

Chlamydomphila pneumoniae jako przyczyna chorób układu oddechowego

Ewa B. Górską¹, Edyta Galoch¹, Urszula Jankiewicz², *Paweł Kowalczyk¹

¹Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

²Katedra Biochemii, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE AS A CAUSE OF RESPIRATORY DISEASE

Summary

Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae is a widespread pathogen that causes respiratory infections in humans. Literature data indicate that bacteria may play a role in the etiology of diseases previously not considered infectious, such as cardiovascular disease, coronary heart disease, atherosclerosis, heart attack or nervous system diseases, atherosclerosis, multiple sclerosis, Alzheimer's disease. Recently associated with the bacteria, such as multiple sclerosis or Alzheimer's disease, which is associated with the isolation of strains *Chl. pneumoniae* from nervous tissue and brain dead patients and the the above mentioned of the disease. A careful examination of the bacteria is very important because of its ubiquity. *Chlamydomphila pneumoniae* is present everywhere, regardless of the climate zones. This bacterium affects both children and the elderly. Recent studies have shown that not only a man can be a reservoir of *Chlamydomphila pneumoniae*. The bacterium has been isolated from reptiles, amphibians and mammals. Statistical data prepared on the basis of serological surveys suggest that 80% of the population has been exposed to the bacterium. Understanding the mechanisms of action of *Chl. pneumoniae* may contribute to combat it more effectively, thereby preventing many dangerous diseases. Reports of non-infectious diseases ground bacteriological give hope for their effective pharmacological treatment. Until now, the problem is the lack of a universal diagnostic method that allowed to clearly and quickly identify the presence of *Chlamydomphila pneumoniae*. Bacterium was first detected in conjunctival scrapings suffering from trachoma in 1907. It was only in the eighties of the twentieth century, the development of new laboratory methods allowed the classification of the antigenic, biochemical, and genetic. *Chlamydia pneumoniae* was defined as a strain of *Chlamydia-HARDNESS*. This name comes from the symbols of the first isolates: TW-183 and AR-39 obtained in 1965 and 1983. Originally classified as a species *HARDNESS* strain of *Chlamydia psittaci*. *Chlamydia pneumoniae* name first appeared in 1986. As a new breed of *Chl. pneumoniae* is present since 1989. Systematic row *Chlamydiales* is discussed among scientists. Today there are two divisions. One was based on the organisms of the isolated bacteria. The second, developed later, based on the analysis of 16S and 23S rRNA. Initially, the order *Chlamydiales* were included only one family, *Chlamydiaceae*, which included the type, the species of *Chlamydia*: *Chl. trachomatis*, *Chl. pneumoniae*, *Chl. psittaci*, *Chl. pecorum*. According to the distribution of *Chl. trachomatis* and *Chl. pneumoniae* are pathogenic for humans only.

Key words: *Chlamydomphila pneumoniae*, pneumonia, atherosclerosis, diagnosis

MORFOLOGIA, FIZJOLOGIA I BIOCHEMIA CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE

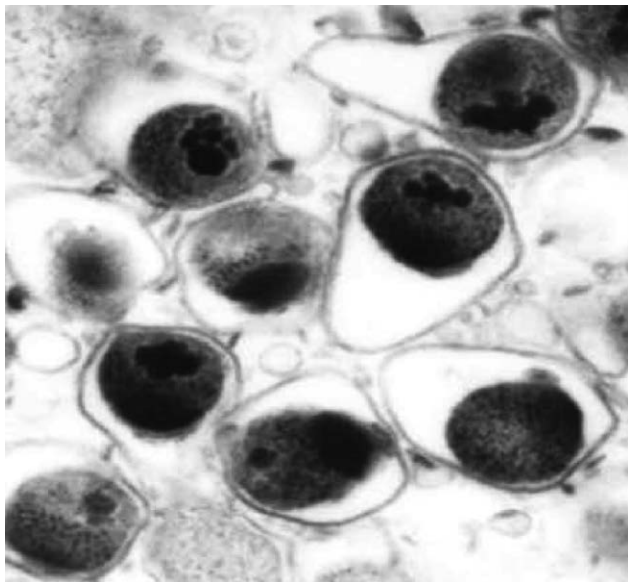
Chlamydie są drobnoustrojami wykazującymi cechy pośrednie między bakteriami a wirusami. Budową ściany komórkowej *Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae* (ryc. 1) przypomina bakterie Gram (-). Jak wszystkie bakterie Gram (-) ma trójwarstwową błonę zewnętrzną (ang. *outer membrane* – OM) oraz cienką błonę wewnętrzną – cytoplazmatyczną (ang. *inner membrane* – IM), pomiędzy którymi znajduje się przestrzeń perioplazmatyczna.

OM zawiera kompleks liposacharydowy (LPS), jednak jego aktywność endotoksyczna jest znacznie mniejsza niż G (-) enterobakterii. Powoduje to wywoływanie mniej nasilonych odpowiedzi immunologicznych organizmu i sprzyja

występowaniu bezobjawowych infekcji. *Chlamydomphila pneumoniae* nie wytwarza peptydoglikanu, pomimo tego, że posiada geny kodujące ten związek. Sztywność ściany komórkowej nadają białka zawierające dużo cysteiny. Bakteria posiada dwa rodzaje kwasów nukleinowych (RNA i DNA), nie posiada plazmidu. *Chl. pneumoniae* jest ściśle wewnątrzkomórkowa, wykorzystuje ATP i nukleotydy zawarte w komórce gospodarza, co upodabnia ją do wirusów. Ma zdolność indukowania syntezy mediatorów stanów zapalnych (TNF- α , Il-b, Il-6) (2).

