Systematyka, biologia i inwazjologia rzęśistków – aktualny stan wiedzy

KLAUDIUSZ O. SZCZEPANIAK, KRZYSZTOF TOMCZUK, ANNA ŁOJSZCZYK-SZCZEPANIAK*,
ANDRZEJ JUNKUSZEW**, TOMASZ H. SKRZYPEK***

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Akademicka 12, 20-950 Lublin, Polska

*Pracownia Radiologii i Ultrasonografii, Katedra Chirurgii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Akademicka 12, 20-950 Lublin, Polska, Głęboka 30, 20-612 Lublin, Polska

**Katedra Hodowli Małych Przeżuwaczy i Doradztwa Rolniczego, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Polska

***Laboratorium Mikroskopii Konfokalnej i Elektronowej, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,
ul. Konstantynów 1 H, 20-708 Lublin

Otrzymano 29.06.2016

Zaakceptowano 16.08.2016

Szczepaniak K. O., Tomczuk K., Łojczyk-Szczepaniak A., Junkuszew A., Skrzypek T. H.
Systematics, biology and invasiology of trichomonads – the current state of knowledge

Summary

Trichomonads are anaerobic, flagellated protists belonging to the large phylum Parabasalia. In most cases, they exist as endosymbionts – harmless comensals of invertebrates and vertebrates – but several species are considered to be imported intestinal or urogenital parasites of humans and other animals. This paper presents current information on the taxonomy, morphology and biology of trichomonads. The characterization of invasiology followed by the description of virulence factors and pathogenic mechanisms of trichomonads is presented. The present paper also reviews diagnostic methods, treatment and prevention of trichomoniasis.

Keywords: trichomonads, trichomoniasis, taxonomy, morphology, biology, invasiology

Celem niniejszego artykułu przeglądowego jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego systematyki i biologii rzęśistków, a także inwazjologii, patogenezы, diagnostyki oraz terapii chorób przez nie wywoływanych.

Według słownika parazytologicznego pod redakcją J. Złotorzyckiej, rzęśistkowice lub trichomonozы (*trichomonosis*) to parazytozy spowodowane przez wiciowce z rodzaju *Trichomonas* (100). W szerszym ujęciu mianem rzęśistkowicy nazywa się choroby ludzi i zwierząt wywoływane przez przedstawicieli rzędów *Trichomonadida* i *Tritrichomonadida* (40).

Systematyka

Systematyka rzęśistków na przestrzeni lat podlegała ewolucji. Obecnie przez większość badaczy zaliczane są do szeroko rozbudowanego i zróżnicowanego typu *Parabasalia* (18, 42). Takson ten tworzą polifilogenetyczne, prymitywne ewolucyjnie, względnie beztlenowe, pozbawione mitochondriów wiciowce (52). Klasyfikacja taksonomiczna opisywanych organizmów nie jest jednorodna. Na przestrzeni lat, wraz z postępem

badania ulegała ona zmianom i modyfikacjom (31, 32). Pierwsze próby systematyki rzęśistków opierały się wyłącznie na cechach morfologicznych trofozoitów, obserwowanych w mikroskopii świetlnej oraz na specyficzności żywicielskiej pierwotniaków, ocenianej w badaniach klinicznych (46).

Do postępu w badaniach nad tymi pierwotniakami znacznie przyczyniło się zastosowanie hodowli *in vitro* na podłożach płynnych lub dwufazowych, które umożliwiły wprowadzenie nowych technik badawczych (96). Użycie mikroskopii elektronowej pozwoliło na lepsze poznanie budowy zewnętrznej oraz wewnętrznej przedstawicieli *Parabasalia*, co w konsekwencji pociągnęło za sobą zmiany w systematyce (10, 12, 13, 24, 70). Prawdziwy przełom przyszedł wraz z upowszechnieniem badań molekularnych, które ukazały znaczne zróżnicowanie w obrębie tego taksonu. Następnym analiz genetycznych jest postępujący proces zmian w przyjmowanej dotychczas klasyfikacji tych pierwotniaków (19, 31, 93, 95).

Typ *Parabasalia* tradycyjnie dzielił się na dwa rzędy: *Trichomonadida* i *Hypermastigida*. Gatunki

Pasożytnicze klasyfikowano w obrębie rzędu *Trichomonadida*, który na podstawie cech morfologicznych oraz budowy wewnętrznej komórki podzielono na pięć rodzin: *Monocercomonadidae*, *Trichomonadidae*, *Calonymphidae*, *Devascovinidae* i *Cochlosomatidae* (43, 46). Na podstawie analizy sekwencji różnych rejonów genomu *Parabasalial* zmodyfikowano tradycyjny podział taksonomiczny (19, 31, 42). Obecnie, według National Center for Biotechnology Information (NCBI), do wymienionego typu zalicza się siedem rzędów: *Cristamonadida*, *Honigbergiellida*, *Hypotrichomonadida*, *Spirotrichonymphida*, *Trichomonadida*, *Trichonymphida*, *Tritrichomonadida*. Najważniejsze znaczenie medyczne i weterynaryjne mają rodziny skupione w dwóch rzędach: *Trichomonadida* (rodzina *Trichomonadidae*) i *Tritrichomonadida* (rodziny *Dientamoebidae*, *Monocercomonadidae*, *Tritrichomonadidae*) (92).

W 2010 r. Cepicka i wsp. (18) zaproponowali nową systematykę typu *Parabasalial* (tab. 1). Przeprowadzona przez autorów analiza filogenetyczna opierała się na budowie ultrastrukturalnej komórki oraz na porównaniu wybranych sekwencji genomu. Według tej klasyfikacji typ *Parabasalial* podzielono na sześć klas: *Hypotrichomonadea*, *Trichomonadea*, *Tritrichomonadea*, *Cristamonadea*, *Trichonymphea* i *Spirotrichonymphea*. Każda z nich zawiera po jednym rzędzie, z wyjątkiem klasy *Trichomonadea*, która skupia w sobie dwa rzędy *Trichomonadida* i *Honigbergiellida*. Uwzględnienie cech morfologicznych oraz podobieństwa genetycznego w dużej mierze potwierdza klasyfikację systematyczną umieszczoną na stronach NCIB.

Badania dotyczące systematyki typu *Parabasalial* trwają nadal. Odkrywane są nowe gatunki, a istnienie innych jest podważane (31, 64, 68, 90). Według zebranych dotychczas informacji, do najliczniejszych gatunkowo rodzajów należą *Monocercomonas* oraz *Tetrahymena*. Ich przedstawiciele zasiedlają przewody pokarmowe bezkręgowców oraz kręgowców, zarówno zmiennocieplnych, jak i stałocieplnych. Mniej liczny gatunkowo jest rodzaj *Trichomonas*, występujący u kręgowców stałocieplnych, zwłaszcza u ssaków (53).

