

Usporedba zastupljenosti spolno prenosivih patogena u uzorcima prvog mlaza urina muškaraca zagrebačke regije

Comparison of sexually transmitted pathogens frequency in first-void urine samples of men from the Zagreb region

Vladimira Tičić, Jasmina Vraneš, Jasna Knežević, Neda Jarža-Davila, Matea Kvaternik Celjak, Tatjana Marijan, Nada Pražić, Sunčanica Ljubin Sternak*

Sažetak

Cilj istraživanja bila je detekcija spolno prenosivih patogena u sedimentu prvoga mlaza urina uzetog umjesto obriska uretre u 290 muškaraca. Uzorci su obojani i kultivirani, te upotrijebljeni u multiplex testu lančane reakcije polimerazom koja detektira šest spolno prenosivih patogena simultano (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* i *Trichomonas vaginalis*). Uretritis je utvrđen u svega 32/290 (11%) bolesnika detekcijom signifikantnog broja polimorfonuklearnih leukocita u uzorcima, a etiološka dijagnoza postavljena je u njih 27 od 32. Najčešći uzročnik uretritisa bila je *C. trachomatis* (65,6%), a potom *N. gonorrhoeae* i *U. urealyticum* (9,3%). Koinfekcija je utvrđena u 5 od 32 bolesnika s uretritisom. U bolesnika s negonokoknim uretritisom, dominantni uzročnik bila je *C. trachomatis*, dok je *M. genitalium* utvrđena s nižom učestalošću od očekivane. Mikrobiološka analiza je najčešće tražena zbog probira ili kontrole (109/37,6%), te u bolesnika s kroničnim prostatitisom (38/13,1%). Spolno prenosivi patogeni detektirani su značajno češće u bolesnika s uretritisom, nego u bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina ($p < 0,001$), ali nije bilo statistički značajne razlike u detekciji *U. urealyticum* između dijagnostičkih skupina ($p > 0,05$). Daljnje istraživanje i analiza više uzoraka prikupljenih od bolesnika s uretritisom neophodni su da bi se utvrdila uloga *M. genitalium* u negonokoknom uretritisu.

Ključne riječi: uretritis, molekularna dijagnostika, multiplex PCR

Summary

The aim of the study was detection of sexually transmitted pathogens in the sediment of first-void urine of 290 men, collected instead of urethral swab. The samples were stained, cultivated and used in multiplex polymerase chain reaction test for simultaneous detection of six sexually transmitted pathogens (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Trichomonas vaginalis*). Urethritis was confirmed in only 32/290 (11%) patients by detecting a significant number of polymorphonuclear leukocytes in the samples, and etiologic diagnosis was established in 27/32 men with urethritis. The most common cause of urethritis was *C. trachomatis* (65.6%), followed by *N. gonorrhoeae* and *U. urealyticum* (9.3%). Coinfection was found in 5/32 patients with urethritis. In patients with nongonococcal urethritis, the dominant cause was *C. trachomatis*, whereas *M. genitalium* was found in lower frequency than expected. Microbiological analysis was required most frequently for screening and control purposes (109/37.6%) and in patients with chronic prostatitis (38/13.1%). Sexually transmitted pathogens were detected more frequently in patients with urethritis than in patients from other diagnostic groups ($p < 0.001$), while *U. urealyticum* was detected without statistically significant difference among

* Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb (mr. sc. Vladimira Tičić, dr. med.; Jasna Knežević, dr. med.; Neda Jarža-Davila, dr. med.; Matea Kvaternik Celjak, bacc. med. lab. dijag.; prim. mr. sc. Tatjana Marijan, dr. med.; Nada Pražić, dr. med.; prim. izv. prof. dr. sc. Sunčanica Ljubin Sternak, dr. med.); **Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb** (prof. dr. sc. Jasmina Vraneš, dr. med.);

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* Prim. prof. dr. sc. Jasmina Vraneš, dr. med., Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Služba za kliničku mikrobiologiju, Mirogojska cesta 16, 10000 Zagreb. E-mail: jasmina.vranes@stampar.hr

Primljeno/Received 2019-05-29; Ispravljeno/Revised 2019-07-11; Prihvaćeno/Accepted 2019-07-11

diagnostic groups ($p > 0.05$). Further study and more samples from patients with urethritis are needed to establish the role of *M. genitalium* in nongonococcal urethritis.

