

Osobitosti infekcije parazitom *Trichomonas vaginalis* u muškaraca sa simptomima uretritisa

Sviben, Mario

Doctoral thesis / Disertacija

2010

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:607767>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-07**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Mario Sviben

Osobitosti infekcije parazitom *Trichomonas vaginalis* u muškaraca sa simptomima uretritisa

DISERTACIJA

Zagreb, 2010.

Rad je izrađen u cijelosti na Službi za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

Voditelj rada: prof.dr.sc. Emilija Mlinarić-Missoni

ZAHVALE

Najveća hvala mojoj mentorici prof.dr.sc. Emiliji Mlinarić Missoni, na neprocijenjivim savjetima i nesebičnoj pomoći tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem na podršci i požrtvornom radu djelatnicama Odjela za parazitologiju: inž. Vinki Šimunović, lab. tehničarki Nevenki Pintarić i Vesni Mladinić, administratoru Odjela.

Zahvaljujem se djelatnicima Službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo na podršci i pomoći tijekom izrade ovog rada: prof.dr.sc. Gordani Mlinarić Galinović, dipl. inž. Gordani Vojnović, dr.sc. Sunčanici Ljubin Sternak, mr.sc. Blaženki Hunjak dr.med. i Zdenki Peršić dr.med.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 8 |
| 1.1. TRICHOMONAS VAGINALIS | 8 |
| 1.1.1. Evolucijsko stablo i klasifikacija | 8 |
| 1.1.2. Morfologija i životni ciklus | 9 |
| 1.2. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMONOZE | 11 |
| 1.2.1. Epidemiologija trihomonoze u svijetu | 11 |
| 1.2.2. Epidemiologija trihomonoze u Hrvatskoj | 11 |
| 1.2.3. Epidemiologija trihomonoze u žena | 12 |
| 1.2.4. Epidemiologija trihomonoze u muškaraca | 14 |
| 1.2.5. Putevi prijenosa i rizični čimbenici | 15 |
| 1.3. PATOGENEZA TRIHOMONOZE | 16 |
| 1.4. IMUNITET I PRILAGODBA NA PROMJENJIVE OKOLIŠNE UVJETE | 17 |
| 1.5. KLINIČKA SLIKA TRIHOMONOZE | 18 |
| 1.6. KOMPLIKACIJE TRIHOMONOZE | 19 |
| 1.6.1. Trihomonoza i HIV infekcija | 20 |
| 1.6.2. Trihomonoza i neplodnost | 22 |
| 1.6.3. Trihomonoza i nepovoljan ishod trudnoće | 23 |
| 1.6.4. Trihomonoza, upalna bolest zdjelice i cervikalna neoplazija | 23 |
| 1.7. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA TRIHOMONOZE | 24 |
| 1.7.1. Mikroskopija | 24 |
| 1.7.2. Kultivacija | 26 |
| 1.7.3. Detekcija protutijela | 27 |
| 1.7.4. Detekcija antigena | 27 |
| 1.7.5. Molekularna dijagnostika | 28 |

| | |
|--|----|
| 1.8. TERAPIJA I PREVENCIJA TRIHOMOZOZE | 29 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME, CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA | 30 |
| 2.1. OBRAZLOŽENJE TEME | 30 |
| 2.2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA | 31 |
| 2.3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA | 32 |
| 3. ISPITANICI, UZORCI KLINIČKOG MATERIJALA I METODE RADA | 32 |
| 3.1. ISPITANICI | 33 |
| 3.2. UZORCI KLINIČKOG MATERIJALA | 36 |
| 3.3. DIJAGNOSTIČKE METODE | 37 |
| 3.3.1. Dijagnostika trihomozoze | 37 |
| 3.3.1.1. Mikroskopija nativnog preparata | 37 |
| 3.3.1.2. Kultivacija | 38 |
| 3.3.1.3. Real time PCR metoda | 39 |
| 3.3.2. Dijagnostika bakterijskih spolno prenosivih infekcija | 44 |
| 3.3.2.1. Dijagnostika infekcije bakterijom <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 44 |
| 3.3.2.2. Dijagnostika infekcije bakterijom <i>Ureaplasma urealyticum</i> i <i>Mycoplasma</i> <i>hominis</i> | 44 |
| 3.3.2.3. Dijagnostika infekcije bakterijom <i>Chlamydia trachomatis</i> | 45 |
| 3.4. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA | 47 |
| 4. REZULTATI | 49 |
| 4.1. OPĆI PODACI | 49 |
| 4.2. PODACI IZ SPOLNOG ŽIVOTA ISPITANIKA | 58 |
| 4.3. ISPITANICI I SIMPTOMI | 89 |
| 4.4. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE UZORAKA, ANALIZA METODA | 91 |

| | |
|---|-----|
| 4.5. SIMPTOMATSKI ISPITANICI S TRIHOMONozOM | 98 |
| 5. DISKUSIJA | 104 |
| 6. ZAKLJUČCI | 110 |
| 7. SAŽETAK | 113 |
| 8. SUMMARY | 115 |
| 9. LITERATURA | 117 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 127 |

POPIS KRATICA

| | |
|-----------|---|
| AIDS | sindrom stečene imunodeficijencije (engl. <i>acquired immunodeficiency syndrome</i>) |
| CDC | Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. <i>Center for Disease Control and Prevention</i>) |
| EIA/ELISA | imunoenzimski test (engl. <i>enzyme immunoassay</i>) |
| HBV | virus hepatitisa B |
| HCV | virus hepatitisa C |
| HIV | virus humane imunodeficijencije (engl. <i>human immunodeficiency virus</i>) |
| HPV | humani papiloma virus |
| HSV | herpes simpleks virus |
| HZJZ | Hrvatski zavod za javno zdravstvo |
| PCR | lančana reakcija polimerazom (engl. <i>polymerase chain reaction</i>) |

1. UVOD

Jednostanični organizam *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) prvi put je opisan 1836. godine (Donné) u genitalnim sekretima žena i muškaraca (1). Više od sto godina od prvog opisa, ovaj jednostanični parazit smatran je komenzalom sluznica genitalnih organa žena i muškaraca i nije se povezivao s bolešću. Tek je pripremom medija za *in vitro* uzgoj 1940. godine omogućeno sustavnije izučavanje ovoga parazita (2).

1.1. TRICHOMONAS VAGINALIS



Slika 1. *T. vaginalis*. Trofozoiti. Preparat bojen po Giemsi. Povećanje 1000 x. Izvor www.cdc.gov

1.1.1. EVOLUCIJSKO STABLO I KLASIFIKACIJA

T. vaginalis pripada skupini najstarijih protista. Za razliku od ostalih eukariota nema mitohondrije, već hidrogenosome, u kojima se odvija fermentativni metabolizam ugljikohidrata s vodikom kao terminalnim akceptorom elektrona (3,4).

Klasifikacija (5):

Koljeno: Zoomastigina

Red: Trichomonadida

Porodica: Trichomonadidae

Rod: *Trichomonas*

Vrsta: *T. vaginalis*

Uz *T. vaginalis* za čovjeka su značajne još dvije vrste ovog roda: *Trichomonas tenax* (*buccalis*) i *Trichomonas* (*Pentatrichomonas*) *hominis*. Jedini patogeni predstavnik je *T. vaginalis*, dok su ostala dva komenzali i ne povezuju se s bolešću (6-9). Osim u ljudi, predstavnici ovog roda široko su rasprostranjeni i u drugih vrsta, primjerice u majmuna, stoke, glodavaca, ptica, reptila i termita, gdje žive životom parazita ili inkvilina (2,8-12).

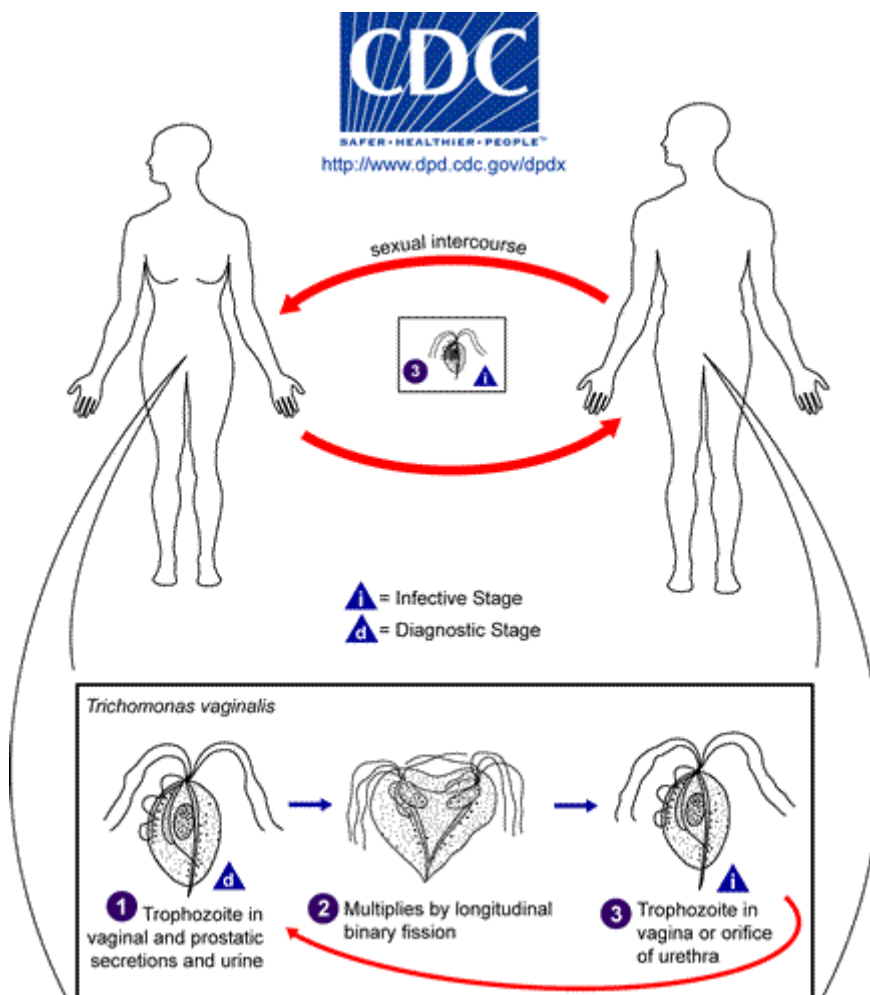
1.1.2. MORFOLOGIJA I ŽIVOTNI CIKLUS

T. vaginalis flagelatni je protist koji u trofozoitnom stadiju ima kruškoliki oblik s četiri slobodna biča, dok mu peti izlazi iz valovite opne. Veličina se kreće od 7-23 x 5-12 μm. Pri korijenu se u protoplastu nalazi kromatofilna bazalna nit – rebro (lat. *costa*). Jaki aksostil koji prolazi kroz protoplast daje trofozoitu čvrstu osovinu. Jezgra je smještena između bazalne niti i aksostila. Usni otvor (citostoma) nalazi se na prednjem, širem kraju odmah iza izlazišta bičeva. Uz pomoć bičeva, trofozoit je živahno, trzajuće pokretan. Cistični oblik nije opisan, međutim nedavna istraživanja opisuju polimorfne pseudocistične oblike koji se uglavnom javljaju ako je organizam izložen nepovoljnim životnim uvjetima. (13,14).

Životni ciklus *T.vaginalis* je jednostavan. Trofozoit je infektivan oblik i prenosi se sa osobe na osobu bliskim dodirrom sluznica genitalnih organa.

Trihomonas se razmnožava dvojnomo diobom po dužoj osovini (6). Za razvoj i razmnožavanje najbolje mu odgovara anaerobni, blago kiseli medij. Maksimalan porast i najaktivniji metabolizam bilježi se kod pH 6,0. (15).

Početakom 2007. godine sekvencioniran je cjelokupni genom *T. vaginalis* organizma (16).



Slika 2. Životni ciklus *T. vaginalis* (preuzeto s www.cdc.gov)

1.2. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMOZOZE

T. vaginalis striktno je ljudski patogen i infekcija ovim organizmom susreće se samo u ljudi.

1.2.1. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMOZOZE U SVIJETU

Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (engl. The World Health Organization) uz godišnju učestalost od 170-190 milijuna slučajeva na svijetu trihomonoza je najučestalija nevirusna spolno prenosiva infekcija. Taj broj premašuje procjene godišnje globalne učestalosti infekcije klamidijom (92 milijuna slučajeva), gonokokom (62 milijuna), treponemom (12 milijuna) i virusom humane imunodeficijencije (5,8 milijuna) (17,18).

U SAD-u godišnja učestalost trihomonoze procjenjuje se na 5 milijuna slučajeva, što također premašuje brojem procijenjenu učestalost klamidijaze od 3 milijuna i gonoreje od 650 000 slučajeva (19).

Međutim, ovi se podaci o učestalosti trihomonoze zasnivaju na mikroskopskom nalazu trihomonasa – dijagnostičkoj metodi čija se osjetljivost kreće od 35 do 60%.

Novija istraživanja ukazuju da bi učestalost ove infekcije mogla biti viša, ako se u laboratorijskoj dijagnostici koriste metode više osjetljivosti (20-24).

1.2.2. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMOZOZE U HRVATSKOJ

U Hrvatskoj trihomonoza prema Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti nije obvezno prijavljiva bolest, što otežava procijenu njezinog kretanja u populaciji (25). Uvidom u godišnja izvješća Službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

može se zaključiti da je trihomonoza trajno prisutna u populaciji, međutim njezina učestalost u općoj populaciji varira i kreće se do od 0 do 35%. Učestalost trihomonoze u izvješću temelji se na rutinskim dijagnostičkim metodama (mikroskopiji i kultivaciji).

1.2.3. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMOZOZE U ŽENA

Učestalost trihomonoze u žena varira ovisno o populaciji koja se istražuje, kao i metodama koje se koriste u dijagnostici. Prema podacima iz literature trihomonoza je česta u žena. Njezina učestalost kreće se od 1,3 do 54 % (26-31).

U tablici broj 1 uspoređena je učestalost trihomonoze, klamidijaze i gonoreje u populaciji istraživanih žena. Trihomonoza je češća od gonoreje u sedam od osam provedenih studija, te češća od klamidijaze u pet od osam provedenih studija. U četiri provedena istraživanja, trihomonoza je češća od klamidijaze i gonoreje zajedno.

| | | Učestalost (%) | | |
|------------------------|--------------------------------------|----------------|-------------|----------|
| Autor i godina | Pacijentice | Trihomonozna | Klamidijaza | Gonoreja |
| Thornton i sur. (2003) | Studentice iz studentske poliklinike | 4,8 | 2,8 | 1,4 |
| Rein i sur. (1990) | Djevojke na regrutaciji | 1,7 | 11,6 | 2,4 |
| Shafer i sur. (2003) | Pacijentice klinike za SPI | 29 | 8 | 6 |
| Wendel i sur. (2002) | Pacijentice dvije klinike za SPI | 16,7 | 10,4 | 6 |
| Kaydos i sur. (2002) | Adolescentice | 12,9 | 17,8 | 5,3 |
| Smith i sur. (2001) | Žene vojnici | 6,4 | 11,6 | 3 |
| Bachmann i sur. (2000) | Pacijentice srednjoškolske ambulante | 10 | 8 | 2 |
| Shutler i sur. (1998) | Žene u programu odvikavanja od droge | 43 | 2 | 1 |

Tablica 1. Učestalost trihomonozne, klamidijaze i gonoreje u žena

U istraživanjima prikazanim u tablici broj 1 ispitanice su bile žene s povećanim rizikom za obolijevanje od spolno prenosivih infekcija. Međutim, krajem 2007. godine, istraživači Američkog Centra za kontrolu bolesti i prevenciju (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA) istražili su učestalost nalaza *T. vaginalis* iz obrisaka cerviksa 3 754 žene iz opće populacije. Prosječna učestalost trihomonozne bila je 3,1% (raspon 1,3 do 13,3%) (32).

Epidemiološke studije potvrdile su porast učestalosti trihomonoze s porastom životne dobi, što je suprotno od učestalosti infekcija bakterijama *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) i *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*). Kaydos i sur. (29) dokazali su veću učestalost trihomonoze u žena od 25 do 45 godina u usporedbi s ženama od 15 do 25 godina života. Ipak, budući da žene starije dobi rjeđe obavljaju pregled na spolno-prenosive infekcije, u zaključku ovoga istraživanja se navodi da bi trihomonoza ipak mogla biti nedijagnosticirana u velikog broja ispitanica ove dobi.

1.2.4. EPIDEMIOLOGIJA TRIHOMOZOZE U MUŠKARACA

Informacije o učestalosti trihomonoze u muškaraca teže su dostupne, čemu vjerojatno pridonosi asimptomatska klinička slika u većine zaraženih muškaraca, te procjena liječnika da se radi o beznačajnoj samo-ograničavajućoj infekciji. Dosadašnja istraživanja trihomonoze muškaraca u svijetu uključivala su mali broj ispitanika i selekcioniranu populaciju, a u radu su najčešće korištene dijagnostičke metode niže osjetljivosti.

Prema podacima iz literature učestalost trihomonoze u muškaraca kreće se od 3 do 58%. Usporedivost tih rezultata je teška zbog korištenja različitih dijagnostičkih metoda, te razlika u ispitivanoj populaciji i broju ispitanika. Joyner je 2000. godine (33) dokazao trihomonozu metodom kultivacije uzročnika u 3% muškaraca sa simptomima uretritisa. Istom metodom Butler je 1982. godine (34) dokazao trihomonozu u 10% muškaraca. Borchardt (35) je 1995. godine metodom kultivacije dokazao trihomonozu u 12% muškaraca, pacijenata klinike za spolno-prenosive bolesti. Ozbilgin je 1994. godine (36) dokazao trihomonozu metodom kultivacije u 21% muškaraca sa simptomima uretritisa, a Saxena je 1991. godine (37) dokazao trihomonozu metodama mikroskopije i kultivacije u 58% muškaraca sa simptomima uretritisa pregledanih u klinikama za spolno-prenosive bolesti u SAD-u.

U tablici broj 2 uspoređena je učestalost trihomonoze, klamidijaze i gonoreje u populaciji istraživanih muškaraca.

| Autor i godina | Učestalost (%) | | |
|------------------------|----------------|-------------|----------|
| | Trihomonoza | Klamidijaza | Gonoreja |
| Wendel i sur. (2003) | 13 | 11 | 19 |
| Schwebke i sur. (2003) | 17 | 19,6 | 17,7 |
| Borchard i sur. (1995) | 12 | 5 | 25 |
| Schwebke i sur.(2003) | 58 | 29 | 23,5 |

Tablica 2. Učestalost trihomonoze, klamidijaze i gonoreje u muškaraca sa simptomima uretritisa

1.2.5. PUTOVI PRIJENOSA I RIZIČNI ČIMBENICI

Epidemiološki, trihomonoza pripada velikoj skupini infekcija koje se prenose spolnim putem. Za efikasan prijenos ovog parazita potreban je bliski međusobni kontakt inficiranih sluznica (penisa, vagine, uretre) muškarca ili žene, te kontakt sluznice s ejakulatom, vaginalnim/cervikalnim sekretom ili urinom. Muškarci se inficiraju gotovo isključivo od inficiranih žena, dok se žene mogu inficirati od muškaraca ili žena zaraženih trihomonasom.

Iako trihomonas može preživjeti neko vrijeme u vanjskoj sredini, smatra se da je prijenos parazita na taj način rijedak, te se može zanemariti (38).

Opisan je i prijenos trihomonasa s inficiranih trudnica na novorođenčad. Smatra se da do prijenosa dolazi u 2 do 17 % inficiranih trudnica (39).

U literaturi se spominje nekoliko čimbenika koji se povezuju s povećanim rizikom za stjecanje trihomonoze. To su: često mijenjanje seksualnih partnera, prošla ili sadašnja spolno prenosiva infekcija u anamnezi, bakterijska vaginoza, pušenje, konzumacija alkohola ili droga, niži stupanj edukacije i visoka vaginalna pH vrijednost (1,2,6,7)

Zbog načina prijenosa trihomonoza se često susreće u iste osobe zajedno s drugim spolno-prenosivim infekcijama. Za razliku od većine drugih spolno-prenosivih infekcija koje se češće susreću u adolescenata i mlađih odraslih, trihomonoza je jednakomjerno zastupljena u svim dobnim skupinama (40).

1.3. PATOGENEZA TRIHOMOZOZE

Iako patogeneza trihomonoze nije u potpunosti razjašnjena u zadnje vrijeme postignut je značajan napredak u razumijevanju kompleksnog odnosa parazit-domaćin, te je identificirano više parazitarnih molekula i produkata koji dovode do uspostavljanja infekcije i oštećenja stanica i tkiva domaćina.

Za uspješnu infekciju nužna je adherencija organizma na epitelne stanice genito-urinarne sluznice. Adherencija je vremenski, temperaturno i o pH ovisan događaj. *In vitro* pokusi pokazali su veći afinitet parazita za kulture stanice vaginalnog epitela nego za ostale stanične kulture.

Dosadašnja istraživanja definirala su četiri adhezijska proteina trihomonasa: AP 65, AP 51, AP 33 i AP 23. Oni djeluju po principu receptor-ligand mehanizma (41-44). Genetska ekspresija adhezina na transkripcijskoj razini regulirana je ionima željeza (45,46).

Najveća gustoća adhezina nađena je na mjestu suprotnom od undulirajuće membrane. Pokusi su pokazali da na tom mjestu i dolazi do prianjanja trihomonasa na epitelne stanice. Malo je znano o staničnim receptorima koji su ciljna mjesta prihvaćanja parazita, no dosadašnja istraživanja upućuju da bi glavni receptori bili laminin (47) i fibronektin (48,49). Neuroamidaza koju luči parazit također bi uklanjanjem sijalične kiseline s površine epitela doprinosila adheziji parazita na epitel (50,51).

U patogenezi trihomonoze također su značajni i brojni enzimi parazita (hemolizini, proteinaze), čimbenici ljuštenja stanica (engl. cell detaching factors), kao i interakcija parazita s normalnom mikrobnom florom urogenitalne sluznice i mehanizmi kojima parazit izbjegava imunološki odgovor (47-51).

1.4. IMUNITET I PRILAGODBA NA PROMJENLJIVE OKOLIŠNE UVJETE

Tijekom infekcije trihomonasom zabilježena je u domaćina pojava humoralnog i staničnog imunološkog odgovora (52,53). Međutim, čini se da protutijela i limfociti nisu dovoljni za zaštitu od reinfekcije (54). Nadalje, istraživanja su pokazala, da bi u zaštiti od nove infekcije, važniji od stečenog bio prirodni imunitet, posebice neutrofilni leukociti (55). Nedostatak prikladnog *in vivo* modela dodatni je ograničavajući čimbenik istraživanja.

U osoba cijepljenih različitim cjepivima za zaštitu od trihomonoze (Gombosova i sur. 1986; Abraham i sur. 1996) dokazan je razvoj humoralne i stanične imunosti, no ipak nedovoljan za pružanje zaštite (56,57).

Okoliš u kojem parazit živi jako je promjenljiv (menstruacija – influks eritrocita, seruma i makro molekula domaćina, velike promjene pH). Stoga je za lakše preživljavanje

trihomonas razvio nekoliko mehanizama. Pokusi su pokazali sposobnost proizvodnje heat shock proteina za izbjegavanje oskidativnog stresa (58-60), kao i prisustvo P-glikoproteina, za koji se također misli da sudjeluje u odgovoru na promjenljive okolišne uvjete (61).

1.5. KLINIČKA SLIKA TRIHOMOZOZE

Kliničke manifestacije trihomonoze mogu biti različite i mogu varirati od asimptomatske do neugodno simptomatske bolesti (62).

Najčešća klinička manifestacija u žena je vaginitis, mada se mogu pojaviti i bartolinitis, adneksitis, piosalpinks, cervicitis i endometritis (63-65). Vrijeme inkubacije obično je 4 do 28 dana u 50% inficiranih žena. Ovisno o težini infekcije, trihomonoza u žena, može se klasificirati na akutnu, kroničnu i asimptomatsku.

Klinička slika akutne trihomonoze otkriva najčešće difuzni vulvitis i obilnu leukoreju. Vaginalni iscjedak je obično pjenušav, žuto-zelenkasti i mukopurulentni. Na vagini i cerviksu često se mogu naći točkasta krvarenja („jagodasti cerviks”). Znakovi i simptomi bolesti obično se pogoršavaju za vrijeme trajanja menstruacije.

Kod kronične trihomonoze simptomi su obično blaži, no često se susreće vaginalni svrbež i dispareunija. Asimptomatska infekcija trihomonasom opisana je u 25 do 50% žena.

Trihomonoza se u muškaraca može podijeliti u tri skupine: akutnu, blago simptomatsku i asimptomatsku bolest (62).

Akutna trihomonoza može se manifestirati profuznim gnojnim uretritisom, klinički sličnim gonokoknoj infekciji. Blagu simptomatsku bolest klinički je nemoguće razlikovati od drugih

vrsta negonokoknog uretritisa. Najčešći simptomi koji se susreću kod simptomatske bolesti su: bistri do gnojni iscjedak, dizurične smetnje, svrbež i peckanje u uretri. Osim uretritisa *T. vaginalis* može uzrokovati prostatitis, balanopostitis i epididimitis (66-69).

Za razliku od žena smatra se da je broj asimptomatskih muškaraca veći i da premašuje 50% inficiranih.

1.6. KOMPLIKACIJE TRIHOMOZOZE

Povijesno se do nedavno na trihomozu gledalo kao na manje značajan javno zdravstveni problem, što pokazuje činjenica da nije bila obavezno prijavljujuća zarazna bolest. U SAD-u i većini drugih zemalja, kako razvijenih, tako i onih u razvoju postoje državno kontrolirani i poticani programi za kontrolu klamidijaze, gonoreje, sifilisa i HIV infekcije, no takvih programa za trihomozu još nema. Javno-zdravstveni napori u sklopu tih programa imali su značajan utjecaj na smanjenje učestalosti infekcija klamidijom, gonokokom, treponemom i HIV-om, no podaci o kretanju trihomozе nisu dostupni (9,19,70,71).

Podaci iz nedavno publiciranih studija ukazuju da je trihomozа kao neovisni čimbenik odgovorna za brojna klinička stanja u žena, muškaraca i novorođenčadi. Trihomozа se povezuje s povećanom i olakšanom transmisijom HIV-a, neplodnošću žena i muškaraca, nepovoljnim ishodom trudnoće, zdjeličnom upalnom bolešću i cervikalnom intraepitelnom neoplazijom.

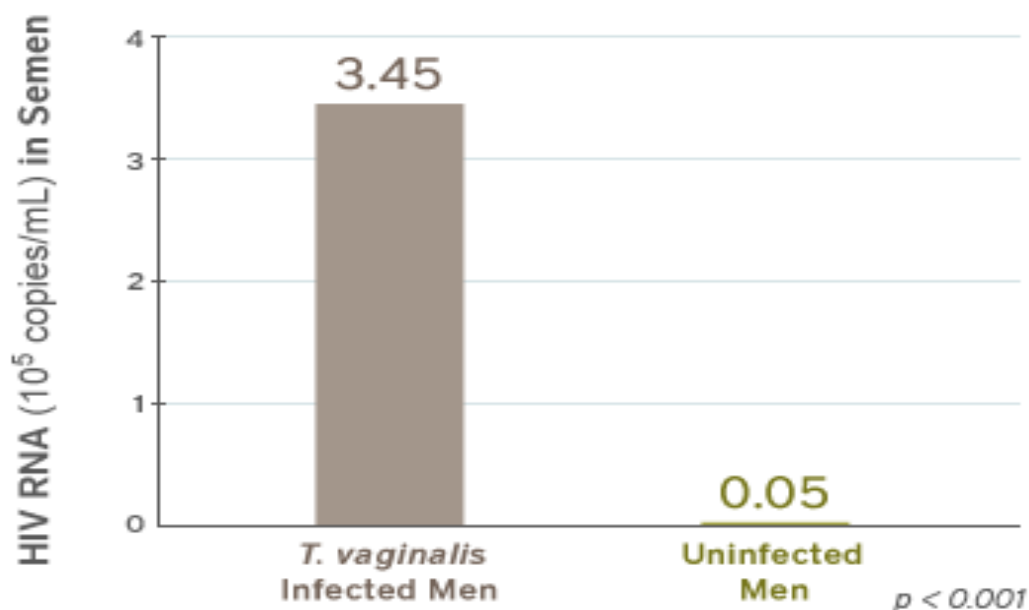
1.6.1. Trihomonoza i HIV infekcija

Povezanosti spolno prenosivih infekcija i HIV-a zadnjih desetak godina posvećuje se više pažnje. Spolno prenosive infekcije pokazale su se kao značajan čimbenik u prijenosu HIV-a zbog povećane prijemčljivosti neinficiranog partnera za HIV i povećane infektivnosti HIV pozitivne osobe.

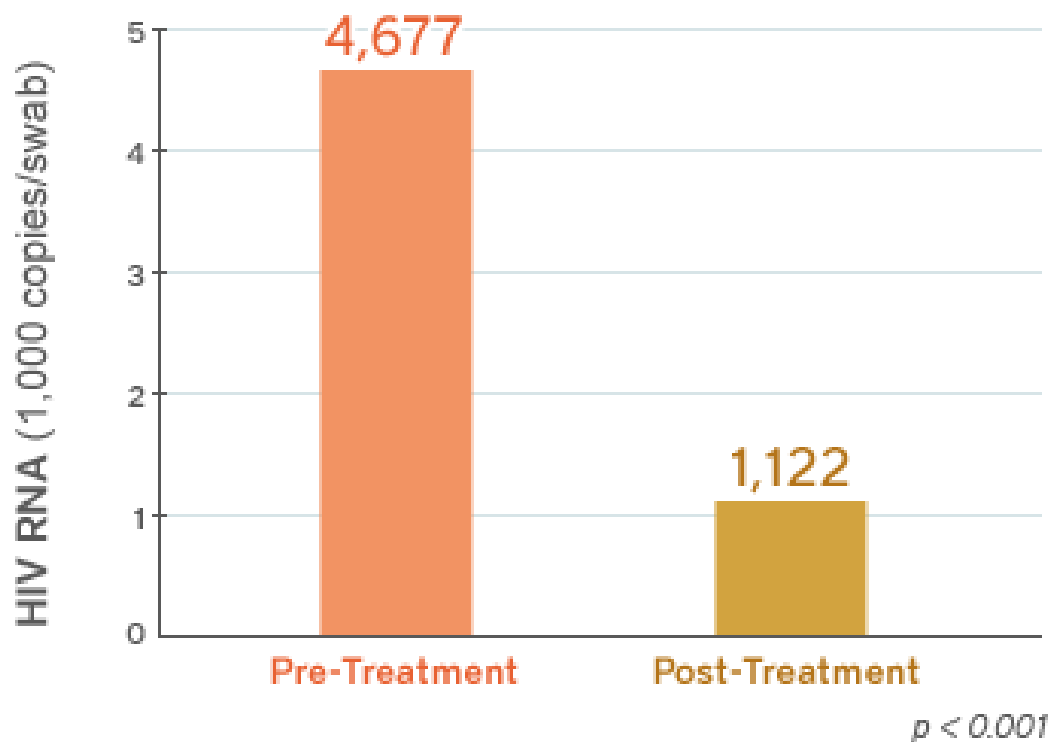
Nekoliko provedenih istraživanja pokazalo je da isto vrijedi i za trihomonozu. U HIV negativnih osoba inficiranih trihomonasom nađena je povećana osjetljivost na infekciju ovim virusom, dok je u HIV pozitivnih osoba zaraženih trihomonasom nađena povećana infektivnost za prijenos HIV-a (slika 3) (72).

U istraživanju Laga i suradnika 1993. godine (73) koje je uključivalo 431 ženu, početno HIV negativne, nakon dvije godine prospektivnog praćenja, infekcija trihomonasom pokazala se kao neovisno povezana varijabla koja povećava vjerojatnost HIV serokonverzije u istraživanih žena.

Studija iz 2001. godine (Wang i suradnici) pokazala je da deseto dnevna terapija metronidazolom može dovesti do smanjenja količine RNK HIV-a u vaginalnom sekretu za 4,2 puta (slika 4) (74).



Slika 3. Količina RNK HIV-a u muškaraca s i bez trihomonoze (Hobbs MM, Kazembe P, Reed AW i sur. *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. Sex Transm Dis 1999; 26: 381-387.)



Slika 4. Učinkovitost terapije metronidazolom na količinu RNK HIV-1 u vaginalnom sekretu (Wang CC, McClelland RS, Reilly M i sur. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 2001; 183:1017-1022.)

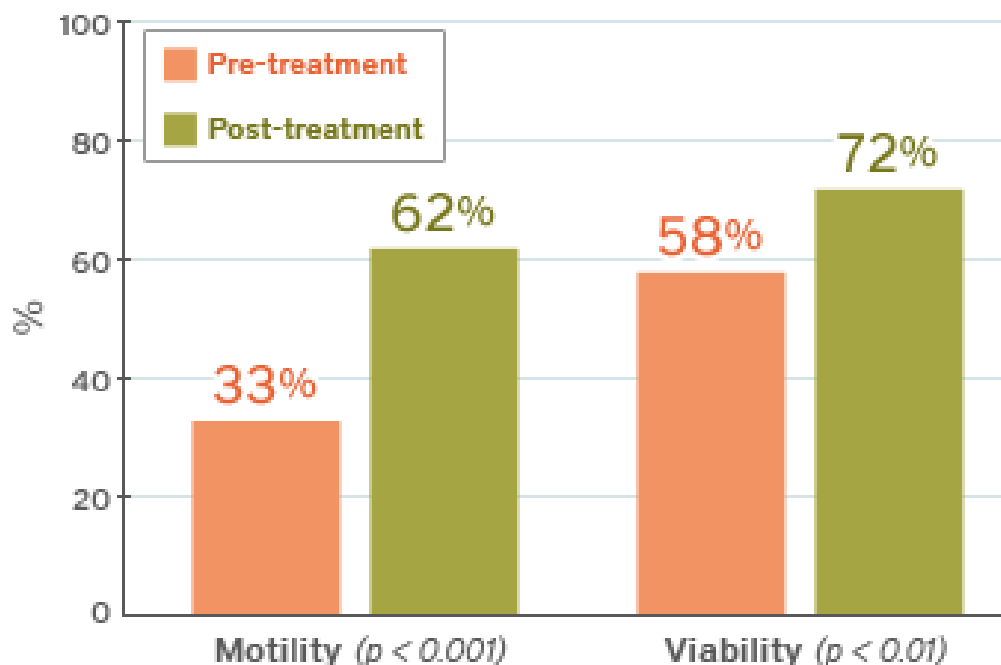
1.6.2. Trihomonoza i neplodnost

Nekoliko provedenih studija ukazalo je na povezanost trihomonoze s tubarnom neplodnošću. Smatra se da do neplodnosti dolazi zbog olakšanog prijenosa drugih mikroorganizama u jajovode (75-77).