Morfologia

W morfologii rzęsistków wyróżnić można kilka charakterystycznych cech, zarówno w budowie zewnętrznej, jak i wewnętrznej. Cechy te są swoiste dla całego typu *Parabasalial*. U pierwotniaków tych występuje znaczny polimorfizm. W środowisku płynnym trofozoity przybierają różne kształty: od wrzecionowatego,

Tab. 1. Podział systematyczny Typu *Parabasalial* zaproponowany przez Cepicka i wsp. (18)

TYP PARABASALIA
Klasa 1. Hypotrichomonadea Rząd 1. Hypotrichomonadida Rodzina 1. Hypotrichomonadidae (Hypotrichomonas, Trichomitus)
Klasa 2. Trichomonadea Rząd 1. Trichomonadida Rodzina 1. Trichomonadidae (Trichomonas, Pentatrichomonas, Cochlosoma) Rząd 2. Honigbergiellida Rodzina 1. Honigbergiellidae (Honigbergiella, Pseudotrichomonas) Rodzina 2. Hexamastigidae (Hexamastix) Rodzina 3. Tricercomitidae (Tricercomitus)
Klasa 3. Tritrichomonadea Rząd 1. Tritrichomonadida Rodzina 1. Tritrichomonadidae (Tritrichomonas) Rodzina 2. Dientamoebidae (Dientamoeba, Protrichomonas, Histomonas) Rodzina 3. Monocercomonadidae (Monocercomonas) Rodzina 4. Simplicimonadidae (Simplicimonas)
Klasa 4. Cristamonadea Rząd 1. Cristamonadida Rodzina 1. Lophomonadidae (Lophomonas, Joenia, Devescovina, Calonympha)
Klasa 5. Trichonymphea Rząd 1. Trichonymphida Rodzina 1. Hoplonymphidae (Hoplonympha, Barbulanympha) Rodzina 2. Staurojoenidae (Staurojoenia) Rodzina 3. Trichonymphidae (Trichonympha) Rodzina 4. Teranymphidae (Teranympha, Eucomonympha) Rodzina 5. Spirotrichosomidae (Spirotrichosoma, Leptospirotrichonympha)
Klasa 6. Spirotrichonymphea Rząd 1. Spirotrichonymphida Rodzina 1. Holomastigotoididae (Holomastigotoides, Spirotrichonympha)

Ryc. 1. Polimorfizm trofozoitów *Trichomonadidae* (kolor różowy) w obrazie skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) (kolor fioletowy – komórki bakterii)

gruszkowatego po owalne (ryc. 1), a ich wymiary wahają się w granicach 5-20 µm długości i około 3-12 µm szerokości (40, 51, 80).

Budowa wewnętrzna typu *Parabasalial* charakteryzuje się występowaniem swoistych organelli (ryc. 2). W przednim odcinku komórki występuje jeden lub

Ryc. 2. Schemat budowy trofozoitu rzęsistka wykonany na podstawie zdjęcia preparatu mikroskopowego rozmazu barwionego protargolem: km – kariomastigont, ap – aparat parabazalny, h – hydrogenosom, a – aksostyl, p – pelta, ż – żeberko, ww – wić wolna, ws – wić sterowa, bf – błona falująca

więcej kompleksów kariomastigontów, utworzonych przez jądro komórkowe i kompleks wiciowy. Pod kariomastigontem znajduje się aparat parabazalny, w skład którego wchodzi włókna parabazalne odchodzące od ciałek podstawowych wici oraz aparat Golgiego. Rzęsistki nie posiadają mitochondriów. Zamiast nich w cytoplazmie występują organella (około 1 μm długości), otoczone podwójną błoną tzw. hydrogenosomy. Cytoskielet komórek rzęsistków ma złożoną budowę. Jego głównym komponentem jest tzw. kompleks aksostyl–pelta, zbudowany z mikrotubul. Aksostyl tworzy oś komórki, a jego tylna część może wystawać poza jej obręb (np. u rzęsistka bydlęcego). Pozostaje jednak strukturą wewnątrzkomórkową, otoczoną przez błonę komórkową. Przednia część aksostylu okala jądro i łączy się częściowo z peltą. Pelta pokrywa przedni biegun komórki i formuje charakterystyczny rulon wokół kinetosomów i części jądra komórkowego. Inną strukturą nie zbudowaną z mikrotubul, ale nadającą sztywność komórce poprzez mechaniczne wzmocnienie błony falującej jest żeberko – *costa* (8, 52).

Typową cechą w budowie zewnętrznej rzęsistków jest występowanie na przednim biegunie komórki aparatu wiciowego. W jego skład wchodzi skierowane do przodu wici wolne oraz towarzysząca im jedna wić sterowa, która skierowana jest w przeciwnym kierunku i może być połączona z komórką błoną falującą. Struktury te stanowią organella ruchu, odpowiedzialne za charakterystyczny sposób poruszania się tych pierwotniaków. Budowa ultrastrukturalna wici rzęsistków jest typowa dla wszystkich struktur tego typu występujących u *Eukaryota* (40, 52). Dzięki mikroskopii elektronowej wykazano, że błona falująca nie jest rozpięta bezpośrednio pomiędzy wicią a komórką, lecz między podłużnym fałdem pelliculi towarzyszącym wici sterowej (33). Wić sterowa może wystawać poza obręb komórki (*Tetratrichomonas*) lub też nie przekraczać jej zarysu (*Trichomonas*) (71).

Do niedawna sądzono, iż opisane trofozoity są jedynymi formami występowania rzęsistków. Badania ostatnich lat wykazały, iż w populacji rzęsistków obecne są również formy wielojądrzaste. Postacie te powstają w następstwie zwielokrotnienia kompleksów kariomastigontów bez jednoczesnego podziału cytoplazmy. Ich obecność stwierdzano w materiale izolowanym bezpośrednio od żywicieli oraz w hodowlach na podłożach sztucznych.

Przypuszcza się, że formy te powstają w niekorzystnych warunkach pod wpływem stresu środowiskowego. W badaniach *in vitro* wykazano, że formy wielojądrzaste mogą rozmnażać się poprzez pączkowanie, tworząc nową generację jednojądrzastych uwicionych trofozoitów (76, 78, 80).

Kolejną udokumentowaną w najnowszych doniesieniach postacią rzęsistków są owalne lub okrągłe, nieruchome formy bezwiciowe, nazwane pseudocystami (ryc. 3) (1, 79). Ich liczba zwiększa się w niekorzyst-

Ryc. 3. Dwie formy *Tritrichomonas foetus* – bezwiciowa pseudocysta oraz trofozoit z charakterystycznym aparatem wiciowym i błoną falującą (kolor zielony – komórki bakterii). Obraz – skaningowy mikroskop elektronowy (SEM)

nych warunkach, w starzejących się hodowlach przy nagłej zmianie temperatury lub w następstwie kontaktu z niektórymi substancjami chemicznymi. Pseudocysty posiadają wszystkie struktury budowy wewnętrznej trofozoitów. Nie są one jednak postrzegane jako formy przetrwalnikowe z uwagi na brak specyficznej ściany, typowej dla cyst. W trakcie formowania pseudocysty trofozoit rzęsistka zaczyna się obracać wokół własnej osi, a wici ulegają wciągnięciu do środka. Do niedawna twierdzono, że przeobrażenie do postaci pseudocysty jest adaptacją rzęsistków do złych warunków środowiska lub uważano je za formy zdegenerowane. W świetle najnowszych badań tezy te tracą na aktualności. Zauważono, że pseudocysty występują niekiedy na świeżych podłożach, a także są izolowane bezpośrednio z organizmów żywicieli (1, 76, 80). Badania ostatnich lat wykazały, że zmiana środowiska występowania pierwotniaka pociąga za sobą adaptacje morfologiczne. Rzęsistki izolowane z powierzchni komórek nabłonków lub z hodowli komórkowych mają postać ameboidalną. Charakteryzują się one zmiennym kształtem oraz możliwością formowania pseudopodiów. Organella ruchu (wici i błona falująca) są zachowane i widoczne na powierzchni grzbietowej, lecz ich funkcja jest ograniczona. Potwierdzono, że postacie ameboidalne są w największym stopniu odpowiedzialne za oddziaływanie patogenne (9, 26, 50, 69).