Key words: urethritis, molecular diagnostics, multiplex PCR

Med Jad 2019;49(3-4):237-243

Uvod

Identifikacija etiološkog uzročnika uretritisa utječe na izbor antimikrobne terapije, prevenciju komplikacija bolesti, mogućnost interhumanog prijenosa infekcije, te suradljivost bolesnika.¹ Mikrobiološka dijagnostika temeljena na metodi kultivacije podrazumijeva uzimanje višestrukih obrisaka uretre, neposrednu pohranu uzoraka u adekvatne transportne podloge, te inokulaciju na specifična hranilišta. Kultivacija, ovisno o traženom mikroorganizmu traje između 72 sata i nekoliko tjedana, a osjetljivost metode varira od 50-85%.²⁻⁴

Uvođenjem standardiziranih i klinički validiranih molekularnih testova u dijagnostiku uretritisa, omogućena je detekcija spolno prenosivih uzročnika iz neagresivno prikupljenih uzoraka i uzoraka prikupljenih samo-uzorkovanjem, te je stoga dosadašnja analiza obrisaka uretre zamijenjena analizom sedimenta prvog mlaza urina (PMU).^{3,5} Primjena konvencionalne lančane reakcije polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) ili PCR-a u realnom vremenu omogućava identifikaciju jednog, dva ili više uzročnika u jednom aktu i kratkom vremenu, a komercijalno dostupni testovi su visoke analitičke osjetljivosti i specifičnosti.⁶ Danas se testovi utemeljeni na umnožavanju nukleinskih kiselina smatraju novim zlatnim standardom u dijagnostici uretritisa.

Cilj ovoga istraživanja bila je detekcija spolno prenosivih (SP) patogena i polimorfonuklearnih (PMN) leukocita u sedimentu prvog mlaza urina, te usporedba učestalosti detekcije pojedinih SP patogena u skupini bolesnika s uretritisom i bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina.

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno u Referentnom centru za dijagnostiku spolno prenosivih infekcija MZRH u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ u Zagrebu, u razdoblju od 1. studenoga 2016. do 28. veljače 2017. godine.

Bolesnici i uzorci: bolesnici su pri prijemu izmokrili 10-15 ml PMU u prethodno označenu, građiranu polipropilensku sterilnu posudicu s čepom na navoj, uz uvjet da prethodno nisu mokrili najmanje dva sata. Prigodom uzorkovanja bolesnicima su uzeti i osnovni anamnestički podaci: postoje li simptomi i koji, ili je riječ o probiru/kontroli, te spadaju li u

skupinu s rizičnim spolnim ponašanjem za spolno prenosive bolesti (STD).

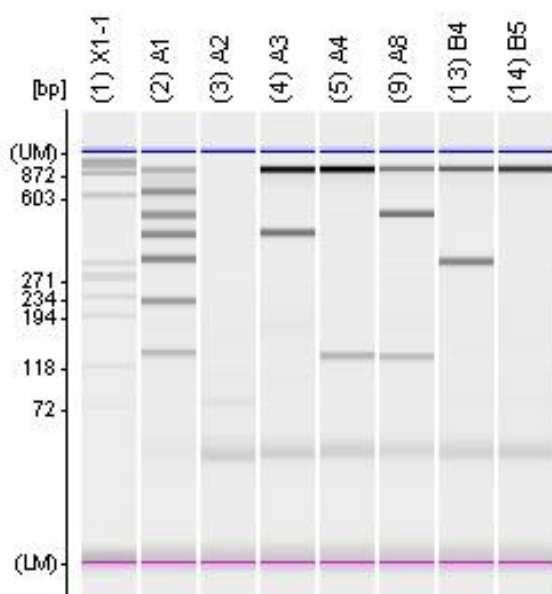
Metode klasične mikrobiološke dijagnostike: Uzorak je odmah dostavljen u laboratorij, te podijeljen u dva alikvota. Za metodu kultivacije, jedan alikvot je centrifugiran na 3000 okretaja/min. kroz 10 minuta, pri temperaturi +22°C, supernatant odbačen, a sediment izdvojen. Uzorak je zasijan kalibriranom bakteriološkom ušicom od 10 µl na čokoladni (Oxoid, UK) i Sabouroud (Oxoid, UK) agar, a 200 µl uzorka pohranjeno je u bujon za uzgoj genitalnih mikoplazmi (*Mycoplasma R1*, Biomerieux, Francuska). Čokoladni agar inkubiran je 24/48 sata na +35°C u atmosferi s 5% CO₂, Sabouroud agar 24/48 sata na +35°C u aerobnoj atmosferi, a bujon pohranjen na -20°C za potrebe kasnije kultivacije i izrade testa osjetljivosti. Učinjen je i preparat obojen po Gramu koji je mikroskopiran upotrebom svjetlosnog mikroskopa (Leica, Njemačka) na velikom povećanju. Mikroskopski je detektiran značajan broj PMN leukocita u preparatu sedimenta PMU (> 9 PMN).

