

Edyta Podsiadły, Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

CHLAMYDIA PNEUMONIAE
– CZYNNIK ETIOLOGICZNY CHOROBY WIEŃCOWEJ?

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: Prof. dr hab. med. *Stanisław Kalużewski*

Obserwowane w ostatnich latach szerokie zainteresowanie Chlamydia pneumoniae wiąże się z wysuniętą w 1988 roku hipotezą mówiąca, że bakterie te są czynnikiem etiologicznym choroby wieńcowej i przyczyną zawałów. Przedstawiono dane na temat epidemiologii zakażeń wywoływanych przez C. pneumoniae oraz prowadzone w wielu krajach badania wskazujące na udział tych bakterii w rozwoju miażdżycy. Opisano modele zwierzące zakażeń C. pneumoniae, dostarczające dodatkowych danych na temat ich roli w tym schorzeniu.

CHARAKTERYSTYKA GATUNKU CHLAMYDIA PNEUMONIAE

Chlamydia są to Gram-ujemne bakterie, dla których charakterystyczny jest unikalny dwuetapowy cykl rozwojowy i brak zdolności syntezy ATP, a w konsekwencji możliwość rozwoju tylko wewnątrz komórki gospodarza (3). Drobnoustroje te są bezwzględnie pasożytami wewnątrzkomórkowymi. Rodzaj *Chlamydia* jest jednym z dwóch rodzajów rzędu *Chlamydiales*. W jego skład wchodzi cztery gatunki *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* i *Chlamydia pecorum*.

C. pecorum jest nowoopisanym gatunkiem wyizolowanym od przeżuwaczy.

C. psittaci wywołuje u ludzi atypowe zapalenie płuc, do zakażenia dochodzi w wyniku kontaktu z zakażonymi ptakami (46).

C. trachomatis jest czynnikiem etiologicznym jaglicy (trachoma), zakażenia dróg płciowych u dorosłych, wtętego zapalenia spojówek u noworodków, zakażeń okołoporodowych noworodków, najczęściej prowadzących do zapalenia płuc (46).

C. pneumoniae jest stosunkowo niedawno opisanym gatunkiem. W 1965 roku z oka dziecka chorego na jaglicę wyizolowano szczep chlamydii, który oznaczono symbolem TW-183. Okazało się, że szczep TW-183 nie odpowiada charakterystyce szczepów z gatunku *C. trachomatis*. W 1971 roku, po opracowaniu metody hodowli chlamydii w liniach komórkowych, stwierdzono, że inkluzje szczepu TW-183 są morfologicznie zbliżone do wtętów komórkowych tworzonych przez *C. psittaci* – m.in. nie posiadają glikogenu (39). Wkrótce, w USA, z gardła młodego mężczyzny – studenta, wyizolowano szczep o podobnych do szczepu TW-183 cechach i oznaczono go symbolem AR-39 (18). Były to dwa pierwsze izolaty, które zaczęto określać wspólną nazwą *Chlamydia* sp. szczepu TWAR (21).

Początkowo szczepy te były zaliczane do gatunku *C. psittaci*. Intensywne badania doprowadziły do kolejnych wyhodowań szczepów TWAR. Rola ich jako czynnika wywołującego choroby układu oddechowego została ostatecznie uznana po wyizolowaniu 12 takich szczepów z gardła chorych z ostrym zakażeniem dróg oddechowych, podczas epidemii w Waszyngtonie w latach 1983-1986 (18, 21). Ponieważ zapalenie płuc i zapalenie oskrzeli były jedynymi objawami klinicznymi towarzyszącymi zakażeniom wywołanym przez ten drobnoustroj, szczepy grupy TWAR zostały nazwane w 1986 roku - *Chlamydia pneumoniae*. Ostatecznie, w 1989 roku szczepy *C. pneumoniae* dotychczas określane jako podgatunek *C. psittaci* zaklasyfikowano jako nowy, odrębny gatunek rodzaju *Chlamydia*.

C. pneumoniae jest czynnikiem etiologicznym zapalenia płuc, zapalenia oskrzeli, zapalenia gardła i zapalenia zatok (21). Zakażenie przenoszone jest drogą kropelkową z człowieka na człowieka. Nie wykryto zwierzęcego rezerwuaru tego drobnoustroju. Większość chorób układu oddechowego wywołanych przez ten drobnoustroj ma łagodny przebieg, z charakterystycznym podoстрыm początkiem choroby, trudnym często do rozpoznania w pierwszej fazie. Pierwszymi objawami są ból gardła i chrypka. Kaszel zaczyna się z pewnym opóźnieniem w stosunku do objawów pierwotnych i utrzymuje się przez kilka tygodni. W początkowym etapie choroby temperatura jest lekko podwyższona, w później wraca do normy. Objawem tych zakażeń jest przyspieszona sedimentacja czerwonych krwinek. Na zdjęciu rentgenowskim płuc stwierdza się pojedynczą śródmiąższową zmianę, odpowiadającą obrazowi atypowego zapalenia płuc. W bardziej zaawansowanych przypadkach może być widocznych więcej zmian w obrębie jednego płata płuca (17). Ostry przebieg zakażenia i związana z nim konieczność hospitalizacji zdarzają się bardzo rzadko, najczęściej dotyczą osób starszych lub przypadków z obecnością współistniejącego zakażenia (głównie *Streptococcus pneumoniae*). Wrotami zakażenia są drogi oddechowe. Okres wydalania bakterii przez chorego człowieka i okres zakaźności nieokreślony. Wrażliwość populacji jest powszechna. Nie nabywa się stałej odporności po przejściu zakażenia (17, 33).

Zakażenia *Mycoplasma pneumoniae* i *Chlamydia pneumoniae* są przyczyną 15-40% ostrych zapaleń płuc stwierdzonych przez lekarzy pierwszego kontaktu. Liczba zapaleń płuc o tej etiologii w lecznictwie zamkniętym jest dużo mniejsza i na oddziałach intensywnej opieki wynosi mniej niż 3%. Drobnoustroje te powodują 6-8% wszystkich przypadków ostrego zapalenia oskrzeli oraz są przypadkowym czynnikiem około 5% ostrych epizodów u chorych z przewlekłym zapaleniem oskrzeli (26).