Rozmnażanie

Rozmnażanie form troficznych rzęsistków odbywa się przez podział podłużny komórki, poprzedzony kariokinezą, odbywającą się na drodze pleuromitozy. W trakcie podziału komórki zdwojeniu ulegają wszystkie części cytoszkieletu oraz organella komórkowe (40). W przypadku pseudocyst proces mitozy ma inny przebieg. W niekorzystnych warunkach obserwuje się podział jądra oraz kompleksu wiciowego – mastigontu, bez podziału cytoplazmy. W następstwie tego procesu powstają olbrzymie komórki z wielokrotnionym kompleksem kariomastigontów, które po przeniesieniu do korzystnego środowiska zaczynają pączkować, dając nowe pokolenie trofozoitów lub pseudocyst (76, 78).

Formy współżycia

Nieliczne wyjątki *Parabasalina* to organizmy wolno żyjące, z przedstawicielami w rodzajach: *Pseudotrichomonas*, *Honigbergiella*, *Monotrichomonas* i *Ditrichomonas* (46, 53). Zdecydowana większość to organizmy endobiotyczne, które najczęściej zasiedlają końcowe odcinki przewodu pokarmowego. Ich żywicielami są bezkręgowce oraz kręgowce, w tym ssaki i człowiek. Część gatunków to komensale albo symbionty tworzące związek mutualistyczny. Ten drugi układ jest często spotykany w przewodzie pokarmowym termitów lub innych owadów odżywiających się celulozą (53).

Do typu *Parabasalina* zalicza się też gatunki, które prowadzą typowo pasożytniczy tryb życia. Niektóre

z nich mają duże znaczenie medyczne (*Trichomonas vaginalis*, *Dientamoeba fragilis*) lub weterynaryjne (*Tritrichomonas foetus*, *Histomonas meleagridis*, *Trichomonas gallinae*). Największą patogenność przypisuje się gatunkom lokalizującym się poza jeliem (*Trichomonas vaginalis*, *Tritrichomonas foetus*, *Histomonas meleagridis*) (40, 45, 51). Wśród rzęsistków są też pasożyty oportunistyczne (98). Przykładem mogą być *T. tenax* czy *T. canistomae* lokalizujące się w jamie ustnej ludzi i zwierząt mięsożernych. Oba gatunki często opisywane są jako mało chorobotwórcze lub nieszkodliwy składnik ontocenozy jamy ustnej. Stwierdzone są one znacznie częściej u pacjentów z niskim poziomem higieny jamy ustnej, stanami zapalnymi w jej obrębie oraz z chorobami przyzębia (2, 22, 29, 37, 38, 58, 60-62). Szczególnie interesujące są doniesienia o izolacji *T. tenax* z płuc, wysięku z opłucnej, ślinianek, węzłów chłonnych, a nawet z gruczołu mlekowego u osób z obniżoną odpornością (19, 27, 28, 30, 39, 44, 85). Biorąc pod uwagę fakt, że na świecie jest coraz więcej osób z obniżoną odpornością, można przypuszczać, że liczba inwazji wywoływanych przez te pierwotniaki będzie wzrastać. Tego typu inwazje mogą mieć zarówno charakter zoonoz, jak i antropozoonoz (70). Dowodzi tego przypadek wyizolowania *T. canistomae* od 72-letniego mężczyzny leczonego sterydami z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów (36), a także zapalenie ślinianki wywołanej przez *T. tenax* u 13-letniej suki rasy jamnik, z zaawansowanym stadium *periodontitis* (88).

Inwazjologia

Najczęściej do inwazji rzęsistków dochodzi poprzez kontakt bezpośredni. Rozprzestrzenianie się choroby może być związane z aktami płciowymi – rzęsistkowice narządów płciowych, karmieniem treścią wola – rzęsistkowice ptaków. Do zarażeń człowieka wywołanych *T. tenax* może dochodzić zarówno bezpośrednio przez pocałunki, jak również pośrednio w następstwie wspólnego używania naczyń, sztućców i przedmiotów higieny osobistej (nici dentystyczne, szczoteczki do zębów) (23, 47, 83). Przyjmuje się, że niektóre gatunki rzęsistków mogą w sprzyjających warunkach przeżyć kilka dni poza organizmem żywiciela (21). Możliwe są więc inwazje środowiskowe, poprzez zanieczyszczoną pierwotniakami wodę i pokarm, w których dużą rolę odgrywają bezobjawowi nosiciele (40).

W przeważającej liczbie publikacji formą inwazyjną, a zarazem patogenną, jest trofozoit. Ostatnie badania nad *T. vaginalis* oraz *T. foetus* świadczą, że postać pseudocysty może również odgrywać znaczącą rolę w inwazjologii rzęsistkowicy. Potwierdzono, że pseudocysty w porównaniu z trofozoitami charakteryzują się większą wytrzymałością na czynniki środowiska zewnętrznego oraz wykazują wyższą zdolność adhezji do komórek żywiciela (69, 77, 80).

Różna jest specyficzność żywicielska oraz narządowa rzęsistków. Spotkać można zarówno gatunki po-

likseniczne, oligokseniczne, jak i stenokseniczne (53). Pasożytem poliksenicznym, niewyspecjalizowanym, o dużej tolerancji względem warunków życiowych jest *T. gallinarum*. Spotykany jest w szerokim kręgu żywicieli należących do różnych gromad. Stwierdzono go u licznych gatunków ptaków w przewodzie pokarmowym oraz narządach wewnętrznych, a także u ludzi w układzie oddechowym i jamie ustnej (19, 64). Podobnie zachowuje się gatunek *T. prowazeki*, izolowany od kilkunastu gatunków płazów i gadów (53). Prace wielu autorów potwierdzają szeroką specyficzność *T. foetus*. Uważany dawniej za pasożyta swoistego układu rozrodczego przeżuwaczy, dziś jest postrzegany jako niewyspecjalizowany topowo, oligokseniczny rzęsistek mogący zasiedlać także jelito grube kotów i psów, jamę nosową, żołądek i jelita świń oraz układ pokarmowy małp (32, 54, 65, 79, 89, 99). Istnieje także potwierdzony przypadek zapalenia płuc u 54-letniej pacjentki zarażonej *T. foetus* i *Pneumocystis* sp., chorej na AIDS i cukrzycę typu 2 (26).

Wśród rzęsistków spotkać można również pasożyty stenokseniczne – charakteryzujące się wąską specyficznością, jak np. *T. vaginalis*, który jest wyłącznie czynnikiem etiologicznym trichomonoz u ludzi – choroby układu moczowo-płciowego (70, 80).

Chorobotwórczość i czynniki zjadliwości

Przebieg inwazji jest następstwem wielorakich zależności występujących między pasożytem a żywicielem (4, 57). Chorobotwórczość poszczególnych gatunków rzęsistków, a nawet ich szczepów jest różna i zależy od wielu czynników (50, 53). Gatunki, których typowym miejscem lokalizacji jest jelito grube, w większości wydają się niepatogenne lub mało patogenne, podczas gdy lokalizacja pozajelitowa rzęsistków często prowadzi do rozwoju choroby u żywiciela (88, 90).

