

Liječenje Ureaplazme urealyticum u trudnoći

Urbanc, Jana

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:447028>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-01**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Jana Urbanc

Liječenje *Ureaplazme urealyticum* u trudnoći

Diplomski rad



Zagreb 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za ginekologiju i porodništvo Kliničke bolnice Sveti Duh pod vodstvom doc.dr.sc. Vladimira Blagaića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

Kratice

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists

ATP: prema engl. adenosine triphosphate

BPD: bronhopulmonalna displazija

BV: bakterijska vaginoza

C3a: aktivirana komponenta komplementa 3

C5a: aktivirana komponenta komplementa 5

CRP: C-reaktivni protein

CSAID: prema engl. cytokine suppressive anti-inflammatory drugs

G-CSF: prema engl. granulocyte colony stimulating factor

HNP: prema engl. human neutrophil peptide

IgA proteaza: imunoglobulin A proteaza

IGFBP-1: prema engl. insulin-like growth factor-binding protein 1

IL: interleukin

IUGR: prema engl. intrauterine growth retardation

IUI: prema engl. intrauterine infection and/or inflammation

IVH: prema engl. intraventricular haemorrhage

HGT: prema engl. horizontal gene transfer

MBA/*mba*: prema engl. multiple banded antigen

MIAC: prema engl. microbial invasion of the amniotic cavity

MMP: prema engl. matrix metalloproteinase

NEC: prema engl. necrotizing enterocolitis

NIH: National Institutes of Health

NPV: negativna prediktivna vrijednost

PCR: prema engl. polymerase chain reaction

POCT: prema engl. point-of-care test

PPV: pozitivna prediktivna vrijednost

RT-PCR: prema engl. real time polymerase chain reaction

TLR: prema engl. Toll-like receptor

TNF α : prema engl. tumor necrosis factor α

VC: prema engl. vaginal candidiasis

WGA: prema engl. weeks of gestational age

Sadržaj

SAŽETAK

SUMMARY

Uvod	1
Osnovna obilježja	1
Epidemiologija	3
Detekcija	4
Patofiziološki mehanizam oštećenja uzrokovanih Ureaplasma spp.	6
Povezanost s neželjenim ishodima trudnoće	9
Probir	12
Terapija	16
Zaključak	19
Literatura	22

SAŽETAK

Liječenje *Ureaplasme urealyticum* u trudnoći

Jana Urbanc

Ureaplasma spp. je mikroorganizam koji se pronalazi kao normalna mikrobiota u cervikovaginalnim uzorcima čak 40-80% žena te kod većine žena ne predstavlja problem u trudnoći. Međutim, također je i najčešće izolirani mikroorganizam u intrauterinim infekcijama te se smatraju faktorom rizika za prijevremeni porod, prijevremeno pucanje plodovih ovoja, korioamnionitis, endometritis te BPD, IUGR, NEC, IVH, diseminiranu infekciju kod novorođenčeta. Točni uvjeti u kojima *Ureaplasma spp.* postaje opasna za ishod trudnoće nisu jasni. Predloženi su mehanizmi direktnog učinka, putem faktora virulencije (ureaza, IgA proteaza, fosfolipaza A i C), te mehanizmi posredovani imunološkim odgovorom majke i/ili fetusa. Potonji su vrlo varijabilni za što se primarno smatraju odgovornima varijacije u *mba* genu.

Metode probira nisu određene službenim smjernicama. Dosadašnja istraživanja stavljaju naglasak na molekularne metode (PCR) zbog veće osjetljivosti i specifičnosti. Preporuča se uzorak amnijske tekućine ukoliko je dostupan. Cervikovaginalnom brisu ne pridaje se jednako značenje te je, ukoliko se uzima, potrebna je kvantifikacija bakterija u uzorku. Također, sve više se stavlja naglasak na dodatne parametre kako bi se bolje definirao rizik koji pozitivan nalaz *Ureaplasma spp.* predstavlja te odredila potreba za liječenjem. Među predloženim dodatnim parametrima su BV, VC i neki upalni medijatori- IL-6 i MMP-8 koji se mogu određivati i u amnijskoj tekućini i u cervikalnoj sluzi.

Ureaplasma spp. ima opsežnu rezistenciju na antibiotike te znatan potencijal za razvoj daljnje rezistencije. Od antimikrobne terapije preporučaju se makrolidi. Unutar te skupine prednost se daje azitromicinu i klaritromicinu, te novijem solitromicinu. Put primjene terapije i doza, koji sa sigurnošću dovode do eradikacije, nisu još određeni. Također, istražuje se mogućnost korištenja lijekova s protuupalnim djelovanjem.

Ključne riječi: ureaplasma, intrauterina infekcija, neželjeni ishodi trudnoće, probir u trudnoći, liječenje infekcije ureaplazmom

SUMMARY

Treatment of *Ureaplasma urealyticum* in pregnancy

Jana Urbanc

Ureaplasma spp. is a microorganism found as normal microbiota in cervicovaginal samples of 40-80% of women and, for most of them, it does not represent a problem during pregnancy. However, it is also the most commonly isolated microorganism in intrauterine infections and is considered a risk factor for premature birth, premature membrane rupture, chorioamnionitis, endometritis, also BPD, IUGR, NEC, IVH and disseminated infection in newborns. The exact conditions in which *Ureaplasma spp.* becomes a risk for pregnancy outcome are unclear. Proposed mechanisms of action are direct, through virulence factors (urease, IgA protease, phospholipase A and C), and indirect, through immune response of mother and/or foetus. The latter shows a lot of variation, for which the mba gene is considered to be the primary reason.

There are no official guidelines for screening. The research emphasises the importance of using molecular methods (PCR) due to their higher sensitivity and specificity. The sample of amniotic fluid is recommended, if available. A cervicovaginal sample is not considered to be of equal significance. If it is done, the quantification of bacteria is necessary. Also, the research emphasises the need for additional parameters to better distinguish the risk of a positive finding of *Ureaplasma spp.* and to determine the need for treatment. BV, VC and inflammatory mediators such as IL-6 and MMP-8 are the most commonly suggested additional parameters which can be measured in amniotic fluid and in cervical fluid.

Ureaplasma spp. has both extensive resistance to antibiotics and significant potential to develop further resistance. Macrolides are a recommended antimicrobial therapy. Within that group the preferred option is azithromycin or clarithromycin, or a newer one, solithromycin. Route of administration and the dosage, which would lead to successful eradication, have not yet been determined. The new research is focusing on the usage of anti-inflammatory therapy.

Keywords: ureaplasma, intrauterine infection, adverse outcomes in pregnancy, screening in pregnancy, treatment of ureaplasma infection

Uvod

Infekcije u trudnoći vrlo su učestale, a njihove posljedice ogledaju se u zdravlju i majke i djeteta. *Ureaplasma spp.* jedni su od najčešćih mikroorganizama detektiranih u uzorcima amnijske tekućine, placente i cervikalne sluzi te se još od 1970.-ih dovode u vezu s neželjenim ishodom trudnoće. Međutim, točan odnos *Ureaplasma spp.* i neželjenih ishoda ostaje kontroverzno pitanje- radi li se o neovisnom ili ovisnom čimbeniku rizika ili možda o čimbeniku zabune.

Visoka prevalencija kolonizacije *Ureaplasma spp.* u općoj populaciji te u populaciji trudnica stvara potrebu za osmišljavanjem smjernica za probir. Također, nedovoljno razjašnjeni mehanizmi kojima dolazi do neželjenih ishoda trudnoće dovode u pitanje kako i kada bi se ova infekcija trebala liječiti. Uloga *Ureaplasma spp.* kao uzročnika prijevremenih poroda naglašava važnost daljnjih istraživanja na ovome području jer je prematuritet uzrok 75% perinatalnog mortaliteta i više od 50% morbiditeta kod novorođenčadi koja preživi prijevremeni porod (1). Nepostojanje smjernica predstavlja problem u kliničkoj praksi te potencijalno ugrožava značajan broj trudnoća i novorođenčadi.

Cilj ovog rada je napraviti pregled dosadašnjih istraživanja o utjecaju *Ureaplasma spp.* na trudnoću, razmotriti potrebu za probirom i liječenjem te načine na koje bi se oni proveli.

Potrebno je naglasiti kako nazivlje u literaturi nije prilagođeno zadnjoj taksonomskoj podjeli te otežava istraživanje na ovom području. Iz tog razloga je dio podataka iz literature prilagođen (na temelju podataka iz dotičnih radova o metodi detekcije, datumu objavljivanja, taksonomiji kako je objašnjena u tim radovima) na današnje nazivlje pa se odnosi na *Ureaplasma spp.* Pod time se misli na vrste roda *Ureaplasma* koje pronalazimo kod čovjeka, odnosno *Ureaplasma urealyticum* i *Ureaplasma parvum*.

Osnovna obilježja

Ureaplasma spp. svrstava se u porodicu *Mycoplasmataceae*, red *Mycoplasmatales*, razred *Mollicutes*. Prije 2002. godine smatralo se da je *Ureaplasma urealyticum* jedna vrsta s 14 serovara. Prema današnjoj taksonomiji radi o dvije vrste: *Ureaplasma urealyticum* (prijašnja *U.urealyticum* serovar 2, 4, 5, 7-13) te *Ureaplasma parvum* (prijašnja *U.urealyticum* serovar 1, 3, 6, 14)(2).

Ureaplasma spp. jedni su od najmanjih samostalnih, samostalno replicirajućih organizmima. To su bakterije kokobacilarnog oblika, veličine 0,2-0,3 μm (3), koje su se razvile iz Gram pozitivnih bakterija, no tijekom evolucije su izgubile staničnu stijenku (4). Ova karakteristika dovodi do toga da su *Ureaplasma spp.* pleomorfne, osjetljive na isušivanje, ne mogu se bojati po Gramu te su rezistentne na antimikrobnu terapiju koja djeluje na staničnu stijenku (npr. beta laktami) (3).

Genom *U. urealyticum* i *U. parvum* sadrži 0.84–0.95 Mbp odnosno 0.75–0.78 Mbp (5). Ovako malen genom rezultira ograničenom sintetskom sposobnošću što nadalje otežava kultivaciju u svrhu detekcije i testiranja osjetljivosti na antimikrobne lijekove.

Vrlo su čest komenzal na sluznici donjeg urogenitalnog sustava i kod muškaraca i kod žena. Do transmisije najčešće dolazi spolnim kontaktom, ali i vertikalnim prijenosom s majke na dijete (6) *in utero* ili tijekom poroda (7). Učestalost vertikalnog prijenosa značajno varira između studija, čak 18-88% (8).

Ureaplasma spp. uvriježeno se smatraju bakterijama niske virulencije, međutim novija istraživanja pokazuju da to nije u potpunosti točno. Predloženi faktori virulencije su: MBA, ureaza, IgA proteaza, fosfolipaza A i C.

MBA je lipoprotein koji se nalazi na površini stanične membrane *Ureaplasma spp.* N-terminalni dio je “sidro” u staničnoj membrani dok je varijabilni C-terminalni kraj izložen na površini stanice gdje ga prepoznaju TLR domaćina te ta interakcija pokreće imunološki odgovor. C-terminalni kraj nosi nekoliko ponavljajućih motiva, one su epitopi od kojih su neki specifični za serovar, a neki križno reaktivni (9). Pronađene su varijacije u broju MBA tj. varijacije u veličini *mba* gena koje koreliraju s intenzitetom upalnog odgovora odnosno mogu “sakriti” mikroorganizam od imunog odgovora domaćina (10,11).

