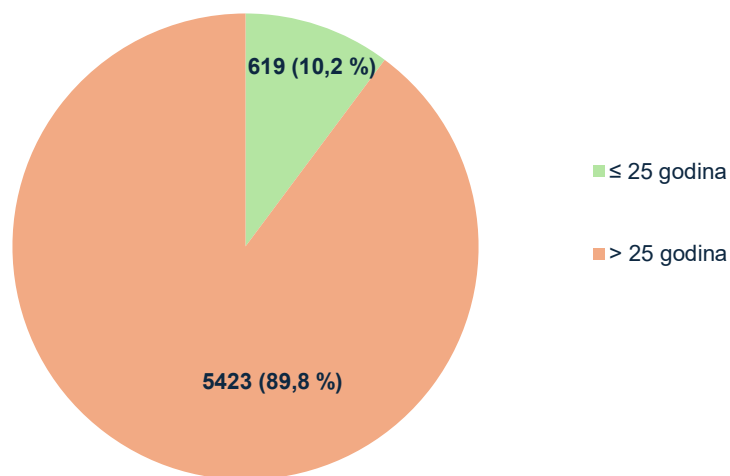
U Tablici 3. prikazana je učestalost pozitivnih rezultata na šest spolno – prenosivih patogena među testiranim ispitanicima SDŽ.

Od ukupnog broja 6042 ispitanika, testirano je 5235 (86,6 %) žena, a 807 (13,4 %) muškaraca (Slika 9.).



**Slika 9.** Raspodjela ispitanika prema spolu (N = 6042)

Od 6042 ispitanika, u dobi od 25 godina i mlađih bilo je 619 (10,2 %) ispitanika, a 5423 (89,8 %) ispitanika bili su stariji od 25 godina (Slika 10.).



**Slika 10.** Raspodjela ispitanika prema dobi (N = 6042)

Od ukupnog broja 6042 ispitanika bilo je 36 (0,6 %) pozitivnih na *M. genitalium*, dok je 6006 (99,4 %) bilo negativnih (Tablica 4).

**Tablica 4.** Učestalost infekcije *M. genitalium* u SDŽ

	<b>POZ</b>	<b>NEG</b>	<b>ukupno testiranih</b>
<i>M. genitalium</i>	36 (0,6 %)	6006 (99,4 %)	6042 (100 %)

Prema rezultatima prikazanima u Tablici 5., može se zaključiti da postoji statistički značajna ovisnost između pozitivnog nalaza *M. genitalium* i spola ispitanika. Među muškarcima je bio značajno veći udio onih s pozitivnim nalazom (njih 17 / 807, odnosno 2,1 %), dok je među ženama taj udio bio znatno manji (19 / 5235, odnosno 0,36 %), što čini statistički značajnu razliku ( $P < 0,001$ ).

**Tablica 5.** Učestalost infekcije *M. genitalium* prema spolu

	<b><i>M. genitalium</i> POZ</b>	<b><i>M. genitalium</i> NEG</b>	<b>ukupno</b>
muškarci	17 (2,1 %)	790 (97,9 %)	807 (100 %)
žene	19 (0,36 %)	5216 (99,64 %)	5235 (100 %)
ukupno	36 (0,6 %)	6006 (99,4 %)	6042 (100 %)

\* $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 35,8913$ ;  $P < 0,001$

U ovom istraživanju utvrđeno je da osobe u dobi od 25 godina i mlađe statistički značajno češće imaju infekciju *M. genitalium*. Od 619 ispitanika dobi  $\leq 25$  godina, njih 10 (1,6 %) imalo je *M. genitalium*, dok je od 5423 ispitanika starijih od 25 godina infekciju imalo njih 26 (0,48%), što predstavlja statistički značajnu razliku ( $P < 0,001$ ) (Tablica 6).

