

Chlamydie środowiskowe – potencjalne patogeny człowieka i zwierząt

MAŁGORZATA PAWLIKOWSKA, WIESŁAW DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych USz, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

Pawlikowska M., Deptuła W.

Environmental Chlamydia – potential pathogens for humans and animals

Summary

To date research on Chlamydia – intracellular bacteria causing many diseases in animals and humans, has concentrated on Chlamydia sp. and Chlamydophila sp. pathogens forming the Chlamydiaceae family in the Chlamydia order. Recently, thanks to the techniques of molecular biology, the taxonomy of order for Chlamydiales has been extended to three new families: Parachlamydiaceae, Simkaniaceae and Waddliaceae. Those families includes germs isolated as endosymbionts of protozoa, sludge, insects, isopods, fishes, bats, cattle and as cell culture contaminants. Environmental Chlamydia are included amongst those microorganisms and are considered to be potential pathogens of humans and animals.

Keywords: Chlamydia

Chlamydie są zarazkami powodującymi u ludzi i u zwierząt wiele schorzeń oraz zakażenia objawowe, bezobjawowe, utajone, a także latentne (10). Obecnie wśród nich wyodrębniono tzw. chlamydie środowiskowe reprezentowane przez trzy rodziny (*Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae*) (tab. 1), które prezentujemy w tej pracy.

Charakterystyka rodziny *Parachlamydiaceae*

Rodzinę *Parachlamydiaceae*, należącą do rzędu *Chlamydiales*, tworzą obecnie dwa rodzaje zarazków: *Parachlamydia*, *Neochlamydia*, a także *Candidatus Protochlamydia amoebophila*, jak też inne endosymbionty środowiska wodnego (tab. 1). Przynależność tych zarazków do rzędu *Chlamydiales* spowodowana jest 80-90% identycznością genów rybosomalnych oraz typowym cyklem rozwojowym dla chlamydii (10). Nie są one jednakże rozpoznawalne przez przeciwciała monoklonalne dla trisacharydu Kdo LPS – charakterystycznego dla rodziny *Chlamydiaceae* (10).

Rodzaj *Parachlamydia* (P.) jest reprezentowany przez gatunek *P. acanthamoebae*, do którego należą szczepy Bn₉, Berg₁₇ i kilka izolatów bez nazwy (szczepy UWE1, UWC22, TUME1) (1, 9, 21). Wykazano je w trofozoitach *Acanthamoeba*, którą izolowano od ludzi z epidemią wilgotnej gorączki w Vermont USA (Hall's coccus), a także od kobiety w Niemczech nie wykazującej objawów chorobowych (9, 10). Cechą charakterystyczną *P. acanthamoebae* jest występowanie w jej cyklu życiowym trzeciej formy roz-

wojowej, tzw. ciałek księżycowych (crescend bodies), które obserwuje się przy przedłużonej inkubacji tak wewnątrz ameb, jak i poza nimi (16).

Rodzaj *Neochlamydia* (N.) reprezentowany jest przez gatunek *N. hartmannellae* (szczep typowy A₁Hsp oraz inne) bytujący wewnątrz ameb *Hartmanella* (*H. vermiformis*), a który może również namnażać się u ameb *Dictyostelium discoideum* (21). Gatunek ten po raz pierwszy wyizolowano z ameb *H. vermiformis* odfiltrowanych z systemu wodnego jednostki dentystycznej w Lahnstein w Niemczech (21). Sugeruje się, że ze względu na powszechność ich występowania jako endosymbiontów ameb wodnych, mogą stanowić one duże zagrożenie dla człowieka, gdyż wykazano związek *N. hartmanella* z gorączką wilgotną (Hall's coccus) oraz z syndromem Kawasaki u ludzi (17). Mikroorganizm ten w odróżnieniu od innych zarazków z rzędu *Chlamydiales* charakteryzuje się tym, że jego ciała elementarne i siateczkowate – elementy cyklu rozwojowego, umieszczone są bezpośrednio w cytoplazmie i nie są otoczone wakuolą, co może świadczyć o istnieniu tzw. mechanizmów ucieczkowych tych zarazków z fagosomów (21).