Metode molekularne mikrobiološke dijagnostike: Drugi alikvot sedimenta PMU upotrijebljen je za izvođenje konvencionalnog multiplex PCR testa (Seeplex® STD6 ACE Detection Test, Seegene, Korea) na šest STD patogena (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* i *Trichomonas vaginalis*), sukladno uputama proizvođača. Detekcija umnoženog PCR produkta učinjena je metodom mikročip elektroforeze (MultiNA, Shimazu, Japan), na virtualnom gelu (Slika 1).

Statistička obrada: Podaci su statistički obrađeni χ^2 testom, a statistički značajna smatrana je vrijednost $p < 0,05$.

Rezultati

U razdoblju od četiri mjeseca ukupno je analizirano 290 uzoraka sedimenta PMU prikupljenih u muškaraca u dobi od 18-76 godina ($33,6 \pm 10,9$). Dijagnoza uretritisa potvrđena je u svega 32/290 (11%) bolesnika detekcijom signifikantnog broja PMN-a u uzorcima. Etiološka dijagnoza postavljena je u čak 27/32 (84,4%) muškaraca s uretritisom. Anamnestički podaci prikupljeni su u 233 (80,3%) bolesnika prigodom uzorkovanja. Bolesnika mlađih od 25 godina bilo je 62/290 (21,4%), a od 233 muškarca koji su dali informirani pristanak za prikupljanje anamnestičkih



Slika 1. Utvrđivanje etiologije uretritisa upotrebom mikro-čip elektroforeze, te primjer mogućnost detekcije višestruke infekcije upotrebom Seegene STD6 multiplex PCR testa – uzorak br. 9.

(1) marker; (2) pozitivna kontrola = 981 bp/interna PCR kontrola, 647 bp/*T. vaginalis*, 502 bp/*M. hominis*, 410 bp/*M. genitalium*, 315 bp/*C. trachomatis*, 214 bp/*N. gonorrhoeae*, 130 bp/*U. urealyticum*; (3) negativna kontrola; (4) *M. genitalium* pozitivni uzorak; (5) *U. urealyticum* pozitivni uzorak; (9) i *M. hominis* i *U. urealyticum* pozitivni uzorak (13) *C. trachomatis* pozitivni uzorak; (14) negativni uzorak

Picture 1 Detection of urethritis etiology with micro-chip electrophoresis and example of multiple-infection detection possibility by use of the Seegene STD6 multiplex PCR test – sample nr. 9.

(1) ladder; (2) positive control = 981 bp/internal PCR control, 647 bp/*T. vaginalis*, 502 bp/*M. hominis*, 410 bp/*M. genitalium*, 315 bp/*C. trachomatis*, 214 bp/*N. gonorrhoeae*, 130 bp/*U. urealyticum*; (3) negative control; (4) *M. genitalium* positive sample; (5) *U. urealyticum* positive sample; (9) *M. hominis* and *U. urealyticum* positive sample (13) *C. trachomatis* positive sample; (14) negative sample

podataka, sedmero njih pripadalo je populaciji muškaraca koji imaju odnose s muškarcima (MSM), a pet biseksualnoj populaciji, što zajedno s mlađima od 25 godina čini 25% bolesnika obuhvaćenih istraživanjem (74/290) za koje je utvrđeno da se ubrajaju u osobe s visokim rizikom za STD.

Mikrobiološka obrada uretre najčešće je tražena zbog probira ili kontrole/nadzora STD i to u 109 (37,6%) bolesnika, te zbog kroničnog prostatitisa u 38 (13,1%) bolesnika (Tablica 1). Drugi razlozi zbog čega je pretraga tražena bili su: neplodnost parova (10%), dizuričke smetnje (7,3%), kondilomi (6,9%), balanopostitis (5,9%), orhitis/epididimitis (4,1%), drugi poremećaji mokraćnog sustava (2,4%) i Reiterov sindrom (1,7%).

Tablica 1. Zastupljenost pojedinih dijagnostičkih skupina u skupini od 290 bolesnika obuhvaćenih četveromjesečnim istraživanjem.