**Tablica 6.** Učestalost infekcije *M. genitalium* prema dobi

	<i>M. genitalium</i> POZ	<i>M. genitalium</i> NEG	ukupno
$\leq 25$ godina	10 (1,6 %)	609 (98,4 %)	619 (100 %)
$> 25$ godina	26 (0,48 %)	5397 (99,52 %)	5423 (100 %)
ukupno	36 (0,6 %)	6006 (99,4 %)	6042 (100 %)

\* $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 12,1069$ ;  $P < 0,001$

Iz Tablice 7. može se zaključiti da postoji statistički značajna razlika u učestalosti infekcije *M. genitalium* u muškaraca ovisno o dobi. Muškarci dobne skupine  $\leq 25$  godina imali su pozitivan nalaz u 4,67 % slučajeva (5 / 107), dok su oni stariji od 25 godina imali pozitivan nalaz u 1,7 % slučajeva (12 / 700). To predstavlja statistički značajnu razliku ( $P = 0,047$ ).

**Tablica 7.** Učestalost infekcije *M. genitalium* u muškaraca prema dobi

MUŠKARCI	<i>M. genitalium</i> POZ	<i>M. genitalium</i> NEG	ukupno
$\leq 25$ godina	5 (4,67%)	102 (95,3 %)	107 (100%)
$> 25$ godina	12 (1,7%)	688 (98,3 %)	700 (100%)
ukupno	17 (2,1%)	790 (97,9 %)	807 (100%)

\*  $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 3,9396$ ;  $P = 0,047$

U Tablici 8. prikazana je učestalost infekcije *M. genitalium* u žena prema dobi. Može se zaključiti da u žena dobi  $\leq 25$  godina postoji značajno veća učestalost infekcije *M. genitalium* (0,97 %, odnosno 5 / 512) u odnosu na žene starije od 25 godina kod kojih je od ukupno 4723 testiranih u toj dobnoj skupini, njih 14 bilo pozitivno na *M. genitalium* (0,3 %). To predstavlja statistički značajnu razliku pri čemu je  $P = 0,015$ .

**Tablica 8.** Učestalost infekcije *M. genitalium* u žena prema dobi

ŽENE	<i>M. genitalium</i> POZ	<i>M. genitalium</i> NEG	ukupno
$\leq 25$ godina	5 (0,97%)	507 (99,02 %)	512 (100%)
$> 25$ godina	14 (0,3%)	4709 (99,7 %)	4723 (100%)
ukupno	19 (0,36%)	5216 (99,64 %)	5235 (100%)

\*  $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 5,909$ ;  $P = 0,015$



Iz rezultata prikazanih u Tablici 9. može se zaključiti da postoji statistički značajna razlika u učestalosti infekcije *M. genitalium* u dobnoj skupini  $\leq 25$  godina ovisno o spolu. Muškarci mlađi od 25 godina češće su imali pozitivan nalaz, u 4,67 % slučajeva (5 / 107), u odnosu na žene mlađe od 25 godina koje su bile pozitivne u 0,97 % slučajeva (5 / 512). To predstavlja statistički značajnu razliku ( $P = 0,006$ ).

**Tablica 9.** Učestalost infekcije *M. genitalium* u populaciji  $\leq 25$  godina prema spolu

$\leq 25$ godina	<i>M. genitalium</i> POZ	<i>M. genitalium</i> NEG	ukupno
muškarci	5 (4,67%)	102 (95,3 %)	107 (100%)
žene	5 (0,97%)	507 (99,02 %)	512 (100%)
ukupno	10 (1,6 %)	609 (98,4 %)	619 (100 %)