Ureaza je enzim koji hidrolizira ureu na ugljikov dioksid i amonijak te kod *Ureaplasma spp.* služi za dobivanje ATP. Potencijalni štetni učinak proizlazi iz činjenice da stvaranje amonijaka dovodi do povećanja pH amnijske tekućine što facilitira ascendentnu infekciju (12) te također u kontaktu s fetalnim epitelom dovodi do oštećenja i bez upale (13). Osim toga, amonijak ima iritativni učinak na sluznice fetusa koje su tada potencijalno mjesto kolonizacije *Ureaplasma spp.* (14).

IgA proteazu proizvode i *U. parvum* i *U. urealyticum*, ona omogućava izbjegavanje humoralnog imuniteta domaćina, adherenciju na sluznice i njihovu kolonizaciju (15).

Fosfolipaze A i C su još jedan faktor virulencije opisan kod *Ureaplasma spp.* Dovode do destabilizacije staničnih membrana domaćina te se smatra da produkcijom arahidonske kiseline te prostaglandina dovode do prijevremenog poroda (5). Međutim, niti IgA proteaza (16) niti fosfolipaze (4) nisu nađene u više serovara te je njihova uloga kao faktora virulencije upitna.

Kod *Ureaplasma spp.* pronađeni su indikatori da dolazi do znatnog HGT (5,17). Ovaj proces mogao bi biti odgovoran za razlike u patogenosti i kliničkoj slici. Parlanov i sur. (5) predlažu da se zapravo radi o “quasispecies”, a ne o stabilnim serovarima, gdje patogenost mikroorganizma ovisi o individualnom genomu, a ne o pripadnosti određenom serovaru. Opsežan HGT također zabrinjava zbog mogućnosti širenja rezistencije na antimikrobnu terapiju.

Epidemiologija

Ureaplasma spp. je pronađena u čak 40-80% asimptomatskih, spolno aktivnih žena putem vaginalnih briseva (18). U istraživanju Leli i sur. (19) na uzorku od 2153 simptomatskih i asimptomatskih žena generativne dobi pronađena je prevalencija *U.parvum* 30,1 % kod simptomatskih i 32,4% kod asimptomatskih, a *U.urealyticum* 5,2% i 4,1%. Razlika u prevalenciji kolonizacije simptomatskih naspram asimptomatskih žena nije bila statistički značajna te postoji više studija koje su imale slične rezultate (20,21). Također, istraživanja redovito pokazuju kako je prevalencija *U.parvum* veća od *U.urealyticum*.

Podaci dostupni za Republiku Hrvatsku iz istraživanja Hunjak i sur. (20) pokazali su da je učestalost nalaza *Ureaplasma spp.* kod žena 16-64 godine 34,4%, od toga je 92,6% *U.pravum*, a *U.urealyticum* 7,4%.

Ovi podaci o visokoj prevalenciji i odsutnosti pratećih simptoma podupiru mišljenje da je *Ureaplasma spp.* dio fiziološke mikrobiote vaginalne sluznice.

Prisutne su regionalne razlike u udjelu koloniziranih, a važni čimbenici rizika za kolonizaciju s *Ureaplasma spp.* su: mlađa dob, rasa i etnička pripadnost (crna rasa i latinoamerikanci), niži socioekonomski status, seksualna aktivnost s većim brojem partnera, ne korištenje barijerne kontracepcije, nedavna uporaba antimikrobne terapije (zbog različitih indikacija) (6,21–23).

Prema nekim autorima prevalencija se ne mijenja ovisno o trudnoći, odnosno status kolonizacije pojedinca se ne mijenja tijekom trudnoće (24,25), ali postoje i konfliktni rezultati koji pokazuju porast prevalencije s trudnoćom (26).

Detekcija

Uzorci koji se najčešće koriste u istraživanju učinka *Ureaplasma spp.* na trudnoću su cervikalni/vaginalni brisevi, amnijska tekućina i placenta. Za uzimanje uzorka cerviksa/vagine preporuča se korištenje briseva od dakrona, kalcijevog alginata ili poliestera na plastičnim štapićima jer pamučni brisevi s drvenim štapićima inhibiraju rast mikroorganizama (3).

S obzirom na osjetljivost na isušivanje potrebno je transportirati u adekvatnom mediju (predloženi SP4, 2SP, Shepard's 10 B and PPLO). Ukoliko se uzorak ne analizira odmah potrebno ga je držati u hladnjaku.

Metode koje se koriste za detekciju *Ureaplasma spp.* su kultivacija, komercijalni testovi i molekularne metode koje uključuju različite tehnike PCR.

Za kultivaciju *Ureaplasma spp.* potreban je agar koji sadrži serum, faktore rasta i metabolički supstrat. Korišteni su SP4-, Shepard's 10 B- i PPLO- tekući i kruti mediji. Osim toga potreban je indikator promjene pH (fenol crvena) kako bi se prepoznalo da je došlo do rasta kolonija (3). Zbog zahtjevnosti po pitanju uvjeta rasta kod kultivacije *Ureaplasma spp.* postoji značajna opasnost kontaminacije i prerastanja neciljanih mikroorganizama, zato je potrebno u agar uključiti lijekove s antimikrobnim i antifungalnim djelovanjem- najčešće penicilin G i nistatin (13). Vrijeme potrebno za rast kolonija je 2 do 5 dana (27).

Na tržištu je mnogo komercijalnih testova za detekciju genitalnih mikoplazma (*Mycoplasma spp* i *Ureaplasma spp.*). Na primjer: MycoIST2 (bioMerieux, Francuska), Mycoview (Ivagen, Kina) i MycoDuo i SIR Antibiogram (Bio-Rad, Francuska), Mycofast Revolution (ELiTech Diagnostic, Francuska). Omogućuju identifikaciju *Ureaplasma spp.* (neki i *Mycoplasma spp.*), kvantifikaciju i testiranje antibiotske rezistencije (različito ovisno o konkretnom testu). Pozitivna strana je da daju rezultat brže nego kulture (za 24 do 48 sati), međutim osjetljivost i specifičnost im je manja nego PCR. Redelinghuyhs i sur. usporedili su Mycofast Revolution assay s PCR-om; osjetljivost se pokazala 77.3%, a specifičnost 80% one PCR-a (28).

U novije vrijeme sve češće se u mikrobiološkoj dijagnostici koriste molekularne metode.

PCR koristi 16S rRNA gen i 16S rRNA–23S rRNA intergenske spacer regije za detekciju, a gene za ureazu i MBA za determinaciju vrste (29–31). Posljednja dva mogu se koristiti u RT-PCR-u (engl. real-time PCR) za kvantifikaciju bakterija u uzorku što može biti korisno u određivanju težine kliničke slike i progresije infekcije (31).

Zlatni standard za detekciju *Ureaplasma spp.* dugo je bila kultivacija uzoraka. Međutim, ona ima ograničenu uporabu u kliničkom radu zbog cijene, potrebe za specifičnim medijima, tehničke zahtjevnosti postupka te relativno dugog perioda od uzorkovanja do rezultata. Prednosti PCR-a su: brži rezultati, veća osjetljivost i specifičnost te mogućnost razlikovanja vrsta *Ureaplasma spp.*

U istraživanju Yoon i sur. (32) osjetljivost PCR-a na uzorcima iz amnijske tekućine bila je 92%, za razliku od kultura 53%. U istom radu pokazalo se i kako su trudnice s pozitivnim nalazom PCR-a na *Ureaplasma spp.*, a negativnom kulturom imale povišen rizik za neželjene ishode trudnoće u usporedbi s onima koje su imale negativan i PCR i kulture što ukazuje da bi dijagnostika isključivo kulturom podcijenila broj trudnica s povišenim rizikom. DiGiulio i sur. (33) su usporedbom studija koje su koristile PCR i kulture za detekciju mikroorganizama u amnijskoj tekućini zaključili kako one koje koriste PCR pokazuju 30-50% veću prevalenciju MIAC od onih koje koriste samo kulture.

PCR tehnike za razliku od kultura ne zahtijevaju vijabilne mikroorganizme. S jedne strane to omogućuje detekciju i nakon početka antimikrobne terapije, a s druge, postavlja se pitanje relevantnosti pozitivnog rezultata.

Visoka specifičnost PCR-a ujedno je i potencijalni problem- opseg detektiranih vrsta uvjetovan je početnicama (engl. primers) koji se koriste te se sugerira korištenje PCR-a širokog spektra (engl. broad-range PCR) (34).

Razvojem PCR tehnika prepoznao se problem pri determinaciji specifičnih serovara. Jedan od ciljnih gena za ovaj postupak je *mba* gen, međutim, ovaj gen pokazuje varijaciju u veličini unutar serovara. Osim toga, čak i PCR tehnike koje su trebale “pokriti” sve serovare *Ureaplasma spp.* nisu postigle amplifikaciju kod svih izolata te se sekvencioniranjem genoma pokazalo da su PCR-om ciljani dijelovi genoma ili nedostajali ili bili značajno modificirani

(17). Ovakvi rezultati pripisuju se HGT unutar *Ureaplasma spp.*, a dovode u pitanje kliničku korist određivanja serovara (5,17) te pokazuju da je lažno negativan rezultat PCR-a moguć.

Zaključno, u istraživanju DiGiulio i sur. (2008) na uzorcima amnijske tekućine, grupa s pozitivnim i PCR-om i kulturom imala je značajno više upalne parametre od grupa sa samo jednim pozitivnim rezultatom što implicira da postoji korelacija pozitivnog nalaza kulture i težine kliničkog stanja (34). S obzirom na to možemo zaključiti da obje metode, i PCR i kultivacija, imaju svoje mjesto u dijagnostici.

Patofiziološki mehanizam oštećenja uzrokovanih *Ureaplasma spp.*

U ovom poglavlju bit će razjašnjeni pojmovi vezani uz infekciju tijekom trudnoće (korioamnionitis, IUI, MIAC) te mehanizmi kojima dolazi do njih i naposljetku mehanizam kojim *Ureaplasma spp.* dovodi do neželjenih ishoda trudnoće.

Ureaplasma spp. je mikroorganizam koji se najčešće izolira iz amnijske tekućine (6,34–36) i placenta (37,38) trudnica s intrauterinom infekcijom (IUI).

Do infekcije plodovih ovoja i ploda dolazi ascendentnim putem iz donjeg spolnog sustava ili, rjeđe, hematogenim putem, retrogradno iz peritonealne šupljine, ijatrogenim unosom (39). Uzročnici se razlikuju ovisno o putu infekcije. U prvom slučaju radi se primarno o: *Ureaplasma spp.*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Fusobacterium spp.*, *Candida spp.*, dok se hematogeno širenje povezuje s TORCH, *Listeria monocytogenes* infekcijama (40). Činjenica da su najčešće dokazani mikroorganizmi u infekciji amnijske šupljine oni koji se tipično nalaze u vagini pokazuje kako je upravo ascendentni put infekcije najčešći. Osim ovih puteva infekcije moguće da do infekcije dolazi već prilikom implantacije jer je *Ureaplasma spp.* nađena i u endometriju žena koje nisu trudne (6).