Candidatus Protochlamydia amoebophila to dawniejszy szczep UWE25, który był klasyfikowany jako rodzaj *Parachlamydia* sp. (10), jednak obecnie po dokładniejszej analizie 16S rRNA, 23S rRNA oraz analizie genów endorybonukleazy P (RNase P) i 44 białek rybosomalnych, sklasyfikowano go jako nowy gatunek (4). Zarazek ten wprawdzie wykazuje podo-

Tab. 1. Systematyka rzędu *Chlamydiales* (1-7, 9, 10, 12, 13, 18-21, 23, 24, 26, 27, 29, 30, 32-34, 36)

Rząd	<i>Chlamydiales</i>				
Rodzina	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Parachlamydiaceae</i>	<i>Simkaniaceae</i>	<i>Waddliaceae</i>	Chlamydie niesklasyfikowane
Rodzaj i gatunek	Rodzaj: <i>Chlamydia</i> (<i>Ch.</i>) Gatunek: <i>Ch. trachomatis</i> <i>Ch. suis</i> <i>Ch. muridarum</i> Rodzaj: <i>Chlamydomphila</i> (<i>Chl.</i>) Gatunek: <i>Chl. psittaci</i> <i>Chl. abortus</i> <i>Chl. felis</i> <i>Chl. caviae</i> <i>Chl. pecorum</i> <i>Chl. pneumoniae</i>	Rodzaj: <i>Parachlamydia</i> (<i>P.</i>) Gatunek: <i>P. acanthamoebae</i> Rodzaj: <i>Neochlamydia</i> (<i>N.</i>) Gatunek: <i>N. hartmannellae</i>	Rodzaj: <i>Simkania</i> (<i>S.</i>) Gatunek: <i>S. negevensis</i> Rodzaj: <i>Fritschea</i> Gatunek: <i>Candidatus Fritschea bemisiae</i> <i>Candidatus Fritschea eriococci</i>	Rodzaj: <i>Waddlia</i> (<i>W.</i>) Gatunek: <i>W. chondrophila</i> <i>W. malaysiensis</i>	<i>Candidatus Piscichlamydia salmonis</i> Bakterie chlamydiopodobne**
Inne gatunki	ECL VII*	<i>Candidatus Protochlamydia amoebophila</i> ; Inne endosymbionty (<i>Parachlamydia</i> sp. UV-7; ECL I-V, VII*)	<i>Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis</i> ; ECL VI	Brak danych	

Objaśnienia: ECL – chlamydialne linie środowiskowe (environmental chlamydiae lineage); * – szczepy tej linii wykazują 87-89% podobieństwo do bakterii rodziny *Chlamydiaceae*; ** – sugeruje się, że zarazki te przynależą do rzędu *Chlamydiales* – grupa chlamydie niesklasyfikowane (5, 33)

bieństwo do *P. acanthamoebae* szczep Bn₉, tylko w 92,9% w zakresie 16S rRNA i 90,3% w zakresie 23S rRNA (4), jednakże analiza filogenetyczna wykazała, że zarazek UWE25 tworzy monofiletyczną grupę w rodzinie *Parachlamydiaceae* (4). Cechą tego endosymbiontu jest to, iż występuje w komórce gospodarza ameby *Acanthamoeba* wewnątrz małych inkluzji, w których znajduje się jedna lub kilka bakterii (1, 21). Ponadto genom tego zarazka (2,4 Mb) jest prawie dwukrotnie większy od drobnoustrojów z rodziny *Chlamydiaceae* (1-1,2 Mb), a także zawartość G+C u nich jest mniejsza (35,8 mol%) niż w genomie *Chlamydiaceae* (39,2-41,3 mol%) (19). Nadto w ich błonie zewnętrznej znajduje się wiele białek bogatych w cysteinę, ale brak jest charakterystycznych białek MOMP – swoistych dla bakterii z rzędu *Chlamydiales* (4). Ciekawostką jest to, że mikroorganizm UWE25 posiada geny kodujące LPS, ale brak jest genów kodujących biosyntezę polisacharydu O (19). Jako pasożyt energetyczny, tak jak wszystkie chlamydie, posiada w odróżnieniu od pozostałych zarazków z rzędu *Chlamydiales* – które mają tylko 2 takie transportery, aż 5 izoform transporterów nukleotydów (pc0240, pc0241, pc0250, pc0485, pc1343) (19). Także w genomie tego endosymbionta znajdują się geny kodujące system sekrecyjny typu III (TTSS – type three secretion system), który posiadają wszystkie chlamydie, gdyż warunkuje on ich patogenność (19). Przypuszcza się także, że UWE25 jest zdolny do interakcji z komórką gospodarza poprzez typ IV systemu sekrecyjnego (TFSS – type four secretion system), gdyż geny kodujące ten system, znaleziono w jego genomie (19). Kolejną jego charakterystyczną cechą jest występowanie siedmiu modułów wysp genomowych w chromosomie, a jedna z nich zawiera geny kodujące F-podobny system koniugacyjny DNA (F-like conjugative DNA transfer) (15).

