

## Perzistentna klamidijska infekcija

### *Persistent Chlamydial Infection*

**Mikael Gomberg**

Centralni znanstvenoistraživački kožno-venerološki institut

Rusija, 107076 Moskva, Korolenko str. 3

**Sažetak** U radu su razmotreni različiti aspekti perzistencije klamidijske infekcije, uključujući njezinu morfološku karakteristiku, dijagnostiku, patogenezu i terapiju. Dokazano je kliničko značenje perzistencije. Navodi se opsežan bibliografski materijal o perzistenciji klamidija, kao i podaci vlastitih istraživanja, uključujući elektronskomikroskopske nalaze, dobivene na istraživanju 468 bolesnika. Indirektni pokazatelji postojanja perzistentne klamidijske infekcije jesu: trajanje infekcije duže od dva mjeseca ili neodređeno trajanje; prethodne epizode urogenitalne klamidijske infekcije i neučinkovitost prethodno provedene antimikrobne terapije; uporaba antibiotika neučinkovitih na klamidiju; izostanak klamidijske infekcije kod spolnih partnera te insuficijencija imunskog sustava. Za liječenje perzistentnih oblika klamidijske infekcije preporučuje se ukupna doza od 3,0 g azitromicina, primijenjena kao jednokratna terapija 1x1,0 g prvog, sedmog i četrnaestog dana od početka liječenja.

**Ključne riječi:** *C. trachomatis*, elementarno tjelešće, retikularno tjelešće, perzistencija, liječenje

**Summary** In the research work are discussed various aspects of persistence of chlamydial infection, including its morphological characteristic, diagnostics, pathogenesis and therapy. Clinical significance of persistence has been proved. Substantial bibliographic material on the chlamydial persistence is presented, as well as the data from our own investigations, including electron microscopic ones, obtained from the study of 468 patients. Indirect indices of the existence of persistent chlamydial infection are: duration over two months or undefined duration, previous episodes of urogenital chlamydial infection and inefficacy of previously applied antimicrobial therapy, use of antibiotics ineffective to chlamydia, absence of chlamydial infection in sexual partner and immune system insufficiency. For the treatment of persistent types of chlamydial infections, the total dose of 3.0 g azithromycin is recommended, applied as single therapy 1x1.0 g on the first, seventh and fourteenth day from the treatment onset.

**Key words:** *C. trachomatis*, elementary corpuscle, reticular corpuscle, persistence, treatment

Pod perzistencijom razumijevamo takvo stanje infekcije u kojem organizam domaćina nije u stanju osloboditi se mikroorganizma, što s vremenom dovodi do trajnoga štetnog djelovanja (1). Prema toj definiciji, za klamidije je karakteristična perzistencija (2).

Za klamidije je takva pojava bila utvrđena dosta davno. Prva priopćenja o tome datiraju još od 1933. godine (3) kada su autori radili s *C. psittacii*. Međutim, svojstvo perzistiranja, kako su pokazala kasnija istraživanja, univerzalno je za sve klamidije. Ovisno o uzajamnim odnosima domaćina i mikroba perzistencija se može očitovati kao aktivna bolest.

Takav je tijek karakterističan za trahom, kada su ET (elementarna tjelešca) i genski materijal klamidija otkriveni kod osoba s negativnim rezultatima analize kultura. Kod Reiterove bolesti ET i genski materijal klamidija otkriveni su u oboljelim zglobovima, kamo su iz urogenitalnih žarišta prodirali zajedno s makrofazima. Tada

se pokazalo da kod urogenitalnih infekcija klamidije mogu bez liječenja perzistirati mjesecima. Pritom se u nekim okolnostima (imunosupresija) infekcija može reaktivirati (4).

Atipične forme klamidija kod perzistentne infekcije prvi je opisao Moulder 1980. godine (5). Otada se njegovi radovi smatraju temeljnima. Moulder je radio s *C. psittacii* kao najprikladnijim eksperimentalnim modelom. Atipična svojstva ovih stanica, koja su se očitovala pri likom proučavanja kulture stanica L zaraženih *C. psittacii*, autori su pripisali pojavi "kriptičkih" ili tajanstvenih tjelešaca, koja do tada nisu bila identificirana. Prema suvremenim predodžbama takva tjelešca možemo smatrati perzistentnim oblicima klamidija. Tada je prvi put bila zabilježena otpornost tih klamidija na tetraciklinske antibiotike, što do tada nije bilo opisano za klamidije. Zanimljivo je da je atipičnost mogla nestati kod ponovnog nasadivanja na staničnu kulturu i da je u

takvim slučajevima dolazilo do aktivnog razmnožavanja običnih forma klamidija. Ali isto tako perzistencija se mogla izazvati. Tako je prikazana jedna od osobina perzistentne infekcije: njezina ovisnost o staničnoj kulturi. Kasnije su utvrđeni i drugi faktori, koji su utjecali na nastanak perzistencije (2).

Mogućnost različitih poremećaja životnog ciklusa klamidije i pojave njezinih perzistentnih forma već se dosta dugo proučava u literaturi (2, 3, 5-12).

Prema mišljenju nekih autora, ima dosta zajedničkog između perzistencije klamidija i latentnog stanja virusa (2). Ako ne dolazi do transformacije ET u RT (retikularno tjelešće), odnosno ako životni ciklus klamidija uopće ne počne, a klamidije su u obliku ET prisutne u organizmu, onda takvo stanje prije odgovara latenciji, a ne perzistenciji (13).

Postoje i indirektni znakovi perzistencije klamidija u organizmu čovjeka, na primjer, tendencija klamidijaska infekcije prema trajnijem tijeku i postupni nestanak simptoma, bez obzira na postojanje uzročnika (2, 14). Uz to je u kliničkoj praksi primijećena i neučinkovitost antibiotika (15).

Specijalna istraživanja s ciljem umjetnog stvaranja perzistencije *in vitro* rađena su različitim metodama, koje su se sastojale od djelovanja u procesu izolacije klamidija u staničnoj kulturi. Sva ta djelovanja možemo podijeliti na tri osnovne metode: 1) stvaranje deficitarne hranjive podloge; 2) djelovanje antibiotika i 3) uporaba imunoloških preparata (2, 5, 6-9, 11, 16-21).

Najraniji radovi o stvaranju modela perzistencije povezani su s eksperimentima s hranjivim podlogama (6, 22).

Pokazalo se da je djelovanje egzogenog triptofana u korelaciji sa suzbijanjem rasta klamidija u staničnoj kulturi (23).

Očito je da antibakterijski lijekovi slabe djelotvornosti mogu imati odlučujuće značenje u stvaranju perzistentnih forma, budući da ne mogu eliminirati klamidije, ali zato mogu izazvati njihovu promjenu. U tom se smislu antibiotici mogu prema definiciji smatrati jednim od glavnih čimbenika koji omogućavaju razvijanje perzistencije.

Tako su Matsumoto i Manire još 1970. godine pokazali da se pod djelovanjem penicilina pojavljuju abnormalna RT većih dimenzija i da se njihova transformacija u ET zaustavlja (17). Pritom na prvobitnu transformaciju ET u RT penicilin ne djeluje. Slične su pojave promatrali Popov i suradnici (1980.) (24). Zanimljivo je da je uklanjanje penicilina iz podloge dovodilo do reverzije klamidija u normalne forme i nastavka uobičajenoga životnog ciklusa.