\*  $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 7,608$ ;  $P = 0,006$

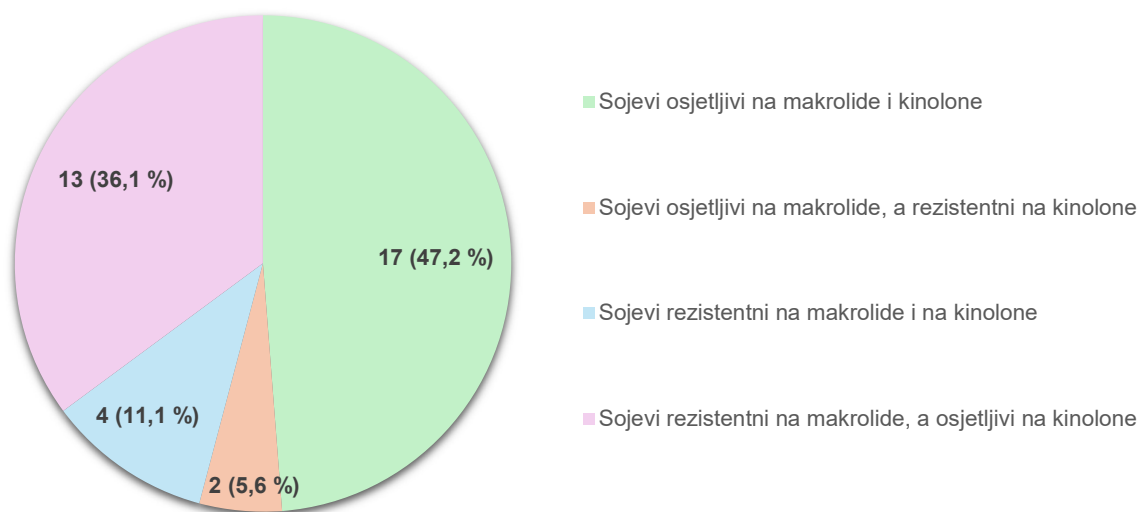
U Tablici 10. prikazana je raspodjela infekcije *M. genitalium* u dobnoj skupini starijih od 25 godina prema spolu. Može se zaključiti da u muškaraca dobi starijih od 25 godina postoji značajno veća učestalost infekcije *M. genitalium* (1,7 %, odnosno kod 12 od 700 testiranih) u odnosu na žene kod kojih je bilo 14 pozitivnih žena od 4723 testiranih u ovoj dobnoj skupini (0,3 %). To predstavlja statistički značajnu razliku pri čemu je  $P < 0,001$ .

**Tablica 10.** Učestalost infekcije *M. genitalium* u populaciji  $> 25$  godina prema spolu

$> 25$ godina	<i>M. genitalium</i> POZ	<i>M. genitalium</i> NEG	ukupno
muškarci	12 (1,7%)	688 (98,3 %)	700 (100%)
žene	14 (0,3%)	4709 (99,7 %)	4723 (100%)
ukupno	26 (0,48 %)	5397 (99,52 %)	5423 (100 %)

\*  $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 25,6861$ ;  $P < 0,001$

Od 6042 testirane osobe, na *M. genitalium* pozitivno je bilo 36 osoba (0,6 %) kojima je nadalje napravljeno testiranje osjetljivosti na antibiotike, makrolide i kinolone. Od ukupnog broja pozitivnih, njih 17 (47,2 %) bilo je osjetljivo na makrolide i kinolone. Rezistentno na makrolide bilo je 17 od 36 izolata (47,2 %), a njih šest na kinolone (17 %). Istovremenu rezistenciju na makrolide i kinolone imala su četiri izolata (11,1 %) (Slika 11.).



**Slika 11.** Osjetljivost *M. genitalium* na makrolide i kinolone

Svi uzorci pozitivni na *M. genitalium* testirani su i na ostale uzročnike infekcija spolnog sustava (*C. trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *N. gonorrhoeae* i *T. vaginalis*). Uzoraka u kojima je uz *M. genitalium* bio pozitivan još barem jedan od testiranih patogena bilo je 12, odnosno 33,3 %. U nekim slučajevima, u istom uzorku bilo je pozitivno dva ili više patogena te je ukupan broj pozitivnih spolno – prenosivih patogena bio 19. Unatoč velikom postotku ko-infekcija, nijedan od navedenih patogena pojedinačno nije bio zastupljen u ko-infekciji s *M. genitalium* u više od 20 % slučajeva. Također, svi patogeni osim *T. vaginalis* bili su češće zastupljeni uz *M. genitalium* nego bez nje (Tablica 11.).