Inne endosymbionty środowiska wodnego. Wykazano, że większość zarazków z tej grupy, dla których siedliskiem są m.in. pierwotniaki, tworzą także rodzinę *Parachlamydiaceae* (3, 20). Badania Horna i Wagnera (20) dotyczące mułu z wody pochodzącej z systemów nawadniania roślin w Niemczech pod kątem występowania genów kodujących 16S rRNA charakterystycznych dla rzędu *Chlamydiales* (z wyłączeniem rodziny *Chlamydiaceae*), a następnie 16S rDNA konserwatywnych dla domeny *Bacteria*, wykazały istnienie 11 próbek dodatnich, które posiadały materiał genetyczny podobny do bakterii z rzędu *Chlamydiales*. Na tej podstawie opisano siedem linii, które nazwano chlamydialnymi liniami środowiskowymi (ECL – environmental chlamydiae lineage). Cztery nowe linie ewolucyjne, jak dotąd nieznanne w obrębie rzędu *Chlamydiales*, oznaczono ECL I, ECL II, ECL VI oraz ECL VII, a pozostałe trzy nazwano chlamydiami niezwykłymi i oznaczono ECL III, ECL IV i ECL V (20). Szczegółowa analiza sekwencji 16S rRNA wykazała, że każda z czterech nowych linii reprezentuje nieznanne rodzaje. I tak ECL I i ECL II tworzą rodzinę *Parachlamydiaceae*, gdyż wykazują odpowiednio 87-90% i 91% podobieństwo z nią, ECL VI w 88% wykazuje podobieństwo do *Simkania negevensis*, zaś ECL VII tworzy monofiletyczną grupę wykazującą 87-89% podobieństwo z *Chlamydiaceae* (20). Linie oznaczone jako ECL III-V obejmujące, na podstawie podobieństwa 16S rRNA, niezwykle chlamydie znalazły się także w rodzinie *Parachlamydiaceae* (20). Inny zespół badaczy (3) pozyskał również z mułu pochodzącego z systemu nawadniania roślin w Niemczech chlamydialny szczep UV-7, który dodany do hodowli ameby *Acanthamoeba* sp. UWC1 oraz do linii komórkowych ssaków (Vero, Hela 229, NCI-H292) powodował zakażenie i zmiany w tych hodowlach (3). Przy użyciu mikroskopu elektronowego, po 7 dniach od za-

każenia hodowli ameb, wykazano w ich trofozoitach obecność okrągłych bakterii wewnątrzkomórkowych zlokalizowanych w wakuolach, w postaci ciałek EB o średnicy 0,3-0,5 μm , ciałek RB o średnicy 0,5-0,7 μm , a także ciałek księżycowych (CB) – charakterystycznych dla rodziny *Parachlamydiaceae* (3). Analiza genetyczna tych endosymbiontów wykazała aż 98,2-98,7% podobieństwo do rodziny *Parachlamydiaceae*, a w szczególności do *Parachlamydia acanthamoebae* szczep Bn₉ (98,7%) (3). Trzeba stwierdzić, że podobieństwo sekwencji 16S rRNA w granicach 97,5% pozwala na utworzenie nowego rodzaju (10), jednakże autorzy (3) nazwali odkryty endosymbiont *Parachlamydia sp.* UV-7 (Uniwersytet Wiedeński, izolat nr 7), który po zakażeniu hodowli komórkowych ssaków, „daje” infekcję w postaci trzech form (EB, RB, CB) i tworzy małe inkluzje wewnątrz komórek (3). Drobnoustrój ten charakteryzuje się także opóźnionym tempem infekcji w komórkach ssaczy, w stosunku do komórek ameb (3).