ZJADLIWOŚĆ

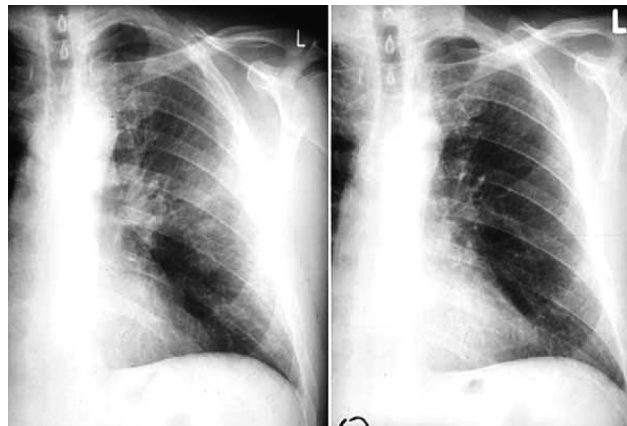
Chlamydomphila pneumoniae jest odpowiedzialna za 10% zapaleń płuc i 5% zapaleń oskrzeli u osób dorosłych. Przeciwciała IgG przeciwko *Chl. pneumoniae* utrzymują



Ryc. 1. Zdjęcie *Chlamydia pneumoniae* spod mikroskopu elektronowego.

się w surowicy nawet po wygaśnięciu aktywnego zakażenia, dlatego ich wykrycie uważa się za objaw przebytej infekcji. Zakażenia dotyczą wszystkich grup wiekowych, jednak najrzadziej spotykane są w grupie dzieci do 5 roku życia (3). Zakażenie częściej spotykane jest u mężczyzn niż u kobiet i uzależnione jest od wieku. Zakażenie tą bakterią u dzieci w wieku szkolnym dotyczy 40% populacji, u dorosłych prawie 50%, a u osób starszych nawet 75%. Infekcja odbywa się drogą kropelkowo-powietrzną, co ułatwia rozprzestrzenianie się drobnoustroju w takich skupiskach jak przedszkola, szkoły, jednostki wojskowe. Okres wylęgania wynosi 21 dni. Przebieg zakażenia bardzo często jest bezobjawowy (70-80%) lub ma postać infekcji grypopodobnej (20-30%). Często podczas zakażeń *Chlamydia pneumoniae* dochodzi do reinfekcji. Człowiek po przejściu zakażenia tą bakterią nie uodparnia się na nią. Dlatego infekcję *Chlamydia pneumoniae* można przechodzić wielokrotnie w ciągu życia. Istnieją badania, które oceniają, że wszyscy ludzie przeżyli zakażenie *Chlamydia pneumoniae* w jakimś okresie życia (ryc. 2).

Chlamydia pneumoniae wnikając do komórki, powoduje uaktywnienie mechanizmów odpowiedzi komórkowej. Komórki zakażone uwalniają cytokiny pozapalne, takie jak IL-1, IL-6, TNF- α , IL-10, wpływające na aktywność makrofagów oraz limfocytów B. Są także odpowiedzialne za zdolność przeżycia chlamydii w komórkach zakażonych na drodze bezpośredniego lub pośredniego zahamowania apoptozy zakażonych komórek. Zakażenie *Chlamydia pneumoniae* może mieć charakter zakażenia ostrego, nawracającego (reinfekcja), przewlekłego (latentnego lub intermitującego) lub nosicielstwa. Zakażenie ostre u osób młodych ma przebieg łagodny i nie towarzyszą mu schorzenia dodatkowe. Cięższy przebieg spotyka się u osób starszych i obarczonych schorzeniami przewlekłymi lub zaburzeniami odporności (np. AIDS).



Ryc. 2. Zdjęcie RTG płuca zainfekowanego *Chlamydia pneumoniae*.

Zakażenia nawracające są dość często spotykane. Po przejściu infekcji *Chlamydia pneumoniae* organizm nie uodparnia się na nią i dlatego możliwe jest zakażenie wielokrotne w ciągu życia. Przebieg kolejnych infekcji jest różny i zależy głównie od stanu immunologicznego pacjenta. Duże znaczenie mają choroby towarzyszące. Zakażenie przewlekłe prowadzi do wystąpienia przewlekłych odmian zapalenia oskrzeli i płuc, a także wiąże się z ryzykiem zachorowania na choroby nieinfekcyjne. Podejrzewa się udział *Chlamydia pneumoniae* w chorobach wieńcowych, astmie, stwardnieniu rozsianym.

Nosicielstwo charakteryzuje się „ciszą serologiczną”. Obecność *Chlamydia pneumoniae* można wykryć w materiale biologicznym, ale organizm nie wytwarza żadnych przeciwciał. Nosicielstwu towarzyszy najczęściej infekcja bezobjawowa, ale w warunkach obniżonej odporności może przyjąć postać zakażenia ostrego. Nosiciele mogą zakażać innych. Taka postać choroby nie wymaga leczenia, a antybiotykoterapia może przynieść niekorzystne efekty.