Badania potwierdziły kilka mechanizmów patogeny inwazji rzęsistków. Najwięcej informacji zebrano na temat chorobotwórczego działania *T. vaginalis*. Według szacunków WHO, pierwotniak ten wywołuje najczęściej występującą na świecie niewirusową chorobę weneryczną ludzi (80). Najważniejsze mechanizmy patogeny stwierdzone u tego gatunku to ekspresja adhezyn AP65, AP51, AP33, AP23, za pomocą których pasożyt przywiera do komórek nabłonka gospodarza, po czym uszkadza je uwalnianymi przez siebie enzymami (50, 56). Potwierdzono wytwarzanie przez *T. vaginalis* enzymów hydrolitycznych: proteinazy cysteinowej (CP 65), fosfatazy kwaśnej, proteazy GP63 oraz β -N-acetyloglukozaminidazy (67, 87, 96). Występowanie znacznej aktywności proteolitycznej stwierdzono także w przypadku *T. tenax*. Badania dowiodły, że gatunek ten wytwarza liczne proteazy, w tym metaloproteinazy, proteinazy cysteinowe i katepsyny odpowiedzialne za depolimeryzację włókien kolagenowych i degradację proteoglikanów (14, 15, 84, 97). Dodatkowo *T. tenax* produkuje toksyny o działaniu cytotoksycznym. Nagao i wsp. stwierdzili, że

hemolizyny syntetyzowane przez ten gatunek są zdolne do lizy erytrocytów ludzkich, owczych, króliczych i końskich (73). Enzymy wytwarzane przez *T. tenax* oddziałują destrukcyjnie na błonę śluzową jamy ustnej i tkanki przyzębia (47, 59, 62). Oprócz wysokiej aktywności proteolitycznej u gatunku tego wykazano także obecność białka fibronektynopodobnego, odpowiedzialnego za adhezję do komórek nabłonka (82). Na komórkach rzęsistka pochwowego potwierdzono występowanie lipofosfoglikanu (LPG), który prowokuje wytwarzanie przez komórki gospodarza prozapalnych cytokin (56). Kolejnym mechanizmem chorobotwórczego działania rzęsistków na organizm żywiciela jest zdolność tych pasożytów do zmiany parametrów fizykochemicznych środowiska ich przebywania, poprzez produkowane i wydalone metabolity. Konsekwencją tego zjawiska jest modyfikacja fizjologicznego składu współtowarzyszącej rzęsistkom mikroflory. Inwazje *T. tenax* oraz *T. vaginalis* często są wikłane przez patogenne bakterie i grzyby, które dopełniają obrazu choroby (63, 80).

Diagnostyka

Konwencjonalne metody parazytologiczne wykorzystywane w diagnostyce rzęsistków obejmują: badanie mikroskopowe preparatów bezpośrednich z wymazów błon śluzowych, badanie mikroskopowe preparatów utrwalonych i barwionych oraz metody hodowlane (40).

Badanie bezpośrednie preparatu mokrego polega na zawieszeniu pobranego materiału w kropli soli fizjologicznej 0,9% NaCl (o temperaturze zbliżonej do temperatury żywiciela) i umieszczeniu go na szkiełku podstawowym. Preparat należy oglądać pod mikroskopem bezpośrednio po pobraniu. Materiał ogląda się w małym powiększeniu, najczęściej około 100 $\times$. Kluczową rolę w tej metodzie odgrywają czas i temperatura wykonania badania. Rzęsistki najłatwiej jest rozpoznać na podstawie charakterystycznych ruchów trofozoitów. Ruchliwość rzęsistków spada wraz ze spadkiem temperatury otoczenia. W materiale pobranym od żywiciela oprócz rzęsistków często obserwowane są liczne bakterie, grzyby, nabłonki oraz komórki układu immunologicznego i różnego rodzaju zanieczyszczenia, które utrudniają prawidłową ocenę preparatów. Metodą tą trudno wykryć formy nieruchliwe rzęsistków (martwe trofozoity, pseudocysty, formy ameboidalne) (56, 62, 95).

W badaniu mikroskopowym preparatów utrwalonych najczęściej stosuje się barwienie metodami Giemsy i Papanicolaou lub protargolem (40, 51). Metodami czulszymi od konwencjonalnych technik barwienia jest wykorzystanie technik mikroskopii fluorescencyjnej z użyciem oranżu akrydyny lub fluorescencyjnych przeciwciał monoklonalnych, które umożliwiają szybką i dokładną diagnozę (56). Powszechne zastosowanie w badaniach naukowych oraz w diagnostyce mają metody hodowlane (56, 75, 95). Hodowle *in vitro*

przedstawicieli *Trichomonadida* mają długą historię. Istnieją trzy podstawowe rodzaje systemów hodowli: kseniczne (wzrost w obecności niezidentyfikowanej flory innych mikroorganizmów), monokseniczne (wzrost w obecności tylko jednego, ściśle określonego gatunku mikroorganizmu) i akkseniczne (czysta kultura bez obecności innych mikroorganizmów). Czasami stosuje się także hodowle polikseniczne, w których pasożyt hodowany jest w obecności wielu gatunków innych mikroorganizmów, jednak w odróżnieniu od hodowli ksenicznych skład gatunkowy mikroflory towarzyszącej jest dokładnie znany.

Uzyskanie wzrostu rzęsistków na podłożu hodowlanym zależy od wielu czynników. Ważne są sposób pobierania materiału i warunki jego transportu, liczba pozyskanych komórek rzęsistków w izolowanej próbce oraz skład towarzyszącej im mikroflory. W materiale pobieranym od zwierząt i ludzi w diagnostyce rzęsistkowicy zazwyczaj występują liczne bakterie i grzyby. Kontrolowanie ich wzrostu lub całkowita eliminacja mogą decydować o osiągnięciu lub braku wzrostu hodowli. Część gatunków, jak np. *T. vaginalis*, można hodować akksenicznie, bezpośrednio z materiału pobranego od żywiciela, podczas gdy inne gatunki potrzebują adaptacji poprzez hodowlę monokseniczną. Akksenizacja hodowli niektórych gatunków jest długim i trudnym procesem, podczas którego rzęsistki zmieniają sposób odżywiania z fagocytozy na pinocytozę. Zjawisko to jest związane z przeprogramowaniem metabolizmu pierwotniaków, dzięki czemu są one w stanie samodzielnie rozkładać lub syntetyzować substancje, wcześniej pozyskiwane przy pomocy bakterii i grzybów (51, 64, 74, 80).

Nie mniej ważne znaczenie ma sam dobór podłoża diagnostycznego, jego skład i jakość wykonania, a także warunki inkubacji. Do każdego typu hodowli wykorzystuje się odpowiednie podłoża. Najprostsze podłoża są wykorzystywane do prowadzenia hodowli ksenicznych. Przykładami prostych podłoży diagnostycznych wykorzystywanych do tego typu hodowli rzęsistków są podłoża: Simiča, Pawłowej, Boeckia i Drobohlava (51). Do hodowli akksenicznych i monoksenicznych używa się podłoży o bardziej złożonym składzie. W badaniach i diagnostyce przedstawicieli *Trichomonadida* najczęściej stosowane są podłoża TYM, TYI-S-33, według Diamonda, których szczegółowy skład dostępny jest w piśmiennictwie (6). Komercyjnie dostępne są także gotowe podłoża, takie jak: Trichosel czy *Trichomonas medium* No. 2 (Oxoid), Roiron-Rattner (6, 56). Innowacyjną metodą diagnostyczną jest stworzony przez firmę Biomed Diagnostics system InPouch TV. Składa się on z dwóch komór – jednej do przygotowania preparatu bezpośredniego, a drugiej do hodowli. Unikalność tej metody polega na połączeniu zalet badania bezpośredniego z możliwością hodowli (11).