**Tablica 11.** Učestalost ko-infekcije *M. genitalium* i ostalih uzročnika spolno – prenosivih infekcija

	ukupno	CT <sup>a</sup>	NG <sup>b</sup>	Mh <sup>c</sup>	Uu <sup>d</sup>	TV <sup>e</sup>
<i>M. genitalium</i> POZ	36 (0,6 %)	3 (8,3 %)	2 (5,6 %)	7 (19,4 %)	7 (19,4 %)	0 (0 %)
<i>M. genitalium</i> NEG	6006 (99,4 %)	87 (1,45 %)	9 (0,15 %)	277 (4,6 %)	421 (7 %)	18 (0,3 %)

<sup>a</sup> Ko-infekcija s *C. trachomatis*

<sup>b</sup> Ko-infekcija s *N. gonorrhoeae*

<sup>c</sup> Ko-infekcija s *M. hominis*

<sup>d</sup> Ko-infekcija s *U. urealyticum*

<sup>e</sup> Ko-infekcija s *T. vaginalis*

Zbog kliničke važnosti posljedica koje mogu imati na zdravlje i plodnost, ispitana je i učestalost ko-infekcija *M. genitalium* i *C. trachomatis*.

Utvrđeno je da su tri ispitanika bila pozitivna na *M. genitalium* među 90 pozitivnih na *C. trachomatis*, odnosno 3,33 %, dok je bilo 33 (0,55 %) *M. genitalium* pozitivnih među ukupno 5952 ispitanika koji su bili negativni na *C. trachomatis*. Postoji statistički značajna povezanost prisutnosti infekcije uzrokovane *M. genitalium* i *C. trachomatis*, pri čemu je  $P < 0,001$  (Tablica 12.).

**Tablica 12.** Učestalost ko-infekcije *M. genitalium* i *C. trachomatis*

	<i>C. trachomatis</i> POZ	<i>C. trachomatis</i> NEG	ukupno
<i>M. genitalium</i> POZ	3 (3,33 %)	33 (0,55 %)	36 (0,6 %)
<i>M. genitalium</i> NEG	87 (96,7 %)	5919 (99,45 %)	6006 (99,4 %)
ukupno	90 (1,5 %)	5952 (98,5 %)	6042 (100 %)

\*  $\chi^2$  test;  $\chi^2 = 11,5596$ ;  $P < 0,001$

## **5. RASPRAVA**

U ovom istraživanju sudjelovalo je 6042 ispitanika, od kojih je u njih 36 (0,6 %) dokazana *M. genitalium*. Ovakvi rezultati nešto su niži od podataka Centara za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *Centers for Disease Control, CDC*) u Europi i SAD-u gdje je prevalencija 1 – 3 % (13). U razvijenim državama prevalencija je 1,3 %, dok je u zemljama u razvoju ona 3,9 % (17).

Prema našim rezultatima, utvrđeno je da muškarci značajno češće imaju infekciju *M. genitalium* u odnosu na žene. Žene su bile pozitivne u 19 slučajeva od ukupno 5235 testiranih žena (0,36 %) u odnosu na muškarce kojih je bilo 2,1 % pozitivnih na *M. genitalium* (17 od ukupno 807 testiranih muškaraca). Ovaj rezultat o prevalenciji u muškoj populaciji sukladan je s rezultatima istraživanja u sjevernoj Hrvatskoj prema kojem je prevalencija infekcije *M. genitalium* u muškaraca bila 2,2 %, a ženska populacija nije bila analizirana (14). Naši rezultati razlikuju se od rezultata dobivenih meta – analizom Baumanna i suradnika u kojima je prevalencija u muškoj i ženskoj populaciji približno jednaka (17). Razlika u prevalenciji među muškarcima i ženama u našoj studiji može biti posljedica nejednakog ukupnog broja ispitanika prema spolu (testirano je 5235 žena, a 807 muškaraca), odnosno razlike u cilju dolaska na testiranje na uzročnike spolno prenosivih bolesti. Naime, veliki udio žena odlazi na redovite ginekološke kontrole, pa je vjerojatno da se testiraju i bez prisutnih simptoma (kao test probira), dok većina muškaraca dolazi na testiranje sa simptomima infekcije mokraćno – spolnog sustava ili bez simptoma, ali zbog pozitivnog nalaza kod spolnog partnera. U tom slučaju očekuje se veća prevalencija u muškoj populaciji, te je to vjerojatno razlog većeg udjela pozitivnih muškaraca na *M. genitalium* u odnosu na pozitivne žene u našoj studiji.