Istraživanje El-Shazly i suradnika 2001. godine dokazalo je znatno veću učestalost trihomonoze u skupini neplodnih žena (14,6%), nego u skupini plodnih žena (2,5%). (78)

Smatra se da muškoj neplodnosti trihomonoza doprinosi na način da smanjuje pokretljivost i vijabilnost spermatozoida (79).

Provedena terapija metronidazolom u muškaraca s trihomonomom dovela je do povećanja pokretljivosti i vijabilnosti spermatozoida (slika 5). (80)



Slika 5. Povećanje pokretljivosti i vijabilnosti spermatozoida nakon terapije trihomonoze metronidazolom (Gopalkrishnan K, Hinduja IN, Kumar TC. Semen characteristics of

asymptomatic males affected by *Trichomonas vaginalis*. J In Vitro Fert Embryo Transf 1990; 7: 165-167.)

1.6.3. Trihomonoza i nepovoljni ishod trudnoće

Trihomonoza se povezuje s prijevremenim trudovima i porodom, infekcijom plodnih ovoja i niskom porođajnom težinom novorođenčeta (81-83).

Trudnice s trihomozom imaju 30% veću šansu za prijevremeni porod, kao i porod djeteta niže porođajne težine, dok je rizik od spontanog pobačaja i neonatalne smrti viši 2 puta (81).

Minkoff je 1984. godine ukazao na povezenost trihomonoze i rupture plodnih ovoja (82).

1.6.4. Trihomonoza, upalna bolest zdjelice i cervikalna neoplazija

Moodly i suradnici 2002. godine (84) zaključili su da *T. vaginalis* oštećuje mukozni čep cerviksa što olakšava ulazak anaerobnih bakterija i drugih patogena u prostor male zdjelice i može dovesti do razvoja zdjelične upalne bolesti.

Povezanost trihomonoze i cervikalne neoplazije poznata je od ranih 50-tih godina prošlog stoljeća. Smatra se da je trihomonoza odgovorna za indukciju promjena u cervikalnom epitelu što može rezultirati displazijom i cervikalnim karcinomom. (85-87)

1.7. LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA TRIHOMOZOZE

S obzirom da klinički znakovi i simptomi nisu dovoljno specifični i pouzdani pokazatelji za dijagnostiku trihomonoze, za postavljanje dijagnoze nužna je laboratorijska potvrda uzročnika.

Od kliničkog materijala, za dijagnostiku se mogu koristiti sljedeći uzorci: urin, vaginalna tekućina, cervikalni i uretralni obrisci, eksprimat prostate i ejakulat.

Metode za dijagnostiku trihomonoze mogu se podijeliti na izravne i neizravne. U izravne spadaju: mikroskopija, kultivacija, detekcija antigena i metode molekularne dijagnostike, dok neizravne obuhvaćaju detekciju protutijela.

1.7.1. Mikroskopija

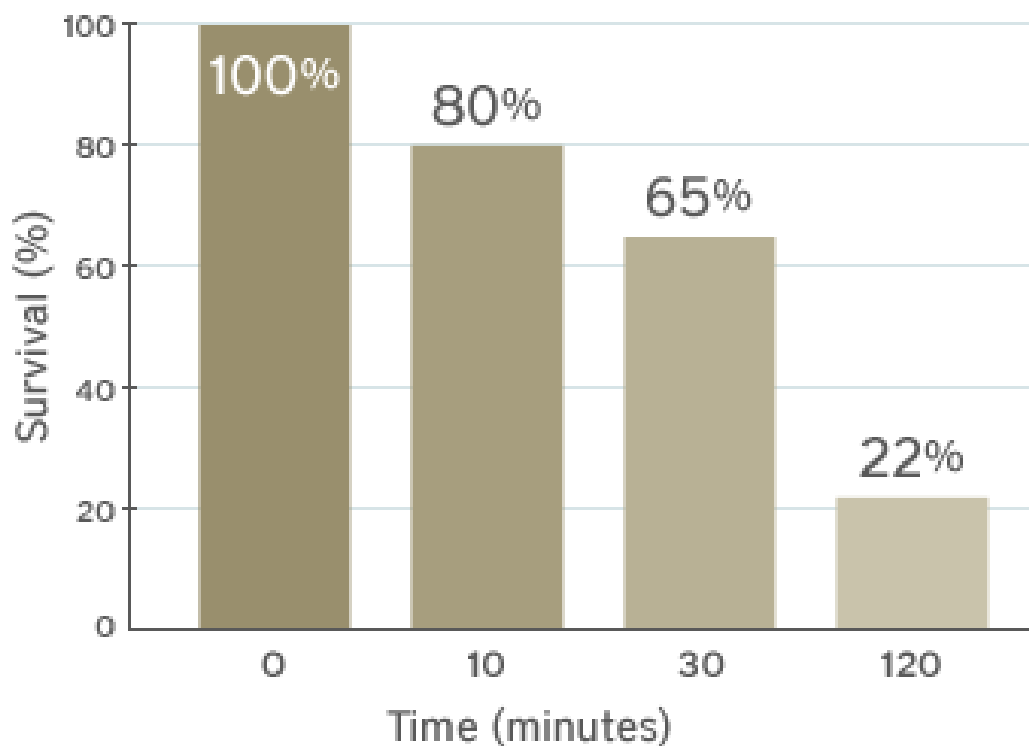
Mikroskopija nativnog preparata je u rutinskom radu mikrobioloških laboratorija najčešće primjenjivana metoda za dijagnostiku trihomonoze. Temelji se na nalazu karakteristično pokretnih trofozoita trihomonasa. Prednosti metode mikroskopije u dijagnostici trihomonoze su niska cijena i dostupnost rezultata za nekoliko minuta.

Međutim, provedene studije su pokazale nisku osjetljivost ove metode, koja u uzorcima iz spolnomokračnog trakta muškaraca iznosi oko 30%, stoga negativan rezultat često ne isključuje bolest (88).

Nekoliko čimbenika ključno je za točnost rezultata mikroskopije. Jedan je broj pokretnih parazita i leukocita u uzorku. Leukociti su slični veličinom trihomonasu, te u slučaju

nedovoljno iskusnog mikroskopičara često može doći do lažno negativnog ili pozitivnog rezultata mikroskopije (2).

Drugi važan čimbenik je vrijeme proteklo od izrade preparata do mikroskopije. Studija Kingstona i suradnika 2003. godine pokazala je da već deset minuta nakon pripreme nativnog preparata u 20% preparata nije bilo pokretnih trofozoita. Nakon 2 sata u 78% nativnih preparata, inicijalno pozitivnih, više nije bilo pokretnih parazita (slika 6) (89).



Slika 6: Smanjenje vijabilnosti trihomonasa protekom vremena nakon izrade nativnog preparata (Kingston MA, Bansal D, Carlin EM. "Shelf life" of *Trichomonas vaginalis*. Int J STD AIDS 2003;14: 28-29.)

Osim mikroskopije nativnog preparata, mikroskopska dijagnostika trihomonozе obuhvaća i pripremu i pregled obojenih preparata. Moguća je primjena nekoliko tehnika bojenja primjerice: akridin oranžom, (90), perjodnom kiselinom po Schiffu (PAS) (91), metodom bojenja po Leishmanu (92), Fontani (93) i Papanicolaou. Glavno ograničenje ovih metoda je

gubljenje karakteristične morfologije prilikom pripreme i bojenja preparata. Zbog postojanja drugih mikroskopskih elemenata u ispitivanim uzorcima, često može doći do lažno pozitivnih i lažno negativnih nalaza.

1.7.2. Kultivacija

Metoda kultivacije u tekućem mediju i danas je „zlatni standard” za dijagnostiku trihomonoze. Dostupne su brojne komercijalne podloge. U rutinskom radu najčešće se koristi podloga po Diamondu.

Za izolaciju u tekućoj podlozi nužno je prisustvo 300-500 živih trofozoita u mililitru inokuluma (94). Metoda kultivacije je skuplja od metode mikroskopije. Vrijeme potrebno za izdavanje konačnog nalaza iznosi 3-7 dana, što odgađa dijagnozu. Za uspješnu kultivaciju trihomonasa potrebna je i suradljivost pacijenta, jer pretraga zahtjeva što bržu inokulaciju bolesničkog uzorka u tekuće podloge, odnosno brzi transport uzorka u laboratorij. Osjetljivost metode kultivacije (28-71%) viša je od osjetljivosti metode mikroskopije nativnog preprata, međutim također nije zadovoljavajuća.

Komercijalni „In Pouch” *Trichomonas vaginalis* kultivacijski sustav već je duže vrijeme dostupan na tržištu. Prednost mu je što omogućava istovremenu kultivaciju i mikroskopiju zasijanog uzorka. Međutim, literaturni podaci govore o tek neznatno višoj osjetljivosti naspram metode kultivacije po Diamondu, što ne opravdava značajno veću cijenu ovog komercijalnog sustava.

T. vaginalis dobro raste u kulturi stanica. Gerber i suradnici (94) kultivirali su ga iz kliničkih uzoraka koristeći McCoy stanice. Smatra se da su dovoljna tri trofozoita za uspješnu

kultivaciju što ovu metodu čini osjetljivijom od kultivacije u tekućoj podlozi. Međutim, ova metoda koristi se zbog visoke cijene i zahtjevnosti isključivo u istraživačke svrhe.

1.7.3. Detekcija protutijela

Brojne metode (aglutinacija, reakcija vezanja komplementa, indirektna hemaglutinacija, gel difuzija, indirektni test fluorescentnih protutijela, enzimski imuno test) opisane su u detekciji anti-trihomonasnih protutijela (95-99). Međutim, detekcija protutijela nije zaživjela u rutinskoj dijagnostici trihomonoze. Glavni razlog tome je niska razina serumskih protutijela, te nemogućnost razlikovanja prošle od aktualne infekcije.

1.7.4. Detekcija antigena

Detekcija antigena trihomonasa u kliničkim uzorcima koristeći monoklonska protutijela opisana je u radovima nekoliko istraživača. Osjetljivost detekcije proteina trihomonasa od 62 kDa i 65 kDa u kliničkim uzorcima nije viša od osjetljivosti metode mikroskopije nativnog preparata (100). Komercijalni *Trichomonas* Direct Enzyme Immunoassay i Fluorescent Direct Immunoassay proizvođača California Integrated Diagnostics i OSOM *Trichomonas* Rapid Test proizvođača Genzyme Diagnostics koriste koktel monoklonskih protutijela na brojne strukturne elemente trihomonasa. Osjetljivost ovih testova nije se pokazala višom od osjetljivosti metode kultivacije (2).

1.7.5. Molekularna dijagnostika

Komercijalno je dostupan Afirm VP System (MicroProbe Corp, Bolhwell, USA) koji koristeći sintetičke oligonukleotidne probe može pomoći u simultanoj detekciji najčešćih uzročnika vaginitisa – *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* i *T. vaginalis*. Studija iz 2004. godine (101) uspoređivala je osjetljivost i specifičnost metode mikroskopije nativnog preparata, kultivacije i Afirm VP System testa u dijagnostici vaginoze u 852 pacijentice. Afirm VP System test pokazao se osjetljivijim od metode nativnog preparata, ali podjednake osjetljivosti i specifičnosti kao metoda kultivacije (102).

Druga opisana molekularna metoda – dot blot hibridizacijska tehnika koristi segment genoma trihomonasa od 2,3 kb kao probu. Teškoću kod korištenja ove metode čini rad s radioaktivnim materijalom, te se stoga ne koristi u rutinskoj dijagnostici (103).

Riley i suradnici prvi put su opisali 1992. godine primjenu metode lančane reakcije polimerazom (PCR) u dijagnostici *T. vaginalis* infekcije (104). Nakon njih, i drugi autori primjenili su ovu metodu, ali su koristili druge početnice (105).

Iako se za sada koristi isključivo u istraživačke svrhe, rezultati upućuju da je PCR najosjetljivija i najspecifičnija metoda za dijagnostiku trihomonoze. Uz višu osjetljivost i specifičnost, prednost PCR-a predstavlja i sposobnost detekcije i nevijabilnih organizama u kliničkim uzorcima (104,105).

1.8. TERAPIJA I PREVENCIJA TRIHOMOZOZE

Suvremena terapija trihomonoze obuhvaća primjenu nitroimidazolskih antibiotika. Prvi predstavnik na tržištu bio je azomicin 1959. godine (106). Kasnije su registrirani i drugi predstavnici: metronidazol, tinidazol, ornidazol, secnidazol, flumidazol, nimorazol i karnidazol (107-110).

Nepromijenjeni, antibiotici nisu djelotvorni, već je nužna njihova aktivacija u hidrogenosomima trihomonasa (111) prilikom čega nastaju citotoksični nitro radikali koji oštećuju DNK parazita.

Od navedenih lijekova najčešće se primjenjuje metronidazol. Uobičajene su doze 250 miligrama oralno tri puta na dan kroz sedam dana, ili jednokratno doza od dva grama. Oba terapijska režima jednako su djelotvorna (112). Nužno je liječenje oba partnera, simptomatskih ili asimptomatskih. Izlječenje se postiže u 90% inficiranih (113), dok u ostatku oboljelih ne dolazi do izlječenja. Najčešći razlog tome je nesuradljivost pacijenta ili reinfekcija, međutim moguća je i pojava otpornosti na lijek.

Američki centar za kontrolu bolesti i prevenciju (CDC, Atlanta) procjenjuje da 5% izolata *T. vaginalis* pokazuje neku razinu rezistencije na metronidazol. Metode za *in vitro* testiranje osjetljivosti trihomonasa su opisane, mada još nisu standardizirane i ne koriste se rutinski prije liječenja. (114).

Kao i za druge spolno-prenosive infekcije prevencija obuhvaća higijenu spolnog života, apstinenciju, vjernost ili korištenje kondoma prilikom spolnog odnosa.

2. OBRAZLOŽENJE TEME, CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

2.1. OBRAZLOŽENJE TEME

U Hrvatskoj do sada nije provedeno niti jedno ciljano istraživanje učestalosti trihomonoze u punoljetnih muškaraca, pa nema stvarne slike o proširenosti ove infekcije u toj populaciji. Ovim istraživanjem utvrditi će se prevalencija trihomonoze u populaciji odraslih muškaraca, sa i bez simptoma uretritisa. Rezultati istraživanja provedenog na području Grada Zagreba i Zagrebačke županije mogli bi biti u velikoj mjeri usporedivi sa rezultatima sličnih istraživanja u svijetu.

Metodama statističke analize definirati će se istraživane varijable, tj. čimbenici rizika koji su statistički značajno povezani s nastankom klinički manifestne trihomonoze. Mjere rizika koje će se ovakvim izračunom dobiti, kao što je primjerice omjer šansi (eng. *odds ratio*) primjerene su u interpretaciji rizika koji se koristi u javno-zdravstvene svrhe, te mogu naći primjenu i na populacijskoj razini. Može se očekivati da će neke varijable biti značajne samo za istraživanu populaciju.

Korištenje i evaluacija real time PCR metode za dijagnostiku trihomonoze u punoljetnih muškaraca sa i bez simptoma uretritisa omogućit će stvaranje objektivnije slike proširenosti ove infekcije i uvid u svrsishodnost primjene ove metode u rutinskoj dijagnostici ove parazitoze.

Rezultati ovog istraživanja mogli bi pomoći kod izrade dijagnostičkih i terapijskih smjernica u obradi muškaraca sa simptomima uretritisa, kao i izradi smjernica za prevenciju parazitarne i bakterijske spolno-prenosive infekcije.

2.2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Prikazati socio-demografske karakteristike punoljetnih muškaraca sa simptomima uretritisa (skupina bolesnika) i punoljetnih muškaraca bez simptoma uretritisa (kontrolna skupina),
2. Istražiti učestalost trihomonoze i bakterijskih spolnoprenosivih infekcija (gonoreje, mikoplazmoze, ureaplazmoze i klamidijaze) u ispitanika obje skupine metodama rutinske mikrobiološke dijagnostike,
3. Istražiti učestalost trihomonoze u ispitanika obje skupine metodom molekularne dijagnostike – metodom lančane reakcije polimerazom
4. Ispitati vrijednost novo primjenjene metode lančane reakcije polimerazom u dijagnostici trihomonoze u ispitanika obje skupine, usporedbom dobivenih rezultata s rezultatima dobivenih metodama rutinske mikrobiološke dijagnostike trihomonoze (mikroskopije i kultivacije)
5. Definirati varijable koje povisuju rizik za infekciju trihomonasom u ispitanika obje skupine

2.3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Hipoteze ovog istraživanja su:

1. Učestalost detekcije organizma *T. vaginalis* u skupini muškaraca s kliničkom slikom uretritisa razlikuje se od učestalosti detekcije ovog organizma u kontrolnoj skupini muškaraca bez simptoma uretritisa,
2. Osjetljivost real time PCR metode u dijagnostici trihomonoze u muškaraca obje skupine veća je od osjetljivosti rutinskih dijagnostičkih metoda - mikroskopije i kulture u dijagnostici trihomonoze u muškaraca obje skupine
3. Varijable koje su se u ranijim istraživanjima pokazale rizičnim za infekciju trihomonasom, primjerice broj spolnih partnera, uzimanje droge, niži stupanj edukacije, prisustvo rizičnog spolnog ponašanja i pušenje, pokazati će se visoko prediktivim u istraživanoj populaciji. S obzirom na nedostatak sustavnih istraživanja na ovom području u našoj zemlji za očekivati je da će i neke druge, do sada neidentificirane varijable doseći razinu statističke značajnosti.

3. ISPITANICI, UZORCI KLINIČKOG MATERIJALA I METODE RADA

Etička povjerenstva Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (Ur. broj 001-0326/1-07) i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Ur. broj 04-76/2008-910) odobrila su ovo istraživanje. Istraživanje je provedeno u cijelosti u Službi za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u razdoblju od 2007. do 2009. godine. Prije uključivanja u istraživanje, pacijenti su bili upoznati s ciljem i svrhom istraživanja, te su dali svoj pismeni pristanak.

3.1. ISPITANICI

U istraživanje je uključeno 500 punoljetnih muškarca koji su upućeni u Hrvatski zavod za javno zdravstvo radi rutinske etiološke dijagnostike uretritisa. Klinički manifestni uretritis predstavljao je prisustvo barem jednog od sljedećih simptoma: bolovi kod mokrenja, osjećaj pečenja u uretri, uretralni iscjedak i crvenilo otvora uretre (116).

Kontrolnu skupinu činilo je 200 punoljetnih muškarca bez simptoma uretritisa upućenih u laboratorije Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u okviru preventivnog sistematskog pregleda.

Prije uzimanja uzoraka svaki je ispitanik ispunio anketu koja je sadržavala sljedeće varijable: mjesto prebivališta, godinu rođenja, stručnu spremu, prisutnost čimbenika rizika bilo kada u prošlosti, bračni, intimni i obiteljski status, podatke iz spolnog života (spolni odnosi izvan Republike Hrvatske, spolna orijentacija, broj spolnih partnera u proteklih godinu dana, dob pri prvom spolnom odnosu, korištenje kondoma tijekom spolnog odnosa i razlog nekorištenja istih, plaćanje za seksualne usluge, naplaćivanje seksualnih usluga, oboljevanje od spolnih bolesti u prošlosti), korištenje droge/alkohola prije spolnih aktivnosti, testiranje na prisustvo protutijela na HIV, podatke o simptomima (prisustvo, opis) i podatke o pušenju.

ANKETNI UPITNIK

| Broj | Datum |
|------|-------|
| | |

Mjesto prebivališta:

- grad
- selo

Godina rođenja: _____

Stručna sprema:

- OŠ
- SSS
- VŠS+VSS

Trenutno zaposlen Da Ne

Faktor rizika (bilo kada u prošlosti)

- seksualni odnos bez korištenja kondoma
- spolni odnos s prodavateljem/icom seksualnih usluga
- spolni odnos s muškarcem
- drugo(molim navesti) _____

Korisnik se odlučio testirati

DA **NE**

Potpisan pristanak na testiranje

DA **NE**

uzorak uzet:

- urin obrisci

Bilješke:.....

1. Bračni/intimni status:

- oženjen
- samac
- neoženjen, ali u stalnoj vezi

2. Imate li djece? Da Ne

3. Dali ste imali seksualne odnose izvan Republike Hrvatske? Da Ne

4. Ako DA u kojim zemljama

5. Vaša seksualnu orijentaciju opisujete kao:

- heteroseksualnu
- biseksualnu
- homoseksualnu

6. Broj spolnih partnera u posljednjih godinu dana? _____

7. S koliko godina ste imali prvi spolni odnos? _____

8. Korištenje kondoma prilikom spolnih aktivnosti?

- uvijek
- ponekad
- nikada
- _____

9. Koji je glavni razlog za nekorisćenje kondoma?

- preskupi su
- neugodno ih je kupovati
- teško ih je koristiti
- nisu lako dostupni
- ne volim seks s kondomima
- neugodno mi je tražiti od partnera/ice da ih koristi
- vjerujem svojim partnerima

10. Korištenje droge/alkohola prilikom spolnih aktivnosti?

- uvijek
- povremeno
- nikad

11. Dali ste kada plaćali za seksualne usluge (seks sa prodavateljem/icom seksualnih usluga)?

- često
- rijetko
- nikada

12. Naplaćivanje seksualnih usluga?

- često
- rijetko
- nikada

13. Dali ste bili inficirani s nekom od sljedećih spolnih bolesti?

- hepatitis B
- hepatitis C
- gonoreja
- sifilis
- genitalni herpes
- HPV
- Drugo _____

14. Je li dosada testirali na virus HIV-a ? Ne Da Ako DA rezultat: _____

15. Imate li neke od navedenih simptoma:

- bolno mokrenje
- pečenje mokraćne cijevi spontano ili tijekom mokrenja
- iscjedak iz mokraćne cijevi (kakav) _____
- crvenilo otvora uretre

- učestalo i hitno mokrenje
- pritisak i bolovi u perineumu, bedrima, donjem abdomenu, leđima, testisima
- erekтивna disfunkcija, ejakulatorna disfunkcija, gubitak libida
- opći simptomi (temperatura, glavobolja, bolovi u mišićima, osip...)
- ostalo _____

16. Da li pušite? _____

3.2.UZORCI KLINIČKOG MATERIJALA

Nakon upoznavanja s ciljem i svrhom istraživanja, ispunjavanja ankete i potpisanog pristanka za sudjelovanje u istraživanju, pacijentima su uzeti obrisci uretre, te su upućeni na davanje urina. Za uzimanje obrisaka koristili su se komercijalni, sterilni, tanki štapići za uzimanje urogenitalnih uzoraka na način da se štapić za uzimanje obriska uveo u uretru u duljini od oko 2 cm lagano rotirajućim pokretima i izvukao van (7,8) Svakom pacijentu uzeta su po tri obriska uretre za dijagnostiku bakterijskih spolnoprenosivih infekcija.

Prvi obrisak koristio se za dijagnostiku gonoreje, drugi obrisak za dijagnostiku mikoplazmoze i ureaplazmoze, a treći za dijagnostiku klamidijaze.

Nakon uzimanja obrisaka pacijenti su upućeni na davanje uzorka prvog mlaza prvog jutarnjeg urina u prostorijama toaleta ambulante. Dobiveni uzorci (obrisi, urin) odmah su upućeni u laboratorije Službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo na dijagnostičku obradu.

3.3. DIJAGNOSTIČKE METODE

U istraživanju su korištene metode izravne mikrobiološke dijagnostike (mikroskopija, kultivacija, detekcija antigena i real time PCR).

3.3.1. Dijagnostika trihomonoze

Za dijagnostiku trihomonoze korištene su metode mikroskopije nativnog preparata, kultivacije i real time PCR-a.

Postupak obrade uzorka urina (6):

1. U epruvetu koničnog dna dodan je 1,0 mL uzorka urina i centrifugiran na 1000 okretaja kroz 5 minuta
2. Tekući dio je odbačen, a sediment je pomiješan s nekoliko kapi tekućine koje su se ocijedile niz stijenku epruvete
3. Dobiveni sediment razdijeljen je na tri dijela
4. Iz jednog dijela pripremljen je nativni mikroskopski preparat, drugi dio je inokuliran u Diamondovu podlogu, a treći dio sedimenta urina obrađen je real time PCR metodom.

3.3.1.1. Mikroskopija nativnog preparata

Na predmetno stakalce stavljena je kap sedimenta urina. Uzorak je pokriven pokrovnim stakalcem i mikroskopiran uz suho povećanje svjetlosnog mikroskopa od 400

puta. Pregledan je cijeli preparat. Pozitivan rezultat mikroskopije predstavljao je nalaz trofozoita *T. vaginalis* karakterističnog načina gibanja i morfologije (6).

3.3.1.2. Kultivacija

Kap sedimenta urina inokulirana je u Diamondovu podlogu predhodno zagrijanu na 37°C u termostatu. Nakon toga podloga je inkubirana na 37°C i tijekom pet dana, makroskopski i mikroskopski pregledavana na porast parazita *T. vaginalis* (6).

Sastav i postupak pripreme Diamondove podloge:

| Sastojci | Proizvođač | Količina |
|-------------------------|------------|------------|
| Tripton soja | Oxoid | 2,0 grama |
| Ekstrakt kvasca | Difco | 1,0 grama |
| Maltoza | BBL | 0,5 grama |
| L-cistein hidroklorid | Sigma | 0,1 grama |
| L-askorbinska kiselina | Kemika | 0,02 grama |
| Bakto agar | Difco | 0,05 grama |
| Destilirana voda pH 6,0 | | 90 mL |

Postupak pripreme

1. Izvagane tvari (osim bakto agara) su otopljene u demineraliziranoj vodi
2. Uz miješanje je dodan bakto agar
3. Smjesa je sterilizirana u autoklavu tijekom 15 minuta na 121°C
4. Nakon ohlađivanja na 45°C smjesi su aseptički dodani:

Inaktivirani konjski serum proizvođača „Imunološki Zavod“ u količini od 10 mL

Kristalni penicilin 800 000 IJ proizvođača „Pliva“ u količini od 0,1 grama

Streptomycin sulfat proizvođača „Sigma“ u količini od 0,1 grama

Nistatin 5 000 000 IJ proizvođača „Sigma“ u količini od 0,00023 grama

5. Pripremljena podloga rastočena je u sterilizirane staklene epruvete veličine 16x160 mm u količini od 7 mL. Do upotrebe podloge su bile pohranjene u hladnjaku na +4 °C

3.3.1.3. Real time PCR metoda

DNK trihomonasa je izolirana iz sedimenta urina po preporukama proizvođača QIAGEN GmbH, Njemačka, korištenjem komercijalnog kita QIAamp DNA Mini Kit.

Postupak izolacije DNK bio je sljedeći:

1. U epruvetu volumena od 1,5 mL stavljeno je 20 µL QIAGEN proteinaze K, 200 µL sedimenta urina i 200 µL AL pufera
2. Smjesa je zatim vorteksirana i inkubirana 10 minuta na 56°C u termobloku
3. Nakon inkubacije epruveta je centrifugirana 15 sekundi na 8000 okretaja
4. Dodano je 200 µL etanola, smjesa je ponovno vorteksirana i uzorak je prenešen u filter epruvetu koja se nalazi u kitu
5. Smjesa je ponovno centrifugirana 1 minutu na 8000 okretaja
6. Donja epruveta je odbačena, a filter je prebačen u novu epruvetu u koju je dodano 500 µL AW1 pufera i smjesa je ponovno centrifugirana 1 minutu na 8000 okretaja
7. Donja epruveta je odbačena, a filter se ponovno prebacio u novu epruvetu u koju je dodano 500 µL AW2 pufera
8. Smjesa je ponovno centrifugirana 3 minute na 13000 okretaja

9. Donja epruveta je odbačena, a filter je pažljivo prebačen u 1,5 mL epruvetu pazeći da ne dođe u kontakt s donjim sadržajem.
10. Na filter je dodano 200 μ L AE pufera
11. Smjesa je inkubirana na sobnoj temperaturi 1 minutu i zatim centrifugirana 1 minutu na 8000 okretaja
12. Gornja epruveta je odbačena, a donja s izoliranom DNK je spremljena u ledenicu na -20°C do izvođenja real time PCR metode

Kao ampikon korištena je u literaturi opisana 67-bazna ponavljajuća sekvenca genoma *T. vaginalis* sa sljedećim slijedom baza (115):

- za forward početnicu: 5'-CATTGACCACACGGACAAAAAG-3'
- za reverse početnicu: 5'-CGAAGTGCTCGAATGCGA-3',

te proba sa sljedećim slijedom baza:

- 5'-FAM-TCATTTTCGGATGGTCAAGCAGCCA-TAMRA-3'.

Real-time PCR rađen je u aparatu 7500 Real Time PCR System Machine proizvođača Applied Biosystems. Korišten je TaqMan Universal PCR Master Mix Kit (Applied Biosystems). Za kontrolu prisustva inhibitora PCR reakcije korištena je interna kontrola - TaqMan Exogenous Internal Positive Control Reagents također proizvođača Applied Biosystems. Kod izvođenja svakog real-time PCR-a korištena je pozitivna (DNK trihomonasa) i negativna kontrola (ddH₂O).

Postupak izvođenja real-time PCR-a bio je sljedeći:

Master miks pripremio se u prostoru malog biozaštitnog kabineta na sljedeći način:

1. U 1,5 mL epruvetu volumena od 1,5 mL dodani su sljedeći reagensi umnoženi za broj uzoraka i kontrola (pozitivnom i negativnom):
 - 12,5 μ L TaqMan Universal PCR Master Mixa

- 0,5 μL 50xIPC
 - 2,5 μL 10xIPC
 - 2,5 μL probe (2,5 μM)
 - 2,25 μL *forward* početnica (10 μM)
 - 2,25 μL *reverse* početnica (10 μM)
2. Po 22,5 μL pripravljenog master miksa stavljeno je u svaku optičku epruvetu
vlumena od 0,2mL

Priprema uzorka obavila se u predamplifikacijskom prostoru velikog biozaštitnog kabineta na sljedeći način:

1. U optičku epruvetu dodano je 2,5 μL izolirane DNK, u epruvetu pozitivne kontrole 2,5 μL pozitivne, a u epruvetu negativne kontrole 2,5 μL negativne kontrole (ddH₂O).
2. Epruvete su začepljene pripadajućim optičkim kapticama

Amplifikacija je provedena po sljedećem programu:

Korak 1: 50°C, 2 minute - aktivacija UNG enzima.

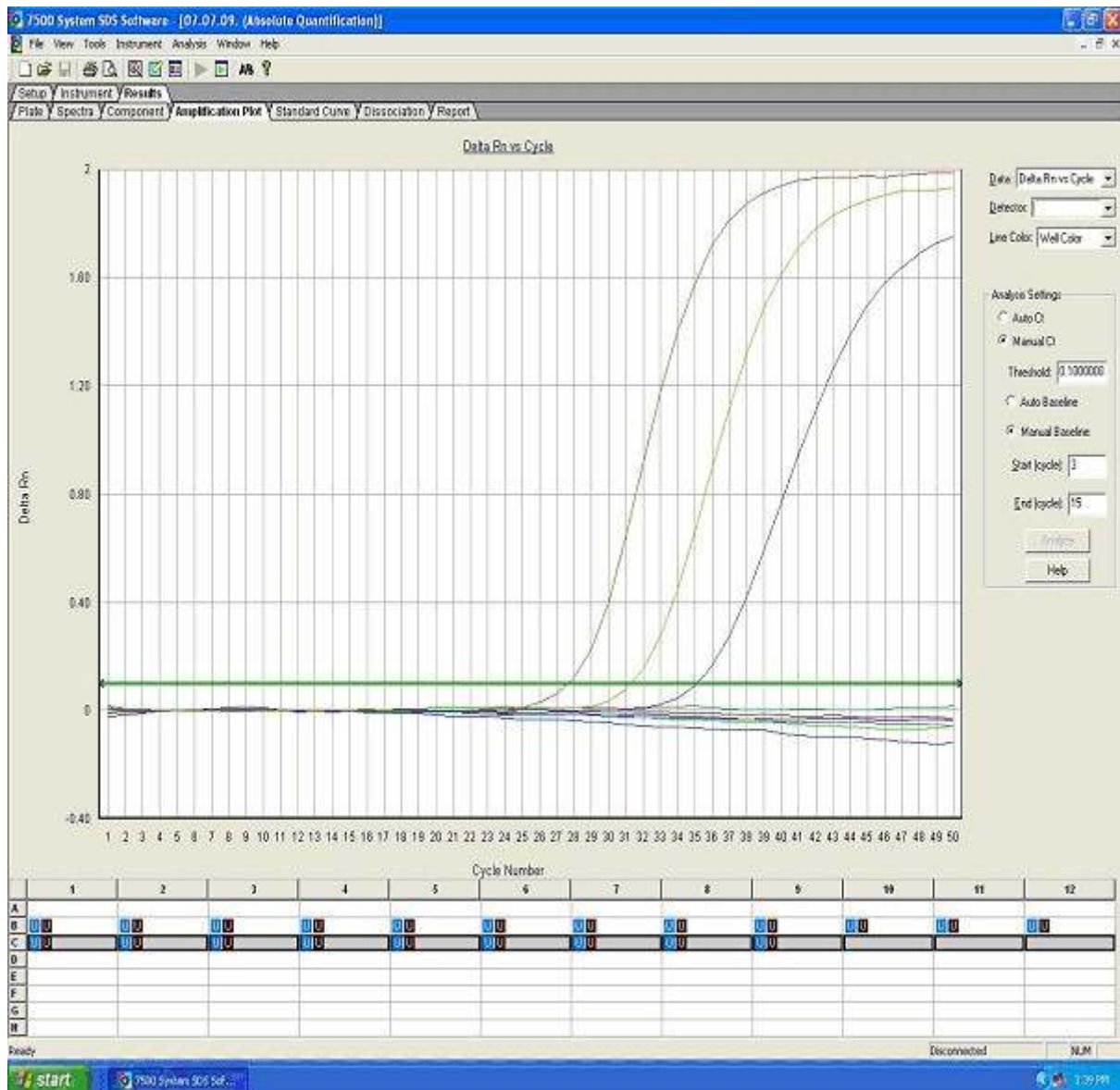
Korak 2: 95°C, 10 minuta - denaturacija i aktivacija DNK polimeraze.