Konwencjonalne metody parazytologiczne charakteryzują się różną czułością. Ocenia się, że skutecz-

ność metody badania bezpośredniego i poszukiwania ruchomych trofozoitów przy zachowaniu optymalnych warunków jest stosunkowo duża i wynosi 66-80%. W przypadku inwazji *T. gallinae* u ptaków skuteczność diagnostyki metodą rozmazu bezpośredniego może dochodzić nawet do 97%. Czułość badania mikroskopowego preparatów utrwalonych i barwionych jest szacowana różnie i jej średni zakres waha się w szerokich granicach od 50% do 80%. Metody hodowlane wykazują czułość na poziomie 80% (5, 56).

Pozostałe metody diagnostyczne wykorzystywane w badaniach rzęsistków to: testy serologiczne, metody immunoenzymatyczne (ELISA), metody molekularne (PCR).

Metody te odznaczają się wysoką czułością oraz swoistością. Za pomocą testów serologicznych poszukuje się w badanym materiale antygenów rzęsistków z wykorzystaniem znakowanych przeciwciał, które po połączeniu z antygenem wykrywa się metodami immunofluorescencji pośredniej lub bezpośredniej. Wysoką czułością rzędu 90-95% i swoistością wynoszącą 97-99% charakteryzują się testy ELISA. Zbliżoną dokładnością do metody ELISA odznaczają się lateksowe testy aglutynacyjne, które dodatkowo są proste i szybkie w wykonaniu (41, 48, 56). Za najdokładniejsze uważa się metody molekularne z wykorzystaniem reakcji PCR. Ich czułość szacuje się na 97%, a swoistość na 98% (16, 93).

Leczenie i profilaktyka

W zwalczaniu inwazji bardzo istotna jest zarówno eliminacja pasożyta poprzez zabiegi lecznicze, jak i postępowanie profilaktyczne zmierzające do minimalizacji ryzyka zarażenia (3). Rzęsistki w zależności od „dostępności” śluzówek można eliminować w dwojaki sposób. Wobec błon śluzowych naturalnych otworów ciała – pochwy, macicy, jamy ustnej – możliwe jest stosowanie bezpośrednich płukań roztworami o działaniu przeciwrzęsistkowym. W tej postaci możliwe jest stosowanie zarówno środków dezynfekcyjnych działających biobójczo, jak: barwniki (akryflawina, trypaflawina), preparaty jodowe – płyn Lugola, polikresulen – vagotyl, roztwór nadmanganianu potasu, roztwór nadtlenku wodoru, siarczanu miedzi, wyciąg rumianku i inne nieagresywne antyseptyki, jak i chemioterapeutyki z grupy 5-nitroimidazoli (7). W przypadku lokalizacji niedostępnych do bezpośredniego oddziaływania (śluzówka jelit oraz inne błony śluzowe) pozostaje jedynie stosowanie chemioterapeutyków w postaci doustnej lub parenteralnej. Ogólne stosowanie leków zaleca się również we wcześniej wspomnianych lokalizacjach. Lekami rekomendowanymi do zwalczania rzęsistków są związki z grupy 5-nitroimidazoli. W zależności od gatunku żywiciela oraz aktualnych krajowych przepisów prawnych dostępne są: dimetridazol, flunidazol, ipronidazol, karnidazol, metronidazol, nimrazol, ornidazol, ronidazol, seknidazol, tinidazol (34, 35, 49, 80, 87). Mają one szerokie zastosowanie

w medycynie, natomiast dla zwierząt w Polsce zarejestrowany jest jedynie ronidazol. Związki te poza działaniem przeciwpierwotniaczym wykazują działanie antybakteryjne, szczególnie wobec bakterii beztlenowych, co jest bardzo korzystne, gdyż inwazjom rzęsistków towarzyszą często zakażenia bakteriami beztlenowymi. Mechanizm działania 5-nitroimidazoli związany jest z redukcją grup nitrowych, która zachodzi w hydrogenosomach rzęsistków. W warunkach beztlenowych, w wyniku działania oksydoreduktazy pirogronian-ferredoksyna powstają reaktywne rodniki uszkadzające nici DNA. W konsekwencji w przeciągu jednej godziny od podania 5-nitroimidazoli dochodzi do zahamowania mobilności oraz podziałów trofozoitów rzęsistków, a po ośmiu godzinach do śmierci i rozpadu komórek. Weterynaryjne zastosowanie 5-nitroimidazoli jest możliwe wyłącznie u zwierząt nie będących źródłem tkanek jadalnych dla człowieka. U zwierząt tych dopuszcza się stosowanie również preparatów pozostających w zasobach medycznych. Jedynym czynnikiem ograniczającym może być jednak stopień działania toksycznego (np. neurotoksyczność u kotów) stwierdzany przy dłuższym ich stosowaniu (66, 82, 101).

Poza 5-nitroimidazolami działanie przeciwrzęsistkowe wykazuje również furazolidon, substancja będąca pochodną nitrofuranu. Mechanizm jego działania polega na zaburzaniu aktywności bakteryjnych i pierwotniaczych układów enzymatycznych (głównie cyklu Krebsa). Substancja ta może znajdować zastosowanie głównie w przypadku rzęsistkowic przewodu pokarmowego (74). Na skutek pojawiających się lekoopornych na metronidazol i jego pochodne szczepów rzęsistków, poszukiwane są nowe leki o działaniu przeciwpierwotniaczym (55). Działanie takie na podstawie przeprowadzonych badań wykazuje nitazoksanid – nowa benzamidowa pochodna nitroiazoli. Hamuje on oksydoreduktazę pirogronian-ferredoksyna, enzymu odpowiedzialnego za beztlenowe szlaki energetyczne. Szczególnymi zaletami tego leku są jego niska toksyczność i dobra tolerancja (25).

Profilaktyka inwazji rzęsistków najogólniej polega na unikaniu bezpośredniego kontaktu błon śluzowych osobników zarażonych i potencjalnie wrażliwych (kontakty płciowe, pocałunki). Dodatkowo ważnym aspektem jest dbałość o higienę błon śluzowych naturalnych otworów ciała (np. regularne mycie zębów, systematyczne usuwanie kamienia nazębnego, co utrudnia kolonizację śluzówek przez rzęsistki w momencie, gdy dochodzi do inwazji). Zarażeń pośrednich (najczęściej pokarmowych) można uniknąć, zachowując higienę pożywków, nie korzystając ze wspólnych sztućców, naczyń, butelek z płynami, ręczników. Formy inwazyjne mimo swej wrażliwości utrzymują stan inwazyjności do kilku dni w wilgotnym środowisku, stwarzając zagrożenie przeniesienia inwazji. U zwierząt istotna jest także szeroko rozumiana higiena żywienia oraz izolacja poidel i karmników od zwie-

rząt wolno żyjących, będących często rezerwuarem inwazji (3, 101).