Table 1 The frequency of different diagnostic groups in a group of 290 patients included in a 4-month study period

| Klinički entitet <i>Clinical entity</i> | n (%) |
|---|------------|
| STD probir/kontrola <i>STD screen/control</i> | 109 (37,6) |
| Kronični prostatitis <i>Chronic prostatitis</i> | 38 (13,1) |
| Uretritis <i>Urethritis</i> | 32 (11,0) |
| Neplodnost parova <i>Sterility</i> | 29 (10,0) |
| Infekcija mokraćnog sustava/uretralni sindrom <i>Urinary tract infection/urethral syndrome</i> | 21 (7,3) |
| Kondilomi <i>Condyloma</i> | 20 (6,9) |
| Balanopostitis <i>Balanoposthitis</i> | 17 (5,9) |
| Orhitis/epididimitis <i>Orchitis/epididymitis</i> | 12 (4,1) |
| Drugi poremećaji mokraćno-spolnog sustava <i>Other genitourinary tract disorders</i> | 7 (2,4) |
| Reiterov sindrom <i>Reiter's syndrome</i> | 5 (1,7) |
| Ukupno <i>Total</i> | 290 (100) |

Najčešći uzročnik uretritisa bila je *C. trachomatis* koja je detektirana značajno češće u bolesnika mlađih od 25 godina, u njih 9/62 ili 14,5%, za razliku od starijih bolesnika, gdje je detektirana u 15/228 ili 6,1% ($p < 0,05$). Uretritis je utvrđen u 21, od ukupno 62 bolesnika mlađih od 25 godina, te u 11/228 starijih bolesnika, od ukupno 290 bolesnika obuhvaćenih istraživanjem ($\chi^2 = 3,61$; $p = 0,06$).

Tablica 2 prikazuje udio utvrđenih uzročnika uretritisa, i najvišu zastupljenost bakterije *C. trachomatis* koja je u skupini od 32 muškarca s uretritisom detektirana 21 put (67,7%). Druge po učestalosti detekcije bile su bakterije *N. gonorrhoeae* i *U. urealyticum*, s učestalošću od 9,7%. U pet od 32 bolesnika s uretritisom (15,9%), detektirana je ko-infekcija, i to u jednog bolesnika ko-infekcija s *M. genitalium* i *C. trachomatis*, a također u po jednog detektirani su: *C. trachomatis* i *U. urealyticum*, *N. gonorrhoeae* i *C. trachomatis*, *M. hominis* i *C. trachomatis*, te *C. trachomatis* i HPV (kondilomi).

Tablica 2. Učestalost detekcije pojedinih patogena u skupini muškaraca s uretritisom.

Table 2 The detection frequency of different pathogens in patients with urethritis

| Uzročnik / Pathogen | n (%) |
|-------------------------------|-----------|
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 21 (67,7) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 3 (9,7) |
| <i>Mycoplasma genitalium</i> | 2 (6,5) |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 3 (9,7) |
| <i>Mycoplasma hominis</i> | 1 (3,2) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 1 (3,2) |
| Ukupno / Total | 31 (100) |

Spolno prenosivi patogeni detektirani su sa značajno većom učestalošću u bolesnika s uretritisom (27/32), nego u bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina u kojih su SP patogeni detektirani u samo 8,1% (21/258) bolesnika ($\chi^2 = 119,8$; $p < 0,001$). Nije bilo statistički značajne razlike u detekciji *U. urealyticum* između skupine bolesnika s uretritisom u kojih je ova bakterija detektirana u 3/32 slučajeva, i ostalih ispitanika u kojih je ova bakterija detektirana u 5,4% (14/258) slučajeva ($\chi^2 = 0,80$; $p > 0,05$). *T. vaginalis* nije detektiran niti u jednom uzorku, a *M. genitalium* detektirana je u svega četiri bolesnika, od kojih je u dva potvrđen uretritis. U jednog bolesnika iz skupine od 19,7% ispitanika koji su odbili dati anamnestičke podatke kod uzorkovanja, u kojega je mikroskopski potvrđen uretritis detekcijom značajnog broja PMN u sedimentu PMU, kao uzročnik izolirana je bakterija *Proteus mirabilis* u monokulturi, uz prethodno isključenu moguću prisutnost drugih uzročnika molekularnim testom.