Korak 3: 45 ciklusa

95°C, 15 sekundi

60°C, 1 minuta

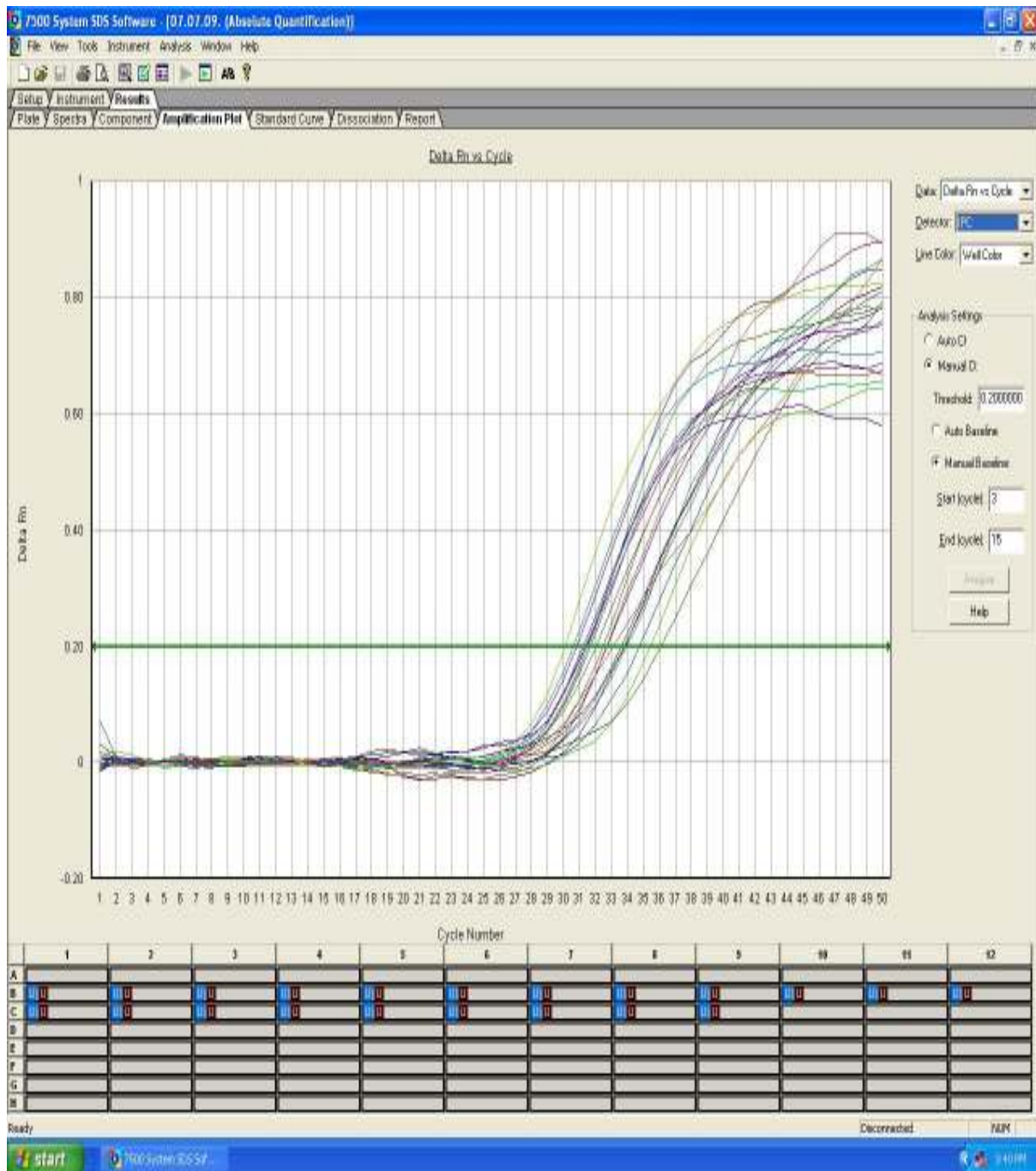
Analiza rezultata nakon završenog real-time PCR-a



Slika 7. Pozitivni rezultat prikazan je sigmoidnom krivuljom koja siječe Ct pravac.

(crvena i zelena – pozitivni uzorci; ljubičasta – pozitivna kontrola).

Ravne crte prikazuju negativne uzorke i negativnu kontrolu.



Slika 8. Sigmoidne krivulje prikazuju pozitivni rezultat za interne pozitivne kontrole, dokaz da nema inhibicije PCR-a

3.3.2. Dijagnostika bakterijskih spolnoprenosivih infekcija

3.3.2.1. Dijagnostika infekcije bakterijom *Neisseria gonorrhoeae*

Dijagnostika gonoreje provodila se u Odsjeku za dijagnostiku urogenitalnih infekcija Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo iz prvog obriska uretre. Uzeti obrisci odmah su nakon uzimanja transportirani u laboratorij na mikrobiološku obradu.

Za uzgoj gonokoka koristila se kruta selektivna podloga po Thayer Martinu u čijoj recepturi se nalaze četiri antimikrobna lijeka: vankomicin (3 μ g/mL) za inhibiciju gram pozitivnih bakterija; kolistin (7,5 μ g/mL) za inhibiciju rasta gram negativnih bakterija uključujući komenzalne predstavnike roda *Neisseria*; trimetoprim (5 μ g/mL) za inhibiciju puzajućih bakterija roda *Proteus* i antimikotik nistatin (13,5 μ g/mL). Inkubacija zasijanih podloga provodila se u mikroaerofilnoj atmosferi s povećanim udjelom ugljičnog dioksida i vlage na 37°C kroz tri dana. Zasijane podloge svakodnevno su pregledavane na porast morfološki tipičnih kolonija.

N. gonorrhoeae identificirana je standardnim bakteriološkim metodama (7).

3.3.2.2. Dijagnostika infekcije bakterijama *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum*

Dijagnostika mikoplazmoze i ureaplazmoze provodila se u Odsjeku za mikoplazme Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo iz drugog uzetog obriska uretre. Kultivacija uzročnika ovih infekcija provodila se na selektivnim krutim podlogama (modificirani A7 agar). Podloge su inkubirane u anaerobnom loncu (gas pack system) u trajanju od 2 do 5 dana na temperaturi od 37°C. Nakon proteka vremena pregledavane su makroskopski na promjenu boje prisutnog indikatora što je upućivalo na porast bakterije *U. urealyticum*. Pregledom podloga svjetlosnim

mikroskopom (povećanje od 100 puta) u slučaju pozitivnog nalaza bile su uočene kolonije bakterija *U. urealiticum* i/ili *M. hominis* tipične morfologije (7).

3.3.2.3. Dijagnostika infekcije bakterijom *C. trachomatis*

Dijagnostika klamidijaze provodila se se u Odsjeku za dijagnostiku klamidijskih infekcija Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo iz trećeg uzetog obriska uretre. Za detekciju je korišten komercijalni kit Microtrak Chlamydia EIA, proizvođača Trinity Biotech plc, Irska po uputama proizvođača.

Postupak testa:

1. Obrisak uretre pacijenta bio je tretiran s 1 mL otopine za eluciju
2. U svaku jažicu dodano je 100 μ L ovčjih protutijela na lipopolisaharidni antigen *C. trachomatis*
3. Zatim je u svaku jažicu dodan prethodno pripremljen uzorak pacijenta u količini od 100 μ L
4. Inkubacija je trajala 90 minuta u termostatu na 37°C
5. Ispiranje se provodilo otopinom detergenta 5 puta s po 500 μ L
6. Dodan je konjugat (peroksidazom označeni protuzečji IgG)
7. Inkubacija je trajala 30 minuta u termostatu na 37°C
8. Dodan je supstrat (TMB i peroksid)
9. Inkubacija je trajala 30 minuta u termostatu na 37°C

10. Za zaustavljanje reakcije dodana je otopina sumporne kiseline

11. Absorbancija je očitana spektrofotometrom pri valnoj dužini od 450 nm

U svakom ciklusu testa korištena je pozitivna i negativna kontrola.

Tumačenje rezultata:

Računanje granične vrijednosti = Vrijednost absorbancije negativne kontrole + 0.200

Uzorak koji je imao vrijednost absorbancije veću od granične vrijednosti smatran je pozitivnim, a uzorak s vrijednošću absorbancije manjom od granične vrijednosti smatran je negativnim.

3.4. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Podaci su statistički analizirani korištenjem programske podrške SPSS 13.0. dr.sc. Ozren Polašek, dr.med. po licenci Sveučilišta u Edinburghu, Public Health Sciences.

U statističkoj analizi podataka korištene su univarijatne, bivarijatne i multivarijatne statističke metode.

Osnovni demografski podaci istraživane populacije prikazani su kao postotci. Također se postocima izrazila prevalencija trihomonoze, kao i drugih dijagnosticiranih spolno prenosivih infekcija (mikoplazmoze, ureaplazmoze, gonoreje i klamidijaze). Ujedno, postocima je prikazana učestalost pojedinih simptoma spolno prenosivih infekcija uzrokovanih trihomonasom i pojedinim bakterijskim uzročnicima, kao i prevalencija čimbenika rizika za obolijevanje od infekcija uzročnicima spolno prenosivih infekcija.

Od bivarijatnih metoda, za statističku analizu kategorijskih podataka korišten je hi-kvadrat test, a za analizu numeričkih podataka t-test ili Mann-Whitney test, ovisno o distribuciji podataka. Tablice kontingencije koje su imale u više od 20% polja očekivanu frekvenciju manju od 5 analizirane su Fisherovim egzaktnim testom. U analizi više istraživanih skupina korišten je Kruskal-Wallisov test. U analizi distribucije podataka korišten je Kolmogorov-Smirnovljev test. Dodatno je korišteno i klasifikacijsko stablo, temeljem CHAID algoritma (*Chi-squared Automatic Interaction Detector*).

Ispitivanje valjanosti novo primjenjene metode real time PCR-a u dijagnostici trihomonoze provelo se pomoću određivanja osjetljivosti i specifičnosti, u odnosu na metodu "zlatnog standarda" - kultivaciju.

Od multivarijatnih metoda korištena je logistička regresija s dijagnozom trihomonoze kao zavisnom varijablom. U taj model uključene su varijable koje mogu dovesti do

posredovane povezanosti (engl. *confounding*), poput dobi i socio-ekonomskih pokazatelja, a pomoću njega se istražila povezanost trihomonoze s čimbenicima rizika za infekciju (npr. spolni odnosi izvan Republike Hrvatske, broj spolnih partnera u proteklih godinu dana, dob pri prvom spolnom odnosu, korištenje kondoma tijekom spolnog odnosa, plaćanje za seksualne usluge, naplaćivanje seksualnih usluga, oboljevanje od spolnih bolesti u prošlosti, korištenje droge/alkohola prije spolnih aktivnosti, pušenje i dr.).

4. REZULTATI

4.1. OPĆI PODACI

U istraživanje je uključeno ukupno 700 ispitanika. Po prisutnosti ili odsutnosti simptoma uretritisa ispitanici su svrstani u dvije skupine. U jednoj skupini ispitanika nalazilo se 500 punoljetnih muškaraca sa simptomima uretritisa, a u drugoj, kontrolnoj skupini 200 punoljetnih muškaraca bez simptoma uretritisa.

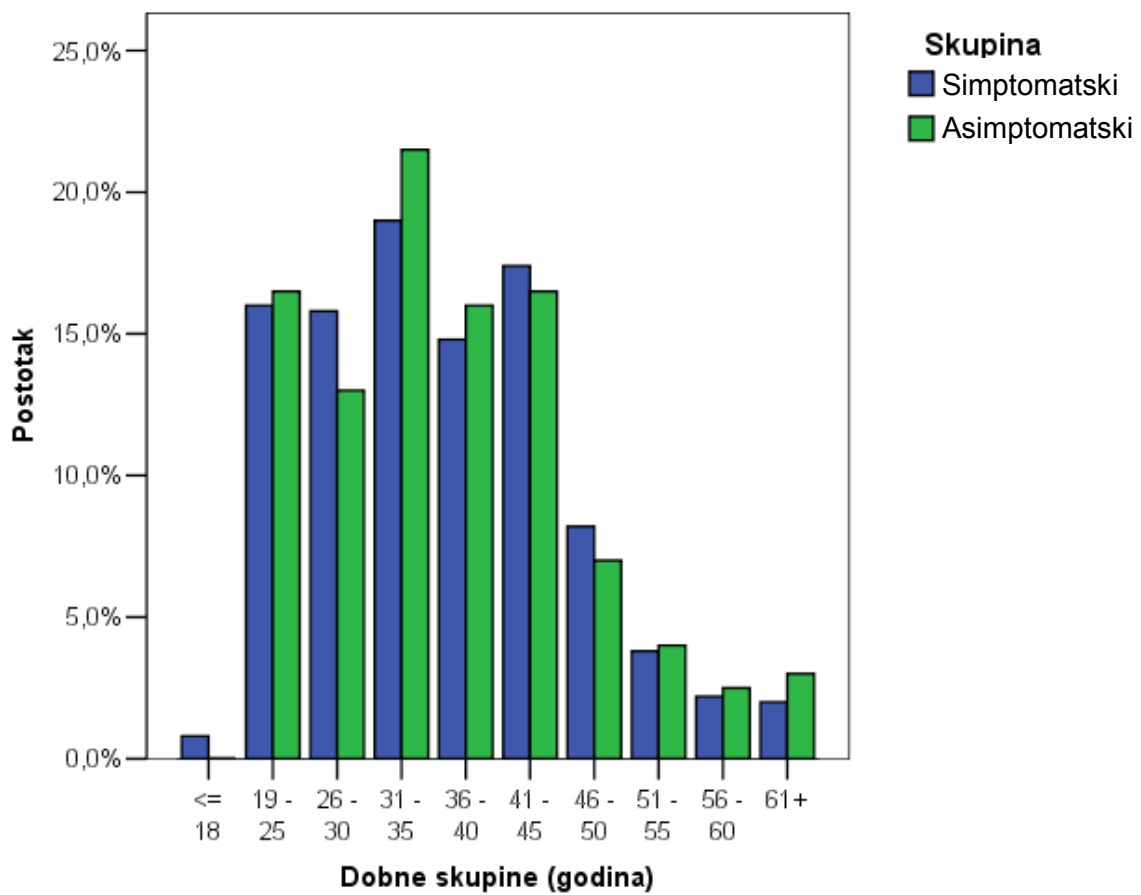
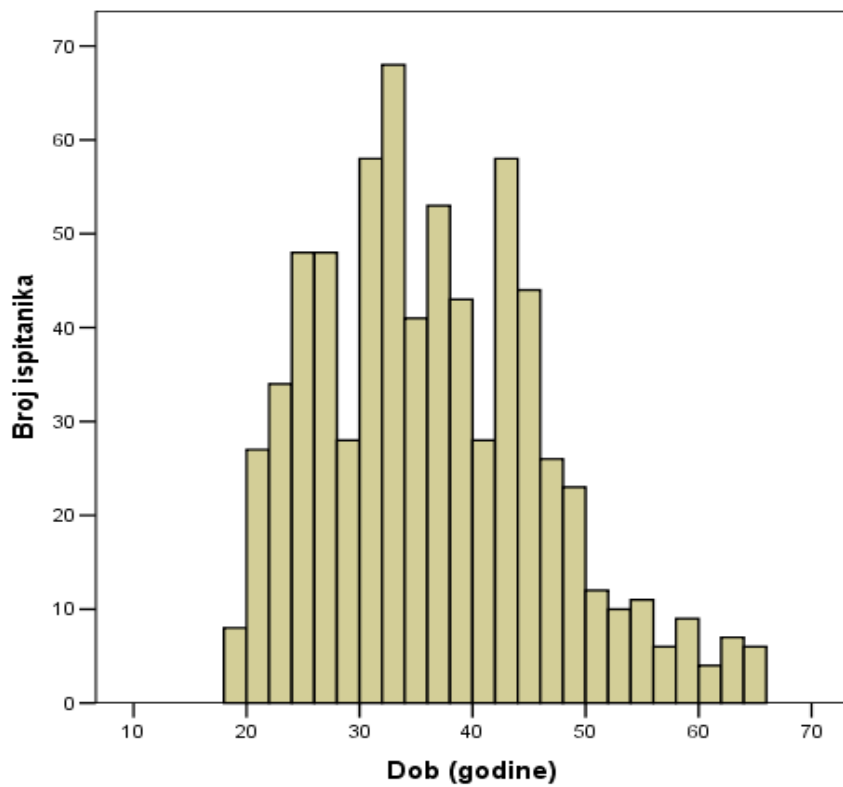
Prosječna životna dob svih ispitanika iznosila je 37,8 godina. Medijan dobi svih ispitanika iznosio je 35,0 godina - interkvartilni raspon (IKR) 15,0 godina. Prosječna životna dob simptomatskih muškaraca bila je 37,7 godina, medijan 35,0 (IKR 15,0), dok je prosječna životna dob asimptomatskih ispitanika bila 38,0, medijan 35,0 (IKR 15,0). Usporedbom dobi između ove dvije skupine ispitanika nije nađena statistički značajna razlika ($P=0,560$)

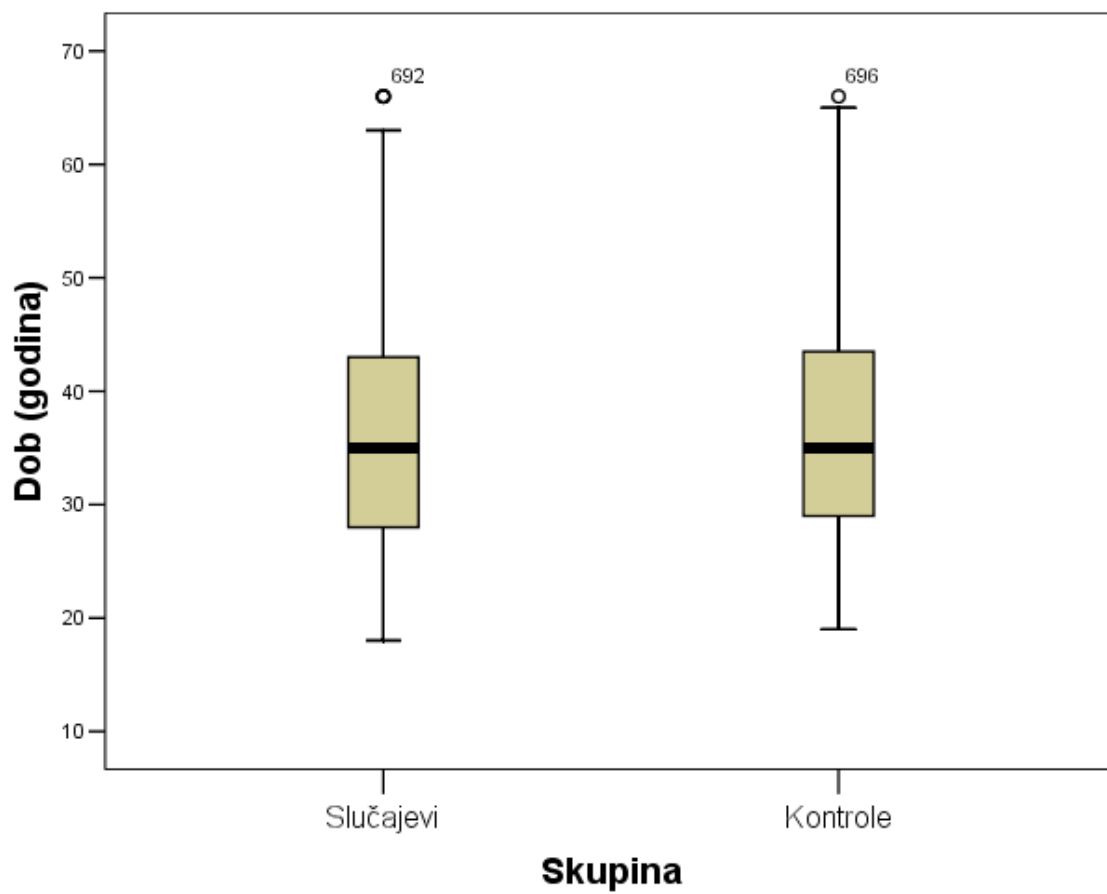
Dobna raspodjela ispitanika odstupala je statistički značajno od normalne raspodjele (tablica 3, grafikon 1, 2 i 3) (Kolmogorov-Smirnov test $P<0,001$).

| Obilježje | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici | Ukupno | Statistika; P* |
|---|-------------------------|--------------------------|-------------|----------------|
| Dob u godinama: medijan (interkvartilni raspon) | 35,0 (15,0) | 35,0 (15,0) | 35,0 (15,0) | -0,58; 0,560 |
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 444 (88,8) | 180 (90,0) | 624 (89,1) | 0,21; 0,645 |
| Selo | 56 (11,2) | 20 (10,0) | 76 (10,9) | |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 70 (14,0) | 27 (13,5) | 97 (13,9) | 0,25; 0,884 |
| Srednja škola | 300 (60,0) | 124 (62,0) | 424 (60,6) | |
| Viša škola ili fakultet | 130 (26,0) | 49 (24,5) | 179 (25,6) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 364 (72,8) | 151 (75,5) | 515 (73,6) | 0,54; 0,464 |
| Nezaposlen | 136 (27,2) | 49 (24,5) | 185 (26,4) | |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 196 (39,2) | 93 (46,5) | 289 (41,3) | 3,19; 0,203 |
| Neoženjen | 197 (39,4) | 68 (34,0) | 265 (37,9) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 107 (21,4) | 39 (19,5) | 146 (20,9) | |
| Djeca; n (%) | | | | |
| Da | 215 (43,0) | 87 (43,5) | 302 (43,1) | 0,02; 0,904 |
| Ne | 285 (57,0) | 113 (56,5) | 398 (56,9) | |
| Ukupno; n | 500 | 200 | 700 | - |

Tablica 3. Obilježja simptomatskih i asimptomatskih ispitanika s obzirom na životnu dob, prebivalište, razinu obrazovanja, zaposlenje, bračni status i roditeljstvo

*Za analizu dobi korišten je Mann-Whitney test, a za analizu ostalih varijabli korišten je χ^2 test

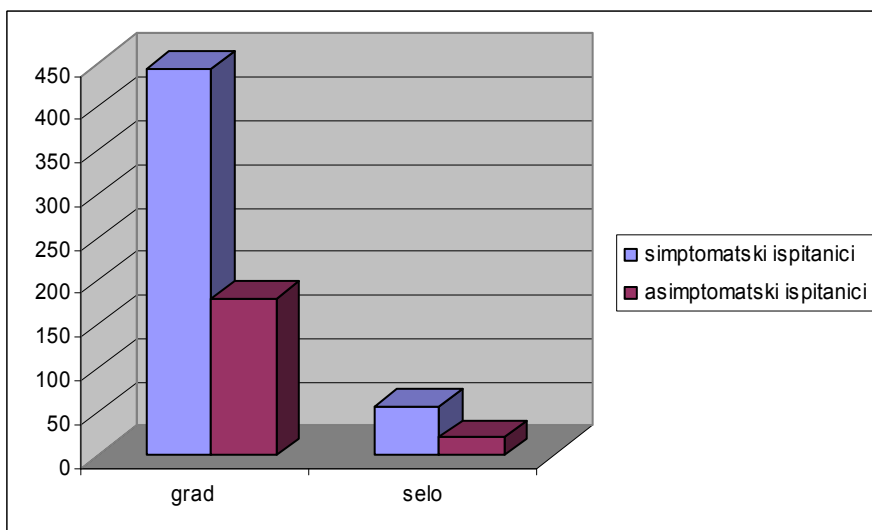
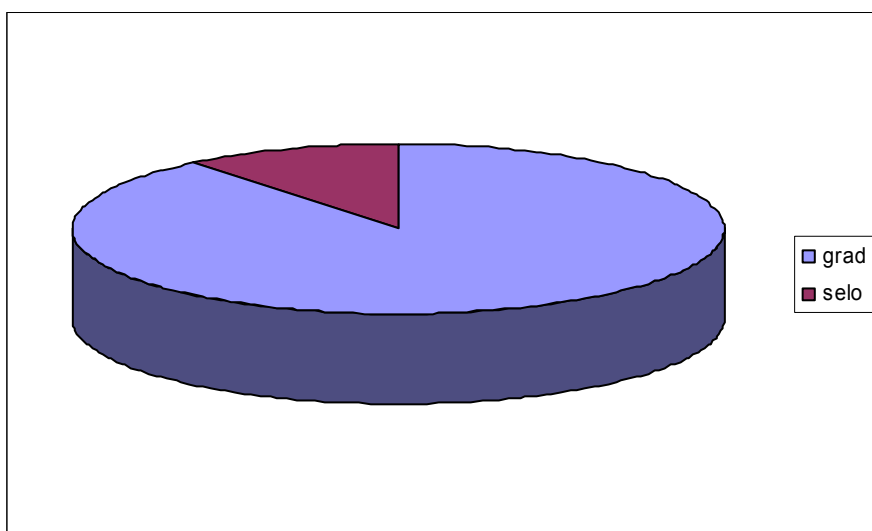




Grafikon 1, 2, 3. Raspodjela simptomatskih i asimptomatskih ispitanika prema životnoj dobi (1), po dobnim skupinama (2) i box plot prikaz raspodjele ispitanika prema životnoj dobi (3)

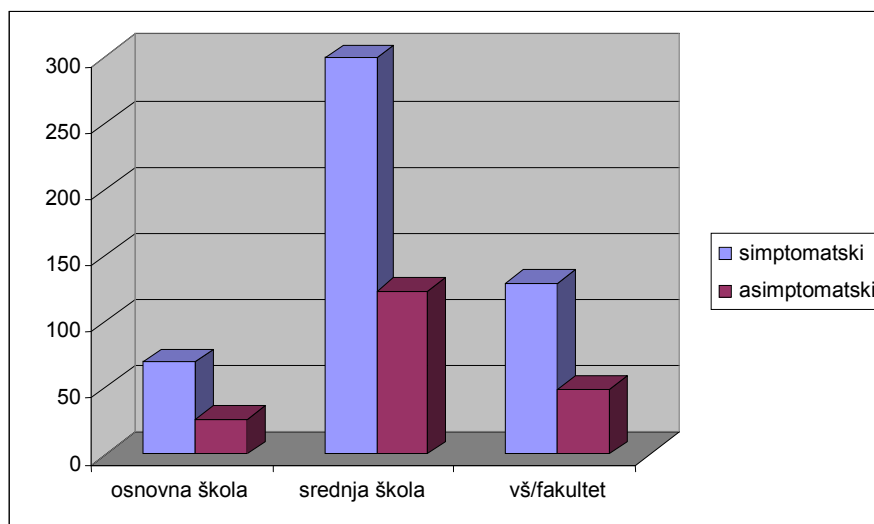
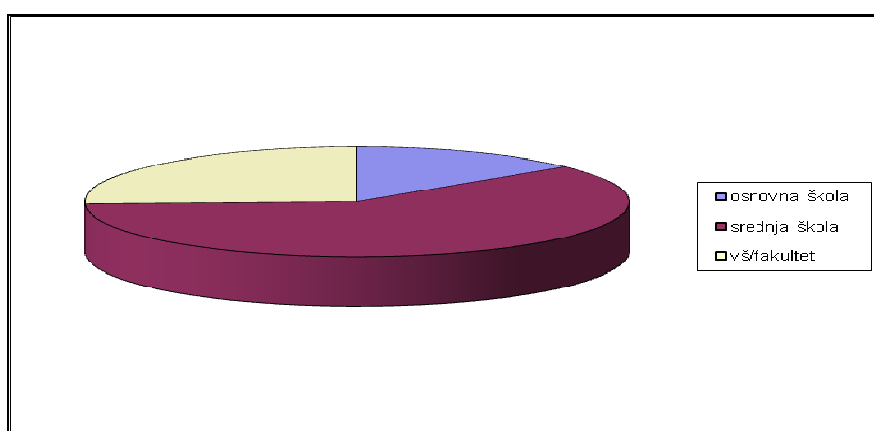
Prebivalište u gradu imalo je 624 (89,1%) ispitanika, a na selu njih 76 (10,9%) (tablica 3, grafikon 4).

Prebivalište u gradu imalo je 444 (88,8%) ispitanika sa simptomima uretritisa i 180 (90%) ispitanika bez simptoma uretritisa (tablica 3, grafikon 5). Nije nađena statistički značajna razlika ($\chi^2=0,21$; $p=0,645$).



Grafikon 4 i 5. Raspodjela svih ispitanika (4), te simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (5) prema prebivalištu

Završenu samo osnovnu školu imalo je 97 (13,9%) od 700 ispitanika, 70 (14,0%) simptomatskih i 27 (13,5%) asimptomatskih ispitanika. Srednjoškolsko obrazovanje imalo je 424 (60,6%) od ukupnog broja ispitanika. Ovu razinu obrazovanja imalo je 300 (60,0%) simptomatskih i 124 (62,0%) asimptomatskih ispitanika. Visokoškolsko obrazovanje imalo je 179 (25,6%) od 700 ispitanika. Višu školu ili fakultet završilo je 130 (26,0%) simptomatskih i 49 (24,5%) asimptomatska ispitanika (tablica 3, grafikon 6 i 7). Usporednom ovih varijabli nije nađena statistički značajna razlika ($\chi^2=0,25$; $p=0,884$).

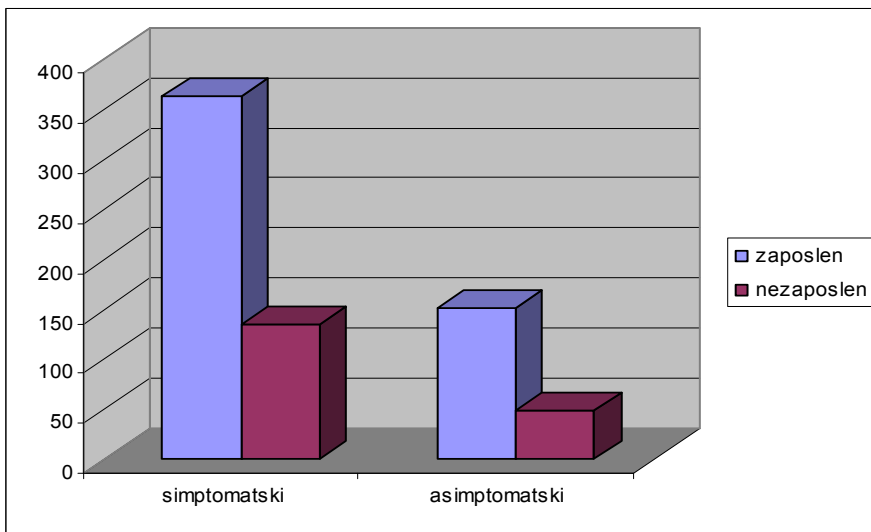
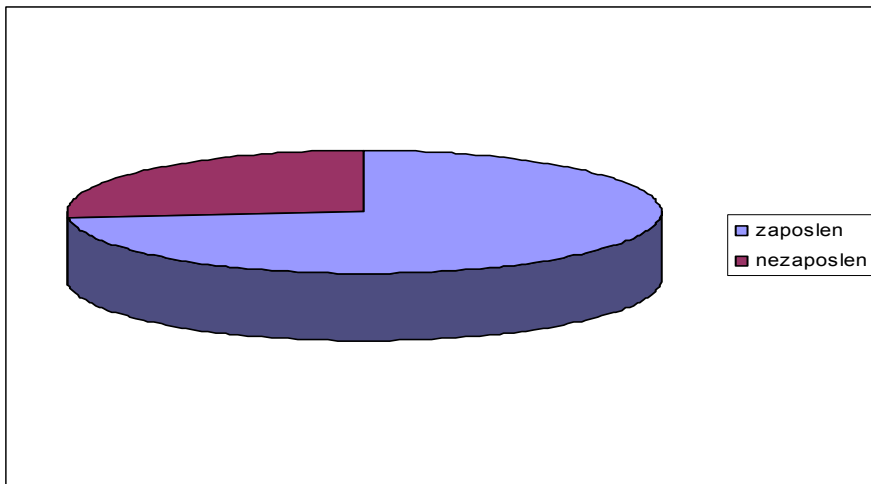


Grafikon 6 i 7. Raspodjela svih ispitanika (6) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (7) prema razini obrazovanja

Od ukupnog broja ispitanika njih 515 (73,6%) bilo je zaposlenih (tablica 3, grafikon 8).

Zaposlenih simptomatskih ispitanika bilo je 364 (72,8%), a nezaposlenih 136 (27,2%).

Zaposlenje je imao 151 (75,5%) asimptomatski ispitanik, a zaposlenje nije imalo njih 49 (24,5%) (tablica 3, grafikon 9). Nije bilo statistički značajne razlike ($\chi^2= 0,54$; $p=0,464$).