Piśmiennictwo

1. Afzan M. Y., Suresh K.: Pseudocyst forms of *Trichomonas vaginalis* from cervical neoplasia. *Parasitol. Res.* 2012, 111, 371-381.
2. Albuquerque Júnior R. L. C., Melo C. M., Santana W. A., Ribeiro J. L., Silva F. A.: Incidence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in samples of dental biofilm and saliva from patients with periodontal disease. *Rev. Gaucha. Odontol.* 2011, 59, 35-40.
3. Amin A., Bilic I., Liebhart D., Hess M.: Trichomonads in birds – a review. *Parasitology* 2014, 141, 733-747.
4. Anderson B. L., Cosentino L. A., Simhan H. N., Hillier S. L.: Sex. *Transm. Dis.* 2007, 34, 392-396.
5. Anderson N. L., Grahn R. A., Van Hoosear K., Bondurant R. H.: Studies of trichomonad protozoa in free ranging songbirds: prevalence of *Trichomonas gallinae* in house finches (*Carpodacus mexicanus*) and corvids and a novel trichomonad in mockingbirds (*Mimus polyglottos*). *Vet. Parasitol.* 2009, 161, 178-186.
6. Atlas R. M.: Handbook of Microbiological Media. Thrid Edition. CRC Press LCC Boca Raton 2004, vol 2, p. 1859-1863.
7. Badera C., Chelladurai J. J., Thompson K., Halla C., Carlson S. A., Brewera M. T.: Evaluation of high-throughput assays for in vitro drug susceptibility testing of *Trichomonas foetus* trophozoites. *Vet. Parasitol.* 2016, 223, 34-37.
8. Benchimol M.: The Mastigont System in Trichomonads, [w:] de Souza W. (ed.): Structures and Organelles in Pathogenic Protists, [w:] Steinbüchel A. (series ed.): Microbiology Monographs. Springer 2010, 17, 1-26.
9. Benchimol M., de Andrade Rosa I., da Silva Fontes R., Burla Dias A. J.: *Trichomonas* adhere and phagocytose sperm cells: adhesion seems to be a prominent stage during interaction. *Parasitol. Res.* 2008, 102, 597-604.
10. Benchimol M., Ribeiro K. C., Mariante R. M., Alderete J. F.: Structure and division of the Golgi complex in *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *EJCB* 2001, 80, 593-607.
11. Borchardt K. A., Smith R. F.: An evaluation of an InPouch TV culture method for diagnosing *Trichomonas vaginalis* infection. *Genitourin. Med.* 1991, 67, 149-152.
12. Borges F. P., Gottardi B., Stuepp C., Larré A. B., de Brum Vieira P., Tasca T., De Carli G. A.: Morphological aspects of *Monocercomonas* sp. and investigation on probable pseudocysts occurrence. *Parasitol. Res.* 2007, 101, 1503-1509.
13. Borges F. P., Wiltuschnig R. C., Tasca T., De Carli G. A.: Scanning electron microscopy study of *Tritrichomonas augusta*. *Parasitol. Res.* 2004, 94, 158-161.
14. Bóznér P., Dece P.: Cell-associated and extracellular proteolytic activity of an oral flagellate *Trichomonas tenax*. *Arch. Oral. Biol.* 1991, 36, 77-83.
15. Bóznér P., Dece P.: Degradation of collagen types I, III, IV and V by extracellular proteinases of an oral flagellate *Trichomonas tenax*. *Arch. Oral Biol.* 1991, 36, 765-770.
16. Breuker S.: Untersuchungen über Trichomonaden bei Rüden mit Prostataveränderungen. Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Gießen 1995.
17. Carli G. A. de, Tasca T., Pires Borges F.: *Tritrichomonas foetus*: a scanning electron microscopy study of erythrocyte adhesion associated with hemolytic activity. *Vet. Res.* 2004, 35, 123-130.
18. Cepicka I., Hampl V., Kulda J.: Critical taxonomic revision of Parabasalids with description of one new genus and three new species. *Protist* 2010, 161, 400-433.
19. Cepicka I., Kutisová K., Tachezy J., Kulda J., Flegr J.: Cryptic species within the *Tetratrichomonas gallinarum* species complex revealed by molecular polymorphism. *Vet. Parasitol.* 2005, 128, 11-21.
20. Chiche L., Donati S., Corno G., Benoit S., Granier I., Chouraki M., Arnal J. M., Durand-Gasselin J.: *Trichomonas tenax* in pulmonary and pleural diseases. *Presse Med.* 2005, 34, 1371-1372.
21. Chomicz L., Zebrowska J., Zawadzki P., Myjak P., Perkowski K., Rebandel H., Kazimierzczuk Z.: Badania nad wrażliwością *Trichomonas hominis* na czynniki biotyczne. I. Wstępna ocena przeżywalności wiciowców w wybranych mediach w warunkach in vitro. *Wiad. Parazytol.* 2004, 50, 405-409.
22. Cielecka D., Chomicz L., Piekarczyk J., Walski M., Zawadzki P., Bednarczyk A., Szubińska D.: Oral cavity condition and the occurrence of parasitic protozoans in patients with genetic diseases. *Acta Parasitol.* 2000, 45, 107-112.
23. Cielecka D., Grytner-Zięcina B., Turkowicz M., Gierczak A.: Rzęsistkowica jamy ustnej – nowe źródła zarażenia człowieka. Sympozjum „Parazytozy – problemy kliniczne”. Mat. XVI Zjazdu Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Zakaźnych, Białystok 2003, 6, VI, s. 33-36.