Rasprava

Uzročnici uretritisa najčešće su spolno prenosivi patogeni, no uretritis može biti i neinfektivne etiologije izazvan mehaničkim ili kemijskim čimbenicima.² Vrlo

rijetko uretritis može izazvati *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* i druge bakterije prenijete oralnim spolnim odnosom, te enterobakterije – koje se kao rijetke uzročnike uretritisa povezuje s insertivnim analnim spolnim odnosom. U simptomatskih bolesnika javlja se mukopurulentna sekrecija, dizurične tegobe i/ili nelagoda u mokraćnoj cijevi, no moguće su i asimptomatske infekcije. Dijagnoza uretritisa potvrđuje se objektivnim dokazom upale mokraćne cijevi, što uključuje prisutnost iscjetka pri pregledu ili mikroskopsku detekciju značajnog broja PMN leukocita u preparatu obriska uretre (> 4 PMN/1000 x povećanje) ili preparatu sedimenta PMU (> 9 PMN/1000 x povećanje), obojenim metilenskim modrilom ili po Gramu.^{2,7} Osim procjene broja PMN, mikroskopski preprat omogućuje i prikaz mikroorganizama. Prisutnost gram-negativnih diplokoka u preparatu obriska uretre dovoljan je dokaz gonokokne infekcije uretre, jer su osjetljivost i specifičnost ove metode u simptomatskih muškaraca oko 98%.⁸ Ne-gonokokni uretritis (NGU) utvrđuje se na temelju mikroskopije i detekcije PMN leukocita bez prisustva mikroorganizama.

Cilj ovoga istraživanja bila je detekcija spolno prenosivih (SP) patogena i polimorfonuklearnih leukocita (PMN) u sedimentu prvog mlaza urina, koji je prikupljen umjesto obrisaka uretre. Mikroskopskom detekcijom značajnog broja PMN leukocita u uzorcima dijagnoza uretritisa potvrđena je u svega 32/290 (11%) bolesnika koji su u razdoblju u kojem je istraživanje provedeno bili upućeni na mikrobiološku dijagnostiku s različitim uputnim dijagnozama – od uretritisa do neplodnosti. Prema trenutno važećim europskim smjernicama, u muškaraca s uretritisom, te akutnim epididimo-orhitomom u muškaraca mlađih od 40 godina i pripadnika MSM populacije, preporučena je detekcija bakterija *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* i *M. genitalium* testovima umnažanja nukleinskih kiselina iz prvog mlaza urina.^{7,9-10} U ovom istraživanju bolesnika s takvim indikacijama za testiranje zabilježeno je 51/290 (17,6%). Drugu dijagnostičku skupinu za mikrobiološku obradu uzoraka na spolno prenosive patogene čine bolesnici bez simptoma STD. Asimptomatskim bolesnicima testiranje se preporučuje ukoliko se radi o spolno aktivnim osobama u rizičnim skupinama (osobe mlađe od 25 godina, MSM, velik broj partnera), osobama s potvrđenom drugom STD ili u spolnom kontaktu s takvim partnerom, tijekom dijagnostičke obrade neplodnosti parova ili reaktivnog artritisa, tijekom konzultacija o kontracepciji ili trudnoći, u zatvorenika, kao dio forenzičke obrade spolnog zlostavljanja, te roditeljima novorođenčeta s neonatalnom pneumonijom ili konjuktivitisom.¹¹ U ovom istraživanju

utvrđeno je da je mikrobiološka obrada u analiziranom razdoblju tražena u čak 61,2% (158/290) asimptomatskih bolesnika zbog STD probira ili kontrole provedene terapije, obrade neplodnosti parova ili ranije dijagnosticirane STD partnera.

Bakterija *C. trachomatis* najčešće je prijavljen uzročnik STD u Europi. Prema dostupnim podacima europskog Centra za kontrolu bolesti (ECDC), broj prijavljenih klamidijских bolesti je sa 191.000 slučajeva 2004. godine porastao na gotovo 350.000 slučajeva 2013. godine, a najugroženija skupina su osobe između 15 i 24 godine, a u gotovo 90% slučajeva radi se o heteroseksualnom prijenosu infekcije.¹² Porast u broju prijavljenih slučajeva pripisuje se molekularnim metodama dijagnostike, uvođenjem probira u nekim zemljama, kao i poboljšanjima u sustavima praćenja, no i dalje ostaje pretpostavka da je stvarna incidencija veća, što se pripisuje asimptomatskom tijeku bolesti u dijela inficiranih. Kao uzročnik NGU bakterija *C. trachomatis* detektira se u 11-50% slučajeva.⁷ U ovom istraživanju prevalencija klamidijske infekcije bila je 8,3% (24/290). Bakterija *C. trachomatis* je kao uzročnik uretritisa detektirana u 65,6% (21/32) bolesnika s mikroskopski potvrđenim uretritisom, od kojih je 34,4% njih bilo mlađe od 25 godina, te u tri bolesnika bez simptoma STD. U prevalencijskim ili *case-control* istraživanjima detekcije uzročnika molekularnim metodama u bolesnika s mikroskopski dokazanim uretritisom zabilježena učestalost *C. trachomatis* je primjerice bila 14,7% u Velikoj Britaniji,¹³ 20% u Iranu¹⁴ i Francuskoj,¹⁵ 22,5% u Švedskoj,¹⁶ odnosno 32% u Australiji,¹⁷ te 37% u afroameričkih bolesnika u New Orleansu.¹⁸ Viša učestalost zabilježena u ovom istraživanju može se prije svega objasniti malim brojem bolesnika u kojih je dokazan uretritis (svega 32/290), a tek potom različitom analitičkom osjetljivošću upotrijebljenih molekularnih testova, količinom i brzinom obrade uzorka, te različitim pristupom u izolaciji nukleinske kiseline. U cilju utvrđivanja stvarne prevalencije *C. trachomatis* infekcije u bolesnika s uretritisom u zagrebačkom području, neophodno je istražiti više bolesnika, a budući da je pokazano da je svega desetak posto od ukupno zaprimljenih uzoraka povezano s uretritisom, potrebno je istražiti dvogodišnje razdoblje, kako bi se točnije mogla prikazati učestalost pojedinih patogena na većem uzorku bolesnika s dokazanim uretritisom. U tijeku je i provođenje trogodišnjeg probira na *C. trachomatis* i *M. genitalium* u studentskoj populaciji grada Zagreba (2017. - 2019.) iz neagresivno prikupljenih uzoraka (PMU i obrisak rodnice prikupljen samozorkovanjem), kojim je planiran obuhvat od 2000 ispitanika u dobi od 18-25 godina, a čiji rezultati će po