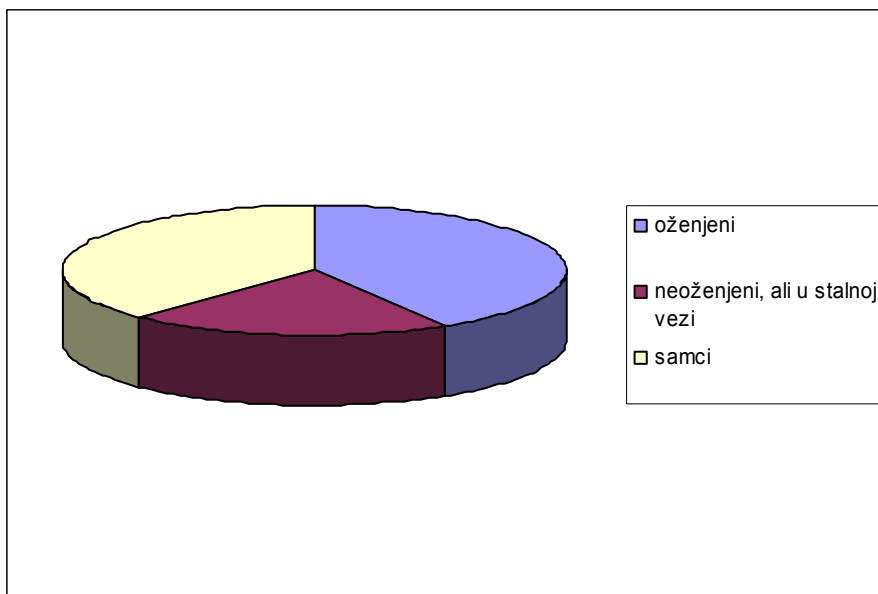
Grafikon 8 i 9. Raspodjela svih ispitanika (8) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (9) s obzirom na zaposlenje

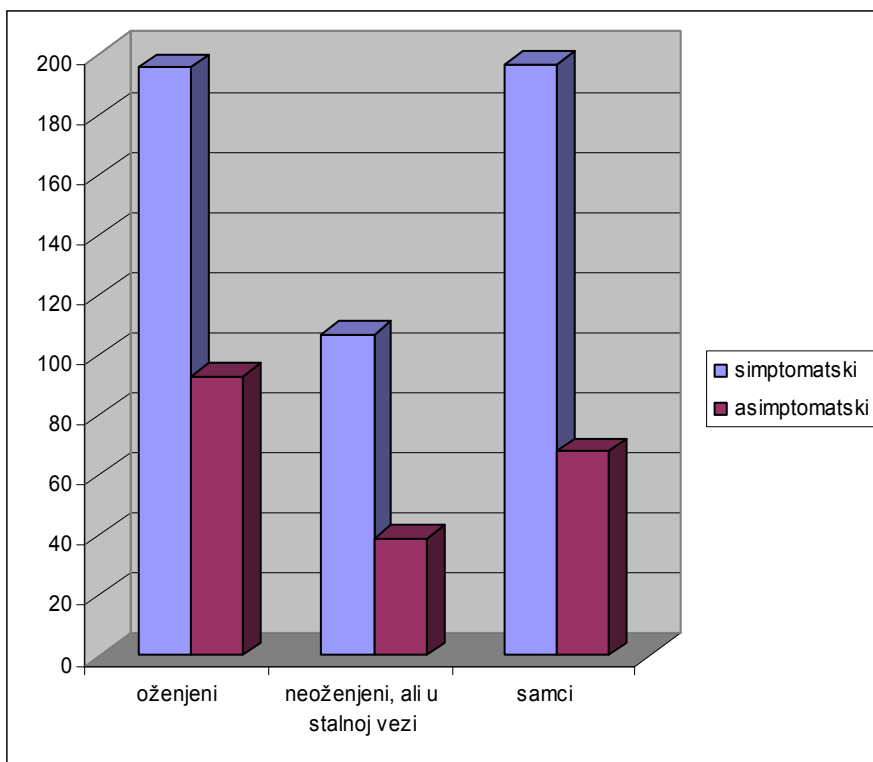
Dvije stotine osamdeset devet ispitanika (41,3%) bilo je oženjeno, 146 (20,9%) bilo je neoženjeno, ali u stalnoj vezi, a 265 (37,9%) su bili samci (tablica 3, grafikon 10).

U ispitanika s simptomima njih 196 (39,2%) je bilo u braku, 107 (21,4%) nije bilo u braku, ali je bilo u stalnoj vezi, a 197 (39,4%) su bili samci (tablica 3, grafikon 11).

U asimptomatskih ispitanika njih 93 (46,5) su bila u braku, 39 (19,5%) nije bilo u braku, ali je bilo u stalnoj vezi, a 68 (34,0%) su bili samci (tablica 3, grafikon 11).

Između ispitanika obje skupine nije zabilježena statistički značajna razlika u odnosu na bračni/intimni status ($\chi^2=3,19$; $P=0,203$).





Grafikon 10 i 11. Raspodjela svih ispitanika (10) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (11) prema bračnom statusu

Ukupno 302 (41,3%) ispitanika, 215 (43,0%) simptomatskih i 87 (43,5%) asimptomatskih ispitanika istaknulo je da ima djecu. Nije bilo statistički značajne razlike u ovoj varijabli (tablica 3) ($\chi^2=0,02$; $P=0,904$).

4.2. PODACI IZ SPOLNOG ŽIVOTA ISPITANIKA

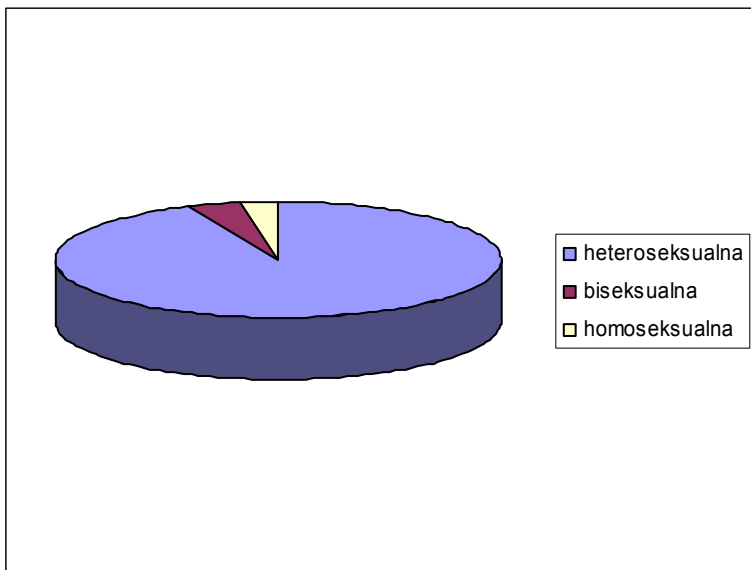
| Obilježje | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici | Ukupno | Statistika; P* |
|---|-------------------------|--------------------------|------------|----------------|
| Spolna orijentacija | | | | |
| Heteroseksualna | 463 (92,6) | 191 (95,5) | 654 (93,4) | 2,32; 0,314 |
| Biseksualna | 20 (4,0) | 6 (3,0) | 26 (3,7) | |
| Homoseksualna | 17 (3,4) | 3 (1,5) | 20 (2,9) | |
| Spolni odnos bez korištenja kondoma bilo kada u prošlosti; n (%) | | | | |
| Da | 480 (96,0) | 195 (97,5) | 675 (96,4) | 0,93; 0,334 |
| Ne | 20 (4,0) | 5 (2,5) | 25 (3,6) | |
| Korištenje kondoma tijekom spolnog odnosa* | | | | |
| Uvijek | 32 (6,4) | 7 (3,5) | 39 (5,6) | 2,76; 0,251 |
| Ponekad | 303 (60,0) | 117 (58,5) | 420 (60,0) | |
| Nikada | 165 (33,0) | 73 (36,5) | 238 (34,0) | |
| Spolni odnos s prodavateljicom seksualnih usluga; n (%) | | | | |
| Da | 56 (11,2) | 16 (8,0) | 72 (10,3) | 1,59; 0,208 |
| Ne | 444 (88,8) | 184 (92,0) | 628 (89,7) | |
| Spolni odnos s muškarcima; n (%) | | | | |
| Da | 29 (5,8) | 10 (5,0) | 39 (5,6) | 0,17; 0,677 |
| Ne | 471 (94,2) | 190 (95,0) | 661 (94,4) | |
| Spolni odnosi izvan Republike Hrvatske | | | | |
| Da | 137 (27,4) | 31 (15,5) | 168 (24,0) | 11,1; 0,001 |
| Ne | 363 (72,6) | 169 (84,5) | 532 (76,0) | |
| Ukupno; n | 500 | 200 | 700 | - |

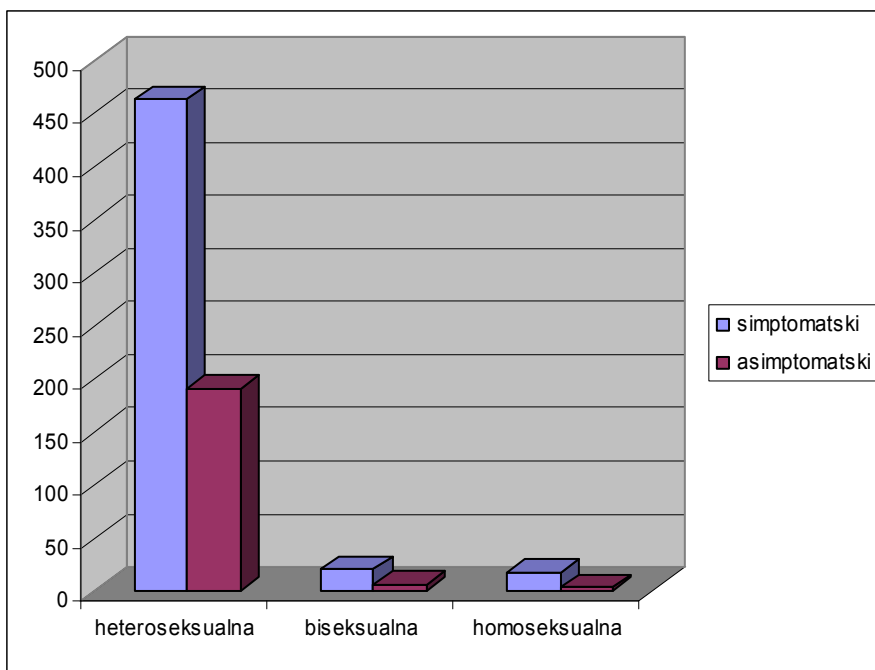
Tablica 4. Obilježja simptomatskih i asimptomatskih ispitanika s obzirom na spolnu orijentaciju, spolni odnos bez korištenja kondoma bilo kada u prošlosti, korištenje kondoma

tijekom zadnjeg spolnog odnosa, spolni odnos s prodavateljicom seksualnih usluga, spolni odnos s muškarcima i na spolne odnose izvan Republike Hrvatske.

Korišten je χ^2 -kvadrat test (* zbroj odgovora nije 700 jer neki ispitanici nisu odgovorili na ovo pitanje)

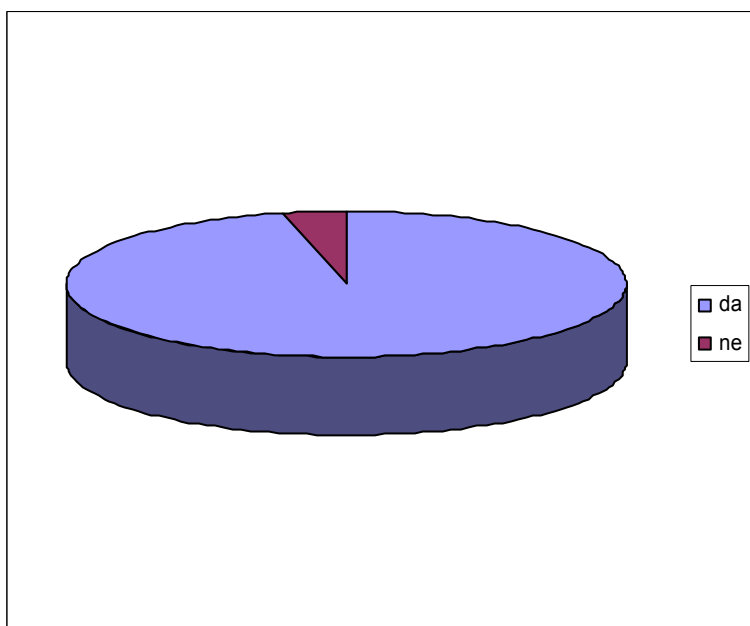
Heteroseksualnu spolnu orijentaciju izjavila su ukupno 654 (93,4%) ispitanika, 463 (92,6%) simptomatska i 191 (95,5%) asimptomatski ispitanik, biseksualnu ukupno 26 (3,7%) ispitanika, 20 (4,0%) simptomatskih i 6 (3,0%) asimptomatskih ispitanika, a homoseksualnu spolnu orijentaciju 20 (2,9%) ispitanika, 17 (3,4%) simptomatskih i 3 (1,05%) asimptomatskih ispitanika (tablica 4, grafikon 12 i 13). Nije bilo statistički značajne razlike ($\chi^2=2,32$; $P=0,314$).

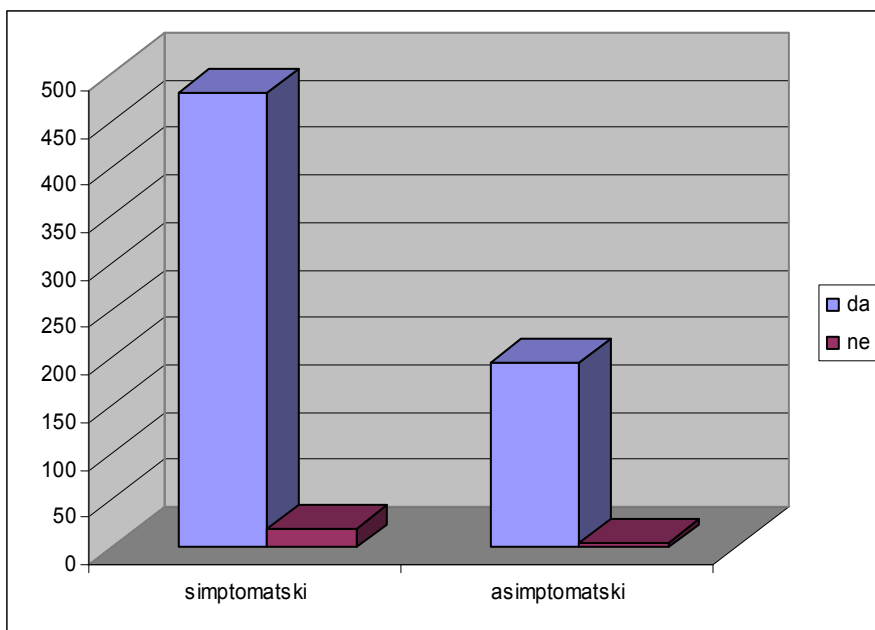




Grafikon 12 i 13. Raspodjela svih ispitanika (12) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (13) prema spolnoj orijentaciji

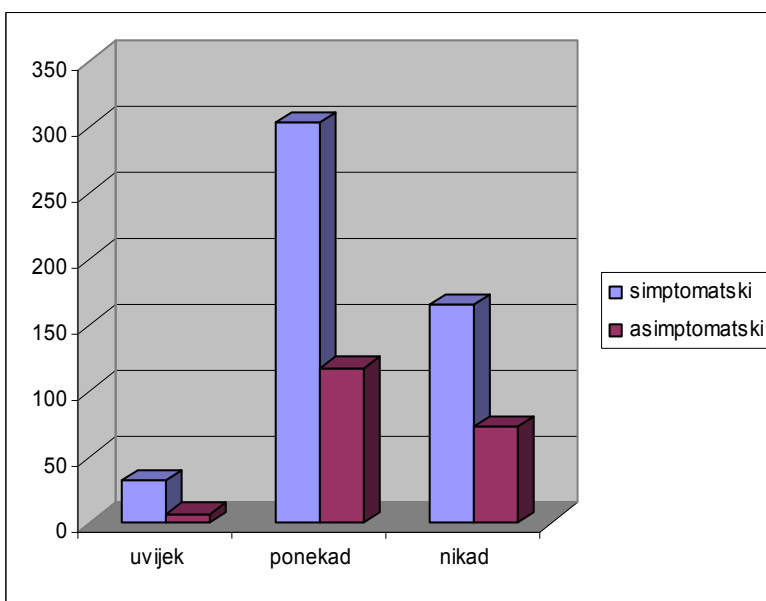
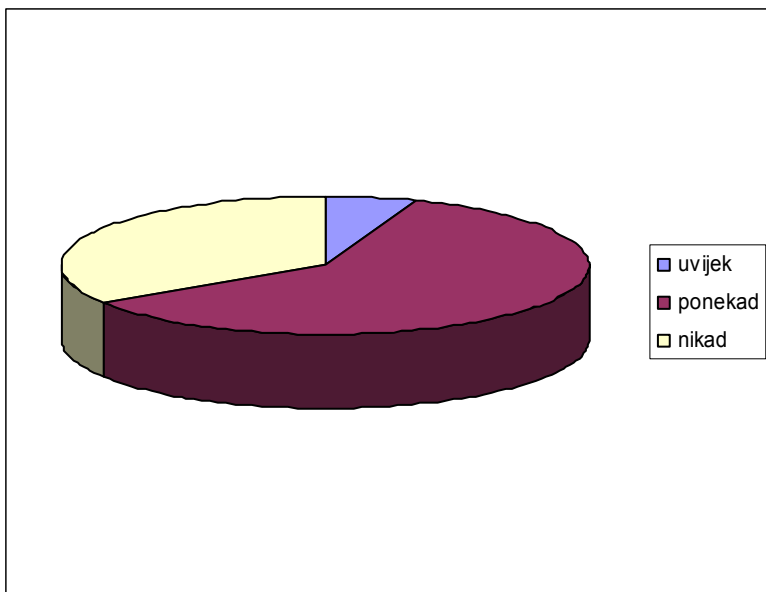
Na pitanje o spolnom odnosu bez korištenja kondoma bilo kada u prošlosti ukupno je 675 ispitanika (96,4%) (tablica 4, grafikon 14), a od toga 480 (96,0) simptomatskih i 195 (97,5%) asimptomatska odgovorilo potvrdno (tablica 4, grafikon 15). Nije bilo statistički značajne razlike ($\chi^2=0,93$; $P=0,334$).





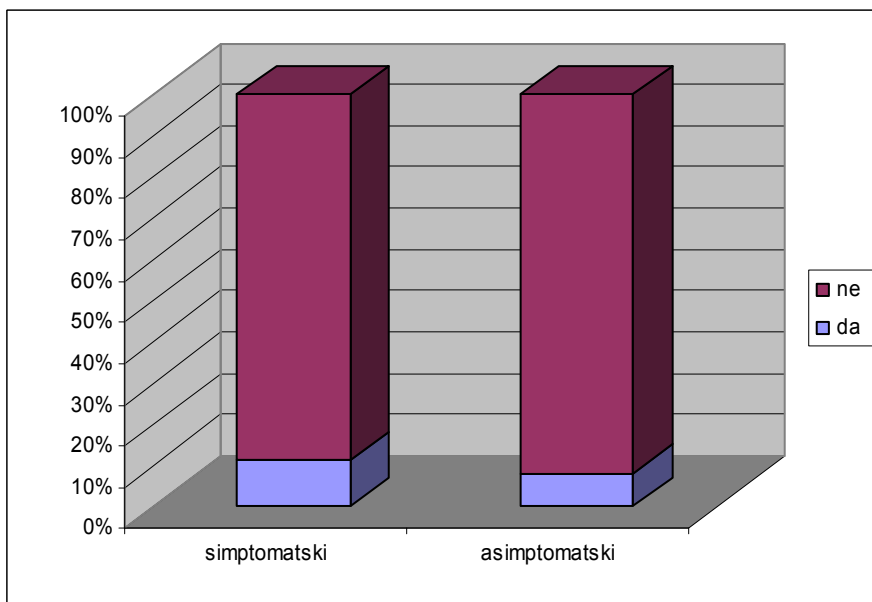
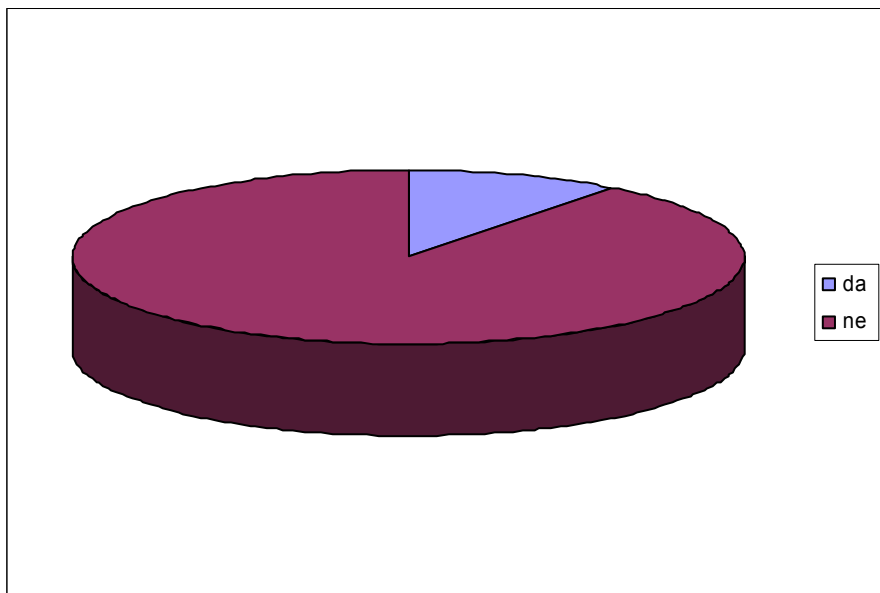
Grafikon 14 i 15. Raspodjela svih ispitanika (14), te simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (15) prema podacima o spolnom odnosu bez korištenja kondoma u prošlosti

Što se tiče navike korištenja kondoma prilikom spolnog odnosa ukupno 39 (5,6 %) ispitanika; 32 (6,4%) simptomatska i 7 (3,5%) asimptomatskih zaštitu koristi uvijek, 420 (60,0%) ispitanika; 303 (60,0%) simptomatskih i 117 (58,5%) asimptomatskih kondome koristi ponekad, a 238 (34,0%); 165 (33,0%) simptomatskih i 73 (36,5%) asimptomatskih ispitanika nikada ne koristi zaštitu (tablica 4, grafikon 16 i 17). Nije nađena statistički značajna razlika ($\chi^2=2,76$; $P=0,251$).



Grafikon 16 i 17. Raspodjela svih ispitanika (16) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (17) prema podacima o učestalosti korištenja kondoma tijekom spolnog odnosa

Ukupno su 72 (10,3%) ispitanika imala spolni odnos s prodavateljicom seksualnih usluga (tablica 4, grafikon 18), od toga njih 56 (11,2%) simptomatskih i 16 (8,0%) asimptomatskih (grafikon 18,19). Nije nađena statistički značajna razlika ($\chi^2=1,59$; $P=0,208$).



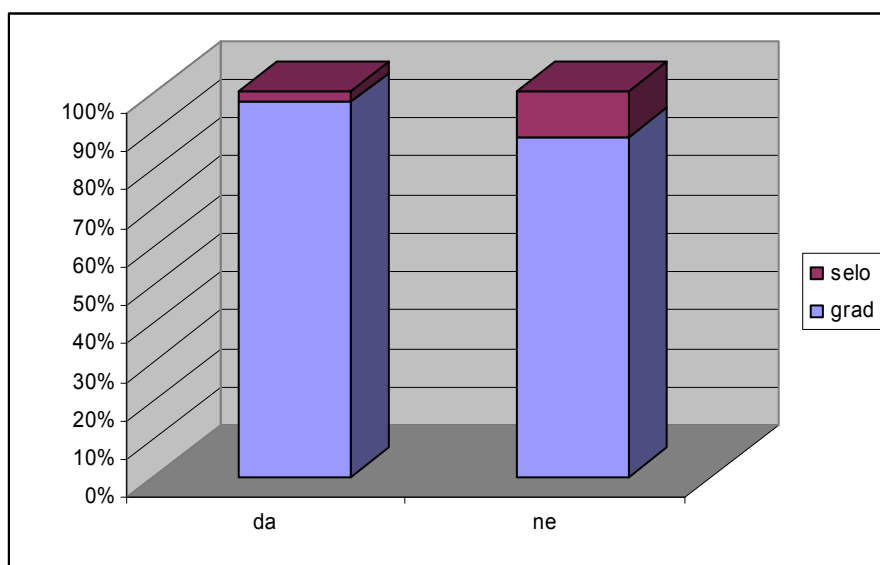
Grafikon 18 i 19. Raspodjela svih ispitanika (18) i simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (19) prema podacima o spolnom odnosu s prodavateljicom seksualnih usluga

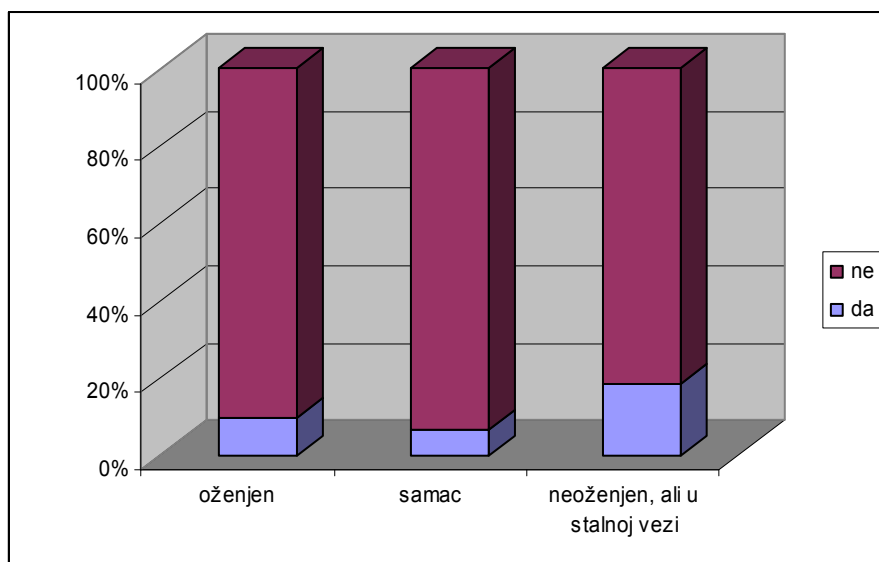
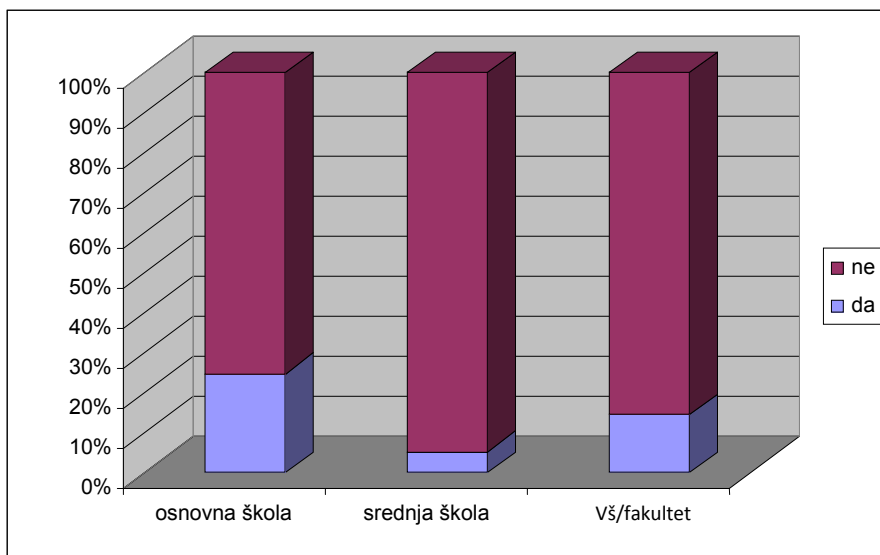
Trideset devet ispitanika (5,6%) navelo je da je imalo spolni odnos s muškarcem, a od toga njih 29 (5,8%) bilo je u asimptomatskoj skupini, a 10 (5,0%) u skupini ispitanika bez simptoma uretritisa (tablica 4). Nije bilo statistički značajne razlike ($\chi^2=0,17$; $P=0,677$).

| Obilježje | Spolni odnos s prodavateljicom spolnih usluga | | | Statistika; p* |
|-------------------------------|---|------------|-------------|----------------|
| | Da | Ne | Ukupno | |
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 70 (11,2) | 554 (88,8) | 624 (89,1) | 5,41; 0,020 |
| Selo | 2 (2,6) | 74 (97,4) | 76 (10,9) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 49 (9,5) | 466 (90,5) | 515 (73,6) | 1,26; 0,262 |
| Nezaposlen | 23 (12,4) | 162 (87,6) | 185 (26,4) | |
| Djeca; n (%) | | | | |
| Da | 30 (9,9) | 272 (90,1) | 302 (43,1) | 0,07; 0,789 |
| Ne | 42 (10,6) | 356 (89,4) | 398 (56,9) | |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 24 (24,7) | 73 (75,3) | 97 (100,0) | 37,39; <0,001 |
| Srednja škola | 22 (5,2) | 402 (94,8) | 424 (100,0) | |
| Fakultet | 26 (14,5) | 153 (85,5) | 179 (100,0) | |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 28 (9,7) | 261 (90,3) | 289 (41,3) | 15,07; 0,001 |
| Neoženjen | 17 (6,4) | 248 (93,6) | 265 (37,9) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 27 (18,5) | 119 (81,5) | 146 (20,9) | |
| Pušenje; n (%) | | | | |
| Pušač | 53 (14,2) | 319 (85,8) | 372 (53,1) | 13,50; <0,001 |
| Nepušač | 19 (5,8) | 309 (94,2) | 328 (46,9) | |
| Testiranje na HIV; n (%) | | | | |
| Testirao se | 29 (16,8) | 144 (83,2) | 173 (24,7) | 10,45; 0,001 |
| Nije se testirao | 43 (8,2) | 484 (91,8) | 527 (75,3) | |
| Ukupno | 72 | 628 | 700 | - |

Tablica 5. Obilježja ispitanika koji su imali spolni odnos s prodavateljicom seksualnih usluga s obzirom na prebivalište, zaposlenje, roditeljstvo, razinu obrazovanja, bračni status, pušenje i testiranje na HIV

Ispitanici koji su istaknuli da su imali spolni odnos sa prodavateljicom spolnih usluga statistički su značajno češće imali prebivalište u gradu (tablica 4, grafikon 20) (11,2%; 2,6%; $\chi^2=5,41$; $P=0,020$). Na ovo pitanje potvrdno su značajno češće odgovarali ispitanici koji su imali osnovno ili visoko obrazovanje (tablica 5, grafikon 21) ($\chi^2=37,39$; $P=0,001$). Među ispitanicima koji su imali samo osnovno obrazovanje njih 24 (24,7%) izjavilo je kako je koristilo usluge prodavateljica spolnih usluga. Nije zabilježena statistički značajna razlika u zaposlenju između ispitanika koji su izjavili da su imali spolni odnos sa prodavateljicom spolnih usluga i onima koji to nisu izjavili ($\chi^2=1,26$; $P=0,262$). Također nije zabilježena statistički značajna razlika među ispitanicima s obzirom na roditeljstvo ($\chi^2=0,07$; $P=0,789$). Nađeno je statistički značajnim češće korištenje usluga među ispitanicima koji su neoženjeni, ali u stalnoj vezi, gotovo dvostruko češće od onih koji su bili oženjeni i trostruko češće od ispitanika koji su bili samci (tablica 5, grafikon 22) ($\chi^2=15,07$; $P=0,001$).





Grafikon 20, 21 i 22. Raspodjela ispitanika koji su imali seksualni odnos s prodavateljicom seksualnih usluga prema prebivalištu (20), razini obrazovanja (21) i bračnom status (22)

Ukupno je 7 ispitanika (1,0%) izjavilo kako redovito plaća za spolne usluge, 87 (12,4%) povremeno, dok je 606 (86,6%) ispitanika iz cijelog uzorka izjavilo kako nikada ne plaća za spolne usluge. Od toga su 4 simptomatska ispitanika (0,8%) i 3 asimptomatska ispitanika (1,5%) izjavila kako redovito plaćaju spolne usluge, a 430 (86,0%) simptomatskih

i 176 (8,0%) asimptomatskih ispitanika je izjavilo kako nikada ne plaćaju spolne usluge, bez naznake statistički značajnih razlika ($\chi^2=1,60$; $P=0,448$).

Usporedba ispitanika pušača s onima koji ne puše ukazala je na postojanje statistički značajnih razlika u odgovoru na pitanje o korištenju usluga prodavateljica seksualnih usluga, na način da je 53 (14,2%) pušača i 19 (5,8%) nepušača pozitivno odgovorilo na ovo pitanje ($\chi^2=13,5$; $P<0,001$).

Nitko od ispitanika nije izjavio kako je primao novac za pružene spolne usluge.

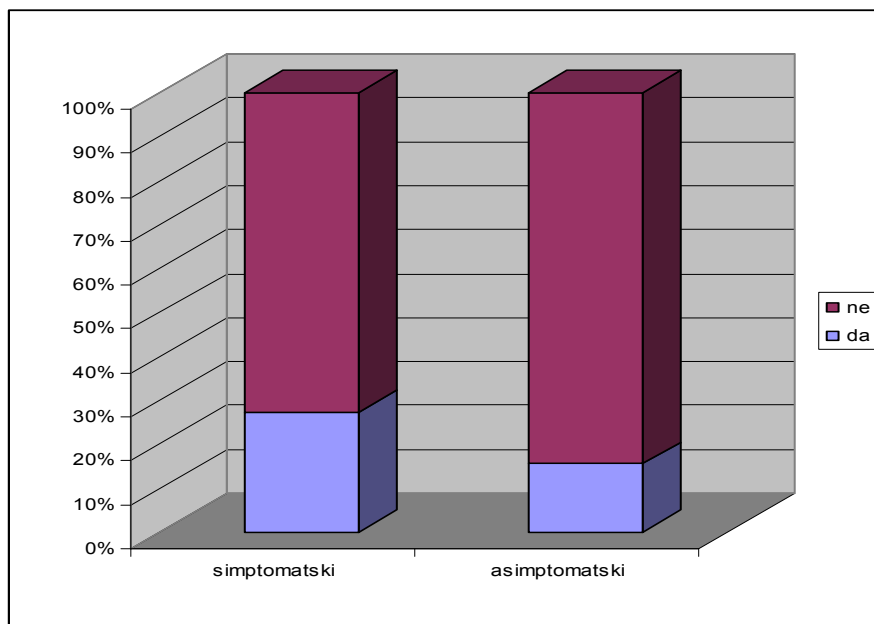
Što se tiče spolnih odnosa izvan Republike Hrvatske pozitivno su odgovorila ukupno 168 (24,0%) ispitanika, od toga njih 137 (27,4%) u skupini simptomatskih ispitanika, a njih 31 (15,5%) u skupini asimptomatskih ispitanika (tablica 6, grafikon 23). Zabilježena je statistički značajna razlika među simptomatskim i asimptomatskim ispitanicima ($\chi^2=11,1$; $P=0,001$).

| Spolni odnos izvan Republike Hrvatske | | | | |
|---------------------------------------|------------|------------|-------------|----------------|
| Obilježje | Da | Ne | Ukupno | Statistika; P* |
| Ispitanici | | | | |
| Simptomatski | 137 (27,4) | 363 (72,6) | 500 (71,4) | 11,09; 0,001 |
| Asimptomatski | 31 (15,5) | 169 (84,5) | 200 (28,6) | |
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 160 (25,6) | 464 (74,4) | 624 (89,1) | 8,49; 0,004 |
| Selo | 8 (10,5) | 68 (89,5) | 76 (10,9) | |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 30 (30,9) | 67 (69,1) | 97 (13,9) | 3,35; 0,188 |
| Srednja škola | 100 (23,6) | 324 (76,4) | 424 (60,6) | |
| Fakultet | 38 (21,2) | 141 (78,8) | 179 (25,6) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 116 (22,5) | 399 (77,5) | 515 (73,6) | 2,33; 0,127 |
| Nezaposlen | 52 (28,1) | 133 (71,9) | 185 (26,4) | |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 50 (17,3) | 239 (82,7) | 289 (100,0) | 13,52; 0,001 |
| Samac | 81 (30,6) | 184 (69,4) | 265 (100,0) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 37 (25,3) | 109 (74,7) | 146 (100,0) | |
| Imate li djece; n (%) | | | | |
| Da | 58 (19,2) | 244 (80,8) | 302 (100,0) | 6,70; 0,010 |
| Ne | 110 (27,6) | 288 (72,4) | 398 (100,0) | |
| Pušenje; n (%) | | | | |
| Pušač | 90 (24,2) | 282 (75,8) | 372 (53,1) | 0,02; 0,898 |
| Nepušač | 78 (23,8) | 250 (76,2) | 328 (46,9) | |
| Testiranje na HIV; n (%) | | | | |
| Testirao se | 72 (41,6) | 101 (58,4) | 173 (24,7) | 39,11; <0,001 |
| Nije se testirao | 96 (18,2) | 431 (81,8) | 527 (75,3) | |
| Ukupno | 168 | 532 | 700 | |

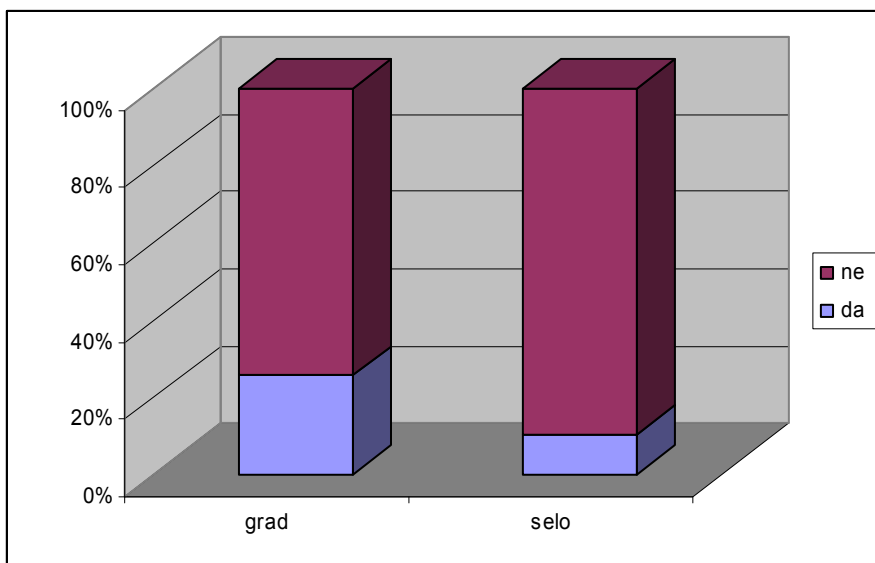
Tablica 6. Obilježja ispitanika koji su imali spolni odnos izvan Republike Hrvatske s obzirom na skupinu ispitanika, prebivalište, razinu obrazovanja, zaposlenje, bračni status, roditeljstvo, pušenje i testiranje na HIV. Korišten je χ^2 -kvadrat test

Analiza obilježja ispitanika koji su prijavili da su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske pokazala je da se uglavnom radilo o ispitanicima koji imaju prebivalište u gradu (tablica 6, grafikon 24) (160, 25,6% naspram 8, 10,6% sa sela; $\chi^2=8,49$; $p=0,004$), bez statistički značajne razlike prema razini obrazovanja ($\chi^2=3,35$; $p=0,188$), zaposlenju ($\chi^2=2,33$; $p=0,127$) ili navici pušenja ($\chi^2=0,02$; $p=0,898$). Zabilježena je kao statistički značajna razlika među skupinama prema bračnom stanju, na način da su ispitanici koji su bili samci imali veći postotak pozitivnih odgovora na ovo pitanje ($\chi^2=13,52$; $p=0,001$) (tablica 6, grafikon 25). Istovremeno, ispitanici koji su imali djecu u usporedbi s onima koji ih nemaju prijavili su značajno manju učestalost spolnih odnosa izvan Republike Hrvatske ($\chi^2=6,70$; $p=0,010$).

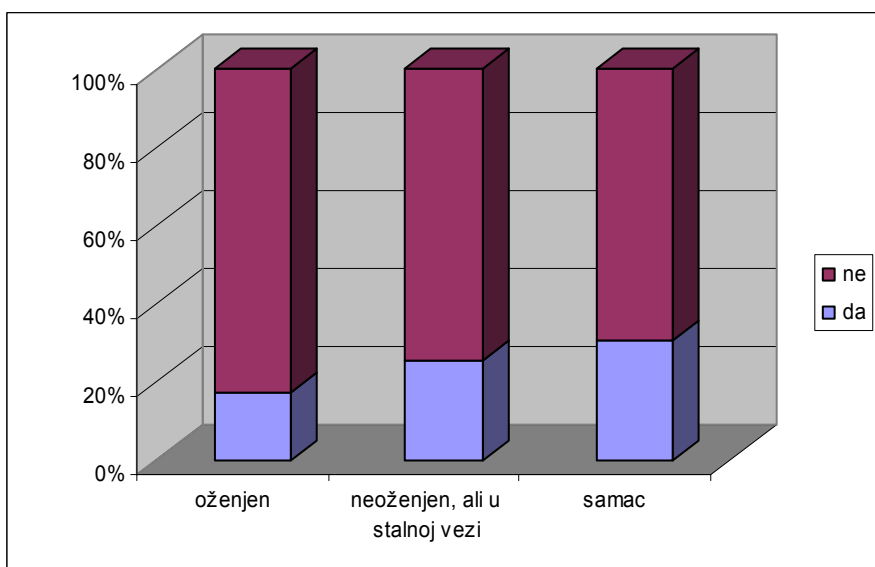
Nađena je statistički značajna razlika između ispitanika koji su napravili i onih koji nisu napravili anti HIV test (tablica 6, grafikon 26) ($\chi^2=39,11$; $p<0,001$), na način da su se oni koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske češće testirali na HIV.



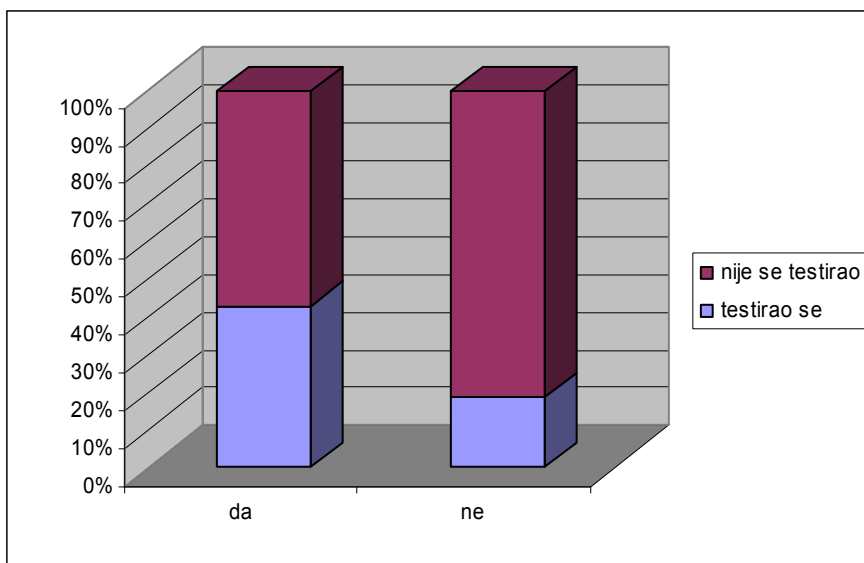
Grafikon 23. Raspodjela ispitanika koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske s obzirom na simptome uretritisa



Grafikon 24. Raspodjela ispitanika koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske prema mjestu prebivališta



Grafikon 25. Raspodjela ispitanika koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske prema bračnom stanju

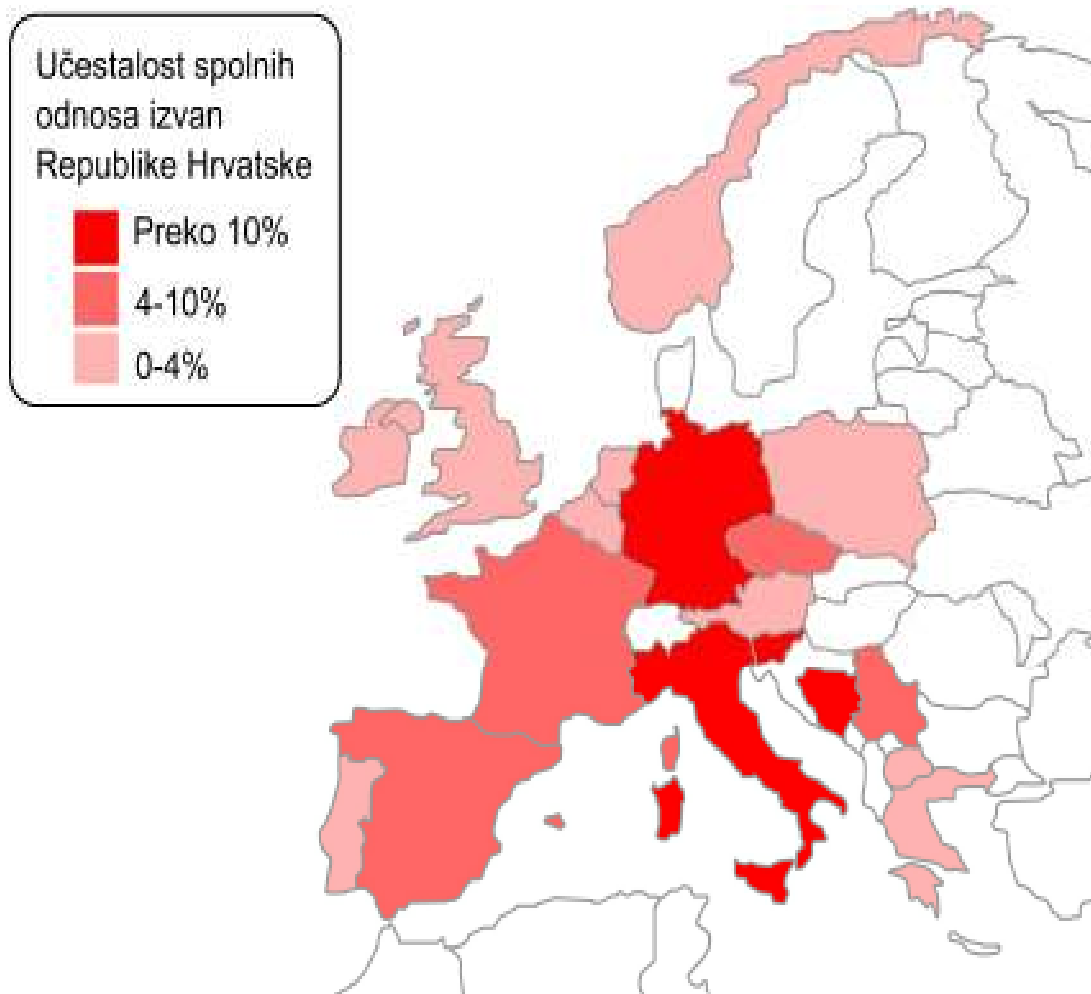


Grafikon 26. Raspodjela ispitanika koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske s obzirom na testiranje na HIV

Obzirom na države u kojima su ispitanici imali spolne odnose najveći broj kontakata zabilježen je u obližnjim zemljama, Bosni i Hercegovini (18,9%), Italiji (18,9%), Sloveniji (14,5%) i Njemačkoj (11,9%) (tablica 7).

| Država | Broj ispitanika | Postotak |
|---------------------|-----------------|----------|
| Austrija | 3 | 1,9 |
| Belgija | 3 | 1,9 |
| Bosna I Hercegovina | 30 | 18,9 |
| Brazil | 3 | 1,9 |
| Česka | 5 | 3,1 |
| Francuska | 4 | 2,5 |
| Grčka | 1 | 0,6 |
| Irska | 1 | 0,6 |
| Italija | 30 | 18,9 |
| Japan | 3 | 1,9 |
| Kuba | 2 | 1,3 |
| Makedonija | 1 | 0,6 |
| Meksiko | 1 | 0,6 |
| Nizozemska | 2 | 1,3 |
| Norveška | 1 | 0,6 |
| Njemačka | 19 | 11,9 |
| Poljska | 1 | 0,6 |
| Portugal | 3 | 1,9 |
| Rusija | 3 | 1,9 |
| SAD | 2 | 1,3 |
| Slovenija | 23 | 14,5 |
| Srbija | 5 | 3,1 |
| Španjolska | 7 | 4,4 |
| Tajland | 3 | 1,9 |
| Velika Britanija | 3 | 1,9 |

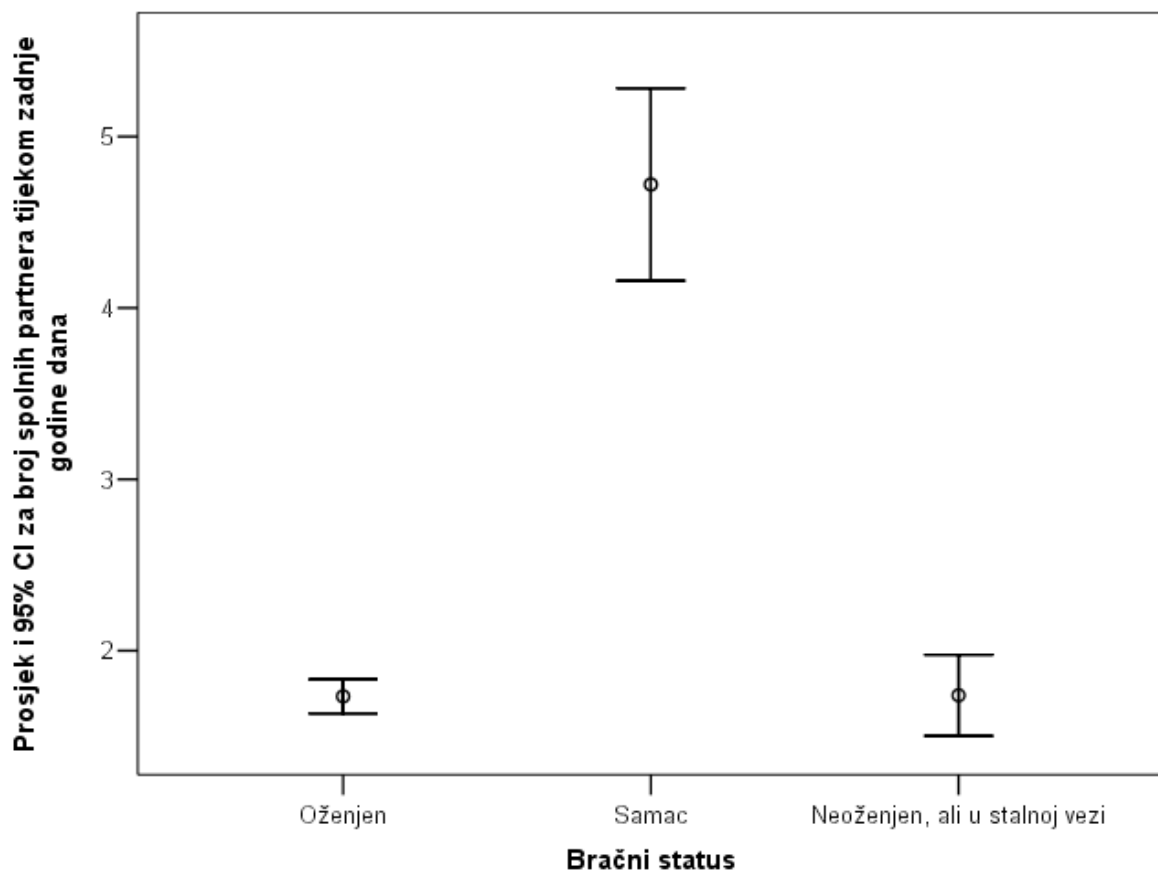
Tablica 7. Popis država u kojima su ispitanici imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske i broja ispitanika koji su te odnose imali (obje skupine ispitanika su uključene)

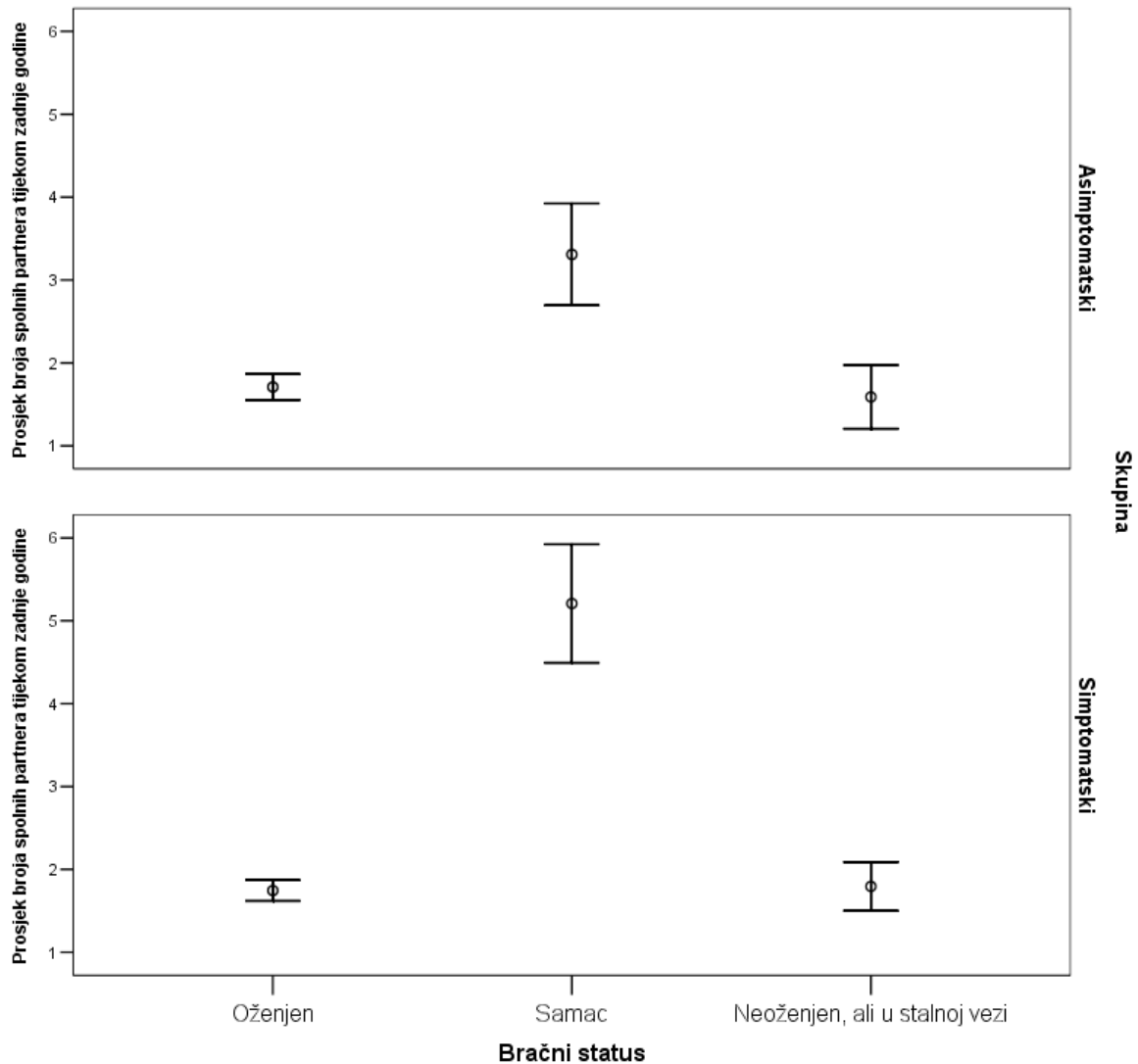


Slika 9. Prikaz država Europe prema učestalosti spolnih odnosa ispitanika izvan Republike Hrvatske (obje skupine ispitanika su uključene)

Analiza odgovora na pitanje o broju spolnih partnera tijekom protekle godine dana ukazala je na postojanje statistički značajne negativne korelacije s dobi (Spearman $r=-0,17$; $P<0,001$) i s dobi prilikom prvog spolnog odnosa ($r=-0,17$; $P<0,001$).

Prema bračnom statusu zabilježene su statistički značajne razlike na razini cijelog uzorka (Kruskal-Wallis $P<0,001$) (grafikon 27). Ispitanici koji su bili oženjeni prijavili su za broj spolnih partnera tijekom protekle godine dana medijan od 2 partnera (IR 1), samci medijan od 4 partnera (IR=2) i neoženjeni, a u stalnoj vezi medijan od 1 partnera (IR=1) (grafikon 28,29).





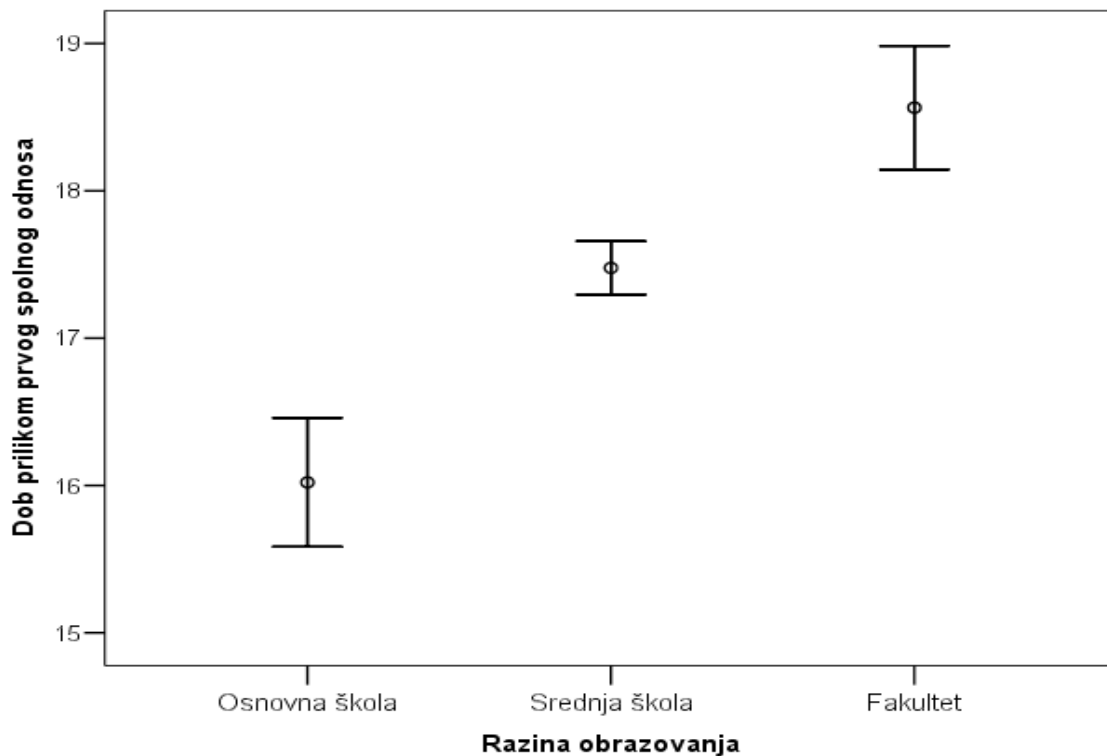
Grafikon 27, 28 i 29. Grafički prikaz prosjeka broja spolnih partnera kod svih ispitanika s obzirom na bračni status (27) i s obzirom na bračni status i skupinu ispitanika (28,29)

Najizraženija statistički značajna razlika zabilježena je između samaca i neoženjenih u stalnoj vezi medijan ($P < 0,001$), dok je najslabija, ali i dalje statistički značajna razlika zabilježena između oženjenih i neoženjenih u stalnoj vezi medijan ($P = 0,001$) (grafikon 28,29).

Statistička analiza dobi prilikom prvog spolnog odnosa ukazala je na medijan dobi od 18 godina [IR=2] prilikom prvog spolnog odnosa.

Prema bračnom statusu najranije su u spolne odnose stupali ispitanici koji su u trenutku provedbe istraživanja bili samci (medijan 16 godina, IR 2 godine), drugi po redu bili su ispitanici koji su neoženjeni i u stalnoj su vezi (medijan 17 godina, IR 3), dok su najkasnije u spolne odnose stupali ispitanici koji su u trenutku provođenja ovog istraživanja bili oženjeni (medijan 18, IR 3 godine; Kruskal-Wallis $p < 0,001$).

Zabilježena je i statistički značajna razlika prema razini obrazovanja – ispitanici koji su imali samo osnovno obrazovanje prijavili su medijan od 16 godina prilikom stupanja u prvi spolni odnos (IR 3 godine), dok su preostale dvije skupine (završena srednja srednja škola ili fakultet) imale medijan od 18 godina i interkvartilni raspon od 2 godine za ispitanike sa završenom srednjom školom i 4 godine za ispitanike sa završenim fakultetom (Kruskal-Wallis $p < 0,001$) (grafikon 30).



Grafikon 30. Box plot prikaz dobi ispitanika prilikom prvog spolnog odnosa s obzirom na razinu obrazovanja

Ispitanici koji su bili nezaposleni prijavili su ranije stupanje u spolne odnose od onih koji su bili zaposleni (medijan 16, IR 2; zaposleni medijan 18, IR 4; Mann-Whitney $Z=-5,43$, $p<0,001$).

| Korištenje kondoma | Broj ispitanika | % |
|--------------------|-----------------|-------|
| Uvijek | 39 | 5,6 |
| Ponekad | 420 | 60,0 |
| Nikada | 238 | 34,0 |
| Bez odgovora | 3 | 0,4 |
| Ukupno | 700 | 100,0 |

Tablica 8. Učestalost korištenja kondoma prilikom spolnog odnosa prema podacima svih anketiranih ispitanika

| Korištenje kondoma prilikom spolnog odnosa | | | | |
|--|-------------------|--------------------|------------|----------------|
| Obilježje | Nikada | Ponekad ili uvijek | Ukupno | Statistika; P* |
| Skupina | | | | |
| Simptomatski | 165 (33,0) | 335 (67,0) | 500 (71,4) | 0,78; 0,377 |
| Asimptomatski | 73 (36,5) | 127 (63,5) | 200 (28,6) | |
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 206 (33,0) | 418 (67,0) | 624 (89,1) | 2,50; 0,114 |
| Selo | 32 (42,1) | 44 (57,9) | 76 (10,9) | |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 70 (72,2) | 27 (27,8) | 97 (13,9) | 75,43; <0,001 |
| Srednja škola | 110 (25,9) | 314 (74,1) | 424 (60,6) | |
| Fakultet | 58 (32,4) | 121 (67,6) | 179 (25,6) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 202 (39,2) | 313 (60,8) | 515 (73,6) | 23,69; <0,001 |
| Nezaposlen | 36 (19,5) | 149 (80,5) | 185 (26,4) | |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 119 (41,2) | 170 (58,8) | 289 (41,3) | 128,36; <0,001 |
| Samac | 27 (10,2) | 238 (89,8) | 265 (37,9) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 92 (63,0) | 54 (37,0) | 146 (20,9) | |
| Imate li djece; n (%) | | | | |
| Da | 121 (40,1) | 181 (59,9) | 302 (43,1) | 8,71; 0,003 |
| Ne | 117 (29,4) | 281 (70,6) | 398 (56,9) | |
| Pušenje; n (%) | | | | |
| Pušač | 152 (40,9) | 220 (59,1) | 372 (53,1) | 16,65; <0,001 |
| Nepušač | 86 (26,2) | 242 (73,8) | 328 (46,9) | |
| Testiranje na HIV; n (%) | | | | |
| Testirao se | 56 (32,4) | 117 (67,6) | 173 (24,7) | 0,27; 0,602 |
| Nije se testirao | 182 (34,5) | 345 (74,7) | 527 (75,3) | |
| Ukupno | 238 (34,0) | 462 (66,0) | 700 | - |

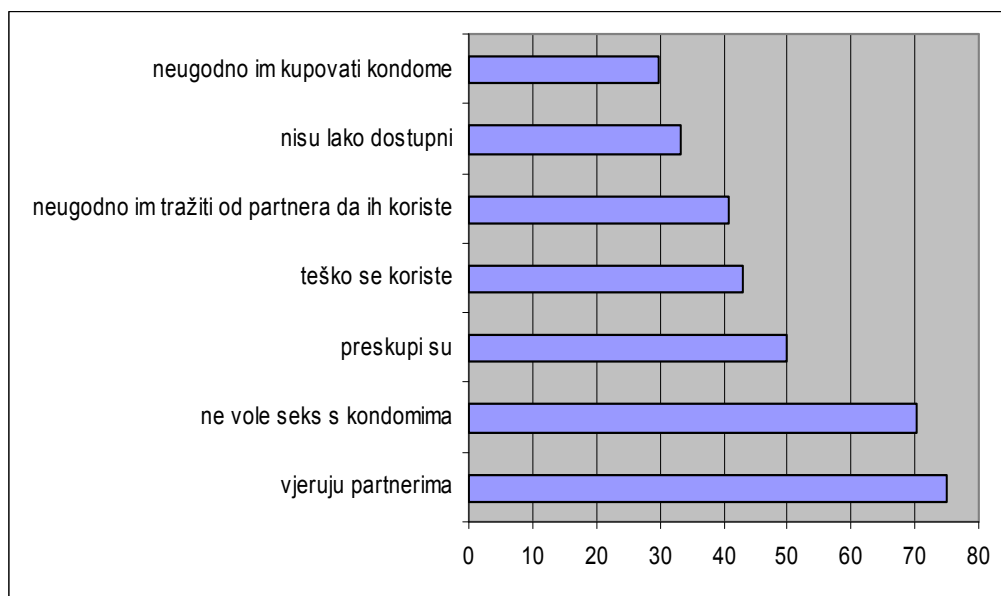
Tablica 9. Obilježja ispitanika prema korištenju kondoma prilikom spolnog odnosa s obzirom na skupinu ispitanika, prebivalište, razinu obrazovanja, zaposlenje, bračni status, roditeljstvo, pušenje i testiranje na HIV

Ispitanici koji nikada ne koriste kondome imali su statistički značajno manje spolnih partnera u protekloj godini (medijan 1 partner, IR 1; oni koji kondome koriste ponekad medijan 2,5; IR 4; Mann-Whitney $Z=-12,23$; $P<0,001$).

Ispitanici koji nikada ne koriste kondome bili su statistički značajno češće oni s nižim stupnjem obrazovanja (72,2% ispitanika koji imaju završenu samo osnovnu školu izjavilo je kako kondome ne koriste nikada, dok je kod ispitanika sa srednjom školom ovaj postotak bio samo 25,9%, a kod onih sa fakultetom 32,4%; (tablica 9) ($\chi^2=75,43$; $P<0,001$).

Prema bračnom statusu, najviše je ispitanika u skupini koja nikada ne koristi kondom bilo među neoženjenima koji su bili u stalnim vezama (63,0%), zatim oženjenima (41,2%), dok je među samcima bilo 10,2% ispitanika koji su izjavili da nikada ne koriste kondome ($\chi^2=128,36$; $P<0,001$).

Statistički značajno češće kondome nikada ne koriste zaposleni ispitanici ($\chi^2=23,69$; $P<0,001$), oni koji imaju djecu ($\chi^2=8,71$; $P=0,003$), te pušači ($\chi^2=16,65$; $P<0,001$) (tablica 9).



Grafikon 31. Razlozi nekorisćenja kondoma prema podacima 658 anketiranih ispitanika koji ponekad ili nikad nisu koristili kondome prilikom spolnih odnosa

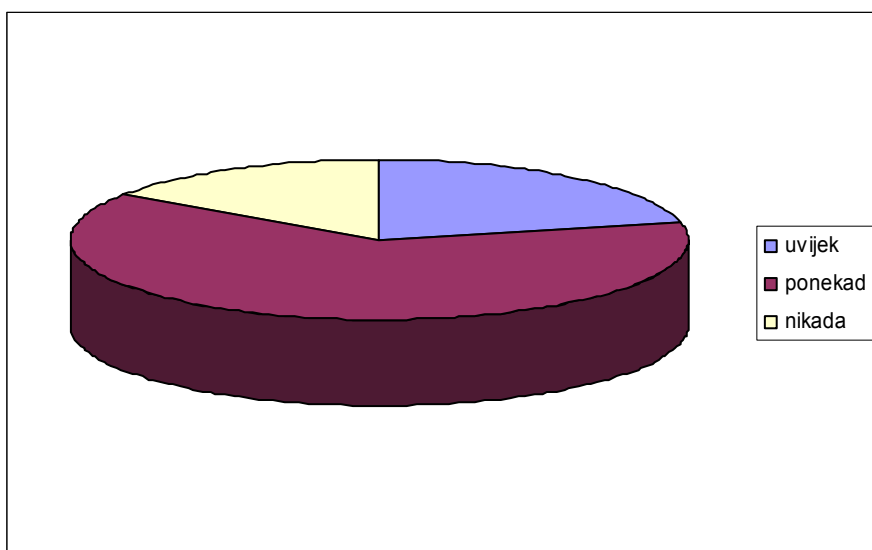
| Obilježje | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici | Ukupno | Statistika; P* |
|--|-------------------------|--------------------------|------------|----------------|
| Glavni uzrok nekorištenja kondoma je: | | | | |
| Preskupi su; n (%) | | | | |
| Da | 245 (49,0) | 105 (52,5) | 350 (50,0) | 0,71; 0,702 |
| Ne | 229 (45,8) | 85 (42,5) | 314 (44,9) | |
| Neugodno ih je kupovati; n (%) | | | | |
| Da | 138 (27,6) | 64 (32,0) | 202 (28,9) | 1,38; 0,502 |
| Ne | 337 (67,4) | 126 (63,0) | 463 (66,1) | |
| Teško ih je koristiti; n (%) | | | | |
| Da | 210 (42,0) | 92 (46,0) | 302 (43,1) | 0,97; 0,616 |
| Ne | 265 (53,0) | 98 (49,0) | 363 (51,9) | |
| Nisu lako dostupni; n (%) | | | | |
| Da | 164 (32,8) | 68 (34,0) | 232 (33,1) | 0,10; 0,953 |
| Ne | 311 (62,2) | 122 (61,0) | 433 (61,9) | |
| Ne volim seks s kondomima; n (%) | | | | |
| Da | 356 (71,2) | 136 (68,0) | 492 (70,3) | 0,80; 0,670 |
| Ne | 119 (23,8) | 54 (27,0) | 173 (24,7) | |
| Neugodno mi je tražiti spolnog partnera da ih koristi; n (%) | | | | |
| Da | 205 (41,0) | 81 (40,5) | 286 (40,9) | 0,02; 0,992 |
| Ne | 270 (54,0) | 109 (54,5) | 379 (54,1) | |
| Vjerujem svojim partnerima; n (%) | | | | |
| Da | 375 (75,0) | 149 (74,5) | 524 (74,9) | 0,02; 0,989 |
| Ne | 100 (20,0) | 41 (20,5) | 141 (20,1) | |
| Ukupno; n | 500 | 200 | 700 | - |

Tablica 10. Razlozi nekorištenja kondoma u skupini simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (*korišten je χ^2 -kvadrat test; zbroj odgovora u nekim pitanjima nije 700 jer neki ispitanici nisu odgovorili na sva pitanja)

Ispitanici koji ne koriste kondome uvijek ili ne koriste nikada najčešće to čine zbog toga jer: vjeruju svojim partnerima (74,9%), ne vole seks s kondomima (70,3%), preskupi su (50,0%), kondomi se teško koriste (43,1%), neugodno im je tražiti spolnog partnera da ih koristi (40,9%), nisu lako dostupni (33,1%) i naposljetku neugodno im je kupovati kondome (28,9%).

Po razlozima korištenja kondoma nije bilo statistički značajne razlike među dvije skupine ispitanika (tablica 10).

Ukupno je zabilježeno 150 (21,4%) ispitanika koji su izjavili da uvijek prije spolnog odnosa koriste drogu ili alkohol; ponekad je ta sredstva koristilo 437 (62,4%) ispitanika, dok ta sredstva nikada nije koristilo 109 (15,6%) ispitanika (tablica 11, grafikon 32).

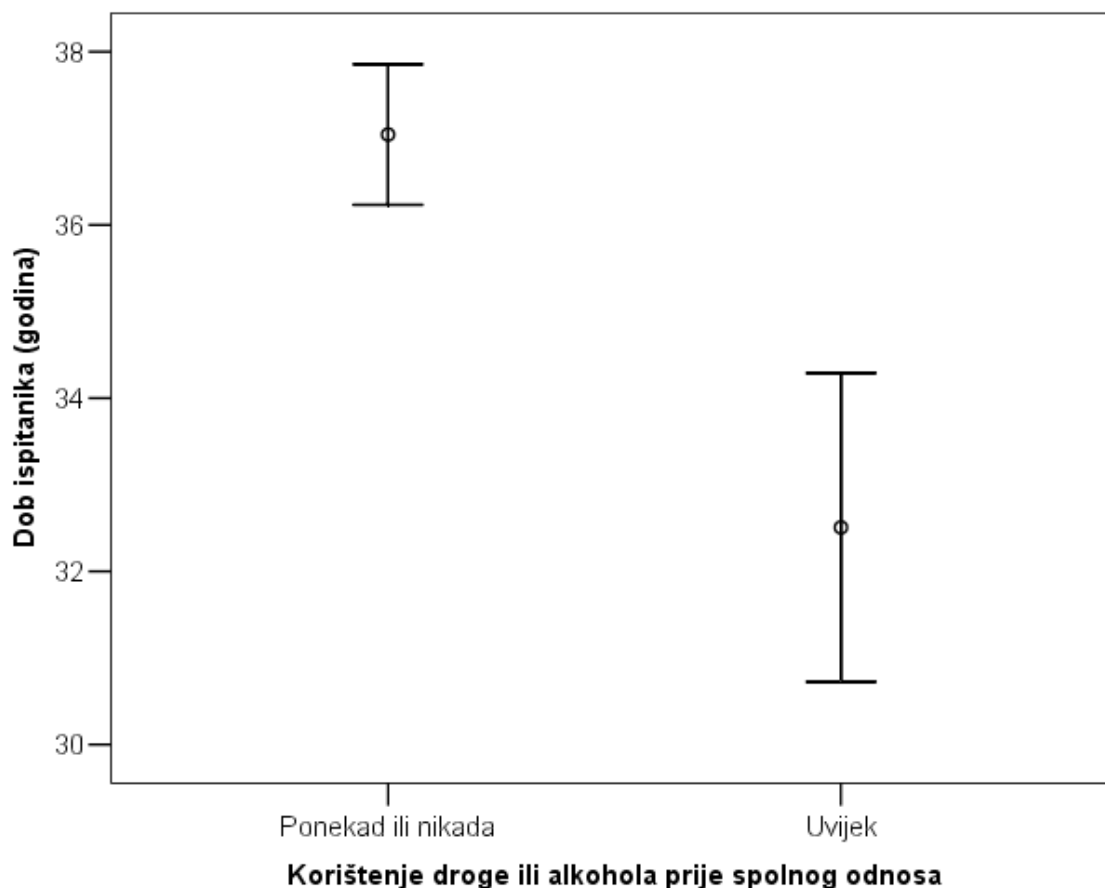


Grafikon 32. Raspodjela svih ispitanika s obzirom na korištenje droge/alkohola prije spolnog odnosa

| Korištenje droga ili alkohola prije spolnog odnosa | | | | |
|--|-------------------|--------------------|------------|----------------|
| Obilježje | Uvijek | Ponekad ili nikada | Ukupno | Statistika; P* |
| Ispitanici | | | | |
| Simptomatski | 118 (23,6) | 382 (76,4) | 500 (71,4) | 4,90; 0,027 |
| Asimptomatski | 32 (16,0) | 168 (84,0) | 200 (28,6) | |
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 137 (22,0) | 487 (78,0) | 624 (89,1) | 16,37; <0,001 |
| Selo | 13 (17,1) | 63 (82,9) | 76 (10,9) | |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 25 (25,8) | 72 (74,2) | 97 (13,9) | 10,70; <0,030 |
| Srednja škola | 92 (21,7) | 332 (78,3) | 424 (60,6) | |
| Fakultet | 33 (18,4) | 146 (81,6) | 179 (25,6) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 93 (18,1) | 422 (81,9) | 515 (73,6) | 14,30; 0,001 |
| Nezaposlen | 57 (30,8) | 128 (69,2) | 185 (26,4) | |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 50 (17,3) | 239 (82,7) | 289 (41,3) | 39,89; <0,001 |
| Samac | 88 (33,2) | 177 (66,8) | 265 (37,9) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 12 (8,2) | 134 (91,8) | 146 (20,9) | |
| Imate li djece; n (%) | | | | |
| Da | 43 (14,2) | 259 (85,8) | 302 (43,1) | 26,97; <0,001 |
| Ne | 107 (26,9) | 291 (73,1) | 398 (56,9) | |
| Pušenje; n (%) | | | | |
| Pušač | 93 (25,0) | 279 (75,0) | 372 (53,1) | 6,01; 0,014 |
| Nepušač | 57 (17,4) | 271 (82,6) | 328 (46,9) | |
| Testiranje na HIV; n (%) | | | | |
| Testirao se | 61 (35,3) | 112 (64,7) | 173 (24,7) | 26,11; <0,001 |
| Nije se testirao | 89 (16,9) | 438 (83,1) | 527 (75,3) | |
| Ukupno | 150 (21,5) | 550 (78,6) | 700 | - |

Tablica 11. Obilježja ispitanika koji prije spolnog odnosa koriste drogu/alkohol s obzirom na skupinu ispitanika, prebivalište, razinu obrazovanja, zaposlenje, bračni status, roditeljstvo, pušenje i testiranje na HIV

Ispitanici koji uvijek koriste drogu ili alkohol prije spolnog odnosa su statistički značajno češće bili mlađi (medijan dobi za one koji uvijek koriste drogu ili alkohol iznosio je 30 godina, IR 16, dok je za ispitanike koji povremeno koriste iznosio 37, IR 14, a one koji nikada ne koriste takva sredstva medijan je iznosio 33 godine, IR 10,5 godina; Kruskal-Wallis $P < 0,001$).



Grafikon 33: Box plot prikaz ispitanika koji koriste alkohol/drogu prije spolnog odnosa s obzirom na životnu dob u godinama

Također, ovdje se statistički značajno češće radilo o ispitanicima koji su bili iz grada, od kojih je njih 137 (22,0%) izjavilo kako drogu ili alkohol koriste uvijek prije spolnog odnosa, dok je jednako odgovorilo samo 13 ispitanika sa sela (17,1%); ukupno 85 ispitanika

iz grada (13,7%) izjavilo je kako nikada ne koristi drogu ili alkohol prije spolnog odnosa, dok je jednako odgovorilo 24 ispitanika sa sela (31,6%, $\chi^2=16,37$; $p<0,001$).

Češće su drogu ili alkohol prije spolnog odnosa koristili ispitanici s nižim stupnjem obrazovanja (osnova škola 25,8%, srednja škola 21,7%, fakultet 18,4%; $\chi^2=10,70$; $p<0,030$), kao i nezaposleni ispitanici (30,8%, u usporedbi sa 18,1% među zaposlenima; $\chi^2=14,30$; $p=0,001$).

Drogu ili alkohol prije spolnog odnosa češće su koristili ispitanici koji su bili samci (33,2%) u usporedbi s onima koji su bili oženjeni (17,3%) i onima koji su bili neoženjeni, ali u stalnoj vezi (8,2%; $\chi^2=76,77$; $p<0,001$), kao i ispitanici koji nisu imali djece (26,9%, u usporedbi s 14,2% među ispitanicima koji imaju djecu; $\chi^2=26,97$; $p<0,001$).

Korištenje istih sredstava prije svakog spolnog odnosa bilo je češće i među ispitanicima koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske (31,0%, u usporedbi sa 18,6% među onima koji nisu prijavili da su imali spolne odnose izvan RH; $\chi^2=15,74$; $p<0,001$), kao i među biseksualnima (61,5% u usporedbi s 20,1% među heteroseksualnima i 15,8% među homoseksualnima; $\chi^2=20,10$; $P<0,001$).

Korištenje navedenih sredstava prije spolnog odnosa bilo je značajno češće među pušačima ($\chi^2=6,01$; $P=0,014$), te ispitanicima koji su se testirali na HIV ($\chi^2=26,11$; $P<0,001$) (tablica 11).

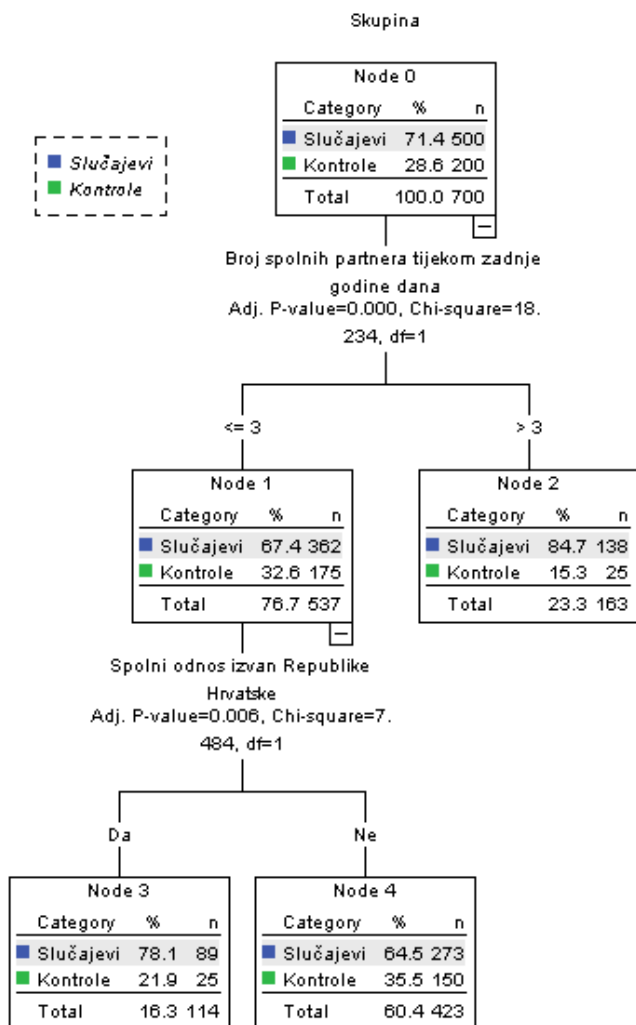
| Obilježje | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici | Ukupno | Statistika; p* |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------|------------|----------------|
| Hepatitis B | | | | |
| Da | 5 (1,0) | 2 (1,0) | 7 (1,0) | 0,641** |
| Ne | 495 (99,0) | 198 (1,0) | 693 (99,0) | |
| Hepatitis C | | | | |
| Da | 3 (0,6) | 0 (0) | 3 (0,4) | 0,364** |
| Ne | 497 (99,4) | 200 (100,0) | 697 (99,6) | |
| Gonoreja | | | | |
| Da | 10 (2,0) | 0 (0) | 10 (1,4) | 0,034** |
| Ne | 490 (98,0) | 200 (100,0) | 690 (98,6) | |
| Genitalni herpes | | | | |
| Da | 47 (9,4) | 9 (4,5) | 56 (8,0) | 4,66; 0,031 |
| Ne | 453 (90,6) | 191 (95,5) | 644 (92,0) | |
| HPV | | | | |
| Da | 93 (18,6) | 26 (13,0) | 119 (17,0) | 3,18; 0,075 |
| Ne | 407 (81,4) | 174 (87,0) | 581 (83,0) | |
| Ukupno; n | 500 | 200 | 700 | - |

Tablica 12. Učestalost obolijevanja od hepatitisa B, hepatitisa C, gonoreje, genitalnog herpesa i infekcije HPV-om prema anamnestičkim podacima svih anketiranih ispitanika (*Korišten je χ^2 -kvadrat test; zbroj odgovora u nekim pitanjima nije 700 jer neki ispitanici nisu odgovorili na sva pitanja; **zbog premalog broja zabilježenih slučajeva korišten je Fisherov egzaktni test)

Učestalost u anamnezi gonoreje i genitalnog herpesa bila je statistički značajno viša kod simptomatskih ispitanika, dok za ostale infekcije nije zabilježena statistički značajna razlika među ispitanicima. U istraživanju ispitanici nisu naveli u anamnezi niti jedan slučaj sifilisa.

Ukupno su se 173 (24,7%) ispitanika testirala na HIV. Ispitanici sa simptomima uretritisa statistički su značajno češće koristili HIV testiranje (simptomatski 27,2%; asimptomatski 18,5%; $\chi^2=5,81$; $P=0,016$). Nije zabilježen niti jedan HIV pozitivan ispitanik.

Usprkos pojedinačno nađenim razlikama između dvije skupine ispitanika, korištenje klasifikacijskog stabla u analizi čimbenika koji se razlikuju između asimptomatskih i simptomatskih ispitanika ukazalo je na samo dva prediktora, u modelu u kojem su korišteni svi dostupni prediktori. Ova dva prediktora bili su broj spolnih partnera i podatak o tome jesu li ispitanici imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske.



Slika 10. Klasifikacijsko stablo u analizi čimbenika koji se razlikuju između skupine simptomatskih i asimptomatskih ispitanika

U skupini ispitanika koji su odgovorili da su imali više od tri spolna partnera tijekom zadnje godine dana bilo je 84,7% ispitanika s uretritisom, dok je kod onih koji su imali tri ili manje spolna partnera zabilježeno 67,4% ispitanika sa simptomima uretritisa (Slika 10).

U drugom grananju korišten je podatak o spolnim odnosima izvan RH. U skupini ispitanika koji su izjavili da su imali spolne odnose izvan RH zabilježeno je ukupno 78,1% ispitanika sa simptomima uretritisa, dok je u skupini ispitanika koji su izjavili da nisu imali spolne odnose izvan Hrvatske zabilježeno 64,5% ispitanika s uretritisom (slika 10).

4.3. ISPITANICI I SIMPTOMI

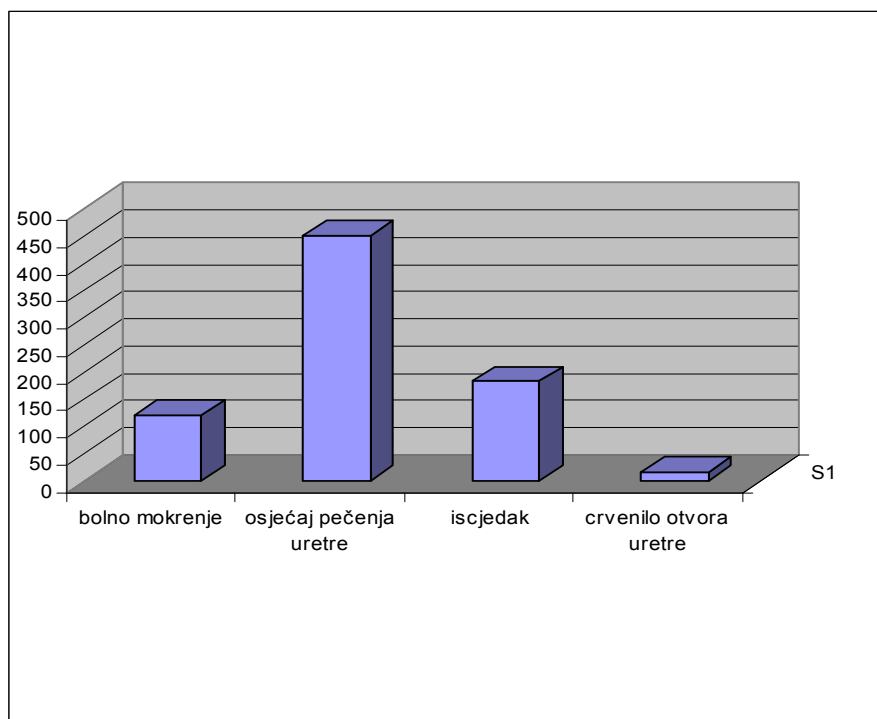
Istraživanje je obuhvatilo ukupno 500 ispitanika sa simptomima uretritisa. Simptomi uretritisa obuhvaćali su bolno mokrenje, osjećaj pečenja mokraćne cijevi spontano i/ili prilikom mokrenja, iscjedak iz mokraćne cijevi i crvenilo ušća uretre. Svaki ispitanik iz simptomatske skupine žalio se na prisutnost jednog ili više ovih simptoma.

Neki ispitanici su se uz navedene simptome uretritisa žalili i na druge simptome kao što su: učestalo i hitno mokrenje, pritisak i bolovi u perineumu, bedrima, donjem dijelu abdomena ili leđima, bolove u testisima, erekktivnu disfunkciju ili gubitak libida. Neki ispitanici su navodili i opće simptome (tjelesna temperatura viša od 37°C, glavobolja, umor, gubitak apetita) (tablica 13).

| Simptomi | Ukupno; n (%) |
|---|---------------|
| Uretritisa | |
| Bolno mokrenje | 121 (24,2) |
| Osjećaj pečenja mokraćne cijevi spontano i/ili prilikom mokrenja | 452 (90,4) |
| Iscjedak iz mokraćne cijevi | 183 (36,6) |
| Crvenilo ušća mokraćne cijevi | 17 (3,4) |
| Ostali simptomi | |
| Učestalo i hitno mokrenje | 14 (2,8) |
| Pritisak i bolovi u perineumu, bedrima, donjem dijelu abdomena ili leđima ili testisima | 203 (40,6) |
| Erektivna disfunkcija ili gubitak libida | 144 (28,8) |
| Opći simptomi | 58 (11,6) |
| Ukupno; n | 500 |

Tablica 13. Prikaz učestalosti simptoma uretritisa i drugih simptoma u ispitanika

Najčešći simptom uretritisa kod ispitanika bio je osjećaj pečenja mokraćne cijevi spontano i/ili prilikom mokrenja na koji su se žalila 452 (90,4%) ispitanika. Drugi simptom uretritisa po učestalosti bi je iscjedak iz mokraćne cijevi na koji su se žalila 183 (36,6%) ispitanika. Na bolno mokrenje žalio se 121 (24,2%) ispitanik, a na crvenilo ušća uretre njih 17 (3,4%) (tablica 13, grafikon 34).



Grafikon 34. Raspodjela simptoma uretritisa među ispitanicima simptomatske skupine

Od ostalih popratnih simptoma koji bi mogli ukazivati na infekciju spolnomokraćnog sustava 203 pacijenta (40,6%) žalilo se na pritisak i bolove u perineumu, bedrima, donjem dijelu abdomena ili leđa i bolove u testisima. Stotinu četrdeset četiri pacijenta (28,8%) žalilo se na probleme s održavanjem i postizanjem erekcije i/ili gubitak libida, 58 (11,6 %) pacijenata navodilo je neki od općih simptoma, a njih 14 (2,8 %) žalilo se na učestalo i hitno mokrenje (tablica 13).

4.4. REZULTATI MIKROBIOLOŠKE ANALIZE UZORAKA, ANALIZA METODA

Mikrobiološkom analizom uzoraka svih ispitanika (simptomatskih i asimptomatskih) u 197 (28,1%) dokazana je neka od traženih vrsta mikroorganizama.

| Broj dokazanih vrsta mikroorganizama | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici |
|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Broj / % | Broj / % |
| Niti jedna | 352 (70,4) | 151 (75,5) |
| Jedna | 92 (18,4) | 39 (19,5) |
| Dvije | 42 (8,4) | 9 (4,5) |
| Tri | 10 (2,0) | 1 (0,5) |
| Četiri | 3 (0,6) | 0 (0) |
| Pet | 1 (0,2) | 0 (0,0) |

Tablica 14. Broj vrsta mikroorganizama otkrivenih mikrobiološkom analizom uzoraka simptomatskih i asimptomatskih ispitanika

U 148 (29,6%) od 500 simptomatskih ispitanika otkrivena je neka od traženih vrsta mikroorganizama. U 49 (24,5%) od 200 asimptomatskih ispitanika dokazana je jedna ili više u istraživanju traženih vrsta mikroorganizama. Statističkom analizom ovih rezultata dokazano je postojanje značajne razlike ($\chi^2=40,12$; $P<0,001$) u učestalosti mikrobiološki potvrđene infekcije u simptomatskih i ispitanika kontrolne skupine.

Iz tablice 14. je vidljivo da je u skupini simptomatskih ispitanika u njih 92 (18,4%) nađena jedna vrsta mikroorganizma, u njih 42 (8,4%) nađene su dvije vrste, u 10 ispitanika (2,0) nađene su tri vrste, u 3 ispitanika (0,6%) nađene su četiri vrste i u 1 (0,2%) ispitanika nađeno je svih pet vrsta traženih mikroorganizama.

U skupini asimptomatskih ispitanika u njih 39 (19,5%) nađena je jedna vrsta mikroorganizama, u 9 ispitanika (4,5%) nađene su dvije vrste i u 1 ispitanika (0,5%) nađene su tri vrste mikroorganizama (tablica 14).

| | <i>C. trachomatis</i> | <i>M. hominis</i> | <i>U. urealyticum</i> | <i>N. gonorrhoeae</i> |
|----------------------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>T. vaginalis</i> PCR | 0,02 | 0,01 | 0,04 | -0,02 |
| <i>C. trachomatis</i> | | 0,01 | 0,13 | 0,12 |
| <i>M. hominis</i> | | | 0,13 | -0,02 |
| <i>U. urealyticum</i> | | | | 0,02 |

Tablica 15. Vrijednosti koeficijenata korelacije između učestalosti detekcije pojedinih vrsta mikroorganizama

Rezultati učestalosti detekcije pojedinih vrsta mikroorganizama statistički su analizirani Kruskall-Wallisovim testom. Vrijednost koeficijenata korelacije dokazuje statistički značajnu povezanost otkrivanja vrsta *C. trachomatis* i *U. urealyticum* (kv=0,13), *C. trachomatis* i *N. gonorrhoeae* (kv=0,12), te vrsta *M. hominis* i *U. urealyticum* (kv=0,12) iz obriska uretre istog ispitanika (tablica 15).

| Uzročnik | Simptomatski ispitanici | Asimptomatski ispitanici | Ukupno | Statistika; p* |
|--|-------------------------|--------------------------|------------|----------------|
| <i>T. vaginalis</i> , nativni preparat | | | | |
| Da | 12 (2,4) | 2 (1,0) | 14 (2,0) | 1,43; 0,232 |
| Ne | 488 (97,6) | 198 (99,0) | 686 (98,0) | |
| <i>T. vaginalis</i> , kultivacija | | | | |
| Da | 24 (4,8) | 3 (1,5) | 27 (3,9) | 4,20; 0,041 |
| Ne | 476 (95,2) | 197 (98,5) | 673 (96,1) | |
| <i>T. vaginalis</i> , PCR | | | | |
| Da | 41 (8,2) | 4 (2,0) | 45 (6,4) | 9,20; 0,002 |
| Ne | 459 (91,8) | 196 (98,0) | 655 (93,6) | |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | | | | |
| Da | 41 (8,2) | 11 (5,5) | 52 (7,4) | 1,51; 0,218 |
| Ne | 459 (91,8) | 189 (94,5) | 648 (92,6) | |
| <i>Mycoplasma hominis</i> | | | | |
| Da | 30 (6,0) | 9 (4,5) | 39 (5,6) | 0,61; 0,434 |
| Ne | 470 (94,0) | 191 (95,5) | 661 (94,4) | |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> | | | | |
| Da | 71 (14,2) | 34 (17,0) | 105 (15,0) | 0,88; 0,349 |
| Ne | 429 (85,8) | 166 (83,0) | 595 (85,0) | |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | | | | |
| Da | 4 (0,8) | 0 (0) | 4 (0,6) | 0,259** |
| Ne | 496 (99,2) | 200 (100,0) | 696 (99,4) | |
| Ukupno; n | 500 | 200 | 700 | - |

Tablica 16. Prikaz učestalosti detekcije pojedinih vrsta mikroorganizama u skupini simptomatskih i asimptomatskih ispitanika (*Korišten je χ^2 -kvadrat test; **zbog premalog broja zabilježenih slučajeva korišten je Fisherov egzaktni test)

Učestalost trihomonoze ovisno o skupini ispitanika i korištenim dijagnostičkim metodama u kretala se od 1,0 do 8,2%. Učestalost ove parazitoze u svih ispitanika je iznosila 2,0 do 6,4% (tablica 16, grafikon 35).

Učestalost *T. vaginalis* infekcije u muškaraca sa simptomima uretritisa ovisno o korištenoj metodi bila je od 2,4 do 8,2%. Koristeći metodu mikroskopije nativnog preparata, trihomonas je nađen u 12 (2,4%) od 500 ispitanika. Metodom kultivacije trihomonoza je dokazana u dvostruko više ispitanika, njih 24 (4,8%). Najviša učestalost trihomonoze dokazana je metodom real time PCR, kojom je ova parazitoza otkrivena u 41 (8,2%) ispitanika (tablica 16, grafikon 35).

Učestalost trihomonoze u asimptomatskih muškaraca metodom mikroskopije nativnog preparata bila je 1% (2/200), metodom kultivacije učestalost je bila 1,5% (3/200), dok je korištenjem real time PCR metode, učestalost trihomonoze bila najviša, 2% (4/200) (tablica 16, grafikon 35).

Učestalost trihomonoze u ispitanika sa simptomima uretritisa bila je statistički značajno viša od učestalosti ove parazitoze u ispitanika kontrolne skupine kada su se u dijagnostici koristile metode kultivacije i real time PCR ($\chi^2=4,20$; $P=0,041$; $\chi^2=9,20$; $P=0,002$).

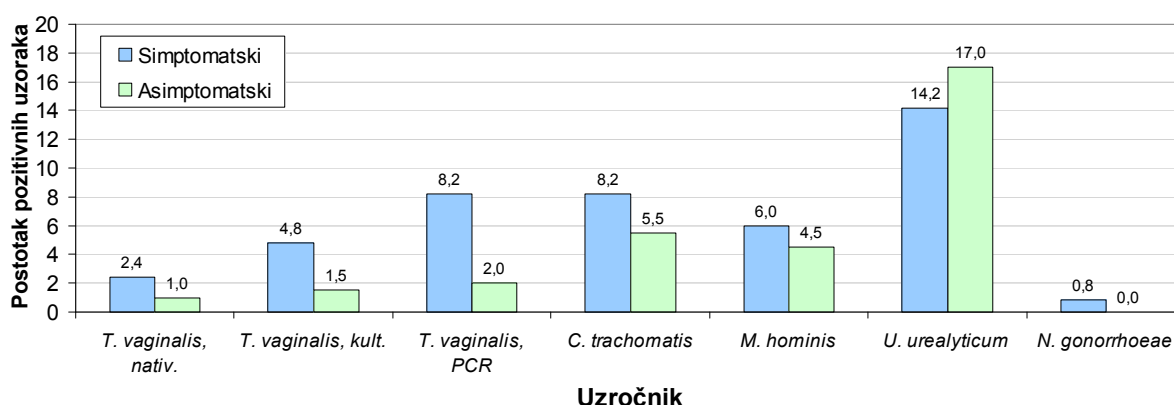
Rezultati nalaza bakterijskih uzročnika u muškaraca sa simptomima uretritisa i onih bez simptoma uretritisa prikazani su u tablici 16.

Učestalost gonoreje je bila najniža od 0 do 0,8%. Infekcija bakterijom *N. gonorrhoeae* dokazana je u 4 (0,8%) simptomatska muškarca. Niti u jednog asimptomatskog ispitanika nije zabilježena infekcija ovim uzročnikom. Nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti detekcije gonoreje među ispitanicima obje skupine ($P=0,259$).

Učestalost klamidijaze kretala se od 5,5 do 8,2 %. U simptomatskih muškaraca zabilježen je 41 (8,2%) slučaj klamidijaze, dok je u skupini asimptomatskih muškaraca klamidijaza nađena u 11 (5,5%) muškaraca. Nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti klamidijaze između ispitanika obje skupine ($\chi^2=1,51$; $P=0,218$).

M. hominis nađena je u 30 (6,0%) simptomatskih muškaraca i 9 (4,5%) asimptomatskih muškaraca. Nije nađena statistiĉki znaĉajna razlika ($\chi^2=0,61$; $P=0,434$).

Infekcija bakterijom *U. urealyticum* pokazala se kao najĉešća infekcija kod ispitanika dosegnuvši uĉestalost od 17 % (34/200) kod asimptomatskih ispitanika. Uĉestalost kod simptomatske skupine ispitanika bila je nešto niža 14,2% (71/500). Nije nađena statistiĉki znaĉajna razlika među skupinama ($\chi^2=0,88$; $P=0,349$).



Grafikon 35. Uĉestalost detekcije pojedinih vrsta mikroorganizama u simptomatskih i asimptomatskih ispitanika

| | | Kultivacija | | |
|------------------------------------|-----------|-------------|------------|--------------|
| | | Pozitivna | Negativna | Ukupno |
| Mikroskopija nativnog preparata | Pozitivan | 9 | 5 | 14 (2,0%) |
| | Negativan | 18 | 668 | 686 (98,0%) |
| | Ukupno | 27 (3,9%) | 673 (96,1) | 700 (100,0%) |

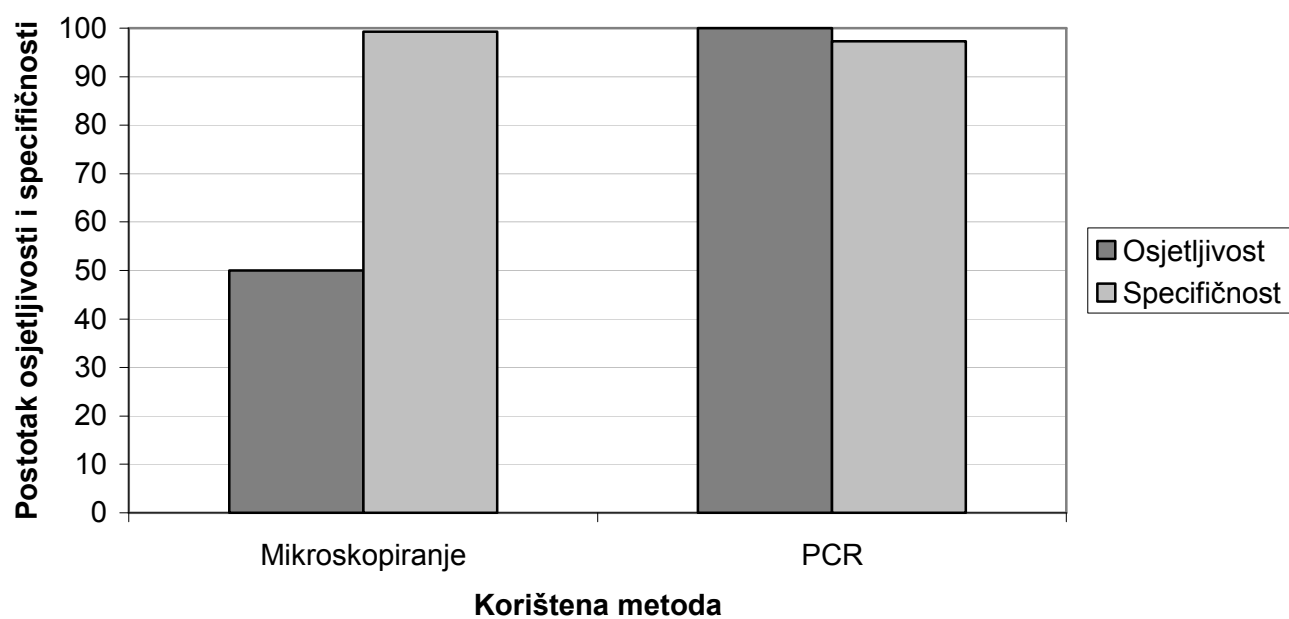
Tablica 17. Tablica kontigencije za usporedbu dijagnostiĉkih pokazatelja dokaza *T. vaginalis* infekcije korištenjem metode kultivacije i mikroskopije nativnog preparata

| | | Kultivacija | | Ukupno |
|---------------|-----------|-------------|-------------|--------------|
| | | Pozitivna | Negativna | |
| Real time PCR | Pozitivan | 27 | 18 | 45 (6,4%) |
| | Negativan | 0 | 655 | 655 (93,6%) |
| | Ukupno | 27 (3,9%) | 673 (96,1%) | 700 (100,0%) |

Tablica 18. Tablica kontigencije za usporedbu dijagnostičkih pokazatelja dokaza *T. vaginalis* infekcije korištenjem metode kultivacije i real time PCR-a

Analiza metoda korištenih u dijagnostici *T. vaginalis* infekcije provedena je usporedbom zlatnog standarda u dijagnostici trihomonoze – metode kultivacije, s metodom mikroskopije nativnog preparata i real time PCR-a. Usporedba rezultata metode kultivacije i mikroskopije ukazala je na senzitivnost mikroskopije od 50,0% i specifičnost ove metode od 99,3% (tablica 17). Pozitivna prediktivna vrijednost metode mikroskopije iznosila je 64,3%, a negativna prediktivna vrijednost ove metode 97,4%. Ukupni postotak preklapanja između ove dvije metode iznosio je 96,7%. Kapa koeficijent iznosio je 0,42, sa standardnom pogreškom od 0,04.

Usporedba rezultata dobivenih metodama kultivacije i PCR-a ukazala je na veću vjerojatnost određivanja *T. vaginalis* korištenjem metode PCR-a. Dok je metodom kultivacije određena prevalencija *T. vaginalis* od 3,9% (1,5-4,8%), korištenje PCR metode ukazalo je na prevalenciju trihomonoze od 6,4% (2,0-8,2%) (tablica 18). Izračun mjera validnosti dokazao je osjetljivost metode PCR od 100,0%, a specifičnost od 97,3%. Pozitivna prediktivna vrijednost detekcije *T. vaginalis* metodom PCR iznosila je 60,0%, a negativna prediktivna vrijednost 100,0%. Ukupni postotak preklapanja između ove dvije metode iznosio je 97,4%. Kapa koeficijent iznosio je 0,74, sa standardnom pogreškom od 0,04.



Grafikon 36. Prikaz osjetljivosti i specifičnosti metode mikroskopije nativnog preparata i real time PCR-a u dijagnostici trihomonoze

4.5. SIMPTOMATSKI ISPITANICI S TRIHOMOZOZOM

| Obilježje | <i>T. vaginalis</i> pozitivan | <i>T. vaginalis</i> negativan | Ukupno | Statistika; P* |
|---|----------------------------------|----------------------------------|------------|----------------|
| Prebivalište; n (%) | | | | |
| Grad | 34 (7,7) | 410 (92,3) | 444 (88,8) | 1,55; 0,213 |
| Selo | 7 (12,5) | 49 (87,5) | 56 (11,2) | |
| Dob; medijan (IKR) | 38 (12) | 35 (16) | 35 (16) | 0,296*** |
| Razina obrazovanja; n (%) | | | | |
| Osnovna škola | 6 (8,6) | 64 (91,4) | 70 (14,0) | 0,06; 0,968 |
| Srednja škola | 25 (8,3) | 275 (91,7) | 300 (60,0) | |
| Fakultet | 10 (7,7) | 120 (92,3) | 130 (26,0) | |
| Zaposlenje; n (%) | | | | |
| Zaposlen | 31 (8,5) | 33 (91,5) | 364 (72,8) | 0,18; 0,673 |
| Nezaposlen | 10 (7,4) | 126 (92,6) | 136 (27,2) | |
| Spolni odnos bez korištenja kondoma; n (%) | | | | |
| Da | 40 (97,6) | 440 (95,9) | 480 (96,0) | 0,500** |
| Ne | 1 (2,4) | 19 (4,1) | 20 (4,0) | |
| Spolni odnos s prodavateljem/icom spolnih usluga; n (%) | | | | |
| Da | 10 (24,4) | 46 (10,0) | 56 (11,2) | 0,997** |
| Ne | 31 (75,6) | 413 (90,0) | 444 (88,8) | |
| Spolni odnos s muškarcima; n (%) | | | | |
| Da | 3 (7,3) | 26 (5,7) | 29 (5,8) | 0,794** |
| Ne | 38 (92,7) | 433 (94,3) | 471 (94,2) | |
| Spolna orijentacija | | | | |
| Heteroseksualna | 38 (92,7) | 425 (92,6) | 463 (92,6) | 0,036** |
| Biseksualna | 3 (7,3) | 17 (3,7) | 20 (4,0) | 0,928** |
| Homoseksualna | 0 (0) | 17 (3,7) | 17 (3,4) | 0,228** |
| Bračni status; n (%) | | | | |
| Oženjen | 20 (10,2) | 176 (89,8) | 196 (39,2) | 2,22; 0,330 |
| Samac | 12 (6,1) | 185 (93,9) | 197 (39,4) | |
| Neoženjen, ali u stalnoj vezi | 9 (8,4) | 98 (91,6) | 107 (21,4) | |
| Imate li djece; n (%) | | | | |

| | | | | |
|---|-----------|------------|------------|-------------|
| Da | 19 (8,8) | 196 (91,2) | 215 (43,0) | 0,20; 0,652 |
| Ne | 22 (7,7) | 263 (92,3) | 285 (57,0) | |
| Spolni odnosi izvan RH | | | | |
| Da | 17 (41,5) | 120 (26,1) | 137 (27,4) | 4,44; 0,035 |
| Ne | 24 (58,5) | 339 (73,9) | 363 (72,6) | |
| Broj partnera u posljednjih godinu dana | 3 (4) | 2 (3) | 2 (3) | 0,109*** |
| Dob prilikom prvog spolnog odnosa | 18 (4) | 17 (2) | 17 (2) | 0,049*** |
| Koristite li uobičajeno kondom tijekom spolnog odnosa | | | | |
| Uvijek | 2 (4,9) | 30 (6,5) | 32 (6,4) | 1,11; 0,573 |
| Ponekad | 28 (68,3) | 275 (59,9) | 303 (60,6) | |
| Nikada | 11 (26,8) | 154 (33,6) | 165 (33,0) | |
| Korištenje kondoma tijekom zadnjeg spolnog odnosa | | | | |
| Da | 13 (31,7) | 158 (34,4) | 171 (34,2) | 0,13; 0,718 |
| Ne | 28 (68,3) | 300 (65,4) | 329 (65,8) | |
| Korištenje droge ili alkohola prije spolnog odnosa; n (%) | | | | |
| Uvijek | 11 (9,3) | 107 (90,7) | 118 (23,6) | 0,26; 0,611 |
| Ponekad ili nikad | 30 (7,9) | 352 (92,1) | 382 (76,4) | |
| Plaćanje za spolne usluge; n (%) | | | | |
| Često | 0 (0) | 4 (0,9) | 4 (0,8) | <0,001** |
| Rijetko | 10 (15,2) | 56 (84,8) | 66 (13,2) | |
| Nikada | 31 (7,2) | 399 (92,8) | 430 (86,0) | |
| Testiranje na HIV; n (%) | | | | |
| Testirao se | 14 (10,3) | 122 (89,7) | 136 (27,2) | 1,09; 0,297 |
| Nije se testirao | 27 (7,4) | 337 (92,6) | 364 (72,8) | |
| Ukupno; n | 41 (8,2) | 459 (91,8) | 500 | - |

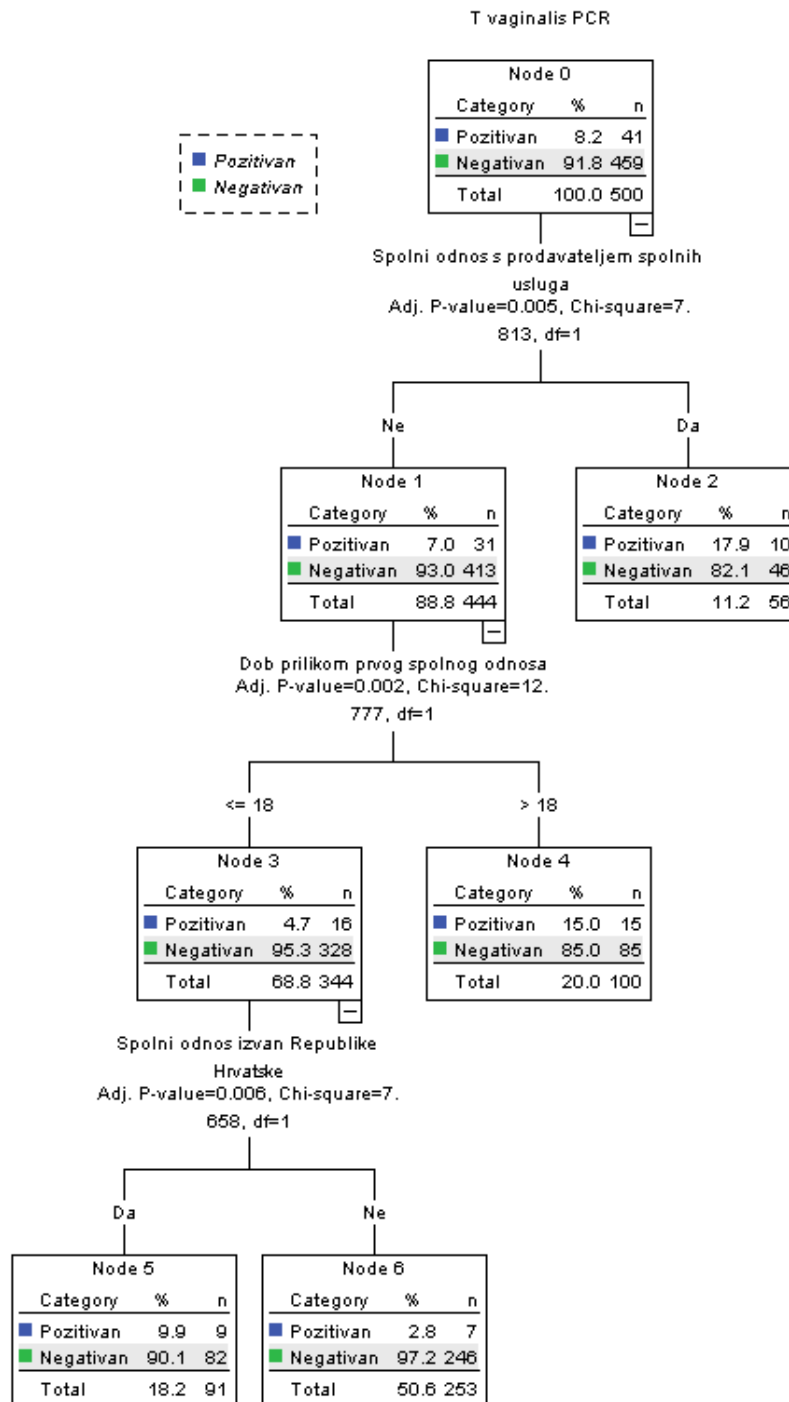
Tablica 19. Prikaz obilježja simptomatskih ispitanika sa i bez dokazane *T. vaginalis* infekcije metodom real time PCR. (*Korišten je χ^2 -kvadrat test; zbroj odgovora u nekim pitanjima nije 700 jer neki ispitanici nisu odgovorili na sva pitanja; **zbog premalog broja zabilježenih slučajeva korišten je Fisherov egzaktni test; ***Mann-Whitneyev test)

| Simptomi | <i>T. vaginalis</i> | | | Statistika; P* |
|--|---------------------|------------|------------|----------------|
| | Pozitivan | Negativan | Ukupno | |
| Bolno mokrenje | | | | |
| Da | 7 (17,1) | 114 (24,8) | 121 (24,2) | 1,24; 0,266 |
| Ne | 34 (82,9) | 345 (75,2) | 379 (75,8) | |
| Osjećaj pečenja mokraćne cijevi prilikom mokrenja | | | | |
| Da | 37 (90,2) | 415 (90,4) | 452 (90,4) | 0,644** |
| Ne | 4 (9,8) | 44 (9,6) | 48 (9,6) | |
| Iscjedak iz mokraćne cijevi | | | | |
| Da | 12 (29,3) | 171 (37,3) | 183 (36,6) | 1,04; 0,309 |
| Ne | 29 (70,7) | 288 (62,7) | 317 (63,4) | |
| Crvenilo ušća mokraćne cijevi | | | | |
| Da | 2 (4,9) | 15 (3,3) | 17 (3,4) | 0,844** |
| Ne | 39 (95,1) | 444 (96,7) | 483 (96,6) | |
| Učestalo i hitno mokrenje | | | | |
| Da | 0 (0) | 14 (3,1) | 14 (2,8) | 0,267** |
| Ne | 41 (100,0) | 445 (96,9) | 486 (97,2) | |
| Pritisak i bolovi u perineumu, bedrima, donjem dijelu abdomena, leđima ili testisima | | | | |
| Da | 11 (26,8) | 192 (41,8) | 203 (40,6) | 3,51; 0,061 |
| Ne | 30 (73,2) | 267 (58,2) | 297 (59,4) | |
| Erektivna disfunkcija ili gubitak libida | | | | |
| Da | 15 (36,6) | 129 (28,1) | 144 (28,8) | 1,32; 0,251 |
| Ne | 26 (63,4) | 330 (71,9) | 356 (71,2) | |
| Opći simptomi | | | | |
| Da | 1 (2,4) | 57 (12,4) | 58 (11,6) | 0,035** |
| Ne | 40 (97,6) | 402 (87,6) | 442 (88,4) | |
| Ukupno; n | 41 | 459 | 500 | - |

Tablica 20. Prikaz učestalosti pojedinih simptoma među ispitanicima s uretritisom u kojih je real time PCR-om dokazana infekcija s *T. vaginalis* (*Korišten je χ^2 -kvadrat test; zbroj odgovora u nekim pitanjima nije 700 jer neki ispitanici nisu odgovorili na sva pitanja; **zbog premalog broja zabilježenih slučajeva korišten je Fisherov egzaktni test)

Analiza simptoma u ispitanika s uretritisom ukazala je na nepostojanje statistički značajnih razlika u pojavnosti pojedinih simptoma uretritisa među ispitanicima s i bez real time PCR metodom dokazane trihomonoze (tablica 20).

Statistički značajna razlika je nađena jedino s obzirom na opće simptome, koji su bili značajno manje učestali u ispitanika s trihomonozom ($P=0,035$).



Slika 11. Klasifikacijsko stablo u analizi simptomatskih ispitanika sa i bez dokazane trihomonoze real time PCR metodom

Klasifikacijsko stablo koje pokazuje razliku između simptomatskih ispitanika sa i bez dokazane trihomonoze real time PCR metodom dokazalo je postojanje razlika, u smislu veće šanse za dijagnozu *T. vaginalis* infekcije u osoba koje su koristile usluge prodavateljica

spolnih usluga, zatim u onih koji su bili stariji prilikom prvog spolnog odnosa i u onih koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske. Model je imao ukupnu točnost klasifikacije od 91,8% (slika 11).

Usporedba obilježja ispitanika koji su imali simptomatsku *T. vaginalis* infekciju (N=41) i onih koji su imali asimptomatsku infekciju ovim parazitom (N=4) provedena je da bi se utvrdile moguće razlike između ispitanika koje su povezane s pojavom simptoma. Korištenje klasifikacijskog stabla nije ukazalo niti na jednu varijablu s važnijim učinkom, što je potvrđeno i korištenjem uobičajenih statističkih testova.

5. DISKUSIJA

Infekcija parazitom *T. vaginalis* predstavlja značajan javnozdravstveni problem širom svijeta. Po literaturnim podacima smatra se najčešćom izlječivom spolnoprenosivom infekcijom na svijetu.

Iako do nedavno smatrana spolnom infekcijom minornog značenja, nakupljeni dokazi provedenih istraživanja ukazuju da ova bolest može uzrokovati brojne neželjene posljedice kako u muškaraca, tako i u žena i novorođenčadi.

U muškaraca se trihomonoza može manifestirati kao uretritis, prostatitis, balanopostitis i epididimitis.

Sindrom uretritisa u muškaraca jedan je od najčešćih kliničkih entiteta s kojim se susreću liječnici mikrobiolozi (116). Simptomi uretritisa mogu biti blagi i zbog toga često ignorirani od strane pacijenta. Ponekad mogu biti neugodni i zabrinjavajući pričinjavajući pacijentu ozbiljne tegobe za vođenje normalnog života.

Klasična podjela sindroma uretritisa na osnovi uzročnih mikrobioloških agenasa već duže vrijeme je na gonokokni i negonokokni uretritis. Bakterija *N. gonorrhoeae* uzročnik je gonokoknog uretritisa, a najčešći uzročnici negonokoknog uretritisa su vrste: *C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. hominis* i *M. genitalium*, virus herpes simpleksa, te parazit *T. vaginalis*.

Veliki je javnozdravstveni problem neadekvatno i nepravovremeno dijagnosticiran i liječen uretritis u muškaraca, jer isti mogu nezaštićenim seksualnim odnosom prenjeti uretralne patogene na svoje partnerice/partnere, što može dovesti do širenja bolesti u populaciji, te brojnih neželjenih posljedica koje sa sobom nose spolno prenosive infekcije.

Ovo je prvo istraživanje učestalosti *T. vaginalis* infekcije u punoljetnih muškaraca sa simptomima uretritisa provedeno u Republici Hrvatskoj s jednim od ciljeva stvaranja objektivnije slike proširenosti ove infekcije u toj populaciji.

Koristeći kombinaciju metoda (mikroskopiju nativnog preparata, kultivaciju u tekućoj podlozi po Diamondu, real time PCR) *T. vaginalis* infekcija detektirana je ukupno u 8,2% muškaraca sa simptomima uretritisa (skupina bolesnika) i u 2,0% muškaraca bez tih simptoma (kontrolna skupina).

U ovisnosti o korištenoj metodi za dijagnostiku trihomonoze nađena je statistički značajna razlika u učestalosti nalaza trihomonoze između skupina ispitanika kada su korištene metode kultivacije i real-time PCR, zbog većeg broja otkrivenih *T. vaginalis* infekcija tim metodama (χ^2 kvadrat test za metodu kultivacije 4,20; $p=0,041$; za metodu real time PCR 9,20; $p=0,002$). Temeljem tih podataka trihomonoza je bila statistički značajno češća u skupini simptomatskih muškaraca. Međutim, usporedbom podataka o učestalosti trihomonoze dobivenih metodom mikroskopije nativnog preparata razlika između skupine bolesnika i kontrolne skupine nije nađena (χ^2 kvadrat test 1,43; $p=0,232$).

Dosadašnja istraživanja učestalosti trihomonoze u muškaraca u svijetu pokazala su različite rezultate u ovisnosti o zemlji u kojoj je istraživanje rađeno (razvijena, zemlja u razvoju), dizajnu studije, ispitanicima (opća populacija, pacijenti iz klinika za spolno prenosive infekcije), prisustvu ili odsustvu simptoma, etničkoj grupi ispitanika, dobi te dijagnostičkim metodama korištenim u istraživanju. Zbog svega navedenog teška je usporedba, ionako u svijetu malobrojnih istraživanja o trihomonozi u muškaraca.

U ovom istraživanju u skupini simptomatskih muškaraca najveća učestalost trihomonoze nađena je korištenjem metode real time PCR-a (8,2%). Korištenjem metode

mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina i kultivacije po Diamondu nađena je niža učestalost infekcije (2,4% odnosno 4,8%).

Višu učestalost trihomonoze od 17% korištenjem PCR metode u muškaraca sa simptomima uretritisa opisao je Schwebke 2002. godine (117). Koristeći u istom istraživanju metodu kultivacije učestalost trihomonoze bila je gotovo jednaka našoj (5%).

Skupina drugih američkih istraživača (118) dokazala je učestalost trihomonoze korištenjem PCR metode u skupini muškaraca sa simptomima uretritisa od 13%.

Najvišu učestalost (21%) u ispitanika s uretritisom korištenjem PCR metode opisali su Hobbs i suradnici 1999. godine (75).

Trihomonoza se u muškaraca može manifestirati kao akutna, blago simptomatska i asimptomatska bolest. Simptomi manifestne trihomonoze najčešće uključuju uretralni iscjedak, bolove kod mokrenja, svrbež i peckanje uretre, posebno nakon spolnog odnosa.

U radu istraživača Kurtha i suradnika iz 2004. godine (119) simptomi uretritisa bili su prisutni u oko 50% muškaraca u kojih je *T. vaginalis* nađen kao jedini uretralni patogen. Slične rezultate objavila je i druga skupina istraživača (120) u istraživanju u kojem se pokazalo da više od 50% trihomonasom inficiranih muškaraca nema nikakvih simptoma infekcije.

U ovom istraživanju učestalost trihomonoze od 2% u skupini asimptomatskih muškaraca bila je značajno niža nego učestalost trihomonoze u skupini simptomatskih muškaraca (8,2%). Slične rezultate, korištenjem PCR metodologije u dijagnostici trihomonoze prikazala je i skupina istraživača (75) u istraživanju s gotovo dvostruko nižom učestalošću trihomonoze u skupini asimptomatskih muškaraca. U studiji grupe autora iz 2003. godine (121) nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti detekcije parazita *T.*

vaginalis PCR metodom između muškaraca sa simptomima uretritisa i onih bez ikakvih simptoma.

Uspoređujući učestalost nalaza *T. vaginalis* u simptomatskih muškaraca s drugim u istraživanju traženim vrstama mikroorganizama – bakterijama *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *M. hominis* i *U. urealyticum* najniža učestalost zabilježena je za gonokoknu infekciju (0,8%). Zatim po učestalosti slijedi infekcija bakterijom *M. hominis* (6,0%). Ista učestalost (8,2%) zabilježena je za trihomozu i klamidijazu, dok je najviša učestalost zabilježena za infekciju bakterijom *U. urealyticum* (14,2%).

Uspoređujući učestalost nalaza *T. vaginalis* u asimptomatskih muškaraca s drugim u istraživanju traženim vrstama mikroorganizama najniža učestalost zabilježena je također za bakteriju *N. gonorrhoeae* (0%). Zatim po učestalosti slijedi infekcija bakterijom *M. hominis* (4,5%). Učestalost klamidijaze iznosila je 5,5%, dok je najviša učestalost i u ovoj skupini ispitanika zabilježena za infekciju bakterijom *U. urealyticum* (17%).

Ove rezultate ipak treba tumačiti s oprezom budući da za dijagnostiku svih vrsta mikroorganizama nisu korištene iste dijagnostičke metode.

U sličnim istraživanjima u svijetu skupina američkih autora (118) korištenjem metode kultivacije za detekciju gonokoka i PCR metode za dijagnostiku klamidijaze i trihomozu u muškaraca sa simptomima uretritisa dokazala je učestalost trihomozu od 13%, klamidijaze od 11%, a gonoreje od 19%.

Višu učestalost klamidijaze (19,6%) od učestalosti trihomozu (17%) i gonoreje (17,7%) korištenjem PCR metodologije zabilježili su Schwebke i suradnici 2003. godine (121) u skupini muškaraca sa simptomima uretritisa.

Dijagnostika *T. vaginalis* infekcije i danas se najčešće zasniva na metodi mikroskopije nativnog preparata. Iako su brojna istraživanja pokazala relativnu neosjetljivost ove metode u dijagnostici trihomonoze mali je broj laboratorija koji u rutinskoj dijagnostici ove parazitoze primjenjuju druge osjetljivije metode.

Metoda kultivacije trihomonasa u tekućoj podlozi po Diamondu pokazala se osjetljivijom metodom za dijagnostiku ove parazitoze, međutim vrijeme potrebno za detekciju organizama odgađa dijagnozu. Također je nužna i priprema ili kupnja selektivnih podloga za kultivaciju trihomonasa.

Iako je od prvog opisa primjene metode PCR za dijagnostiku trihomonoze prošlo više godina (104), ova metoda nije zaživjela u rutinskoj dijagnostici ove parazitoze i uglavnom se primjenjivala u istraživačke svrhe.

U ovom istraživanju korištenjem metode real time PCR-a dokazano je gotovo trostruko više oboljelih od trihomonoze nego korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina. Dvostruko više bilo je oboljelih detektiranih real time PCR metodom, nego detektiranih metodom kultivacije.

Rezultati našeg istraživanja usporedivi su s drugim sličnim istraživanjima u svijetu koja su pokazala veću osjetljivost PCR metode od klasičnih metoda dijagnostike trihomonoze.

U studiji američkih autora iz 2003. godine (117) kultivacijom sedimenta urina *T. vaginalis* nađen je u 15 (5%) od 300 muškaraca s uretritisom, dok je rezultat PCR metode bio pozitivan u 52 (17%) od 300 ispitanika.

U istraživanju Hobbsa i suradnika (75) koje je obuhvaćalo 293 muškarca sa simptomima uretritisa, metodama mikroskopije nativnog preparata i kultivacije sedimenta urina trihomonoza je dokazana u 38 (12,9%), a metodom PCR u 51 (17,4%) ispitanika.

Prema literaturnim podacima rizični čimbenici za nastanak trihomonoze su često mijenjanje seksualnih partnera, prošla ili sadašnja spolno prenosiva bolest u anamnezi, konzumacija alkohola ili droga i niži stupanj edukacije (122-124).

Rizični čimbenici za trihomozu u muškaraca dokazani ovim istraživanjem su heteroseksualnost ($p=0,036$), upuštanje u spolne odnose s osobama izvan Republike Hrvatske ($p=0,035$), i osobama prodateljicama spolnih usluga ($p<0,001$), te starija životna dob prilikom prvog spolnog odnosa ($p=0,049$).

Nije nađena statistički značajna povezanost trihomonoze s mjestom prebivališta ($p=0,213$), zaposlenjem ($p=0,673$) i učestalošću korištenja kondoma prilikom spolnog odnosa ($p=0,573$). Također nije nađeno da su bračni status ($p=0,330$), roditeljstvo ($p=0,652$), i testiranje na HIV protutijela ($p=0,297$) rizični čimbenik za trihomozu.

Suprotno literaturnim podacima, u ovom istraživanju, broj seksualnih partnera u posljednjih godinu dana ($p=0,109$), korištenje droge ili alkohola ($p=0,611$), i stupanj obrazovanja ($p=0,968$), nisu dokazani kao rizični čimbenici za trihomozu.

Iako je već više od pola stoljeća poznato da je parazit *T. vaginalis* jedan od mogućih uzročnika uretritisa u muškaraca, na ovu infekciju se rijetko misli, pa u velikog broja muškaraca bolest nije prepoznata niti adekvatno liječena. Uzimajući u obzir brojne moguće neželjene posljedice neliječene trihomonoze, nezanemarivu učestalost infekcije kako u populaciji simptomatskih pojedinaca, tako i u općoj populaciji, smatram da će se dosadašnji često ignorirajući pristup trihomozu promijeniti, posebno s obzirom na dostupnost novih neinvazivnih, brzih i visoko osjetljivih metoda u dijagnostici trihomonoze.

6. ZAKLJUČCI:

1. Ispitanici sa i bez simptoma uretritisa pokazali su visok stupanj podudarnosti s obzirom na istraživane sociodemografske karakteristike.

Prosječna životna dob ispitanika sa simptomima uretritisa (skupina bolesnika) iznosila je 37,7 godina, prebivalište u gradu imalo ih je 88,8%, srednjoškolsko obrazovanje završilo je njih 60%, zaposlenih je bilo 72,8%, 39,2% bilo ih je oženjenih i 43,0% ispitanika ove skupine bili su očevi.

Prosječna životna dob ispitanika bez simptoma uretritisa (kontrolna skupina) iznosila je 38,0 godina, prebivalište u gradu imalo ih je 90,0%, srednjoškolsko obrazovanje završilo je njih 62,0%, zaposlenih je bilo 75,5%, oženjenih je bilo 46,5%, a 43,5% ovih ispitanika bili su očevi.

2. U muškaraca sa simptomima uretritisa dokazana je učestalost *T. vaginalis* infekcije korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina od 2,4%, metodom kultivacije sedimenta urina u tekućoj podlozi po Diamondu od 4,8% i metodom real time PCR od 8,2%.
3. U muškaraca bez simptomima uretritisa dokazana je učestalost *T. vaginalis* infekcije korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina od 1,0%, metodom kultivacije sedimenta urina u tekućoj podlozi po Diamondu od 1,5% i metodom real time PCR od 2,0%.
4. Učestalost infekcije parazitom *T. vaginalis* u skupini muškaraca s kliničkom slikom uretritisa razlikuje se od učestalosti ovog organizma u kontrolnoj skupini muškaraca bez simptoma uretritisa, na način da je trihomonozna dokazana metodom kultivacije i

real time PCR-om statistički značajno češća u skupini muškaraca s kliničkom slikom uretritisa ($p=0,041$; $p=0,002$).

5. Korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina u dijagnostici trihomonoze nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti trihomonoze između skupine simptomatskih i asimptomatskih muškaraca ($p=0,232$).
6. Usporedba rezultata metoda kultivacije i mikroskopije nativnog preparata sedimenta urina ukazala je na osjetljivost mikroskopije od 50,0% i specifičnost od 99,3%. Pozitivna prediktivna vrijednost metode mikroskopije iznosila je 64,3%, a negativna prediktivna vrijednost ove metode 97,4%.
7. Osjetljivost real time PCR metode u dijagnostici trihomonoze veća je od osjetljivosti rutinskih dijagnostičkih metoda – mikroskopije nativnog preparata i kultivacije
8. Usporedba rezultata metoda kultivacije i real time PCR-a ukazala je na osjetljivost metode real time PCR-a od 100,0%, i specifičnost od 97,3%. Pozitivna prediktivna vrijednost metode PCR iznosila je 60%, a negativna prediktivna vrijednost ove metode 100,0%.
9. Dokazano je statistički značajno češće oboljevanje od trihomonoze u heteroseksualnih muškaraca ($p=0,036$), muškaraca koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske ($p=0,035$), onih koji su plaćali za spolne usluge ($p<0,001$), te onih koji su bili stariji prilikom prvog spolnog odnosa ($p=0,049$).
10. Nije nađena statistički značajna povezanost trihomonoze s mjestom prebivališta ispitanika ($p=0,213$), razinom njihovog obrazovanja ($p=0,968$), zaposlenjem ($p=0,673$) i čestoćom korištenja kondoma prilikom spolnog odnosa ($p=0,573$). Također nije nađeno da su bračni status ($p=0,330$), roditeljstvo ($p=0,652$), broj seksualnih partnera u posljednjih godinu dana ($p=0,109$), korištenje droge ili alkohola prije spolnog

odnosa ($p=0,611$), i testiranje na HIV protutijela ($p=0,297$) rizični čimbenici za trihomozu.

11. Učestalost infekcija ostalim vrstama mikroorganizama u skupini muškaraca sa simptomima uretritisa iznosila je 0,8% za gonoreju, 6,0% za mikoplazmozu, 8,2% za klamidijazu, te 14,2% za ureaplazmozu.
12. U muškaraca bez simptoma uretritisa nije nađen niti jedan slučaj gonoreje. Učestalost mikoplazmoze u ovoj skupini ispitanika iznosila je 4,5%, klamidijaze 5,5%, a ureaplazmoze 17%.
13. Nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti ovih infekcija između simptomatske i asimptomatske skupine muškaraca (gonoreja $p=0,259$; mikoplazmoza $p=0,434$; klamidijaza $p=0,218$; ureaplazmoza $p=0,349$).

7. SAŽETAK

Infekcija parazitom *T. vaginalis* predstavlja značajan javnozdravstveni problem širom svijeta. U muškaraca se trihomonoza može manifestirati kao uretritis, prostatitis, balanopostitis i epididimitis. Sindrom uretritisa jedan je od najčešćih kliničkih entiteta u muškaraca s kojim se u svojem radu susreću mikrobiolozi. U radu je analizirana učestalost *T. vaginalis* infekcije u 500 muškaraca s kliničkom slikom uretritisa (skupina bolesnika) i u 200 muškaraca bez kliničke slike uretritisa (kontrolna skupina). Kao uzorak korišten je sediment prvog mlaza jutarnjeg urina. Za dijagnostiku trihomonoze korištene su sljedeće metode: mikroskopija nativnog preparata, kultivacija po Diamondu i real time PCR. *T. vaginalis* infekcija dokazana je korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata u 2,4%, kultivacije u 4,8%, i real time PCR-om u 8,2% ispitanika sa simptomima uretritisa. *T. vaginalis* dokazan je korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata u 1,0%, kultivacije u 1,5% i real time PCR-om u 2,0% ispitanika kontrolne skupine. Učestalost infekcije parazitom *T. vaginalis* u skupini muškaraca s kliničkom slikom uretritisa razlikuje se od učestalosti infekcije ovim organizmom u kontrolnoj skupini muškaraca bez simptoma uretritisa, na način da je trihomonoza dokazana metodom kultivacije i real tim PCR-om statistički značajno češća u muškaraca s kliničkom slikom uretritisa ($p=0,041$; $p=0,002$). Korištenjem metode mikroskopije nativnog preparata nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti nalaza trihomonoze između ispitanika obje skupine ($p=0,232$). Osjetljivost real time PCR metode u dijagnostici trihomonoze bila je veća od osjetljivosti rutinskih dijagnostičkih metoda – mikroskopije i kultivacije. Usporedba rezultata dobivenih metodom kultivacije i mikroskopije pokazala je osjetljivost metode mikroskopije od 50,0% i specifičnost od 99,3%. Pozitivna prediktivna vrijednost mikroskopiranja iznosila je 64,3%, dok je negativna prediktivna vrijednost iznosila 97,4%. Usporedba metode kultivacije i real time PCR-a ukazala je na

osjetljivost real time PCR-a od 100,0%, dok je specifičnost iznosila 97,3%. Pozitivna prediktivna vrijednost iznosila je 60%, dok je negativna prediktivna vrijednost iznosila 100,0%. Dokazano je statistički značajno češće oboljevanje od trihomonoze u heteroseksualnih muškaraca ($p=0,036$), muškaraca koji su imali spolne odnose izvan Republike Hrvatske ($p=0,035$), onih koji su plaćali za spolne usluge ($p<0,001$), te onih koji su bili stariji prilikom prvog spolnog odnosa ($p=0,049$). Nije nađena statistički značajna povezanost trihomonoze s mjestom prebivališta ($p=0,213$), razinom obrazovanja ($p=0,968$), zaposlenjem ($p=0,673$) i čestoćom korištenja kondoma prilikom spolnog odnosa ($p=0,573$). Također nije nađeno da su bračni status ($p=0,330$), roditeljstvo ($p=0,652$), broj seksualnih partnera u posljednjih godinu dana ($p=0,109$), korištenje droge ili alkohola prije spolnog odnosa ($p=0,611$), kao ni testiranje na prisutvo HIV protutijela ($p=0,297$) rizični čimbenik za trihomozu. Uzimajući u obzir brojne moguće neželjene posljedice neliječene trihomonoze, nezanemarivu učestalost same infekcije kako u populaciji simptomatskih muškaraca, tako i u općoj populaciji smatram da će se dosadašnji često ignorirajući pristup trihomozu promijenti, posebno s obzirom na dostupnost novih neinvazivnih, brzih i visoko osjetljivih metoda za dijagnostiku.

8. SUMMARY

Infection with *T. vaginalis* parasite presents a significant global public health problem. In men trichomoniasis may be manifested as urethritis, prostatitis, balanoposthitis and epididymitis. Urethritis syndrome is one of the most common clinical entities in men microbiologists are faced with in their profession. This study analyzes the incidence of *T. vaginalis* infection in men with a clinical picture of urethritis. The sediment of first void urine was used as sample. The following methods were used in the diagnosis of trichomoniasis: wet smear microscopy, cultivation in Diamond's medium and real time PCR. This study included a total of 700 examinees who were grouped according to either presence or absence of urethritis syndrome. One group contained 500 men with urethritis symptoms, the other 200 men without urethritis symptoms. In 2.4% men with urethritis symptoms *T. vaginalis* infection was proved using wet smear microscopy, in 4.8% by cultivation, in 8.2% cases using real time PCR. In 1.0% men from the asymptomatic male group *T. vaginalis* infection was proved by wet smear microscopy, in 1.5% by cultivation, and in 2.0% using real time PCR. The incidence of infection caused by *T. vaginalis* in the male group with urethritis differs from the incidence of the same organism in the control group who manifested no urethritis symptoms in the following way: trichomoniasis proved by cultivation and real time PCR is statistically significantly more common in the group of men with clinical urethritis ($p=0.041$; $p=0.002$). The wet smear method in the diagnosis of trichomoniasis discovered no statistically significant difference in the incidence of trichomoniasis between the symptomatic and asymptomatic groups ($p=0.232$). The sensitivity of real time PCR in trichomoniasis diagnostic was higher than the sensitivity of routine diagnostic methods – microscopy and cultivation. A comparison of results obtained by cultivation and microscopy showed that microscopy sensitivity was 50.0% and specificity 99.3%. Positive predicative value of

microscopy was 64.3%, negative 97.4%. A comparison of cultivation and real time PCR showed that the latter had 100.0% sensitivity and 97.3% specificity. Positive predictive value was 60%, negative 100.0%. Trichomoniasis was proven statistically significantly more common in heterosexual men ($p=0.036$), men who had sexual intercourse outside of Croatia ($p=0.035$), men who purchased sexual services ($p<0.001$) and men who were of relatively older age during their first sexual intercourse ($p=0.049$). No statistically significant connection was found between trichomoniasis and place of residence ($p=0.213$), educational background ($p=0.968$), employment ($p=0.673$) or frequency of condom use during sex ($p=0.573$). Marital status ($p=0.330$), parenthood ($p=0.652$), number of sexual partners in the last year ($p=0.109$), drug or alcohol use prior to sexual intercourse ($p=0.611$) and testing for HIV antibodies ($p=0.297$) were not identified as risk factors for trichomoniasis. Taking into consideration the numerous potential undesired sequelae resulting from untreated trichomoniasis and the significant incidence of this infection both in symptomatic men and the general population, we believe that the present, often disregarding, approach to trichomoniasis will change, primarily in regard to the availability of new noninvasive, rapid and highly sensitive diagnostic methods.

9 . LITERATURA

1. Gsell M. Trichomonas. U: Miller L. ur. Infektionskrankheiten. 4. izd. Heidelberg: Springer; 1972, str. 452-460.
2. Thomason JL, Gelbart SM. *Trichomonas vaginalis*. Obstet Gynecol 1989; 74: 536-541.
3. Bradley P, Lahti CJ, Plumper E, Johnson PJ. Targeting and translocation of proteins in to the hydrogenosome of the protist *Trichomonas*: similarities with mitochondrial protein import. EMBO J 1997; 16: 3484-3493.
4. Dyall S, Johnson PJ. Origins of hydrogenosomes and mitochondria: evolution and organelle biogenesis. Curr Opin Microbiol 2000; 3: 404-411.
5. Dyer B. Phylum Zoomastigina Class Parabasalia. U: Margulis L, ur. Handbook of Protista. Boston: Jones and Barlett; 1990, str. 252-258.
6. Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. 4. izdanje. Washington DC: ASM Press; 2001.
7. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH i sur. Manual of clinical microbiology. 8. izdanje. Washington DC: ASM Press; 2003.
8. McClelland RS. *Trichomonas vaginalis*: Can we afford to do nothing? J Infect Dis 2008; 197: 487-489.
9. Garbase AC, Rowley JT, Mertens TE. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. Lancet. 1999; 351: 2-4.
10. Parker S, Campbell J, McIntosh K, Gajadhar A. Diagnosis of trichomoniasis in «virgin» bulls by culture and polymerase chain reaction. Can Vet J. 2003; 44: 732-734.
11. Foster DM, Gookin JL, Poore MF, Stebbins ME, Levy MG. Outcome of cats with diarrhea and *Tritrichomonas foetus* infection. J Am Vet Med Assoc. 2004; 225: 888-892.
12. Gookin JL, Birkenheuer AJ, St John V, Spector M, Levy MG. Molecular characterization of trichomonads from feces of dogs with diarrhea. J Parasitol. 2005; 91: 939-943.
13. Pereira-Neves A, Ribeiro KC, Benchimol M. Pseudocysts in trichomonads-new insights. Protist 2003;154: 313-329.
14. Benchimol M. Trichomonads under microscopy. Microsc Microanal 2004;10: 528-550.
15. Spence M. Trichomoniasis. Contemp OB/GYN 1992; 1: 132-141.
16. Carlton JM. Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*. Science 2007; 315: 207-212.

17. World Health Organisation. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overviews and estimates. WHO Bull 2001.
18. Van Der Pol V. *Trichomonas vaginalis* infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection received the least public health attention. Clin Infect Dis 2007; 44: 23-25.
19. Cates W. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. Sex Transm Dis Suppl 1999; 26: 52-57.
20. Smith KS, Tabrizi S, Fethers KA, Knox J, Pearce C, Garland SM: Comparison of conventional testing to polymerase chain reaction in detection of *Trichomonas vaginalis* in indigenous women living in remote areas. Int J STD AIDS 2005; 16: 811-815.
21. Van Der Pol B, Kraft CS, Williams JA. Use of a commercially available PCR assay aimed at diagnosis of chlamydia and gonorrhoea to detect *Trichomonas vaginalis* in urogenital specimens. J Clin Microbiol 2006; 44: 366-373.
22. Van Der Pol B, Williams JA, Orr DP, Batteiger BE, Fortenberry JD. Prevalence, incidence, natural history, and response to treatment of *Trichomonas vaginalis* infection among adolescent women. J Infect Dis 2005; 192: 2039-2044.
23. Van Der Schee C, Van Belkum A, Zwijgers L i sur. Improved diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swabs and urine specimens compared to diagnosis by wet mount microscopy, culture, and fluorescent staining. J Clin Microbiol 1999; 37: 4127-4130.
24. Wendel KA, Erbedig EJ, Gaydos CA, Rompalo AM. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared with standard diagnostic and therapeutic protocols for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. Clin Infect Dis 2002; 35: 576-580.
25. Zakon o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti. Dostupno na URL: <http://www.nn.hr/clanci/sluzbeno/1992/1582.htm>
26. Shuter J, Bell D, Graham D, Holbrook KA, Bellin EY. Rates of and risk factors for trichomoniasis among pregnant inmates in New York City. Sex Transm Dis 1998; 25: 303-307.
27. Bachmann LH, Lewis I, Allen R i sur. Risk and prevalence of treatable sexually transmitted diseases at a Birmingham substance abuse treatment facility. Am J Public Health 2000; 90: 1615-1618.
28. Shafer MA, Moncada J, Boyer CB, Betsinger K, Flinn SD, Schachter J. Comparing first-void urine specimens, self-collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by a nucleic acid amplification test. J Clin Microbiol 2003; 41: 4395-4399.

29. Kaydos SC, Swygard H, Wise SL i sur. Development and validation of a PCR-based enzyme-linked immunosorbent assay with urine for use in clinical research settings to detect *Trichomonas vaginalis* in women. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 89-95.
30. Smith K, Harrington K, Wingood G, Oh MK, Hook EW, DiClemente RJ. Self-obtained vaginal swabs for diagnosis of treatable sexually transmitted diseases in adolescent girls. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155: 676-679.
31. Spence MA, Hollander DH, Smith J i sur. The clinical and laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Dis* 1980; 7: 168.
32. Sutton M, Sternberg M, Koumans EH, McQuillan G, Berman S, Markowitz L. The prevalence of *Trichomonas vaginalis* infection among reproductive-age women in the United States, 2001-2004. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 1319-1326.
33. Joyner JL, Douglas JM Jr, Ragsdale S, Foster M, Judson FN. Comparative prevalence of infection with *Trichomonas vaginalis* among men attending a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis* 2000; 27: 236-240.
34. Butler WJ, Spence MR, Brockman MT. Trichomoniasis: a male urethritis. *Sex Transm Dis* 1982; 8: 168.
35. Borcharad KA, AL-Haraci S, Maida N. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in a male sexually transmitted disease clinic population by interview, wet mount microscopy, and the InPouch TV test. *Genitourin Med* 1995; 71: 236-240.
36. Ozbilgin A, Ozbel Y, Alko A i sur. Trichomoniasis in a non-gonococccic urethritis among male patients. *J Egypt Soc Parasitol* 1994; 24: 621-625.
37. Saxena SB, Jenkins RR. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in men at high risk for sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis* 1991; 18: 138-142.
38. Wilcox R. Epidemiological aspects of human trichomoniasis. *Br J Vener Dis* 1960; 36: 167.
39. Danesh IS, Stephen JM, Gorbach J. Neonatal *Trichomonas vaginalis* infection. *J Emerg Med* 1995; 13: 51-54.
40. Lossik JG. Epidemiology of urogenital trichomoniasis. *Exp Parasitol* 1984; 58: 245-253.
- 41 Arroyo R, Engbring J, Alderete JF. Molecular basis of host epithelial cell recognition by *Trichomonas vaginalis*. *Mol Microbiol* 1992; 6: 853-862.
42. Engbring JA, O'Brien JL, Alderete JF. *Trichomonas vaginalis* adhesins display molecular mimicry to metabolic enzymes. *Adv Exp Med Biol* 1996; 408: 207-223.

43. Alderete J F, Garza GE. 1988. Identification and properties of *Trichomonas vaginalis* proteins involved in cytoadherence. *Infect Immun* 1988; 56: 28-33.
44. Arroyo R, Gonzalez-Robles A, Martinez-Palomo A, Alderete JF. Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesion synthesis follows cytoadherence. *Mol Microbiol* 1993; 7: 299-309.
45. Alderete J F, O'Brien JL, Arroyo R i sur. 1995. Cloning and molecular characterization of two genes encoding adhesion proteins involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence. *Mol Microbiol* 1995; 17: 69-83.
46. Lecker MW, Arroyo R, Alderete JF. The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan *Trichomonas vaginalis*. *J Exp Med* 1991; 174: 311-318.
47. Silva-Filho F, Kasai S, Nomizu M i sur. How laminin-1 can be recognized by the protozoan parasite *Tritrichomonas foetus*: possible role played by the extracellular matrix glycoprotein in both cytoadhesion and cytotoxicity exerted by the parasite. *Parasitol Int* 2002; 51: 305-307.
48. Costa e Silva F, de Souza FW, Lopes JD. Presence of laminin-binding proteins in trichomonads and their role in adhesion. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 85: 8042-8046.
49. Peterson KM, Alderete JF. Host plasma proteins on the surface of pathogenic *Trichomonas vaginalis*. *Infect Immun* 1982; 37: 755-762.
50. Costa e Silva F, Breier-Saraiva FEM, Tosta MX, de Souza W. *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus* secrete neuraminidase into the culture medium. *Mol Biochem Parasitol* 1989; 35: 73-78.
51. Meysick KC, Dimock K, Garber GE. Molecular characterization and expression of a N-acetylneuraminidase gene from *Trichomonas vaginalis*. *Mol Biochem Parasitol* 1996; 76: 289-292.
52. Landolfo S, Martinotti MG, Martinetto P, Forni G. Natural cell-mediated cytotoxicity against *Trichomonas vaginalis* in the mouse. *J Immunol* 1980;124: 508-514.
53. Yano A, Yui K, Aosai F, Kojima S, Kawana T, Ovary Z. Immune response to *Trichomonas vaginalis*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1983; 72: 150-157.
54. Honigberg BM. Immunology of trichomonads, with emphasis on *Trichomonas vaginalis*. *Acta Univ Carol-Biol* 1987; 10: 321-336.
55. Wølner-Hanssen P, Krieger JN, Stevens CE i sur. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis. *JAMA* 1989; 261: 571-576.

56. Gombosova, A, Demes P, Valent M. Immunotherapeutic effect of the *Lactobacillus* vaccine, Solco Trichovac, in trichomoniasis is not mediated by antibodies cross reacting with *Trichomonas vaginalis*. Genitourin Med 1986; 62: 107-110.
57. Abraham MC, Desjardins M, Filion LG, Garber GE. Inducible immunity to *Trichomonas vaginalis* in a mouse model of vaginal infection. Infect Immun 1996; 64: 3571-3575.
58. Bozner P. Immunological detection and subcellular localization of Hsp70 and Hsp60 homologs in *Trichomonas vaginalis*. J Parasitol 1997; 83: 224-229.
59. Davis SR, Lushbaugh WB. 1992. Characterization of the heat-shock response of *Trichomonas vaginalis*. Am J Trop Med Hyg 1992; 47: 70-77.
60. Davis SR, Lushbaugh WB. Oxidative stress and *Trichomonas vaginalis*: the effect of hydrogen peroxide in vitro. Am J Trop Med Hyg 1993; 48: 480-487.
61. Johnson PJ, Schuck BL, Delgadillo MG. Analysis of a single-domain P-glycoprotein-like gene in the early-diverging protist *Trichomonas vaginalis*. Mol Biochem Parasitol 1994; 66: 127-137.
62. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin Microb Rev 1998; 11: 300-317.
63. Sebek V. *Trichomonas pyosalpinx*. Cesk Gynekol 1972; 37: 14-15.
64. Rein MF, Chapel TA. Trichomoniasis, candidiasis, and the minor venereal diseases. Clin Obstet Gynecol 1975; 18: 73-88.
65. McLellan R, Spence MR, Brockman M, Raffel L, Smith JL. The clinical diagnosis of trichomoniasis. Obstet Gynecol 1982; 60: 30-34.
66. Holmes KK, Handsfield HH, Wang SP, Wentworth BB, Turck M, Anderson JB, Alexander ER. Etiology of nongonococcal urethritis. N Engl J Med 1975; 292: 1199-1205.
67. Krieger JN. Prostatitis syndromes: pathophysiology, differential diagnosis, and treatment. Sex Transm Dis 1984; 11: 100-112.
68. Mardh PA, Colleen S. Search for uro-genital tract infections in patients with symptoms of prostatitis. Studies on aerobic and strictly anaerobic bacteria, mycoplasmas, fungi, trichomonads and viruses. Scand J Urol Nephrol 1975; 9: 8-16.
69. Tuttle JP, Bannister ER, Derrick FC. 1977. Interference of human spermatozoal motility and spermatozoal agglutination by *Candida albicans*. J Urol 1977; 118: 797-799.
70. WHO. Report on the global HIV/AIDS epidemic. HIV and AIDS: the global situation.

Dostupno na URL: http://www.who.int/emc-hiv/global_report/rep_html/report2.html.1998.

71. Khan JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type I infection. *NEJM*. 1998; 339: 33-39.
72. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 927-932.
73. Laga M, Manoka A, Kivuvu M i sur. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993 ; 7: 95-102.
74. Wang CC, McClelland RS, Reilly M i sur. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2001; 183: 1017-1022.
75. Hobbs MM, Kazembe P, Reed AW i sur. *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. *Sex Transm Dis* 1999; 26: 381-387.
76. Price MA, Zimba D, Hoffman IF i sur. Addition of treatment for trichomoniasis to syndromic management of urethritis in Malawi: a randomized clinical trial. *Sex Transm Dis* 2003; 30: 516-522.
77. Keith LG, Friberg J, Fullan N, Bailey R, Berger GS. The possible role of *Trichomonas vaginalis* as a "vector" for the spread of other pathogens. *Int J Fertil* 1986; 31: 272-277.
78. El-Shazly AM, El-Naggar HM, Soliman M i sur. A study on *Trichomonas vaginalis* and female infertility. *J Egypt Soc Parasitol* 2001; 31: 545-553.
79. Tuttle JP Jr, Holbrook TW, Derrick FC. Interference of human spermatozoal motility by *trichomonas vaginalis*. *J Urol* 1977; 118: 1024-1025.
80. Gopalkrishnan K, Hinduja IN, Kumar TC. Semen characteristics of asymptomatic males affected by *Trichomonas vaginalis*. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1990; 7: 165-167.
81. Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, Yerg DE, Martin DH, Eschenbach DA. Demographic and behavioral predictors of *Trichomonas vaginalis* infection among pregnant women. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 1087-1092.
82. Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH i sur. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 965-972.
83. Klebanoff MA, Carey JC, Hauth JC i sur. Failure of metronidazole to prevent preterm delivery among pregnant women with asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection. *N Engl J Med* 2001; 345: 487-493.

84. Moodley P, Connolly C, Sturm AW. Interrelationships among human immunodeficiency virus type 1 infection, bacterial vaginosis, trichomoniasis, and the presence of yeasts. *J Infect Dis.* 2002; 185: 69-73.
85. Bechtold E, Reicher NB. The relationship of *Trichomonas* infestations to false diagnoses of squamous carcinoma of the cervix. *Cancer* 1952; 5: 442-457.
86. Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, Hakama M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol* 2000; 39: 71-75.
87. Zhang ZF, Begg CB. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol* 1994; 23: 682-690.
88. Lossick JC, Kent HL. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1217-1222.
89. Kingston MA, Bansal D, Carlin EM. «Shelf life» of *Trichomonas vaginalis*. *Int J STD AIDS* 2003; 14: 28-29.
90. Fripp PJ, Mason PR, Super H. A method for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* using acridine orange. *J Parasitol* 1975; 61: 966-967.
91. Rodriguez-Martinez HA., De la Luz Rosales M, Galloso de Bello L, Ruiz-Moreno JA. 1973. Adequate staining of *Trichomonas vaginalis* by McManus' periodic acid-Schiff stain. *Am J Clin Pathol* 1973; 59: 741-746.
92. Levett PN. A comparison of five methods for the detection of *Trichomonas vaginalis* in clinical specimens. *Med Lab Sci* 1980; 37: 85-88.
93. Nagesha, C. N., N. C. Ananthakrishna, and P. Sulochana. Clinical and laboratory studies on vaginal trichomoniasis. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 106: 933-935.
94. Garber GE, Sibau L, Ma R, Proctor EM, Shaw CE, Bowie WR. Cell culture compared with broth for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1275-1279.
95. Jaakmees H, Teras J, Roigas E, Nigesen U, Tompel H. Complement-fixing antibodies in the blood sera of men infested with *Trichomonas vaginalis*. *Wiad Parazytol* 1966; 12: 378-384.
96. Mason PR. Serodiagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by the indirect fluorescent antibody test. *J Clin Pathol* 1979; 32: 1211-1215.
97. Mathews HM, Healy GR. Evaluation of two serological tests for *Trichomonas vaginalis* infection. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 840-843.

98. Sibau L, Bebb D, Proctor EM, Bowie WR. Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of trichomoniasis in women. *Sex Transm Dis* 1987; 14: 216-220.
99. Teras J, Nigesen U, Jaakmees H, Roigas E, Tompel H. The agglutinogenic properties of *Trichomonas vaginalis* in human organism. *Wiad Parazytol* 1966; 12: 370-377.
100. Lisi PJ, Dondero RS, Kwiatkoski D, Spence MR, Rein MF, Alderete JF. Monoclonal-antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1684-1686.
101. Brown HL, Fuller DD, Jasper LT, Davis TE, Wright JD. Clinical evaluation of affirm VP8 in the detection and identification of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, and *Candida species* in vaginitis/vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004; 12: 17-21.
102. Briselden AM, Hillier SL. Evaluation of Affirm VP Microbial Identification Test for *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 148-152.
103. Rubino S, Muresu R, Rappelli P, Fiori P, Rizzu P, Erre G. Molecular probe for identification of *Trichomonas vaginalis* DNA. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 702-706.
104. Riley DE, Roberts MC, Takayama T, Krieger JN. Development of a polymerase chain reaction-based diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 465-472.
105. Schirm J, Bos PA, Roozeboom-Roelfsema IK, Luijt DS, Möller LV. *Trichomonas vaginalis* detection using real-time TaqMan PCR. *J Microbiol Methods* 2007; 68: 243-247.
106. Cosar C, Julou L. Activity of 1-(2'-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole (8823 RP) against experimental *Trichomonas vaginalis* infection. *Ann Inst Pasteur* 1959; 96 : 238-241.
107. Sucharit P, Uthaischant A, Chintana T, Suphadtanapongs W, Eamsobhana P, Prasomsitti P. In vivo and in vitro studies of tinidazole in *Trichomonas vaginalis* infection. *S. E Asian J Trop Med Public Health* 1979; 10: 556-561.
108. Fugere P, Verschelden G, Caron M. Single oral dose of ornidazole in women with vaginal trichomoniasis. *Obstet Gynecol* 1983; 62: 502-505.
109. Videau D, Niel G, Siboulet A, Catalan F. Secnidazole. A 5-nitroimidazole derivative with a long half-life. *Br J Vener Dis* 1978; 54: 77-80.
110. Pereyra AJ, Nelson RM, Ludders DJ. Flunidazole a new drug for systemic treatment of urogenital trichomoniasis. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 112: 963-966.
111. Müller M. Reductive activation of nitroimidazoles in aerobic microorganisms. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 37-41.

112. Hager WD, Brown ST, Kraus SJ, Kleris GS, Perkins GJ, Henderson M. Metronidazole for vaginal trichomoniasis: seven-day vs. single-dose regimen. *JAMA* 1980; 244: 1219-1220.
113. Heine P, McGregor JA. *Trichomonas vaginalis*: a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol* 1993; 36: 137-144.
114. Narcisi EM, Secor WE. In vitro effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996; 40: 1121-1125.
115. Caliendo AM, Jordan JA, Green AM, Ingersoll J, Diclemente RJ, Wingood GM. Real time PCR improves detection of *Trichomonas vaginalis* infection compared with culture using self-collected swabs. *Infect Dis Obstet and Gynecol* 2005; 13: 145-150.
116. McCormack W, Rein FM. Urethritis. U. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ur: Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Elsevier; 2005, str. 1347-1357.
117. Schwebke JR, Lawing LF. Improved detection by DNA amplification of *Trichomonas vaginalis* in males. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3681-3683.
118. Wendel KA, Erbeding EJ, Gaydos CA, Rompalo AM. Use of polymerase chain reaction to define the prevalence and clinical presentation of *Trichomonas vaginalis* in men attending an STD clinic. *Sex Transm Infect* 2003; 79: 151-153.
119. Kurth A, Whittington WLH, Golden MR, Thomas KK, Holmes KK, Schwebke J. Performance of a new, rapid assay for detection of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2940-2943.
120. Krieger JN. Trichomoniasis in men: old issues and new data. *Sex Transm Dis* 1995 ; 22: 83-96.
121. Schwebke J, Hook EI. High rates of *Trichomonas vaginalis* among men attending a sexually transmitted diseases clinic: implications for screening and urethritis management. *J Infect Dis* 2003; 188: 465-468.
122. Zhang ZF. Epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. A prospective study in China. *Sex Transm Dis* 1996; 23: 415-424.
123. Helms DJ, Mosure DJ, Metcalf CA i sur. Risk factors for prevalent and incident *Trichomonas vaginalis* among women attending three sexually transmitted disease clinics. *Sex Transm Dis* 2008; 35: 484-488.
124. Sena AC, Miller WC, Hobbs MM i sur. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 13-22.

10. ŽIVOTOPIS

Datum i mjesto rođenja: 06. kolovoz 1974. godine, Zagreb

Obrazovanje: Na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirao 1999. godine. Završio stručni poslijediplomski studij iz Medicinske mikrobiologije s parazitologijom. Specijalistički ispit iz medicinske mikrobiologije s parazitologijom položio 2006. godine.

Zaposlenja i dužnosti: Pripravnički staž obavio 1999/2000. godine preko Doma zdravlja Peščenica, Zagreb. Od 2001. godine zaposlen u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo kao stručni suradnik na Službi za mikrobiologiju. Od 2002-2006. godine na specijalizaciji iz medicinske mikrobiologije s parazitologijom također preko Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Nakon položenog specijalističkog ispita 2006. godine stručni suradnik na Odjelu za parazitologiju, Služba za mikrobiologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo. 2007. godine imenovan Voditeljem Odjela za parazitologiju, Službe za mikrobiologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

Nastavna i stručna aktivnost: Sudjelovao kao istraživač na Projektu Ministarstva znanosti i tehnologije broj 0005004 „Uzročnici zoonoza i agensi u bioterorizmu“ 2003-2006. godine.

Član stručne radne skupine u Centru za dobrovoljno, besplatno i anonimno HIV savjetovanje i testiranje na Projektu Ministarstva zdravstva i Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo „Unapređenje borbe protiv HIV/AIDS-a u Hrvatskoj“ od 2003 godine.

Sudjelovao kao istraživač na projektu HZJZ-a i Veterinarskog instituta u Zagrebu «Entomološko istraživanje populacije krpelja na području grada Zagreba» u 2008. godini.

Sudjelovao kao asistent na vježbama iz kolegija: «Osnove medicinske mikrobiologije s parazitologijom» za studente dodiplomske nastave na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu počevši od akademske godine 2003/04, te na vježbama za studente medicine na engleskom jeziku iz predmeta «Medical microbiology» počevši od akademske godine 2005/06.

Aktivno sudjelovao na nastavi iz poslijediplomskog stručnog studija iz medicinske mikrobiologije s parazitologijom, na nastavi iz izbornog predmeta «Uzročnici zoonoza», te na nastavi iz kolegija «Klinička mikrobiologija».

Sudjelovao kao organizator više tečajeva trajnog medicinskog usavršavanja I kategorije u Organizaciji Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i Hrvatskog društva za medicinsku mikrobiologiju i parazitologiju.

Bio mentor u izradi diplomskog rada za studente Visokog zdravstvenog veleučilišta smjer Inženjer laboratorijske dijagnostike s temama:

1. Laboratorijska dijagnostika *Trichomonas vaginalis* infekcije
2. Parazitološka dijagnostika toksokaroze.

2007. godine izabran za naslovnog asistenta na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu iz predmeta medicinska mikrobiologija i parazitologija.

Aktivno sudjelovao na više kongresa i tečajeva iz medicinske mikrobiologije i parazitologije u zemlji i svijetu.

Članstva:

Hrvatski liječnički zbor, Hrvatsko društvo za medicinsku mikrobiologiju i parazitologiju, Europsko društvo za klinički mikrobiologiju i zarazne bolesti, Europsko društvo za kliničku parazitologiju

Popis znanstvenih i stručnih radova:

Publikacije u časopisima indeksiranim u CC-u:

1. Bedenić B, Vraneš J, Mihaljević Lj, Tonkić M, **Sviben M**, Plečko V, Kalenić S. Sensitivity and specificity of various beta-lactam antibiotics and phenotypic methods in detection of TEM, SHV and CTX-M extended spectrum beta-lactamases. *Journal of Chemotherapy* 2007; 19: 127-139.
2. Bedenić B, Vraneš J, **Sviben M**, Beader N, Kalenić S. Postantibiotic and post-beta-lactamase inhibitor effect of carbapenems combined with EDTA against *Pseudomonas aeruginosa* strains producing VIM-metallo beta-lactamases. *Chemotherapy* 2008; 54: 188-193.
3. **Sviben M**, Vilibić Čavlek T, Mlinarić Missoni E, Mlinarić Galinović G. Seroprevalence of *Toxocara canis* infection among asymptomatic children with eosinophilia in Croatia. *Journal of Helminthology* 2009; 83: 369-371.
4. Elabjer BK, Busić M, **Sviben M**, Elabjer E, Predović J. Painless *Acanthamoeba* keratitis in a soft contact lens wearer-case report. *Collegium Antropologicum*. 2009; 33: 951-954.
5. Vilibić Čavlek T, Ljubin Sternak S, Ban M, Kolarić B, **Sviben M**, Mlinarić Galinović G. Seroprevalence of TORCH infections in women of childbearing age in Croatia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2010. (U tisku)
6. Bedenić B, Goić Barišić I, Budimir A, Tonkić M, Mihaljević Lj, Novak A, **Sviben M**, Plečko V, Punda Polić V, Kalenić S. Antimicrobial susceptibility and B-lactamases production of selected gram-negative bacilli from two croatian hospitals: MYSTIC study results. *Journal of Chemoterapy*. 2010. (U tisku)

Publikacije u časopisima referiranim u Index Medicusu:

1. **Sviben M**, Horvat-Krejči D, Novak-Lauš K. Rijedak uzročnik keratitisa - *Acanthamoeba spp.* *Liječnički Vjesnik* 2005; 127: 223-225.
2. **Sviben M**, Horvat Krejči D. Specifična mikrobiološka dijagnostika infekcije amebom *Entamoeba histolytica*. *Liječnički Vjesnik* 2008; 12: 420-421.

3. **Sviben M.** Mikrobiološka dijagnostika trihineloze. Liječnički Vjesnik 2009; 131: 265-269.

Publikacije u časopisima indeksiranim u drugim bibliografskim bazama i kongresni sažeci:

1. Vilibić-Čavlek T, **Sviben M**, Mlinarić-Galinović G, Turković B. Atypical pneumonias in Croatia. In Abstract book, HIT-6th International Conference: Biotechnology and public health. 2003; Cavtat: 98-99.

2. Vilibić-Čavlek T, **Sviben M**, Turković B, Mlinarić-Galinović G. Q groznica u Hrvatskoj od 1998-2002. U knjizi sažetaka, 1. hrvatski kongres preventivne medicine i unapređenja zdravlja. 2003; Zagreb:74.

3. **Sviben M**, Horvat-Krejči D, Novak-Lauš K. Rare cause of keratitis-*Acanthamoeba spp.* In Abstract book, 4th Croatian congress on infectious diseases with international participation. 2004; Opatija: 96.

4. **Sviben M**, Horvat-Krejči D. Serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. Influence of rheumatoid factor on IgM antibody detection. In Abstract book, 7th Croatian congress of clinical microbiology with international participation. 2005; Zagreb: 63-64.

5. Horvat-Krejci D, **Sviben M**. Specific diagnosis of *Entamoeba histolytica* in fecal specimens using an enzyme immunoassay (EIA). In Abstract book, 5th Croatian congress on infectious diseases with international participation. 2006; Zadar: 37-38.

6. Kosanović ML, Pavić Šimetin I, **Sviben M**, Kolarić B. Navike i ponašanja osoba testiranih na HIV u CST Zagreb. U knjizi sažetaka, 8 simpozij o spolno prenosivim bolestima i urogenitalnim infekcijama. 2006; Opatija: 30.

7. Vilibić Čavlek T, **Sviben M**, Mlinarić Galinović G. Atypical pneumonias caused by *C. burnetti* from 1998-2002: Results at Croatian Institute of Public Health. *Acta Medicorum* 2006; 32: 10-17.

8. Ceović R, Pašić A, Lipozenčić J, Marinović-Kulišić S, Budimčić D, **Sviben M**, Peršić Z. *Milker's nodule-case report*. *Acta Dermatovenerol Croat* 2007;15: 88-91.

9. **Sviben M**, Horvat-Krejči D, Mlinarić-Missoni E. Infekcije uzrokovane slobodnoživućim amebama-etiologija, kliničke osobitosti, dijagnostika, terapija i prevencija. *Medicina* 2007; 43:27-33.

10. **Sviben M**, Horvat-Krejči D, Mlinarić-Missoni E, Karlović-Martinković D, Vilibić-Čavlek T. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in women 15-44 years old in Republic of Croatia. In Abstract book, 5th European Congress on Tropical Medicine and International Health. 2007; Amsterdam: 251.

11. Batarilo I, **Sviben M**, Horvat Krejči D, Puzović M, Šarlija D, Jukić I. *Acanthamoeba* in conveyor moistening water. In Abstract book, Central European symposium on industrial microbiology and microbial ecology. 2007; Zadar: 91.

12. **Sviben M**, Horvat Krejči D. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis*: comparison of molecular and conventional methods. In Abstract book, 23rd conference on sexually transmitted infections and HIV/AIDS. 2007; Cavtat: 23-24.
13. **Sviben M**. Parazitarne infekcije probavnog sustava. U: Galinović Mlinarić G, Gjenero Margan I, Ljubin Sternak S. ur. Infekcije probavnog sustava. Zagreb: Medicinska naklada; 2008, 37-38.
14. **Sviben M**, Vojnovic G., Kolcic I. Real-time PCR in diagnostics of *Trichomonas vaginalis* infection., In Abstract book, 18th European congress of clinical microbiology and infectious diseases. 2008; Barcelona: 976.
15. Čavlek Vilibić T, Margan Gjenero I, Kolarić B, **Sviben M**, Ljubin Sternak S, Mlinarić Galinović G. Seroprevalence of hepatitis C virus infection in groups with high risk sexual behavior. In Abstract book, 4th Croatian congress of microbiology with international participation. 2008; Zadar: 76.
16. Pavoković G, Jurčić Momčilović D, Belčić D, **Sviben M**, Šantić M. Intracellular survival of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba spp.* In Abstract book, 4th Croatian congress of microbiology with international participation. 2008; Zadar: 97.
17. Karlović Martinković D, Katalinić Janković V, Šimunović A, Gjenero Margan I, **Sviben M**, Mlinarić Galinović G, Baklajić Ž. Detecting latent tuberculosis by the new QuantiFERon Test. In Abstract book, 4th Croatian congress of microbiology with international participation. 2008; Zadar: 110.
18. Karlović Martinković D, Nemeth Blažić T, Pem Novosel I, Aleraj B, Gjenero Margan I, **Sviben M**, Mlinarić Galinović G, Baklajić Ž, Fabris AM. Serološka dijagnostika borelijoza u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo u 2007. godini. U knjizi sažetaka, 8. hrvatski kongres kliničke mikrobiologije s međunarodnim sudjelovanjem. 2008; Zagreb: 163.
19. **Sviben M**, Predović J, Kuzmanović Elabjer B. *Acanthamoeba* keratitis in a soft contact lens wearer - a case report. In Abstract book, 10th European multicolloquium of parasitology. 2008; Paris: 139.
20. Vilibić Čavlek T, Ljubin Sternak S, Vojnović G, **Sviben M**, Mlinarić Galinović G. The role of IgG avidity in diagnosis of cytomegalovirus infection in newborns and infants. In Abstract book, Second Central European Forum for Microbiology. 2009; Keszthely: 259-260.
21. **Sviben M**. Sekundarni sifilis u tridesetpetogodišnjeg muškarca, korisnika CST-a u Zagrebu. U. Nemeth Blažić T, Kosanović ML, Kaić B i sur. Ur. Priručnik za HIV savjetovanje i testiranje. Zagreb: MZISS i HZJZ; 2009, str 113-114.