C. pneumoniae wyhodowano również z płynu ucha środkowego dzieci z ostrym zapaleniem ucha środkowego (4).

Oprócz udowodnionej już roli *C. pneumoniae* w wywoływaniu zakażeń układu oddechowego, coraz częściej mówi się o tym gatunku jako o hipotetycznym czynniku etiologicznym miażdżycy.

EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ

Związek między *C. pneumoniae* a zakażeniem dróg oddechowych stwierdzono po raz pierwszy w Finlandii. Podczas przeprowadzonych w 1978 roku w północnej Finlandii badań radiologicznych, w dwóch miastach Kajaani i Suomussalmi stwier-

dzono epidemie łagodnego zapalenia płuc. Badania serologiczne wykazały, że te łagodne zakażenia były spowodowane przez nietypowy szczep *C. psittaci*. Nie znaleziono jednak dowodów na przenoszenie zakażenia przez ptaki (39). Kolejne epidemie zapalenia płuc wywołane zakażeniem szczepem TW-183 opisano u poborowych w garnizonach na północy Finlandii w Oulu i Kajaani. Wszystkie opisane przypadki wykryto na podstawie badań serologicznych takich jak odczyn wiązania dopełniacza i test mikroimmunofluorescencji (MIF) (39). Prowadzone przez wiele lat (1981–1984) w Nowej Szkocji badania nad występowaniem zapalenia płuc w skupiskach ludzkich również wykazały znaczący udział *C. pneumoniae* w tych zakażeniach (39). W latach 1984–1986 J.T. Grayston i wsp. badali udział *C. pneumoniae* w okresowych epidemiach zakażeń dróg oddechowych u studentów z Uniwersytetu w Waszyngtonie. Badania te objęły grupę 389 chorych. U 13 pacjentów stwierdzono zakażenie szczepami TWAR metodami serologicznymi, a od 8 osób wyhodowano chlamydie. Zakażenia szczepami TWAR wystąpiły u 12% chorych z zapaleniem płuc (9/76), u 5% chorych z zapaleniem oskrzeli (3/63) i 1% z zapaleniem gardła – (1/150) (19).

W latach 1979–1992 wśród młodych biegaczy szwedzkich wystąpiły liczne nagłe zgony z powodu chorób układu krążenia. W większości przypadków było to zapalenie mięśnia sercowego. W surowicy krwi zmarłych stwierdzono obecność przeciwciał dla *C. pneumoniae*. Na związek pomiędzy zakażeniem tym drobnoustrojem a opisywanymi zgonami wskazywały wyniki badań serologicznych 5 biegaczy w porównaniu z grupą 254 krwiodawców. U 80% (4/5) zawodników wykryto przeciwciała dla *C. pneumoniae* w mianie 1 : 512 i większym, natomiast w grupie krwiodawców tylko u 7%. Poziom przeciwciał w surowicach zmarłych biegaczy dla innych drobnoustrojów takich jak: *Mycoplasma pneumoniae*, wirus parainfluenzy 1, 2, 3; herpes simplex, wirus cytomegalii, wirus Epsteina-Barr, *Francisella tularensis*, *Borrelia burgdorferi*, *Coxiella burnetii*, *Brucella abortus* nie był podwyższony. Wyników badań serologicznych, wskazujących, że przyczyną zgonów było zakażenie *C. pneumoniae* nie potwierdzono hodowlą. Wyniki testu PCR wykonanego z materiału pobranego z tkanki sercowej i płucnej również nie potwierdziły jednoznacznie tej hipotezy. Tylko w przypadku jednego z badanych uzyskano wynik dodatni z próbką z tkanki płucnej i sercowej (44).

Przeprowadzono liczne badania dotyczące częstości występowania zakażeń *C. pneumoniae* w różnych populacjach. U 91 mieszkańców Brooklinu z objawami zakażenia układu oddechowego, u 18,7% (17 osób) serologicznie stwierdzono zakażenie *C. pneumoniae*. Wszystkie odnotowane przypadki zakażeń dotyczyły osób dorosłych w różnym wieku. Podobne badania przeprowadzono w Seattle w latach 1966–1979, gdzie odnotowano wystąpienie zakażenia *C. pneumoniae* u 64 z 343 badanych osób. Poza tym wykazano, że ostre zakażenia częściej dotyczą pojedynczych osób, a nie całych rodzin. W kilku przypadkach, w ciągu 5 lat obserwacji, u pojedynczych osób odnotowano 12 nawrotów zakażenia (8).

Przeprowadzone w wielu krajach świata badania serologiczne pokazały, że przeciwciała dla *C. pneumoniae* występują u zdrowych ludzi. Badania serologiczne osób dorosłych w 10 różnych regionach geograficznych wskazują na większą częstość występowania przeciwciał dla *C. pneumoniae* w krajach słabiej rozwiniętych o cieplejszym klimacie i niż w północnych krajach rozwiniętych (tabela I).

Występowanie przeciwciał dla *C. pneumoniae* jest zależne od wieku. Wśród dzieci poniżej 5 roku życia są one rzadko wykrywane. Natomiast u dzieci w wieku szkolnym

Tabela I. Występowanie przeciwciał dla *C. pneumoniae* u zdrowych ludzi dorosłych

Kraj	Odsetek osób z przeciwciałami dla <i>C. pneumoniae</i> (%)
Finlandia	44
Niemcy	45
Polska	28
Węgry	70
Hiszpania	63
Nowa Szkocja - Kanada	41
USA: Seattle	
Pittsburgh	54
	59
Panama	62
Japonia	48
Tajwan	75
Korea Południowa	50
Wyspy Salomona	15
Afryka Południowa	87

(5-14 lat) obecne są już u około 40% badanych, u osób dorosłych u około 50% i u ludzi w podeszłym wieku aż u 75%. Częściej obserwuje się występowanie przeciwciał dla *C. pneumoniae* u mężczyzn niż u tych samych grup wiekowych kobiet (różnica 25%) (19, 21).