CHOROBY WYWOŁANE PRZEZ CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE

Chlamydia pneumoniae jest przyczyną wielu chorób górnych i dolnych dróg oddechowych. Większość chorób układu oddechowego wywoływanych przez ten drobnoustroj ma łagodny początek z charakterystycznym podoстрыm początkiem choroby. W pierwszej fazie choroba jest trudna do wykrycia. Charakterystycznymi pierwszymi objawami jest ból gardła i chrypka. Kaszel zaczyna się po kilku dniach i trwa kilka tygodni. Początkowi choroby towarzyszy podwyższona temperatura ciała. W późniejszym etapie choroby wraca do poziomu normalnego. Objawem charakterystycznym zakażenia układu oddechowego przez *Chlamydia pneumoniae* jest sedimentacja czerwonych krwinek. W płucach pojawiają się pojedyncze mięszkowe zmiany, które można zaobserwować na zdjęciu rentgenowskim (4).

Do najczęściej występujących chorób górnych dróg oddechowych należą zapalenie błony śluzowej nosa, zapalenie gardła, zapalenie krtani. Badania dowiodły,

że *Chlamydophila pneumoniae* jest przyczyną 2-8% zapaleń gardła. Choroba objawia się niewysoką gorączką, bólem i zaczerwienieniem gardła, a także chrypką. Choroby dolnych dróg oddechowych wywoływane przez *Chlamydia pneumoniae* to zapalenie płuc i zapalenie oskrzeli. Może ona także powodować zapalenie gardła, krtani, ucha środkowego i zatok. Na podstawie badań serologicznych szacuje się, że 10% zapaleń płuc i 5% zapaleń oskrzeli u osób dorosłych ma etiologię chlamydiovą (5). Potwierdzono związek *Chlamydophila pneumoniae* z przewlekłymi chorobami układu oddechowego, takimi jak: astma oskrzelowa, przewlekła obturacyjna choroba płuc i sarkoidoza. *Chlamydophila pneumoniae* ma zdolność porażania rzęsek w drogach oddechowych oraz bezpośredniego uszkodzenia komórek nabłonka dróg oddechowych. Choroba charakteryzuje się dwufazowością. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych, najczęściej zapalenie gardła i chrypka, przechodzą w ciągu 1-4 tygodni w zapalenie płuc. Plwocina nie ma charakteru ropnego, u niektórych pacjentów w ogóle nie występuje. Chorobie nie towarzyszy zmiana liczby leukocytów. Zakażenie mieszane *Chl. pneumoniae* i *Streptococcus pneumoniae* ma ostrzejszy przebieg od zakażenia wywołanego samymi chlamydiami. *Chlamydophila pneumoniae* w tych zakażeniach wpływa na zatrzymanie ruchu rzęsek, co ułatwia pneumokokom zakażenie coraz niższych odcinków dróg oddechowych (5).

CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE JAKO CZYNNIK CHORÓB NIEINFEKCYJNYCH

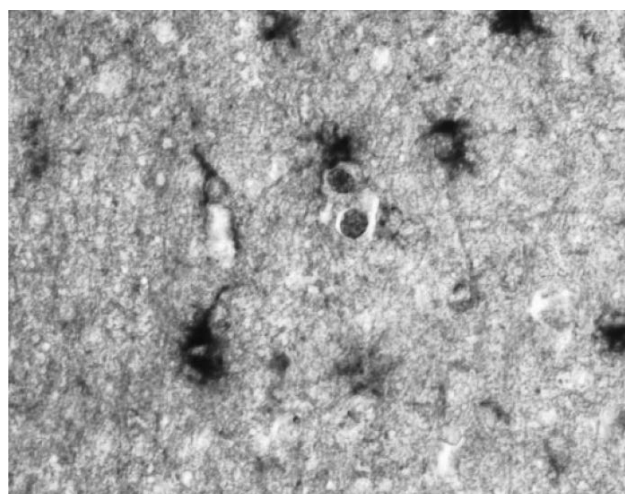
Badania prowadzone nad *Chlamydophila pneumoniae* sugerują związek między infekcją tą bakterią a chorobami, takimi jak: arterioskleroza, choroba wieńcowa, miażdżycza naczyń krwionośnych, choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane.

Rozwój bakterii powodującej choroby układu oddechowego w innych tkankach został udowodniony przez badania *in vitro*. *Chlamydophila pneumoniae* może rozwijać i namnażać się w ludzkich makrofagach, miocytach gładkich, śródbłonku naczyń krwionośnych, komórkach układu nerwowego. Obecność bakterii w komórkach układu krążenia była wielokrotnie potwierdzana badaniami metodą PCR, metodami immunocytochemicznymi, immunoenzymatycznymi oraz mikroskopii elektronowej. Odnalezienie *Chlamydophila pneumoniae* w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na stwardnienie rozsiane dało początek rozprawom nad uznaniem infekcji bakteryjnej jako przyczyny choroby. Stwardnienie rozsiane (ang. *sclerosis multiplex* – SM) jest postępującym schorzeniem ośrodkowego układu nerwowego (OUN), polegającym na uszkodzeniu osłonek mielinowych włókien nerwowych. Mechanizmy prowadzące do zmian demielizacyjnych nie zostały jak dotąd w pełni poznane. Badania serologiczne i metodą PCR wykazały, że znaczny odsetek chorych na SM jest zakażony bakterią lub miał kiedyś z nią kontakt. Kontrolę w badaniu stanowili ludzie zdrowi i cierpiący na inne dolegliwości ośrodkowego układu nerwowego.

DNA bakteryjne zostało wykryte tylko u chorych na SM. Dalsze badania nie potwierdziły jednak związku między infekcją bakteryjną a rozwojem stwardnienia rozsianego (6). Doniesienia o bakteryjnym podłożu MS dały nadzieję na antybiotykowe leczenie tej choroby. Badaniu poddano grupę 163 chorych na SM, które w latach 1993-2000 przyjmowały antybiotyki przeciwko *Chlamydophila pneumoniae*. Nie miało to jednak wpływu na rozwój choroby. Wszyscy chorzy biorący udział w badaniu przeszli terapię antybiotykową, a mimo to zachorowali na stwardnienie rozsiane (ryc. 3).