Charakterystyka rodziny *Simkaniaceae*

Rodzinę *Simkaniaceae* tworzą dwa rodzaje: *Simkania* z jednym gatunkiem i *Fritschea* z dwoma gatunkami oraz gatunek *Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis* (tab. 1).

Rodzaj *Simkania* (*S.*) reprezentuje gatunek *S. negevensis*, który izolowano jako wtę z hodowli komórkowych i nazwano go mikroorganizm „Z” (24). Zarazek ten nie jest rozpoznawalny przez przeciwciała monoklonalne dla trisacharydu LPS $\alpha\text{Kdo}-(2\rightarrow8)-\alpha\text{Kdo}-(2\rightarrow4)-\alpha\text{Kdo}$, typowego „znaku” dla rodziny *Chlamydiaceae* (10). Przynależność jego do rzędu *Chlamydiales* warunkowana jest identycznością genów rybosomalnych, która wynosi 80-90%, cyklem rozwojowym oraz faktem, że rozmnażają się tak jak zarazki z rzędu *Chlamydiales*, jedynie w żywych komórkach (10, 24, 26). Ich cykl rozwojowy składający się z dwu form – ciała elementarnego i ciała siateczkowatego, nie trwa jednakże 48-72 godzin, jak u typowych przedstawicieli rzędu *Chlamydiales*, ale wynosi 12-15 dni (24, 26). Analiza genetyczna sekwencji 16S rDNA wykazała ich 83% podobieństwo do chlamydii (27). Wykazano także, że zarazek ten posiada grupę I intronów w sekwencji 23S rRNA, która jest także spokrewniona z analogicznymi odcinkami chloroplastów oraz mitochondrii alg (*Chlamydomonas eugametos*, *Chlamydomonas pallidostigmatica*) i ameby (*Acanthamoeba castellanii*) (11). Bakterię *S. negevensis* izolowano ponadto z zapalenia oskrzeli od dzieci i osób dorosłych w Izraelu (23, 25, 31, 32). Stwierdzono także wysoki poziom przeciwciał anti-*Simkania* u dorosłych ludzi w Kanadzie w populacji Inuitów (14, 31) oraz w Japonii (37). Oprócz tego zanotowano przypadki izolowania tej bakterii z zasobów wody do picia oraz ze ścieków (28). Wykazano także, że zarazek ten zakaża ameby *Acanthamoeba polyphaga*, przez co może stanowić zagrożenie także dla człowieka (22).

Rodzaj *Fritschea* (*F.*) reprezentowany jest przez dwa gatunki *F. bemisiae* i *F. eriococci* (12, 36), które izolowano z bakteriocytów jelit owadów mącznik ostroskrzydły (*Bemisia tabacci*) i czerwec wiązowiec (*Eriococci spurius*) (36). Badania sekwencji 16S-23S rRNA wykazały 91% podobieństwo tych bakterii do przedstawicieli rodziny *Simkaniaceae* (12, 36), uznano je za nowy rodzaj w obrębie tej rodziny (12) i nazwano *Candidatus Fritschea bemisiae* oraz *Candidatus Fritschea eriococci*, gdyż nie udało się ich jak do tej pory wyhodować w hodowli tkankowej. Zarazki te wykazują powyżej 80% podobieństwo sekwencji rRNA do gatunków z rzędu *Chlamydiales*, pasożytują wewnątrzkomórkowo i cechują się charakterystycznym dwufazowym cyklem rozwojowym (12). Dowiedziono, że dla *Candidatus Fritschea bemisiae* szczepem wzorcowym jest szczep Falk, a dla *Candidatus Fritschea eriococci* szczep Elm (12).

Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis to bakteria wewnątrzkomórkowa wyizolowana z wątrobotrzustki równonoga prosionka szorstkiego (*Porcellio scaber*), która także należy do rodziny *Simkaniaceae* (30). Początkowo endosymbiont ten był sklasyfikowany jako riketsja (8), ale badania morfologiczne, w tym barwienie metodą Gimeneza oraz reakcja krzyżowa z surowicami anti-*Ch. trachomatis* i anti-*Ch. psittaci*, zakwalifikowały go do chlamydii i zaproponowano nazwę *Chlamydia isopodii* (35), jednakże nie zostało to zaakceptowane przez Międzynarodowy Komitet ds. Systematyki Bakteryjnej. Analiza 16S rRNA pozwoliła na określenie przynależności tej bakterii do rzędu *Chlamydiales* (30), zaś badania w mikroskopie elektronowym wykazały u niego trzy formy morfologiczne: sferyczne ciało siateczkowate, sferyczne wczesne ciało elementarne, tzw. formę pośrednią oraz dojrzałe ciało elementarne – kształtu laseczki (8). Analiza sekwencji 16S rRNA tego zarazka wykazała 90,5-91,7% podobieństwo do analogicznej sekwencji zarazków określanymi jako ECL VI, przy podobieństwie sekwencji rybosomalnych, w stosunku do rzędu *Chlamydiales* tylko w 83,1-87,2% (30). Analiza filogenetyczna dowiodła, że *Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis* tworzy niezależną linię w rzędzie *Chlamydiales*, która jest blisko spokrewniona z ECL VI, a nieco zdystansowana do *S. negevensis* szczep Z^T (86,7% podobieństwo) (30). Mikroorganizm ten nie daje się hodować na podłożach naturalnych, jest bakterią nieruchliwą, posiadającą ścianę komórkową Gram-ujemną bez warstwy peptydoglikanu i w komórkach gospodarza tworzy wakuole (30).

Charakterystyka rodziny *Waddliaceae*

Rodzinę tę reprezentuje tylko jeden rodzaj *Waddlia* (*W.*) z dwoma gatunkami (tab. 1).

Gatunek *W. chondrophila* izolowano z komórek poronionego płodu bydła w pierwszym trymestrze ciąży i pierwotnie został określony jako WSU 86-1044 (6). Na początku, ze względu na cykl replikacyjny,

uznano ten zarazek za riketsję (6, 10, 29, 34), choć obecnie analizą sekwencji 16S rRNA (podobieństwo 84,7-85,3%) zaklasyfikowano go do rzędu *Chlamydiales*. Zarazek ten barwi się Gram-ujemne, nie produkuje glikogenu, a jego LPS pozbawiony jest charakterystycznego dla chlamydii trisacharydu α Kdo-(2 \rightarrow 8)- α Kdo-(2 \rightarrow 4)- α Kdo oraz nie reaguje z przeciwciałami dla rikettsia, coxiella, wolbachia, a nawet chlamydia, a jedynie słabą reakcją wykazuje z przeciwciałami dla *Cowdria ruminantum* (10, 34). Bakterię tę izolowano także z ronień u bydła w 228. dniu ciąży (18).

Drugi gatunek, *W. malaysiensis*, to wewnątrzkomórkowa bakteria izolowana z odchodów nietoperzy *Eonycteris spelaea* w Malezji (2). W hodowli Vero zarazek ten po 48-72 godzinach od zakażenia odchodami nietoperzy daje inkluzje zawierające małe komórki bakteryjne. Podobny efekt zaobserwowano w linii hodowlanej z ludzkiej tkanki płucnej (MRC-5), nerek (HEK), krtani (HEp-2), linii B-limfoblastycznej oraz małpiej nerki (LLC-MK2), a także linii epitelialnej gryzoni (3T3, BHK) (24). Drobnoustrój ten w hodowli HEK po 48 godzinach od infekcji wytwarza ciążka siateczkowate dzielące się poprzez podział podwójny, a ich inkluzje można wybarwić metodą Giemzy (2). Analiza sekwencji 16S i 23S rRNA tych zarazków wykazała 91%, a przestrzeni 16S-23S rRNA 96% podobieństwo do sekwencji *W. chondrophila* (2).