Przeprowadzone badania wskazują, że do zakażenia tym drobnoustrojem dochodzi częściej u osób w średnim wieku i ludzi starszych. U osób dorosłych, stanowią one 10% wszystkich przypadków zapaleń płuc i 5% zapalenia oskrzeli. Rzadziej występują u osób poniżej 20-ego roku życia (17).

W przeprowadzonych badaniach, które objęły grupę 367 dzieci, poszukiwano w surowicy krwi swoistych przeciwciał w kierunku *C. pneumoniae* i w wymazach z gardła jego DNA. Mimo, że swoiste przeciwciała wykrywano dopiero u dzieci powyżej 5 roku życia, DNA tych bakterii obecne było u około 10% dzieci poniżej 2 roku życia (30).

W badaniach 200 dorosłych osób z objawami łagodnego przeziębienia u 69% chorych stwierdzono wirusową etiologię choroby. W pozostałej grupie, u 7 chorych wykryto zakażenie bakteryjne, w tym u 4 z nich wywołane przez *C. pneumoniae*. Wyniki wskazują, że zakażenia bakteryjne są rzadką przyczyną przeziębień, które wydają się być wywoływane wyłącznie przez wirusy (24).

Wiele z dotychczas przeprowadzonych badań wyraźnie wskazują na związek między zakażeniami *C. pneumoniae* a miażdżycą. Ostatnio również zwraca się uwagę na możliwy udział tych bakterii w porażeniach mózgowych, krótkotrwałym niedokrwieniu mózgu oraz chorobie Alzheimera (2, 11).

C. pneumoniae może stanowić również przyczynę ostrego zapalenia płuc u osób zakażonych wirusem HIV z obniżoną odpornością. Z tego powodu lekowrażliwość tej bakterii powinna być uwzględniana przy zmianach leczenia, w przypadkach kiedy chory nie wykazuje poprawy po leczeniu antybiotykami β -laktamowymi lub leczeniu w kierunku *Pneumocystis carinii* (9).

Zakażenia *C. pneumoniae* stwierdzono jako częstą przyczynę w przypadkach zapalenia oskrzeli z rozedmą (42).

Badania przeprowadzone na zwąpniałych zastawkach serca, pobranych od chorych poddanych wymianie zastawki aorty i na zastawkach aorty pobranych od osób zmarłych z przyczyn innych niż choroba układu krążenia, wykazały obecność drobnoustroju w zmienionych zastawkach. Technika PCR stwierdzono u 19 na 39 (49%) chorych i u 1 na 11 (9%) z materiału sekcyjnego, stanowiącego w badaniu tym kontrolę ujemną. Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomach przeciwciał klasy IgG i IgA w surowicach pobranych od osób, u których reakcja PCR była dodatnia lub ujemna. Wyniki te rozszerzają chorobotwórcze właściwości *C. pneumoniae*, która prawdopodobnie odpowiedzialna jest nie tylko za rozwój miażdżycy naczyń, ale także może powodować zwąpnienie zastawki tętniczej (32).

ZAKAŻENIA CHLAMYDIA PNEUMONIAE A MIAŻDŻYCA

Po raz pierwszy zakażenie jako przyczyna rozwoju zmian miażdżycowych zostało zaproponowane przez Wiliama Oslera i współpracowników na początku XX wieku. Współczesna hipoteza zakłada, że zakażenie bakteryjne może mieć współdziałanie w formowaniu miażdżycy przez niszczenie śródbłonna naczyń (41).

Ostatnio Bachmaier i wsp. stwierdzili, że łańcuch ciężki α -miozyny z mięśnia sercowego myszy, indukując autoimmunologiczne zapalenie mięśnia sercowego tych zwierząt (1). Peptyd ten posiada dużą sekwencję homologiczną do bogatego w cysteinę białka zewnątrzblonowego chlamydii. Podanie białka chlamydii myszom powodowało okołonaczyniowe zapalenie, zwłóknienia, zamknięcie naczyń wieńcowych oraz aktywację limfocytów T i B oraz wytwarzanie autoprzeciwciał dla endogennego białka mięśnia sercowego. W procesie tym adiuwantem jest DNA chlamydii. Zmiany chorobowe w obrębie serca wywołane przez chlamydię mają związek z antygenową mimikrą białka zewnątrzblonowego bakterii do peptydu mięśnia sercowego i prowadzą do wytworzenia autoprzeciwciał swoistych dla epitopów mięśnia sercowego (1).

Za udziałem zakażenia *C. pneumoniae* w chorobach układu sercowo-naczyniowego przemawiają wyniki badań serologicznych oraz stwierdzenie obecności drobnoustroju w zmianach miażdżycowych (16, 21, 34, 36, 37, 38, 41, 43). Jedno z pierwszych badań na temat roli *C. pneumoniae* w przebiegu choroby wieńcowej (CHD-coronary heart disease) zostało przeprowadzone w 1988 roku przez Saikku (38). Za tą hipotezą przemawia obecność wysokiego poziomu przeciwciał dla *C. pneumoniae* u osób z chorobą niedokrwinną serca i zmianami miażdżycowymi tętnic (36, 41).

Na udział *C. pneumoniae* w powstawaniu zmian miażdżycowych wskazują także przeprowadzone w Afryce Południowej badania naczyń wieńcowych pobranych z materiału sekcyjnego. Stwierdzono w nich różny stopień zaawansowania zmian miażdżycowych. W 15 z 36 badanych blaszek wykazano obecność *C. pneumoniae* (22). Bakterie tę wykryto również w blaszkach pobranych od chorych z klinicznie aktywną postacią choroby (7).

