

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHONOLOGICKÁ**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

2012

Lenka Plašilová

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**

**INFEKCE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*,**  
**LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA A PREVENCE**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2012**

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lenka Plašilová**  
Osobní číslo: **C09303**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Infekce Chlamydia trachomatis, laboratorní diagnostika a prevence**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**


### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Zpracujte literární rešerši obsahující:


1. Charakteristika Chlamydia trachomatis
2. Onemocnění, které způsobuje, včetně patogeneze
3. Epidemiologie
4. Laboratorní diagnostika
5. Možnosti terapie a prevence

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **ca 30 stran**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:  
**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Radek Sleha**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Datum zadání bakalářské práce: **3. října 2011**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**

  
prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.  
děkan

L.S.

  
doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2011

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci použila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20.6. 2012

Lenka Plašilová

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala Mgr. Radku Slehovi za odborné vedení mé bakalářské práce a cenné rady při jejím zpracování. Ráda bych také poděkovala své rodině za podporu během studia.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se zabývá gramnegativní bakterií *Chlamydia trachomatis*, která je nejčastějším původcem sexuálně přenosných onemocnění u lidí. Pozornost je věnována charakterizaci bakterie, kde je popsán její unikátní životní cyklus. V práci jsou dále shrnuty dostupné informace o výskytu a onemocněních, která uvedené agens vyvolává. Současně jsou zmíněny diagnostické metody, možnosti terapie a prevence.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

*Chlamydia trachomatis*, chlamydiové infekce, diagnostika, terapie

## **TITLE**

*Chlamydia trachomatis* infections, diagnosis and prevention

## **ANNOTATION**

Bachelor thesis deals with gram-negative bacterium *Chlamydia trachomatis* which is the most common agents of sexually transmitted human diseases. Attention is paid also to bacterial characteristics which are summed up in the chapters Morphology and Pathogenesis. The work summarizes available information on diseases caused by this bacterium. Thesis also mentions diagnostic methods, therapy and prevention.

## **KEYWORDS**

*Chlamydia trachomatis*, chlamydial infection, diagnosis, therapy

## SEZNAM ZKRATEK

ADP	adenosindifosfát
ATB	antibiotikum
ATP	adenosintrifosfát
CDC	Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (z angl. Center for Disease Control)
<i>Ch.</i>	<i>Chlamydia</i>
ČR	Česká republika
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzymová imunoanalýza (z angl. Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay)
ET	elementární tělíčko
HIV	virus lidské imunodeficiency (z angl. Human Immunodeficiency Virus)
hsp60	chlamydiový protein tepelného šoku o $60 \cdot 10^3$ daltonů
HSP60	lidský protein tepelného šoku
INF $\gamma$	interferon gamma
LCR	ligázová řetězová reakce (z angl. Ligase Chain Reaction)
LGV	<i>Lymphogranuloma venereum</i>
LPS	liposacharidový antigen
MHC	hlavní histokompatibilní komplex
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MOMP	vnější membránové proteiny (z angl. Major outer membrane protein)
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina



p.o.	per os
PCR	polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase Chain Reaction)
PGN	peptidoglykan
PID	hluboký pánevní zánět (z angl. Pelvic Inflammatory Disease)
Pmp	polymorfní membránový protein
PZ	zóna plasticity
RT	retikulární tělísko
T3S	sekrece III. typu
TNF $\alpha$	tumor nekrotizující faktor alfa
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod .....</b>	<b>10</b>
<b>1.1</b>	<b>Historie .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2</b>	<b>Taxonomie.....</b>	<b>11</b>
<b>1.3</b>	<b>Morfologie a životní cyklus .....</b>	<b>12</b>
<b>1.4</b>	<b>Genetická informace .....</b>	<b>13</b>
<b>1.5</b>	<b>Antigenní struktury a faktory virulence .....</b>	<b>13</b>
1.5.1	Proteiny vnější membrány.....	13
1.5.2	Lipopolysacharidový komplex (LPS) .....	14
1.5.3	Sekrece III. typu .....	15
1.5.4	Proteasová aktivita .....	15
<b>1.6</b>	<b>Patogeneze.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>Onemocnění vyvolaná <i>Ch. trachomatis</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b><i>Lymphogranuloma venereum</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Trachom .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Paratrachom .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4</b>	<b>Urogenitální infekce .....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>Metody průkazu .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Klinický materiál.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2</b>	<b>Metody přímé .....</b>	<b>21</b>
3.2.1	Mikroskopie.....	21
3.2.2	Kultivace .....	21
3.2.3	Molekulárně biologické testy .....	22
3.2.4	Průkaz antigenů <i>Ch. trachomatis</i> .....	22
<b>3.3</b>	<b>Metody nepřímé .....</b>	<b>23</b>

<b>4</b>	<b>Terapie a prevence.....</b>	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>Citlivost k antimikrobiálním látkám.....</b>	<b>24</b>
4.1.1	Tetracyklinová antibiotika.....	24
4.1.2	Makrolidová antibiotika .....	25
4.1.3	Fluorochinolová antibiotika .....	25
<b>4.2</b>	<b>Prevence .....</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>27</b>
<b>6</b>	<b>Příloha.....</b>	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>Literární zdroje.....</b>	<b>31</b>

# 1 Úvod

*Chlamydia trachomatis* je obligátně intracelulární parazit vyvolávající časté infekce očí a urogenitálního traktu u lidí. Uvedené agens je řazeno mezi nejčastější sexuálně přenosné patogeny s celosvětovým výskytem.

Jedná se o původce širokého spektra onemocnění. Urogenitální nákazy *Chlamydia trachomatis* se projevují nejčastěji uretritidami, epididymitidami, orchitidami, proktitidami, konjunktivitidami, vaginitidami nebo cervicitidami. Infekce těhotných žen představují závažný rizikový faktor pro vznik komplikací, jako jsou předčasný porod, mimoděložní těhotenství nebo potrat. Potenciální riziko představují chlamydie i pro novorozence, u nichž způsobují pneumonie nebo záněty spojivek.

K průkazu infekcí vyvolaných *Chlamydia trachomatis* jsou rutinně využívány molekulárně biologické metody, jejichž nespornou výhodou je vysoká senzitivita a specifita. Nejčastěji jsou využívány především metody polymerázové řetězové reakce a její modifikace. Chlamydie je dále možno prokazovat kultivací na tkáňových kulturách nebo přímou detekcí antigenů *Chlamydia trachomatis* v klinickém materiálu imunochemickými metodami.

Při terapii chlamydiových onemocnění se používají antibiotika se schopností působit i v intracelulárním prostředí napadených buněk. Mezi léky první volby se řadí tetracykliny, makrolidová nebo fluorochinolová antibiotika. Možnosti preventivní ochrany spočívají pouze v jisté míře sexuální zdrženlivosti. Vývoj vakcíny zůstává prozatím problémem.

Cílem bakalářské práce je vytvoření literární rešerše o onemocněních vyvolaných *Chlamydia trachomatis* z publikovaných odborných zdrojů.

## 1.1 Historie

První zmínky o onemocněních způsobených bakterií *Chlamydia trachomatis* (*Ch. trachomatis*) spadají do roku 1833. V tomto roce doktor Wallace publikoval své poznatky o *Lymphogranuloma venereum* (LGV) (Wallace 1833). V roce 1907 popsali Ludwig Halberstaedter a Stanislaus von Prowazek cytoplazmatické inkluze ve stěrech ze spojivek orangutanů, záměrně infikovaných trachomem. Podobný nález pozorovali Halberstaedter a Prowazek i u novorozenců se zánětem očních spojivek, stejně tak v cervikálních stěrech matek. Tyto částice pojmenovali jako *Chlamydozoa* (Halberstaedter a Prowazek 1909). Označení *Chlamydia* zavedli Jones et al. (1945).

První úspěšná izolace původce trachomu byla provedena T'angem v roce 1957 v kuřecím embryu. V roce 1962 zařadil Whittington *Ch. trachomatis* mezi možné příčiny vzniku uretritid. O dva roky později Jones (1964) izoloval chlamydie od mužů s tímto onemocněním. Následující rok popsal Dunlop et al. (1965) zánět močové trubice s nespecifickými příznaky u pánské populace. Schachter (1967) izoloval kmen *Ch. trachomatis* od pacienta trpícího klinickou LGV.

## 1.2 Taxonomie

Everett et al. (1999) rozdělili čeleď *Chlamydiaceae* na rody *Chlamydia* a *Chlamydophila*. *Ch. trachomatis* je taxonomicky začleněna do rodu *Chlamydia*.

Třída: *Chlamydie*

Řád: *Chlamydiales*

Čeleď: *Chlamydia*

Rod: *Chlamydia*

Druh: *Ch. trachomatis*

Do rodu *Chlamydophila* jsou řazeny kmeny *Chlamydophila psittaci* a *Chlamydophila pneumoniae* (Everett et al. 1999).

### 1.3 Morfologie a životní cyklus

*Ch. trachomatis* je gramnegativní bakterie s unikátním životním cyklem, který zahrnuje dvě formy – elementární (ET) a retikulární (RT) tělíska. Uvedené formy se liší svou morfologií a lokalizací vůči hostitelské buňce (Mylonas 2012).

ET jsou klidovou formou chlamydií. Jejich velikost se pohybuje v rozmezí 250 - 400 nm (Bartoníčková 2003). Tato tělíska jsou opatřena pevnou buněčnou stěnou. Howie et al. (2011) uvádí, že rigidita buněčné stěny je způsobena zesíťováním proteinů vnější membrány. Buněčná stěna ET je obohacena o velká množství lipidů a zajišťuje ochranu vůči mechanickému poškození v extracelulárním prostoru. Nguyen et al. (2011) uvádí, že snížená permeabilita stěny zprostředkovává ochranu před detergenty, žlučovými kyselinami a hydrofobními antimikrobiálními látkami. Pro ET jsou charakteristická jádra s kondenzovaným chromatinem. Tato forma životního cyklu má infekční vlastnosti, což se projevuje schopností ET pronikat endocytózou do hostitelských buněk. Zde dochází v několika hodinách k jejich transformaci na metabolicky aktivní RT, představující intracelulární formy chlamydií (Grieshaber et al. 2006).

RT jsou funkčními i morfologickými antagonisty ET. Jejich velikost nabývá hodnot 800 - 1000 nm (Bartoníčková 2003). RT postrádají buněčnou stěnu, jejíž funkci nahrazuje vnější membrána bez disulfidických můstků (Nguyen et al. 2011). Ačkoli jsou chlamydie řazené ke gramnegativním bakteriím, mají velmi malý periplazmatický prostor, v němž se standardně syntetizuje peptidoglykan (PGN). Během životního cyklu *Ch. trachomatis* začíná tvorba PGN až na úrovni RT (McCoy a Maurelli 2006). V cytoplazmě RT je přítomno velké množství ribozomů (Mašata et al. 2001).

V hostitelské buňce se RT množí binárním dělením. Celý růstový cyklus trvá přibližně 72 hodin (Příloha 1). Výsledkem je rozpad napadené buňky a uvolnění až 10000 infekčních ET do okolí. U chronických infekcí jsou ET plynule uvolňována do vnějšího prostředí exocytózou, aniž by došlo k lýze napadené buňky (Toršová 2004).

## 1.4 Genetická informace

Genom *Ch. trachomatis* je tvořen cirkulární dvoušroubovicí DNA o velikosti přibližně 1000 - 1300 kbp (Stephens et al. 1998). Carlson et al. (2004) ve své publikaci informovali o oblasti nazývané zóna plasticity (PZ). Studiemi bylo prokázáno, že geny sídlící v PZ odpovídají za faktory virulence. Díky specifickým mutacím v uvedeném lokusu mohou být od sebe jednoznačně odlišeny genitální a oční izoláty *Ch. trachomatis* (Carlson et al. 2004).

Většina kmenů *Ch. trachomatis* obsahuje ve své cytoplazmě tzv. kryptický plasmid o velikosti 7 kbp (Seth-Smith et al. 2009; Ricci et al. 1993). Seth-Smith et al. (2009) zmiňují použitelnost plasmidu jako cílovou strukturu při molekulárně biologickém průkazu, vzhledem k jeho relativní odolnosti vůči působení nukleáz.

## 1.5 Antigenní struktury a faktory virulence

### 1.5.1 Proteiny vnější membrány

Hlavní membránový protein (MOMP) tvoří majoritní podíl (až 60 %) ze všech proteinů vnější membrány. Jedná se o významný povrchový antigen, díky kterému lze *Ch. trachomatis* rozdělit do 19 sérotypů, značených A - L3. (Klint et al. 2010; Savel'eva et al. 2008).

MOMP jsou přítomny v membráně ET i RT. Prostorově jsou uspořádány do širokých pórů, které jsou využívány při transportu esenciálních látek do buňky nebo vylučování odpadních produktů metabolismu chlamydií (Wang et al. 2006). Pinkavová a Koliba (2007) uvádí, že přítomnost MOMP na povrchu buňky brání vazbě imunoglobulinů.

Findlay et al. (2005) uvádí, že MOMP je vysoce imunogenní. Protilátky namířené proti tomuto proteinu mají schopnost neutralizovat ET. Proto je MOMP považován za vhodnou cílovou strukturu pro tvorbu vakcíny nebo může být využit v laboratorní diagnostice *Ch. trachomatis*.

Za další významné imunogeny přítomné v membráně *Ch. trachomatis* jsou považovány OmcA a OmcB (Findlay et al. 2005). Jedná se o proteiny s vysokým obsahem cysteinu, jejichž společným znakem je intermolekulární zesíťování tvorbou

disulfidických můstků. Hsia a Bavoil (1996) uvádí, že prostřednictvím těchto interakcí se uvedené proteiny podílí na rigiditě buněčné stěny a osmotické stabilitě buňky.

V membráně bakterií čeledi *Chlamydia* jsou lokalizovány polymorfní membránové proteiny (Pmp). U *Ch. trachomatis* lze identifikovat pouze 2, konkrétně PmpA a PmpD (Byrne 2010; Kiselev et al. 2007). Kiselev et al. (2007) prokázal přítomnost těchto struktur již při transformaci z RT na ET. S tím souvisí i schopnost infekčních forem chlamydií napadnout a vstoupit do hostitelské buňky. Tyto antigeny také zprostředkovávají humorální odpověď na chlamydiovou infekci (Kiselev et al. 2007).

Významným antigenem a faktorem virulence u *Ch. trachomatis* je tzv. hsp60 (heat shock protein), nebo-li protein tepelného šoku, který dosahuje velikosti přibližně  $60.10^3$  daltonů. Hsp60 se vyskytuje u širokého spektra organismů, od bakterií až po savce, včetně lidí. Lidská forma Hsp60 se shoduje s proteinem produkovaným chlamydiemi v 50 % aminokyselin. Protilátky, vytvořené v průběhu infekce proti chlamydiovému hsp60, mohou později reagovat i s lidským HSP60 a vyústit ve vznik autoimunitního onemocnění (Witkin et al. 1998).

### **1.5.2 Lipopolysacharidový komplex (LPS)**

Podobně jako ostatní gramnegativní bakterie obsahuje i *Ch. trachomatis* LPS, který je lokalizován na povrchu vnější membrány (Nguyen et al. 2011). Jedná se o rodově specifický a zároveň druhý nejvýznamnější antigen u chlamydií, využívaný při jejich diagnostice (Bartoníčková 2008).

Strukturně se LPS sestává z hydrofobní části, kterou představuje lipid A (endotoxin) a hydrofilní části tvořené sacharidy. Lipid A je odpovědný za biologické účinky LPS, především jeho toxické působení. Sacharidová část nese antigenní vlastnosti (Wang a Quinn 2010; Müller-Loennies et al. 2006).



### 1.5.3 Sekrece III. typu

Dalším významným systémem u *Ch. trachomatis* je přítomnost tzv sekrece III. typu (T3S). Jedná se o proteinový systém, který je nezbytný pro intracelulární růst a virulenci bakterie. S tím souvisí jeho aktivita ve všech vývojových fázích chlamydie. T3S se uplatňuje při detekci hostitelské buňky. Jeho funkcí je také transport proteinů z buňky parazita přímo do cytoplazmy hostitele, kde se přenášené substráty podílí na manipulaci s buněčným aparátem eukaryotické buňky (Betts et al. 2008).

### 1.5.4 Proteasová aktivita

V průběhu infekce epiteliálních buněk vylučuje *Ch. trachomatis* proteolytické enzymy poškozující hostitele. Příkladem je tzv. serinová proteáza (CPAF) uvolňovaná do cytoplazmy napadených buněk. Zde CPAF štěpí transkripční faktory genů HLA-systému, případně genů indukujících apoptosu napadených buněk (Bednar et al. 2011).

## 1.6 Patogeneze

*Ch. trachomatis* je intracelulární parazit eukaryotických buněk, neschopný syntetizovat si vlastní energetické zdroje ve formě ATP. Proto je pro chlamydie typický energetický parazitismus, jenž slouží k získání těchto zdrojů z napadených buněk hostitele (Findlay et al. 2005). V průběhu tohoto děje chlamydie využívá za pomoci transmembránových proteinů ATP produkované hostitelem. Ačkoli je za normálního stavu buněčná stěna chlamydií pro relativně velké a nabitě nukleotidy nepropustná, obsahuje četné póry katalyzující import ATP z napadené buňky (Schmitz-Esser et al. 2004). Chlamydie obsahují enzymy pro katabolické reakce, které dávají za vznik ADP (Iliffe-Lee a McClarty 2003). Tento metabolit je následně exportován zpět do cytosolu eukaryotické buňky (Schmitz-Esser et al. 2004).

*Ch. trachomatis* je uvnitř hostitele uzavřena do endozomů, v nichž je chlamydie chráněna před účinky imunitního systému. I přesto obranný systém hostitele reaguje proti *Ch. trachomatis* zejména prostřednictvím  $T_{H1}$  lymfocytů, které produkují  $INF\gamma$  a  $TNF\alpha$ . Přítomnost  $INF\gamma$  ve vysokých koncentracích brání replikaci RT, naopak nízké

koncentrace vedou k rozvoji perzistentních infekcí. Produkci specifických protilátek za účasti  $T_{H2}$  lymfocytů je dosaženo opsonizace a neutralizace chlamydií. Tvoří se hlavně slizniční IgA a IgG protilátky (Pinkavová a Koliba 2007).

Po prodělání chlamydiové infekce je možný rozvoj autoimunitního onemocnění v důsledku podobnosti lidských a chlamydiových antigenů (Witkin et al. 1998).

## 2 Onemocnění vyvolaná *Ch. trachomatis*

*Ch. trachomatis* je nejčastější sexuálně přenášený patogen u lidí. Každý rok se na celém světě vyskytne odhadem 92 milionů nových případů. Xiong et al. (2006) uvádí, že tato informace je pravděpodobně podhodnocená, neboť chlamydiové infekce probíhají často u obou pohlaví asymptomaticky a nerozpoznaná onemocnění jsou rezervoárem k sexuálnímu přenosu. *Ch. trachomatis* je také původcem očních chorob, které postihují všechny generace (Gebre et al. 2012).

Klinický obraz infekce, její lokalizace i způsob přenosu jsou závislé na sérotypu *Ch. trachomatis*, který onemocnění vyvolal. Sérotypy A – C jsou původci trachomu, D – K jsou asociovány s okulo-genitálními infekcemi a L1 – L3 jsou příčinou venerického onemocnění *Lymphogranuloma venereum* (Brunelle a Sensabaugh 2006).

### 2.1 *Lymphogranuloma venereum*

Jedná se o infekční onemocnění přenášené výhradně pohlavním stykem. Původcem LGV jsou sérotypy L1, L2 a L3 *Ch. trachomatis* (Vanousova et al. 2012). Sérotyp L2 lze na základě sekvenování DNA dále dělit na L2, L2a a L2b. Zmíněné typy jsou vysoce invazivní a přednostně napadají lymfatickou tkáň, proto byl vytvořen zvláštní biotyp označovaný jako biovar LGV (Halse et al. 2006; Brunelle a Sensabaugh 2006).

Výskyt LGV převládá v méně rozvinutých zemích tropického nebo subtropického pásma (Lupi et al. 2006). Ve vyspělých zemích se LGV běžně nevyskytuje, přesto hrozí riziko importování infekce z endemických oblastí. Poslední hlášení o infekci LGV v České republice (ČR) pochází z roku 2010 – 2011, kdy bylo LGV prokázáno u HIV-pozitivních osob (Vanousova et al. 2012).

LGV probíhá ve třech stádiích. Prvním stádiem je vznik malé nebolestivé papulovezikuly na genitáliích, která se dále rozpadá na vrídek o velikosti čočky. Ten se rychle hojí a může zůstat nepovšimnut. Za několik týdnů nastává druhé stádium, kdy zduří uzliny v oblasti třísel na jedné, později i na druhé straně (Příloha 2). Následně dochází ke zhnisání postižených uzlin a tvorbě abscesů. Rozvoj infekce je provázen

zejména u mužů zvýšenou teplotou, třesavkou, bolestí hlavy i kloubů. U žen bývá infekce téměř asymptomatická. V důsledku toho se u nich častěji projeví poslední stádium, které se projevuje destruktivním zánětem zevního genitálu. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 7 – 21 dní (Bartoníčková 2003; Poláčková 2008).

## 2.2 Trachom

Jedná se o chronické onemocnění spojivek a rohovky, které může vést až ke ztrátě zraku. Onemocnění je vyvoláno sérotypy A, B, Ba, C, které řadíme do biovaru trachom (Bartoníčková 2003). Od biovaru LGV se liší vysokou specifitou ke tkáním s cylindrickým epitelem (Brunelle a Sensabaugh 2006).

Endemickými oblastmi pro výskyt trachomu jsou tropy a subtropy (Faal et al. 2006). V ČR se trachom běžně nevyskytuje, podobně jako u LGV hrozí riziko importované nákazy (Bartoníčková 2008). V postižených regionech činí hlavní zdroj infekce děti, neboť u nich je nemoc v aktivní fázi (Gebre et al. 2012). Přenos nákazy je uskutečněn nejčastěji přímým osobním kontaktem (Dean et al. 2009). Vektorem nákazy mohou být i mouchy (Stoller et al. 2011).

Gerard et al. (2010) uvádí, že trachom zůstává nejčastější příčinou slepoty, kterou je možné léčit. Přesto přibližně 6 milionů lidí infikovaných *Ch. trachomatis* (zejména v zemích třetího světa) trpí neléčitelnou slepotou. Mylonas (2012) informuje, že v současnosti je aktivní formou trachomu postiženo zhruba 146 milionů pacientů. Světová zdravotnická organizace (WHO) si stanovila za cíl eliminaci této choroby do roku 2020 (Gebre et al. 2012).

Opakované oční infekce *Ch. trachomatis* představují potenciální riziko vzniku trachomu, jenž je nazýván také jako chronická keratokonjunktivitida. Jedná se o progresivní onemocnění vyskytující se v několika fázích během života jedince: aktivní trachom, zjizvení trachomu, entropium a trichiáza, posléze slepota kvůli zakalení rohovky (Příloha 3) (Faal et al. 2006). Inkubační doba činí 25 - 30 let po prodělané infekci, kdy dochází k vážnému postižení zraku až slepotě (Bartoníčková 2003).

## 2.3 Paratrachom

Paratrachom nebo-li inkluzní konjunktivitida je onemocnění vyvolané sérotypy D až K *Ch. trachomatis*. Infekce postihuje dospělé i novorozence, kteří se zpravidla nakazí v průběhu porodu. U dospělých je patogen zanesen do oka z genitálu nejčastěji při různých sexuálních aktivitách (Vergara et al. 2005).

Inkluzní konjunktivitidy se projevují tvorbou hlenohnisavého sekretu na oční kouli a spojivkové klenbě obou očí (Příloha 4). Později dochází k neovaskularizaci rohovek a zánětlivému onemocnění urogenitálního traktu. Oproti trachomu je riziko úplné ztráty zraku relativně nízké (Němec 2009).

Ophthalmia neonatorum (akutní konjunktivitida novorozenců) je onemocnění, které projeví za 5 – 14 dní po narození. Hlavním klinickým příznakem je hnisavý zánět spojivek (Tabatabaei et al. 2012). Infekce *Ch. trachomatis* u novorozenců jsou velmi nebezpečné pro nedostatečnou vyzrálou imunitního systému (Němec 2009).

## 2.4 Urogenitální infekce

Urogenitální infekce vyvolané *Ch. trachomatis* jsou řazeny mezi sexuálně přenosná onemocnění a představují celosvětově rozšířený problém (Toršová 2004). Prevalence urogenitálních nákaz dosahuje v dospívající populaci hodnot 7 – 30 % (Poršová et al. 2011). Kolombo et al. (2007) uvádí, že chlamydie způsobují 30 - 50 % negonokokových uretritid.

Rozsáhlé šíření *Ch. trachomatis* je způsobeno vysokým stupněm sexuální promiskuity obyvatelstva, asymptomatickým průběhem chronických infekcí a nedostatečnou senzitivitou diagnostických metod (Batteiger et al. 2010; Mylonas 2012).

Urogenitální chlamydiové infekce vyvolávají sérotypy D – K, mají převážně asymptomatický průběh s vysokým rizikem chronicity (Bartoníčková 2003).

První příznaky se u žen mohou objevit až za dlouhou dobu po infikujícím pohlavním styku, neboť přibližně 70% endocervikálních infekcí je bezpříznakových (Gomes et al. 2006). Symptomy jsou převážně nespecifické, proto se může objevit

hlenohnisavý výtok, dyspareunie či dysurické potíže (Bartoníčková 2008). Infekce pohlavních cest u žen mohou vést k závažným následkům jako je neplodnost, mimoděložní těhotenství a přetrvávající pánevní bolesti asociované s hlubokým pánevním zánětem (PID) (Gomes et al. 2006).

U těhotných žen hrozí riziko předčasného porodu, nízké porodní hmotnosti či perinatálního úmrtí novorozence (Rours et al. 2011). Toršová (2004) uvádí, že chlamydiové infekce se vyskytují u 20 – 70 % žen s předčasným porodem. U 30 – 50 % porodů infikovaných rodiček dochází k vertikálnímu přenosu choroby na dítě (Toršová 2004). Kakar et al. (2010) popisuje, že u 18 – 50 % novorozenců infikovaných *Ch. trachomatis* od matek se rozvine zánět spojivek, infekce nosohltanu nebo pneumonie.

Zhruba 50 % urogenitálních infekcí u mužů vyvolaných chlamydiemi probíhá asymptomaticky (Gomes et al. 2006). Kolombo et al. (2007) řadí mezi nejčastější projevy uretritidu, epididymitidu, prostatitidu, artritidu a Reiterův syndrom (kombinace konjunktivitidy, uretritidy a artritidy). Důsledkem chlamydiové infekce je mužská sterilita, chronická prostatitida či zúžení uretry a chámovodu. Zmiňované agens je schopno adherovat na povrch spermií a pronikat do nich. Po sexuálním aktu takto vázané chlamydie napadají horní část genitálního traktu ženy (Toršová 2004).

## **3 Metody průkazu**

### **3.1 Klinický materiál**

Materiál pro průkaz *Ch. trachomatis* je odebírán dle charakteru infekce. U onemocnění urogenitálního traktu se zpracovávají výtěry z močové trubice a moč (Quint et al. 2010). Dále je možno k průkazu použít ejakulát u mužů nebo stěr z krčku děložního žen (Çalışkan et al. 2010; Ficarra et al 2008). U očních infekcí se odebírá stěr ze spojivek (Rours et al. 2008). Pro mnoho pacientů může být odebírání vzorků nepříjemné až bolestivé. Z tohoto důvodu je ideálním odběrovým materiálem první ranní moč (Kolombo et al. 2007). Pro sledování protilátkové odpovědi organismu se odebírá sérum (Bas et al. 2001)

S ohledem na náročnost diagnostiky je nutno dbát nejen na správné provedení odběru vzorku, ale i transport materiálu (Bartoníčková 2008).

### **3.2 Metody přímé**

#### **3.2.1 Mikroskopie**

Inkluze *Ch. trachomatis* je možno mikroskopicky pozorovat po obarvení Lugolovým roztokem (Příloha 5) nebo metodou dle Giemsy (Příloha 6) (Ujević et al. 2009; Mohammadzadeh et al. 2011). Jejich sledování se provádí ve světelném mikroskopu. K pozorování chlamydií je možno užít i elektronového mikroskopu (Hosseinzadeh a Fazeli 2009).

#### **3.2.2 Kultivace**

*Ch. trachomatis* je obligátně intracelulární parazit, jehož kultivace se provádí na buněčných kulturách. Běžně užívanými jsou zejména HeLa, McCoy nebo kuřecí embrya (Deka et al. 2006).

Vzhledem k vysoké náročnosti na provedení se tato metoda v rutinní diagnostice běžně nevyužívá (Bartoníčková 2008).

### 3.2.3 Molekulárně biologické testy

V současné době nalézají v diagnostice infekcí vyvolaných *Ch. trachomatis* široké uplatnění molekulárně biologické metody. Běžně využívané jsou zejména technika hybridizace a polymerázové (PCR) nebo ligázové (LCR) řetězové reakce. Výhodou molekulárně biologických metod je jejich vysoká citlivost, spolehlivost a menší pracnost v porovnání s kultivací na tkáňových kulturách (Tabatabaei et al. 2012).

Principem PCR je amplifikace (namnožení) a následná detekce úseku DNA specifického pro *Ch. trachomatis* gelovou elektroforézou. Vedle klasického provedení PCR jsou v praxi stále více užívány i její modifikace, zejména real-time PCR. Jejich předností je především možnost kvantifikace DNA chlamydií ve vyšetřovaném vzorku (Storm et al. 2005).

Metodou hybridizace dochází k průkazu specifického úseku nukleové kyseliny hledaného agens ve vyšetřovaném vzorku užitím specifické sondy (Toršová 2004).

### 3.2.4 Průkaz antigenů *Ch. trachomatis*

K detekci chlamydiových antigenů se běžně využívá ELISA nebo přímý imunofluorescenční test. Metodou ELISA se zpravidla detekuje rodově specifický antigen *Ch. trachomatis*, který reaguje s protilátkou vázanou v mikrotitrační destičce. K tomuto komplexu je později přidán konjugát značený enzymem a posléze substrát. Výsledkem je barevná změna, jež se odečítá spektrofotometricky (Chomvarin et al. 2000).

Principem imunofluorescenčního testu je reakce antigenu přítomného ve vyšetřovaném materiálu (tampónový stěr) s monoklonální protilátkou značenou fluoresceinem. Detekce antigenu se provádí ve fluorescenčním mikroskopu, kde je možné pozorovat zeleně zářící ET i RT (Bartoníčková 2008).



### **3.3 Metody nepřímé**

Metody nepřímé diagnostiky jsou založeny na průkazu rodově nebo druhově specifických protilátek třídy IgA, IgM nebo IgG. Při provádění sérologické diagnostiky je výhodné sledovat dynamiku tvorby protilátek v jednotlivých třídách, která umožní posoudit chronicitu probíhající infekce. K jejímu sledování je zapotřebí vyšetřit dvojici sér, odebraná s časovým odstupem. Vhodným intervalem mezi jednotlivými odběry je rozmezí 2-3 týdnů (Toršová 2004).

Detekce protilátek je rutinně prováděna metodou ELISA nebo imunofluorescenčním testem (Bartoníčková 2008).

## 4 Terapie a prevence

### 4.1 Citlivost k antimikrobiálním látkám

Pro intracelulární charakter chlamydiové infekce by měla příslušná antibiotika (ATB) pronikat nejen do tkání, ale především i do infikovaných buněk, v nichž se chlamydie nacházejí, tzn. do endosomů. Výhodné je, pokud se podávané ATB dostává fagocytózou i do makrofágů, které jsou poté chemotakticky „přitahovány“ do místa infekce. Tím dochází k aktivnímu transportu antimikrobiální látky do oblasti zánětu (Kolombo et al. 2007).

Vzhledem k tomu, že ATB působí pouze na RT, jsou preferovány léky s dlouhým poločasem rozpadu, neboť účinná koncentrace přetrvává v buňce po dobu několika vývojových cyklů (Toršová 2004). Antibiotická léčba se volí s ohledem na současnou koinfekci. Nejvyšší účinnost mají tetracykliny, makrolidová ATB a fluorochinolony (Kolombo et al. 2007).

Binet a Maurelli (2005) uvádějí, že v posledních letech užívání a nadužívání antimikrobiálních látek vedlo ke zvýšenému výskytu rezistentních bakterií. K relapsu chlamydiových infekcí dochází až u 20 % případů. Důvodem relapsu je nepravidelné užívání farmak či asymptomatický průběh infekce.

#### 4.1.1 Tetracyklinová antibiotika

Tetracykliny jsou ATB s bakteriostatickým účinkem inhibujícím syntézu proteinů. Mechanismus jejich účinku spočívá v utlumení acylace aminokyselin v oblasti ribozómů při tvorbě peptidových řetězců (Bienová a Kučerová 2007). Tetracyklinová ATB výborně pronikají do tkání, kde dosahují větší koncentrace oproti séru (Kolombo et al. 2007).

Zástupcem těchto léků je doxycyklin, který se dává 100 mg per os (p.o.) dvakrát denně po dobu 7 - 10 dní (Bartoníčková 2008). Tetracykliny jsou kontraindikovány u těhotných žen (Mabey a Peeling 2002).

Suchland et al. (2003) stanovili hodnotu minimální inhibiční koncentrace (MIC) kultivací *Ch. trachomatis* na buněčných liniích s obsahem různých ATB. Hodnotu MIC doxycyklinu uvádí při 0,064 µg/ml a tetracyklinu 0,25 µg/ml.

#### **4.1.2 Makrolidová antibiotika**

Makrolidová ATB jsou další skupinou antimikrobiálních látek, do níž se řadí azithromycin, erythromycin a další (Zhu et al. 2010).

V terapeutických koncentracích působí makrolidová ATB bakteriostaticky, inhibicí syntézy proteinů bakterií (Bienová a Kučerová 2007). Makrolidy dosahují vysoké účinné koncentrace v tkáních a jejich výhodou je i působení v makrofázích. Nejvyšší koncentraci v tkáních, buňkách, fagolyzozomech i endozomech vykazuje azithromycin. Jeho eliminační čas dosahuje hodnot 60 - 70 h, čímž se přibližně překrývá s délkou růstového cyklu chlamydií. Uvedené ATB se podává při terapii chlamydiových infekcí jednorázově v dávce 1 g p.o. (Kolombo et al. 2007). Erythromycin je vhodný i pro těhotné ženy. Dávkuje se čtyřikrát denně 500 mg, délka léčby se pohybuje v rozmezí 7 – 10 dnů (Bartoníčková 2008).

Rezistence mikroorganismů vůči těmto preparátům je často spojována s mutacemi v genech pro ribozomální proteiny či v genech kódujících peptidyltransferázu (Zhu et al. 2010).

Suchland et al. (2003) uvádí hodnotu MIC 0,125 µg/ml pro azithromycin a 0,25 µg/ml pro erythromycin.

#### **4.1.3 Fluorochinolová antibiotika**

Fluorochinolony mají baktericidní působení, jejichž účinek spočívá v inhibici syntézy DNA (Rupp et al. 2008). Uvedená ATB dobře pronikají do tkání a do buněk. Intracelulárně se však nacházejí pouze v cytosolu, průnik do endozomů prakticky nemají (Kolombo et al. 2007). Účinnými preparáty z této skupiny ATB jsou zejména fluorochinolová ATB 2. a 3. generace, kam řadíme norfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin a další (Patel et al. 2011)

V poslední době narůstá počet hlášení o vzrůstající rezistenci vůči uvedeným ATB z důvodů masivní indikace (Kašák 2004). Rezistence na fluorochinolony vzniká nejčastěji po bodových mutacích (Rupp et al. 2008).

Suchland et al. (2003) stanovili hodnotu MIC ofloxacinu na kmeny *Ch. trachomatis* v koncentraci 1 µg/ml.

## 4.2 Prevence

V oblasti prevence v současné době existují dva přístupy. Prvním je zábrana přenosu infekce na zdravou osobu – tzv. primární prevence. Druhým je předcházení již vzniklé akutní infekce do chronicity - sekundární prevence (Medková 2002).

Jedinou možností efektivní prevence je v současné době cílené vyhledávání akutně infikovaných jedinců ve venerologických, urologických nebo gynekologických praxích a jejich následná léčba. Vyhledáváním těchto převážně asymptomatických infekcí, testováním sexuálních partnerů nakažených osob a léčbou všech pozitivních případů v rámci screeningových programů se významně redukoval výskyt onemocnění (Medková 2002). V roce 1993 vydalo Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) seznam vysoce rizikových skupin určených pro pravidelná preventivní vyšetření. Byly zde uvedeny sexuálně aktivní ženy mladší dvaceti let (skupina s největší prevalencí a nejrizikovější), ženy starší dvaceti let s rizikovým faktorem (nový sexuální partner, více sexuálních partnerů, nepoužívání bariérové antikoncepce), těhotné ženy a dámy s cervikální infekcí (Kašánková 2002).

Výroba účinné široce použitelné očkovací látky zůstává problémem (Medková 2002). Podle WHO není dostatek vhodných zvířecích modelů a obtížná je zároveň i genetická manipulace s chlamydiemi. Hlavní snaha ve vývoji vakcíny proti *Ch. trachomatis* je zaměřena na MOMP jako cílový antigen (Kalbina et al. 2011). Problémem je však jeho obtížná izolace a purifikace (Findlay et al. 2005).

## 5 Závěr

*Ch. trachomatis* je celosvětově rozšířenou gramnegativní bakterií s jedinečným životním cyklem. Jedná se o intracelulární energetické parazity, závislé na zisku energetických zdrojů ve formě ATP z hostitelské buňky. Vedle parazitického způsobu života se na poškození napadeného organismu podílí i stimulace imunitního systému.

Uvedené bakteriální agens vyvolává akutní i chronické infekce urogenitálního traktu nebo očních sliznic u lidí. Na základě povrchových antigenů je u *Ch. trachomatis* rozlišováno 19 sérotypů lišící se typem onemocnění, které vyvolávají a způsobem přenosu. Sérotypy A, B, Ba, C a L jsou původci závažných onemocnění trachomu a LGV, hojně rozšířených v oblastech tropů a subtropů. V ČR jsou nejrozšířenější sérotypy D - K, vyvolávající infekce urogenitálního traktu a očních spojivek. Neléčené urogenitální infekce vyvolané chlamydiemi mohou vést k trvalým následkům ve formě neplodnosti.

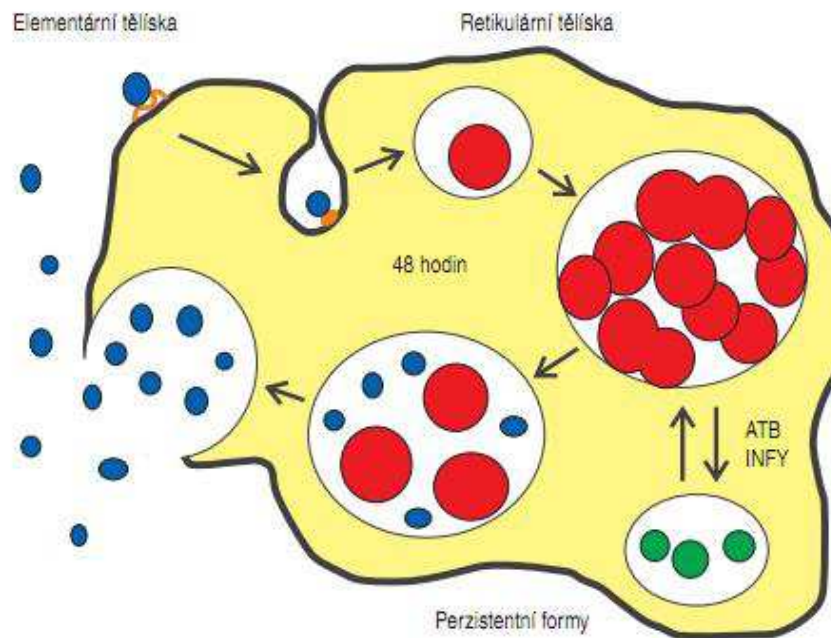
V laboratorní diagnostice *Ch. trachomatis* se využívají přímé i nepřímé metody. Z přímých metod jsou v praxi nejrozšířenější metody molekulárně biologické, zejména techniky amplifikační (PCR), dále pak průkaz chlamydiových antigenů nebo kultivace. Nepřímý průkaz infekce se provádí stanovením hladiny protilátek proti druhově specifickým antigenům. Průkaz protilátek a sledování dynamiky jejich tvorby napomáhá především ke sledování průběhu onemocnění.

Infekce *Ch. trachomatis* se léčí pomocí tetracyklinů, makrolidových nebo fluorochinolových ATB, která umožňují působení na mikroorganismus v napadených tkáních. Problémem terapie chlamydiových infekcí je opětovné propuknutí onemocnění, ke kterému dochází až ve 20 % případů.

Do dnešního dne není k dispozici žádná očkovací látka, která by chránila a zároveň omezila šíření chlamydiových infekcí. Na jejím vývoji se intenzivně pracuje. Jedinou možnou prevencí tak je užití bariérové ochrany při pohlavním styku nebo jistá míra sexuální zdrženlivosti. V ČR nepodléhá výskyt *Ch. trachomatis* povinnému hlášení.

## 6 Příloha

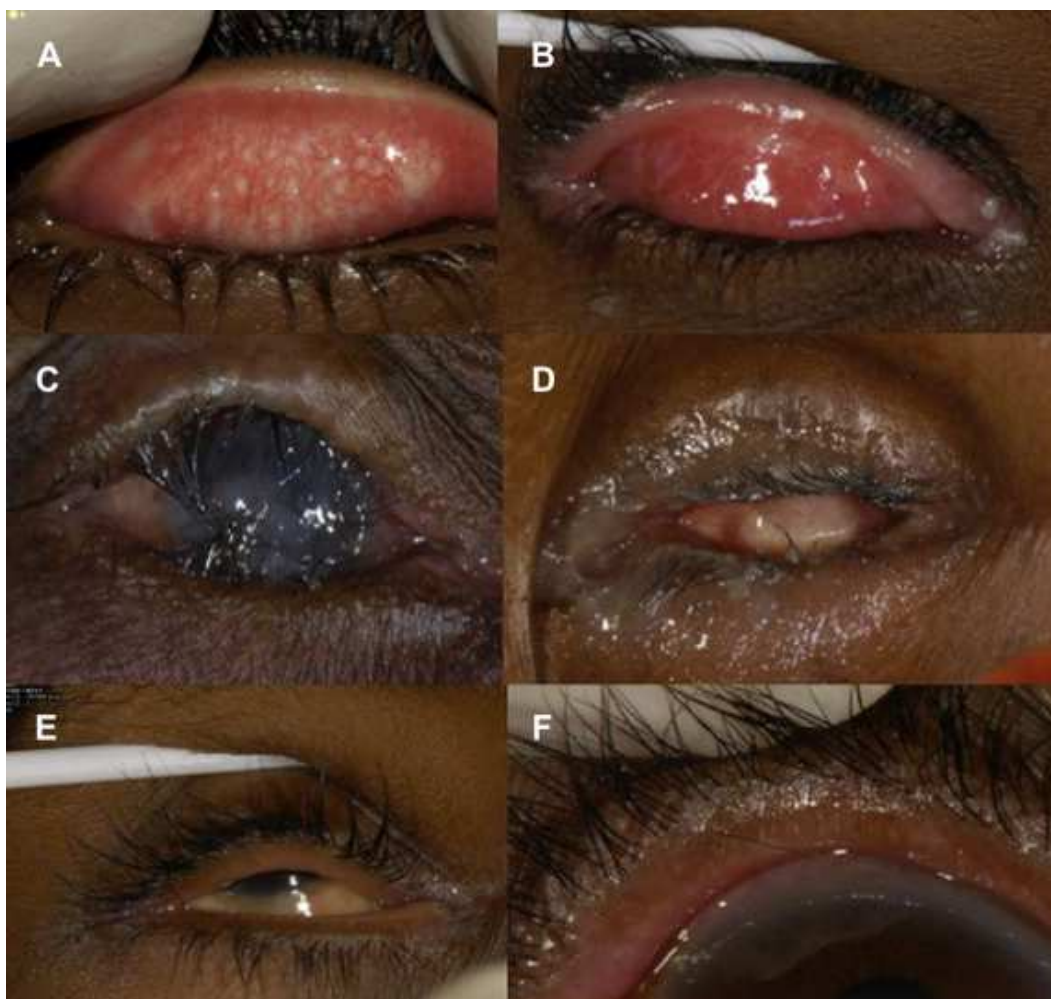
**Příloha 1:** Růstový cyklus *Chlamydia trachomatis* (Pinkavová a Koliba 2007)



**Příloha 2:** Zvětšení uzlin v oblasti třísel při LGV (Lupi et al. 2006)



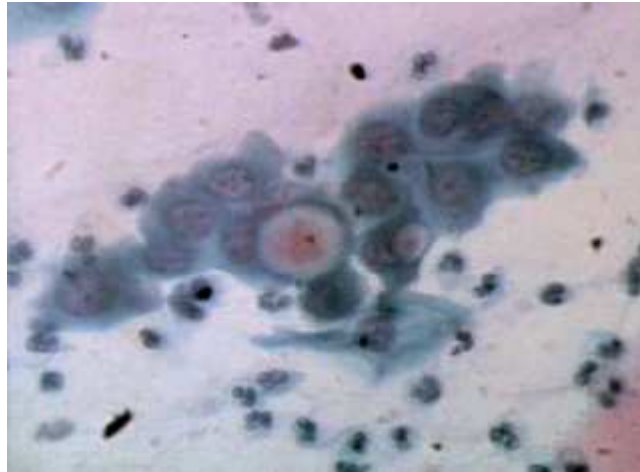
**Příloha 3:** Klinické projevy trachomu (Rajak et al. 2012)



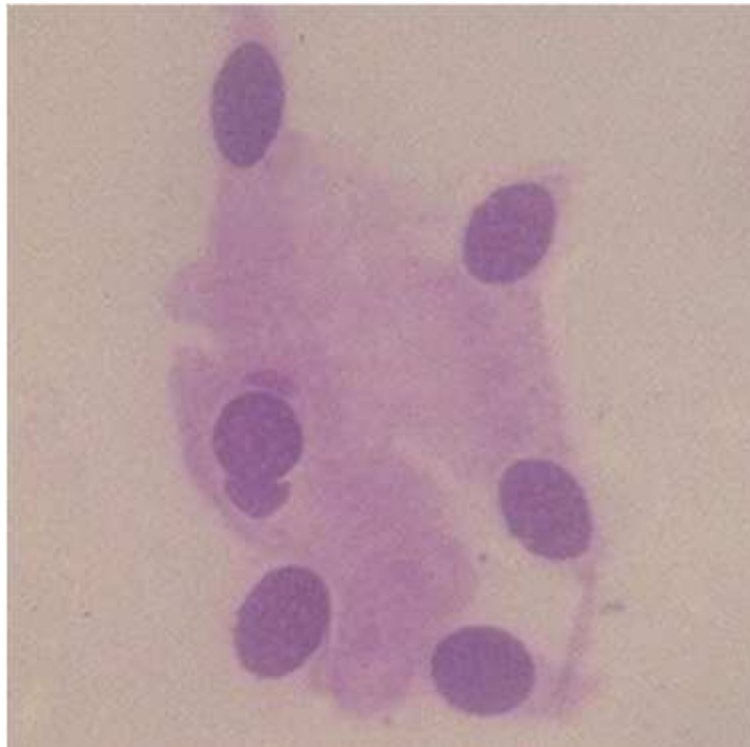
**Příloha 4:** Paratrachom (Hrubá a Kaštánková 1999)



**Příloha 5:** Inkluzní tělíka ve světelném mikroskopu, barvená Lugolovým roztokem (Bartoníčková 2008)



**Příloha 6:** Inkluzní tělíka ve světelném mikroskopu, barvená dle Giemsy (Hahn a Giunta 2007)





## 7 Literární zdroje

BARTONÍČKOVÁ, K. Co by měl urolog vědět o chlamydiových infekcích – přehled současného stavu. *Urologie pro praxi*, 2003, č. 3., s. 94-98.

BARTONÍČKOVÁ, K. Chlamydiové infekce z pohledu urologa. *Practicus*, 2008, č. 8, s. 28-33.

BAS, S., MUZZIN, P., VISCHER, T.L. *Chlamydia trachomatis* serology: diagnostic value of outer membrane protein 2 compared with that of other antigens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, roč. 39, č. 11, s. 4082-4085.

BATTEIGER, B.E., TU, W., OFNER, S., POL, V., STOTHARD, D.R., ORR, D.P., KATZ, B.P., FORTENBERRY, J.D. Repeated *Chlamydia trachomatis* genital infections in adolescent women. *Journal of Infectious Diseases*, 2010, roč. 201, č. 1, s. 42 – 51.

BEDNAR, M.M., JORGENSEN, I., VALDIVIA, R.H., MCCAFFERTY, D.G. Chlamydia protease-like activity factor (CPAF): characterization of proteolysis activity in vitro and development of a nanomolar affinity CPAF zymogen-derived inhibitor. *Biochemistry: including biophysical chemistry & molecular biology*, 2011, roč. 50, č. 35, s. 7441-7443.

BETTS, H.J., TWIGGS, L.E., SAL, M.S., WYRICK, P.B., FIELDS, K.A. Bioinformatic and biochemical evidence for the identification of the type III secretion system needle protein of *Chlamydia trachomatis*. *American Society for Microbiology*, 2008, roč. 190, č. 5, s. 1680-1690.

BIENOVÁ, M., KUČEROVÁ, R. *Acne vulgaris* – osvědčené postupy i novinky ve farmakologické léčbě. *Pediatric pro praxi*, 2007, roč. 8, č. 6, s. 348-352.

BINET, R., MAURELLI, A.T. Frequency of spontaneous mutations that confer antibiotic resistance in *Chlamydia spp.* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, roč. 49, č. 7, s. 2865-2873.

BRUNELLE, B.W., SENSABAUGH, G.F. The ompA gene in *Chlamydia trachomatis* differs in phylogeny and rate of evolution from other regions of the genome. *Infection and Immunity*, 2006, roč. 74, č. 1, s. 578-585.

BYRNE, G.I. *Chlamydia trachomatis* strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity. *Journal of Investigative Dermatology*, 2010, roč. 201, č. 2, s. 126-133.

ÇALISKAN, T., KOÇAK., I., KIRDAR, S., SERTER, M., OKYAY, P., GÜLTEKIN, B. Human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* in semen samples of asymptomatic fertile and infertile men: prevalence and relation between semen parameters and IL-18 levels. *Turkish Journal of Urology*, 2010, roč. 36, č. 2, s. 143 – 148.

CARLSON, J.H., HUGHES, S., HOGAN, D., CIEPLAK, G., STURDEVANT, D.E., MCCLARTY, G., CALDWELL, H.D., BELLAND, R.J. Polymorphisms in the *Chlamydia trachomatis* cytotoxin locus associated with ocular and genital isolates. *Infection and Immunity*, 2004, roč. 72, č. 12, s. 7063-7072.

CROTCHFELT, K.A., PARE, B., GAYDOS, C., QUINN, T.C. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the gen-probe amplified *Chlamydia trachomatis* Assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *Journal of Clinical Microbiology*, 1998, roč. 36, č. 2, s. 391 – 394.

DEAN, D., BRUNO, W.J., WAN, R., GOMES, J.P., DEVIGNOT, S., MEHARI, T., VRIES, H.J.C., MORRÉ, S.A., MYERS, G., READ, T.D., SPRATT, B.G. Predicting phenotype and emerging strains among *Chlamydia trachomatis* infections. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 2009, roč. 15, č. 9, s. 1385 – 1394.

DEKA, S., VANOVER, J., DESSUS-BABUS, S., WHITTIMORE, J., HOWETT, M.K., WYRICK, P.B., SCHOBORG, R.V. *Chlamydia trachomatis* enters a viable but non-cultivable (persistent) state within herpes simplex virus type 2 (HSV-2) co-infected host cells. *Cellular Microbiology*, 2006, roč. 8, č. 1, s. 149 – 162.

DUNLOP, E.M.C, AL-HUSSAINI, M.K., GARLAND, J.A., TREHARNE, J.D., HARPER, I.A., JONES, B.R. Infection of urethra by Tric agent in men presenting because of „non-specific“ urethritis. *Lancet*, 1965, roč. 285, č. 7396, s. 1125-1128.

EKO, F.O., HE, Q., BROWN, T., MCMILLAN, L., IFERE, G.O., ANANABA, G.A., LYN, D., LUBITZ, W., KELLAR, K.L., BLACK, C.M., IGIETSEME, J.U. A novel recombinant multisubunit vaccine against *Chlamydia*. *The Journal of Immunology*, 2004, roč. 173, č. 5, s. 3375-3382.

EVERETT, K.D., BUSH, R.M., ANDERSEN, A.A. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, roč. 49, č. 2, s. 415 - 440.

EVERETT, K.D.E., HATCH, T.P. Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC. *Journal of Bacteriology*, 1995, roč. 177, č. 4, s. 877-882.

FAAL, N., BAILEY, R.L., JEFFRIES, D., JOOF, H., SARR, I., LAYE, M., MABEY, D.C.W., HOLLAND, M.J. Conjunctival FOXP3 expression in trachoma: do regulatory T cells have a role in human ocular *Chlamydia trachomatis* infection? *PLoS Medicine*, 2006, roč. 3, č. 8, s. e266.

FICARRA, M., IBANA, J.S.A., PORETTA, C., MA, L., MYERS, L., TAYLOR, S.N., GREENE, S., SMITH, B., HAGENSEE, M., MARTIN, D.H., QUAYLE, A.J. A distinct cellular profile is seen in the human endocervix during *Chlamydia*

*trachomatis* infection. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2008, roč. 60, č. 5, s. 415 - 425.

FINDLAY, H.E., MCCLAFFERTY, H., ASHLEY, R.H. Surface expression, single-channel analysis and membrane topology of recombinant *Chlamydia trachomatis* Major Outer Membrane Protein. *BMC Microbiology*, 2005, roč. 5, č. 5, s. 1-15.

FORSBACH-BIRK, V., SIMNACHER, U., PFREPPER, K.I., SOUTSCHEK, E., KISELEV, O.A., LAMPE, M.F., MEYER, T., STRAUBE, E., ESSIG, A. Identification and evaluation of a combination of chlamydial antigens to support the diagnosis of severe and invasive *Chlamydia trachomatis* infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 2010, roč. 16, č. 8, s. 1237-1244.

GEBRE, T., AYELE, B., ZERIHUN, M., GENET, A., STOLLER, N.E., ZHOU, Z., HOUSE, J., YU, S.N., RAY, K.J., EMERSON, P.M., KEENAN, J.D., PORCO, T.C., LIETMAN, T.M., GAYNOR, B.D. Comparison of annual versus twice-yearly mass azithromycin treatment for hyperendemic trachoma in Ethiopia: a cluster-randomised trial. *Lancet*, 2012, roč. 379, č. 9811, s. 14 – 20.

GERARD, H.C., STANICH, J.A., WHITTUM-HUDSON, J.A., SCHUMACHER, H.R., CARTER, J.D., HUDSON, A.P. Patients with *Chlamydia*-associated arthritis have ocular (trachoma), not genital, serovars of *C. trachomatis* in synovial tissue. *Microbial Pathogenesis*, 2010, roč. 48, č. 2, s. 62-68.

GOMES, J.P., BORREGO, M.J., ATIK, B., SANTO, I., AZEVEDO, J., SÁ, A.B., NOGUEIRA, P., DEAN, D. Correlating *Chlamydia trachomatis* infectious load with urogenital ecological success and disease pathogenesis. *Microbes and Infection*, 2006, roč. 8, č. 1, s. 16 – 26.

GRIESHABER, N.A., SAGER, J.B., DOOLEY, C.A., HAYES, S.F., HACKSTADT, T. Regulation of the *Chlamydia trachomatis* histone H1-like protein Hc2 is IspE dependent and IhtA independent. *Journal of Bacteriology*, 2006, roč. 188, č. 14, s. 5289-5292.

HAHN, B., GIUNTA, Y.P. Images in emergency medicine. *Annals of Emergency Medicine*, 2007, roč. 49, č. 6, s. 823.

HALBERSTAEDTER, L., PROWAZEK, S. Aetiology of trachoma. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1907, roč. 33, s. 1285-1287.

HALBERSTAEDTER, L., PROWAZEK, S. Uber *Chlamydozoen* befunde bei blennorrhoea neonatorum non gonorrhoeica. *Berliner Klinische Wochenschrift*, 1909, roč. 46, s. 1839.

HALSE, T.A., MUSSER, K.A., LIMBERGER, R.J. A multiplexed real-time PCR assay for rapid detection of *Chlamydia trachomatis* and identification of serovar L-2, the major cause of *Lymphogranuloma venereum* in New York. *Molecular and Cellular Probes*, 2006, roč. 20, č. 5, s. 290-297.

HOSSEINZADEH, S., FAZELI, M. Immuno-gold labelling of *Chlamydia trachomatis*' elementary bodies. *International Journal of Fertility and Sterility*, 2009, roč. 3, č. 3, s. 129 – 134.

HOWIE, S.E.M., HORNER, P.J., HORNE, A.W., ENTRICAN, G. Immunity and vaccines against sexually transmitted *Chlamydia trachomatis* infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2011, roč. 24, č. 1, s. 56-61.

HRUBÁ, D., KAŠTÁNKOVÁ, V. Diagnostika, terapie a prevence chlamydiových infekcí. *Zdravotnické noviny*, 1999, č. 49, s. 12.

HSIA, R.; BAVOIL, P.M. Sequence analysis of the omp2 region of *Chlamydia psittaci* strain GPIC: structural and functional implications. *Gene*, 1996, roč. 176, č. 1-2, s. 155-162.

CHOMVARIN, C., CHANTARASUK, Y., THONGKRAJAI, P., YUTANAWIBOONCHAI, W., WAROPASTRAKUL, N. Development of EIA for

detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimens. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 2000, roč. 31, č. 1., s. 96 – 103.

ILIFFE-LEE, E.R., MCCLARTY, G. Glucose metabolism in *Chlamydia trachomatis*: the 'energy parasite' hypothesis revisited. *Molecular Microbiology*, 2003, roč. 33, č. 1, s. 177-187.

JONES, H., RAKE, G., STEARNS, B. Studies on *Lymphogranuloma Venereum*: III. The action of the sulfonamides on the agent of *lymphogranuloma venereum*. *The Journal of Infectious Diseases*, 1945, roč. 76, č. 1, s. 55-69.

JONES, B.R. Genital trachom. *International review of trachoma*, 1964, roč. 41, s. 425-438.

KAKAR, S., BHALLA, P., MARIA, A., RANA, M., CHAWLA, R., MATHUR, N.B. *Chlamydia trachomatis* causing neonatal conjunctivitis in a tertiary care center. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 2010, roč. 28, č. 1, s. 45-47.

KALBINA, I., WALLIN, A., LINDH, I., ENGSTRÖM, P., ANDERSSON, S., STRID, K. A novel chimeric MOMP antigen expressed in *Escherichia coli*, *Arabidopsis thaliana*, and *Daucus carota* as a potential *Chlamydia trachomatis* vaccine candidate. *Protein Expression and Purification*, 2011, roč. 80, č. 2, s. 194-202.

KAŠÁK, V. Diagnostika a léčba komunitní pneumonie v ambulantní praxi. *Interní medicína pro praxi*, 2004, č. 1, s. 31 – 33.

KAŠTÁNKOVÁ, V. Sexuálně přenosné nemoci způsobené *Chlamydia trachomatis*. *Postgraduální medicína*, 2002, č. 2, s. 278.

KISELEV, A.O., STAMM, W.E., YATES, J.R., LAMPE, M.F. Expression, processing, and localization of PmpD of *Chlamydia trachomatis* serovar L2 during the chlamydial developmental cycle. *PLoS ONE*, 2007, roč. 2, č. 6, s. e568.

KLINT, M., THOLLESSON, M., BONGCAM-RUDLOFF, E., BIRKELUND, S., NILSSON, A., HERRMANN, B. Mosaic structure of intragenic repetitive elements in histone H1-like protein Hc2 varies within serovars of *Chlamydia trachomatis*. *BMC Microbiology*, 2010, roč. 10, č. 81, s. 1 – 8.

KOLOMBO, I., PORŠ, J., PORŠOVÁ, M., PONĚŠICKÝ, J., BARTŮNĚK, M. Intracelulární patogeny v urologii. *Urologie pro praxi*, 2007, roč. 8, č. 5, s. 205-210.

LUPI, O., MADKAN, V., TYRING, S.K. Tropical dermatology: Bacterial tropical diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2006, roč. 54, č. 4, s. 559 – 578.

MABEY, D., PEELING, R.W. *Lymphogranuloma venereum*. *Sexually Transmitted Infections*, 2002, roč. 78, č. 2, s. 90-92.

MAŠATA, J., ŘEZÁČOVÁ, J., DRBOHLAV, P. Urogenitální chlamydiové infekce. *Praktická gynekologie*, 2001, č. 3, s. 27 – 31.

MCCOY, A.J., MAURELLI, A.T. Building the invisible wall: updating the chlamydial peptidoglycan anomaly. *TRENDS in Microbiology*, 2006, roč. 14, č. 2, s. 70-77.

MEDKOVÁ, Z. Zkušenosti s přímým průkazem *Chlamydia trachomatis* z urogenitálních výtěrů a z moči metodou PCR. *Urologie pro praxi*, 2002, č. 1, s. 26-29.

MOHAMMEDZADEH, M., AMIRMOZAFARI, N., SHAYANFAR, N., RANJBAR, R., RAHBAR, M. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infections in symptomatic women by polymerase chain reaction (PCR) immunofluorescence and Giemsa stain. *African Journal of Biotechnology*, 2011, roč. 10, č. 34, s. 6601 – 6605.

MÜLLER-LOENNIES, S., GRONOW, S., BRADE, L., MACKENZIE, R., KOSMA, P., BRADE, H. A monoclonal antibody against a carbohydrate epitope in

lipopolysaccharide differentiates *Chlamydophila psittaci* from *Chlamydophila pecorum*, *Chlamydophila pneumoniae*, and *Chlamydia trachomatis*. *Glycobiology*, 2006, roč. 16, č. 3, s. 184-196.

MYLONAS, I. Female genital *Chlamydia trachomatis* infection: where are we heading? *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2012, roč. 285, č. 5, s. 1271 – 1285.

NĚMEC, P. Léto v ordinaci praktického lékaře. *Medicína pro praxi*, 2009, č. 6, s. 69-78.

NGUYEN, B.D., CUNNINGHAM, D., LIANG, X., CHEN, W., TOONE, E.J., RAETZ, C.R.H., ZHOU, P., VALDIVIA, R.H. Lipooligosaccharide is required for the generation of infectious elementary bodies in *Chlamydia trachomatis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2011, roč. 108, č. 25, s. 10284-10289.

O'CONNELL, C.M., ABDELRAHMAN, Y.M., GREEN, E., DARVILLE, H.K., SAIRA, K., SMITH, B., DARVILLE, T., SCURLOCK, A.M., MEYER, C.R., BELLAND, R.J. Toll-Like receptor 2 activation by *Chlamydia trachomatis* is plasmid dependent, and plasmid-responsive chromosomal loci are coordinately regulated in response to glucose limitation by *C. trachomatis* but not by *C. muridarum*. *Infection and Immunity*, 2011, roč. 79, č. 3, s. 1044 – 1056.

PATEL, A.L., CHAUDHRY, U., SACHDEV, D., SACHDEVA, P.N., BALA, M., SALUJA, D. An insight into the drug resistance profile and mechanism of drug resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Indian Journal of Medical Research*, 2011, roč. 134, č. 4, s. 419 – 431.

PERRSON, K. The role of serology, antibiotic susceptibility testing and serovar determination in genital chlamydial infections. *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2002, roč. 16, č. 6, s. 801-814.



PINKAVOVÁ, I., KOLIBA, P. Infekce *Chlamydia trachomatis* u dětí a dospívajících. *Pediatric pro praxi*, 2007, č. 4, s. 185 – 188.

POLÁČKOVÁ, Z. Pohlavní choroby - I.díl. *Dermatologie pro praxi*, 2008, roč. 2, č. 2, s. 74-76.

PORŠOVÁ, M., PORŠ, J., KOLOMBO, I., NESVADBA, M. Urogenitální chlamydiové infekce. *Postgraduální medicína*, 2011, č. 1, s. 77.

QUINT, K.D., BOM, R.J.M., BRUISTEN, S.M., DOORN, L.J., HAJIPOUR, N.N., MELCHERS, W.J.G., VRIES, H.J.C., MORRE, S.A., QUINT, W.G.V. Comparison of three genotyping methods to identify *Chlamydia trachomatis* genotypes in positive men and women. *Molecular and Cellular Probes*, 2010, roč. 24, č. 5, s. 266 – 270.

RAJAK, S.N., COLIN, J.R.O., BURTON, M.J. Trachomatous trichiasis and its management in endemic countries. *Survey of Ophthalmology*, 2012, roč. 57, č. 2, s. 105 – 135.

RICCI, S., CEVENINI, R., COSCO, E., COMANDUCCI, M. RATTI, G., SCARLATO, V. Transcriptional analysis of the *Chlamydia trachomatis* plasmid pCT identifies temporally regulated transcripts, anti-sense RNA and sigma 70-selected promoters. *Molecular and general genetics*, 1993, roč. 237, č. 3, s. 318-326.

ROURS, G.I.J.G., DUIJTS, L., MOLL, H.A., ARENDS, L.R., GROOT, R., JADDOE, V.W., HOFMAN, A., STEEGERS, E.A.P., MACKENBACH, J.P., OTT, A., WILLEMSE, H.F.M., ZWAAN, E.A.E., VERKOOIJEN, R.P., VERBRUGH, H.A. *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy associated with preterm delivery: a population-based prospective cohort study. *European Journal of Epidemiology*, 2011, roč. 26., č. 6, s. 493 – 502.

ROURS, I.G.I.J.G., HAMMERSCHLAG, M.R., OTT, A., FABER, T.J.T.H.N., VERBRUGH, H.A., GROOT, R., VERKOOYEN, R.P. *Chlamydia trachomatis* as a

cause of neonatal conjunctivitis in Dutch infants. *Pediatrics*, 2008, roč. 121, č. 2, s. 321 – 326.

RUPP, J., SOLBACH, W., GIEFFERS, J. Variation in the station frequency determining quinolone resistance in *Chlamydia trachomatis* serovars L2 and D. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, roč. 61, č. 1, s. 91-94.

SAVEL'eva, N.V., ZAGRYADSKAYA, Y.E., KLIMASHEVSKAYA, S.V., PUZYREV, V.F., BURKOV, A.N., OBRYADINA, A.P., ULANOVA, T.I. Scanning diagnostically significant antigenic regions of major *Chlamydia trachomatis* protein MOMP using series of overlapping recombinant proteins. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2008, roč. 24, č. 3, s. 133-137.

SETH-SMITH, H.M.B., HARRIS, S.R., PERSSON, K., MARSH, P., BARRON, A., BIGNELL, A., BJARTLING, C., CLARK, L., CUTCLIFFE, L.T., LAMBDEN, P.R., LENNARD, N., LOCKEY, S.J., QUAIL, M.A., SALIM, O., SKILTON, R.J., WANG, Y., HOLLAND, M.J., PARKHILL, J., THOMSON, N.R., CLARKE, I.N. Co-evolution of genomes and plasmids within *Chlamydia trachomatis* and the emergence in Sweden of a new variant strain. *BMC Genomics*, 2009, roč. 10, č. 239, s. 1-10.

SCHACHTER, J. A *Bedsonia* isolated from a patient with clinical *lymphogranuloma venereum*. *American Journal of Ophthalmology*, 1967, roč. 63, č. 5, s. 1049-1053.

SCHMITZ-ESSER, S., LINKA, N., COLLINGRO, A., BEIER, C.L., NEUHAUS, H.E., WAGNER, M., HORN, M. ATP/ADP translocases: a common feature of obligate intracellular amoebal symbionts related to *Chlamydiae* and *Rickettsiae*. *Journal of Bacteriology*, 2004, roč. 186, č. 3, s. 683-691.

STEPHENS, R.S., KALMAN, S., LAMMEL, C., FAN, J., MARATHE, R., ARAVIND, L. MITCHELL, W., OLINGER, L., TATUSOV, R.L., ZHAO, Q., KOONIN, E.V., DAVIS, R.W. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. *Science*, 1998, roč. 282, č. 5389, s. 754-759.

STOLLER, N.E., GEBRE, T., AYELE, B., ZERIHUN, M., ASSEFA, Y., HABTE, D., ZHOU, Z., PORCO, T.C., KEENAN, J.D., HOUSE, J.I., GAYNOR, B.D., LIETMAN, T.M., EMERSON, P.M. Efficacy of latrine promotion on emergence of infection with ocular *Chlamydia trachomatis* after mass antibiotic treatment: a cluster-randomized trial. *International Health*, 2011, roč. 3, č. 2, s. 75 – 84.

STORM, M., GUSTAFFSON, I., HERRMANN, B., ENGSTRAND, L. Real-time PCR for pharmacodynamic studies of *Chlamydia trachomatis*. *Journal of Microbiological Methods*, 2005, roč. 61, č. 3, s. 361 – 367.

SUHLAND, R.J., GEISLER, W.M., STAMM, W.E. Methodologies and cell lines used for antimicrobial susceptibility testing of *Chlamydia spp.* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, roč. 47, č. 2, s. 636 – 642.

TANG, F.F., CHANG, H.L., HUANG, Y.T., WANG, K.C. Studies on the aetiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo. *Chinese Medical Journal*, 1957, roč. 75, č. 6, s. 429-447.

TABATABAEI, S.R., AFJEIEE, S.A., FALLAH, F., ZANJANI, N.T., SHIVA, F., FARD, A.T., SHAMSHIRI, A.R., KARIMI, A. The use of polymerase chain reaction assay versus cell culture in detecting neonatal chlamydial conjunctivitis. *Archives of Iranian Medicine*, 2012, roč. 15, č. 3, s. 171 – 175.

TORŠOVÁ, V. Urogenitální chlamydiové infekce: stále aktuální problém. *Praktická gynekologie*, 2004, č. 4, s. 53-57.

UJEVIĆ, B., HABEK, J.C., HABEK, D. Prevalence of infection with *Neisseria gonorrhoeae* or *Chlamydia trachomatis* in acute mucopurulent cervicitis. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 2009, roč. 60, č. 2, s. 197 – 203.

VANOUSOVA, D., ZAKOUCKA, H., JILICH, D., ROZSYPAL, H., STANKOVA, M., ZUFANOVA, S., VOJACKOVA, N., HERCOGOVA, J., MARVAN, J., MACHALA, L. First detection of *Chlamydia trachomatis* LGV biovar in the Czech Republic, 2010-2011. *Euro surveillance*, 2012, roč. 17, č. 2, s. 1-3.

VERGARA, M.R.C., MARÍN, A.J.B., ALONSO, L.R., GIJÓN, F.C., HERNANDÉZ, N.O., RUIZ, M.C.G., LORENTE, J.S. *Chlamydia trachomatis* genital infection: Immunity and prospects for vaccine development. *Inmunología*, 2005, roč. 24, č. 3, s. 298 – 312.

WALLACE, W. *A treatise on the venereal disease and its varieties*. London, 1833.

WANG, X., QUINN, P.J. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Progress in Lipid Research*, 2010, roč. 49, č. 2, s. 97-107.

WANG, Y., BERG, E., FENG, X., SHEN, L., SMITH, T., COSTELLO, C.E., ZHANG, Y. Identification of surface-exposed components of MOMP of *Chlamydia trachomatis* serovar F. *Protein Science*, 2006, roč. 15, č. 1, s. 122–134.

WHITTINGTON, M.J. 1962. Possible virus urethritis of non-specific urethritis. *The British Journal of Venereal Diseases*. 1962, vol. 38, s. 200-208.

WITKIN, S.S., ASKIENAZY-ELBHAR, M., HENRY-SUCHET, J., BELAISCH-ALLART, J., TORT-GRUMBACH, J., SARJDINE, K. Circulating antibodies to a conserved epitope of the *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein (hsp60) in infertile couples and its relationship to antibodies to *C. trachomatis* surface antigens and the *Escherichia coli* and human HSP60. *Human Reproduction*, 1998, roč. 13, č. 5, s. 1175-1179.

XIONG, L., KONG, F., ZHOU, H., GILBERT, G.L. Use of PCR and reverse line blot hybridization assay for rapid simultaneous detection and serovar identification of

*Chlamydia trachomatis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, roč. 44, č. 4, s. 1413-1418.

ZHU, H., WANG, H.P., JIANG, Y., HOU, S.P., LIU, Y.J., LIU, Q.Z. Mutations in 23S rRNA and ribosomal protein L4 account for resistance in *Chlamydia trachomatis* strains selected *in vitro* by macrolide passage. *Andrologia*, 2010, roč. 42, č. 4, s. 274-280.