Chlamydie niesklasyfikowane

Przyjmuje się, że ta grupa zarazków utworzona jest przez *Candidatus Piscichlamydia salmonis* oraz bakterie chlamydiopodobne (tab. 1). Ten pierwszy zarazek został stwierdzony w skrzelach łososi hodowlanych w Irlandii i Norwegii (7). W próbkach pochodzących z łososi norweskich wykazano, przy pomocy mikroskopii elektronowej, inkluzje zawierające ciążka siateczkowate (RB) o różnym kształcie – wydłużone i kuliste o długości 0,7-1,8 μ m oraz ciążka pośrednie (IB – intermediate bodies) o kształcie od okrągłych do owalnych o długości 0,6-0,8 μ m (7). Natomiast w próbkach ryb pochodzących z Irlandii stwierdzono aż trzy formy rozwojowe tego zarazka: ciążka siateczkowate (RB), pośrednie (IB) oraz elementarne (EB) (7). Różnice te w morfologii ciałek powodują, że przypuszcza się, iż te endosymbionty izolowane ze skrzeli ryb z dwu środowisk (Irlandia, Norwegia), reprezentują dwa różne gatunki (7). Dodatkowo przeprowadzone badania z przeciwciałami monoklonalnymi dla trisacharydu α Kdo-(2 \rightarrow 8)- α Kdo-(2 \rightarrow 4)- α Kdo, charakterystycznego dla rzędu *Chlamydiales*, wykazały, że zachodzi reakcja krzyżowa między nimi, jednak nie wskazuje to na obecność tego trisacharydu, a jedynie świadczy, że w ścianie tych endosymbiontów, są podobne cząsteczki do tegoż związku (7). Natomiast analiza 16S rRNA i 16S rDNA wykazała, że ich sekwencję 16S rRNA cechuje podobieństwo do bakterii rzędu *Chlamydiales*, a w szczególności do endosym-

biontów ameb UWE1 (82%) i UWC22 (81%), a także do *Chlamydophila psittaci* – szczep MN (80%) i *Chlamydophila pneumoniae* – szczep N16 (80%) (7). Analiza filogenetyczna tych zarazków oparta na porównaniu sekwencji 16S rDNA dowiodła, że badane endosymbionty są zbliżone zarówno do bakterii rzędu *Chlamydiales*, jak i *Rickettsiales*, jednakże bakterie te tworzą osobną linię w rzędzie *Chlamydiales* i zaproponowano dla nich nazwę *Candidatus Piscichlamydia salmonis* (7). Sugeruje się, że oprócz tego zarazka do grupy chlamydii niesklasyfikowanych należą wewnątrzkomórkowe, Gram-ujemne, okrągłe bakterie, wyizolowane z cyst skrzelowych łososia atlantyckiego (*Salmo salar*), które charakteryzują się cyklem rozwojowym charakterystycznym dla bakterii rzędu *Chlamydiales* (33) oraz chlamydiopodobny zarazek rozmnażający się także tym cyklem, stwierdzony w komórkach nabłonkowych dorady (*Sparus aurata*) (5).

Podsumowanie

Z przedstawionych faktów wynika, że bakterie określane jako chlamydie środowiskowe są mikroorganizmami dość powszechnie występującymi, a nadto *Parachlamydia acanthamoebae* czy *Simkania negevensis* mogą być potencjalnie patogenne dla człowieka, gdyż ta pierwsza była izolowana od ludzi z syndromu Kawasaki i z przypadków gorączki wilgotnej, zaś druga z zapalenia oskrzeli. Inne, jak *Waddlia chondrophila*, mogą być przyczyną ronień u bydła i powodować straty gospodarcze. Również wykazanie chlamydii środowiskowych u owadów, nietoperzy czy ryb, a także stwierdzenie ich obecności w środowisku wodnym np. u ameb czy w mule, które infekują komórki ssaków, powoduje, że zarazki te są bardzo interesujące tak z punktu widzenia teoretycznego, jak i praktycznego.

Piśmiennictwo

1. Amman R., Springer N., Schonhuber W., Ludwig W., Schmid E. N., Muller K. D., Michel R.: Obligate intracellular bacterial parasites of acanthamoebae related to *Chlamydia* spp. Appl. Environ. Microbiol. 1997, 63, 115-121.
2. Chua P. K. B., Corkill J. E., Hooi P. S., Cheng S. C., Winstanley C., Hart C. A.: Isolation of *Waddlia malaysiensis*, a novel intracellular bacterium, from fruit bat (*Eonycteris spelaea*) Emerg. Inf. Dis. 2005, 11, 271-277.
3. Collingro A., Poppert S., Heinz E., Schmitz-Esser S., Essig A., Schweikert M., Wagner M., Horn M.: Recovery of an environmental sludge by co-cultivation with *Acanthamoeba* sp. Microbiology 2005, 151, 301-309.
4. Collingro A., Toenshoff E. R., Taylor M. W., Fritsche T. R., Wagner M., Horn M.: *Candidatus* *Protochlamydia amoebophila* an endosymbiont of *Acanthamoeba* spp. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005, 55, 1863-1866.
5. Crespo S., Zarza C., Padros F., Marin de Mateo M.: Epitheliocystis agents in sea bream *Sparus aurata*: morphological evidence for two distinct chlamydia-like developmental cycles. Dis. Aquat. Org. 1999, 37, 61-72.
6. Dilbeck P. M., Evermann J. F., Crawford T. B., Ward A. C. S., Leathers C. W., Holland C. J., Mebus C. A., Logan L. L., Rurangirwa F. R., McGuire T. C.: Isolation of a previously undescribed rickettsia from an aborted bovine fetus. J. Clin. Microbiol. 1990, 28, 814-816.
7. Draghi A., Popov V. L., Kahl M. M., Stanton J. B., Brown C. C., Tsongalis G. J., West A. B., Frasca S.: Characterization of *Candidatus* *Piscichlamydia salmonis* (order Chlamydiales), a chlamydia-like bacterium associated with epitheliocystis in farmed atlantic salmon (*Salmo salar*). J. Clin. Microbiol. 2004, 42, 5286-5297.
8. Drobne D., Štrus J., Žnidaršič N., Zidar P.: Morphological description of bacterial infection of digestive glands in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (isopoda, crustacean). J. Invertebr. Pathol. 1999, 73, 113-119.

9. Everett K. D.: Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. *Vet. Microbiol.* 2000, 75, 109-126.
10. Everett K. D., Bush R. M., Andersen A. A.: Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae 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. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999, 49, 415-440.
11. Everett K. D. E., Kahane S., Bush R. M., Friedman M. G.: An unspliced group I intron in 23S rRNA links Chlamydiales, chloroplasts, and mitochondria. *J. Bacteriol.* 1999, 181, 4734-4740.
12. Everett K. D. E., Thao M. L., Horn M., Dyszynski G. E., Baumann P.: Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts *Candidatus Fritschea bemisiae* strain Falk and *Candidatus Fritschea eriococci* strain Elm. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005, 55, 1581-1587.
13. Garity G. M.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. T. 1. Boone D. R., Castenholz R. W. (wyd.), Springer-Verlag, New York 2001.
14. Greenberg D., Banerji A., Friedmann M. G., Chiu C.-H., Kahane S.: High rate of *Simkania negevensis* among Canadian Inuit infants hospitalized with lower respiratory tract infections. *Scand. J. Infect. Dis.* 2003, 35, 506-508.
15. Greub G., Collyn F., Guy L., Rotrn C.-A.: A genomic island present along the bacterial chromosome of the Parachlamydiaceae UWE25, an obligate amoebal endosymbiont, encodes a potentially functional F-like conjugative DNA transfer system. *BMC Microbiology* 2004, 4, 48-59.
16. Greub G., Raoult D.: Crescent bodies of *Parachlamydia acanthamoeba* and its life cycle within *Acanthamoeba polyphaga*: an electron micrograph study. *Appl. Environm. Microbiol.* 2002, 68, 3076-3084.
17. Greub G., Raoult D.: Parachlamydiaceae: potential emerging pathogens. *Emerg. Inf. Dis.* 2002, 8, 625-630.
18. Henning K., Schares G., Granzow H., Polster U., Hartmann M., Hotzel H., Sachse K., Peters M., Rauser M.: *Neospora caninum* and *Waddlia chondrophila* strain 2032/99 in a septic stillborn calf. *Vet. Microbiol.* 2002, 85, 285-292.
19. Horn M., Collingro A., Schmitz-Esser S., Beier C. L., Purkhold U., Fartmann B., Brandt P., Nyakatura G. J., Droege M., Frishman D., Rattei T., Mewes H.-M., Wagner M.: Illuminating the evolutionary history of Chlamydiae. *Science* 2004, 304, 728-730.
20. Horn M., Wagner M.: Evidence for additional genus-level diversity of Chlamydiales in the environment. *FEMS Microbiol Lett.* 2001, 204, 71-74.
21. Horn M., Wagner M., Müller K.-D., Schmid E. N., Fritsche T. R., Schleifer K.-H., Michel R.: *Neochlamydia hartmannellae* gen. nov., sp. nov. (Parachlamydiaceae), an endoparasite of amoeba *Hartmannella vermiformis*. *Microbiology* 2000, 146, 1231-1239.
22. Kahane S., Dvoskin B., Mathias M., Friedmann M. G.: Infection of *Acanthamoeba polyphaga* with *Simkania negevensis* and *S. negevensis* survival within amoebal cysts. *Appl. Environm. Microbiol.* 2001, 67, 4789-4795.
23. Kahane S., Everett K. D., Kimmel N., Friedman M. G.: *Simkania negevensis* strain Z^T: growth, antigenic and genome characteristics. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999, 49, 815-820.
24. Kahane S., Gonen R., Sayada C., Elion J., Friedman M. G.: Description and partial characterization of a new chlamydia-like microorganism. *FEMS Microbiol. Lett.* 1993, 109, 329-334.
25. Kahane S., Greenberg D., Friedman M. G., Haikin H., Dagan R.: High prevalence of „*Simkania Z*“, a novel chlamydia-like bacterium, in infants with acute bronchiolitis. *J. Inf. Dis.* 1998, 177, 1425-1429.
26. Kahane S., Kimmel N., Friedmann M. G.: The growth cycle of *Simkania negevensis*. *Microrbiology* 2002, 148, 735-742.
27. Kahane S., Metzger E., Friedman M. G.: Evidence that the novel microorganism „Z“ may belong to a new genus in the family Chlamydiaceae. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995, 126, 203-208.
28. Kahane S., Platner N., Dvoskin B., Izhaki A., Friedman M. G.: Evidence for the presence of *Simkania negevensis* in drinking water and in reclaimed wastewater in Israel. *Appl. Environm. Microbiol.* 2004, 70, 3346-3351.
29. Kocan K. M., Crawford T. B., Dilbeck P. M., Evermann J. F., McGuire T. C.: Development of a rickettsia isolated from an aborted bovine fetus. *J. Bacteriol.* 1990, 172, 5949-5955.
30. Kostanjšek R., Štrus J., Drobne D., Avguštin G.: *Candidatus Rhabdochlamydia porcellionis*, an intracellular bacterium from the hepatopancreas of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2004, 54, 543-549.
31. Lieberman D., Dvoskin B., Lieberman D. V., Kahane S., Friedman M. G.: Serological evidence of acute infection with the chlamydia-like microorganism *Simkania negevensis* (Z) in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* 2002, 21, 307-309.
32. Lieberman D., Kahane S., Lieberman D., Friedman M. G.: Pneumonia with serological evidence of acute infection with the chlamydia-like microorganism „Z“. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997, 156, 578-582.
33. Nylund A., Kvenseth A. M., Isdal E.: A morphological study of the epitheliocystis agent in farmed Atlantic salmon. *J. Aquat. Anim. Health* 1998, 10, 43-55.
34. Rurangirwa F. R., Dilbeck P. M., Crawford T. B., McGuire T. C., McElwain T. F.: Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order Chlamydiales: proposal of *Waddliaceae* fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999, 49, 577-581.
35. Shay M. T., Bettica A., Vernon G. M., Witkus E. R.: *Chlamydia isopodii* sp. n., an obligate intracellular parasite of *Porcellio scaber*. *Exp. Cell. Biol.* 1985, 53, 115-120.
36. Thao M.-L., Baumann L., Hess J. M., Falk B. W., Ng J. C. K., Gullan Baumann P.: Phylogenetic evidence for two new insect-associated chlamydiae of the family Simkaniaceae. *Curr Microbiol.* 2003, 47, 46-50.
37. Yamaguchi T., Yamazaki T., Inoue M., Mashida C., Kawagoe K., Ogawa M., Shiga S., Nakagawa Y., Kishimoto T., Kurane I., Ouchi K., Ohzeki T.: Prevalence of antibodies against *Simkania negevensis* in a healthy Japanese population determined by the microimmunofluorescence test. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2005, 43, 21-27.

Adres autora: dr Małgorzata Pawlikowska, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; e-mail: kurp13@sus.univ.szczecin.pl