Na obecnym etapie wiedzy na temat *C. pneumoniae* trudno jest jednoznacznie powiedzieć czy drobnoustrój ten jest bezpośrednią przyczyną tworzenia się zmiany miażdżycowej, czy też przez pojawienie się w niej przyspiesza jej rozwój i zaostża proces

zapalny, czy też jest obojętny dla rozwoju procesu miażdżycowego. Pewnych danych na temat roli *C. pneumoniae* w powstawaniu i rozwoju zmiany miażdżycowej dostarczają ostatnie badania prowadzone przez Taylor-Robinson i wsp. W dwóch niezależnie przeprowadzonych badaniach w Wielkiej Brytanii i Stanach Zjednoczonych, wśród 5 piętnastoletnich dawców organów u 4 wykryto DNA *C. pneumoniae* w takich tkankach jak: aorta, tętnica płucna, tkanka pobierana z przedsiönka. U jednej z 3 osób z dodatnim wynikiem badania materiału z aorty, w naczyniu tym stwierdzono lipidowe złogi. Z powyższych danych wynika, że najpierw pojawiają się w naczyniach chlamydie, a następnie dochodzi do powstawania zmiany miażdżycowej (40).

Futterman i Lemberg stwierdzili, że u 50% chorych z objawami choroby wieńcowej nie występują klasyczne czynniki ryzyka. Nowopoznane czynniki ryzyka podejrzewane o udział w chorobie wieńcowej to: homocysteina, surowiczy fibrynogen, estrogen – brak lipoproteiny (a), białko ostrej fazy (CRP), zakażenie *C. pneumoniae*, czynnik VII, endogenny tkankowy plazminogen oraz endogenny aktywator/inhibitor plazminogenu typu I (14).

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ *C. PNEUMONIAE*

C. pneumoniae jako bezwzględny pasożyt wewnątrzkomórkowy ma bardzo duże wymagania odżywcze i w związku z tym jest drobnoustrojem trudno rosnącym w warunkach *in vitro*. W laboratorium hoduje się go w liniach komórkowych i zarodkach kurzych. Doświadczalnie ustalono, że najwrażliwsi na zakażenie *C. pneumoniae* są linie komórkowe HL i HEp-2 (15, 21, 38). Hodowla trwa kilka tygodni. Tworzone w hodowli inkluzje *C. pneumoniae* wykrywa i identyfikuje się metodą immunofluorescencji pośredniej lub bezpośredniej z zastosowaniem swoistych gatunkowo i rodzajowo przeciwciał monoklonalnych (21).

Kolejną metodą rozpoznania zakażenia jest wykrycie antygenu *C. pneumoniae*. Dzięki zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych technika ta ma wysoką swoistość ale dość niską czułość (21). W związku z tym jest wykorzystywana głównie do stwierdzenia obecności *C. pneumoniae* w hodowli tkankowej (15, 21).

W porównaniu z metodą wykrywania antygenu, test PCR jest znacznie czulszy. Kilka obszarów genomowego DNA *C. pneumoniae* zostało uznanych jako swoiste do różnicującej i identyfikującej amplifikacji (6, 21).

Odmianą techniki PCR, szeroko stosowaną do badania obecności DNA *C. pneumoniae* w wymazach z gardła i popłuczynach z oskrzeli jest PCR – test immunoenzymatyczny (PCR-EIA). Pozwala na wykrycie drobnoustroju ze stosunkowo wysoką czułością i swoistością. Technika polega na amplifikacji materiału pobranego od chorego. Obecność produktu jest oznaczana przez reakcję hybrydyzacji z biotynylowaną sondą RNA, komplementarną do sekwencji znajdujących się w obrębie amplifikatu (15).

Powyższe techniki były dotychczas stosowane z powodzeniem do wykrywania DNA *C. pneumoniae* w materiale pobranym z gardła, nosa, pęcherzyków płucnych i płwociny (15, 21). PCR jest wykorzystywany również do poszukiwania DNA *C. pneumoniae* w ludzkich i zwierzęcych tkankach, a ostatnio do wykazywania obecności tego drobnoustroju w blaszkach miażdżycowych i zmienionych naczyniach wieńcowych. PCR stosuje się najczęściej i z największym powodzeniem do wykrywania DNA *C. pneumoniae* w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej. W związku z tym, że *C. pneumoniae*

przeżywa w ludzkich monocytach, wykrywając obecność tego drobnoustroju w tych komórkach, można identyfikować osoby będące nosicielami tej bakterii. Metoda ta znajduje szczególne zastosowanie w zakażeniach przewlekłych, gdzie wyniki badań serologicznych są mniej użyteczne (5).

Wykrycie swoistych gatunkowo przeciwciał w surowicy krwi jest jednak podstawowym badaniem w kierunku zakażeń *C. pneumoniae*. Metodą referencyjną jest test mikroimmunofluorescencji (MIF) (21), w którym wykorzystuje się jako antygen diagnostyczny formalizowane ciała elementarne szczepów TW-183 lub AR-39. Formy te zostały pozbawione lipopolisacharydu (LPS), antygenu swoistego dla całego rodzaju. Posiadają jedynie gatunkowo swoiste epitopy, tj. białka błony zewnętrznej (10). Do badań serologicznych w kierunku chlamydii wykorzystywany jest również odczyn wiązania dopełniacza (OWD) (39). Mimo szerokiej dostępności, w związku małą czułością i swoistością, ma niewielką wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu zakażeń *C. pneumoniae* (10, 19).

W przypadku ostrego zakażenia *C. pneumoniae*, związanego z pierwszym kontaktem z drobnoustrojem, po około trzech tygodniach od momentu zakażenia, pojawiają się przeciwciała klasy IgM, wykrywane testem MIF. Przeciwciała klasy IgG mogą pojawiać się nie wcześniej niż po około 6–8 tygodniach. W przypadku kolejnego zakażenia przeciwciała klasy IgM nie występują lub pojawiają się w niskich mianach. Natomiast poziom przeciwciał klasy IgG rośnie bardzo szybko, często w ciągu 1–2 tygodni zakażenia i może osiągać miana powyżej 1 : 512 (21).

Podwyższony poziom przeciwciał klasy IgA w mianach 1 : 32–1 : 64 oraz wyższych, charakterystyczny jest dla zakażeń przewlekłych (21, 37).

Tak jak we wszystkich badaniach serologicznych, zalecane jest badanie co najmniej dwóch próbek surowicy pobranych w odstępie 3–4 tygodni i dodatkowo po upływie 2 miesięcy. Oznaczenie dynamiki przeciwciał pozwala na odróżnienie wysokiego miana przeciwciał, związanego z wcześniejszymi zakażeniami, od ostrego zakażenia wyrażającego się czterokrotnym wzrostem miana przeciwciał obu klas (21).