U našem istraživanju, prevalencija infekcije *M. genitalium* je bila značajno češća među osobama u dobi od 25 godina i mlađih, u 1,6 % ispitanika te dobi, dok je među populacijom starijih od 25 godina prevalencija bila 0,48 %. Istraživanje Getmana i suradnika iz brojnih klinika u Sjedinjenim Američkim Državama također ukazuje na veću prevalenciju infekcije *M. genitalium* u osoba  $\leq 30$  godina u odnosu na one starije, pri čemu je u ženskoj populaciji mlađoj od 30 godina utvrđena prevalencija 19,2 %, a u skupini starijoj od 30 godina 7,2 %. Slično je i u muškaraca, pa je u mlađih od 30 godina prevalencija 22 %, naspram 9,2 % u starijih od 30 godina (18). Iako je u našoj studiji zabilježen manji postotak pozitivnih slučajeva, utvrđeno je također da je infekcija *M. genitalium* češće prisutna kod muškaraca u odnosu na žene (2,1 % u odnosu na 0,36 %). Također je utvrđeno da postoji razlika prema dobi kod oba spola. Infekcija *M. genitalium* dokazana je značajno češće kod muškaraca u dobi  $\leq 25$  godina, u odnosu na starije od 25 godina (4,67 % u odnosu na 1,7 %). Slično je utvrđeno i za ženski spol, češće je dokazana infekcija *M. genitalium* kod žena u dobi  $\leq 25$  godina, u odnosu na starije od 25 godina (0,97 % u odnosu na 0,3 %).

Rezistencija *M. genitalium* na makrolide i kinolone je u porastu, a ovim istraživanjem utvrđeno je da je 47,2 % izolata *M. genitalium* bilo rezistentno na makrolide, dok je 17% bilo rezistentno na kinolone. Istovremena rezistencija na makrolide i kinolone utvrđena je u 11,1 % izolata *M. genitalium*. Ovi podatci sukladni su s podacima o rezistenciji iz različitih dijelova svijeta. U Australiji je zabilježena rezistencija na kinolone 18,6 %, a istovremena rezistencija na makrolide i kinolone u 8,6 % izolata (19). Prema istraživanju Ljubin – Sternak i suradnika, u sjevernoj Hrvatskoj na makrolide je bilo rezistentno 60,4 % izolata, što je više nego u našem istraživanju na populaciji SDŽ, dok je rezistencija na kinolone bila slična (19,2 %). Također je u sjevernoj Hrvatskoj zabilježen veći udio izolata istovremeno rezistentnih na makrolide i kinolone (18,2 %) u odnosu na naše rezultate (17). U Kataloniji je zabilježen postotak rezistencije izolata *M. genitalium* na makrolide 36,1 %, što je manje nego u našem istraživanju (20). Rezistencija na kinolone u Južnoafričkoj Republici bila je 19,2 %, što je sukladno našim rezultatima (21).

U našem istraživanju, kod 36 ispitanika pozitivnih na *M. genitalium* dokazana je ko-infekcija s nekim drugim spolno-prenosivim patogenom u 12 slučajeva (33,3%). Najčešće su to bile *M. hominis* (u 7 od 36, odnosno 19,4 % uzoraka), *U. urealyticum* (u 7 od 36, odnosno 19,4 % uzoraka), dok je *C. trachomatis* izolirana u 3 od 36 odnosno 8,3 % uzoraka pozitivnih na *M. genitalium*. Kohortna studija provedena u Sjedinjenim Američkim Državama ukazuje na učestalost ko-infekcije *M. genitalium* i *C. trachomatis* u 9,7 % slučajeva (18). To je usporedivo s našim rezultatima, prema kojima je utvrđeno da postoji povezanost između prisutnosti bakterija *M. genitalium* i *C. trachomatis*. To je također utvrđeno i u istraživanju Ljubin – Sternak i suradnika provedenom u Hrvatskoj 2017. godine (22).