Wyniki badań nie dają jasnej odpowiedzi na pytanie, czy *Chlamydophila pneumoniae* jest przyczyną stwardnienia rozsianego. Żadne badania nie potwierdzają tej hipotezy, ale też żadne stanowczo jej nie wykluczają. Inną chorobą układu nerwowego, która wiąże się z infekcją chlamydofilami, jest choroba Alzheimera (7). Metodą PCR zbadano skrawki z różnych obszarów mózgu pochodzące od pacjentów cierpiących na AD. Badaniu poddano 19 chorych, a infekcję wykryto u 17, w grupie kontrolnej tylko w jednym przypadku potwierdzono obecność drobnoustroju (8). Wyniki tych badań skłoniły do bardziej wnikliwego przyjrzenia się temu powiązaniu. Kolejne badania nie potwierdziły jednak bezpośredniego związku między infekcją bakteryjną a chorobą Alzheimera. Mimo to nie wykluczyły zwiększonego ryzyka zachorowania na AD po przejściu zakażenia *Chl. pneumoniae*. Drobnoustroj wywołuje reakcje zapalne, których czynniki sprzyjają uszkodzeniom neuronów. Zakażenie *Chlamydophila pneumoniae* prowadzi do martwicy tkanek i zaburzenia apoptozy. W zainfekowanych komórkach następuje zahamowanie działania kaspazy 3/7, co uniemożliwia apoptozę. Dzięki temu mechanizmowi *Chlamydia pneumoniae* może prowadzić przedłużoną infekcję. Chroniczne zakażenie w mózgu może doprowadzić do zwyrodnienia tkanki nerwowej, co przyczynia się do rozwoju choroby Alzheimera (9).

Chlamydophila pneumoniae może z powodzeniem rozwijać się w komórkach układu krążenia. Liczne badania serologiczne potwierdzają obecność bakterii



Ryc. 3. *Chlamydophila pneumoniae* w mózgu.

w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych i komórkach serca. Związek między chorobą wieńcową a zakażeniem *Chlamydomphila pneumoniae* zasugerowały badania serologiczne, które stwierdzały wysokie miana przeciwciał IgG dla *Chl. pneumoniae* u osób z problemami kardiologicznymi. Obecność *Chlamydia pneumoniae* w blaszkach miażdżycowych potwierdziły także obserwacje z zastosowaniem mikroskopii elektronowej i reakcji PCR. Różne formy rozwojowe bakterii zauważono w cytoplazmie komórek mięśniowych, komórek śródbłonna, a także w przestrzeni międzykomórkowej, wśród włókienek łącznotkankowych. Zasiadanie się bakterii w komórkach naczyń krwionośnych może mieć bezpośredni wpływ na powstawanie zmian miażdżycowych. *Chlamydomphila pneumoniae* powoduje uszkodzenie komórek śródbłonna. Zmienione komórki śródbłonkowe umożliwiają adhezję do ściany naczyniowej płytek i komórek krwi. Tak zróżnicowana powierzchnia śródbłonnów, tworząca system mikrokosmków i kanałów, powoduje dysfunkcję śródbłonna, co ułatwia przemieszczanie się monocytów do warstwy wewnętrznej tętnicy. Monocyty ulegają transformacji do komórek piankowatych, które uwalniają metaloproteiny, niszczą zrąb łącznotkankowy i prowadzą do proliferacji mięśniówki gładkiej.

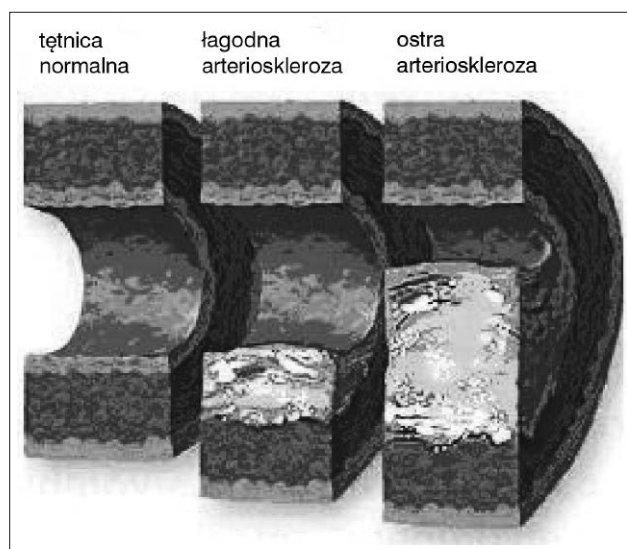
Prawdopodobnie dzieje się tak, ponieważ *Chlamydomphila pneumoniae* zaburza regulację metabolizmu cholesterolu LDL. Cytokiny i czynniki wzrostu mogą być produkowane przez wszystkie komórki biorące udział w tworzeniu zmian miażdżycowych. Uszkodzony śródbłonek narażony jest na kontakt z czynnikami zakaźnymi i toksynami, które produkują. Cytokiny powodują przyciąganie monocytów i innych komórek zapalnych w miejsce uszkodzonego śródbłonna i ułatwiają migrację tych komórek do błony wewnętrznej naczynia, nasilając miejscowy proces zapalny i rozwój miażdżycy (9, 10). Zakażenie *Chlamydomphila pneumoniae* wywołuje komórkową i humoralną odpowiedź układu odpornościowego organizmu (11). Zakażenie stymuluje produkcję wielu czynników biorących udział w procesie obrony organizmu, stymuluje fibroblasty i proliferację komórek mięśni gładkich. Infekcja ma także niekorzystny wpływ na profil lipidowy. Liposacharydy bakteryjne wiążą się w ludzkiej surowicy z cholesterolem LDL. Monocyty pobudzone do wydzielania anionów nadtlenkowych aktywują oksydację LDL, co prowadzi do uszkodzenia śródbłonna (11). Mechanizm warunkujący przekształcenie zapalenia ostrego w przewlekłe nie jest dotąd dobrze poznany. Uważa się, że jego podstawę stanowi tzw. niekompletny cykl rozwojowy, z tworzeniem wyłącznie ciałek siateczkowatych wewnątrz zakażonych komórek. Nie dochodzi do tworzenia ciał elementarnych. Zjawisko to zostało udokumentowane w hodowli *in vitro*, jako odpowiedź na dodanie do pożywki penicyliny (5). Niebezpieczeństwo dla zmienionych miażdżycowo naczyń stanowią także zakrzepy. Infekcja może nasilać aktywację i adhezję płytek krwi, prowadząc do powstania zakrzepu. Infekcji *Chlamydomphila pneumoniae* towarzyszy także podwyższony poziom fibrynogenu, który prawdopodobnie jest czynnikiem ryzyka chorób miażdżycowych. Zapalenie w naczyniach