Drugi su autori zabilježili da kod djelovanja antibiotika penicilinskog reda na kulture stanica zaraženih *C. trachomatis*, sinteza MOMP-a (major outer membrane protein - glavni protein vanjske membrane) ostaje, dok se sinteza drugih bjelančevina vanjske membrane (OMP2 i OMP3 - outer membrane protein - bjelančevina vanjske membrane) znatno smanjuje (20).

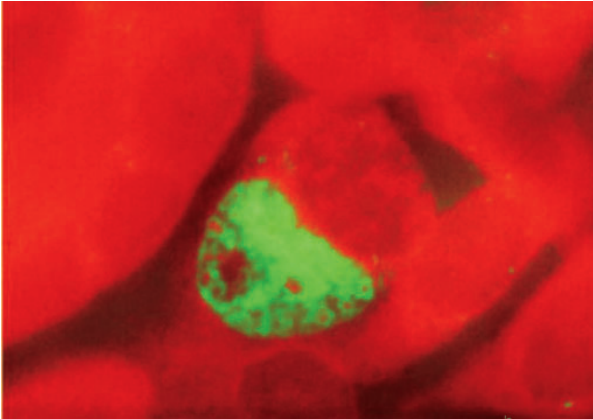
Nalidiksična kiselina sposobna je inhibirati binarnu diobu i transformaciju RT u ET kod *C. psittacii* (25). Izmijenjena RT opisana su nakon inkubacije stanica inficiranih *C. trachomatis* sa sulfonamidima (19). Sva su ta istraživanja provedena u laboratorijskim uvjetima *in vitro*. Međutim, sasvim je očito da se i u kliničkom materijalu bolesnika može očekivati pojavljivanje aberantnih oblika klamidija nakon neadekvatne terapije antibioticima. Tako je Kisina (1997.) opisala pojavu atipičnih oblika klamidija kod pacijentice s klamidijском infekcijom nakon primjene lomefloksacina (26). Čak i antibiotici koji su aktivni prema klamidiji mogu biti uzrokom razvoja perzistencije, budući da njihovo djelovanje na klamidije ovisi o fazi životnog ciklusa, u kojoj se antibiotik primijeni. S time je povezana činjenica da se kod klamidijaska infekcije djelovanje antibiotika treba ostvariti tijekom barem dvaju životnih ciklusa. Tako se pokazalo da su klortetraciklin i rifampicin u stanju inhibirati intracelularno razmnožavanje klamidija, ali pritom u ranim fazama infekcije dolazi do suzbijanja transformacije ET u RT, a u kasnijim fazama životnog ciklusa klamidija ti antibiotici inhibiraju njihovu binarnu diobu ili obratnu transformaciju RT u ET (18, 25). Makrolidi djeluju na sintezu bjelančevine na 50S-podjedinici ribosoma, što dovodi do znatnog smanjenja veličine inkluzija (27).

Što se tiče imunih medijatora u razvoju klamidija, takvi su se podaci počeli pojavljivati još 60-ih godina (14). Pokazalo se da je IF- $\gamma$  u stanju inhibirati intracelularni razvoj klamidija (28). Ulogu IF- $\gamma$  u inhibiranju rasta klamidija kod fibroplasta i epitelnih stanica pokazao je 1986. godine Byrne sa suradnicima. Ovi, kao i neki drugi istraživači pokazali su da se dodavanjem IF- $\gamma$  u visokim koncentracijama rast klamidija potpuno suzbija, ali samo u onim slučajevima kada je IF- $\gamma$  uveden u medij u roku od najviše 24 sata prije zaraženosti klamidijama (23, 29). Ako je pak IF- $\gamma$  dodavan nakon zaraženosti stanica klamidijama, onda su niske doze citokina dovodile do pojave aberantnih forma klamidija (2, 29), što praktički predstavlja analogiju manifestiranja perzistencije *in vivo*, budući da postojanje inficiranih stanica prije IF- $\gamma$  aktiviranim makrofazima može izazvati kasniji perzistentni tijek infekcije (30).

Elektronskomikroskopska istraživanja, koja je provodio Beatty (1993.) nakon djelovanja IF- $\gamma$  na kulturu stanica, zaraženih klamidijama, omogućila su otkrivanje istih takvih atipičnih forma klamidija, koje su prije bile opisane pod djelovanjem penicilina (9, 17, 24). Pritom se perzistencija klamidija u stanicama može održavati dosta dugo (do nekoliko tjedana) nakon čega se uspostavlja normalni životni ciklus klamidija (9, 31).

Promijenjeni životni ciklus klamidija dokazan je i nakon djelovanja TNF- $\alpha$ . Dodavanje TNF- $\alpha$  u raznim fazama klamidijaska infekcije izaziva pojavu istih takvih aberantnih forma klamidija kao i nakon djelovanja IF- $\gamma$ . Pritom je to djelovanje isto tako reverzibilno.

Prve radove vezane za perzistenciju klamidija u Rusiji provela je Orlova u laboratoriju Znanstvenoistraživačkog instituta za epidemiologiju i mikrobiologiju "N. F. Gamalei" 1982. godine (32). Autori su, radeći s kulturom



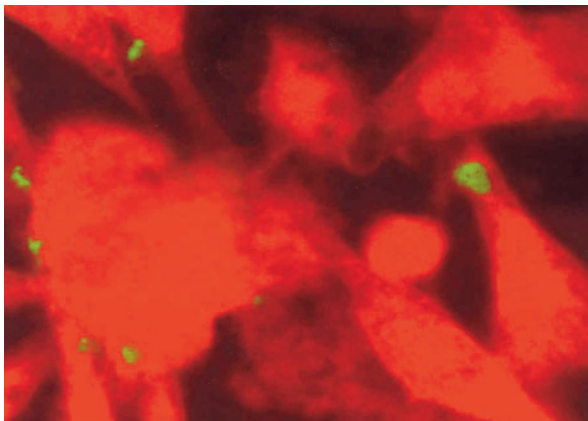
Slika 1. Izgled tipične klamidijske inkluzije, obrađene monoklonskim protutijelima

stanica L 929, dobili dugotrajno živi model perzistentne klamidijske infekcije, koja se pokazala sposobnom za spontanu aktivaciju. Perzistencija je postignuta stvaranjem deficitne hranjive podloge. Tada su prvi put bile opisane atipične sitne i mnogobrojne citoplazmatske inkluzije, koje su egzistirale istodobno s tipičnim krupnim inkluzijama.

Izgled tipične klamidijske inkluzije, dobivene u procesu izolacije u kulturi stanica i obojene monoklonskim protutijelima prikazan je na slici 1.

Klamidije koje se nalaze u stanju perzistencije formiraju sitne citoplazmatske inkluzije unutar iste stanice (slika 2).