Coraz częściej wykorzystywaną metodą wykrywania przeciwciał dla *C. pneumoniae* jest test ELISA. Jako antygen diagnostyczny wykorzystuje się najczęściej białka zewnątrzblonowe, wyekstrahowane z ciałek elementarnych lub rekombinowane fragmenty LPS. Jednak metodą referencyjną jest nadal MIF (10, 21).

Mimo łatwości wykonania oraz łatwości uzyskania materiału do badań nie zaleca się badań serologicznych jako jedynej metody diagnostycznej. Wyniki badań serologicznych są bowiem niejednoznaczne (5). Zdarzają się przypadki gdy nie stwierdza się u chorych wysokiego poziomu swoistych dla *C. pneumoniae* przeciwciał, mimo dodatniego wyniku hodowli (13). Serologia może być podstawą jedynie w rozpoznawaniu zakażeń u dzieci poniżej 5 roku życia, chociaż również u dzieci poniżej trzeciego roku życia, wykrywano *C. pneumoniae*, a nie stwierdzano przeciwciał. Świadczy to o możliwości występowania zakażeń bezobjawowych, które mogą być łatwo przenoszone (30, 31).

MODELE ZWIERZĘCE ZAKAŻEŃ *C. PNEUMONIAE*

Wyniki badań prowadzonych różnymi metodami i w różnych laboratoriach wskazują na udział *C. pneumoniae* w etiopatogenezie chorób układu oddechowego i miażdżycy. Jednak możliwy przyczynowy związek między przewlekłym zakażeniem tym

drobnoustrojem a rozwojem miażdżycy oraz rola *C. pneumoniae* w powstawaniu tych zmian nie jest udowodniona. Odpowiedź na pytania: (1) czy drobnoustój ten stanowi jedynie balast w zmianie miażdżycowej, (2) czy jego pojawienie się sprzyja lub aktywuje powstanie i rozwój zmiany, (3) czy ulokowanie się bakterii w już istniejące zmiany doprowadza do zaostrzenia i przyspieszenia zachodzących w jej obrębie procesów, jest możliwy tylko na podstawie badań na odpowiednim modelu zwierzęcym. Dotychczas opracowanych zostało kilka takich modeli. Najbardziej wrażliwe na zakażenie *C. pneumoniae* są myszy (21). Opracowano model zakażenia płuc wywołanego przez *C. pneumoniae* u myszy szczepu Swiss Webster. Po donosowym podaniu różnych dawek bakterii, *C. pneumoniae* izolowano z płuc zakażonych myszy przez 42 dni. Oznaki reakcji zapalnej w płucach trwały do 60-ego dnia. U zakażonych zwierząt wystąpiła również odpowiedź humoralna przeciw *C. pneumoniae*. W 11 dniu zakażenia, miano przeciwciał klasy IgG wynosiło 1:28 i po 28 dniach wzrosło do 1:147. U zwierząt kontrolnych nie stwierdzono przeciwciał. W badaniach histologicznych płuc zaobserwowano obecność płynu wysiękowego z przewagą komórek wielojądrowych we wstępnej fazie zakażenia i komórek jednojądrowych w późniejszej fazie (21, 45). Ponadto stwierdzono obecność inkluzji *C. pneumoniae* w urzęsionych komórkach nabłonka pęcherzyków płuc i pęcherzykowych makrofagach (21). Wydłużony czas zakażenia jest jedną z cech wskazujących na podobieństwo jego przebiegu do schorzenia wywoływanego u ludzi (45).

Często wykorzystywanym modelem zwierzęcym do badań miażdżycy tętnic są króliki szczepu New Zealand White żywione dietą bogatą w cholesterol, kazeinową lub normalną (35).

W oparciu o ten model próbowano ustalić patogenezę chorób płuc wywołanych przez *C. pneumoniae*, i ocenić rolę tego drobnoustroju w powstawaniu miażdżycy (12). Fong i wsp. podawali królikom szczepu New Zealand White różne dawki bakterii i stwierdzili w badaniu histopatologicznym, podobne do występujących u myszy, zmiany zapalne płuc i oskrzeli. Zanikały one jednak znacznie szybciej, bo już po 21 dniach w porównaniu z 60-cioma dniami u myszy. Barwieniem immunocytochemicznym stwierdzono obecność *C. pneumoniae* w tkance płucnej wszystkich zwierząt oraz w aorcie i płycie miażdżycowej jednego z badanych królików. Wychodowano również szczepy *C. pneumoniae* z płuc, wątroby i śledziony 2 królików oraz od jednego z aorty. Królik, od którego wychodowano *C. pneumoniae* z aorty już po 14 dniach od zakażenia wykształcił III stopień zmian miażdżycowych. Hodowlę *C. pneumoniae* prowadzano w linii McCoy, która jak później wykazano nie zapewnia optymalnych warunków wzrostu dla tych bakterii, co mogło być powodem niewielkiej liczby izolacji. Wystąpienie zmian miażdżycowych i izolacja z jednej z nich *C. pneumoniae* wskazuje, że króliki mogą być modelem do badania miażdżycy naczyń (12).

Laitinen i wsp. wykazali, że u tych królików żywionych normalną dietą *C. pneumoniae* zdolna jest do zakażenia ścian naczyń i wywoływania zmian zapalnych, przypominających zmiany miażdżycowe. U kilkakrotnie zakażonych zwierząt zaobserwowano po kilku tygodniach, zmiany zapalne wyrażające się zgrubieniem błony zewnętrznej naczynia lub powstawaniem włóknistych płytek przypominających miażdżycowe. Zarówno zmiany w płucach jak i tętnicach miały ostrzejszy przebieg (w niektórych przypadkach śmiertelny) u zwierząt zakażonych dwa i więcej razy (23).

