Uloga mikoplazmi u patologiji trudnoće - laboratorijski pristup

Radoš, Marijana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:004186

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET

Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko-laboratorijske

dijagnostike

Marijana Radoš

ULOGA MIKOPLAZMI U PATOLOGIJI TRUDNOĆE – LABORATORIJSKI PRISTUP

Završni rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET

Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko-laboratorijske

dijagnostike

Marijana Radoš

ULOGA MIKOPLAZMI U PATOLOGIJI TRUDNOĆE – LABORATORIJSKI PRISTUP

Završni rad

Osijek, 2016.

Rad je napravljen u laboratoriju za dijagnostiku urogenitalnih infekcija, Službe za mikrobiologiju, Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

Mentor rada: doc. dr. sc. Suzana Bukovski-Simonoski, spec. mikrobiolog

Rad ima 26 radnih listova, 7 slika i 5 tablica.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Suzani Bukovski-Simonoski, dr. med koja je svojim stručnim savjetima omogućila izradu ovog rada.

Zahvaljujem se voditeljici službe Dubravki Vuković, dr. med., dr. sc. Nataši Ružman, dr. med., Kristini Vrbančić, Svenu Burianu, Nikolini Lacković na prijateljstvu, trudu, strpljenju i korisnim savjetima tijekom istraživanja i izrade završnog rada.

Posebno se zahvaljujem dr. sc. Vlasti Zujić Atalić, dr. med na stručnim i korisnim savjetima pri izradi završnog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji, prijateljima i radnim kolegama na razumijevanju, strpljenju i velikoj podršci.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Genitalne mikoplazme 2
1.1.1. Etiologija, patogeneza i epidemiologija 2
1.1.2. Klinička slika 3
1.1.3. Dijagnostika 4
1.1.4. Liječenje i prevencija 6
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 7
3. ISPITANICI I METODE 8
3.1. Ispitanici 8
3.2. Laboratorijske metode 8
3.3. Statističke metode 10
4. REZULTATI 11
4.1. Učestalost i vrsta mikroplazmi 11
4.2. Dobna distribucija trudnica 13
4.3. Osjetljivost *U. urealyticum* na antibiotike 16
4.4. Testiranje osjetljivosti *M. hominis* na antibiotike 18
5. RASPRAVA 19
6. ZAKLJUČAK 21
7. SAŽETAK 22
8. SUMMARY 23
9. LITERATURA 24
10. ŽIVOTOPIS 26

1. UVOD

Antenatalna skrb u Hrvatskoj obvezna je već niz godina, prema programu mjera zdravstvene zaštite koji je usvojio Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje (HZZO) i koordinirao Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) (1, 2). Današnji standardi provođenja antenatalne skrbi usvojili su „tradicionalni" model provođenja antenatalne skrbi unatoč činjenici da ne postoje dokazi o njegovoj znanstvenoj utemeljenosti ni učinkovitosti antenatalnih intervencija koje se njime provode (3, 4). Unutar toga „tradicionalnog" modela jedina dva infektivna uzročnika na koja se testiraju sve trudnice u Republici Hrvatskoj jesu virus hepatitisa B (HBV) i sifilisa. U suprotnosti sa stanjem u Republici Hrvatskoj, dvadeset zemalja članica EU-a donijelo je nacionalne smjernice antenatalne skrbi, koje se razlikuju od zemlje do zemlje i uključuju 47 različitih pretraga koje se provode u sklopu antenatalnog testiranja te se trudnice testiraju na više različitih infektivnih uzročnika (5, 6). Pretrage koje su u većini zemalja EU-a obvezne u antenatalnoj skrbi svih trudnica, u Hrvatskoj se rade samo kod nekih trudnica, i to na temelju specifičnosti odnosno rizika u njihovoj obiteljskoj, osobnoj i reprodukcijskoj anamnezi koje je identificirao nadležni ginekolog te na temelju njih indicirao dodatne pretrage. One uz biokemijski i ultrazvučni probir za nasljedne bolesti i fetalne nakaznosti uključuju i dokaz protutijela na toksoplazmu, listeriju, rubeolu, citomegalovirus, testiranje na virus humane imunodeficijencije (HIV), nalaz patološke kiselosti rodnice te stupanj čistoće vaginalnog iscjetka koji je nadalje indikacija za mikrobiološku analizu na prisutnost *Chlamydiae trachomatis (C. trachomatis), Mycoplasmae hominis (M. hominis)* i *Ureaplasmae urealyticum (U. urealyticum)* (1, 5).

Razlog takvog stanja jest činjenica da u Hrvatskoj ne postoje znanstveno utemeljene smjernice na koje bi se ginekolozi na terenu mogli pozvati, a koje bi opravdale ili opovrgle potrebu uvrštavanja nekih ili svih spomenutih testiranja u paletu rutinskih testiranja svih trudnica. Da bi se neki dijagnostički test uvrstio u program rutinskoga testiranja, a da za to postoji i javnozdravstveno opravdanje, potrebno je ispuniti određene uvjete. To su, razumno visoka incidencija, dostupnost liječenja, nemogućnost rane kliničke dijagnoze, prikladan laboratorijski test, povoljan odnos troškova programa prema ekonomskoj koristi od ranoga otkrivanja i liječenja kao i prikladni organizacijski uvjeti u određenoj sredini (5).

1.1. Genitalne mikoplazme

1.1.1. Etiologija, patogeneza i epidemiologija

M. hominis i *U. urealyticum* bakterije su koje pripadaju razredu *Mollicutes*, koji se sastoji od četiri reda, pet porodica, osam rodova i najmanje 200 poznatih vrsta. Od ukupno 17 vrsta koliko ih je otkriveno kod čovjeka, za 8 je vrsta primarno mjesto kolonizacije urogenitalni sustav (*M. hominis, M. fermentans, M. primatum, M. genitalium, M. spermatophilum, M. penetrans, M. pirum, U. urealyticum, U. parvum*). U rodu *Mycoplasma* dokazani patogeni za urogenitalni sustav čovjeka jesu *M. hominis* i *M. genitalium*, a u rodu *Ureaplasma U. urealyticum* i *U. parvum*. *U. urealyticum* uključuje dva različita biovara: Biovar 1 (serovari 1, 3 i 6) i Biovar 2 (serovari 2, 4, 5, 7 - 13). Navedene bakterije po veličini su manje (0,2 - 0,3 μm u promjeru) od ostalih bakterija što ih čini najmanjim slobodno živućim organizmima. Jedinstvene su i po nedostatku staničnoga zida i nemogućnosti bojenja po Gramu te posljedično prirođenoj rezistenciji na β-laktamske antibiotike. Izrazito malen genom i ograničene biosintetske mogućnosti objašnjavaju parazitski ili saprofitski život tih organizama, kao i njihovu otežanu kultivaciju uz hranilišta obogaćena prekursorima nukleinskih kiselina i sterolima. Mikoplazme su većinom fakultativni anaerobi, rastu sporo s generacijskim vremenom od 1 sata kod *Ureaplasma spp.* do 16 sati kod *M. genitaliuma*. Stvaraju energiju razgradnjom glukoze i aminokiselina (npr. arginina *M. hominis*), a *Ureaplasma spp*. ima sposobnost razgradnje uree. Genitalne mikoplazme mogu se prenijeti izravnim genitalno-genitalnim ili orogenitalnim kontaktom između dviju osoba ili vertikalno s majke na dijete transplacentarnim putem ili perinatalno. Mikoplazme su neizostavni paraziti čovjeka te invadiraju sluznicu respiratornoga i genitourinarnog trakta i u rijetkim slučajevima imunosupresije domaćina prodiru u krvotok što im omogućuje širenje u različite organe. Mikoplazme mogu adherirati na površinu epitelnih stanica, spermatozoida, eritrocita i makrofaga. Nakon adhezije mogu oštetiti stanicu domaćina izravnom citotoksičnošću stvaranjem vodikova peroksida ili superoksidnih radikala, citolizom koja nastaje zbog kemotaksije mononukleara ili reakcije antigen-protutijelo te iskorištavanjem metabolizma stanice domaćina. Čimbenici virulencije za sada nisu dovoljno istraženi. Zna se da ureaplazme proizvode imunoglobulin A te da varijacija površinskih antigena dopušta perzistenciju *M. hominis* i *U. urealyticum* na mjestima invazije (7). Mikoplazme preko receptora sličnog Tollu (TLR) aktiviraju makrofage i monocite uzrokujući izlučivanje protuupalnih citokina koji potiču sintezu i oslobađanje prostanglandina koji mogu utjecati na ishod trudnoće. Mikoplazme

izolirane iz genitalnog trakta trudnica i njihova povezanost sa završetkom trudnoće, uzimajući u obzir to da se ovdje vrlo često nalaze kao apatogeni komenzali, nedovoljno je istražena i često zbunjujuća činjenica. Poznato je da porodu (i prijevremenom i terminskom) prethodi upalna reakcija tkiva genitalnog trakta. Mikrobiološka stimulacija upalne reakcije može inicirati kaskadu događanja koja vode ka porodu. Mikroorganizmi mogu biti egzogeni (uzročnici spolno prenosivih infekcija) i endogeni (normalna flora). U trudnoći raste broj bakterija koje se inače smatraju normalnim stanovnicima i bilo koja od njih može biti proinflamatorni čimbenik. Glavnu ulogu u odgovoru na prisutni mikroorganizam ima specifična genetika i imunološki sustav svake pojedine trudnice (8).