U ovom je modelu bila prikazana mogućnost reverzibilnog procesa u određenim uvjetima u obične forme sa stvaranjem normalnih klamidijskih inkluzija. Autor je uspio održavati perzistentne klamidijske kulture tijekom



Slika 2. Izgled mnogobrojnih atipičnih sitnih citoplazmatskih inkluzija klamidija, obrađenih monoklonskim protutijelima

nekoliko godina (8). Tada su prilikom elektronsko-mikroskopskih istraživanja sitnih citoplazmatskih inkluzija kod staničnih kultura prvi put bila opisana atipična RT (33).

Mi smo eksperimentalne rezultate vezane za proučavanje modela perzistencije primijenili u kliničkoj praksi.

U naše je ispitivanje bilo uključeno 468 pacijenata (290 muškaraca, 178 žena), kod kojih je različitim metodama utvrđena komplicirana ili perzistentna urogenitalna klamidijska infekcija ili osobe s neodređenim trajanjem klamidijske infekcije (tablica 1).

Poznato je da prilikom perzistencije klamidije gube sposobnost inficiranja stanične kulture, budući da inficiranje može uzrokovati samo ET klamidija, a u stanju perzistencije one ne završavaju svoj ciklus razvoja, pa ne dolazi do stvaranja ET nove generacije.

Radi proučavanja perzistentnih forma klamidija metodom izolacije u kulturi stanica, kod pacijenata je bila primijenjena metoda koja je ranije bila specijalno dizajnirana u eksperimentalnim istraživanjima (7, 8, 33).

Slika koju smo dobili iz materijala od bolesnika potpuno odgovara onim inkluzijama koje smo dobili u eksperimentalnim uvjetima prilikom stvaranja modela perzistencije (2, 9).

Niz kliničkih, anamnestičkih i nekih epidemioloških karakteristika pacijenata indirektan je pokazatelj perzistentne klamidijske infekcije (PKI). U takve pokazatelje pripadaju:

Tablica 1. Čimbenici koji omogućavaju razvoj perzistentne klamidijske infekcije kod liječenih bolesnika (n = 468)

Mogući čimbenici, koji omogućavaju razvoj perzistentne klamidijske infekcije	Učestalost raspodjele (% od 468 pregledanih pacijenata)
Trajanje infekcije duže od 2 mjeseca ili neodređenog trajanja	444 (94,9%)
Prethodne epizode urogenitalne klamidijske infekcije u anamnezi	429 (91,7%)
Neučinkovitost prethodno provedene terapije klamidijske infekcije	429 (91,7%)
Liječenje pratećih bolesti, tj. uporaba antibiotika neučinkovitih na klamidiju	296 (63,2%)
Insuficijencija imunskog sustava	461 (98,5%)
Izostanak klamidija kod spolnih partnera	90 (41,3%) *

\* od 218 pregledanih spolnih partnera

(spolni partneri nisu mogli biti utvrđeni kod svih pacijenata)

1. trajan tijek klamidijске infekcije;
2. prethodne epizode urogenitalne klamidijске infekcije i neučinkovitost prethodno provedene terapije;
3. uporaba antibiotika, nedjelotvornih na klamidiju, a u svrhu liječenja pratećih bolesti;
4. izostanak klamidija kod spolnih partnera;
5. insuficijencija imunosnog sustava.

U slučaju prisutnosti bilo kojeg od gore navedenih čimbenika možemo očekivati neke anomalije u razvoju infektivnog procesa.

Općenito, prihvaćeno je mišljenje da je klamidijaska infekcija često asimptomatska.

U našem radu nisu zapažene nikakve specifične tegobe kod bolesnika s PKI, koje bi se razlikovale od uobičajene kliničke slike klamidijске infekcije, a isto tako nije bilo ni razlika u učestalosti izostanka kliničkih simptoma.

Kod većine naših bolesnika s PKI (kod 49% muškaraca i 63% žena) prilikom detaljnog pregleda i uzimanja anamneze ipak je bilo moguće utvrditi subjektivne i objektivne simptome.

Upravo u ovom istraživanju suočili smo se sa situacijom da su se bez obzira na provedeno liječenje klamidije ponovno pojavile prilikom izolacije u kulturi stanica. Istraživanja na kulturama koja su se provodila kod ovih bolesnika najviše 2 tjedna nakon liječenja, pokazala su postojanje sitnih mnogobrojnih citoplazmatskih inkluzija što je karakteristično za nezavršeni životni ciklus, koji je tipičan za perzistenciju klamidija.

Prilikom elektronskomikroskopskog istraživanja materijala od ovih bolesnika dobiveni su nalazi, koji su odigrali bitnu ulogu u shvaćanju patogeneze klamidijске infekcije.

## *Elektronskomikroskopska istraživanja i patogeneza perzistentne klamidijске infekcije*

Polovicom 90-ih godina Bragina (Moskva) opisala je kod elektronske mikroskopije atipične sitne forme citoplazmatskih inkluzija klamidija (10, 12, 30). Za razliku od prijašnjih istraživanja, u ovim je radovima prvi put bio upotrijebljen klinički materijal, odnosno morfološki je potvrđena mogućnost perzistencije klamidijске infekcije *in vivo*. Zajedno s odjelom elektronske mikroskopije CNKIKVI (Bragina) proveli smo istraživanje proučavajući elektronskim mikroskopom djelotvornost liječenja klamidijске infekcije.

Bolesnici su bili uključeni u elektronskomikroskopsko ispitivanje u slučaju otkrivanja citoplazmatskih inkluzija, a nakon provedenog liječenja.

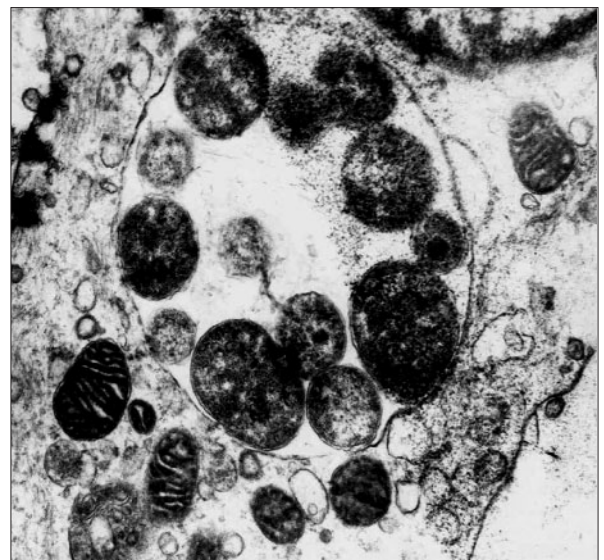
U nastavku se navode elektronogrami koje smo dobili i koji ilustriraju raznovrsne forme klamidija.

Inkluzija, karakteristična za perzistenciju klamidija, donekadna se mogla otkriti elektronskim mikroskopom samo u kulturi stanica, gdje se perzistencija izazivala eksperimentalno. Ta su istraživanja bila provedena pod vodstvom Byrne na Sveučilištu u Madisonu (SAD) i objavljena 1994. godine (34). Ti su autori radili sa staničnom kulturom, eksperimentalno zaraženom klamidijama i podvrgnutom djelovanju IF- $\gamma$ . Otkrivanje takvih inkluzija u materijalu bolesnika s perzistirajućom klamidijском infekcijom izuzetno je teško i može se smatrati velikom srećom za istraživača.

Na slici 3. prikazana je upravo takva inkluzija. Ona se nalazi unutar epitelne stanice i sadržava samo PT (perzistentna tjelešca) klamidija. Zaustavljanje, odnosno prekid normalnoga životnog ciklusa vodi tomu da se klamidije zadržavaju unutar citoplazme na neodređeno vrijeme, a ne na uobičajeno vrijeme za normalan životni ciklus klamidija od 24 do 72 sata. U takvom stanju klamidije nisu infektivne, budući da se ET klamidija, koje su sposobne za inficiranje, ne vide unutar ove inkluzije. Ipak, uspostava normalnog ili usporenog, ali završenog životnog ciklusa, može dovesti do pojave ET, pa prema tome i do obnavljanja zaraznosti *C. trachomatis*. Prikazana inkluzija na ovom elektronogramu morfološka je potvrda postojanja sitnih citoplazmatskih inkluzija, koje se utvrđuju kod bolesnika s perzistentnom klamidijском infekcijom.

Na elektronogramima u nastavku prikazane su različite pojave vezane za klamidije, koje služe kao ilustracija o postojanju ako ne i izravnih znakova perzistencije, onda u svakom slučaju abnormalnog tijeka klamidijске infekcije.

Radi se o izvanstanično smještenim tjelešcima *C. trachomatis*, okruženim dodatnim membranama, što se prije pojave radova Bragine smatralo praktički nemogućim (30).



Slika 3. Atipična sitna citoplazmatska inkluzija s tjelešcima klamidija zaustavljenim u određenoj fazi razvoja

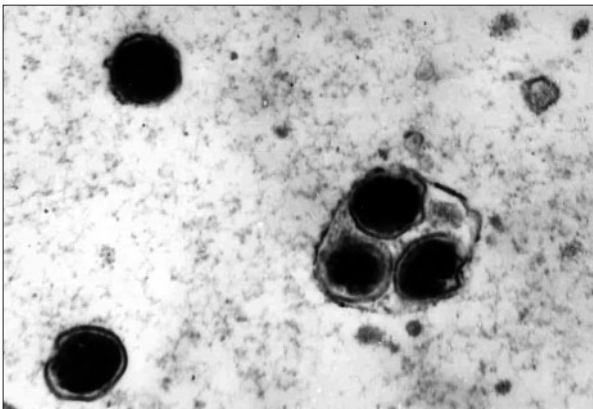


Slika 4. Izvanstanična polimembranska vakuola, koja sadržava 2 ET klamidija i glikogen

Na slici 4. prikazana je izvanstanična polimembranska vakuola, koja sadržava par ET klamidija i glikogen. U ovom slučaju dodatne membrane koje okružuju ET predstavljaju membrane endoplazmatskog retikuluma lizirane stanice. Razumije se da će se unutar takve vakuole ET klamidija teško transformirati u RT, započinjući samim time životni ciklus. Ali isto tako one ne moraju brzo nestati. Propisivanje antibiotika u takvoj situaciji neće biti učinkovito, budući da ET ne reagiraju na njih, a osim toga i polimembranske strukture ometaju kontakt antibioticima s infektivnim agensom.

Na slici 5. prikazana je vakuola koja sadržava 3 ET klamidija, okružena dodatnom membranom. U ovom se slučaju glikogen unutar vakuole ne nalazi, odnosno u ovoj inkluziji uopće nema znakova metaboličke aktivnosti.

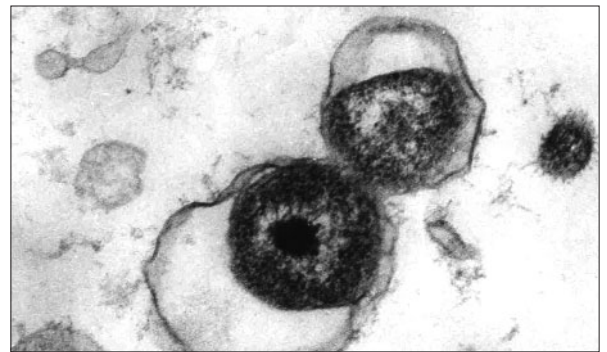
Veoma neobičnu pojavu možemo promatrati na slikama 6 do 8. Na tim su elektronogramima prikazani procesi izvanstaničnog dijeljenja atipičnih RT. Takva je slika u suprotnosti sa znanstvenim podacima koji su do danas poznati, a prema kojima su klamidije obligatno intracelularni paraziti, odnosno da je njihovo razmnožavanje nemoguće bez stanice-domaćina. Prošireni periplazmatski prostor i postojanje dvaju središta kondenzacije



Slika 5. Izvanstanična vakuola, koja sadržava 3 ET klamidija, okružena jednom dodatnom membranom

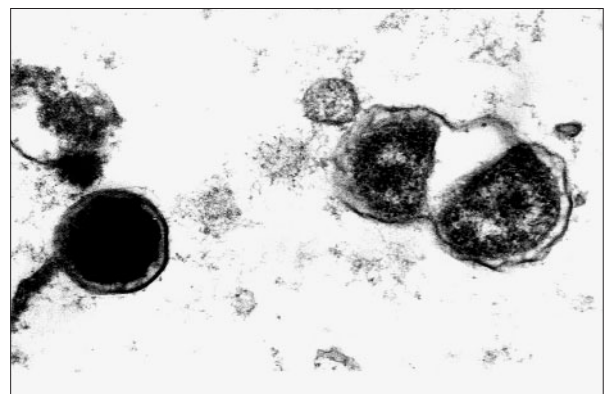


Slika 6. Klamidije koje se dijele izvan stanice

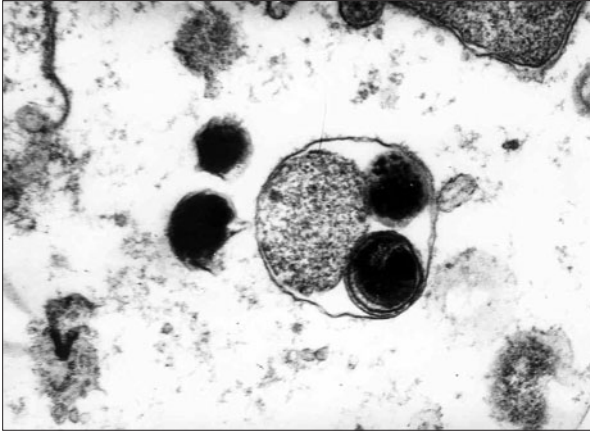


Slika 7. Klamidije koje se dijele izvan stanice

nedvojbeno svjedoče u korist postojanja stanične diobe. Može se pretpostaviti da je taj proces počeo još unutar stanice, a da se izvan stanice samo nastavio. Ipak u ovom slučaju mi promatramo pojavu "osamljene" diobe RT klamidije, koja se zbiva unutar vlastite vakuole, a ne unutar intracitoplazmatske inkluzije. Otkrivene klamidije koje se dijele izvan stanice, možda imaju veze s reverzijom, odnosno pretvaranjem perzistentnih forma u metabolički aktivne.



Slika 8. Klamidije koje se dijele izvan stanice



Slika 9. Izvanstanična vakuola, koja sadržava 2 ET klamidija, od kojih je jedno okruženo dodatnom membranom i jedno lizirano RT

Na slici 9. može se vidjeti još jedna sićušna formacija okružena membranom, koju bismo da je unutar citoplazme, mogli nazvati klamidijskom inkluzijom. U ovom slučaju unutar vakuole vide se 2 ET klamidija, od kojih je jedno okruženo još i dodatnom membranom. Uz ova tjelešca nalazi se jedno lizirano RT.

Kliničko značenje prikazanih sitnih inkluzija za sada još nije do kraja jasno, ali se može pretpostaviti da je u tim situacijama moguće uz pomoć različitih dijagnostičkih metoda, otkriti antigene klamidija ili njihovih nukleinskih kiselina. A to može dovesti do toga da se pacijentima svaki put prilikom otkrivanja simptoma klamidijske infekcije pa čak i kod njihova izostanka, propiše antibiotik koji neće biti u stanju eliminirati uzročnika u stanju perzistencije.

Neučinkovitost primjene antibiotika u sličnim slučajevima može biti povezana s time što kod perzistentne klamidije ne postoji metabolička aktivnost i što antibiotici bakteriostatskog djelovanja neće dati očekivane rezultate čak ni kod ponovnog propisivanja.

Formiranje atipičnih RT klamidija *in vivo*, koja se ne razmnožavaju, ali perzistiraju, može djelomično objasniti otpornost klamidija na terapiju antibioticima kod kroničnih klamidijskih procesa (14, 35).

U našem su istraživanju bili prikazani podaci koji na ultrastrukturnoj razini potvrđuju postojanje anomalijih oblika klamidija kod bolesnika koji po svim morfološkim obilježjima odgovaraju klamidijama, ali nemaju normalni životni ciklus. Pretpostavljamo da podaci koje smo dobili elektronskom mikroskopijom potvrđuju ne samo činjenicu o postojanju perzistentnih oblika klamidija, koje smo otkrili prilikom ispitivanja kultura, nego i ilustriraju važne patogenetske mehanizme perzistentne klamidijske infekcije *in vivo*.

## Patogeneza klamidijske infekcije prilikom perzistencije

Do danas imamo dosta prikupljenih dokaza o postojanju perzistentnih oblika klamidija, *in vitro* i *in vivo* (8, 10, 12, 21, 34).

Nije uvijek lako razlikovati relaps klamidijske infekcije, koji je povezan sa stvarnom perzistencijom, od reinfekcije, kada se infekcija mogla dobiti od novog ili neliječenog partnera.

Stamm je pretpostavio da se postojeće sheme liječenja kod nekih bolesnika mogu pokazati neučinkovitima i dovesti do pojave perzistencije. Drugim riječima, liječenje može potiskivati klamidijsku infekciju i omogućavati joj kod nekih bolesnika da perzistira i da se periodički pogoršava (4).

Moguće je da se rezistencija klamidija na antibiotike susreće češće nego što se to obično smatra (36). Laboratorijska metodologija za praćenje rezistencije nije još razrađena.

Patogeneza i kliničke manifestacije klamidijske infekcije nastaju zbog oštećenja tkiva zbog intracelularne replikacije klamidija, kao i upalne reakcije domaćina na same mikroorganizme i oštećenje tkiva.

U osnovi štetnog djelovanja na tkivo mogu biti one imunosne reakcije koje nastaju kod kronične ili ponovljene infekcije *C. trachomatis* (37).

Stvar je u imunosnom odgovoru, koji nastaje kao reakcija na inficiranje klamidijama (pojavljivanje cirkulirajućih AT, ili stanični imunitet). Očito je da u stanovitom smislu klamidijsku infekciju možemo promatrati i kao reakciju hiperosjetljivosti (38).

Infekcije kod senzibiliziranog domaćina protječu jače i s izraženijom upalnom reakcijom, pa prema tome i s izraženijim štetnim djelovanjem na tkivo. Mehanizam takvog oštećenja kod klamidijske infekcije zasniva se na fibrozi i upali tkiva.

Nedavno je izolirana klamidijska bjelančevina molekularne mase 60 kD (Heat Shock Protein, HSP) (39). Bacterije, kao i sve druge žive stanice, imaju sposobnost proizvoditi te bjelančevine. Pokazalo se da su mijeloidne stanice sposobne prepoznavati izvanstanični HSP60, što dovodi do proizvodnje proupalnih citokina. Takav se učinak pokazao i na klamidijski HSP60 (40). U procesu infekcije, osobito izazvane intracelularnim mikroorganizmima, imunosnu reakciju na HSP60 susrećemo dosta često. Budući da su klamidije upravo intracelularni paraziti, postoji niz razloga zbog čega je imunosni odgovor HSP60 vrlo važan u patogenezi klamidijske infekcije (39). Tijekom normalnoga životnog ciklusa klamidije proizvode HSP60 za vrijeme transformacije ET u RT i obratno.

Postoje podaci koji svjedoče o tome da klamidije u nepovoljnim uvjetima počinju aktivnu "ekspresiju" upravo te bjelančevine. Pritom se smanjuje sinteza MOMP i lipopolisaharida.

HSP60 kod prokariota i eukariota pokazuju visok stupanj identičnosti u slijedu aminokiselina.

Budući da je HSP klamidija u dosta visokom stupnju homologan ljudskom HSP-u, onda pojava HSP klamidija kod ljudi može izazvati senzibilizaciju i odgovarajuću imunosnu reakciju domaćina. Na taj način kod čovjeka postoji vjerojatnost razvoja autoimunosne reakcije.

Uz to, epitopi HSP60 kod *C. trachomatis* praktički su identični s onima kod *C. pneumoniae* (41).

Budući da je kontakt s *C. pneumoniae* kod ljudi moguć od najranije dobi, prilikom inficiranja s *C. trachomatis* dolazi do ponovnog susreta s HSP60 klamidija, što dovodi do ozbiljnih imunosnih posljedica, posebice neplodnosti.

Prema mišljenju nekih autora, visoki titar serumskih protutijela prema klamidijskom HSP60 još je jedna pouzdana manifestacija imunosne reakcije, koja karakterizira kasnije stadije klamidijske infekcije. Kod žena s laparoskopski potvrđenim klamidijskim salpingitisom najizraženija upalna reakcija primijećena je u onim slučajevima kada su kod njih utvrđeni visoki titrovi na klamidijski HSP60. Ako kod žena nije bilo simptoma upale, ali je zabilježen visoki titar protutijela prema klamidijskom HSP60, onda je pojava klamidijskog salpingitisa znatno vjerojatnija nego kod žena bez simptoma s niskim titrom protutijela ili kod njihova potpunog izostanka (42).

Očito je da čak infekcija koja nije previše izražena, može biti praćena formiranjem relativno velike količine HSP60. Možemo pretpostaviti da su kasnije fibrozne posljedice infekcije *C. trachomatis* vezane s autoimunosnom reakcijom na HSP čovjeka, koju je izazvala *C. trachomatis*. Istodobno, možemo pretpostaviti da se kod osoba s protutijelima na HSP60 može očekivati da postoji perzistentna klamidijska infekcija (43).

Prema tome, postoje osnove za pretpostavku da je klamidijska infekcija, makar i djelomično, autoimunosna reakcija, kao i to da drugi mikroorganizmi mogu senzibilizirati čovjeka i pojačati njegovu reakciju na kontakt s klamidijama. Međutim, prema mišljenju nekih autora (38), za sada sve je to na nivou teorije.

## Liječenje klamidijske infekcije

Polazeći od općih rasuđivanja, znamo da je cilj terapije infektivne bolesti eradikacija uzročnika i prestanak kliničkih simptoma. Međutim u slučaju klamidija (43) kod mnogih pacijenata nema kliničkih simptoma, a kod spolnih partnera moguće je da nema ni same infekcije. U svezi s time kod liječenja klamidijske infekcije treba se pridržavati principa sigurne i učinkovite terapije s najmanjom količinom nuspojava.

Terapija klamidijske infekcije povezana je s biološkim karakteristikama mikroorganizma, posebno s trajanjem (do 72 sata) životnog ciklusa, tijekom kojeg su u fazi ET

klamidije općenito rezistentne na bilo kakvu antibakterijsku terapiju. Prema tome, u liječenju treba osigurati najmanje 5-dnevnu terapijsku koncentraciju antibiotika u tkivu koje je zahvaćeno klamidijama (43).

Idealni čimbenici kojima se moramo voditi prilikom izbora antibiotika kod liječenja klamidijske infekcije jesu:

1. najmanje 95% mikrobiološke učinkovitosti;
2. učinkovitost kod simptomatskog i asimptomatskog tijeka bolesti;
3. sigurnost, uključujući mogućnost primjene kod trudnica;
4. jednostavnost primjene (poželjno jednokratno);
5. minimalni utjecaj na način života pacijenta;
6. dobra podnošljivost;
7. ekonomski učinak (niska cijena);
8. mala vjerojatnost slučajnog propuštanja uzimanja lijeka i
9. djelotvornost antibiotika i na druge uzročnike SPI (spolno prenosivih infekcija) na primjer, gonoreje.

Ako se radi o izboru antibakterijskih preparata za liječenje klamidijske infekcije s uobičajenim tijekom bolesti, onda u tim slučajevima treba rabiti samo antibiotike tetraciklinskog reda, doksiciklin, (Hiramycin®, PLIVA), makrolide; jedini predstavnik njihova analoga iz skupine azalida azitromicin ili jedini preporučljivi antibiotik iz skupine fluorkinolona - ofloksacin.

Danas se kao preparat izbora za liječenje urogenitalne klamidijske infekcije preporučuje azitromicin (Sumamed®, PLIVA) (44-47). Zahvaljujući činjenici da azitromicin postiže visoke terapijske koncentracije u tkivu, i to nakon jednokratnog uzimanja standardne doze, prvi put se pojavila mogućnost učinkovitog liječenja klamidijske infekcije jednokratnim peroralnim uzimanjem antibiotika (26, 48). Jednokratno uzimanje 1,0 g azitromicina ne zaostaje po učinkovitosti za 7-dnevnim liječenjem doksiciklinom (200 mg na dan) (44, 48-50). Kod liječenja kompliciranih klamidijskih infekcija azitromicin se primjenjuje u dozi od 3,0 g (48, 51, 52). Uz to, dokazana je djelotvornost azitromicina prema *T. pallidum*, zato se u kombinaciji klamidijske infekcije s ranim oblicima sifilisa ovaj antibiotik može vrlo uspješno primjenjivati (51).

## Osobitosti terapije bolesnika s perzistentnom klamidijskom infekcijom

Očito je da pristup bolesniku s perzistentnom klamidijskom infekcijom (PKI) nije definiran na planu dijagnostike, a ni u pogledu liječenja. Dok eradikacija običnih forma klamidija kod adekvatno odabrane terapije ne predstavlja posebnu teškoću, kod liječenja perzistentne infekcije takve su teškoće dosta česte. To je povezano sa stanjem bolesnika kod kojih je infekcija dulje vrijeme

prisutna u organizmu, a i sa samim mikroorganizmom, koji trpi stalan pritisak od imunskog sustava čovjeka. Kao rezultat takvog pritiska pojavljuju se atipične forme klamidija, kod kojih su metabolički procesi zaustavljeni, pa standardna protuklamidijska terapija antibioticima bakteriostatskog djelovanja možda neće imati učinka (7, 8, 33). Zbog stalne alergizacije ljudskog organizma potrebno je provesti liječenje klamidijaska infekcije bez obzira na to o kojem se obliku klamidijaska infekcije radi.

Jedna od mogućnosti liječenja dugotrajne klamidijaska infekcije jest propisivanje dugotrajnih kura antibiotika. Pritom treba imati na umu da su moguće ozbiljne nuspojave, a da se infekcija ipak ne izliječi.

Postoji niz proturječnih prijedloga o liječenju PKI, vezanih s promjenom imunskog odgovora. Predlagan je utjecaj na imunski odgovor tako da se formira tolerancija na vlastite antigene (uz očuvanje imunskog odgovora na bakterijske antigene) ili da se postigne promjena samog imunskog odgovora tako da bi on bio manje protuupalan s manjom proizvodnjom IF- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  i većom proizvodnjom IL-4, IL-10 ili TGF- $\beta$ . Prema drugom pristupu perzistencija je povezana s neadekvatnim imunskim odgovorom, što zapravo i dovodi do održanja infekcije, bez obzira na terapiju. U tom slučaju liječenje treba biti usmjereno na stimulaciju imunskog odgovora, a što treba biti popraćeno povećanjem nivoa IF- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  kao najučinkovitijih citokina u odnosu na intracelularne patogene.

Očito je da se liječenje takvih stanja treba temeljiti na prethodnoj ocjeni kliničko-imunoloških pokazatelja, koji omogućavaju izbor optimalnog pristupa svakom bolesniku, kod kojeg je klasična antibakterijska terapija samo sastavni dio jednoga globalnijeg pristupa.

Budući da je azitromicin (Sumamed®, PLIVA) prvi red terapije za liječenje klamidijaska infekcije, u našem je istraživanju upravo njemu dana prednost. Sukladno odgovarajućim podacima iskoristili smo standardnu shemu primjene azitromicina, koja se preporučuje za liječenje nekompliciranih oblika klamidijaska infekcije (1,0 g jednokratno), kao i originalnu metodu primjene azitromicina, koja se prije nije rabila: 1,0 g na tjedan/3 tjedna (s intervalom od 7 dana).

Analizirajući rezultate terapije, došli smo do zaključka da u većini slučajeva (više od 80%) azitromicin primijenjen u dozi od 1,0 g jednokratno dovodi do eradikacije klamidija i kliničkog izlječenja bolesnika, međutim, u nekim slučajevima, bez obzira na znatno kliničko poboljšanje, nije se mogla postići potpuna bakteriološka eradikacija.

U našem istraživanju bilo je osnova za pretpostavku da će *C. trachomatis* pod utjecajem različitih nepovoljnih čimbenika mijenjati oblik i pretvarati se u perzistentne oblike.

Tako se došlo do ideje o povišenju doze azitromicina kod dugotrajnije klamidijaska infekcije, kao i u slučajevima kada se prethodna antiklamidijska terapija pokazala neučinkovitom. Ova je činjenica prikazana u našem istraživačkom radu o primjeni azitromicina (Sumamed®, PLIVA) prema novoj shemi ukupne doze 3,0, po 1 g na tjedan za komplicirane klamidijaska infekcije kod muškaraca.

Pritom smo uzimali u obzir mogućnost postojanja perzistencije *C. trachomatis* u nizu slučajeva kod tih pacijenata. U ovom istraživanju nismo uvijek mogli laboratorijski potvrditi klamidijasku perzistenciju.

Terapijske sheme, koje se primjenjuju u liječenju nekompliciranih infekcija, ne moraju dati tako visoki terapijski učinak kod kompliciranih oblika. To se prije svega odnosi na trajanje terapije, koja treba biti dulja u slučaju kompliciranih infekcija. Pritom, kod izbora antibiotika, trebaju se uzimati u obzir parametri kao što su suradljivost i podnošljivost preparata. U tom smislu azitromicin ima prednosti pred standardnim antibakterijskim preparatima za liječenje klamidijaska infekcije, posebno doksiciklinom, budući da ga nadmašuje svojim farmakokinetičkim parametrima. Međutim, sheme liječenja doksiciklinom kompliciranih klamidijaskih infekcija razrađene su dosta dobro, a za azitromicin takvih jasno utvrđenih shema za sada nema.

Već ranije je dokazano da peroralno uzimanje 1,0 g azitromicina rezultira visokim koncentracijama lijeka u tkivu maternice i prostate, tj. na mjestu infekcije, premašujući minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIK) za *C. trachomatis* (0,025  $\mu\text{g/ml}$ ) najmanje 7 dana (53, 54). Upravo uzimajući u obzir ove podatke, mi smo predložili shemu uzimanja azitromicina po 1,0 g na tjedan (ukupno 3,0 g): 1., 7. i 14. dan. Prijašnji rezultati su pokazali da bakteriološka eradikacija kod korištenja ove sheme iznosi 96%.

## Zaključak

*C. trachomatis* pod utjecajem različitih nepovoljnih čimbenika može mijenjati oblik i pretvarati se u perzistentne oblike. Liječenje takvih klamidijaskih infekcija ozbiljan je problem, budući da o tome nema dovoljno jasnih preporuka ni oko izbora optimalnih antibiotika, ni oko shema za njihovu primjenu. Rezultati učinkovitosti liječenja kompliciranih i perzistentnih oblika urogenitalne klamidijaska infekcije kod muškaraca svjedoče o prednosti uzimanja azitromicina (Sumamed®, PLIVA) po shemi 1x1 g prvi-sedmi-četnaesti dan (ukupno 3,0 g), koja se odlikuje visokom bakteriološkom eradikacijom, izvrsnom kliničkom djelotvornosti, visokom suradljivošću te dobrom podnošljivošću.



## Literatura

1. CASADEVAL A, PIROFSKI LA. Host-pathogen interactions: basic concepts of microbial commensalisms, colonization, infection, and disease. *Infect Immun* 2000; 68: 6511-8.
2. BEATTY WL, BYRNE GI, MORRISON RP. Repeated and persistent infections with *Chlamydia* and the development of chronic inflammation and disease. *Trends Microbiol* 1994; 2: 94-8.
3. MEYER KF, EDDIE B. Latent psittacosis infection in shell parakeets. *Proc Soc Exp Biol Med* 1933; 30: 483-8.
4. STAMM WE. *Chlamydia trachomatis* - the persistent pathogen: Thomas Parran Award Lecture. *Sex Transm Dis* 2001; 28: 684-9.
5. MOULDER JW, LEVY NJ, SCHULMAN RP. Persistent infection of mouse fibroblasts (L cells) with *Chlamydia psittaci*: evidence for a cryptic chlamydial form *Infect Immun* 1980; 30: 874-83.
6. HATCH TP. Competition between *Chlamydia psittaci* and L cells for host isoleucine pools: a limiting factor in chlamydial multiplication. *Infect Immun* 1975; 12: 211-20.
7. POPOV VL. Obligatnyi vnukrikletochnyi parazitizm prokariotov: Dis. ... d-ra biolog. nauk. Moskva 1985: 279 s.
8. ORLOVA OE, ROGACHEVA IF, SHATKIN AA. Modeli perzistentnoi khlamidiinoi infektsii v kul'turah kletok L-929 i McCoy. *Khlamidiinnye infektsii/Pod red. Shatkina A.A. Moskva 1986:20-5.*
9. BEATTY WL, BYRNE GI, MORRISON RP. Morphologic and antigenic characterization of interferon- $\gamma$  mediated persistent *Chlamydia trachomatis* infection *in vitro*. *Proc Nat Acad Sci* 1993; 90: 3998-4002.
10. BRAGINA EE, DMITRIEV GA, KISINA VI. Strukturno-funktsional'nye osobennosti zhiznennogo tsikla khlamidii *in vivo*. *Vesti Dermatol Venerol* 1995; 6: 18-21.
11. BYRNE GI. Persistent Chlamydial infections: an *in vivo* reality or a cell culture artifact? *Infect Dis Obstet Gynecol* 1996; 4(3): 149-51.
12. BRAGINA EE, ORLOVA OE, DMITRIEV GA. Nekotorye osobennosti zhiznennogo tsikla khlamidii. *Atipichnye formy sushchestvovaniia. ZPPP* 1998; 1: 3-9.
13. EVERETT KDE, HATCH TP. Cell wall architecture of *Chlamydia*. Annual Meeting of American Soc Microbiol. May 19, Atlanta, 1993: D-148.
14. HANNA L, DAWSON C, BRIONES O et al. Latency in human infections with TRIC agents. *J Immunol* 1968; 101: 43-50.
15. JONES RB, KATZ BP, Van Der POL B et al. Effect of blind passage and multiple sampling on recovery of *Chlamydia trachomatis* from urogenital specimens. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 1029-33.
16. MOULDER JW, NOVOSEL DL, OFFICER JE. Inhibition of the growth of agents of the psittacosis group by D-cycloserine and its specific reversal by D-alanine. *J Bacteriol* 1963; 85: 707-11.
17. MATSUMOTO A, MANIRE GP. Electron microscopic observations on the effects of penicillin on the morphology of *Chlamydia psittaci*. *J Bacteriol* 1970; 101: 278-85.
18. KRAMER MJ, GORDON FB. Ultrastructural analysis of the effects of penicillin and chlortetracycline on the development of a genital tract *Chlamydia*. *Infect Immun* 1971; 3: 333-41.
19. HAMMERSCHLAG MR, VULETIN JC. Ultrastructural analysis of the effect of trimethoprim and sulphamethoxazole on the development of *Chlamydia trachomatis* in cell culture. *J Antimicrob Chemother* 1985; 15: 209-17.
20. CEVENINI R, DONATI M, La PLACA M. Effects of penicillin on the synthesis of membrane proteins of *Chlamydia trachomatis* LGV2 serotype. *FEMS Microbiol Lett* 1988; 56: 41-6.
21. HUDSON A, McENTEE C, REACHER MN et al. Inapparent ocular infection by *Chlamydia trachomatis* in experimental and human trachoma. *Curr Eye Res* 1992; 11: 279-83.
22. BADER JP, MORGAN HR. Latent viral infection of cells in tissue culture. IV. Role of amino acids, gimatein and glucose in psittacosis virus propagation in L cells. *J Exp Med* 1958; 108: 617-30.
23. BYRNE GI, LEHMANN LK, LANDRY GJ. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon-mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells. *Infect Immun* 1986; 53: 347-351.
24. POPOV VL, BESKINA SR, SHATKIN AA, AVAKIAN AA. Ultrastructure of the initial stages of interaction between halprowiae (*Chlamydiae*) and host cells. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 1980; 8: 28-32.
25. TRIBBY II, FRIIS RR, MOULDER JW. Effect of chloramphenicol, rifampicin, and nalidixic acid on *Chlamydia psittaci* growing in L cells. *J Infect Dis* 1973; 127: 155-63.
26. KISINA VI. Infektsionnye urogenital'nye zabelevaniia u zhenshchin. *Dic. ... d-ra med. nauk. - M., 1997.*
27. CLARK RB, SCHATZKI PF, DALTON HP. Ultrastructural analysis of the effects of erythromycin on the morphology and developmental cycle of *Chlamydia trachomatis* HAR-13. *Arch Microbiol* 1982; 133: 278-82.
28. De la MAZA LM, PETERSEN EM, GOEBELI JM, FENNIE CW, CZARNIECKI CW. Interferon induced inhibition of *Chlamydia trachomatis*: dissociation from antiviral and antiproliferative effects. *Infect Immun* 1985; 47: 719-22.
29. SHEMER Y, SAROV I. Inhibition of growth of *Chlamydia trachomatis* by human gamma interferon. *Infect Immun* 1985; 48: 592-6.
30. BRAGINA EE. Zakonomernosti narusheniia spermatogeneza cheloveka pri nekotorykh geneticheskikh i infektsionnykh zabelevaniiah: Avtoref. dis. ... dokt.biol. nauk. - M., 2001: 53 s.
31. BEATTY WL, MORRISON RP, BYRNE GI. Reactivation of perzistent *Chlamydia trachomatis* infection in cell culture. *Infect Immun* 1995; 63: 199-205.
32. ORLOVA OE, BESKINA SZ, ZHITOVA EA, ROGACHEVA IF. V kn.: "Khlamidii (gal'privii) i khlamidiozy". Shatkina A.A. (red). - M. - 1982: 17-9.
33. SHATKIN AA, POPOV VL. Vzaimodeistvie khlamidii i kletki-hoziaina- Khlamidiinnye infektsii: Sb. nauch. trudov. - M., 1986: 5-14.
34. BEATTY WL, MORRISON RP, BYRNE GI. Immunoelectron-microscopic quantitation of differential levels of chlamydial proteins in a cell culture model of perzistent *Chlamydia trachomatis* infection. *Infect Immun* 1994; 62(9): 4059-62.