krwionośnych wywołują także inne patogeny, takie jak *Helicobacter pylori*, *Hemophilus influenzae* i *Mycoplasma pneumoniae*. Badania wykazały analogię między liczbą przeciwciał, skierowanych przeciw różnym patogenom, a rozwojem choroby. Im więcej drobnoustrojów znajduje się w blaszce miażdżycowej, tym rozwój choroby jest szybszy. Istnieją także opinie, że *Chlamydomphila pneumoniae* nie jest główną przyczyną zmian miażdżycowych, lecz są nią liczne infekcje różnymi patogenami, w tym *Chlamydomphila pneumoniae*. Większość badań potwierdza udział *Chlamydomphila pneumoniae* w rozwoju blaszki miażdżycowej, jednak brak jest rezultatów w antybiotykoterapii. Z tego powodu hipoteza ta jest często krytykowana. W literaturze opisane są liczne przypadki stwierdzające obecność *Chlamydomphila pneumoniae* u chorych na zapalenie osierdzia, wosierdzia i zapalenie mięśnia sercowego (12).

Chroniczna infekcja *Chlamydomphila pneumoniae* prowadzi do uwalniania czynników zapalnych, które doprowadzają do patologicznej przebudowy komórek ściany naczyń tętniczych i wieńcowych”.

Chlamydomphila pneumoniae podejrzewana jest także o udział w innych chorobach układu krążenia. Dane statystyczne sugerują związek między infekcją a nadciśnieniem tętniczym (13), jednak mechanizmy, na bazie których zakażenie tą bakterią miałyby wpływać na rozwój nadciśnienia, wymagają dalszego potwierdzenia. Opisano także możliwość powodowania zapalenia naczyń w czasie reinfekcji i zapalenia mięśnia sercowego (ryc. 4). Podejrzewa się także udział *Chlamydomphila pneumoniae* w etiologii nabytego zwężenia naczyń.

Badania wykazały także związek między infekcją *Chlamydomphila pneumoniae* a indukcją reaktywnego zapalenia stawów. W płynie stawowym chorych stwierdzono obecność kwasów nukleinowych tych bakterii (13). Wydaje się prawdopodobne, że stan zapalny wywołany infekcją drobnoustroju w znacznym stopniu przyczynia się do



Ryc. 4. Zmiany miażdżycowe występujące w ścianie naczyń krwionośnych.

rozwoju reaktywnego zapalenia stawów. Doszukano się także związku między infekcją *Chlamydia pneumoniae* a rozwojem makulopatii związanej z wiekiem (ang. *age related macular degeneration* – AMD). AMD jest przyczyną utraty wzroku u osób w podeszłym wieku.

Na udział *Chlamydomphila pneumoniae* w chorobie oczu zwrócono uwagę, gdy u 5 na 9 badanych z AMD stwierdzono obecność drobnoustroju w tkance. Wykazano, że w przebiegu zakażenia *Chlamydomphila pneumoniae* dochodzi do zwiększonej produkcji czynnika wzrostu dla naczyńowego *endothelium* (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF), która jest proteiną odpowiedzialną za patologiczne zmiany w AMD.

Wysnuto także przypuszczenie o związku pomiędzy zakażeniem *Chlamydomphila pneumoniae* a rozwojem nowotworów szyi i głowy. Do takich wniosków doprowadziły wyniki badań epidemiologicznych, jednak badania genetyczne nie potwierdziły bezpośredniego udziału w etiologii choroby, choć badania epidemiologiczne sugerują związek między astmą a infekcją. „Wydaje się”, że dostępne badania kliniczne nie pozwalają na jednoznaczne przyjęcie bądź odrzucenie hipotezy o inicjacji i rozwoju astmy po zakażeniu *Chlamydomphila pneumoniae*. Uznaje się, że zakażenia dróg oddechowych mają wpływ na wytworzenie się nadreaktywności drzewa oskrzelowego i zapoczątkowanie astmy infekcyjnej lub jej zaostrzenie. Z badań nad chorymi na astmę wynika, że poziom przeciwciał IgA przeciw *Chlamydomphila pneumoniae* jest u nich znacznie wyższy niż u osób z grupy kontrolnej.