W obu opisanych powyżej badaniach na królikach szczepu New Zeland White żywionych normalną dietą, po zakażeniu *C. pneumoniae* wystąpiły zmiany miażdżycowe. Wyniki obu grup badaczy różnią się jednak od siebie. Laitinen i wsp. 2 tygodnie po pierwszym i drugim zakażeniu nie stwierdzili obecności złogów lipidowych i piankowatych makrofagów w tętnicach zwierząt doświadczalnych, podczas gdy Fong i wsp. obserwowali gromadzenie się w łuku aorty piankowatych makrofagów już tydzień po zakażeniu. Poza tym w doświadczeniu Laitinen i wsp., u królików zakażonych jednokrotnie, zmiany miażdżycowe nie wystąpiły w ogóle. Również obserwowana reakcja zapalna w płucach była łagodniejsza niż opisywana przez Fong i wsp. (12, 23).

Innym modelem do badania zależności pomiędzy zakażeniem *C. pneumoniae* a chorobą niedokrwinną serca są myszy z hipercholesterolemią (28). W badaniach tych wykorzystano dwa szczepy myszy. Transgeniczny szczep myszy z deficytem apo-E, charakteryzuje się spontanicznym powstawaniem zmian miażdżycowych. Model ten wykorzystano do badania wpływu zakażenia *C. pneumoniae* na przebieg tych zmian. Drugi szczep C57BL/6J cechuje rozwój zmian miażdżycowych tylko po podaniu odpowiedniej diety. Został on wykorzystany do badania wpływu zakażenia *C. pneumoniae* na indukowanie i przyspieszanie miażdżycy. Podanie badanym myszom drobnoustroju, a zwłaszcza kilkukrotne powtórzenie zakażenia wywołało u wszystkich zwierząt objawy zakażenia układu oddechowego. Po jednokrotnym zakażeniu objawy były łagodne natomiast po trzykrotnym podaniu dawki zakażającej, obserwowano pojawianie się ostrych, rozsianych ognisk zapalnych, z nagromadzeniem leukocytów (28). Od zwierząt tych wyizolowano żywe bakterie z płuc, śledziony, aorty. Ponadto w preparatach barwionych metodą immunochemiczną oraz techniką PCR wykryto obecność antygenów i DNA chlamydii w tkance płuc i tętnicznych blaszkach miażdżycowych. Zakażenie *C. pneumoniae* u myszy z deficytem apo-E powoduje wystąpienie zmian w obrębie układu oddechowego, które następnie rozprzestrzeniają się na inne tkanki i układy. Zauważono przy tym szczególne powinowactwo *C. pneumoniae* do tętnic, a zwłaszcza do istniejących i rozwijających się blaszek miażdżycowych. Spostrzeżenie to potwierdza większa liczba zmian miażdżycowych z obecnością *C. pneumoniae* po podaniu zawiesiny drobnoustroju w późniejszym wieku lub po kilkukrotnym podaniu. U 8 tygodniowych myszy otrzymano 10% wyhodowań i 35% dodatnich wyników PCR z materiału pochodzącego z aorty, natomiast od myszy zakażonych w 16-tym tygodniu, z obecnymi już średnio rozwiniętymi blaszkami miażdżycowymi uzyskano 25% wyhodowań i 100% dodatnich wyników testu PCR. Stwierdzona na tym modelu obecność *C. pneumoniae* w płytkach miażdżycowych potwierdza hipotezę, że przewlekłe zakażenie tym drobnoustrojem może przyczyniać się do powstawania i rozwoju zmian miażdżycowych. Zarówno szczep myszy z deficytem apo-E jak i szczep C57BL/6J są wrażliwe na zakażenie *C. pneumoniae* i wykazują zmiany w płucach oraz naczyniach krwionośnych (28).

Moazed wykazała, że przenoszenie się *C. pneumoniae* w organizmie zachodzi przy udziale monocytów/makrofagów, zarówno przez krew jak i przez układ limfatyczny. Od myszy szczepu C57BL/6J zakażonych szczepem AR-39 *C. pneumoniae* wyizolowano pęcherzykowe i otrzewnowe makrofagi i po stwierdzeniu w nich drobnoustroju zostały wykorzystane do zakażenia kolejnych zdrowych myszy. U myszy tych stwierdzono DNA *C. pneumoniae* w płucach, grasicy, śledzionie i brzusznych węzłach limfatycznych. Uzyskane na tym modelu wyniki potwierdzają hipotezę, że w warunkach

in vivo *C. pneumoniae* zakaża makrofagi, po czym rozprzestrzenia się systematycznie przy pomocy tych komórek drogą krwionośną i limfatyczną. U badanych zwierząt wykazano obecność *C. pneumoniae* w krążeniu obwodowym. Ponadto na tym modelu stwierdzono wykazano również, że dodatni wynik reakcji PCR przy braku wyhodowania świadczy o obecności żywego drobnoustroju. DNA *C. pneumoniae* było wykrywane do 7 dnia zakażenia w makrofagach płucnych u myszy zakażonych żywym drobnoustrojem, natomiast u myszy zakażonych zinktywowanym drobnoustrojem DNA ulegało szybkiej degradacji (27).

W badaniach R. Malinverini i wsp. powyższe założenie próbowano sprawdzić przez stwierdzenie czy zakażenie może być reaktywowane przez immunosupresję uzyskaną w wyniku podawania kortyzonu. Po zakażeniu myszy *C. pneumoniae*, podany drobnoustrój izolowano do 28 dnia od momentu zakażenia, po tym czasie wyniki hodowli były ujemne. Po podaniu zakażonym myszom octanu kortyzonu, izolowano bakterie dłużej niż 40 dni po zakażeniu od 50% (6/13) myszy. DNA *C. pneumoniae* stwierdzono w płucach wszystkich zwierząt, od których hodowla była dodatnia oraz w kilku przypadkach kiedy u zwierząt traktowanych kortyzonem wynik hodowli był ujemny. DNA *C. pneumoniae* wykryto także u kilku zwierząt z grupy kontrolnej, co sugeruje przewlekły przebieg zakażenia. Niemożność wyhodowania od nich żywego drobnoustroju może być tłumaczona albo małą liczbą zakaźnych form drobnoustroju albo występowaniem w formie nie zakaźnej. Badania *in vitro* wykazały, że cykl rozwojowy chlamydii może być wstrzymany na etapie ciała siateczkowatego z powodu braku składników odżywczych, obecności czynników przeciwbakteryjnych czy mechanizmów immunologicznych np. interferonu- γ . Glukokortykoidy hamują ekspresję genu produkującego interferon- γ , tłumaczyłoby to wyniki opisanego wyżej doświadczenia. Model ten może stanowić użyteczną metodę immunopatologicznej oceny przewlekłych zakażeń *C. pneumoniae* (25).