Prijevremeno pucanje plodovih ovoja predstavlja rizik za ascendentnu infekciju amnijske šupljine. Iako je ascendentna infekcija tada češća, ona se može dogoditi i uz intaktne ovoje (41,42). U istraživanju Yoon i sur. (32,42) infekciju je imalo 28% trudnica s prijevremenim pucanjem plodovih ovoja naspram 6% s intaktnima, a kod Romero i sur. bilo ih je 78% naspram 30% (41). Ovu tvrdnju podržava i rad Witt i sur. (37) koji nisu utvrdili statistički značajnu razliku mikrobiološkom analizom amnijskih tekućina i placenti nakon carskog reza kod trudnica s intaktnim membranama i onih s prijevremenim pucanjem

membrana. Sami trudovi povećavaju vjerojatnost MIAC neovisno o stanju plodovih ovoja te će produljeni porod rezultirati većim rizikom za MIAC (43).

Način na koji *Ureaplasma spp.* dovodi do neželjenih ishoda trudnoće nije u potpunosti jasan, međutim istraživanja ukazuju da se vjerojatno radi o kombinaciji izravnog štetnog učinka mikroorganizma te učinku imunološkog odgovora ploda, plodovih ovoja i majke (40).

Korioamnionitis je upalno stanje plodovih ovoja koje uzrokuje oko 40-70% slučajeva spontanih prijevremenih poroda (44). Razlikujemo korioamnionitis izazvan infektivnim uzročnicima i "sterilni" korioamnionitis čiji uzrok mogu biti štetni egzogeni čimbenici (duhanski dim, onečišćenje zraka itd.) (40) ili se radi o još neprepoznatim infektivnim uzročnicima (41). Prema načinu postavljanja dijagnoze govorimo o histološkom i kliničkom korioamnionitisu.

Histološki korioamnionitis može se zasigurno dijagnosticirati tek retrospektivno-mikrobiološkim i patohistološkim pregledom placente, stoga se u kliničkom radu koristi znakove i simptome majke i fetusa te se analizira amnijska tekućina. Time se zapravo ne dokazuje upala koriona i amniona pa panel stručnjaka iz NIH (engl. NIH expert panel) predlaže promjenu terminologije. Novi naziv intrauterina upala i/ili infekcija (engl. IUI, *intrauterine infection or inflammation or both, "triple I"*) odnosio bi se na kombinaciju stanja ploda, placente, plodovih ovoja, decidue i amnijske tekućine. Isti panel stručnjaka iznosi dijagnostičke kriterije za IUI: vrućica $\geq 39^{\circ}\text{C}$ (ili ponovljena $\geq 38^{\circ}\text{C}$ s razmakom 30 min) uz minimalno jedan od kliničkih znakova/simptoma: purulentni iscjedak iz cerviksa, fetalna tahikardija ($>160/\text{min}$ tijekom ≥ 10 min), maternalni leukociti $> 15 \times 10^9$, biokemijski ili mikrobiološki pokazatelj upale u amnijskoj tekućini (povišeni leukociti, snižena razina glukoze, pozitivan mikrobiološki nalaz) (45). Ovisno o nalazu govori se o: izoliranoj vrućici, suspektnom IUI (ukoliko nema potvrde mikroorganizma) i potvrđenom IUI. Potrebno je napomenuti da dijagnostički kriteriji u literaturi korištenoj u pisanju ovoga rada nisu bili usklađeni. Dodatni kriteriji koje koriste su: neugodan miris cervikalnog iscjetka, osjetljivost maternice na palpaciju, maternalna tahikardija. Prema Romero i sur. točnost postavljanja dijagnoze pomoću ovih kriterija (fetalna tahikardija, maternalna tahikardija, osjetljivost maternice na palpaciju, neugodan miris cervikalnog iscjetka, maternalna leukocitoza) je 46,7-57,8% (46).

Pojmovi IUI, korioamnionitis i intraamnijska infekcija u literaturi se često koriste kao sinonimi iako to nisu u potpunosti (40). Ascendentnom infekcijom dolazi do nastanka lokalne

upale i infekcije plodovih ovoja, prodora uzročnika u amnijsku šupljinu te onda do diseminacije i difuzne upale (47).

Bitno je naglasiti da nije svaka MIAC praćena upalom (41). Prema Cobo i sur. (48) sama MIAC ili sam histološki korioamnionitis ne povećavaju rizik prijevremenog pucanja plodovih ovoja, no nalaz oboje se povezuju sa znatnim porastom upalnih parametara u amnijskoj šupljini.

Problem IUI je njegova velika učestalost, ali i čest subklinički tijek (49). S obzirom na to da povećava rizik za prijevremeni porod te neonatalni mortalitet i morbiditet (8), prepoznavanje IUI je vrlo važno i moglo bi imati značajan utjecaj na zdravstvene ishode novorođenčadi.

Patofiziološki mehanizam prijevremenog poroda i/ili pucanja plodovih ovoja uslijed MIAC je slijedeći: bakterijski endotoksini i drugi faktori virulencije (u slučaju *Ureaplasma spp.* MBA) vežu se i aktiviraju TLR-1, -2, -6 (engl. Toll-like receptor) (50) koji se nalaze na korionu, amnionu, decidui, neutrofilima i makrofagima. Uslijed korioamnionitisa u plodovim ovojima dolazi do up-regulacije TLR te pojačavanja upalnog odgovora (51). Aktivacija TLR nadalje aktivira NF-kappaB put signalizacije i produkciju proupalnih citokina i kemokina koji dovode do stvaranja prostaglandina i matriks metaloproteaza te infiltracije tkiva neutrofilima. Upalno stanje može se detektirati po povišenim razinama različitih upalnih medijatora u placenti, amnijskoj tekućini i/ili fetalnoj krvi (34,48). U konačnici ovo stimulira kontrakcije miometrija, sazrijevanje cerviksa i oslabljuje plodove ovoje.

Varijabilnost u odgovoru imunološkog sustava na MIAC s *Ureaplasma spp.* i dalje predstavlja veliku nepoznanicu. Istraživanja na animalnim modelima uspjela su razjasniti nekoliko ključnih točaka.

Prvo, upalni odgovor na *Ureaplasma spp.* ovisi o tome koliko dugo traje infekcija. Robinson i sur. (52) na ovčjim modelima, kod kojih je u amnijsku šupljinu injicirana *U. parvum* serovar 3 pri različitim gestacijskim dobima, su pokazali kako je kod akutnih infekcija manja učestalost i manji intenzitet korioamnionitisa. Međutim, ni ovdje nije došlo do korioamnionitisa kod svih ovaca koje su kronično bile izložene, niti su sve akutno izložene izbjegle korioamnionitis.

Druga komponenta koja igra ulogu u upalnom odgovoru je varijacija u MBA. Kao što je prije objašnjeno, TLR prepoznaju ovaj površinski antigen te to pokreće imunološku reakciju.

Prepoznate su varijacije u *mba* genu koje imaju ulogu u izbjegavanju imunološkog odgovora domaćina. Veća varijabilnost unutar *mba* omogućuje “skrivanje” od imunološkog sustava te je izostanak varijacije povezan s razvojem korioamnionitisa (10). Varijacija *mba* određenog izolata nije konstantna već se mijenja s trajanjem infekcije (52).

Implikaciju da je domaćinova imunološka reakcija ta koja dovodi do neželjenih posljedica podupire i rad Dando i sur. (53) koji su na ovčjim modelima otkrili kako je do neželjenih ishoda trudnoće došlo kod ovaca koje su razvile humoralni imunološki odgovor na *Ureaplasma spp.* Razlike u imunološkom odgovoru i učestalosti neželjenih ishoda pronađene su i ovisno o različitim polimorfizmima za TNF α , IL-6 (54,55).

Ulogu igra i gestacijska dob, gdje se niža gestacijska dob povezuje se s intenzivnijim upalnim odgovorom (48,56,57) te je povezana s većom učestalošću intrauterinih infekcija i korioamnionitisa (49). Prema Rittenscober-Bohm i sur. (58) postoji statistički značajna povezanost vaginalne kolonizacije majke s *U.parvum* u ranoj trudnoći i prijevremenih poroda (u grupama <32, <30, <28 WGA), a pogotovo je često vaginalna kolonizacija prisutna kod ekstremno ranih poroda (70.6% kod 21–23 WGA, 62.5% kod 24–26 WGA). Kemp i sur. (59) su na animalnim modelima pokazali kako učestalost bakterijemije ovisi o gestacijskoj dobi-raniji prematurusi imali su češću bakterijemiju što se dovelo u vezu s nižom baktericidnom aktivnošću komplementa.

Povezanost s neželjenim ishodima trudnoće

Uloga *Ureaplasma spp.* u neželjenim ishodima trudnoće već dugo se istražuje i rezultati dosadašnjih istraživanja još uvijek nisu suglasni u odgovoru na pitanja: jesu li ove bakterije uzrok neželjenih ishoda trudnoće? Povećavaju li rizik tek u kombinaciji s drugim rizičnim faktorima?

Među stanjima koja se povezuju s *Ureaplasma spp.* navode se: spontani prijevremeni porod (definiran kao < 37 tjedana trudnoće), prijevremeni trudovi (kontrakcije dulje od 10 min uz promjene cerviksa i intaktne plodove ovoje), prijevremeno pucanje plodovih ovoja, niska porođajna težina, korioamnionitis, postpartalna vrućica, endometritis, neplodnost. Također je pronađena i povezanost s bolestima kod fetusa/novorodenčeta: IUGR, BPD, IVH, NEC, bakterijemija, sepsa, pneumonija, meningitis (8,60).

Rezultate istraživanja teško su usporedivi iz različitih razloga: 1) razlike u načinu detekcije (kultivacija, PCR, različiti protokoli PCR-a), 2) mjesto uzimanja uzorka za analizu (bris vagine, cerviksa, amnijska tekućina, placenta, krv iz pupkovine), 3) vrijeme uključivanja trudnica u istraživanje (po trimestru, bez ili nakon pojave simptoma), 4) istraživani ishod, 5) tumačenje rezultata ovisno o prisutnosti drugih mikroorganizama (BV, VC, infekcija/kolonizacija drugim genitalnim mikoplazmama itd.), 6) različita prevalencija kolonizacije u različitim populacijama. Ove razlike u istraživanjima vjerojatno su djelomično odgovorne za njihove nekonzistentne rezultate te će biti analizirane u daljnjim odlomcima.

U meta-analizi Capoccia i sur. (27) uspoređivanjem studija koje su istraživale odnos *Ureaplasma spp.* i neželjenih ishoda trudnoće pokazalo se da od uspoređivane 22 studije 15 pokazuje povezanost *Ureaplasma spp.* i neželjenih ishoda. Uz to, istraživanja bazirana isključivo na uzorcima amnijske tekućine su sva (osim jednog s malim brojem ispitanika) pokazala povezanost *Ureaplasma spp.* i neželjenih ishoda trudnoće dok rezultati onih na temelju cervikovaginalnih briseva variraju. Do sličnih zaključaka dolazi se i pregledom literature u svrhu pisanja ovog rada.

Rezultati istraživanja na temelju cervikovaginalnog brisa mogu se grupirati u tri skupine; one prema kojima kolonizacije s *Ureaplasma spp.* ne predstavlja povišen rizik (61), one koji je smatraju neovisnim čimbenikom rizika (62), te one koji smatraju da je rizik povećan samo uz neki dodatni faktor rizika npr. BV (63).

Mogući razlog ovakvih rezultata je nedostatak kvantifikacije opterećenja bakterijama (engl. bacterial load). Prema Faron i sur. (24) najviše trudnica ima pozitivan bris ako je uzet iz vagine, manje iz forniksa, a još manje iz cerviksa te je kolonizacija u višim dijelovima spolnog sustava povezana s većim opterećenjem bakterijama u vagini. Kliničke implikacije ovog nalaza su da trudnice s većom kolonizacijom imaju veći rizik za MIAC i neželjeni ishod. U svrhu stratifikacije rizika u istraživanju Abele-Horn i sur. (62) pozitivni nalazi kultura podijeljeni su na: nisku ($\leq 10^3$ cfu/ml), intermedijarnu (10^4 - 10^5 cfu/ml) i visoku ($>10^5$ cfu/ml) razinu kolonizacije. Rizik za korioamnionitis i, posljedično, prijevremeni porod povećan je već kod intermedijarne razine kolonizacije dok se kod niske razine ne razlikuje od negativnih kontrola. Prema Kwak i sur. (64) kod vaginalne kolonizacije $>10^4$ cfu/ml veća je učestalost histološkog korioamnionitisa i nižeg Apgara kod novorođenčadi. Količina bakterija u amnijskoj tekućini vjerojatno utječe na opseg oštećenja uslijed imunološkog odgovora i direktnog učinka

mikroorganizama. Pronađena je proporcionalnost u broju bakterija i koncentraciji upalnih parametara u amnijskoj tekućini: CRP (65), IL-6 (66).

U istraživanjima koja su koristila kontrole, s negativnim nalazom na *Ureaplasma spp.*, može se vidjeti da iako je pronađena statistički značajna povezanost vaginalne kolonizacije i neželjenih ishoda, visoki udio kontrola je također koloniziran, ali nije imao negativne posljedice (58,67). Isto se pokazalo i u istraživanju baziranom na uzorcima amnijske tekućine gdje su Gerber i sur. (68) ustanovili da je kod 24,1% trudnica s pozitivnom nalazom došlo do prijevremenog poroda, što je značajno više od 0,4% kod kontrola, međutim 75,9% *Ureaplasma spp.* pozitivnih trudnica je imalo terminski porod. Ovi rezultati sugeriraju da, iako *Ureaplasma spp.* predstavlja faktor rizika, infekcija ili kolonizacija nisu siguran prediktor neželjenog ishoda.

Problem u potvrđivanju neposrednog učinka *Ureaplasma spp.* su polimikrobne infekcije koje predstavljaju 24-67% svih IUI (33). Prema nekim autorima infekcije u ranijoj gestacijskoj dobi češće su polimikrobne nego one u kasnijoj (35). Kako bi se izbjeglo ovaj čimbenik zabune, iz istraživanja Abele-Horn i sur. (62) isključeni svi cervikovaginalni uzorci koji su pokazivali polimikrobnu infekciju te su analizirani samo oni pozitivni isključivo na *Ureaplasma spp.* U istraživanju Sweeney i sur. (35) korišteni su uzorci iz placenti kod trudnoća >32 WGA te je 93% infekcija bilo uzrokovano samo jednim uzročnikom. U oba rada pokazala se korelacija prisutnosti *Ureaplasma spp.* i korioamnionitisa (35,62) te prijevremenog pucanja membrana i poroda (62).

Postavlja se pitanje u kakvoj je vezi kolonizacija *Ureaplasma spp.* i ostala vaginalna mikrobiota. Među ne-trudnim ženama prepoznato je 5 profila vaginalne mikrobiote, čija je raspodjela povezana s rasom te postoje razlike u rizicima među tim profilima (69). Utvrđeno je da deficijencija laktobacila, pogotovo *L.crispatus*, u kombinaciji s profilom IV s povišenom razinom *Gardnerella vaginalis* ili *Ureaplasma spp.*, nosi rizik za prijevremeni porod (70,71). Prema Lee i sur. (63), među ženama s pozitivnim nalazom kolonizacije vagine s *Ureaplasma spp.* bio je veći udio onih s visokim Nugent score, međutim nalaz *Ureaplasma spp.* nosio je povećan rizik od prijevremenog poroda tek u kombinaciji s BV. S druge strane, Rittenschober Bohm i sur. (58) na uzorku od 3643 trudnica našli su da je rizik spontanog prijevremenog poroda: 5.6% u grupi koja nije imala ni *U.parvum*, ni BV, ni VC, 8.8% u grupi koja ima samo *U.parvum* kao čimbenik rizika, 13.3% u grupi s *U.pravum* i BV, te 18.2% u grupi s *U.parvum*,

BV, VC. Povećan rizik korioamnionitisa i prijevremenog poroda kod koinfekcije *Ureaplasma spp.* i *Candida spp.* opisuje se i u radu Matasariu i sur. (72).

Veća učestalost kolonizacije/infekcije s *Ureaplasma spp.* prisutna je kod crne rase i latinoamerikanaca, osoba nižeg socioekonomskog statusa i onih s nižim stupnjem zdravstvene zaštite (76). Kako su ove karakteristike već prepoznati faktori rizika za neželjene ishode trudnoće, pitanje je kako *Ureaplasma spp.* mijenja taj rizik. Istraživanja su pokazala kako postoje rasne razlike u vaginalnoj mikrobioti i s njom povezanim rizicima (69), razlike u imunološkom odgovoru na vaginalne bakterije ovisno o etničkoj i rasnoj pripadnosti (77) te ovisno o socioekonomskom statusu (22,78).

Ozbiljnost infekcije s *Ureaplasma spp.* u odnosu na druge uzročnike nije u potpunosti jasna. Prema nekim istraživanjima kod IUI izazvanih *Ureaplasma spp.* češće dolazi do histološkog korioamnionitisa nego kod drugih uzročnika (35,38) te je intrauterina upala težeg stupnja od one izazvane drugim uzročnicima (38,73). No u studijama koje su poučavale profil upalnih medijatora nije nađena statistički značajna razlika između infekcije *Ureaplasma spp.* i infekcija drugim mikroorganizmima (74,75). Različiti rezultati mogu se pripisati različitim populacijama na kojima su provedene, korištenju različitih metoda detekcije *Ureaplasma spp.* (PCR odnosno kultura), različitim gestacijskim dobima.

Prema nekim autorima, postoje razlike u riziku koji nosi infekcija s *U.parvum* naspram *U.urealyticum* (58,67) te razlike u patogenost pojedinih serovara (76). U istraživanju Rittenschober-Bohm i sur. (76) prikazana je korelacija vaginalne infekcije s *U.parvum* serovar 3 i spontanog prijevremenog poroda <32 WGA, dok takva korelacija nije pronađena za druge prisutne *U.parvum* serovare (1 i 6), niti za *U.urealyticum* (58). Međutim ove razlike nisu konzistentne- Sweeney i sur. (35) nisu pronašli razliku u povezanosti *U.parvum* i *U.urealyticum* s korioamnionitisom i prijevremenim porodom. Kako je već prije spomenuto, Parlamov i sur. (5) smatraju da diferencijacija po serovarima nije klinički bitna zbog znatnog HGT unutar vrsta *Ureaplasma spp.* što znači da rizik pri infekciji više ovisi o genomu individualnog izolata nego o serovaru.

Probir

Službene smjernice glede probira za infekciju s *Ureaplasma spp.* u trudnoći ne postoje koliko je poznato. Ovdje će biti sumirani zaključci na temelju pregledane literature.

1) cervikovaginalni bris

Probir putem cervikovaginalnog brisa jedini je neinvazivni način mikrobiološkog testiranja, međutim on ima svoja ograničenja. *Ureaplasma spp.* ima visoku prevalenciju i u općoj populaciji i među trudnicama. Kod većine ne dovodi do simptoma niti će imati učinka na ishod trudnoće (27). Pozitivan bris bio bi informativan ukoliko su poznate lokacije s kojih je uzet (24) te ukoliko je napravljena kvantifikacija. Granična razina za povećanje rizika neželjenih ishoda trudnoće je $>10^4$ cfu/ml (62,64) koja bi se mogla koristiti kao indikacija za daljnje testiranje.

Preporučena tehnika detekcije, ukoliko se analizira uzorak iz cervikovaginalnog brisa, trebala bi biti RT-PCR širokog spektra koji ima veću osjetljivost od kulture, a omogućuje kvantifikaciju (34,77).

Istraživanje Payne i sur. (78) predložilo je novi pristup u probiru trudnica za rizik prijevremenog poroda. Poznajući faktore rizika kao BV i infekcija *Ureaplasma spp.* te protektivne čimbenike kao što su određene vrste laktobacila (npr. *Lactobacillus crispatus*), autori su izradili algoritam nazvan GLU (Gardnerella, Lactobacillus, Ureaplasma) test koji može detektirati žene s rizikom prijevremenog poroda: osjetljivost 37,9%, specifičnost 82,9%, PPV 13,6%, NPV 95% za <37 tjedana gestacije odnosno osjetljivost 44,4%, specifičnost 82,2%, PPV 7,4 %, NPV 98% za ≤ 34 tjedna gestacije.

Više istraživanja (58,63) sugerira da je nužno tumačenje rezultata testiranja na *Ureaplasma spp.* u kontekstu stanja vaginalne mikrobiote.

2) Amnijska tekućina

Točnu informaciju o MIAC može se dobiti isključivo iz amnijske tekućine. Pošto je za to potrebna amniocenteza, rizici komplikacija ove dijagnostičke metode trebali bi se usporediti s rizikom komplikacija IUI. Također se postavlja pitanje bi li s povećanjem broja amniocenteza zapravo došlo do povećanog broja IUI jer postoji rizik ijetrogenog unosa mikroorganizama. U slučajevima kada je amniocenteza indicirana iz drugih razloga autori (11) sugeriraju mikrobiološke pretrage koje uključuju PCR na *Ureaplasma spp.*

Naglašava se da prilikom uzimanja uzorka amnijske tekućine potreban transabdominalni pristup zbog toga što transvaginalnim pristupom dolazi do kontaminacije (77).

3) Upalni parametri

Upalni parametri mogu se mjeriti u majčinoj krvi, fetalnoj krvi iz umbilikalnih žila, amnijske tekućine i cervikalne sluzi.

Većina istraživanja dolazi do zaključka kako upalni parametri iz majčine krvi nisu dovoljno osjetljiv test za otkrivanje IUI. Prema Romero i sur. (79) upalni citokini majke bili su povišeni kod kliničkog korioamnionitisa međutim ne razlikuju sterilni IUI, infektivni IUI i stanja koja se klinički prezentiraju kao korioamnionitis no bez IUI. Mjerenje maternalnog CRP-a (65,80,81), leukocita (41,80), tjelesne temperature (46,80) nije pokazalo prediktivnu vrijednost za subklinički IUI.

Uzorci fetalne krvi su tehnički zahtjevniji i najrizičniji od ponuđenih, stoga je upitno da će naći uporabu u kliničkoj praksi. Osim toga, Romero i sur. (77) su utvrdili da dolazi do placentarnog transfera majčinih upalnih citokina (IL-6, IL-8) koji pokazuju majčin imunološki odgovor a ne fetalni.

Pokazatelji koji bi mogli olakšati probir za IUI su medijatori upale mjereni u cervikalnoj sluzi ili iz amnijske tekućine. Različiti autori mjerili su širok spektar upalnih medijatora, među njima su često proučavani IL-6 (interleukin 6) i MMP-8 (engl. matrix metalloproteinase-8).

Predloženo je korištenje IL-6 u cervikalnoj sluzi (82,83) kao prediktor subkliničkog IUI i prijevremenog poroda. Prema Holst i sur. (83) cervikalni IL-6 $\geq 1,7$ ng/ml pokazao je osjetljivost od 58%, specifičnost 83%, PPV 75%, NPV 69% za intrauterinu upalu. Slične karakteristike imao je i cervikalni IL-8 $\geq 6,7$ ng/ml.