35. HOOTON TM, ROGERS ME, MEDINA TG et al. Ciprofloxacin compared with Doxycyclin for nongonococcal urethritis. Ineffectiveness against *Chlamydia trachomatis* due to relapsing infection. JAMA 1990; 264: 1418-21.
36. SOMANI J, BHULLAR VB, WORKOWSKI KA et al. Multiple drug-resistant *Chlamydia trachomatis* associated with clinical treatment failure. J Infect Dis 2000; 181: 1421-7.
37. BRUNHAM RC, KUO CC, CLES L, HOLMES KK Correlation of host immune responses with quantitative recovery of *Chlamydia trachomatis* from the human endocervix. Infect Immun 1983; 39: 1491-4.
38. SCHACHTER J. Biology of *Chlamydia trachomatis*. In: Holmes King K et al (eds.) Sexually transmitted diseases. Third edition. 1999: 394.
39. MORRISON RP, BELLAND RJ, LYNK K et al. Chlamydial disease pathogenesis. The 57-kD chlamydial hypersensitivity antigen is a stress response protein. J Exp Med 1989; 170: 1271-83.
40. KOL A, BOURCIER T, LICHTMAN AH et al. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. J Clin Invest 1999; 103: 571-7.
41. DEANE KH, JECOCK RM, PEARCE JH et al. Identification and characterization of a DR-4-restricted T cell epitope within chlamydia heat shock protein 60. Clin Exp Immunol 1997; 109: 439-45.
42. BRUNHAM RC, McCLARTY G. Chlamydia. In: Stanberry LR, Bernstein DI (eds.) Sexually Transmitted Diseases. Academic Press, 2000: 339-67.
43. CLARKE J. Therapeutic management. In: Moss TR (ed.) International handbook of *Chlamydia*. Polestar Wheatons Ltd, 2001: 49-63.
44. WEBER JT, JOHNSON ER. New treatments for *Chlamydia trachomatis* genital infection. Clin Infect Dis 1995; 20(Suppl 1): S66-S71.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for treatment of Sexually Transmitted Diseases MMWR 2002; 51(RR-6): 32-6.
46. WHO Guidelines for the management of Sexually Transmitted Infections. WHO, 2001:35.
47. European STD Guidelines. Int J STD AIDS 2001; 12(Suppl 3): 103.
48. RIDGWAY GL. Antibiotic Management of Chlamydial Genital Infections. Proceedings Workshop "Human Chlamydial Infections". Izmir, Turkey 1997: 38-44.
49. MAGDID D, DOUGLAS JM Jr, SCHWARTZ JS. Doxycyclin compared with azithromycin for treating women with genital *Chlamydia trachomatis* infection: an incremental cost-effectiveness analysis. Ann Intern Med 1996; 124: 389-99.
50. HILLIS SD, COLES FB, LITHCFIELD B et al. Doxycyclin and azithromycin for the prevention of chlamydial persistence or recurrence one month after treatment in women. A us-effectiveness study in public health settings. Sex Transm Dis 1998; 25: 5-11.
51. MASHKILEISSON AL, GOMBERG MA, SOLOVJEV AM. O problemu urogenitalne klamidioze. ZPPP 1995;5:28-33.
52. ŠKERK V, SCHÖNWALD S, KRHEN I et al. Azithromycin in the Treatment of Chronic Prostatitis Caused by *Chlamydia trachomatis*. VI ICMASKO. Jan 23-25, Bologna, Italy, 2002:2.
53. KOMAROV RV, DEREVJANKO II, JAKOVLJEV SV i sur. Farmakokinetika azitromicina kod urogenitalnih infekcija. Infekcije i antimikrobna terapija. 2001; 3(6): 175-8.
54. FOULDS G, JOHNSON R. Selection of dose regimens of azithromycin. J Antimicrob Chemother 1993; 31 (Suppl E): 39-50.