24. Cobo E. R., Campero C. M., Mariante R. M., Benchimol M.: Ultrastructural study of a tetratrichomonad species isolated from prepuccial smegma of virgin bulls. *Vet. Parasitol.* 2003, 117, 195-211.
25. Dan M., Sobel J. D.: Failure of nitazoxanide to cure trichomoniasis in three women. *Sex Transm. Dis.* 2007, 34, 813-814.
26. Duboucher C., Caby S., Dufernez F., Chabé M., Gantois N., Delgado-Viscogliosi P., Billy C., Barré E., Torabi E., Capron M., Pierce R. J., Dei-Cas E., Viscogliosi E.: Molecular identification of Trichomonas foetus-like organisms as coinfecting agents of human Pneumocystis pneumonia. *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44, 1165-1168.
27. Duboucher C., Farto-Bensasson F., Cheron M., Peltier J. Y., Beauvils F., Perie G.: Lymph node infection by Trichomonas tenax: report of a case with co-infection by Mycobacterium tuberculosis. *Hum. Pathol.* 2000, 31, 1317-1321.
28. Duboucher C., Mogenet M., Perie G.: Salivary trichomoniasis. A case report of infestation of a submaxillary gland by Trichomonas tenax. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1995, 119, 277-279.
29. Dudko A., Kurnatowska A. J.: Występowanie Trichomonas tenax i grzybów u pacjentów z chorobami przyzębia. *Mikol. Lek.* 2007, 14, 227-232.
30. El Kamel A., Rouetbi N., Chakroun M., Battikh M.: Pulmonary eosinophilia due to Trichomonas tenax. *Thorax.* 1996, 51, 554-555.
31. Felleisen R. S.: Comparative sequence analysis of 5.8S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) regions of trichomonadid protozoa. *Parasitology* 1997, 115, 111-119.
32. Frey C. F., Müller N.: Trichomonas systematics of an enigmatic genus. *Mol. Cell. Probes.* 2012, 26, 132-136.
33. Germot A., Brugerolle G., Viscogliosi E.: The undulating membrane of trichomonads – The structure and immunolabelling of its cytoskeleton. *Eur. J. Protistol.* 1996, 32, 298-305.
34. Gookin J. L., Copple C. N., Papich M. G., Poore M. F., Stauffer S. H., Birkenheuer A. J., Twedt D. C., Levy M. G.: Efficacy of ronidazole for treatment of feline Tritrichomonas foetus infection. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, 20, 536-543.
35. Gookin J. L., Stauffer S. H., Coccato M. R., Poore M. F., Levy M. G., Papich M. G.: Efficacy of tinidazole for treatment of cats experimentally infected with Tritrichomonas foetus. *Am. J. Vet. Res.* 2007, 68, 1085-1088.
36. Grytner-Zięcina B., Cielecka D., Jaworski J., Borsuk P., Turkowicz M.: First reports of trichomonosis of the human oral cavity induced by Tetratrichomonas canistomae. *Acta Parasitol.* 2000, 45, 207.
37. Grzegorzczak-Jaźwińska A., Cielecka D., Górka R., Gierczak A.: Wpływ fazy przyczynowej zapalenia przyzębia na rozpoznawanie inwazji Trichomonas tenax. *Czas. Stomatol.* 1997, 50, 160-164.
38. Grzegorzczak-Jaźwińska A., Cielecka D., Górka R., Gierczak A.: Występowanie Trichomonas tenax u osób z zapaleniem przyzębia. *Wiad. Parazytol.* 1997, 43, 405-410.
39. Grzegorzczak-Jaźwińska A., Cielecka D., Juskowa J., Borakowska-Siennicka M., Gierczak A., Ołdakowska-Jedynak U., Turkowicz M.: Występowanie Trichomonas tenax i stan jamy ustnej u pacjentów po przeszczepieniu nerki. *Nowa Stomat.* 2001, 6, 18, 43-45.
40. Gundlach J. L., Sadtzikowski A. B.: Parazytologia i parazytozy zwierząt. PWRiL, Warszawa 2004, s. 14-63.
41. Gundlach J. L., Sadtzikowski A. B., Stepień-Rukasz H., Studzińska M. B., Tomczuk K.: Comparison of some serological methods and coproscopic examinations for diagnosis of Giardia spp. invasion in dogs. *Pol. J. Vet. Sci.* 2005, 8, 137-140.
42. Hampl V., Cepicka I., Flegr J., Tachezy J., Kulda J.: Critical analysis of the topology and rooting of the parabasal 16S rRNA tree. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2004, 32, 711-723.
43. Hampl V., Vrlík M., Cepicka I., Pecka Z., Kulda J., Tachezy J.: Affiliation of Cochlosoma to trichomonads confirmed by phylogenetic analysis of the small-subunit rRNA gene and a new family concept of the order Trichomonadida. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006, 56, 305-312.
44. Hersh S. M.: Pulmonary trichomoniasis and Trichomonas tenax. *J. Med. Microb.* 1985, 20, 1-10.
45. Honigberg B. M.: Trichomonads of importance in human medicine, [w:] Krieger J. P. (ed.): Parasitic Protozoa. Academic Press Inc., New York 1978, s. 275-454.
46. Honigberg B. M.: Evolutionary and systematic relationships in the flagellate order Trichomonadida Kirby. *J. Protozool.* 1963, 10, 20-63.
47. Honigberg B. M.: Trichomonads found outside the urogenital tract of humans, [w:] Honigberg B. M. (ed.): Trichomonads parasitic in humans. Springer-Verlag, New York 1990, s. 342-393.
48. Huppert J. S., Mortensen J. E., Reed J. L., Kahn J. A., Rich K. D., Miller W. C., Hobbs M. M.: Rapid antigen testing compares favorably with transcription-mediated amplification assay for the detection of Trichomonas vaginalis in young women. *Clin. Infect. Dis.* 2007, 15, 45, 194-198.
49. Jarrad A. M., Debnath A., Miyamoto Y., Hansford K. A., Pelington R., Butler M. S., Bains T., Karoli T., Blaskovich M. A. T., Eckmann L., Cooper M. A.: Nitroimidazole carboxamides as antiparasitic agents targeting Giardia lamblia, Entamoeba histolytica and Trichomonas vaginalis. *Eur. J. Med. Chem.* 2016, 120, 353-362.
50. Jesus J. B., Vannier-Santos M. A., Britto C., Godefroy P., Silva-Filho F. C., Pinheiro A. A., Rocha-Azevedo B., Lopes A. H., Meyer-Fernandes J. R.: Trichomonas vaginalis virulence against epithelial cells and morphological variability: the comparison between a well-established strain and a fresh isolate. *Parasitol. Res.* 2004, 93, 369-377.
51. Kadłubowski R.: Zarys parazytologii lekarskiej. PZWL, Warszawa 1972, s. 9-33.
52. Kazubski S. L.: Budowa i ewolucja Trichomonadida. *Wiad. Parazytol.* 1990, 36, 175-180.
53. Kazubski S. L., Niewiadomska K.: Trichomonadida i ich żywicieli. *Wiad. Parazytol.* 1990, 36, 181-186.
54. Kuehner K. A., Marks S. L., Kass P. H., Sauter-Louis C., Grahn R. A., Barutzi D., Hartmann K.: Tritrichomonas foetus infection in purebred cats in Germany: prevalence of clinical signs and the role of co-infection with other enteroparasites. *J. Feline. Med. Surg.* 2011, 13, 251-258.
55. Kulda J.: Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *Int. J. Parasitol.* 1999, 29, 199-212.
56. Kumik G.: Metody laboratoryjne stosowane w diagnostyce zarażeń powodowanych przez Trichomonas vaginalis. *Zakazenia.* 2007, 5. http://www.zakazenia.org.pl/index.php?okno=7&id=440&art_type=23
57. Kurnatowska A. J.: Niektóre parametry odporności humoralnej i komórkowej żywiciela a inwazje Trichomonas tenax. *Stomatol. Współcz.* 1997, 4, 3, 191-193.
58. Kurnatowska A. J.: Prevalence of Trichomonas tenax (O. F. Müller, 1773) Dobell, 1939, infection among dental patients: the state of oral cavity, convergence with different clinical diagnoses. *Minerva Ortopediatr.* 1996, 14, 7-10.
59. Kurnatowska A. J., Dudko A., Kurnatowski P.: Inwazja Trichomonas tenax u pacjentów z chorobami przyzębia. *Wiad. Parazytol.* 2004, 50, 3, 397-403.
60. Kurnatowska A. J., Dudko A., Turkowicz M.: Rodzinne zarażenia Trichomonas tenax (O. F. Müller, 1773) Dobell, 1939. *Wiad. Parazytol.* 2004, 50, 1, 35-40.
61. Kurnatowska A., Kurnatowska A. J.: Zbieżność zarażenia Trichomonas tenax (O. F. Müller, 1773, Dobell, 1939), ze zmianami przyzębia i błony śluzowej jamy ustnej. *Wiad. Parazytol.* 1981, 27, 286-293.
62. Kurnatowska A., Kurnatowska A. J.: Trudności w rozpoznawaniu rzęśstkowicy powikłanej grzybicą jamy ustnej. *Wiad. Parazytol.* 1990, 36, 237-243.
63. Kurnatowska A., Kurnatowski P.: Rzęśstkowica jamy ustnej powikłana grzybicą (Trichomonosomycosis). *Wiad. Parazytol.* 1999, 45, 129-133.
64. Kutisova K., Kulda J., Cepicka I., Flegr J., Koudela B., Teras J., Tachezy J.: Tetratrichomonads from the oral cavity and respiratory tract of humans. *Parasitology* 2005, 131, 309-319.
65. Lim S., Park S. I., Ahn K. S., Oh D. S., Ryu J. S., Shin S. S.: First report of feline intestinal trichomoniasis caused by Tritrichomonas foetus in Korea. *Korean J. Parasitol.* 2010, 48, 247-251.
66. Lim S., Park S. I., Ahn K. S., Oh D. S., Shin S. S.: Efficacy of ronidazole for treatment of cats experimentally infected with a Korean isolate of Tritrichomonas foetus. *Korean J. Parasitol.* 2012, 50, 161-164.
67. Ma L., Meng Q., Cheng W., Sung Y., Tang P., Hu S., Yu J.: Involvement of the GP63 protease in infection of Trichomonas vaginalis. *Parasitol. Res.* 2011, 109, 71-79.
68. Mantini C., Souppart L., Noël C., Duong T. H., Mornet M., Carroger G., Dupont P., Masseret E., Goustille J., Capron M., Duboucher C., Dei-Cas E., Viscogliosi E.: Molecular characterization of a new Tetratrichomonas species in a patient with empyema. *J. Clin. Microbiol.* 2009, 47, 2336-2339.
69. Mariante R. M., Lopes L. C., Benchimol M.: Tritrichomonas foetus pseudocysts adhere to vaginal epithelial cells in a contact-dependent manner. *Parasitol. Res.* 2004, 92, 303-312.
70. Maritz J. M., Land K. M., Carlton J. M. I., Hirt R. P.: What is the importance of zoonotic trichomonads for human health? *Trends Parasitol.* 2014, 30, 333-341.
71. Mehlhorn H., Al-Quraishy S., Amin A., Hess M.: Fine structure of the bird parasites Trichomonas gallinae and Tetratrichomonas gallinarum from cultures. *Parasitol. Res.* 2009, 105, 751-756.
72. Munoz E., Castella J., Gutierrez J. F.: In vivo and in vitro sensitivity of Trichomonas gallinae to some nitroimidazole drugs. *Vet. Parasitol.* 1998, 78, 239-246.
73. Nagao E., Yamamoto A., Igarashi T., Goto N., Sasa R.: Two distinct hemolysins in Trichomonas tenax ATCC 30207. *Oral Microbiol. Immunol.* 2000, 15, 355-359.
74. Narcisi E. M., Secor W. E.: In Vitro Effect of Tinidazole and Furazolidone on Metronidazole-Resistant Trichomonas vaginalis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996, 40, 1121-1125.