prvi put pokazati prevalenciju *M. genitalium* infekcije u studentskoj populaciji u Hrvatskoj, te utvrditi postoji li razlika u prevalenciji *C. trachomatis* infekcije u zagrebačkih studenata u odnosu na mlade iste dobi u Hrvatskoj, obzirom na to da je u mladima u Hrvatskoj 2010. zabilježena visoka prevalencija od 7,3% *C. trachomatis* infekcije u mladića, te 5,3% u djevojaka od 18-25 godina,¹⁹ a podaci za *M. genitalium* ne postoje.

Bakterija *N. gonorrhoeae* drugi je po učestalosti uzročnik STD u Europi, s gotovo 53.000 prijavljenih novih slučajeva infekcije u 2013. godini.¹² Opažene su značajne zemljopisne razlike u distribuciji gonoreje, s višom incidencijom zabilježenom u skandinavskim i baltičkim zemljama u odnosu na zemlje centralne i istočne Europe.¹² Iste godine se Hrvatska, uz Cipar i Luksemburg svrstala u zemlje s najmanjim brojem prijavljenih gonokoknih infekcija (≤ 1 slučaj/100.000 stanovnika).¹² Gonokokna infekcija tri puta se češće detektira u muškaraca, u kojih je asimptomatski tijek bolesti iznimno rijedak ($< 10\%$), a posebice su ugrožene osobe od 20-34 godine.^{9,12} Ovaj Gram-negativan diplokok se kao uzročnik uretritisa detektira u 5-20% bolesnika.⁸ Bakterija *N. gonorrhoeae* iznimno je na vanjske uvjete osjetljiv mikroorganizam, pa na osjetljivost metode kultivacije utječe prikupljanje, transport i pohrana uzorka.²⁰ Molekularne metode detekcije ovog patogena su visoke osjetljivosti ($> 96\%$) u simptomatskih i asimptomatskih bolesnika, u muškaraca na osjetljivost testa ne utječe vrsta uzorka, a detekcija ne zahtijeva prisutnost vijabilnog uzročnika.⁹ Prema preporuci Svjetske zdravstvene organizacije, paralelno s molekularnim testovima, treba i kultivirati uzročnika za potrebe izrade testa osjetljivosti zbog globalno proširenog problema rezistencije sojeva na brojne skupine antimikrobnih lijekova.²¹ U Hrvatskoj je incidencija gonokoknih infekcija izazvanih rezistentnim sojevima niska, te nije zabilježena u razdoblju ovoga istraživanja, gdje je gonokni uretritis otkriven u 9,3% bolesnika. Slična prevalencija gonokokne infekcije od oko 10% u muškaraca zabilježena je u drugim europskim zemljama, poput Francuske, nakon analize obrisaka uretre,¹⁵ te u bolesnika iz Rumunjske, nakon analize PMU.²²