DIAGNOSTYKA CHLAMYDOMPHILA PNEUMONIAE

Istnieje wiele metod pozwalających wykryć *Chlamydomphila pneumoniae*. Niestety metody te mają dość niską czułość i sprawiają trudności metodyczne. Diagnostyka laboratoryjna zakażeń *Chl. pneumoniae* obejmuje metody hodowlane, techniki molekularne, badania serologiczne oraz metody wykrywania antygenów drobnoustroju. Dużym utrudnieniem w wykrywaniu *Chlamydomphila pneumoniae* jest występowanie trzech stanów zakażenia: ostre, przewlekłe oraz przebyte ostre. Brak standardu diagnostycznego utrudnia porównawczą ocenę wyników różnych badań (14). Do identyfikacji drobnoustroju pobiera się wymazy z gardła, nosa lub krtani, popłuczyny oskrzelowe lub płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BALF).

Jedną z bardziej czułych, lecz zarazem trudniejszych do wykonania metod jest hodowla. Ze względu na to, że *Chlamydomphila pneumoniae* jest pasożytem ściśle wewnątrzkomórkowym i ma bardzo duże wymagania pokarmowe, metoda ta może sprawiać problemy. W celu ułatwienia chlamydom kontakt z powierzchnią komórki zaleca się wirowanie hodowli. Podłoże musi być bogate, a dodatek cykloheksymidu zwiększa wrażliwość komórek na zakażenie. Najczęściej wykorzystywane do hodowli chlamydii linie komórkowe to He-La 229 i Hep-2. Ciała wtrętowe wykrywa się metodą immunofluorescencji pośredniej lub bezpośredniej, przy wykorzystaniu swoistych przeciwciał monoklonalnych. Metoda ta jest trudna, ale pozwala określić cechy biologiczne szczepu, takie

jak np. wrażliwość na antybiotyki, co w dużym stopniu ułatwia leczenie (14). Metody hodowlane znajdują zastosowanie w diagnostyce zakażeń ostrych. Wykrywanie antygeny *Chlamydomphila pneumoniae* bezpośrednio w materiale klinicznym jest metodą o niskiej czułości. Próbkę materiału poddaje się badaniu metodą immunoenzymatyczną. Ze względu na niską czułość tej metody stosuje się ją głównie do potwierdzenia obecności w hodowlach komórkowych.

Najczęściej wykonywanym badaniem jest wykrywanie przeciwciał w surowicy krwi. W tym celu używa się testu mikroimmunofluorescencji (MIF), metodą immunoenzymatyczną ELISA oraz odczynu wiązania dopełniacza OWD. Pierwsza z wymienionych metod cechuje się wysoką swoistością. Wykrywa antygeny głównych białek błony. Nie jest jednak łatwa do wykonania. Istnieją problemy ze standaryzacją i interpretacją wyników, ponieważ stosowane są różne kryteria. Dlatego wiele laboratoriów korzysta raczej z metod immunoenzymatycznych. Stosując badania serologiczne, należy pamiętać o utrzymującym się dodatnim mianie IgG u większości osób zdrowej populacji. Pojedyncze badanie przeciwciał w klasie IgG może świadczyć o świeżym zakażeniu tylko w przypadku bardzo wysokiego miana (> 1:512). Większe znaczenie ma wykazanie czterokrotnego wzrostu miana przeciwciał w dwóch kolejnych oznaczeniach (w klasach IgG lub IgA). Rozpoznanie ostrego zakażenia potwierdza także stwierdzenie w pojedynczym badaniu wysokiego miana IgM (> 1:16). Metody serologiczne znajdują zastosowanie w diagnostyce ostrych zakażeń, zakażeń przewlekłych oraz rozpoznawaniu przebytego zakażenia. Antygeny lub kwasy nukleinowe *Chl. pneumoniae* mogą być wykrywane w materiałach tkankowych dzięki zastosowaniu badań immunocytochemicznych lub technik hybrydyzacji *in situ*. Badania te mogą być prowadzone tylko w wyspecjalizowanych laboratoriach, a największą ich zaletą jest możliwość wykrywania małych fragmentów *Chl. pneumoniae* w chorych tkankach. Wykazanie obecności swoistego białka ściany komórkowej *Chl. pneumoniae* bądź jej lipopolisacharydu (LPS) nie jest jednak równoznaczne z obecnością żywych drobnoustrojów. Do potwierdzenia infekcji konieczne są dodatkowe badania. W odczynie wiązania dopełniacza antygenem jest esterowo-acetonowy ekstrakt z zarodków kurzych zakażonych *Chlamydomphila* spp., zawierający liposacharyd swoisty dla całego rodzaju. OWD nie jest testem swoistym i może dawać fałszywe dodatnie wyniki w przypadku infekcji chlamydomofilami z innego gatunku. Jednoczesne badanie MIF i OWD pozwala ustalić, czy infekcja ma charakter przewlekły, czy jest to reinfekcja (14). Test ELISA pozwala wykryć przeciwciała w kierunku *Chlamydomphila pneumoniae*. Jako antygen w tym teście wykorzystuje się białka zewnątrz błonowe posiadające etiopy swoiste dla gatunku *Chl. pneumoniae* niewchodzące w reakcje krzyżowe z innymi gatunkami rodzaju *Chlamydomphila*. Trudności diagnostyczne w przypadku badań serologicznych wynikają ze stosunkowo późnego pojawienia się przeciwciał w surowicy. Przeciwciała w klasie IgM wykrywalne

są dopiero w trzecim tygodniu po zakażeniu, zaś IgG można stwierdzić nie wcześniej niż 6-8 tygodni od wystąpienia pierwszych objawów choroby. Największe problemy w trakcie diagnostyki spotyka się u dzieci. Ponad 50% zakażonych poniżej 10. roku życia nie wytwarza swoistych przeciwciał z żadnych klas. Dla zwiększenia wykrywalności zakażeń często stosuje się kilka metod jednocześnie, np. badania serologiczne i PCR.

FARMAKOLOGIA

Leczenie zakażeń *Chlamydomphila pneumoniae* jest trudne ze względu na oporność na antybiotyki β -laktamowe. Brak reakcji na tę grupę antybiotyków spowodowany jest brakiem peptydoglikanów w ścianie komórkowej. Utrudnienia w leczeniu infekcji chlamydowych wynikają z wewnątrzkomórkowej lokalizacji drobnoustroju. *Chlamydomphila pneumoniae* wykazuje oporność na suflonamidy i inne antybiotyki o błonowych mechanizmach działania. Trudności w leczeniu wynikają także z występowania cyklu rozwojowego. Ciało elementarne występujące wewnątrz komórki jest niewrażliwe na działanie antybiotyków, co powoduje problemy z całkowitym wyleczeniem pacjenta.

Do oznaczania aktywności antybiotyku stosuje się wartości, które określają najniższe stężenie antybiotyku, hamujące tworzenie inkluzji (MIC), oraz najniższe stężenie leku, które powoduje zahamowanie tworzenia się inkluzji po jednokrotnym pasażowaniu na podłożu bez antybiotyków (MCC). Wartości te nie określają jednak bezwzględnego działania antybiotyku. Czasami następuje częściowe zahamowanie tworzenia się inkluzji lub mała dawka antybiotyku może w początkowej fazie hamować bakterie, a po pasażowaniu drobnoustrojów może się ponownie namnażać. Do leczenia zakażeń *Chlamydia pneumoniae* stosuje się makrolity, tetracykliny i fluorochinolony. Są to antybiotyki cechujące się dobrą penetracją do wnętrza komórek. Leczenie postaci ostrej wymaga stosowania wysokich dawek antybiotyku przez okres 2-3 tygodni. W przypadku postaci przewlekłych należy kontynuować leczenie przez 4-6 tygodni. Im później zacznie się odpowiednią antybiotykoterapię, tym wolniej dochodzi do eliminacji drobnoustroju. W przypadku zbyt krótkiego leczenia (7-10 dni) często dochodzi do nawrotów zakażenia (14). Do leków pierwszego wyboru najczęściej zalicza się makrolidy. Są antybiotykami bakteriostatycznymi, ich mechanizm działania polega na zahamowaniu syntezy białek w komórce bakteryjnej. Charakteryzują się doskonałą penetracją do wnętrza komórek (dotyczy to również makrofagów), dlatego też są bardzo aktywne wobec patogenów wewnątrzkomórkowych. Większość antybiotyków z grupy makrolidów wykazuje takie samo lub podobne minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii (MIC) w stosunku do *Chlamydomphila pneumoniae*. Dla poszczególnych antybiotyków z grupy makrolidów waha się od 0,016-0,5 mg/L. Zalecany okres przyjmowania antybiotyków z tej grupy to 14-21 dni. Są antybiotykami dobrze tolerowanymi przez chorych, dzięki czemu mogą być stosowane przez dłuższy czas, co jest bardzo

istotne w przypadku leczenia chlamydioz. Obecnie najczęściej stosowane są tzw. makrolidy nowej generacji, takie jak klarytromycyna i azytromycyna, które wyparły stosowaną dawniej erytromycynę. Główną przyczyną jest łatwość stosowania tych antybiotyków. W przypadku erytromycyny często występują tzw. działania niepożądane. Najczęściej są to zaburzenia ze strony układu pokarmowego, takie jak nudności, wymioty, bóle brzucha i biegunka. Czasami mogą występować także reakcje alergiczne (5, 15).

Azytromycyna to półsyntetyczny, piętnastoczłonowy azalid. Ma długi czas półtrwania (40 godzin). Osiąga wysokie stężenie wewnątrzkomórkowe i ma długi czas działania, co jest cechą bardzo pożądaną w przypadku niszczenia drobnoustrojów wewnątrzkomórkowych. Powoduje także mniej objawów niepożądanych niż erytromycyna. Najbardziej aktywnym makrolitem jest klarytromycyna. Zaleca się kurację 10-21-dniową, a w przypadku nieskuteczności można ją kontynuować przez dłuższy okres (nawet do 6 tygodni). Okres półtrwania w osoczu wynosi 3,5-5 godzin. MIC klarytromycyny dla *Chlamydia pneumoniae* wynosi 0,031 mg/ml, MIC erytromycyny dla tej samej bakterii ma wartość 0,125 mg/ml. Leczenie infekcji *Chl. pneumoniae* antybiotykami z grupy makrolitów jest skuteczne, ale należy pamiętać, aby terapia nie była zbyt krótka, w przeciwnym razie może dojść do nawrotu choroby.