IL-6 mjereno u amnijskoj tekućini je bio povišen u slučaju IUI (32,66,75,84,85). Romero i sur. (41) u svojem su istraživanju koristili ELISA tehniku i graničnu vrijednost od 2,6 ng/ml IL-6 čime su točno razlikovali trudnice s i bez IUI. Medijan koncentracije IL-6 kod onih bez upale bio je 0.4 ng/mL (0.2–1.0), a kod onih s upalom s ili bez infekcije: 15.7 ng/mL (5.3–37.1). Značajna razlika nađena je i između onih s IUI te onih s MIAC bez upale (njihov medijan koncentracije IL-6: 1.3 ng/mL (0.9–1.3)).

Kako rezultati ELISA testiranja zahtijevaju relativno dugo čekanje (dani) te stoga nisu uvijek primjenjivi u kliničkoj praksi (86), mnogi autori su istraživali vrijednost pretraga uz bolesnika (POCT) s imunotestom s lateralnim protokom (engl. lateral flow-based immunoassay). Prema Kacerovsky i sur. (66) granična vrijednost (engl. cut-off value) POCT IL-6 >1000 pg/ml daje 50% osjetljivost, 95% specifičnost, PPV 82%, NPV 81% za razlikovanje žena s MIAC

naspram onih bez. Chaemsaitong i sur. (86) za graničnu vrijednost POCT IL-6 uzeli su 745 pg/ml te dobili osjetljivost 93%, specifičnost 91%, PPV 89%, NPV 95%.

MMP-8 još jedan je upalni parametar iz amnijske tekućine koji bi se mogao koristiti za otkrivanje intraamnijskih upala odnosno infekcija. Prema Chaiyasit i sur. (87) ima osjetljivost 82,4%, specifičnost 90%, PPV 96.6%, NPV 60% za intraamnijsku upalu. Za intraamnijsku infekciju je osjetljivost 91,7%, specifičnost 65%, PPV 75,9%, NPV 86,7%. U tom istraživanju, u usporedbi s IL-6, MMP-8 pokazao je veću specifičnosti i PPV za intraamnijsku upalu. Kim i sur. (88) pronašli su da pozitivan nalaz MMP-8 znači povećan rizik prijevremenog poroda unutar 2 (40.7% kod pozitivnih naspram 5.4% kod negativnih na MMP-8) odnosno 4 tjedna (63.0% kod pozitivnih naspram 24.3% kod negativnih na MMP-8) od testiranja (amniocenteze). Pozitivan MMP-8 nalaz također nosi rizik prijevremenog poroda, histološkog korioamnionitisa i neonatalnog morbiditeta (89).

Drugi parametri koji su predloženi kao mogući prediktori MIAC i/ili IUI i/ili prijevremenog poroda su:

- 1) u cervikalnoj sluzi: IL-8 (83), C3a, C5a i IGFBP-1 (90), acetat (91),
- 2) u amnijskoj tekućini: leukociti (32), IL-4 (33), niska razina glukoze (75), HNP-1 i HNP-2 i kalgranulini A i C (92), G-CSF (35).

Neki autori pronašli su statistički značajno povišene upalne parametre kod infekcije *Ureaplasma spp.* naspram drugih mikroorganizama (73). Međutim, ovi rezultati nisu dosljedni u svim istraživanjima te se čini da se infekcija s *Ureaplasma spp.* ne može raspoznati na temelju profila upalnih parametara (74,75). Prema nekim istraživanjima postoji korelacija porasta upalnih parametara i broja bakterija (41,65,66).

Na ovom području potrebno je još mnogo istraživanja, međutim u budućnosti bi se na mjerenjem upalnih parametara možda moglo otkriti subkliničke oblike IUI koji predstavljaju veliki izazov u dijagnostici.

3) Kada napraviti probir?

Postavlja se i pitanje kada bi se probir za *Ureaplasma spp.* trebao napraviti. Prema Faron i sur. (24) status kolonizacije vagine se ne mijenja tijekom trudnoće (trudnice s negativnim brisom ostale su negativne i suprotno, te nije bilo razlike u opterećenju bakterijama) što bi značilo da je jedno testiranje dovoljno.

Istraživanja su pokazala da je učestalost pozitivnog nalaza PCR (34) i kultura (93) veća u nižoj gestacijskoj dobi te se ranije infekcije povezuju s jačim upalnim odgovorom (48,56,57).

Prema Rittenschober-Bohm i sur. (58) niža gestacijska dob pri porodu bila je češće povezana s vaginalnom kolonizacijom što sugerira da je niža gestacijska dob osjetljivija na ove uzročnike. Međutim povećan rizik je pronađen i kod WGA>32 (35) što znači da bi i tada imalo smisla napraviti test.

Terapija

Antimikrobna terapija infekcije *Ureaplasma spp.* u trudnoći vrlo je kompleksan problem. Ovaj mikroorganizam ima opsežnu intrinzičnu i stečenu antimikrobnu rezistenciju, a uz to je trudnoća ograničavajući faktor pri izboru lijekova.

Preporučena terapija kod suspektnog ili potvrđenog IUI prema ACOG (Committee Opinion No. 712: Intrapartum Management of Intraamniotic Infection. Obstet Gynecol. 2017) je ampicilin i gentamicin. Problem je u tome to ovi lijekovi nisu učinkoviti protiv *Ureaplasma spp.* koja je najčešće izolirani mikroorganizam u IUI.

Ureaplasma spp. ima intrinzičnu rezistenciju na β -laktame i glikopeptide (npr. vankomicin) zbog nedostatka stanične stijenke te na linkozamide (npr. klindamicin). Također, nije osjetljiva na trimetoprim i sulfonamide zbog toga što ne sintetizira folnu kiselinu (27). Konzistentno pokazuje visoki MIC pri testiranju osjetljivosti na gentamicin (71,94).

Antimikrobna terapija za *Ureaplasma spp.* koja se preporučuje u preglednim radovima uključuje: makrolide, tetracikline i fluorokinolone (13,27). Tetraciklini i fluorokinoloni svrstavaju se u kategorije D, odnosno C te se ne preporučuje primjena u trudnoći.

Otpornost na tetracikline je posredovana mobilnim *tetM* genom (60). Prema meta-analizi Ahmadi (95) *Ureaplasma urealyticum* i *parvum* pokazuju *midrange* rezistenciju na tetraciklin, doksiciklin i minociklin 43.3%, 28.6% i 9.0%. Kod fluorokinolona rezistencija je posredovana mutacijom u genima DNA giraze (GyrA i GyrB gen) i DNA topoizomeraze IV kompleksa (ParC i ParE) (96). Rezistencija na neke od ovih antibiotika je zabrinjavajuća-levofloksacin 84.69%, moksifloksacin 51.44% (97).

Makrolidi su preferirani izbor u terapiji te zabrinjava činjenica da i na njih postoji rezistencija povezana s mutacijom 23S rRNA gena ili supstituciju aminokiselina na

ribosomalnim proteinima L4 i L22 (17). Prema dvadesetogodišnjem istraživanju u Njemačkoj rezistencija na makrolide iznosi: za eritromicin 20,7%, azitromicin 7,3%, klaritromicin 4,5% (98).

Ureaplasma spp. nije uključena u Izvještaj o osjetljivosti i rezistenciji bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj. Podaci dostupni iz istraživanja Petković i sur. (99), iz Infektološkog odjela bolnice u Požegi, pokazuju da je osjetljivost *Ureaplasma spp.* izolata 2005./2006. bila: 100% na doksiciklin i tetraciklin, 98,7% na josamicin i pristinamicin, 93,7% na klaritromicin, 90,3% eritromicin, 87% azitromicin, 62% na ofloksacin i 40,3% na ciprofloksacin. Dok je 2015. osjetljivost bila: 97,8% na doksiciklin i tetraciklin, 89,5% na klaritromicin, 85,6% na eritromicin, 81,2% na azitromicin, 59,7% na ofloksacin i 28,9% na ciprofloksacin. Vidljivo je da je rezistencija u porastu, međutim razlika 2005/2006. i 2015. nije bila statistički značajna. Istraživanje Hunjak i sur. (20) na temelju izolata prikupljenih tijekom 2010. u Zagrebu pokazalo je visoku senzitivnost *Ureaplasma spp.* (100% za sve osim azitromicin 99,7%) na eritromicin, azitromicin, klaritromicin, josamicin, pristinamicin, tetraciklin i doksiciklin uz nisku osjetljivost na ofloksacin 42,9%, i ciprofloksacin 24,5%. Oba istraživanja koristila su isti komercijalni test Myco-plasma IST 2 (BioMerieux, Francuska).

Prema nekim autorima unutar skupine makrolida prisutne su razlike u učinkovitosti. Jedna od bitnih farmakokinetičkih karakteristika je prolazak antibiotika kroz placentu. Na ex vivo modelu se pokazalo kako je transfer eritromicina kroz placentu 3%, azitromicina 2%, a klaritromicina 6%. Noviji antibiotik, solitromicin, još se istražuje, međutim ima bolji transfer kroz placentu od do sada dostupnih (100).

Primjena eritromicina na animalnim modelima ni intramuskularno niti intramnijski nisu rezultirale eradikacijom bakterije (101,102). S druge strane, istraživanja na animalnim modelima koja su koristila azitromicin ili solitromicin pokazala su dobre rezultate (103,104). Prema Miura i sur. (104) nije bilo razlike u rezultatima između grupe koja je dobivala azitromicin i grupe sa solitromicinom.

Uspješnost različitih antibiotika u eradikaciji *Ureaplasma spp.* kod ljudi pokazuje nešto drugačije rezultate. Terapija eritromicinom u 2. trimestru, kod trudnica s amnijskom tekućinom pozitivnom na *Ureaplasma spp.*, dovela je do smanjenja broja spontanih pobačaja (105) te produljenja perioda latencije kod trudnica s prijevremenim trudovima (106). Uz terapiju azitromicinom također je (105) došlo do produljenja latencije- vremena od puknuća plodovih

ovoja ili trudova do poroda. Ovi rezultati sugeriraju da su makrolidi uspješni u eradikaciji *Ureaplasma spp.* kod ljudi.

Neki autori su ustanovili da su kod prijevremenog pucanja plodovih ovoja vrijeme latencije, prevalencija korioamnionitisa i neonatalni ishodi bili isti neovisno o tome je li korišten eritromicin ili azitromicin (107,108). Međutim, prema profilu nuspojava, cijeni i doziranju azitromicin se smatra boljim izborom. Uz to, azitromicin se zadržava u miometriju i placenti u visokoj koncentraciji čak 72 sata nakon primjene jednokratne doze iako koncentracija u majčinoj i fetalnoj krvi te amnijskoj tekućini brže pada (109). Zbog boljeg transfera kroz posteljicu i manje rezistencije nego na azitromicin, neki autori daju prednost klaritromicinu (110,111) za koji se pokazalo da je učinkovit u smanjivanju opterećenja bakterijama i upale u amnijskoj tekućini (smanjenje IL-6).

Postavlja se i pitanje načina davanja antibiotika, doze i trajanja terapije.

Davanje jednokratne terapije 1g azitromicina nije se pokazalo dostatnim za smanjenje incidencije kolonizacije vagine i korioamnionitisa (112). Na animalnim modelima intravenska terapija azitromicinom dovela je do eradikacije *Ureaplasma spp.* u amnijskoj tekućini unutar 4 dana (103,104). Tanaka i sur. (113) imali su pozitivne ishode kod prijevremenog pucanja plodovih ovoja korištenjem kombinacije ampicilin/sulbaktam i azitromicin intravenski, u dozama 1,5 g svakih 6 sati za ampicilin/sulbaktam i 500 mg svakih 24 sata za azitromicin tijekom 3 dana, odnosno duže ukoliko indicirano po nalazima amnijske tekućine. Pitanje je bi li se takav učinak, u tom periodu, mogao postići i peroralnom terapijom.

Korist od antimikrobnog liječenja majke prepoznaje se i u ishodima novorođenčadi. Primjena antibiotika koji pokrivaju *Ureaplasma spp.* smanjila je učestalost BPD, učestalost umjereno teških i teških oblika BPD te je kraće vrijeme bila potrebna mehanička ventilacija (113).

Prisutnost *Ureaplasma spp.* u plodovim ovojem također se pokazala kao rizični faktor za razvoj endometritisa nakon carskog reza (114) te se uvođenjem profilakse azitromicinom smanjila incidencija endometritisa, infekcija rane nakon carskog reza (115,116).

Međutim prema nekim istraživanjima antimikrobna terapija nije potpuno uspješna u sprječavanju posljedica upale (117,118) te se sugerira terapija s protuupalnim učinkom. Neki od predloženih su: nespecifični NFkappaB inhibitori, TLR4 antagonisti, TNF α inhibitori, CSAID (119). Grigsby i sur. (103) su u ove svrhe na modelu primata isprobali deksametazon

uz azitromicin, ali nije se pokazao bolji učinak od primjene samog azitromicina. Makrolidima se pripisuje određeni protuupalni učinak koji vjerojatno pridonosi njihovoj efikasnosti u liječenju intrauterinih infekcija. Azitromicin i klaritromicin suprimiraju aktivnost NFkappaB i sintezu proupalnih citokina(120,121). Na ovom području svakako su potrebna daljnja istraživanja.

Zaključak

Ureaplasma spp. je dio vaginalne mikrobiote te ima vrlo veliku prevalenciju u općoj populaciji. Njezin najznačajniji faktor virulencije, MBA, još se istražuje, ali dosadašnji rezultati upućuju na to da je imunološka reakcija domaćina na MBA glavni mehanizam kojim dolazi do oštećenja. Drugo svojstvo koje čini *Ureaplasma spp.* potencijalno opasnom je opsežan HGT koji otežava osmišljavanje metode detekcije, ali bi mogao dovesti i do brzog razvoja rezistencije na antibiotike.

Istraživanja ukazuju na to da je *Ureaplasma spp.* najčešće izolirana bakterija u IUI te je ili uzročnik ili predstavlja rizik za neželjene ishode trudnoće. Najčešće istraživani neželjeni ishodi su prijevremeni porod, prijevremeno pucanje plodovih ovoja koji dovode do perinatalnog morbiditeta i mortaliteta.

S obzirom na učestalost kolonizacije potreban je dobar algoritam i alat za probir. Cervikovaginalni brisovi i klinički pregled sami za sebe imaju nisku osjetljivost i specifičnost, ali ako su stavljeni u kontekst drugih rizičnih faktora ($>10^4$ cfu/ml kolonizacija *Ureaplasma spp.*, BV, VC, niži socioekonomski status, rasa i dr.) mogli bi služiti kao indikacija za daljnje, invazivnije, postupke. Ukoliko se invazivna dijagnostika radi iz drugih razloga, uputno je napraviti i pretrage za *Ureaplasma spp.* Pri neinvazivnim i invazivnim pretragama pomoć u dijagnostici predstavljaju upalni parametri koji su pokazali dobru osjetljivost i specifičnost za prepoznavanje MIAC i IUI.

Bitno je naglasiti da je PCR novi zlatni standard, s obzirom na značajno veću osjetljivost od kulture, te je preporuka koristiti širok spektar početnica.

Pri liječenju suspektih infekcija s *Ureaplasma spp.* potrebno je racionalizirati primjenu lijekova. Većina trudnica s cervikovaginalnim brisom pozitivnim na *Ureaplasma spp.* neće imati posljedice. Empirijsko liječenje žena s isključivo kliničkim znakovima IUI (bez potvrde iz amnijske tekućine) također će dovesti do pretjerane upotrebe antimikrobne terapije.

S druge strane, rani početak terapije čini se ključnim jer je oštećenje i veće i teže izlječivo antibioticima što dulje traje upala.

U terapiji se preporuča azitromicin. Istraživanja su pokazala pozitivne učinke intravenske primjene, manje je podataka o uspješnoj peroralnoj terapiji stoga bi se intravenskoj primjeni možda trebalo dati prednost u težim slučajevima. Trajanje intravenske terapije azitromicinom koje je dovelo do eradikacije u animalnim modelima je 4 dana. Potencijalna zamjena za azitromicin je klaritromicin.

Što se tiče antibiotske rezistencije u Republici Hrvatskoj, iz dostupnih podataka vidi se kako je ona mnogo niža nego u većini drugih zemalja. Kako su makrolidi trenutno jedina skupina antibiotika koji pokrivaju *Ureaplasma spp.* te su odobreni u trudnoći, ne smije se zanemariti potencijalnu opasnost koju porast rezistencije predstavlja.

Osim antimikrobne terapije, u liječenju stanja izazvanih *Ureaplasma spp.* u budućnosti će se možda koristiti lijekovi s protuupalnim učinkom s obzirom na to da je sama upala odgovorna za najveći dio oštećenja.

Naposljetku, na području intrauterinih infekcija s *Ureaplasma spp.* potrebno je još mnogo istraživanja kako bi se optimizirao i probir i terapija.

Zahvale

Zahvaljujem se mentoru na izboru zanimljive teme za diplomski rad koja me zaista zainteresirala za ovo područje. Također hvala na brznoj i efikasnoj komunikaciji.

Zahvaljujem se i svojim kolegama i prijateljima na pomoći s tehničkim problemima, savjetima tijekom izrade rada te strpljenju za brojne razgovore o ovoj temi.

Literatura

1. Goldenberg RL, Andrews WW, Goepfert AR, Faye-Petersen O, Cliver SP, Carlo WA, et al. The Alabama Preterm Birth Study: umbilical cord blood *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* cultures in very preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jan;198(1):43.e1-5.
2. Robertson JA, Stemke GW, Davis JW, Harasawa R, Thirkell D, Kong F, et al. Proposal of *Ureaplasma parvum* sp. nov. and emended description of *Ureaplasma urealyticum* (Shepard et al. 1974) Robertson et al. 2001. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002 Mar;52(Pt 2):587-597.
3. Kokkayil P, Dhawan B. *Ureaplasma*: current perspectives. *Indian J Med Microbiol.* 2015 Apr-Jun;33(2):205-14.
4. Glass JI, Lefkowitz EJ, Glass JS, Heiner CR, Chen EY, Cassell GH. The complete sequence of the mucosal pathogen *Ureaplasma urealyticum*. *Nature.* 2000 Oct 12;407(6805):757-62.
5. Paralanov V, Lu J, Duffy LB, Crabb DM, Shrivastava S, Methé BA, et al. Comparative genome analysis of 19 *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* strains. *BMC Microbiology.* 2012 Dec 30;12(1):88
6. Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin Microbiol Rev.* 1993 Jan;6(1):69-87.
7. Schelonka RL, Waites KB. *Ureaplasma* Infection and Neonatal Lung Disease. *Semin Perinatol.* 2007 Feb;31(1):2–9.
8. Venturelli N, Zeis A, De Beritto T, Hageman JR. *Ureaplasma* and Its Role in Adverse Perinatal Outcomes: A Review. *Neoreviews.* 2021 Sep;22(9):e574-e584.
9. Zheng X, Teng LJ, Watson HL, Glass JI, Blanchard A, Cassell GH. Small repeating units within the *Ureaplasma urealyticum* MB antigen gene encode serovar specificity and are associated with antigen size variation. *Infect Immun.* 1995 Mar;63(3):891-8.
10. Knox CL, Dando SJ, Nitsos I, Kallapur SG, Jobe AH, Payton D, et al. The severity of chorioamnionitis in pregnant sheep is associated with in vivo variation of the surface-

- exposed multiple-banded antigen/gene of *Ureaplasma parvum*. *Biol Reprod*. 2010 Sep;83(3):415-26.
11. Sweeney EL, Dando SJ, Kallapur SG, Knox CL. The Human *Ureaplasma* Species as Causative Agents of Chorioamnionitis. *Clin Microbiol Rev*. 2016 Dec 14;30(1):349-379.
 12. Harada K, Tanaka H, Komori S, Tsuji Y, Nagata K, Tsutsui H, et al. Vaginal infection with *Ureaplasma urealyticum* accounts for preterm delivery via induction of inflammatory responses. *Microbiol Immunol*. 2008 Jun;52(6):297-304.
 13. Sprong KE, Mabenge M, Wright CA, Govender S. *Ureaplasma* species and preterm birth: current perspectives. *Crit Rev Microbiol*. 2020 Mar;46(2):169-181.
 14. Biernat-Sudolska M, Bilska-Wilkosz A, Rojek-Zakrzewska D, Zawilińska B, Kosz-Vnenchak M. Evaluation of Urease Activity by the Human *Ureaplasma* Species. *Folia Biol*. 2017 Dec 21;65(3):142-7.
 15. Spooner RK, Russell WC, Thirkell D. Characterization of the immunoglobulin A protease of *Ureaplasma urealyticum*. *Infect Immun*. 1992 Jun;60(6):2544-6.
 16. Waites KB, Schelonka RL, Xiao L, Grigsby PL, Novy MJ. Congenital and opportunistic infections: *Ureaplasma* species and *Mycoplasma hominis*. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009 Aug;14(4):190-9.
 17. Xiao L, Paralanov V, Glass JI, Duffy LB, Robertson JA, Cassell GH, et al. Extensive horizontal gene transfer in ureaplasmas from humans questions the utility of serotyping for diagnostic purposes. *J Clin Microbiol*. 2011 Aug;49(8):2818-26.
 18. Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. *Ureaplasma urealyticum* intrauterine infection: role in prematurity and disease in newborns. *Clin Microbiol Rev*. 1993 Jan;6(1):69-87.
 19. Leli C, Mencacci A, Latino MA, Clerici P, Rassa M, Perito S, et al. Prevalence of cervical colonization by *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* in childbearing age women by a commercially available multiplex real-time PCR: An Italian observational multicentre study. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018 Apr;51(2):220-225.

20. Hunjak B, Sabol I, Vojnović G, Fistončić I, Erceg AB, Peršić Z, et al. *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in women of reproductive age. *Arch Gynecol Obstet*. 2014 Feb;289(2):407-12.
21. Lobão TN, Campos GB, Selis NN, Amorim AT, Souza SG, Mafra SS, et al. *Ureaplasma urealyticum* and *U. parvum* in sexually active women attending public health clinics in Brazil. *Epidemiol Infect*. 2017 Aug;145(11):2341-2351.
22. Agger WA, Siddiqui D, Lovrich SD, Callister SM, Borgert AJ, Merkitich KW, et al. Epidemiologic factors and urogenital infections associated with preterm birth in a midwestern U.S. population. *Obstet Gynecol*. 2014 Nov;124(5):969-977.
23. McCormack WM, Rosner B, Alpert S, Evrard JR, Crockett VA, Zinner SH. Vaginal colonization with *Mycoplasma hominis* and *ureaplasma urealyticum*. *Sex Transm Dis*. 1986 Apr-Jun;13(2):67-70.
24. Faron G, Vancutsem E, Naessens A, Buyl R, Gucciardo L, Foulon W. Effect of Genital Sampling Site on the Detection and Quantification of *Ureaplasma* Species with Quantitative Polymerase Chain Reaction during Pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2017;2017:6725168.
25. Donders GGG, Ruban K, Bellen G, Petricevic L. *Mycoplasma/Ureaplasma* infection in pregnancy: to screen or not to screen. *J Perinat Med*. 2017 Jul 26;45(5):505-515.
26. Luton D, Ville Y, Luton-Sigy A, Cousin C, Narraido B, Fassasi-Jarretou A, et al. Prevalence and influence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in 218 African pregnant women and their infants. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1994 Aug;56(2):95-101.
27. Capoccia R, Greub G, Baud D. *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis*. 2013 Jun;26(3):231-40.
28. Redelinghuys MJ, Ehlers MM, Dreyer AW, Lombaard HA, Kock MM. Comparison of the new Mycofast Revolution assay with a molecular assay for the detection of genital mycoplasmas from clinical specimens. *BMC Infect Dis*. 2013 Sep 30;13:453.
29. Harasawa R, Kanamoto Y. Differentiation of two biovars of *Ureaplasma urealyticum* based on the 16S-23S rRNA intergenic spacer region. *J Clin Microbiol*. 1999 Dec;37(12):4135-8.

30. Xiao L, Glass JI, Paralanov V, Yooseph S, Cassell GH, Duffy LB, et al. Detection and characterization of human *Ureaplasma* species and serovars by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2010 Aug;48(8):2715-23.
31. Waites KB, Xiao L, Paralanov V, Viscardi RM, Glass JI. Molecular methods for the detection of *Mycoplasma* and *ureaplasma* infections in humans: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. *J Mol Diagn*. 2012 Sep;14(5):437-50.
32. Yoon BH, Romero R, Kim M, Kim EC, Kim T, Park JS, et al. Clinical implications of detection of *Ureaplasma urealyticum* in the amniotic cavity with the polymerase chain reaction. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Nov;183(5):1130-7.
33. DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012 Feb;17(1):2-11.
34. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PLoS One*. 2008 Aug 26;3(8):e3056.
35. Sweeney EL, Kallapur SG, Gisslen T, Lambers DS, Chougnet CA, Stephenson SA, et al. Placental Infection With *Ureaplasma* species Is Associated With Histologic Chorioamnionitis and Adverse Outcomes in Moderately Preterm and Late-Preterm Infants. *J Infect Dis*. 2016 Apr 15;213(8):1340-7.
36. Kirchner L, Helmer H, Heinze G, Wald M, Brunbauer M, Weninger M, et al. Amnionitis with *Ureaplasma urealyticum* or other microbes leads to increased morbidity and prolonged hospitalization in very low birth weight infants. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007 Sep;134(1):44-50.
37. Witt A, Berger A, Gruber CJ, Petricevic L, Apfalter P, Worda C, et al. Increased intrauterine frequency of *Ureaplasma urealyticum* in women with preterm labor and preterm premature rupture of the membranes and subsequent cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2005 Nov;193(5):1663-9.
38. Namba F, Hasegawa T, Nakayama M, Hamanaka T, Yamashita T, Nakahira K, et al. Placental features of chorioamnionitis colonized with *Ureaplasma* species in preterm delivery. *Pediatr Res*. 2010 Feb;67(2):166-72.

39. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000 May 18;342(20):1500-7.
40. Cappelletti M, Presicce P, Kallapur SG. Immunobiology of Acute Chorioamnionitis. *Front Immunol*. 2020 Apr 16;11:649.
41. Romero R, Pacora P, Kusanovic JP, Jung E, Panaitescu B, Maymon E, et al. Clinical chorioamnionitis at term X: microbiology, clinical signs, placental pathology, and neonatal bacteremia - implications for clinical care. *J Perinat Med*. 2021 Jan 26;49(3):275-298.
42. Yoon BH, Romero R, Lim JH, Shim SS, Hong JS, Shim JY, et al. The clinical significance of detecting *Ureaplasma urealyticum* by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Oct;189(4):919-24.
43. Seong HS, Lee SE, Kang JH, Romero R, Yoon BH. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Oct;199(4):375.e1-5.
44. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Nov;185(5):1130-6.
45. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, et al. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol*. 2016 Mar;127(3):426-436.
46. Romero R, Chaemsaihong P, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Docheva N, Martinez-Varea A, et al. Clinical chorioamnionitis at term III: how well do clinical criteria perform in the identification of proven intra-amniotic infection? *J Perinat Med*. 2016 Jan;44(1):23-32.
47. Kim MJ, Romero R, Gervasi MT, Kim JS, Yoo W, Lee DC, et al. Widespread microbial invasion of the chorioamniotic membranes is a consequence and not a cause of intra-amniotic infection. *Lab Invest*. 2009 Aug;89(8):924-36.

48. Cobo T, Kacerovsky M, Palacio M, Hornychova H, Hougaard DM, Skogstrand K, et al. Intra-Amniotic Inflammatory Response in Subgroups of Women with Preterm Prelabor Rupture of the Membranes. *PLoS One*. 2012;7(8):e43677.
49. Horvath B, Lakatos F, Tóth C, Bödecs T, Bódis J. Silent chorioamnionitis and associated pregnancy outcomes: a review of clinical data gathered over a 16-year period. *J Perinat Med*. 2014 Jul;42(4):441-7.
50. Shimizu T, Kida Y, Kuwano K. *Ureaplasma parvum* lipoproteins, including MB antigen, activate NF- κ B through TLR1, TLR2 and TLR6. *Microbiology (Reading)*. 2008 May;154(Pt 5):1318-1325.
51. Waring GJ, Robson SC, Bulmer JN, Tyson-Capper AJ. Inflammatory Signalling in Fetal Membranes: Increased Expression Levels of TLR 1 in the Presence of Preterm Histological Chorioamnionitis. *PLoS One*. 2015 May 12;10(5):e0124298.
52. Robinson JW, Dando SJ, Nitsos I, Newnham J, Polglase GR, Kallapur SG, et al. *Ureaplasma parvum* Serovar 3 Multiple Banded Antigen Size Variation after Chronic Intra-Amniotic Infection/Colonization. *PLoS One*. 2013 Apr 26;8(4):e62746.
53. Dando SJ, Nitsos I, Kallapur SG, Newnham JP, Polglase GR, Pillow JJ, et al. The Role of the Multiple Banded Antigen of *Ureaplasma parvum* in Intra-Amniotic Infection: Major Virulence Factor or Decoy? *PLoS One*. 2012 Jan 12;7(1):e29856.
54. Simhan HN, Krohn MA, Zeevi A, Daftary A, Harger G, Caritis SN. Tumor necrosis factor- α promoter gene polymorphism -308 and chorioamnionitis. *Obstet Gynecol*. 2003;102(1).
55. Simhan HN, Krohn MA, Roberts JM, Zeevi A, Caritis SN. Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Oct;189(4):915-8.
56. Oh KJ, Romero R, Park JY, Hong JS, Yoon BH. The earlier the gestational age, the greater the intensity of the intra-amniotic inflammatory response in women with preterm premature rupture of membranes and amniotic fluid infection by *Ureaplasma* species. *J Perinat Med*. 2019 Jul 26;47(5):516-527.
57. Kacerovsky M, Pliskova L, Bolehovska R, Skogstrand K, Hougaard DM, Tsiartas P, et al. The impact of the microbial load of genital mycoplasmas and gestational age on the

- intensity of intraamniotic inflammation. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Apr;206(4):342.e1-8.
58. Rittenschober-Böhm J, Waldhoer T, Schulz SM, Stihsen B, Pimpel B, Goeral K, et al. First Trimester Vaginal *Ureaplasma* Biovar Colonization and Preterm Birth: Results of a Prospective Multicenter Study. *Neonatology*. 2018;113(1):1-6.
 59. Kemp MW, Ahmed S, Beeton ML, Payne MS, Saito M, Miura Y, et al. Foetal *Ureaplasma parvum* bacteraemia as a function of gestation-dependent complement insufficiency: Evidence from a sheep model of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2017 Jan;77(1):e12599.
 60. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2005 Oct;18(4):757-89.
 61. Cunha G, Bastos LB, Freitas SF, Cavalli RC, Quintana SM. Genital mycoplasma infection and spontaneous preterm birth outcome: a prospective cohort study. *BJOG*. 2022 Jan;129(2):273-281.
 62. Abele-Horn M, Scholz M, Wolff C, Kolben M. High-density vaginal ureaplasma urealyticum colonization as a risk factor for chorioamnionitis and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79(11).
 63. Lee SE, Romero R, Kim EC, Yoon BH. A high Nugent score but not a positive culture for genital mycoplasmas is a risk factor for spontaneous preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009 Mar;22(3):212-7.
 64. Kwak DW, Hwang HS, Kwon JY, Park YW, Kim YH. Co-infection with vaginal *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* increases adverse pregnancy outcomes in patients with preterm labor or preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 Mar 18;27(4):333-7.
 65. Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M. Maternal Serum C-Reactive Protein in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One*. 2016 Mar 4;11(3):e0150217.
 66. Kacerovsky M, Musilova I, Hornychova H, Kutova R, Pliskova L, Kostal M, et al. Bedside assessment of amniotic fluid interleukin-6 in preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Oct;211(4):385.e1-9.

67. Kataoka S, Yamada T, Chou K, Nishida R, Morikawa M, Minami M, et al. Association between preterm birth and vaginal colonization by mycoplasmas in early pregnancy. *J Clin Microbiol.* 2006 Jan;44(1):51-5.
68. Gerber S, Vial Y, Hohlfeld P, Witkin SS. Detection of *Ureaplasma urealyticum* in second-trimester amniotic fluid by polymerase chain reaction correlates with subsequent preterm labor and delivery. *J Infect Dis.* 2003 Feb 1;187(3):518-21.
69. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, et al. Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota. *Sci Transl Med.* 2012 May 2;4(132):132ra52.
70. DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, Costello EK, Lyell DJ, Robaczewska A, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Sep 1;112(35):11060-5.
71. Valentine-King MA, Brown MB. Antibacterial Resistance in *Ureaplasma* Species and *Mycoplasma hominis* Isolates from Urine Cultures in College-Aged Females. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Sep 22;61(10):e01104-17.
72. Matasariu D, Ursache A, Agache A, Mandici C, Boiculese V, Bujor I, et al. Genital infection with *Ureaplasma urealyticum* and its effect on pregnancy. *Exp Ther Med.* 2022 Jan;23(1):89.
73. Oh KJ, Lee KA, Sohn YK, Park CW, Hong JS, Romero R, et al. Intraamniotic infection with genital mycoplasmas exhibits a more intense inflammatory response than intraamniotic infection with other microorganisms in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 Sep;203(3):211.e1-8.
74. Kacerovsky M, Celec P, Vlkova B, Skogstrand K, Hougaard DM, Cobo T, et al. Amniotic Fluid Protein Profiles of Intraamniotic Inflammatory Response to *Ureaplasma* spp. and Other Bacteria. *PLoS One.* 2013 Mar 26;8(3):e60399.
75. Cobo T, Vives I, Rodríguez-Trujillo A, Murillo C, Ángeles MA, Bosch J, et al. Impact of microbial invasion of amniotic cavity and the type of microorganisms on short-term neonatal outcome in women with preterm labor and intact membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017 May;96(5):570-579.

76. Rittenschober-Böhm J, Waldhoer T, Schulz SM, Pimpel B, Goeral K, Kasper DC, et al. Vaginal *Ureaplasma parvum* serovars and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Jun;220(6):594.e1-594.e9.
77. Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Martinez A, et al. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J Perinat Med*. 2015 Jan;43(1):19-36.
78. Payne MS, Newnham JP, Doherty DA, Furfaro LL, Pental NL, Loh DE, et al. A specific bacterial DNA signature in the vagina of Australian women in midpregnancy predicts high risk of spontaneous preterm birth (the Predict1000 study). *Am J Obstet Gynecol*. 2021 Feb;224(2):206.e1-206.e23.
79. Romero R, Chaemsaitong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, et al. Clinical chorioamnionitis at term IV: the maternal plasma cytokine profile. *J Perinat Med*. 2016 Jan;44(1):77-98.
80. Carroll SG, Papaioannou S, Davies ET, Nicolaides KH. Maternal assessment in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabor amniorrhexis. *Fetal Diagn Ther*. 1995 Sep-Oct;10(5):290-6.
81. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF. Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review. *BJOG*. 2007 Jul;114(7):796-801.
82. Stranik J, Kacerovsky M, Andrys C, Soucek O, Bolehovska R, Holeckova M, et al. Intra-amniotic infection and sterile intra-amniotic inflammation are associated with elevated concentrations of cervical fluid interleukin-6 in women with spontaneous preterm labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2021 Jan 7:1-9.
83. Holst RM, Mattsby-Baltzer I, Wennerholm UB, Hagberg H, Jacobsson B. Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical fluid in a population of Swedish women in preterm labor: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005 Jun;84(6):551-7.
84. Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Andersch B, Bokström H, Holst RM, Nikolaitchouk N, et al. Microbial invasion and cytokine response in amniotic fluid in a Swedish population

- of women with preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003 May;82(5):423-31.
85. Revello R, Alcaide MJ, Abehsera D, Martin-Camean M, Sousa E, Faro Gomes M, et al. Prediction of chorioamnionitis in cases of intraamniotic infection by ureaplasma urealyticum in women with very preterm premature rupture of membranes or preterm labour. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Jul 18;31(14):1839–44.
 86. Chaemsaithong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, et al. A rapid interleukin-6 bedside test for the identification of intra-amniotic inflammation in preterm labor with intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016 Feb 25;29(3):349–59.
 87. Chaiyasit N, Romero R, Chaemsaithong P, Docheva N, Bhatti G, Kusanovic JP, et al. Clinical chorioamnionitis at term VIII: a rapid MMP-8 test for the identification of intra-amniotic inflammation. *J Perinat Med.* 2017 Jul 26;45(5):539-550..
 88. Kim SM, Romero R, Lee J, Chaemsaithong P, Lee MW, Chaiyasit N, et al. About one-half of early spontaneous preterm deliveries can be identified by a rapid matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) bedside test at the time of mid-trimester genetic amniocentesis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(15):2414-22.
 89. Kim KW, Romero R, Park HS, Park CW, Shim SS, Jun JK, et al. A rapid matrix metalloproteinase-8 bedside test for the detection of intraamniotic inflammation in women with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Sep;197(3):292.e1-5.
 90. Hong S, Jung YM, Lee YE, Park Y, Kim YM, Park KH. Complement and other immune-related factors in cervicovaginal fluid associated with intra-amniotic infection/inflammation and spontaneous preterm delivery in women with preterm labor. *Arch Gynecol Obstet.* 2020 Jun;301(6):1431-1439.
 91. Amabebe E, Reynolds S, Stern VL, Parker JL, Stafford GP, Paley MN, et al. Identifying metabolite markers for preterm birth in cervicovaginal fluid by magnetic resonance spectroscopy. *Metabolomics.* 2016;12:67.

92. Liu Y, Liu Y, Du C, Zhang R, Feng Z, Zhang J. Diagnostic value of amniotic fluid inflammatory biomarkers for subclinical chorioamnionitis. *Int J Gynaecol Obstet* 2016 Aug;134(2):160–4.
93. Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol.* 1992 Mar;79(3):351-7.
94. Beeton ML, Chalker VJ, Jones LC, Maxwell NC, Spiller OB. Antibiotic Resistance among Clinical *Ureaplasma* Isolates Recovered from Neonates in England and Wales between 2007 and 2013. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Oct 12;60(1):52-6.
95. Ahmadi MH. Resistance to tetracyclines among clinical isolates of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* species: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2021 Mar 12;76(4):865-875.
96. Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997 Sep;61(3):377-92.
97. Yang T, Pan L, Wu N, Wang L, Liu Z, Kong Y, et al. Antimicrobial Resistance in Clinical *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* and Structural Mechanisms Underlying Quinolone Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020 May 21;64(6):e02560-19.
98. Krausse R, Schubert S. In-vitro activities of tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones and clindamycin against *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* ssp. isolated in Germany over 20 years. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Nov;16(11):1649-55.
99. Petković D, Cviljević S, Vuković B, Musil A. In vitro antimicrobial susceptibility of *Ureaplasma urealyticum*. *Medica Jadertina.* 2017 Oct 3;47(3–4):145–52.
100. Keelan JA, Payne MS, Kemp MW, Ireland DJ, Newnham JP. A New, Potent, and Placenta-Permeable Macrolide Antibiotic, Solithromycin, for the Prevention and Treatment of Bacterial Infections in Pregnancy. *Front Immunol.* 2016 Apr 1;7:111.
101. Dando SJ, Nitsos I, Newnham JP, Jobe AH, Moss TJ, Knox CL. Maternal administration of erythromycin fails to eradicate intrauterine ureaplasma infection in an ovine model. *Biol Reprod.* 2010 Oct;83(4):616-22.

102. Kemp MW, Miura Y, Payne MS, Watts R, Megharaj S, Jobe AH, et al. Repeated maternal intramuscular or intraamniotic erythromycin incompletely resolves intrauterine *Ureaplasma parvum* infection in a sheep model of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Aug;211(2):134.e1-9.
103. Grigsby PL, Novy MJ, Sadowsky DW, Morgan TK, Long M, Acosta E, et al. Maternal azithromycin therapy for *Ureaplasma* intraamniotic infection delays preterm delivery and reduces fetal lung injury in a primate model. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Dec;207(6):475.e1-475.e14.
104. Miura Y, Payne MS, Keelan JA, Noe A, Carter S, Watts R, et al. Maternal intravenous treatment with either azithromycin or solithromycin clears *Ureaplasma parvum* from the amniotic fluid in an ovine model of intrauterine infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Sep;58(9):5413-20.
105. Berg TG, Philpot KL, Welsh MS, Sanger WG, Smith CV. *Ureaplasma/Mycoplasma*-infected amniotic fluid: pregnancy outcome in treated and nontreated patients. *J Perinatol.* 1999 Jun;19(4):275-7.
106. Antsaklis A, Daskalakis G, Michalas S, Aravantinos D. Erythromycin Treatment for Subclinical *Ureaplasma urealyticum* infection in Preterm Labor. *Fetal Diagn Ther.* 1997 Mar-Apr;12(2):89-92.
107. Pierson RC, Gordon SS, Haas DM. A retrospective comparison of antibiotic regimens for preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2014 Sep;124(3):515-519.
108. Navathe R, Schoen CN, Heidari P, Bachilova S, Ward A, Tepper J, et al. Azithromycin vs erythromycin for the management of preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Aug;221(2):144.e1-144.e8.
109. Ramsey PS, Vaules MB, Vasdev GM, Andrews WW, Ramin KD. Maternal and transplacental pharmacokinetics of azithromycin. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Mar;188(3):714-8.
110. Witt A, Sommer EM, Cichna M, Postlbauer K, Widhalm A, Gregor H, et al. Placental passage of clarithromycin surpasses other macrolide antibiotics. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Mar;188(3):816-9.

111. Motomura K, Romero R, Xu Y, Theis KR, Galaz J, Winters AD, et al. Intra-Amniotic Infection with *Ureaplasma parvum* Causes Preterm Birth and Neonatal Mortality That Are Prevented by Treatment with Clarithromycin. *mBio*. 2020 Jun 30;11(3).
112. Ogasawara KK, Goodwin TM. Efficacy of azithromycin in reducing lower genital *Ureaplasma urealyticum* colonization in women at risk for preterm delivery. *J Matern Fetal Med*. 1999 Jan-Feb;8(1):12-6.
113. Tanaka S, Tsumura K, Nakura Y, Tokuda T, Nakahashi H, Yamamoto T, et al. New antibiotic regimen for preterm premature rupture of membrane reduces the incidence of bronchopulmonary dysplasia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019 May;45(5):967-973.
114. Andrews WW, Shah SR, Goldenberg RL, Cliver SP, Hauth JC, Cassell GH. Association of post-cesarean delivery endometritis with colonization of the chorioamnion by *Ureaplasma urealyticum*. *Obstet Gynecol*. 1995 Apr;85(4):509-14.
115. Sutton AL, Acosta EP, Larson KB, Kerstner-Wood CD, Tita AT, Biggio JR. Perinatal pharmacokinetics of azithromycin for cesarean prophylaxis. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jun;212(6):812.e1-6.
116. Tita ATN, Szychowski JM, Boggess K, Saade G, Longo S, Clark E, et al. Adjunctive Azithromycin Prophylaxis for Cesarean Delivery. *N Engl J Med*. 2016 Sep 29;375(13):1231-41.
117. Rueda CM, Presicce P, Jackson CM, Miller LA, Kallapur SG, Jobe AH, et al. Lipopolysaccharide-Induced Chorioamnionitis Promotes IL-1-Dependent Inflammatory FOXP3⁺ CD4⁺ T Cells in the Fetal Rhesus Macaque. *J Immunol*. 2016 May 1;196(9):3706-15.
118. Ireland DJ, Nathan EA, Li S, Charles AK, Stinson LF, Kemp MW, et al. Preclinical evaluation of drugs to block inflammation-driven preterm birth. *Innate Immun*. 2017 Jan;23(1):20-33.
119. Ng PY, Ireland DJ, Keelan JA. Drugs to block cytokine signaling for the prevention and treatment of inflammation-induced preterm birth. *Front Immunol*. 2015 Apr 20;6:166.
120. Aghai ZH, Kode A, Saslow JG, Nakhla T, Farhath S, Stahl GE, et al. Azithromycin suppresses activation of nuclear factor-kappa B and synthesis of pro-inflammatory

cytokines in tracheal aspirate cells from premature infants. *Pediatr Res.* 2007 Oct;62(4):483-8.

121. Kikuchi T, Hagiwara K, Honda Y, Gomi K, Kobayashi T, Takahashi H, et al. Clarithromycin suppresses lipopolysaccharide-induced interleukin-8 production by human monocytes through AP-1 and NF-kappa B transcription factors. *J Antimicrob Chemother.* 2002 May;49(5):745-55.

Životopis

Rođena sam u Zagrebu 8.6.1996. Pohađala sam Osnovnu školu Samobor 2003.-2011. te Gimnaziju Lucijana Vranjanina prirodoslovno-matematički smjer 2011.-2015. Upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu 2015. Sudjelovala sam u izvođenju nastave kao demonstrator na kolegijima Histologija i embriologija te Klinička propedeutika. Radila sam kao asistent za dijete s posebnim potrebama u dječjem vrtiću tijekom 2018./2019. Pohađala sam ILS tečaj te stekla ILS certifikat 2021. Sudjelovala sam na brojnim predavanjima, skupovima, najviše iz područja infektologije.