U muškaraca se *T. vaginalis* infekcija prezentira simptomima uretritisa, epididimitisa ili prostatitisa, no u 70-85% bolesnika simptomi infekcije su odsutni, te neprepoznata asimptomatska infekcija može trajati i godinama.²³ Protozoa *T. vaginalis* se kao uzročnik NGU nalazi u do 20% bolesnika.⁷ U Americi se kao uzročnik uretritisa detektira u 2-13% bolesnika s najvećom prevalencijom u afroameričkoj populaciji, no u Europi ovaj je parazit rijedak uzročnik uretritisa,

posebice u bolesnika mlađih od 40 godina.^{23,24} U ovom istraživanju *T. vaginalis* nije detektiran niti u jednom uzorku PMU u 290 obrađenih bolesnika, a istovjetni rezultati zabilježeni su i u istraživanju u Rumunjskoj i Francuskoj.^{15,22} Dijagnostičke mogućnosti detekcije *T. vaginalis* infekcije su nativni mikroskopski preparat ili kultivacija u specijalnim hranjivim podlogama, no osjetljivost ovih metoda je svega 50-65%.^{23,25} Klinički validirani, komercijalno dostupni PCR testovi, nova su dijagnostička mogućnost u detekciji ovoga parazita, uz mogućnost korištenja neinvazivnih uzoraka, poput PMU, a visoke su osjetljivosti i specifičnosti (95-100%), te su prema važećim europskim smjernicama obrade bolesnika s NGU preporučeni u populaciji u kojoj je zabilježeno > 2% simptomatskih infekcija u žena.^{7,23} Obzirom na to da je u Hrvatskoj upotrebom nevalidiranog *in house* testa utvrđena *T. vaginalis* infekcija u 8,2% bolesnika sa simptomima uretritisa, sve bolesnike s uretritisom treba i dalje testirati i na trihomonadnu infekciju.²⁶

Detekcija genitalnih mikoplazmi u uzorcima iz urogenitalnog sustava vrlo je česta, no budući da se *M. hominis* i *U. urealyticum* mogu naći kao dio normalne mikroflore sluznica urogenitalnog sustava i žena i muškaraca, nalaz ovih bakterija treba interpretirati s oprezom. U ovom istraživanju, stoga, nije bilo statistički značajne razlike u detekciji ureaplazmi u bolesnika s dokazanim uretritisom i bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina. Nasuprot tome, detekcija *M. genitalium* drži se jednako značajnim nalazom kao i detekcija *C. trachomatis*, u bolesnika oba spola.^{27,28} U ovom istraživanju *M. genitalium* detektirana je s nižom učestalošću nego je očekivano, u svega četiri bolesnika, što je u skladu s već postojećim istraživanjima provedenim u Hrvatskoj.^{29,30}

Iz rezultata ovoga istraživanja može se zaključiti da je dominantni uzročnik uretritisa u muškaraca zagrebačke regije *C. trachomatis*, te da svaki šesti bolesnik s uretritisom ima višestruku infekciju. Spolno prenosivi patogeni detektirani su značajno češće u bolesnika s uretritisom, nego u bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina, od kojih su dvije trećine bili bolesnici bez ikakvih simptoma infekcije, ali nije bilo statistički značajne razlike u detekciji *U. urealyticum* između skupine bolesnika s uretritisom i bolesnika iz ostalih dijagnostičkih skupina.

Napomena: Rad je prezentiran na 9. hrvatskom kongresu o urogenitalnim i spolno prenosivim infekcijama s međunarodnim sudjelovanjem, održanom u Opatiji od 12. do 14. 5. 2017., gdje je nagrađen nagradom za najbolji poster.