Inną grupą antybiotyków stosowaną w leczeniu chlamydioz są tetracykliny. Antybiotyki te mają działanie bakteriostatyczne, charakteryzujące się większym spektrum przeciwbakteryjnym niż makrolidy. Ze wszystkich grup antybiotyków stosowanych w leczeniu infekcji *Chl. pneumoniae* wykazują najmniejszą skuteczność, ale na tyle wysoką, aby były efektywne. Mają dość restrykcyjne ograniczenia w stosowaniu. Nie należy ich podawać dzieciom poniżej 8. roku życia, ze względu na niekorzystny wpływ na tworzenie związków kostnych i wzrost kości oraz przebarwienie zębów. Tetracykliny mogą również wywoływać nadwrażliwość na światło oraz sprzyjać zakażeniom *Candida* spp. Fluorochinolony są grupą antybiotyków o innym działaniu niż wymienione wcześniej. Jako jedyne mają działanie bakteriobójcze. Działają przez zahamowanie syntezy bakteryjnego DNA. O ich skuteczności klinicznej decyduje nie tylko stężenie w ognisku zakażenia, ale również czas utrzymywania się stężenia hamującego wzrost bakterii. Fluorochinolony są na ogół dobrze tolerowane, ale ze względu na stwierdzone u zwierząt doświadczalnych zaburzenia syntezy chrząstki stosowane są u osób powyżej 16. roku życia.

PODSUMOWANIE

Chlamydomphila (Chlamydia) pneumoniae jest drobnoustrojem odpowiedzialnym za choroby układu oddechowego. Powoduje zapalenie oskrzeli, zapalenie płuc, a także przyczynia się do powstawania i zaostrzenia astmy oskrzelowej. Liczne badania prowadzone w Polsce i na świecie w ciągu ostatnich lat pozwalają wnioskować o znaczącej roli *Chlamydomphila pneumoniae* w licznych chorobach uznawanych do niedawna za nieinfekcyjne. *Chlamydomphila pneumoniae* została wyizolowana ze

zmienionych miażdżycowo tętnic, a także z mózgu pacjentów lub zmarłych chorujących na chorobę Alzheimera. W tych badaniach pojawia się jednak wiele nieścisłości. Wyniki badań serologicznych jednoznacznie wskazują na udział *Chl. pneumoniae* w etiologii wyżej wymienionych chorób, lecz terapia antybiotykowa jak dotąd nie przyniosła zadawalających rezultatów. Potrzeba jeszcze wielu badań, które pozwolą w pełni poznać tę podstępna i bardzo groźną bakterię i pozwolą z nią skutecznie walczyć. □

Piśmiennictwo

1. Appelt DM, Roupas MR, Way DS et al.: Inhibition of apoptosis in neuronal cells infected with *Chlamydomydia pneumoniae*. BMC Neuroscience 2008; 9: 13. 2. Balin BJ, Gerard EJ, Arking EJ et al.: Identification and localization of *Chlamydomydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. Med Microbiol Immunol 1998; 187: 23-42. 3. Choroszy-Król I: *Chlamydomydia pneumoniae* – aspekty kliniczne, diagnostyka i leczenie. Family Medicine and Primary Care Review 2006; 8(3): 867-873. 4. Cook PJ, Lip GY, Davies P: *Chlamydomydia pneumoniae* antibodies in severe essential hypertension. Hypertension 1998; 31: 589-96. 5. Hamle S, Syrjala H, Blo-

igu A, Saikku P: Lymphocyte response to *Chlamydomydia antigens* in patients with coronary heart disease. Eur Heart J 1997; 18: 1095-101. 6. Kruk M, Przyłuski J, Deptuch TW et al.: Rola zakażeń *Chlamydomydia pneumoniae* w chorobie wieńcowej. Kardiologia Pol 2000; 53: 152-159. 7. Nitsch-Osuch A, Wardyn KA, Choroszy-Król I: Zakażenia wywołane patogenami atypowymi w praktyce lekarskiej. Wydawnictwo Medyczne Górnicki, Wrocław 2007. 8. Osuch-Król A: Zakażenia wywołane patogenami atypowymi w praktyce lekarskiej. Wrocław 2007. 9. Podsiadły E, Tylewska-Wierzbanowska S: *Chlamydomydia pneumoniae* – biology and pathogenicity. Postępy mikrobiologii 1998; 37(2): 145-156. 10. Rajtar R, Malczewska-Malec M, Kloch M, Kolasieńska-Kloch W: *Chlamydomydia pneumoniae* i jej związek z chorobami układu krążenia. Przegląd Lek 2004; 61(3): 165-172. 11. Stawarski A, Choroszy-Król I, Iwańczak B et al.: Epidemiology of atypical pneumoniae caused by *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydomydia* sp. in children. Adv Clin Exp Med 2001; 10(1): 37-44. 12. Stratton CW, Mitchell WM, Sriram S: Does *Chlamydomydia pneumoniae* play a role in the pathogenesis of multiple sclerosis? J Med Microbiol 2000; 49(1): 1-3. 13. Szelaż A, Przystański M, Magdalan J, Rymarczyk-Natyna K: Chlamydiowe zapalenie dróg oddechowych w aspekcie skuteczności leczenia. Otolaryngologia polska 1997; 52 (suppl. 24): 385-390. 14. Zawilińska B: Zakażenia wywołane przez *Chlamydomydia pneumoniae*. Zakażenia 2003; 3: 86-94.

nadesłano: 15.07.2013
zaakceptowano do druku: 29.08.2013

Adres do korespondencji:
*Paweł Kowalczyk
Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów SGGW
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
tel.: +48 (22) 593-25-78, +48 728-862-717
e-mail: pawel_kowalczyk@sggw.pl