Model zwierzęcy posłużył także do odpowiedzi na pytanie, czy powtarzające się zakażenia w połączeniu z dietą cholesterolową mogą prowadzić do bardziej trwałego i przyspieszonego rozwoju zmian miażdżycowych i czy podanie antybiotyków zakażonym zwierzętom może zapobiegać powyższym procesom. Króliki szczepu New Zealand White zakażano *C. pneumoniae*, po czym część zakażonych zwierząt otrzymywała azytromycynę. U wszystkich badanych zwierząt oznaczano: maksymalne zgrubienie błony wewnętrznej (MIT-maximal intimal thickness), procent zmniejszenia światła naczynia (PLCI-percentage of luminal circumference involved), obszar zajęty przez płytkę miażdżycową (PAI- plaque area index). MIT był podwyższony u zakażonych zwierząt (0,55) w porównaniu z pozostałymi dwoma badanymi grupami: zwierząt zakażonych/ otrzymujących antybiotyk (0,22) i zwierząt kontrolnych (0,16) u których poziom MIF był prawie jednakowy. Wartości uzyskane dla PAI i PLCI były zbliżone dla grupy kontrolnej (PAI 5%, PLCI 22%) i grupy zakażonej otrzymującej antybiotyk (PAI 6,4%, PLCI 32%) a wyższe u królików zakażonych bez antybiotyku (PAI 40%, PLCI 50%). Badanie to stanowi kolejny dowód na to, że po donosowym podaniu *C. pneumoniae*, u zakażonych zwierząt dochodzi do powstawania zmian miażdżycowych. Jednocześnie pokazuje, że podanie antybiotyku – azytromycyny może ograniczać i zapobiegać rozwojowi tego typu zmian (29).

C. pneumoniae jest bezwzględny pasożytem wewnątrzkomórkowym zdolnym do wzrostu i namnażania się w komórkach mięśni gładkich i makrofagach (16). W przed-

stawionych modelach zwierzęcych zostało pokazane, że drobnoustroj ten może również przy pomocy makrofagów rozprzestrzeniać się w organizmie (27). *C. pneumoniae* indukuje produkcję cytokinin oraz jak każdy Gram-ujemny drobnoustroj posiada endotoksynę w postaci lipopolisacharydu, która jest zdolna do indukowania odpowiedzi gospodarza. Ponadto może on powodować przewlekłe zakażenia. Z powodu tych wszystkich właściwości *C. pneumoniae* wydaje się być drobnoustrojem zdolnym do włączania się w proces przewlekłego zakażenia w zmianach miażdżycowych. Jedną z wielu hipotez zakłada, że *C. pneumoniae* jako nieruchliwy patogen może być tam przeniesiona tylko ze strumieniem krwi do obszarów bogatych w tłuszcz i być w nich obecnym jako nieistotny balast. Jednak kontrargumentem dla tego stwierdzenia jest fakt znajdowania drobnoustroju w głębokich warstwach ścian tętnic (23).

E. Podsiadły, S. Tylewska-Wierzbanowska

CHLAMYDIA PNEUMONIAE – AN ETIOLOGIC AGENT OF CORONARY HEART DISEASE?

SUMMARY

The hypothesis put forward in 1988 that *Chlamydia pneumoniae* is the aetiological agent in coronary disease and myocardial infarction has aroused an interest in these bacteria. The epidemiology of *Ch. pneumoniae* infections and researches on the role of it in the development of coronary artery lesions are reviewed, including animal models of this infection which could provide additional on the mechanism of atherosclerosis development.

PIŚMIENNICTWO

1. Bachmaier K, Neu N, Maza L M, Pal S, Hessel A, Penninger JM. *Chlamydia* infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999; 283, 1335
2. Balin BJ, Gerard HC, Arking EJ, Appelt DM, Braingan PJ., Abrams JT, Whittum-Hudson JA, Hudson AP. Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol* 1998; 187, 23
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins 1984; s. 735
4. Block SL, Hammerschlag MR, Hedric J, Tyler R, Smith A, Roblin P, Gaydos C, Pham D, Quinn TC, Palmer R, McCarty J. *Chlamydia pneumoniae* in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16, 858
5. Boman J, Soderberg S, Forsberg J, Birgander LS, Allard A, Persson K, Jidell E, Kumlin U, Juto P, Waldenstrom A, Wadell G. High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* DNA in peripheral blood mononuclear cells in patients with cardiovascular disease and middle-aged blood donors. *J Infect Dis* 1998; 178, 274
6. Campbell LA, Melgosa MP, Hamilton DJ, Kuo CC, Grayston JT. Detection of *Chlamydia pneumoniae* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30, 434
7. Campbell LA., O'Brien ER, Cappuccio AL, Kuo CC, Wang S, Stewart D, Patton DL, Cummings PK, Grayston JT. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in human coronary atherosclerotic tissues. *J Infect Dis* 1995; 172, 585
8. Chirgwin K, Roblin PM, Gelling M, Hammerschlag MR, Schacher J. Infection with *Chlamydia pneumoniae* in Brooklyn. *J Infect Dis* 1991; 163, 757