Ograničenje ovog istraživanja je to što nemamo podatke o razlogu testiranja, vjerojatno je veliki broj ispitanika testiran na *M. genitalium* zbog sumnje na postojanje neke spolno prenosive bolesti, što je potom utjecalo na rezultate.

Nedostatak studije je i taj što nismo imali podatke o spolnom ponašanju ispitanika kao što su broj partnera u posljednjih šest mjeseci i korištenje mehaničke zaštite pri spolnom odnosu. To su bitni rizični čimbenici u prijenosu spolno-prenosivih infekcija, odnosno utječu na razliku u prevalenciji infekcija među populacijom visokog rizika (neogdovornog spolnog ponašanja) od ostatka populacije.

Rezultati ovog istraživanja o prevalenciji *M. genitalium* prvi su rezultati za Splitsko – dalmatinsku županiju, te zbog toga predstavljaju važne podatke o spolno – prenosivoj bakteriji *M. genitalium* koja je posljednjih godina prepoznata kao važan čimbenik, kako infekcija spolnoga sustava, tako i komplikacija koje mogu dovesti do nastanka steriliteta. Stoga je važno provoditi probir, posebno adolescentske populacije, na uzročnike spolno prenosivih bolesti, s ciljem pravovremenog liječenja i sprječavanja ozbiljnih posljedica za zdravlje i plodnost pojedinca, što je važno i za cijelu zajednicu.



## **6. ZAKLJUČCI**

Infekcije uzrokovane *M. genitalium* predstavljaju značajan javnozdravstveni problem među spolno – prenosivim bolestima zbog svoje otpornosti na antibiotike i povezanosti s ozbiljnim komplikacijama poput neplodnosti. Učinkovito praćenje i liječenje infekcija uzrokovanih *M. genitalium* ključno je za očuvanje reproduktivnog zdravlja.

Na temelju rezultata dobivenih tijekom našeg istraživanja možemo zaključiti sljedeće:

1. Prevalencija infekcije bakterijom *M. genitalium* u SDŽ iznosi 0,6 %.
2. Infekcija bakterijom *M. genitalium* učestalija je u muškoj (2,1 %), nego u ženskoj (0,36 %) populaciji.
3. Infekcija bakterijom *M. genitalium* učestalija je u dobnoj skupini  $\leq 25$  godina (1,6 %), naspram onih starijih od 25 godina (0,48 %).
4. Rezistencija *M. genitalium* na antibiotike iz skupine makrolida iznosi 47,2 %.
5. Rezistencija *M. genitalium* na antibiotike iz skupine kinolona iznosi 17 %.
6. U 33,3 % uzoraka pozitivnih na *M. genitalium* izoliran je kao ko – infekcija jedan ili više od navedenih patogena: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *T. vaginalis*, što ukazuje na potrebu za testiranjem na cijeli panel spolno – prenosivih patogena pri postavljanju sumnje na spolno – prenosivu bolest.
7. Postoji statistički značajna povezanost ko-infekcija bakterije *M. genitalium* i *C. trachomatis*.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Woese CR, Maniloff J, Zablen LB. Phylogenetic analysis of the mycoplasmas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77:494-8.
2. Jawetz, Melnick & Adelberg, Tonkić M, Dobec M, Abram M. *Medicinska mikrobiologija*. Split: Placebo d.o.o.; 2015. str. 103-8.
3. Razin S. *Mycoplasmas*. U: Baron S, urednici. *Medical Microbiology*. Četvrto izdanje. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. poglavlje 37.
4. le Roux MC, Hoosen AA. *Mycoplasma genitalium*: a brief review. *South Afr J Epidemiol Infect*. 2010;25:7-10.
5. Mimica M. Genitalne mikoplazme. U: Karelović D, urednici. *Infekcije u ginekologiji i perinatologiji*. Zagreb: Medicinska naklada; 2012. str. 413-7.
6. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:498-514.
7. Liao Y, Deng X, Peng K, Dai P, Luo D, Liu P i sur. Identification of histone H2B as a potential receptor for *Mycoplasma genitalium* protein of adhesion. *Pathog Dis*. 2021;79:ftab053.
8. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. *Mycoplasma genitalium*: Should we treat and how? *Clinical Infectious Diseases*. 2011;53:S129.
9. Mayo Clinic. Sexually Transmitted Diseases (STDs): Symptoms and causes [Internet]. [citirano 2. lipnja 2024.] Dostupno na: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/sexually-transmitted-diseases-stds/symptoms-causes/syc-20351240>.
10. Eastside Gynecology. Pelvic inflammatory disease and you [Internet]. [citirano 2. lipnja 2024.] Dostupno na: <https://eastsidegynecology.com/blog/pelvic-inflammatory-disease-and-you/>
11. Chrismont D, Machelart I, Wirth G, Lazaro E, Greib C, Pellegrin JL i sur. Reactive arthritis associated with *Mycoplasma genitalium* urethritis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;77:278-9.
12. Shipitsyna E, Savicheva A, Solokovskiy E, Ballard RC, Domeika M, Unemo M i sur. EE SRH Network. Guidelines for the laboratory diagnosis of *mycoplasma genitalium* infections in East European countries. *Acta Derm Venereol*. 2010;90:461-7.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines - *Mycoplasma genitalium* [Internet]. [citirano 2. lipnja 2024.] 2021. Dostupno na: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/mycoplasmagenitalium.htm>

14. Ljubin-Sternak S, Meštrović T, Marijan T, Anušić M, Šuto S, Vraneš J. Detection of Macrolide and/or Fluoroquinolone Resistance Genes in *Mycoplasma genitalium* Strains Isolated from Men in the Northwest Region of Croatia in 2018-2023. *Genes (Basel)*. 2024;15:470.
15. Conway R, Cook S, Soni S. Antibiotic treatment of *Mycoplasma genitalium* infection. *The Pharmaceutical Journal*. 2019;73:13.
16. Yu I, Mori T, Ando T, Harada R, Jung J, Sugita Y i sur. Biomolecular interactions modulate macromolecular structure and dynamics in atomistic model of a bacterial cytoplasm. *Elife*. 2016;5:e19274.
17. Baumann L, Cina M, Egli-Gany D. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in different population groups: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2018;94:255-62.
18. Getman D, Jiang A, O'Donnell M, Cohen S. *Mycoplasma genitalium* Prevalence, Coinfection, and Macrolide Antibiotic Resistance Frequency in a Multicenter Clinical Study Cohort in the United States. *J Clin Microbiol*. 2016;54:130.
19. Murray GL, Bradshaw CS, Bissessor M, Danielewski J, Garland SM, Jensen JS i sur. Increasing Macrolide and Fluoroquinolone Resistance in *Mycoplasma genitalium*. *Emerg Infect Dis*. 2017;23:809-12.
20. Lucena Nemirosky J, Espelt R, López Grado E, Sobrino J, Acera A, Pérez J i sur. Macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* in Catalonia, Spain: a 1 year prospective study. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76:2702-7.
21. Muller EE, Mahlangu MP, Lewis DA, Kularatne RS. Macrolide and fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in Johannesburg, South Africa, 2007-2014. *BMC Infect Dis*. 2019;19:148.
22. Ljubin-Sternak S, Meštrović T, Kolarić B, Jarža-Davila N, Marijan T, Vraneš J. Assessing the Need for Routine Screening for *Mycoplasma genitalium* in the Low-risk Female Population: A Prevalence and Co-infection Study on Women from Croatia. *Int J Prev Med*. 2017;8:51.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Utvrditi prevalenciju infekcije *M. genitalium* u populaciji SDŽ, demografske karakteristike zaraženih osoba, učestalost rezistencije izolata *M. genitalium* na kinolone i makrolide te učestalost ko-infekcije *M. genitalium* i ostalih spolno – prenosivih patogena.

**Ispitanici i postupci:** U istraživanje je bilo uključeno 6042 ispitanika, podijeljenih u dvije kategorije: prema spolu i dobi. Uzorci za analizu bili su prvi mlaz urina, obrisak cerviksa ili obrisak uretre. Nakon zaprimanja, uzorci su testirani na spolno – prenosive patogene *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* i *T. vaginalis* te na rezistenciju *M. genitalium* na makrolide i fluorokinolone. Nakon prikupljanja podataka napravljena je statistička analiza korištenjem hi-kvadrat testa.

**Rezultati:** Od 6042 ispitanika, njih je 36 (0,6 %) bilo pozitivno na *M. genitalium*. Prevalencija među ženama bila je 0,36 % (19/5235), a među muškaracima 2,1 % (17/807), što je statistički značajna razlika ( $P < 0,001$ ), a statistička značajnost utvrđena je neovisno o dobi ispitanika. U populaciji  $\leq 25$  godina, njih je 1,6 % (10/619) bilo pozitivno na *M. genitalium*, a starijih od 25 godina 0,48 % (25/5423), što je statistički značajna razlika ( $P < 0,001$ ), a statistička značajnost utvrđena je neovisno o spolu ispitanika. Od 36 uzoraka pozitivnih na *M. genitalium*, na makrolide ih je bilo rezistentno 17 (47,2 %), a na kinolone šest (17 %). Uzoraka u kojima je uz *M. genitalium* bio pozitivan još barem jedan od testiranih patogena bilo je 12, odnosno 33,3 %. Dokazana je značajna povezanost prisutnosti ko-infekcije *M. genitalium* i *C. trachomatis* ( $P < 0,001$ ).

**Zaključci:** Prevalencija infekcije bakterijom *M. genitalium* u SDŽ iznosi 0,6 %, pri čemu je učestalija u muškoj populaciji, kao i u dobnoj skupini  $\leq 25$  godina. Rezistencija *M. genitalium* na makrolide iznosi 47,2 %, a na fluorokinolone 17 %. Dokazana je statistički značajna povezanost ko-infekcija bakterije *M. genitalium* i *C. trachomatis*.

## **9. SUMMARY**



**Diploma thesis title:** Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in Split – Dalmatia county.

**Objectives:** To determine the prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in Split – Dalmatia county, demographic characteristics of patients, resistance rates for macrolides and fluoroquinolones and rates of co-infection with other sexually – transmitted pathogens.

**Materials and methods:** The research included 6042 patients, divided into two categories: males / females and aged  $\leq 25$  /  $> 25$ . Samples for analysis were collected and tested for sexually – transmitted pathogens *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum* and *T. vaginalis*, as well as *M. genitalium* resistance to macrolides and fluoroquinolones. After data collection, statistic analysis was made using chi-square test.

**Results:** Of 6042 patients, 36 (0.6 %) were positive for *M. genitalium*. Prevalence among women was 0.36 % (19/5235), and among men 2.1 % (17/807), which is statistically significant difference ( $P < 0.001$ ) independent on age of the patients. In patients  $\leq 25$  years, 1.6 % (10/619) were positive for *M. genitalium*, and in patients older than 25 years 0.48 % (25/5423) were positive, which is statistically significant difference ( $P < 0.001$ ) independent on sex of the patients. Out of 36 *M. genitalium* positive isolates, 17 (47.2 %) were macrolide resistant, and six (17 %) were quinolone resistant. There were 12 (33.3 %) *M. genitalium* positive isolates that had co-infection with at least one other sexually – transmitted pathogen. A statistically significant association for the presence of co-infection of *M. genitalium* and *C. trachomatis* was proven ( $P < 0.001$ ).

**Conclusions:** Prevalence of *M. genitalium* infection in Split – Dalmatia county is 0.6 %, being higher in males, as well as in the population  $\leq 25$  years. *M. genitalium* macrolide resistance rates are 47.2 %, and fluoroquinolone resistance is 17 %. A statistically significant association for the presence of co-infection of *M. genitalium* and *C. trachomatis* was proven.