1.1.2. Klinička slika

Genitalne mikoplazme često se nalaze u genitourinarnom traktu spolno aktivnih žena i mogu biti dio normalne flore. *U. urealyticum* može se naći u 40 do 80 % spolno aktivnih žena te se uobičajeno nalazi i kod trudnica. Iako se genitalne mikoplazme smatraju niskopatogenim mikroorganizmima, mogu imati ulogu u razvoju različitih infekcija i višestrukih opsteteričkih komplikacija. *U. urealyticum* smatra se virulentnijom i u većoj je mjeri povezana s vaginitisom, cervicitisom, salpingitisom, neplodnošću, funisitisom, korioamnionitisom, prijevremenim prsnućem membrane, prijevremenim porodom i postpartalnim endometritisom nego *M. hominis* (7). Spontani prijevremeni trudovi i prijevremeno rođenje imaju značajan prinos kod perinatalnoga mortaliteta i morbiditeta. Budući da je nemoguće učiniti amniocentezu svakoj pojedinoj trudnici, cervikalna kolonizacija može biti koristan prediktor prijevremenoga poroda. Neke ranije provedene studije nisu pokazale povezanost između kolonizacije ureaplazmom i prijevremenoga poroda, dok su druge studije utvrdile da je mikoroorganizam *U. urealyticum* najčešće izoliran kod intraamnijskih infekcija što značajno povećava rizik od prijevremenoga poroda i prijevremenog prsnuća membrana (8). Abele-Horn pokazala je da je visoki titar *U. urealyticum* vaginalne kolonizacije neovisni rizični čimbenik za razvoj korioamnionitisa i prijevremenoga poroda (9). Združeno je djelovanje vaginalne kolonizacije *U. urealyticum* i bakterijske vaginoze te utjecaj na različite ishode trudnoće. Intraamnijska infekcija i prijevremeno prsnuće membrana uzrokovano genitalnim mikoplazmama jačeg je intenziteta od infekcija koje uzrokuju ostali mikroorganizmi. Intrauterina prisutnost navedenih mikroorganizama može rezultirati pojačanom sintezom prostanglandina, citokina i metaloproteina, što dovodi do prijevremenoga poroda (10). *U. urealyticum* može se perinatalno prenijeti na novorođenče, a stupanj prijenosa i prevalencija obrnuto su proporcionalni s

trajanjem gestacije (9). Novorođenče se može zaraziti i prolaskom kroz porođajni kanal, a trahealna kolonizacija povećava rizik respiratornih komplikacija kao što su respiratorni distres-sindrom novorođenčadi, bronhopulmonarna displazija i kronična plućna bolest. Invazivne infekcije pojavljuju se uglavnom kod nedonoščadi niske porođajne težine te može doći do razvoja sepse, akutnog meningitisa i intraventrikularnog krvarenja (11).

M. hominis i *U. urealyticum* kod odraslih mogu uzrokovati infekcije izvan urogenitalnoga sustava u obliku sepse, infekcije zglobova, središnjega živčanog sustava, respiratornog sustava i infekcije rana. Većina ekstragenitalnih infekcija nastaje kod imunokompromitiranih bolesnika, iako su opisane pneumonije kod imunokompetentnih bolesnika (7).

1.1.3. Dijagnostika

Pravodobno postavljena dijagnoza od osobite je važnosti za pacijenta radi početka terapije, olakšavanja tegoba i sprječavanja razvoja teških komplikacija. Anamneza i klinička slika osnovni su putokaz za ispravnu dijagnozu. Uzorci iz kojih možemo izolirati genitalne mikoplazme su bris uretre, bris cerviksa, bris vagine, urin, ejakulat, nazofaringealni bris i aspirat dišnih puteva kod novorođenčadi, krv, likvor i zglobna tekućina. Budući da mikoplazme adheriraju na epitelne stanice, najbolji urogenitalni uzorci mogu se dobiti energičnim brisanjem sluznice uretre, cerviksa ili vagine. Brisevi se uranjaju u transportne medije te se do dijagnostičke obrade pohranjuju: 48 h na sobnoj temperaturi, 72 h na +2 - 8℃, 6 mjeseci na -20℃. Mikoplazme možemo dokazati :

1. Izravnim metodama:

a) Molekularna dijagnostika reakcijom lančane polimeraze (engl. *polymerasa chain reaction, PCR*) brzi je enzimski postupak kojim se male količine DNA mogu selektivno uvišestručiti (amplificirati) na količinu potrebnu za analizu. U ispitivanim uzorcima može se dokazati prisutnost *U. urealyticum* i *M. hominis* koristeći se za njih specifičnim početnicama, umnažanjem pomoću enzima TaqDNA polimeraze, elektroforetskim razdvajanjem PCR proizvoda dobivenih umnažanjem te vizualizacijom reakcije UV svjetlošću. U tom trenutku postoje različiti *in house* testovi PCR (konvencionalni i testovi PCR u stvarnome vremenu) koji se razlikuju u ciljnim sekvencijama, izolacijskim tehnikama, detekcijskim metodama te stoga imaju različitu osjetljivost i specifičnost.

b) Testovi za detekciju genitalnih mikoplazmi iz urina koji se temelje na kombinaciji metode PCR i hibridizacije u mikrotitarskoj pločici.

c) Kao alternativna metoda PCR-u razvijen je TMA test (engl. *Transcription mediated amplification*) za otkrivanje čija je ciljna sekvencija rRNA molekula koja ima multiple kopije u svakoj stanici. Na taj način povećana je osjetljivost tog testa u odnosu na PCR(7).

2. Kultivacijom na krutim i tekućim podlogama:

Nakon kultivacije i porasta na tekućim podlogama, što je vizualizirano promjenom boje pH indikatora u podlozi, potrebno je uzorak subkultivirati na krutim podlogama. Moguće je i uzorak iz transportnoga medija izravno nasaditi na krutu podlogu. Koja će se metoda rabiti, ovisi o uputama proizvođača. Nakon nasađivanja uzorka na krutu podlogu, ploča se treba inkubirati na sobnoj temperaturi uz 5 do 10 % CO_2 ili u anaerobnim uvjetima s 95 % N_2 i 5 % CO_2 u trajanju od 7 dana. Većina pozitivnih kultura može se identificirati za 2 do 3 dana nakon nasađivanja. *U. urealyticum* raste na hranjivoj podlozi u obliku okruglih smeđih kolonija promjera 15 do 60 μm, koje su ureaza pozitivne zbog produkcije ureaze u prisutnosti CaC_{l2} indikatora u podlozi. Za *M. hominis* karakteristične su ureaza negativne kolonije uobliku "jaja pečenog *na oko*" sa središnjom granularnom zonom u kojoj mikoplazme rastu duboko u agar te prozirnom perifernom zonom gdje postoji samo površinski rast. Kolonije su veličine 200 do 300 μm u promjeru i vidljive su samo pod povećalom ili malim povećanjem mikroskopa(7).

3. Komercijalnim testovima za kultivaciju:

Različiti testovi za kultivaciju, identifikaciju, kvantifikaciju i testiranje osjetljivosti antibiotika za *U. urealyticum* i *M. hominis* dostupni su od različitih proizvođača. Identifikacija genitalnih mikoplazmi temeljena je na specifičnoj metaboličkoj aktivnosti svakoga organizma: *U. urealyticum* hidrolizira ureu, a *M. hominis* hidrolizira arginin te posljedično dolazi do otpuštanja amonijaka i alkalizacije medija. Reakcija je vizualizirana promjenom boje pH indikatora. Za dokazivanje i ispitivanje osjetljivosti urogenitalnih mikoplazmi na antimikrobne lijekove do sada su se uglavnom rabili komercijalni testovi, iako je nedavno standardizirano i ispitivanje osjetljivosti metodom dilucije u agaru ili bujonu kojima se određuju minimalne inhibitorne koncentracije (7).

1.1.4. Liječenje i prevencija

Budući da nemaju staničnu stijenku, mikoplazme su rezistentne na antibiotike koji ometaju sintezu peptidoglikana (betalaktamski antibiotici, vankomicin). Sulfonamidi, trimetroprim i rifampicin također su rezistentni. *U. urealyticum* pokazuje na makrolide različitu rezistenciju pa je uglavnom osjetljiva na eritromicin, a rezistentna na klindamicin, dok je *M. hominis* osjetljiva na klindamicin, a rezistentna na eritromicin. Ostali antibiotici koji djeluju na bakterijske ribosome: streptogramini, ketolidi, aminoglikozidi i kloramfenikol pokazuju *in vitro* inhibitornu aktivnost. Novi kinoloni: gemifloksacin, levofloksacin, moksifloksacin, gatifloksacin i sparfloksacin pokazuju bolju *in vitro* aktivnost nego ranije primjenjivani ciprofloksacin i ofloksacin. Za liječenje mikoplazmi za vrijeme trudnoće uglavnom se preporučuju makrolidi: azitromicin koji prema klasifikaciji lijekova Američke agencije za hranu i lijekove (engl. *Food and drug administration, FDA*) nosi kategoriju B i smatra se lijekom sigurnim za primjenu u trudnoći i klaritromicin koji je u usporedbi s ostalim makrolidima djelotvorniji na *Ureaplasma spp*., a uz to bolje od ostalih makrolida prolazi kroz placentu i prema klasifikaciji nosi kategoriju C(7).

U liječenju infekcija novorođenčadi uzrokovanih mikoplazmama najčešće se rabe makrolidi, osobito eritromicin, a u slučaju *M. hominis* rabi se i klindamicin (7).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Odrediti prevalenciju infekcija uzrokovanih mikoplazmama kod trudnica hospitaliziranih na odjelima Rodilišta i Patologije trudnoće KBC-a Osijek.
2. Prikazati učestalosti vrsta mikoplazmi i dobnu distribuciju bolesnica s pozitivnim nalazom.
3. Prikazati osjetljivosti mikoplazmi i ureaplazmi na antibiotike.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

Ispitanici u ovom istraživanju bile su trudnice koje su testirane na *U. urealyticum i M. hominis* u Županijskom zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije od 2011. do 2013. godine. Uzorak je bio bris cerviksa. Uzorci brisa cerviksa su uzeti na Odjelu za Ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek. U istraživanju su se koristili podatci iz elektronske baze podataka Službe za mikrobiologiju, Županijskog zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

3.2. Laboratorijske metode

Za identifikaciju *U. urealyticum* i *M. hominis* iz prikupljenih uzoraka rabio se komercijalni test mikropločica Mycoplasma duo (Bio-Rad, Francuska). Za testiranje antibiotika rabio se komercijalni test Mycoplasma S.I.R. (Bio-Rad, Francuska) (12). Kombinacijom triju antibiotika i jednoga antifungika osigurana je selektivnost testa i sigurnost da mikroorganizmi koji mogu kontaminirati ispitivani uzorak neće utjecati na rezultat testa. Otkrivanje genitalnih mikoplazmi temeljeno je na specifičnoj metaboličkoj aktivnosti svakoga organizma: *U. urealyticum* hidrolizira ureu, a *M. hominis* hidrolizira arginin te posljedično dolazi do otpuštanja amonijaka i alkalizacije medija. Reakcija je vizualizirana promjenom boje pH indikatora (engl. *phenol red*) iz žute u crvenu boju. Mikrojažica žute boje govori da u ispitivanome uzorku nema prisutnih genitalnih mikoplazmi, a ukoliko dođe do promjene boje u crvenu, tada je u ispitivanome uzorku dokazana prisutnost genitalnih mikoplazmi. Mikrotitar pločice inkubiraju se na 37℃, a rezultati se prvi put očitavaju nakon 24 sata. Ukoliko su rezultati negativni, inkubacija se produžuje na 48 sati što omogućuje porast sojevima koji su karakterizirani sporijim metaboličkim rastom. Test Mycoplasma duo omogućuje diferencijalnu titraciju *U. urealyticum* i *M. hominis* jer oba mikroorganizma mogu biti prisutna u istom uzorku.

Postupak identifikacije s testom Mycoplasma duo:

Iz kutije s priborom uzeti diluent bočicu s ugrađenom kapaljkom i u tri jažice na mikroploči označene s U $\geq 10^4$, D i H $\geq 10^4$ ukapati po četiri kapi diluenta. Koristeći se priloženom mikropipetom ukapati po četiri kapi transportnog medija u svaku od jažica označenih s U, X i H te po jednu kap transportnog medija u jažicu D. Upotrijebljenu

mikropipetu baciti u otpad. Uzeti novu mikropipetu i homogenizirati tekućinu u jažici D. Nakon toga istom pipetom uvući tekućinu iz jažice D i ukapati po jednu kap u jažice označene s U ≥ 10^4 1i H ≥ 10^4. Pokriti jažice priloženom naljepnicom. Inkubirati mikroploču 24 sata na 37℃. Očitati rezultate testiranih uzoraka na ovaj način:

Par jažica H i H ≥ 10^4 služi za očitanje vrijednosti titra za *M. hominis* (MH), a par jažica U i U ≥ 10^4 služi za očitanje vrijednosti titra za *U. urealyticum* (UU). Ako su parovi jažica H i H ≥ 10^4 te U i U ≥ 10^4 crvene boje, rezultati se mogu očitati kao visoki titar za MH odnosno UU (≥ 10^4 CCU/ml). U suprotnom potrebno je inkubirati dodatno 24 sata na 37˚C i ponovno očitati rezultate. Ako su parovi jažica H i H ≥ 10^4 i U i U ≥ 10^4 crvene boje, rezultati se mogu očitati kao pozitivni s visokim titrom za MH odnosno UU (≥ 10^4 CCU/ml). Ako je jažica H odnosno U crvena, a jažica H ≥ 10^4 odnosno U ≥ 10^4 žuta, onda se rezultat može očitati kao nizak titar za MH, odnosno UU (≤ 10^3 CCU/ml). Ako su jažice H i H ≥ 10^4 odnosno U i U ≥ 10^4 žute boje, onda se rezultat može očitati kao negativan za MH odnosno UU.

Postupak izrade antibiograma s testom Mycoplasma S. I. R.:

Test Mycoplasma S. I. R. jest mikropločica koja sadrži 2 reda po 8 jažica obloženih dehidriranim antibioticima u dvjema različitim koncentracijama (doksiciklin, tetraciklin, azitromicin, josamicin, eritromicin i ofloksacin) ili jednoj koncentraciji antibiotika (klindamicin i pristinamicin). Dodavanjem inokuluma antibiotici se rehidriraju što nam omogućuje daljnju analizu i određivanje osjetljivosti ispitivanih sojeva koje klasificiramo kao osjetljiv, intermedijarno osjetljiv i rezistentan. Test je temeljen na metaboličkoj inhibiciji. Umnažanje genitalnih mikoplazmi objektivno se mjeri njihovom metaboličkom aktivnošću: hidrolizom uree u U9 hranilištu za *U. urealyticum* i hidrolizom arginina u hranilištu Arginin za *M. hominis* uz otpuštanje amonijaka i alkalizaciju medija. Indikator (engl. *phenol red*) mijenja boju medija iz žute u crvenu. Ukoliko je mikroorganizam osjetljiv na testirane antibiotike, njegov je metabolizam inhibiran i medij ostaje žute boje. Ukoliko je mikroorganizam rezistentan na testirane antibiotike, omogućen mu je porast i medij postaje crvene boje.

Testiranje osjetljivosti *M. hominis* na antibiotike:

1. 24 do 48 sati od početka inkubacije pipetirati 20 µl inokuluma iz jažice označene s X na mikropločici Mycoplasma duo u 2 ml hranilišta Arginin. Time smo postigli razrjeđenje tj. standardizaciju inokuluma od 1/100.

2. Pipetirati 100 µl standardiziranog inokuluma u sve jažice mikroploče Mycoplasma S. I. R. Inkubirati 24 do 48 sati na temperaturi od 37˚C.

Očitati rezultate na način:

Ukoliko nije došlo do promjene boje u jažicama iz žute u crvenu, tada očitati testirane antibiotike kao OSJETLJIVE. Ukoliko je došlo do promjene boje iz žute u crvenu u jažicama, tada očitati testirane antibiotike kao INTERMEDIJARNO OSJETLJIVE. Ukoliko je došlo do promjene boje iz žute u crvenu u jažicama, tada testirane antibiotike očitati kao REZISTENTNE. Ukoliko je došlo do promjene boje iz žute u crvenu u jažicama $OFX_{1,}$ $E_{1,}$ JM_2, TE_4, AZM_4, $DO_{4,}$ tada očitati testirane antibiotike kao INTERMEDIJARNO OSJETLJIVE. Ukoliko je došlo do promjene boje iz žute u crvenu u jažicama OFX_1 i OFX_4, CM_2, PT_2, E_1 i E_4, JM_2 i JM_8, TE_4 i TE_8, AZM_2 i AZM_4, DO_4 i $DO_{8,}$ tada testirane antibiotike očitati kao REZISTENTNE.

Testiranje osjetljivosti *U. urealyticum* na antibiotike:

Ako je inkubacija trajala 24 sata, treba pipetirati 20 µl inokuluma iz jažice označene s X na mikropločici Mycoplasma duo u 2 ml hranilišta U9. Time smo postigli razrjeđenje tj. standardizaciju inokuluma od 1/100. Ako je inkubacija trajala 48 sati, treba pipetirati 200 µl inokuluma iz transportnog medija u 2 ml hranilišta U9. Time smo postigli razrjeđenje tj. standardizaciju inokuluma od 1/10. Pipetirati 100 µl standardiziranog inokuluma u sve jažice mikroploče Mycoplasma S. I. R. Inkubirati 24 do 48 sati na temperaturi od 37˚C. Očitati rezultate kao kod *M. hominis.*

3.3. Statističke metode

Za statističku obradu podataka korišten je statistički programski paket Microsoft Office Excel 2007/2010 (Microsoft).

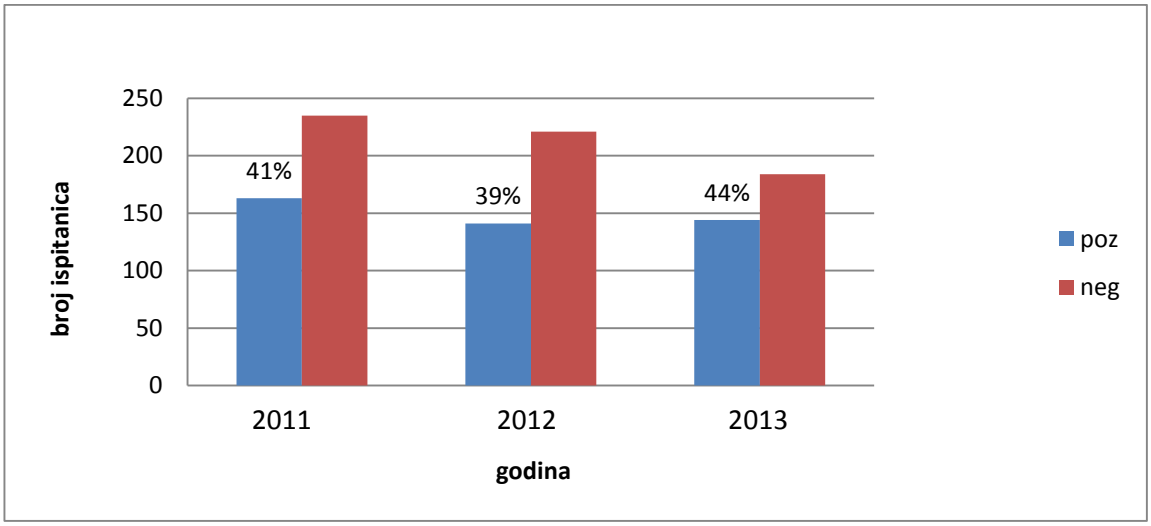
4. REZULTATI

4.1. Učestalost i vrsta mikoplazmi

Tijekom 2011., 2012. i 2013. godine u Laboratoriju za urogenitalne infekcije Službe za mikrobiologiju Osječko-baranjske županije ispitano je 1088 urogenitalnih uzoraka. Najviše uzoraka prikupljeno je 2011. godine, ukupno 398 uzorka. 2012. godine ukupno je prikupljeno 362 uzorka, dok je 2013. ukupno testirano 328 uzoraka (Tablica 1). Broj pozitivnih uzoraka na *U. urealyticum* u ispitivanom razdoblju kretao se od 41 % u 2011., 39 % u 2012. do 44 % u 2013. godini (Slika 1.)

Tablica 1. Prikaz obrađenih uzoraka na *U. urealyticum* tijekom ispitivanog razdoblja

	Godina			
	2011	2012	2013	2011-2013
Broj pozitivnih uzoraka (%)	163 (41)	141 (39)	144 (44)	448 (41)
Broj negativnih uzoraka (%)	235 (59)	221 (61)	184 (56)	640 (59)
Ukupno uzoraka	398	362	328	1088

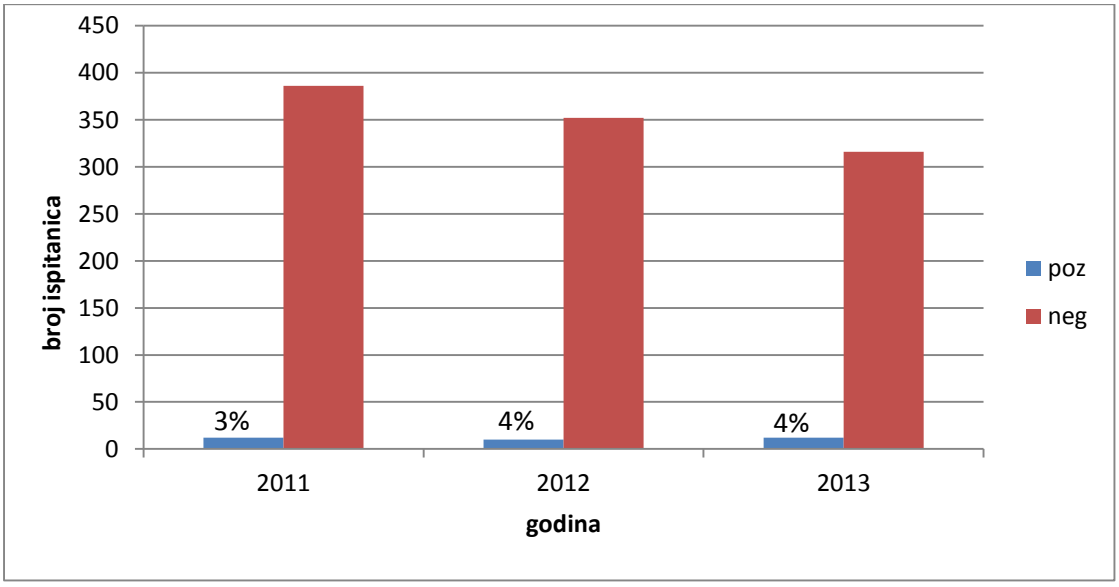


Slika 1. Udio pozitivnih trudnica na *U. urealyticum* tijekom ispitivanog razdoblja

Tablica 2. Prikaz obrađenih uzoraka na *M. hominis* tijekom ispitivanog razdoblja

	Godina			
	2011	2012	2013	2011-2013
Broj pozitivnih uzoraka (%)	12 (3)	10 (3)	12 (4)	34 (3)
Broj negativnih uzoraka (%)	386 (97)	352 (97)	316 (96)	1054 (97)
Ukupno	398	362	328	1088

Udio pozitivnih trudnica na *M. hominis* značajno je manji od udjela pozitivnih trudnica na *U. urealyticum* i kretao se oko 3 % kroz ispitivano razdoblje (Slika 2.).



Slika 2. Udio pozitivnih trudnica na *M. hominis* tijekom ispitivanog razdoblja

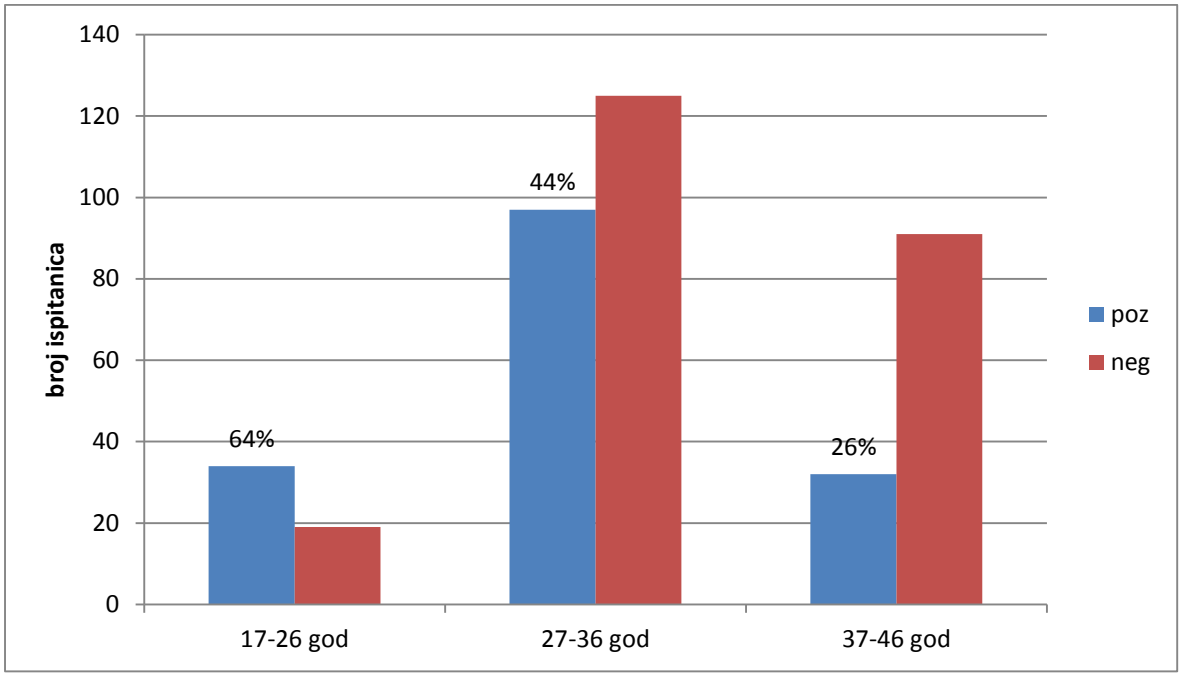
4.2. Dobna distribucija trudnica

Trudnice smo podijelili u tri dobne skupine i to 17 - 26 godina, 27 - 36 godina i 37 - 46 godina. Najviše uzoraka bilo je u dobnoj skupini 27 - 36 godina u sve tri godine ispitivanja jer je najviše trudnica upravo u dobi 27 - 36 godina (tablica 3).

Tablica 3. Raspodjela ispitanika po dobnim skupinama testiranih na *U. urealyticum*

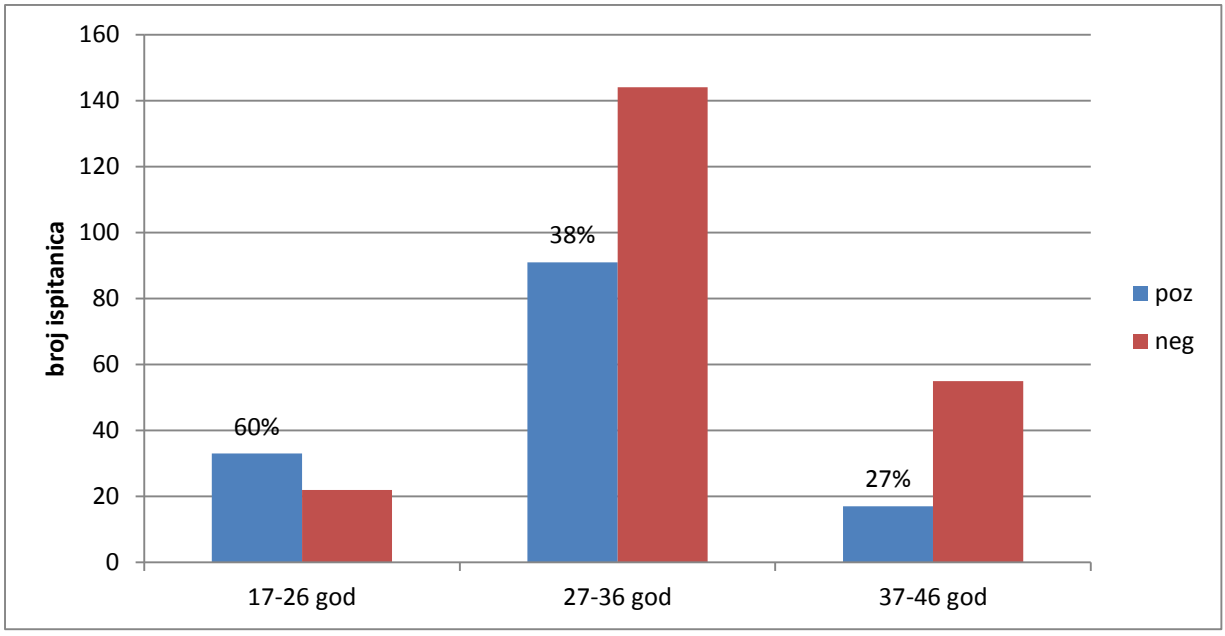
	Dobna skupina (godina)								
	17 - 26			27 - 36			37 - 46		
	2011	2012	2013	2011	2012	2013	2011	2012	2013
Broj pozitivnih(%)	34(64)	33(60)	54(75)	97(44)	91(39)	70(38)	32(26)	17(24)	20(27)
Broj negativnih(%)	19(36)	22(40)	18(25)	125(5)	144(61	113(62	91(74)	55(76)	53(73)
Ukupni broj	53	55	72	222	235	183	123	72	73

U 2011. godini najveći postotak pozitivnih trudnica na *U. urealyticum* je u dobnoj skupini 17 - 26 godine i iznosi 64 %. Apsolutni je broj najveći u dobnoj skupini 27 - 36 godina i iznosi 98 te je ujedno najviše testiranih uzoraka dobiveno od ispitanica dobne skupine 27 - 36 godina, ukupno 222. Najveći udio pozitivnih uzoraka u dobnoj skupini 17 - 26 godina je čak 64 %, dok je najmanji broj pozitivnih trudnica i to 26 % u dobnoj skupini 37 - 46 godina (Slika 3.).



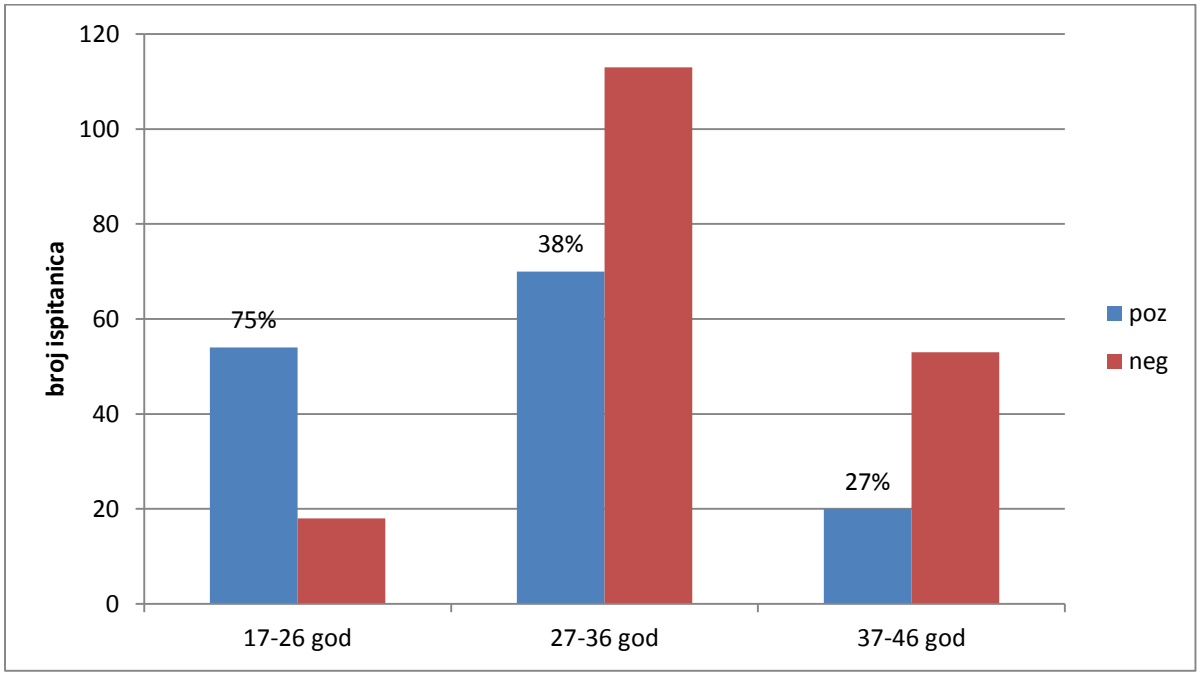
Slika 3. Raspodjela trudnica po dobi testiranih na *U. urealyticum* tijekom 2011. godine

U 2012. godini najviše je uzoraka prikupljeno kod ispitanica dobne skupine 27 - 36 godina, ukupno 235 uzorka i od toga je 91 (38 %) pozitivan na *U. urealyticum.* U trudnica dobne skupine 17 - 26 godina, ukupno je prikupljeno 55 uzoraka od kojih su 33 (60 %) pozitivna na *U. urealyticum.* U skupini 37 - 46 godina ukupno 72 testirana uzorka i od toga su 17 (26 %) pozitivnih (Slika 4.).



Slika 4. Raspodjela trudnica po dobi testiranih na *U. urealyticum* tijekom 2012. godine

U 2013. godini najviše je uzoraka prikupljeno kod ispitanica dobne skupine 27 - 36 godina, ukupno 183 uzorka i od toga je 70 (38 %) pozitivnih. Podjednako je uzoraka prikupljeno od ispitanica dobnih skupina 17 - 26 godina, ukupno 72 i od toga 54 (75 %) pozitivna te od 37 - 46 godina, ukupno 73 uzorka i od toga 20 (27 %) pozitivnih (Slika 5.).



Slika 5. Raspodjela trudnica po dobi testiranih na *U. urealyticum* tijekom 2013. godine

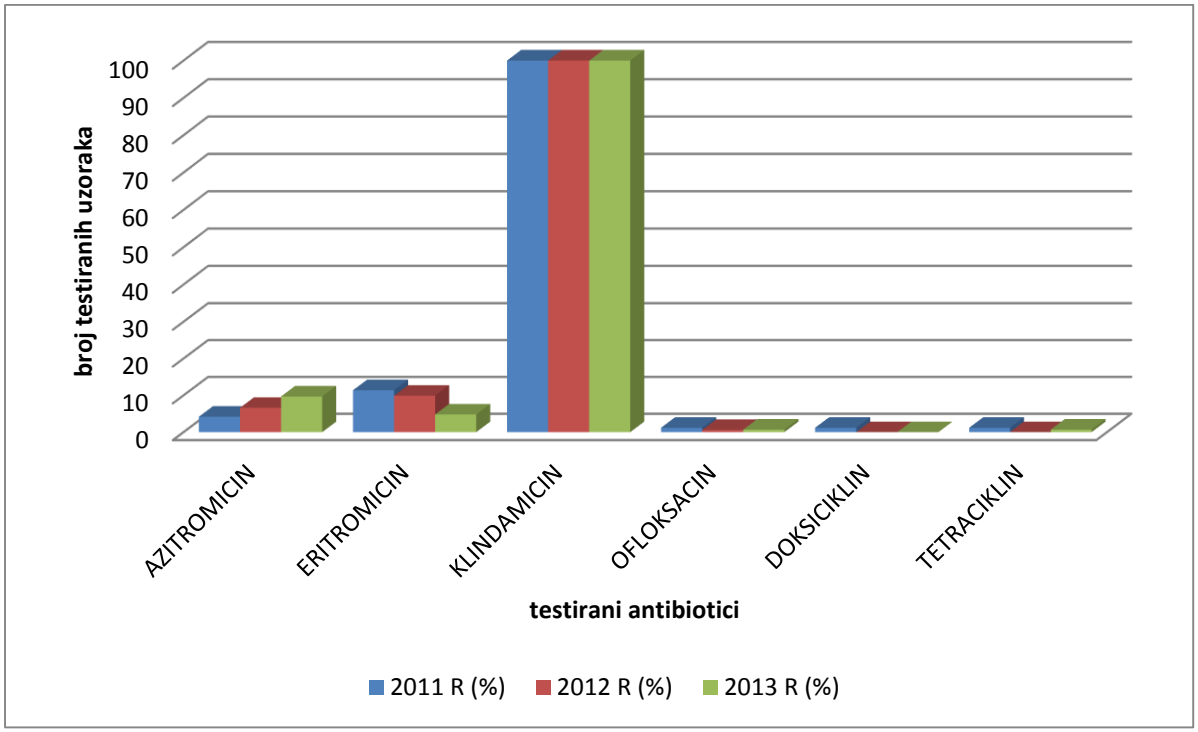
4.3. Osjetljivost *U. urealyticum* na antibiotike

Za testiranje antibiotika rabio se komercijalni test Mycoplasma S. I. R. (Bio-Rad, Francuska), a antibiotici koje smo testirali bili su azitromicin, eritromicin, klindamicin, ofloksacin, doksiciklin i tetraciklin. Ukupno je bilo testirano 166 soja 2011. godine, 151 soja 2012., a 2013. godine 144 soja. Svi sojevi bili su rezistentni na klindamicin (Slika 6.). Najveću osjetljivost imali su tetraciklin, doksiciklin i azitromicin s više od 90 % osjetljivih sojeva. Ofloksacin 89 % osjetljivih, a nešto manju osjetljivost imao je eritromicin s 58 % osjetljivih sojeva (Tablica 4, Slika 6).

Tablica 4. Prikaz osjetljivosti *U. urealyticum* na testirane antibiotike

	Godina								
	2011(N=166)			2012(N=151)			2013(N=144)		
antibiotici	S (%)	I (%)	R (%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)
AZITROMICIN	92	4	4	87	6	7	88	2	10
ERITROMICIN	54	34	11	54	36	10	65	30	5
KLINDAMICIN	0	0	100	0	0	100	0	0	100
OFLOKSACIN	88	11	1	89	10	1	89	10	1
DOKSICIKLIN	99	0	1	100	0	0	99	1	0
TETRACIKLIN	98	1	1	99	1	0	99	0	1

S- osjetljiv, I- intermedijaran, R- rezistentan



Slika 6. Prikaz rezistencije na antibiotike *U. urealyticum* kroz tri godine

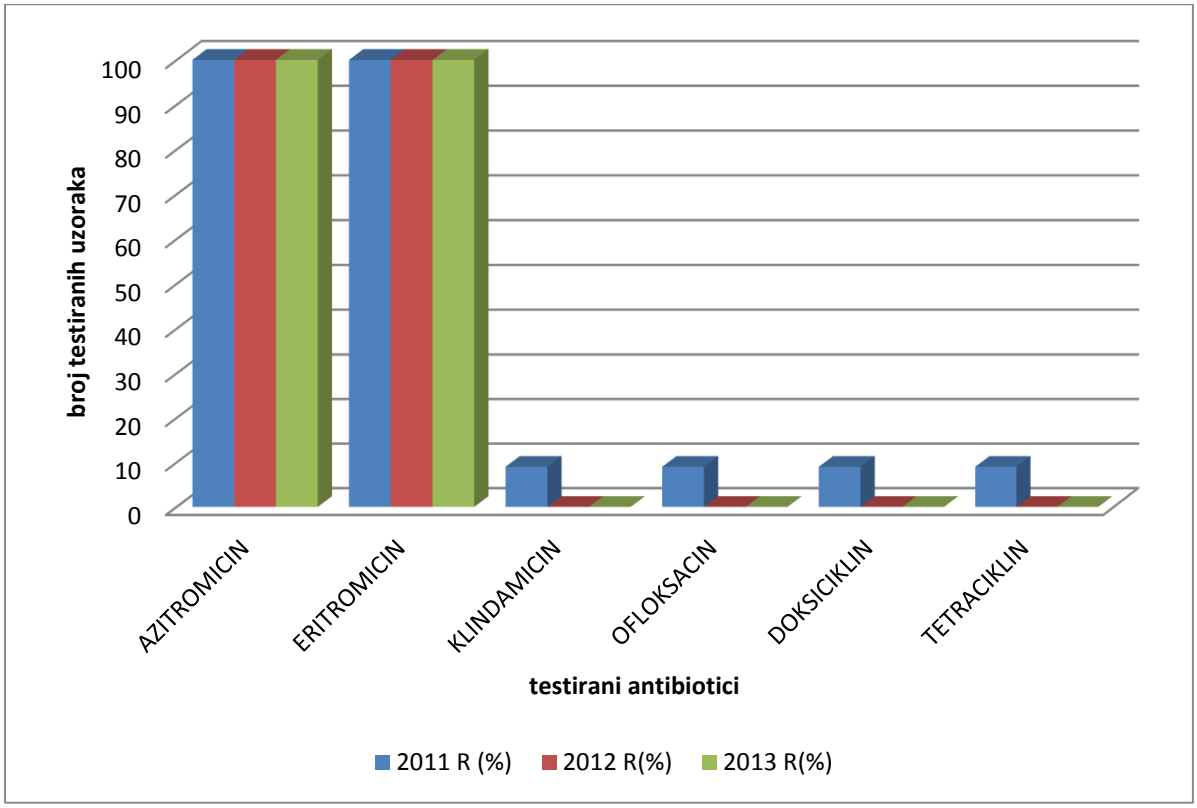
4.4. Testiranje osjetljivosti *M. hominis* na antibiotike

Za testiranje antibiotika rabio se komercijalni test Mycoplasma S. I. R. (Bio-Rad, Francuska), a antibiotici koje smo testirali bili su azitromicin, eritromicin, klindamicin, ofloksacin, doksiciklin i tetraciklin. Testirano je 2011. i 2012. godine 11 sojeva, a 2013. 16 sojeva. Svi sojevi bili su rezistentni na makrolide, dok su ostali antibiotici bili osjetljivi više od 90 % (Tablica 5, Slika 7).

Tablica 5. Osjetljivost *M. hominis* na testirane antibiotike

	Godina								
	2011 (N=11)			2012(N=11)			2013(N=16)		
antibiotici	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)
AZITROMICIN	0	0	100	0	0	100	0	0	100
ERITROMICIN	0	0	100	0	0	100	0	0	100
KLINDAMICIN	91	0	9	100	0	0	100	0	0
OFLOKSACIN	91	0	9	100	0	0	100	0	0
DOKSICIKLIN	91	0	9	100	0	0	100	0	0
TETRACIKLIN	91	0	9	100	0	0	100	0	0

S- osjetljiv, I- intermedijaran, R- rezistentan



Slika 7. Prikaz rezistencije na antibiotike *M. hominis* kroz tri godine

5. RASPRAVA

Tijekom 2011., 2012. i 2013. godine u Laboratoriju za urogenitalne infekcije Službe za mikrobiologiju Osječko-baranjske županije ispitano je 1088 uzoraka. Tijekom ispitivanog razdoblja najviši udio pozitivnih uzoraka bio je kod ispitanica iz dobne skupine 17 - 26. godina, 2011. je 64 %, 2012. 60 %, a 2013. godine iznosio je 75 %. Najmanji udio pozitivnih nalaza bio je kod najstarijih trudnica i kretao se oko 27 %. Slično imamo i u općoj populaciji gdje je i najveća prevalencija i incidencija urogenitalnih mikoplazmi kod spolno aktivnih mlađih žena. Genitalne mikoplazme često se nalaze u genitourinarnom traktu spolno aktivnih žena i mogu biti dio normalne flore. *U. urealyticum* može se naći u 40 do 80 % spolno aktivnih žena te se uobičajeno nalazi i kod trudnica. Iako se genitalne mikoplazme smatraju niskopatogenim mikroorganizmima, mogu imati ulogu u razvoju različitih infekcija i višestrukih opsteteričkih komplikacija. *U. urealyticum* smatra se virulentnijom i u većoj je mjeri povezana s vaginitisom, cervicitisom, salpingitisom, neplodnošću, funisitisom, korioamnionitisom, prijevremenim prsnućem membrane, prijevremenim porodom i postpartalnim endometritisom nego *M. hominis* (7). Pretrage koje su u većini zemalja EU-a obvezne u antenatalnoj skrbi svih trudnica, u Hrvatskoj se rade samo kod nekih trudnica, i to na temelju specifičnosti odnosno rizika u njihovoj obiteljskoj, osobnoj i reprodukcijskoj anamnezi koje je identificirao nadležni ginekolog te na temelju njih indicirao dodatne pretrage. One uz biokemijski i ultrazvučni probir za nasljedne bolesti i fetalne nakaznosti uključuju i dokaz protutijela na toksoplazmu, listeriju, rubeolu, citomegalovirus, testiranje na virus humane imunodeficijencije (HIV), nalaz patološke kiselosti rodnice te stupanj čistoće vaginalnog iscjetka koji je nadalje indikacija za mikrobiološku analizu na prisutnost *Chlamydiae trachomatis, M. hominis* i *U. urealyticum* (1, 5).

Prema podatcima iz literature većina provedenih studija obuhvatila je žene s kliničkim znakovima infekcije (cervicitis, vaginitis) koje su se javile u specijalizirane ustanove za liječenje SPI-a. Dvije studije provedene u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) 1995. godine utvrdile su prevalencije *U. urealyticum* i *M. hominis* od 57 % i 20 % te 17,2 % i 2,1 % (13, 14). Studija provedena u Kini 2003. godine utvrdila je prevalenciju genitalnih mikoplazmi od 32 % (od toga sama *U. urealyticum* 70,7 %, *M. hominis* 4,4 % te zajedno *U. urealyticum* i *M. hominis* 24 % (15). Studija provedena u Turskoj 2006. godine utvrdila je prevalencije *U. urealyticum* i *M. hominis* od 48 % i 4,4 % (16). Studija provedena u Poljskoj 2006. godine utvrdila je prevalencije *U. urealyticum* i *M. hominis* od 29,8 % i 3,7 % (17). Studija provedena

u Austriji 2006. godine utvrdila je prevalencije *U. urealyticum* i *M. hominis* od 20 % i 7 % (18). Studija provedena u Grčkoj 2008. godine utvrdila je prevalencije *U. urealyticum* i *M. hominis* od 47 % i 1 % (19).

U ovom istraživanju prevalencija *na U.urealyticum* kod naših trudnica u 2011. bila je 41 %, 2012., 39 % i 2013. godine iznosila je 44 %, dok je prevalencija na *M. hominis* iznosila 2011. i 2012. godine 3 %, a 2012. 4 %, što uglavnom odgovara prevalenciji u dosada objavljenim studijama u općoj populaciji žena. Studija iz Austrije (18) imala je nešto manju prevalenciju *U. urealyticum* (20 %), dok je imala višu prevalenciju *M. hominis* (7 %).

Konačni rezultat pokazao je kako se najveći broj pozitivnih ispitanica pokazao u 2013. godini i to čak 44 %. U Hrvatskoj ne postoje znanstveno utemeljene smjernice na koje bi se ginekolozi na terenu mogli pozvati, a koje bi opravdale ili opovrgle potrebu uvrštavanja nekih ili svih spomenutih testiranja u paletu rutinskih testiranja svih trudnica. Da bi se neki dijagnostički test uvrstio u program rutinskoga testiranja, a da za to postoji i javnozdravstveno opravdanje, potrebno je ispuniti određene uvjete.

Naši rezultati testiranja osjetljivosti jasno su pokazali da su u sve tri godine najveću osjetljivost postigli antibiotici klindamicin, ofloksacin, doksiciklin i tetraciklin za *M. hominis*, dok kod *U. urealyticum* najveću su osjetljivost imali tetraciklin, doksiciklin i azitromicin s više od 90 % osjetljivih sojeva. Ofloksacin 89 % osjetljivih, a nešto manju osjetljivost je imao eritromicin s 58 % osjetljivih sojeva. Prema klasifikaciji lijekova Američke agencije za hranu i lijekove (engl. *Food and drug administration, FDA*) preporučuje se azitromicin kao antibiotik koji je siguran za primjenu u trudnoći i klaritromicin koji je u usporedbi s ostalim makrolidima djelotvorniji na *Ureaplasma spp.*, a uz to bolje od ostalih makrolida prolazi kroz placentu i prema klasifikaciji nosi kategoriju C. U liječenju infekcija novorođenčadi uzrokovanih mikoplazmama najčešće se rabe makrolidi, osobito eritromicin, a u slučaju *M. hominis* koja je intrinzično rezistentna na makrolide, lijek izbora je klindamicin (7).

6. ZAKLJUČAK

Istraživanjem su obuhvaćene hospitalizirane trudnice koje su liječene na Odjelu za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek, a koje su testirane na *U. urealyticum i M. hominis* u Županijskom zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije u Laboratoriju za urogenitalne infekcije od 2011. do 2013. godine. Uzorak je bio bris cerviksa. Ispitanice nisu aktivno sudjelovale u istraživanju. U istraživanju su se koristili podatci iz elektronske baze podataka Službe za mikrobiologiju, Županijskog zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

- Obrađeno je 1088 ispitanica, od toga 448 ispitanice bile su pozitivne na *U. urealyticum,* a 34 na *M. hominis.*
- Ukupnoj raspodjeli ispitanica testiranih na *U. urealyticum* tijekom 2011. pokazalo se 41 % pozitivnih ispitanica, 2012. godine 39 % pozitivnih ispitanica i 2013. godine 44 % pozitivnih ispitanica.
- Ukupnoj raspodjeli ispitanica testiranih na *M. hominis* tijekom 2011. pokazalo se 3% pozitivnih ispitanica, 2012. isto 3% pozitivnih ispitanica i 2013. 4% pozitivnih ispitanica.
- Najveći broj trudnica bio je u skupini 27 - 36. godina (59 %), dok je najveća prevalencija genitalnih mikoplazmi u dobi 19 - 26. godina (66 %).
- Testiranjem osjetljivosti *U. urealyticum* na antibiotike najveću osjetljivost postigli su ofloksacin, doksiciklin tetraciklin i azitromicin, dok je bila rezistentna na klindamicin.
- Testiranjem osjetljivosti *M. hominis* na antibiotike najveću osjetljivost postigli su klindamicin, ofloksacin, doksiciklin i tetraciklin te rezistenciju na eritromicin i azitromicin.

7. SAŽETAK

M. hominis i *U. urealyticum* bakterije su koje pripadaju razredu *Mollicutes.* Genitalne mikoplazme prenose se izravnim genitalno-genitalnim ili orogenitalnim kontaktom između dviju osoba ili vertikalno s majke na dijete transplacentarnim putem ili perinatalno. Mikoplazme su neizostavni paraziti čovjeka te invadiraju sluznicu respiratornoga i genitourinarnog trakta. Genitalne mikoplazme često se nalaze u genitourinarnom traktu spolno aktivnih žena i mogu biti dio normalne flore. *U. urealyticum* može se naći u 40 do 80 % spolno aktivnih žena te se uobičajeno nalazi i kod trudnica. Ispitanici u ovom istraživanju bile su trudnice koje su testirane na *U. urealyticum i M. hominis* u ZZJZ Osječko-baranjske županije od 2011. do 2013. godine. Uzorak je bio bris cerviksa. Pacijentice nisu aktivno sudjelovale kao sudionici u istraživanju. U istraživanju su se koristili podatci iz elektronske baze podataka Službe za mikrobiologiju, Županijskog zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije. Obrađeno je 1088 pacijenata, od toga 448 pacijenata koji su bili pozitivni na *U. urealyticum*, a 34 na *M. honimis*. U ukupnoj raspodjeli ispitanica testiranih na *U. urealyticum* tijekom 2011. bilo je 41 % pozitivnih ispitanica, 2012. 39 % i 2013. godine 44 % pozitivnih ispitanica. Najveći broj trudnica bio je u skupini 27 - 36 godina (59 %), dok je najveća prevalencija genitalnih mikoplazmi 17 - 26 godina (66 %). Antibiotici klindamicin, ofloksacin, doksiciklin i tetraciklini pokazali su se kao najosjetljiviji na *M. hominis.* Testiranjem osjetljivosti *U. urealyticum* na antibiotike najveću osjetljivost su postigli ofloksacin, doksiciklin tetraciklin i azitromicin.

Ključne riječi: *M. hominis, U. urealyticum,* žene, trudnice, Osječko-baranjska županija

8. SUMMARY

M. hominis and *U. urealyticum* belong to the *Mollicutes* bacteria class. Genital mycoplasmas are transmitted by direct genital-genital or orogenital contact between two people or vertically from mother to child via placenta or perinatally. Mycoplasmas are indispensable parasites which invade the mucous membranes of the respiratory and genitourinary tract. Genital mycoplasmas are often found in the genitourinary tract in sexually active women and can be a part of the normal flora. *U. urealyticum* can be found in 40 to 80% of sexually active women and is commonly found in pregnant women as well. The subjects in this study were pregnant women who were tested for *U. urealyticum* and *M. hominis* at the IPH Osijek-Baranja County from 2011 to 2013. Samples used were cervical smears. Patients did not actively participate in the study. The study used data from the electronic database of the Microbiology at the Institute of Public Health of Osijek-Baranja County. 1088 patients were analysed, 448 of whom were positive for *U. urealyticum* and 34 to *M. hominis*. The total distribution of subjects tested for *U. urealyticum* in 2011 was 41% of positive respondents, 39% for 2012 and 44% of positive respondents for 2013. The largest number of pregnant women was found in the group 27 – 36 years (59%) of age, while the highest prevalence of genital mycoplasmas was found in the group 17 – 26 years (66%) of age. The antibiotics clindamycin, ofloxacin, doxycycline and tetracycline proved to be the most sensitive to *M. hominis*. The highest antibiotic sensitivity of *U. urealyticum* was achieved with ofloxacin, doxycycline, tetracycline and azithromycin.

Key words: *M. hominis*, *U. urealyticum*, women, pregnant women, Osijek-Baranja County

9. LITERATURA

1. Kuvačić I., Kurjak A., Đemliš J. Porodništvo. Zagreb: Medicinska naklada, 2009.

2. Plan i program mjera zdravstvene zaštite iz osnovnog zdravstvenog osiguranja. NN 2002; 30.

3. Langer A, Villar J. Promoting evidence-bades practice in maternal care. BMJ 2002;324:928-929.

4. Blondel B, Pusch D, Schmidt E. Some characteristics of antenatal care in 13 European countries. Br J Obstet Gynaecol. 1985;92:565-8.

5. Bernloehr A, Smith P, Vydelingum V. Antenatal care in the European Union: A survey on guidelines in all 25 member states of the Community. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005;122:22-32.

6. Mahony JB, Coombes BK, Chernesky MA, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH i sur. Man-nual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 2002:991-8.

7. Kataoka S, Yamada T, Chou K, Nishida R, Morikawa M, Minami M i sur. Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasmas in early pregnancy. J Clin Microbiol. 2006;44: 51-55.

8. Iwasaka Z, Wada T, Kidera Y, Sugimori H. Hormonal status and mycoplasma colonization in the female genital tract. Obstet Gynecol. 1986;68:263-6.

9. Kasper DC, Mechtler TP, Reischer GH, Witt A, Langgartner M, Pollak A. The bacterial load of *Ureaplasma parvum* in amnionitic fluid is correlated with an increased intrauterine inflammatory response. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010;67:117-21.

10. Peltier MR, Brown MB. Experimental genital mycoplasmosis causes increased levels of mRNA for IL-6 and TNF-alpha int he placenta. Am J of Reprod Immunol. 2005;53:189-98.

11. Goldenberg RL, Andrews WW, Goepfert AR, Faye-Petersen O, Cliver SP, Carlo WA i sur. The Alabama preterm study : Umbilical cord blood *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* cultures in very preterm newborn infants. Am J Obstet Gynecol. 2007;198:43.e1-43.e5.

12. Bio-Rad. Manual S. I. R. Mycoplasma: Antibiogram for urogenital Mycoplasma. 2007.

13. Schlicht MJ, Lovrich SD, Sartin JS, Karpinsky P, Callister SM, Agger WA. High prevalence of genital mycoplasmas among sexually active young adults with urethritis or cervicitis.

14. Witkin SS, Kligman I, Grifo JA, Rosenwaks Z. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* detected by the polymerase chain reaction in the cervices of women undergoing in vitro fertilization: prevalence and consequences. J Assist Reprod Genet. 1995;12:610-4.

15. Yan ZH, Zhou W, Zhang DL. Prevalence and drug tolerance in patients with urogenital inflammation. Zhonghua Nan Ke Xue. 2003;9:599-603.

16. Karabay O, Topcuoglu A, Kocoglu E, Gurel S, Gurel H, Ince NK. Prevalence and antibiotic susceptibility of genital *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in a hospital in Turkey. Clin Exp Obstet Gynecol. 2006;33:36-8.

17. Zdrodowska-Stefanow B, Klosowska WM, Ostaszewska-Puchalska I, Bulhak V, Kotowicz B. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. Adv Med Sci. 2006;51:250-3.

18. Daxboeck F, Zitta S, Stadler M, Iro E, Krause R. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in patients with sterile pyuria. J Infect. 2005;51:54-8.

19. Kechagia N, Bersimis S,Chatzipanagiotou S. Incidence and antimicrobial susceptibilities of genital mycoplasmas outpatient women with clinical waginitis in Athes, Greece. J Antimicrob Chemot. 2008;62:122-5.

10. ŽIVOTOPIS

MARIJANA RADOŠ

Datum i mjesto rođenja:

- 3. 3. 1978., Osijek

OBRAZOVANJE

- 1994.-1998. Medicinska škola Osijek, zdravstveno-laboratorijski tehničar
- 2012.-2015. Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

RADNO ISKUSTVO

- Pripravnički staž, Dom Zdravlja Osijek
- 2003. do danas Zdravstveno laboratorijski tehničar, Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Služba za mikrobiologiju