75. Ohira T., Noguchi H.: The cultivation of trichomonas of the human mouth (Tetratrichomonas hominis). J. Exp. Med. 1917, 25, 341-347.
76. Pereira-Neves A., Benchimol M.: The ultrastructure and behavior of the pseudocyst form in the parasite Tritrichomonas foetus. Acta Microscop. 2009, 18, 499-500.
77. Pereira-Neves A., Campero C. M., Martínez A., Benchimol M.: Cytotoxic effects exerted by Tritrichomonas foetus pseudocysts. Protist. 2012, 163, 529-543.
78. Pereira-Neves A., Ribeiro K. C., Benchimol M.: Pseudocysts in trichomonads – New insights. Protist. 2003, 154, 313-329.
79. Pereira-Neves A., Campero C. M., Martínez A., Benchimol M.: Identification of Tritrichomonas foetus pseudocysts in fresh preputial secretion samples from bulls. Vet. Parasitol. 2011, 175, 1-8.
80. Petrin D., Delgaty K., Bhatt R., Garber G.: Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. Clin. Microbiol. Rev. 1998, 11, 300-317.
81. Reinert J., Gerold S., Scheurlen U., Daniels R., Wölm M., Iglauder F.: Behandlung einer an Tritrichomonas foetus erkrankten Katzen-Kolonie mittels Ronidazoltableten unter verzögerter Wirkstofffreisetzung im Dünndarm. Prakt. Tierarzt. 2016, 97, 16-25.
82. Ribaux C. L., Magloire H. H., Joffe A. A., Morrier J. J.: Immunohistochemical localization of fibronectin-like protein on the cell surface of the oral flagellate Trichomonas tenax. J. Biol. Buccale. 1983, 11, 1, 41-51.
83. Sarowska J., Wojnicz D., Kaczowski H., Jankowski S.: Występowanie Entamoeba gingivalis i Trichomonas tenax u pacjentów ze schorzeniami przyzębia, w stanie immunosupresji i z chorobami genetycznymi. Adv. Clin. Exp. Med. 2004, 13, 2, 291-297.
84. Segovic S., Buntak-Kobler D., Galic N., Katunarić M.: Trichomonas tenax proteolytic activity. Coll. Antropol. 1998, 22, 45-49.
85. Shiota T., Arizono N., Morimoto T., Shimatsu A., Nakao K.: Trichomonas tenax empyema in an immunocompromised patient with advanced cancer. Parasite 1998, 5, 375-377.
86. Skirrow S., BonDurant R., Farley J., Correa J.: Efficacy of ipronidazole against trichomoniasis in beef bulls. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1985, 187, 405-407.
87. Sommer U., Costello C. E., Hayes G. R., Beach D. H., Gilbert R. O., Lucas J. J., Singh B. N.: Identification of Trichomonas vaginalis cysteine proteases that induce apoptosis in human vaginal epithelial cells. J. Biol. Chem. 2005, 280, 23853-23860.
88. Szczepaniak K., Łojczyk-Szczepaniak A., Tomczuk K., Skrzypek T. H., Lisiak B., Abd-Al-Hammza Abbass Z.: Canine Trichomonas tenax mandibular gland infestation. Acta Vet. Scand. 2016, doi: 10.1186/s13028-016-0197-4.
89. Tachezy J., Tachezy R., Hampl V., Sedinová M., Vanáčová S., Vrlik M., Van Ranst M., Flegr J., Kulda J.: Cattle pathogen Tritrichomonas foetus (Riedmüller, 1928) and pig commensal Tritrichomonas suis (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. J. Euk. Microbiol. 2002, 49, 154-163.
90. Tasca T., De Carli G. A.: Growth kinetic study of Tetratrichomonas didelphidis isolated from opossum Lutreolina crassicaudata and interaction with a prokaryotic cell. Parasitol. Res. 2001, 87, 626-630.
91. Tasca T., De Carli G. A.: Scanning electron microscopy study of Trichomonas gallinae. Vet. Parasitol. 2003, 118, 37-42.
92. Taxonomy NCBI Browser – National Institutes of Health. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=5719>
93. Turkowicz M.: Znaczenie metody PCR-RFLP w wykrywaniu i różnicowaniu gatunków rzęsiśtków jamy ustnej. Praca doktorska, Akademia Medyczna w Warszawie 2004.
94. Walker R. L., Hayes D. C., Sawyer S. J., Nordhausen R. W., Van Hoosear K. A., BonDurant R. H.: Comparison of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions of trichomonadid protozoa recovered from the bovine preputial cavity. J. Vet. Diagn. Invest. 2003, 15, 14-20.
95. Wantland W. W., Wantland E. M., Winquist D. L.: Collection, identification, and cultivation of oral protozoa. J. Dent. Res. 1963, 42, 1234-1241.
96. Wójcik A., Kurnatowska A.: Aktywność hydrolaz szczepów Trichomonas vaginalis Donnè, Wiad. Parazytol. 2001, 47 (Suppl 1), 13-17.
97. Yamamoto A., Asaga E., Nagao E., Igarashi T., Goto N.: Characterization of the cathepsin B-like proteinase of Trichomonas tenax ATCC 30207. Oral Microbiol. Immunol. 2000, 15, 360-364.
98. Yao C.: Opportunistic human infections caused by Tritrichomonas species. Clin. Microbiol. Newsl. 2012, 34, 127-131.
99. Yao C., Köster L. S.: Tritrichomonas foetus infection, a cause of chronic diarrhea in the domestic cat. Vet. Res. 2015, 46, 35-39.
100. Złotorzycka J., Lonc E., Majewska A. C., Okulewicz A., Pojmańska T., Wędrychowicz H.: Słownik Parazytologiczny. PTP, Warszawa 1998, s. 154.
101. Zygmier W.: Diagnostyka i zwalczanie rzęsiśtkowicy u kotów. Życie Wet. 2013, 88, 132-135.

Adres autora: dr Klaudiusz Szczepaniak, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin; e-mail: k.o.szczepaniak@gmail.com