9. Comandini UV, Maggi P, Santopadre P, Mono R, Angarano G, Vullo V. *Chlamydia pneumoniae* respiratory infections among patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16, 720
10. Cook PJ, Honeybourne D. *Chlamydia pneumoniae*. *J Animicrob Chemoter* 1994; 34, 859
11. Cook PJ, Honeybourne D, Lip GY, Beevers DG, Wise R, Davies P. *Chlamydia pneumoniae* antibody titers are significantly associated with acute stroke and transient cerebral ischemia: the West Birmingham Stroke Project. *Stroke* 1998; 29, 404
12. Fong IW, Chiu B, Viira E, Fong MW, Jang D, Mahony J. Rabbit model for *Chlamydia pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol* 1997; 35, 48
13. Freidank H.M., Pelz K. *Chlamydia pneumoniae* infection in family. *Dtsch Med Wochenschr* 1997; 122, 1377
14. Futterman LG, Lemberg L. Fifty percent of patients with coronary heart disease do not have any of the conventional risk factors. *Am J Crit Care* 1998; 7, 240
15. Gaydos CA., Roblin PM., Hammerschlag MR., Hyman ChL, Eiden JJ, Schachter J, Quinn TC. Diagnostic utility of PCR – Enzyme Immunoassay, culture and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients. *J Clin Microbiol* 1994; 23, 903
16. Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, Ramirez JA, Quinn TC. Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infec Immun* 1996; 64, 1614
17. Grayston JT. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis* 1992; 15, 757
18. Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, Wang S. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov for *Chlamydia* sp. strain TWAR. *Inter J Sys Bacteriol* 1989; 39, 88
19. Grayston JT, Kuo CC, Wang S, Altman J. A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. *N Engl J Med* 1986; 315, 161
20. Kuo CC, Chen H, Wang S, Grayston T J. Identification of a new group of *Chlamydia psittaci* strains called TWAR. *J Clin Microbiol* 1986; 24, 1034
21. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 1995; 8, 451
22. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Clin Dis* 1993; 167, 841
23. Laitinen K, Lauria A, Pyhala L, Leinonen M, Saikku P. *Chlamydia pneumoniae* infection induces inflammatory changes in aortas of rabbits. *Infec Immun* 1997; 65, 4832
24. Makela MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimaki M, Blomqvist S, Hyypia T, Arstila P. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* 1998; 36, 539
25. Malinverni R, Kuo CC, Campbell LA. Reactivation of *Chlamydia pneumoniae* lung infection in mice by cortisone. *J Infec Dis* 1995; 172, 593
26. Mayaud C. Epidemiology of acute lower respiratory tract infections in adults. Role of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae*. *Presse Med* 1997; 26, 1248
27. Moazed TC, Kuo CC, Grayston JT, Campbell LA. Evidence of systemic dissemination of *Chlamydia pneumoniae* via macrophages in mouse. *J Infec Dis* 1998; 177, 1322
28. Moazed TC., Kuo CC., Grayston JT, Campbell LA. Murine models of *Chlamydia pneumoniae* infection and atherosclerosis. *J Infec Dis* 1997; 175, 883
29. Muhlestein JB, Anderson JL, Hammond EH, Zhao L, Trehan S, Schwobe EP, Carloquist JF. Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulat* 1998; 97, 633
30. Norman E, Gnarpe J, Gnarpe H, Wattergren B. *Chlamydia pneumoniae* in children in acute respiratory tract infections. *Acta Pediatr* 1998; 87, 23

31. Norman E, Gnarpe J, Gnarpe H, Wettergen B. *Chlamydia pneumoniae* in children attending day-care centers in Gavle, Sweden. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17, 474
32. Nystrom RC, Thelin S, Hjeltn E, Lindquist O, Pahlson C, Friman G. High incidence of *Chlamydia pneumoniae* in sclerotic heart valves of patients undergoing aortic valve replacement. *Scand J Infec Dis* 1997; 29, 361
33. Orr PH, Peeling W, Fast M, Brunka J, Duckworth H, Harding GKM, Nicolle LE. Serological study of responses to selected pathogens causing respiratory tract infection in the institutionalized elderly. *Clin Infec Dis* 1996; 23, 1240
34. Ramirez JA. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med* 1996; 125, 979
35. Richardson M, Kurowska EM, Carroll KK. Early lesion development in the aortas of rabbits fed low-fat, cholesterol-free, semipurified casein diet. *Atheroscl* 1994; 107, 165
36. Roblin PM, Dumonaornay W, Hammerschlang MR. Use of Hep-2 cells for improved isolation and passage of *Chlamydia pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1992; 30, 1968
37. Saikku P, Leinonen M, Tenkamen L, Linnanmaki E, Ekman MR, Manninen V, Manttari M, Frick MH, Huttunen JK. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki heart study. *Ann Intern Med* 1992; 116, 273
38. Saikku P, Manttila K, Nieminen JK, Huttunen JK, Leinonen M, Ekman MH, Makela PH, Valtonen V. Serological evidence of an association of novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; i, 983
39. Saikku P, Wang SP, Kleemola M, Brander E, Rusanen E, Grayston JT. An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of *Chlamydia psittaci*. *J Infec Dis* 1985; 151, 832
40. Taylor-Robinson D, Ong G, Thomas BJ, Rose ML, Yacoub MH. *Chlamydia pneumoniae* in vascular tissues from heart-transplant donors. *Lancet* 1998; 351, 1255
41. Thom DH, Grayston JT, Siscovick DS, Wang S, Weiss S, Daling JR. Association of prior infection with *Chlamydia pneumoniae* and angiographically demonstrated coronary disease. *JAMA* 1992, 268, 68
42. Verkooyen RP, Van-Lent NA, Musavi-Joulandan SA, Snijer RJ, Van-den-Bosch JM, Van-Helden HP, Verorugh HA. Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease by micro-immunofluorescence and ELISA. *J Med Microbiol* 1997; 46, 959
43. Walski M, Podsiadły E, Walczak E, Celary-Walska R, Dąbrowski M, Tylewska-Wierzbanowska S, Rużyłło W, Witkowski A, Słysz A. The presence of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic plaques – a report of three cases of ischaemic heart disease. *Pol J Pathol* 1999, 50, 2
44. Wesslen L, Pahlson C, Lindquist O i in. An increase in sudden unexpected cardiac deaths among young Swedish orienteers during 1979–1992. *Eur Heart J* 1996; 17, 902
45. Yang Z, Kuo C, Grayston JT. A mouse model of *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR Pneumonitis. *Infec Immun* 1993; 61, 2037
46. Zaręba ML, Borowski J. Podstawy mikrobiologii lekarskiej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1994; 269- 271

Adres autora:

Mgr Edyta Podsiadły

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa