Infekce ureaplazmaty a mykoplazmaty v urogenitální klinické praxi

doc. MUDr. Miloslav Salavec, CSc.¹, Mgr. Radek Sleha, Ph.D.², MUDr. Miroslav Louda, Ph.D.³,
doc. RNDr. Vanda Boštíková, Ph.D.², Mgr. Sylva Janovská, Ph.D.², prof. MUDr. Pavel Boštík, Ph.D.²

¹Klinika nemocí kožních a pohlavních FN a LF UK, Hradec Králové

²Katedra epidemiologie, FVZ UO, Hradec Králové

³Urologická klinika FN a LF UK, Hradec Králové

Článek se zabývá mykoplazmatickými infekcemi urogenitálního traktu. Shrnuje definici, morfologii, biochemické vlastnosti, patogenetické aspekty, jakož i klinický obraz, komplikace, konsekvence, diagnostiku a doporučenou terapii urogenitálních mykoplazmatických infekcí.

Klíčová slova: mycoplasma, Ureaplasma species, morfologie, patogenese, urogenitální infekce, diagnostika, terapie.

Infections of ureaplasma and mycoplasma in urogenital clinical practice

Mycoplasma and Ureaplasma infections of genitourinary tract are reviewed. Definition, pathogen morphology, biochemical properties, pathogenesis as well as clinical presentation, diagnostical tools and recommended management of such infections are summarized.

Key words: mycoplasma, Ureaplasma species, morphology, pathogenesis, genitourinary tract infections, diagnosis, management.

Úvod

Definice mykoplazmat

Mykoplazmata jsou unikátní prokaryotní mikroorganismy schopné samostatného růstu mimo hostitelskou buňku. Uvedená skupina bakterií zahrnuje i významné patogenní druhy vyvolávající infekce lidského respiračního a urogenitálního traktu. Mykoplazmata představují skupinu až 180 species zjišťovaných u lidí, savců, plazů, ryb, ale i v rostlinné říši. Skupina označovaná jako genitální mykoplazmata zahrnuje species často zjišťovaných v genitourinárním traktu sexuálně aktivních jedinců jako komensální agens i jako patogeny působící různé infekce. Ze 7 mykoplazmat detekovaných v genitourinárním traktu jsou pouze následující species jasně asociována s vývojem onemocnění: *Ureaplasma urealyticum* a *U. parvum* (označení jako *Ureaplasma spp.*) a dále *Mycoplasma hominis*

a *Mycoplasma genitalium*. Nicméně *M. hominis* a *Ureaplasma spp.* jsou často izolovány v dolním urogenitálním traktu zdravých dospělých mužů i žen. Kolonizace je spojována s mladším věkem, nízkou úrovní socioekonomického stavu a promiskuitní aktivitou partnerů. Tato species jsou příčinou non-gonokokových uretritid a bakteriální vaginózy, cervicitidy a endometritidy. Infekce u žen se mohou šířit ascendentním způsobem a vést k rozvoji zánětlivého onemocnění pánve (pelvic inflammatory disease – PID), v průběhu gravidity i k rozvoji chorionamnionitis a dalších komplikací gravidity. I když byla mykoplazmata popsána již v roce 1898, je problematika morbidity a možného vlivu na reprodukční schopnosti stále ne zcela jasná.

Historie

První mykoplazmata byla v souvislosti s onemocněním u člověka izolována v roce

1937. Jednalo se pravděpodobně o *M. hominis*, vykultivované z abscesu Bartholiniho žlázy. Během následujících let byly identifikovány i další druhy mykoplazmat schopné vyvolat onemocnění u lidí, jako jsou *M. pneumoniae* – původně označované jako PPLO (pleuropneumonia-like organism, 1944), *M. fermentans* (1952) nebo *M. genitalium* (1980; dle zdroje CD v roce 1981, první organismus s popsáním syntetickým geonomem na světě v J. Craig Center Institute JCVI-01, USA). V roce 1954 pak byla od mužů s negonokokovou uretritidou izolována první ureaplazmata. Jednalo se o bakterie podobné mykoplazmatům, které se však lišily svou morfologií a především velikostí kolonií narostlých na živných médiích. Tyto mikroorganismy byly proto označeny jako T-forma mykoplazmat (z angl. tiny – drobný). Od roku 1974 byly T-kmeny zařazeny do nově vytvořeného rodu *Ureaplasma*

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Miloslav Salavec, CSc., salavecm@post.cz

Klinika nemocí kožních a pohlavních FN a LF UK, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

Cit. zkr: Urol. praxi 2017; 18(5): 209–216

Článek přijat redakcí: 4. 4. 2017

Článek přijat k publikaci: 4. 8. 2017

jako druh *U. urealyticum* (schopnost štěpit ureu). Dva biovary ureaplazmat – *Ureaplasma urealyticum* a *Ureaplasma parvum*, jsou nyní označovány jako separátní species. Separace těchto species je možná pouze molekulárně biologickými metodami PCR. To je i důvodem řazení do jednoho názvu *Ureaplasma species*. *Ureaplasma parvum* je asi nejčastěji detekována v různých klinických vzorcích, ale *Ureaplasma urealyticum* je signifikantně větším patogenem u onemocnění typu uretritidy u mužů. Termín mykoplazmata je v současné době užíván k obecnému označení mikroorganismů skupiny *Mollicutes*, tedy nejen *Mycoplasma sp.*, ale i *Ureaplasma sp.*, *Anaeroplazma sp.* a dalších rodů. Pro infekci člověka mají význam 2 rody (genera) – *Mycoplasma* a *Ureaplasma* z čeledi *Mycoplazmataceae* (6).

Morfologie a genetická informace

Mykoplazmata jsou nejmenší a nejjednodušší mikroorganismy schopné samostatného života mimo hostitelskou buňku. Velikost bakteriálních buněk se pohybuje v závislosti na růstových podmínkách v rozmezí 0,3–1 µm. Ve srovnání s ostatními bakteriemi jsou buňky mykoplazmat vybaveny pouze minimálním množstvím organel – plazmatickou membránou, ribozomy a bakteriálním chromozomem. Charakteristickou vlastností mykoplazmat je absence pevné (rigidní) buněčné stěny, čímž se výrazně odlišují od ostatních prokaryot. Na jejich povrchu se nachází pouze tenká třívrstevná membrána, dosahující tloušťky přibližně 10 nm. Tato membrána je ze dvou třetin složena z proteinů a jednu třetinu tvoří lipidy. Významnou složkou membrány jsou dále fosfolipidy a cholesterol, který odpovídá za osmotickou integritu bakteriálních buněk (6).

Absence buněčné stěny je příčinou přirozené rezistence mykoplazmat na beta-laktamová antibiotika a pleomorfního charakteru bakteriálních buněk. Uvedené mikroorganismy se mohou vyskytovat ve formě tyčinek, případně oválných útvarů až vláken různé délky. Zároveň je však tato absence buněčné stěny příčinou vyšší náchylnosti mykoplazmat k vyschnutí.

Mykoplazmata se rozmnožují podobně jako jiná prokaryota jednoduchým binárním dělením. Generační doba mezi jednotlivými děleními dosahuje v závislosti na druhu přibližně 1–2 hodin. Samotné dělení začíná replikací bakteriálního genomu, které může zaostávat

za dělením cytoplazmy. Následkem toho pak vznikají mnohojaderná vlákna, která následně fragmentují na základní elementy.

Mykoplazmata prodělala v průběhu evoluce značnou redukci svého buněčného genomu. Jejich genetická informace je uložena do centrálního chromozomu, který je tvořen cirkulární, dvouvláknovou deoxyribonukleovou kyselinou. Mykoplazmata se vyznačují nejmenší genetickou informací oproti ostatním prokaryotním buňkám. Ve srovnání s genetickou informací *Escherichia coli*, dosahuje genom mykoplazmat přibližně 1/6 její velikosti. Příkladem je genetická informace *M. genitalium*, jehož genom patří s 580 Kbp k nejmenším vůbec.

Biochemické vlastnosti, citlivost, patogenetické aspekty a patogenese mykoplazmatických infekcí

Redukovaná velikost genetické informace uložené v bakteriálních buňkách je příčinou nízké biochemické a biosyntetické aktivity mykoplazmat. Současně je důvodem převážně parazitického způsobu života, zaměřeného na získávání esenciálních látek nezbytných pro existenci mykoplazmat. Mykoplazmata lze na základě jejich schopnosti využívat glukózu dělit na glykolytické a neglykolytické druhy. První skupina, kam patří *M. genitalium* nebo *M. pneumoniae* získává energii hydrolýzou glukózy. Neglykolytická mykoplazmata pak využívají jako zdroj energie L-arginin (*M. hominis*).

Ureaplazmata pak tvoří samostatnou skupinu získávající až 95 % energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP) hydrolýzou močoviny, prostřednictvím enzymu ureázy. Zbýlých 5 % tvorby ATP je pravděpodobně výsledkem substrátové fosforylace (6).

Změna pH v okolí množících se buněk bakterií postupně vytváří nepříznivé podmínky pro jejich existenci. Přidáním vhodného acidobazického indikátoru (např. fenolová červen) do kulturačních médií lze růst mykoplazmat vizualizovat.

Citlivost k vnějším podmínkám

Mykoplazmata jsou aerobní (*M. pneumoniae*) nebo fakultativně anaerobní mikroorganismy, vyžadující přítomnost 5–15 % CO₂ v atmosféře při jejich kultivaci na pevných půdách. Optimální inkubační teplota pro mykoplazmata je 36–37 °C.

Mykoplazmata jsou citlivá na vyschnutí, příčinou je již zmíněná absence buněčné stěny.

Teploty nad 60 °C a UV záření mykoplazmata spolehlivě inaktivují (6).

Antigenní struktury a faktory virulence

Mezi nejdůležitější antigeny a současně faktory virulence mykoplazmat patří adhezivní struktury na povrchu jejich membrány. Jedná se zejména o proteiny nebo lipoproteiny, umožňující mykoplazmatům přilnutí na povrch hostitelských buněk. Jako příklad takovýchto antigenů lze uvést MgpB (P140) u *M. genitalium* nebo P1 a P30 adhezin u *M. pneumoniae*. Podobnou funkci plní i tzv. Vaa (Variable adherence-associated adhesin) protein, P120 a P80 u *M. hominis* nebo jiné antigeny ze skupiny LMPs (z angl. Lipid associated membrane proteins). Nejvýznamnějším antigenem prokázaným u *U. urealyticum* je tzv. MBA (z angl. Multiple banded antigen) lipoprotein (4). Vysoká variabilita ve struktuře povrchových adhezín umožňuje mykoplazmatům unikát účinkům imunitního systému hostitelského organismu a vyústit v případy perzistentní infekce (obrázek 1).

Dalším faktorem virulence je schopnost produkce oxidových nebo superoxidových radikálů popsána dříve u *M. pneumoniae*, indukující oxidativní stres na postižených epiteliích. Neméně důležitým faktorem virulence je ureázová aktivita *U. urealyticum*. Amoniak vznikající v důsledku hydrolýzy močoviny navozuje lokální cytotoxický efekt. Ureaplazmata dále produkují IgA-proteázu, degradující slizniční vrstvu IgA imunoglobulinů, což jim následně usnadňuje kolonizaci mukózních povrchů v urogenitálním ústrojí. V souvislosti s ureaplazmaty byla již dříve zaznamenána tvorba fosfolipáz A a C a nukleáz. Fosfolipázová aktivita *U. urealyticum* je pravděpodobně odpovědná za indukci předčasných porodů nebo spontánních potratů u lidí. Příčinou je hydrolýza placentárních fosfolipidů a následná produkce volné arachidonové kyseliny, stimulující tvorbu prostaglandinů. Mykoplazmata jsou dále schopna aktivovat makrofágy a lymfocyty nebo stimulovat tvorbu cytokinů (5).

U některých kmenů *U. urealyticum* izolovaných ze zánětlivých procesů byla rovněž prokázána schopnost tvorby biofilmů. Ty mohou být příčinou selhání antimikrobiální terapie. V minulosti byla zaznamenána zvýšená odolnost kmenů tvořících biofilmy vůči erythromycinu a chinolonům. Biofilmy zvyšují rovněž odolnost ureaplazmat vůči působení imunitního systému

Obr. 1. Patogeneze infekcí *Mycoplasma genitalium* (5)

hostitele a mohou tak souviset s častým chronickým průběhem mykoplazmových infekcí.

Ačkoliv jsou mykoplazmata obecně považována za extracelulární organismy, je jejich intracelulární lokalizace považována za jeden z dalších potenciálních faktorů virulence. V minulosti byl tento jev pozorován u tzv. „AIDS asociovaných mykoplazmat“ jako například *M. penetrans*, dále *M. pneumoniae* a *M. genitalium*. Díaz-García et al. (6) potvrdili intracelulární výskyt *M. hominis* ve spermatocytech. Intracelulární lokalizace umožňuje mykoplazmatům unikat působení imunitního systému hostitelského organismu. Může současně souviset s častým chronickým průběhem infekcí a být příčinou zvýšené odolnosti mykoplazmat k antimikrobiálním látkám. Zaznamenána byla rovněž schopnost *M. hominis* pronikat a množit se uvnitř jiného venerického patogenu, a to *Trichomonas vaginalis*. Tato spojitost mezi oběma mikrobi může být ukázkovým příkladem kooperace, výhodné pro patogeny.

Patogeneze

Mykoplazmata jsou obligátní parazité. Prostřednictvím adhezínů proteinové povahy se nejprve přichytí na povrch hostitelských buněk, které jsou následně poškozovány produkty jejich metabolismu i hydrolytickými enzymy (spontánní či *in vitro* mutanty s deficitem exprese cytheadhizinu MgPa ztrácí schopnost hemagutinance či adherence k buněčným strukturám).

Plastický charakter membrány mykoplazmat napomáhá k jejich těsnějšímu přilnutí k membráně hostitelské buňky, která je následně ochuzována o esenciální látky jako jsou aminokyseliny, cholesterol, vitaminy a jiné pro mykoplazmata nezbytné růstové faktory. Epitely s oslabenými buňkami jsou pak citlivější k rozvoji infekčního zánětu i pro další mikroorganismy. *M. genitalium* je schopno obejít imunitní systém hostitele díky antigenním variacím, modulaci imunity a snadno dochází ke vzniku rezistence na antimikrobiální látky, což může vést k rozvoji perzistentní infekce (obrázek 1). Peptid methionin superoxid dismutáza MsrA je pravděpodobně faktorem virulence *M. genitalium*. Adheziny byly popsány i u *M. hominis*. Do patogeneze zasahuje i deplece argininu, produkce amoniaku a aktivita membránových enzymů fosfolipázy a aminopeptidů. U *Ureaplasma sp.* jsou určité transportéry železa a MBA protein (hlavní rozpoznávaný antigen) považovány za faktory virulence.

K poškození hostitelského organismu dochází i v důsledku cytotoxického působení amoniaku, který vzniká při metabolických procesech neglykolytických mykoplazmat a ureaplazmat. Významný je rovněž podíl imunitního systému. *U. urealyticum* mohou stimulovat tvorbu prozánětlivých cytokinů, zejména interleukinu IL-1β a prostaglandinu E2, které jsou rizikovým faktorem pro indukci předčasného porodu u těhotných žen. V souvislosti s *M. hominis* byla po-

zorována schopnost navodit produkci IL-23 dendritickými buňkami. Tvorba uvedeného interleukinu může souviset s autoimunitními chorobami, pozorovanými v souvislosti s *M. hominis* (6).

Epidemiologie

Mykoplazmata se mohou frekventovaně vyskytovat na sliznici nosohltanu nebo genitálního ústrojí jako komenzálové. Z celkového počtu 18 druhů izolovaných u lidí jsou jako patogenní považována pouze některá. Do této skupiny patří zejména *M. pneumoniae*, a dále pak skupina genitálních mykoplazmat mezi něž řadíme *M. genitalium*, *M. hominis* a *U. urealyticum*. *M. pneumoniae* je původcem 40 % komunitních pneumonií u dětí starších 5 let. Prevalence *M. genitalium* je udávána v rozmezí 1–6 %, pro *M. hominis* 5–15 % a 20–40 % pro *U. urealyticum*. Vyšší výskyt genitálních druhů mykoplazmat v populaci je závislý na řadě faktorů jako jsou pohlaví, věk, počet sexuálních partnerů nebo sociálně-ekonomický status.

Šíření *M. pneumoniae* probíhá vzdušnou cestou kontaminovaným aerosolem. K přenosu genitálních druhů mykoplazmat dochází zejména přímou cestou, kontaktem sliznic. Nejčastěji se jedná o horizontální přenos při pohlavním styku. Možný je rovněž i vertikální přenos při průchodu porodními cestami v průběhu porodu. Vzácněji byly popsány i případy přenosu infekce vyvolané *M. hominis* nebo *U. urealyticum* na příjemce během orgánové transplantace. Rizikové jsou zejména záahy v oblasti urogenitálního systému (ledviny), ale i srdce, plic nebo slinivky břišní. Dále byly oba druhy vykultivovány ze sliznice respiračního ústrojí (6).

Onemocnění vyvolaná mykoplazmaty

Urogenitální infekce

Nejvýznamnějším původcem infekcí urogenitálního traktu je *M. genitalium*. Tento obligátní patogen je frekventovaně prokazován u mužů s akutní i chronickou negonokokovou uretritidou (NGU), s prevalencí pohybující se mezi 10–30 %. *M. genitalium* u mužů bylo v některých pracích dále spojováno s balanopostitidou a prostatitidou. *M. genitalium* je zodpovědná za vývoj NGU nezávisle na přítomnosti *Chlamydia trachomatis* a *Ureaplasma spp.* *M. genitalium* je též asociováno s přibližně 30 % perzistentních či rekurentních uretritid a může být spojováno s post-gonokokovou uretritidou, balanopostitis,

prostatitis a epididymitis. Infekce *M. genitalium* u žen se většinou klinicky manifestuje vaginálním výtokem, cervicitidou nebo zánětem v oblasti pánve. Tyto infekce mohou až u 75 % případů probíhat asymptomaticky, přičemž mohou být etiologickým faktorem tubární sterility. Infekce *M. genitalium* v průběhu těhotenství jsou rovněž rizikovým faktorem spontánních potratů a předčasných porodů (6). Problematika pánevních zánětů je především doménou gynekologů. Urologové častěji řeší problematiku obecnější oblasti syndromu pánevních bolestí.

Ostatní druhy genitálních mykoplazmat jako *M. hominis* a *U. urealyticum* jsou považovány za podmíněně patogenní bakterie podílející se na infekcích lidského urogenitálního traktu. Výskyt obou bakteriálních druhů v mužském urogenitálním ústrojí je uváděn nejčastěji v souvislosti s gonokokovými uretritidami a jejich komplikacemi. U mužů zjišťujeme až 70 % symptomatických forem (uretritidy) s dysurií, s výtokem, zarudlým ústím uretry, výjimečně s šířením až k poškození prostaty a nadvarlat a možností vzniku tzv. SARA – sexually acquired reactive arthritis. V souvislosti s těmito záněty je zaznamenán vyšší výskyt zejména *U. urealyticum*, dosahující až 29 % oproti 1 % pro *M. hominis*. Oba druhy jsou dále izolovány od některých pacientů s akutní epididymitidou. Konečně byly agens typu *M. genitalium* ve specifických případech prokazovány i u chronických prostatitid. Barykova et al. (10) prokázali zastoupení obou druhů v prostatické tkáni, kdy v 15,6 % vzorcích potvrdili přítomnost *M. hominis* a v 0,8 % *U. urealyticum*. Autoři současně zmiňují potenciální souvislost mezi jejich výskytem a karcinomem prostaty.

Infekce urogenitálního traktu a lidská neplodnost

Infekční onemocnění genitálního traktu se mohou podílet na vzniku reprodukčních poruch a vést až k trvalé neplodnosti. Příčinou jsou zejména různé změny v pohlavním ústrojí vzniklé následkem zánětlivých procesů. Infekce genitálního ústrojí jsou příčinou až 15 % případů neplodnosti u lidí. Pro urologa/androloga je vyšetření možné infekce jen částí problematiky. Vyloučení STD je obvyklou součástí vstupního vyšetření reprodukčních center.

Neplodnost mužů a infekce

Mezi nejčastější příčiny neplodnosti u mužů jako následku infekčního procesu patří poruchy

spermiogeneze, ovlivnění funkce spermatocytů, porucha činnosti pohlavních žláz nebo obstrukce seminálního ústrojí.

Infekce přídatných pohlavních žláz (prostaty) jsou častou příčinou snížené reprodukční schopnosti. Tyto infekce jsou přímo spojeny se zhoršenými spermiologickými parametry, a to především redukovanou pohyblivostí (motilitou) spermií, jejich sníženou vitalitou a zvýšeným počtem morfologických abnormalit. Současně snižují fertilizační schopnost spermií a jsou spojeny s patologickými seminálními markery (7). Významným rizikem pro mužskou plodnost jsou dále infekční prostatitidy, snižující objemy ejakulátů a obsah energetických zdrojů pro spermatocyty (fruktózy). Negativní efekt na plodnost u mužů byl v minulosti prokázán u *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* a jiných enterobakterií. U jiných patogenních mikroorganismů je efekt na mužskou plodnost v současné době předmětem studia řady odborných pracovišť v úzké spolupráci s klinikami asistované reprodukce. Původce *M. genitalium* sice vykazuje konzistentní průkazy asociace s poškozením uretry u mužů, nicméně asociace s mužskou infertilitou a s jinými syndromy poškození mužského urogenitálního traktu zůstává neznámá. *M. genitalium* byl detekován u epididymitid v omezeném počtu případů bez dalšího rozsáhlého sledování a šetření.

Z hlediska mužské fertility může u bakteriálních infekcí hrát roli významný vliv mikroorganismů na pohlavní buňky. Mikroorganismy působí na spermatocyty přímo, adhezí na povrch spermatocytů a následnými celulárními interakcemi. Tyto interakce ovlivňují zejména motilitu spermatocytů. Závažným faktorem zhoršující kvalitu ejakulátů u mužů je výskyt protilátek aglutinujících spermatocyty. K jejich tvorbě zpravidla dochází v důsledku narušení celistvosti hemato-testikulární bariéry, např. v důsledku probíhající infekce, a následném kontaktu vyžrávajících spermatocytů s imunitním systémem. Vznikající anti-spermatické protilátky pak inhibují pohyblivost spermií a snižují jejich schopnost penetrovat cervikálním hlenem, nebo mohou vyvolat kaskádu reakcí vedoucích k lýze pohlavních buněk. Tyto protilátky mohou rovněž ovlivnit průběh akrosomální reakce, při níž dochází ke splynutí membrán akrosomu

a hlavičky spermie. Tím se uvolní hydrolytické enzymy umístěné v akrosomu, nezbytné pro průnik spermie obalem vajíčka.

Nepřímý vliv mikroorganismů na mužskou plodnost spočívá v produkci metabolitů, případně toxinů a snižování energetických zdrojů přítomných v seminální plazmě.

Neplodnost žen a infekce mykoplazmaty

Vliv na ženskou fertilitu byl v minulosti prokázán u pohlavně přenosných infekcí vyvolaných *N. gonorrhoeae* a *Ch. trachomatis*. Významnou příčinou neplodnosti, zejména v rozvojových zemích, je dále *Mycobacterium tuberculosis*. Podíl ostatních patogenů, zejména genitálních mykoplazmat a ureaplazmat, *Gardnerella vaginalis* a dalších mikroorganismů, je v současné době intenzivně studován. *M. genitalium* byl častěji detekován v cervixu a v endometriu žen se zánětlivým onemocněním pánve (Pelvic inflammatory disease – PID), ale data o frekvenci vývoje PID u žen infikovaných *M. genitalium* nejsou dostatečně prověřena. Jediná studie ve Švédsku zjistila významné zvýšení rizika postabortálního PID u žen infikovaných *M. genitalium*. Některé epidemiologické studie zabývající se sérologií zjistily častější přítomnost protilátek proti *M. genitalium* u žen s tubárně podmíněnou infertilitou. Dle pouze 2 studií (USA, Peru) bylo zjištěno vyšší riziko předčasných porodů.

Laboratorní diagnostika

Laboratorní diagnostika urogenitálních mykoplazmat spočívá zejména na přímém průkazu původce v klinickém materiálu metodami kultivačními nebo molekulárně-biologickými. K řadě těchto vyšetření jsou k dispozici zvláštní odběrové sady. V praxi se používá nejvíce amplifikačních metod PCR.

Vyšetřovaný materiál

K průkazu urogenitálních mykoplazmat jsou nejčastěji odebírány stěry z krčku děložního u žen, výtěry z močové trubice a ejakulát u mužů. K vyšetření je možno dále užít plodovou vodu, biotický materiál nebo moč.

Vzhledem k citlivosti mykoplazmat k podmínkám vnějšího prostředí je nezbytné materiál určený zejména ke kultivačnímu vyšetření zasílat v transportním médiu, případně provést kultivační vyšetření bezprostředně po odběru.

Obr. 2. Růst na PPLO agaru (A) a morfologie kolonií (B) *M. hominis* po 5denní inkubaci při 37°C v 5% atmosféře s CO₂ při zvětšení 125x (autor: Radek Sleha)

Obr. 3. Růst na PPLO agaru (A) a morfologie kolonií (B) *U. urealyticum* po 5denní inkubaci při 37°C v 5% atmosféře s CO₂ při zvětšení 125x (autor: Radek Sleha)

Kultivační nároky a růstové vlastnosti

Mykoplazmata patří vzhledem ke zvýšeným nutričním požadavkům mezi obtížně kultivovatelné mikroorganismy. Pro jejich úspěšné kultivace je proto nezbytné užít komplexní kultivační média.

Základní půdou pro kultivaci mykoplazmat je tzv. PPLO bujón nebo agarová půda.

Pro vizualizaci růstu mykoplazmat jsou živné půdy dále obohacovány o specifické substráty a acidobazický indikátor – fenolovou červeň. Použitý substrát je závislý na detekovaném druhu. Pro mykoplazmata se používá arginin nebo glukóza. V případě ureaplazmat se jedná o močovinu. Štěpením uvedených substrátů vlivem růstu mykoplazmat dochází ke změně pH média, na což reaguje fenolová červeň barevnou změnou (obrázky 2, 3).

Kultivace je metodou časově náročnou, a proto se rutinně ne vždy užívá.

Molekulárně biologické metody

Vedle kultivačních metod jsou v klinické praxi v diagnostice mykoplazmat rutinně využívány také molekulárně biologické metody. Jejich

výhodou je vyšší citlivost a především rychlost průkazu uvedených agens ve vyšetřovaném materiálu ve srovnání s klasickými kultivačními metodami. Nevýhodou jsou naopak vyšší náklady na přístrojové vybavení a materiál.

K nejčastěji využívaným technikám z této skupiny patří zejména amplifikační metody, jako je např. polymerázová řetězová reakce (PCR) a její modifikace. Principem uvedených metod je amplifikace (namnožení) nukleových kyselin specifických pro uvedené druhy a jejich následná vizualizace např. prostřednictvím gelové elektroforézy. Široké uplatnění v dnešní době stále častěji nalézá i Real-Time PCR, jejíž předností je citlivý detekční systém, zaznamenávající nárůst fluorescenčního signálu v průběhu amplifikační reakce. Metoda rovněž umožňuje kvantifikovat množství bakteriální nálože ve vyšetřovaném materiálu. Real-Time PCR detekci lze provádět z klinického materiálu jako je moč, vaginální a cervikální stěry, sperma nebo stěry z močové trubice (EliGene Mycoplasma hom/gen LC; GeneProof Mycoplasma genitalium/hominis PCR Kit – moč, stěr, distribuce GeneProof, a.s.; EliGene Ureaplazma LC;

GeneProof Ureaplazma PCR Kit – moč, stěr, distribuce GeneProof, a.s.). Na rozdíl od ostatních metod odhalí PCR životaschopné, ale i již usmrčené mikroorganismy. Detekční limit je mnohem nižší než u kultivace, PCR vykazuje také vyšší senzitivitu a výsledky jsou dostupné již během jednoho dne. Komplikací této metody může být přítomnost inhibitorů PCR ve vzorku. Toto lze však odhalit kontrolou pomocí referenčního kmene (9).

V našich podmínkách lze vyšetřit např. vzorky moče a výtěry soupravou E-swab s tekutým médiem (cena jednotlivého kitu 500 Kč, samostatný vzorek necelých 2 000 Kč). Vzhledem k technologii zpracování se laboratoře snaží zpracovat doporučený plný počet vzorků dle kapacity přístroje, a tímto způsobem i redukuje cenový náklad na jednotlivá vyšetření. Časová odezva výsledku je 1 týden. Při požadavku na statimové vyšetření zaplatí žadatel vyšší cenu dle aktuální vyváženosti přístroje. Další dostupné kity uvedeny již výše – viz např. GeneProof kity pro diagnostiku *M. genitalium* a *U. urealyticum*.

Vzorky pro analýzu musí být označeny štítkem se jménem a příjmením pacienta a datem narození (nebo rodným číslem). Vhodný materiál pro detekci *M. genitalium*:

- cervikální stěr, provedený sterilní odběrovou soupravou DNAPAP Cervical Sampler, do transportu uložit vzorek při teplotě +4 až +25 °C,
- výtěr z uretry u mužů uložený do STM (součást odběrové soupravy DNAPAP Cervical Sampler), do transportu uložit vzorek při teplotě +4 až +25 °C,
- močový sediment (první proud moči), do transportu uložit vzorek v chladničce.

Odběrové soupravy poskytuje řada laboratoří na požádání zdarma.

Požadované vyšetření a vydání závěrečné zprávy je dostupné během 7–10 pracovních dnů po převzetí vzorku (v závislosti na počtu přijatých vzorků v daném období). V případě vzorku s označením STATIM je vyšetření a vydání závěrečné zprávy provedeno do 2–3 pracovních dnů po převzetí vzorku. Závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoře zasílány písemně pouze zadavateli vyšetření – lékaři, oprávněnému indikovat molekulárně genetické vyšetření.

Amplifikační metody dle výrobce stanovují jednoho nebo více původců STD (např. součas-

ně *N. gonorrhoeae*, *Ch. trachomatis*, *M. hominis* a *M. genitalium*, *U. urealyticum*). PCR metodiky jsou rychlé, nestanoví ale množství patogena, procento vitálních bakterií a neumožní stanovení citlivosti k antibiotikům.

Uplatnění v diagnostice mykoplazmat mohou nalézt ostatní metody z oblasti molekulární biologie, jako jsou sekvenování nebo DNA-hybridizace.

Další metody identifikace

Velký potenciál pro diagnostiku a typizaci mykoplazmat představuje detekce molekulových spekter za užití hmotnostního spektrometru s MALDI-TOF detekcí. Vyšetření na hmotnostním spektrometru MALDI-TOF je rychlé, ale vyžaduje dostatečně narostlou kulturu a opět nestanoví citlivost k antibiotikům. Přesná kultivace je náročná na provedení a zejména na čas. Výsledky trvají od 2 do 4 týdnů.

Laboratorní vyšetření jsou indikována v případech zjištěných následujících symptomů a rizikových faktorů:

Symptomy

- Symptomy uretritidy u mužů
- Mukopurulentní cervicitis
- Cervikální nebo vaginální výtok s rizikovým faktorem pro STI
- Intermenstruální či postkoitální krvácení
- Akutní bolesti v pánvi a/nebo PID
- Akutní epididymo-orchitis u mužů < 50 let věku

Rizikové faktory

- Jakékoliv výše uvedené skutečnosti u sexuálního partnera
- Osoby s vysoce-rizikovým chováním (věk < 40 let a > 3 sexuální partnery v posledním roce, > 5 dlouhodobých a netestovaných partnerů)
- Sexuální kontakt s osobami s průkazem STI nebo zánětlivým onemocněním pánve – PID (Pelvic Inflammatory Disease), zvl. pak osoby s prokázanou infekcí *M. genitalium*
- Před ukončením gravidity či před procedurami narušujícími cervikální bariéru

Terapie

Citlivost k antimikrobiálním látkám

Mykoplazmata jsou vzhledem k absenci buněčné stěny přirozeně rezistentní na antibiotika,

zasahující do její syntézy. Z tohoto důvodu je aplikace β -laktamových a cefalosporinových antibiotik neefektivní.

Nejčastější volbou při léčbě infekcí vyvolaných mykoplazmaty jsou tetracyklinová antibiotika s bakteriostatickým účinkem. Hojně využívanými antibiotiky z této skupiny jsou především doxycyklin nebo tetracyklin. V poslední době však narůstá počet hlášení o vzrůstající rezistenci vůči tetracyklinům i pro některé druhy mykoplazmat. Rezistence k tetracyklinům byla prokázána u přibližně 11–19 % testovaných kmenů *M. hominis* a 2 % izolovaných kmenů *Ureaplasma sp.* (6).

Jinou možností antimikrobiální terapie mykoplazmových infekcí jsou makrolidová antibiotika. Mechanismus jejich účinku je zacílen na syntézu proteinů, kterou blokují prostřednictvím vazby na 23S ribozomální RNA. Široce rozšířenými jsou především azithromycin a erythromycin, užívané zejména u infekcí vyvolaných *M. genitalium*, *M. pneumoniae* a ureaplazmaty. Makrolidová antibiotika jsou naopak méně vhodná pro terapii infekcí vyvolaných *M. hominis*, vzhledem k vysoké rezistenci uvedeného mikroorganismu vůči působení 14 a 15členných makrolidů, jako jsou azithromycin a erythromycin.

Možnou alternativu k tetracyklinům a makrolidům představují fluorochinolová antibiotika s baktericidním účinkem, zaměřeným na inhibici syntézy DNA. Nevýhodou uvedené skupiny antimikrobiálních látek je však jejich vyšší toxicita. Z těchto důvodů nejsou tato antibiotika vhodná pro těhotné ženy a novorozence. Nejčastěji užívanými fluorochinolony jsou ciprofloxacin a moxifloxacin. Rezistence mykoplazmat však byla zaznamenána i u těchto léčiv.

Doporučené postupy

Akutní urogenitální onemocnění musí urolog léčit okamžitě, terapie je tedy na empirické bázi.

Vhodné je v tomto empirickém režimu podání antibiotik typu azitromycinu (1 g jednorázově), event. doxycyklinu v 1. linii a antibiotik typu chinolonů (Ciprofloxacin: Ciphin, Ciplox, Ciprinol, Norfloxacin, Ofloxacin) s ohledem na alergie a předchozí léčbu ve 2. linii.

U chronických stavů samozřejmě vyčkáváme s volbou a podáním antibiotika na informace o patogenu.

U infekcí typu uretritid způsobených *M. genitalium* uvádí uroweb.org (8) jako doporu-

čenou léčbu Azitromycin jednorázově v dávce 1,0 až 1,5 g, alternativně pak Moxifloxacin, který není u nás dostupný. U uretritid způsobených *Ureaplasma aurealyticum* pak Doxycyklin 100 mg 2x denně per os po dobu 7 dnů, alternativně Azitromycin jednorázově v dávce 1,0 až 1,5 g nebo Klaritromycin 500 mg 2x denně po 7 dnů. V případě akutní afebrilní bakteriální symptomatické prostatitidy a chronické bakteriální prostatitidy doporučuje terapii Doxycyklinem 100 mg 2x denně po dobu 10 dnů.

Doporučené terapie *M. genitalium* infekce

(Evropské guidelines 2016, skupina STI, dle odkazu 1).

Aktualizované evropské směrnice doporučených terapeutických postupů u infekcí *M. genitalium* uvádí následující schémata:

■ Terapie 1. linie nekomplikované infekce *M. genitalium* při absenci mutací vedoucích k rezistenci na makrolidy

- Azitromycin 500 mg 1. den, dále 250 mg denně 2–5. den (per os).

■ Terapie 1. linie nekomplikované infekce *M. genitalium* s rezistencí na makrolidy

- Moxifloxacin 400 mg 1x denně po dobu 7–10 dnů (per os). V České republice jej lze nahradit Levofloxacinem, jinak vázán pod označením Avelox tbl. na antibiotická centra. U lehkých až středně závažných zánětů vnitřních ženských pohlavních orgánů onemocnění pánevní oblasti, včetně infekce vejcovodů a infekce děložní sliznice není sám o sobě u těchto druhů infekcí dostatečně účinný, proto nutná další antibiotika.
- Optimální trvání léčby není zcela jasné, některé observační studie zjistily vyšší počet vyléčených po delší terapii cervicitid

■ Terapie 2. linie nekomplikované perzistentní infekce *M. genitalium*

- Moxifloxacin 400 mg 1x denně po dobu 7–10 dnů (per os). V České republice je lze nahradit Levofloxacinem a dalšími chinolony.

■ Terapie 3. linie perzistující infekce *M. genitalium* po léčbě azithromycinem a moxifloxacinem

- Doxycyklin 100 mg 2x denně po dobu 14 dnů (eradikace u cca 30 % pacientů).

■ Terapie komplikovaných infekcí *M. genitalium* (PID, epididymitis)

- Moxifloxacin 400 mg 1x denně po dobu 7–10 dnů (per os).

Perspektivy budoucí terapie

Solithromycin představuje nově vyvinutý fluoroketolid a vykazuje potentní aktivitu pro kmeny *M. genitalium* citlivé na azitromycin a do určité míry i proti kmenům rezistentním na azitromycin. Citlivost bývá rozdílná dle typu přítomné mutace makrolidové rezistence. Očekáváno je dosažení až 65 % hodnoty odléčených solithromycinem u kmenů rezistentních na azitromycin. V chodu jsou klinické studie terapie solithromycinem jednorázově u pacientů s kapavkou. Všechna data o solithromycinu ohledně efektu u *M. genitalium* jsou nicméně omezena.

Jak již bylo výše uvedeno, infekce *M. genitalium* v graviditě může být spojována se zvýšeným rizikem spontánních potratů a předčasných porodů. V těchto případech je u infekcí citlivých na léčbu

makrolidy doporučena 5denní terapie azithromycinem. Výběr léku u infekcí rezistentních k makrolidům je obtížný, rizika spojená s léčbou dostupnými antibiotiky mohou převážit riziko nežádoucích komplikací gravidity. Ke zvážení bývá posunutí terapie po porodu. Plně se doporučuje observace novorozence na známky infekce, primárně příznaky konjunktivitidy a infekce respiračního traktu.

Follow-up a testy konfirmasi vyšetření

Testy kontroly negativity by měly být dle Evropských guidelines skupiny STI provedeny rutinně u všech pacientů. Je nutné počítat s vysokou prevalence-rezistencí na makrolidy, ať již přítomné před zahájením léčby, či vzniklé při terapii azitromycinem. Tato evropská doporučení se liší od doporučení BASHH (British Association

for Sexual Health and HIV) a doporučení CDC (Center for Disease Control, USA), kde není test kontroly negativity doporučován u asymptomatických případů. Testy kontroly negativity by neměly být provedeny dříve než 3 týdny po zahájení terapie. U nemocných odpovídajících na terapii není *M. genitalium* detekovatelný v průběhu 1 týdne u většiny pacientů, ale může se stát dočasně nesprávně negativním u pacientů se selhávající terapií.

Prevence

Ačkoliv nejsou dostupné konkluzivní studie, je velmi pravděpodobné, že důsledné užívání kondomu snižuje signifikantně riziko infekce *M. genitalium*.

Autor prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno žádnou společností.

LITERATURA

1. Jensen JS, Cusini N, Gombert M, et al. Background review for the 2016 European guidelines on Mycoplasma genitalium infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; 30(10): 1686–1693.
2. Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, et al. Guidelines on male infertility. European Association of Urology. 2012.
3. Pereyre S, Goret J, Bébér C. Mycoplasma pneumoniae: Current Knowledge on Macrolide Resistance and Treatment. *Front Microbiol.* 2016; 22(7): 974.
4. Razin S, Yagov D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62(4):

1094–1156.

5. Sethi S, Singh G, Samanta P, Sharma M. Mycoplasma genitalium: an emerging sexually transmitted pathogen. *Indian J Med Res.* 2012; 136(6): 942–955.
6. Sleha R. Sledování incidence Mycoplasma hominis a Ureaplasma urealyticum v průběhu asistované reprodukce. Diplomová práce, 2015. Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové.
7. Sanocka-Maciejewska D, Ciupirńska M, Kurpisz M. Bacterial infection and semen quality. *J Reprod Immunol.* 2005; 67: 51–56.

8. EAU Guidelines on urological infections [online]. Dostupné na [www: http://uroweb.org/guideline/urological-infections/?type=pocket-guidelines](http://uroweb.org/guideline/urological-infections/?type=pocket-guidelines)
9. Benedíková A. Průkaz Mycoplasma hominis a Ureaplasma urealyticum sety MYCOPLAZMA SYSTEM Plus. Diplomová práce, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, 2009.
10. Barykova YA, Logunov DY, Shmarov MM, et al. Association of Mycoplasma hominis infection with prostate cancer. *Oncotarget* 2011; 2(4): 289–297.

KOMENTÁŘ K ČLÁNKU

Urol. praxi 2017; 18(4): 216

Infekce ureaplazmaty a mykoplazmaty v urogenitální klinické praxi

Urol. praxi 2017; 18(4): 209–216

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU, MBA

Urologie – Chirurgické oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha

Intracelulární mikroorganismy jsou častými patogeny nebo kopatogeny infekcí dolních močových cest nebo pohlavního ústrojí u obou pohlaví. Kromě poměrně vysoké incidence jsou významné i pro svoje biologické vlastnosti, které ovlivňují jejich interakci s lidským organismem. Jsou to hlavně faktory, jenž brání imunitnímu systému v účinném boji proti nim, a to zejména intracelulární výskyt, různorodost antigenní struktury, vlastní obranné mechanismy (schopnost narušení slizničních dimerů IgA), schopnost tvorby biofilmů apod. I při relativně nízké viru-

lenci jsou navíc schopny vyvolávat chronické zánehy, nepříznivě ovlivňovat prostředí pohlavních cest a vytvářet podmínky pro vznik sekundárních infekcí. Z praktického hlediska je důležité, že se může jednat o pouhé osídlení sliznic, nezbytná je poměrně komplikovaná diagnostika, existuje omezené spektrum účinných antibiotik, narůstá rezistence na používané přípravky a mají negativní vliv na plodnost a těhotenství. Komentovaný článek velmi podrobně shrnuje nejnovější poznatky z uvedené problematiky včetně indikací laboratorních vyšetření a spolu

s historickým přehledem přispívá k nástupu aktuální situace v této oblasti. Příznivou zprávou je rozšiřování a zpřesňování diagnostických metod a testování nových antibiotik. Obojí by mělo přispět k rozšíření našich znalostí a lepšímu pochopení působení mykoplazmat a ureaplazmat v lidském těle a zvýšení úspěšnosti léčby.

*MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU, MBA
Urologie – Chirurgické oddělení
Nemocnice Na Homolce
Roentgenova 2/37, 150 30 Praha 5*