Literatura

1. Workowski KA, Bolan GA. Centers for Disease Control and Prevention Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2015;64:1-137.
2. Augenbrawn MH, McCormick WM. Urethritis. U: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ur. Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Saunders; 2015, str. 1349-1357.
3. Meyer T. Diagnostic procedures to detect Chlamydia trachomatis infections. Microorganisms. 2016;4:e25.
4. Geraats-Peters CWM, Brouwers M, Schneeberger PM, et al. Specific and sensitive detection of Neisseria gonorrhoeae in clinical specimens by real-time PCR. J Clin Microbiol. 2005;43:5653-9.
5. Lunny C, Taylor D, Hoang L, et al. Self-collected versus clinician-collected sampling for chlamydia and gonorrhea screening: A systemic review and meta-analysis. PLoS One. 2015;10.
6. Chen YC, Unemo M. Principles of molecular tests for the diagnosis of sexually transmitted infections. U: Unemo R, ur. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. Geneva: World Health Organisation; 2013, str. 183-198.
7. Horner PJ, Blee K, Falk L, van der Meijden W, Moi H. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS. 2016;27:928-37.
8. Bachmann LH, Manhart LE, Martin DH, et al. Advances in the understanding and treatment of male urethritis. Clin Infect Dis. 2015;61 Suppl 8:S763-9.
9. Bignell C, Unemo M. European STI Guidelines Editorial Board. 2012 European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. Int J STD AIDS. 2013;24:85-92.
10. Lanjouw E, Ouburg S, de Vries HJ, Stary A, Radcliffe K, Unemo M. 2015 European guideline on the management of Chlamydia trachomatis infections. Int J STD AIDS. 2016;27:333-48.
11. de Barbeyrac B, Skov-Jensen J. Sexually transmitted infections. U: Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL, Kahlmeter G, Pelgue-Lafeulle H, Vila J, ur. European manual of clinical microbiology. Société Française de Microbiologie – SFM. 2012;181-95.
12. European Centre for disease prevention and control. Sexually transmitted infection in Europe 2013. Stockholm, Sweden: European Centre for prevention and control, 2015.
13. Marcus JP, Nori AV, Witney AA, Lopeman RC, Butcher PD, Sadiq ST. High prevalence of antibiotic-resistant Mycoplasma genitalium in nongonococcal urethritis: The need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. Clin Infect Dis. 2014;58:631-7.
14. Yeganeh O, Jeedi-Tehrani M, Yaghmaie F, et al. A survey on the prevalence of Chlamydia trachomatis and Mycoplasma genitalium infections in sympto-

- matic and asymptomatic men referring to urology clinic of Labbafinejad Hospital, Tehran, Iran. *Iran Red Crescent Med J.* 2013;15:340-4.
15. Dupin N, Bijaoui G, Schwarzing M, et al. Detection and quantification of *Mycoplasma genitalium* in male patients with urethritis. *Clin Infect Dis.* 2003;37:602-5.
 16. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Symptomatic urethritis is more prevalent in men infected with *Mycoplasma genitalium* than with *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Infect.* 2004;80:289-93.
 17. Rane VS, Fairley CK, Weerakoon A, et al. Characteristics of acute nongonococcal urethritis in men differ by sexual preference. *J Clin Microbiol.* 2014;52:2971-6.
 18. Mena L, Wang X, Mroczkowski TF, Martin DH. *Mycoplasma genitalium* infections in asymptomatic men and men with urethritis attending a sexually transmitted diseases clinic in New Orleans. *Clin Infect Dis.* 2002;35:1167-73.
 19. Božičević I, Grgić I, Židovec-Lepej S, et al. 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.
 20. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van Der Pol B. Centers for disease control. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* – 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2014;63:1-19.
 21. WHO Guidelines for the treatment of *Neisseria gonorrhoeae*. Geneva: World Health Organisation, 2016.
 22. Vica ML, Junie LM, Grad AI, Tataru A, Matei HV. Distribution of sexually transmitted diseases in a group of symptomatic male patients using urine samples and PCR technique. *Rev Romana Med Lab.* 2015;23:323-31.
 23. Hakenberg, OW, Harke N, Wagenlehner F. Urethritis in men and women. *Eur Urol Suppl.* 2017;16:144-148.
 24. Ng A, Ross JD. *Trichomonas vaginalis* infection: How significant is it in men presenting with recurrent or persistent symptoms of urethritis? *Int J STD AIDS.* 2016;27:63-5.
 25. Tsai CC, Li CC. Nonchlamydial nongonococcal urethritis in men. *Urol Sci.* 2013;24:73-77.
 26. Sviben M, Mlinarić Missoni E, Meštrović T, Vojnović G, Mlinarić Galinović G. Epidemiology and laboratory characteristics of *Trichomonas vaginalis* infection in Croatian man with and without urethritis syndrome: a case-control study. *Sex Transm Infect.* 2015;91:360-4.
 27. Ljubin-Sternak S, Marijan T, Vraneš J. *Mycoplasma genitalium* – uzročnik spolno prenosivih bolesti kojeg se ne smije zanemariti. *Infekt Glasn.* 2014;34:183-7.
 28. Ljubin-Sternak S, Meštrović T. *Chlamydia trachomatis* and genital mycoplasmas: pathogens with an impact on human reproductive health. *J Pathog.* 2014.
 29. Plecko V, Zele-Starcevic L, Tripkovic V, et al. Unusually low prevalence of *Mycoplasma genitalium* in urine samples from infertile men and healthy controls: a prevalence study. *BMJ Open* 2014;44.
 30. Ljubin-Sternak S, Meštrović T, Kolarić B, Jaržadavila N, Marijan T, Vraneš J. Assessing the need for routine screening for *Mycoplasma genitalium* in the low-risk female population: A prevalence and coinfection study on women from Croatia. *Int J Prev Med.* 2017;8:51.