

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie



Trichomonády z hlediska humánní a veterinární medicíny

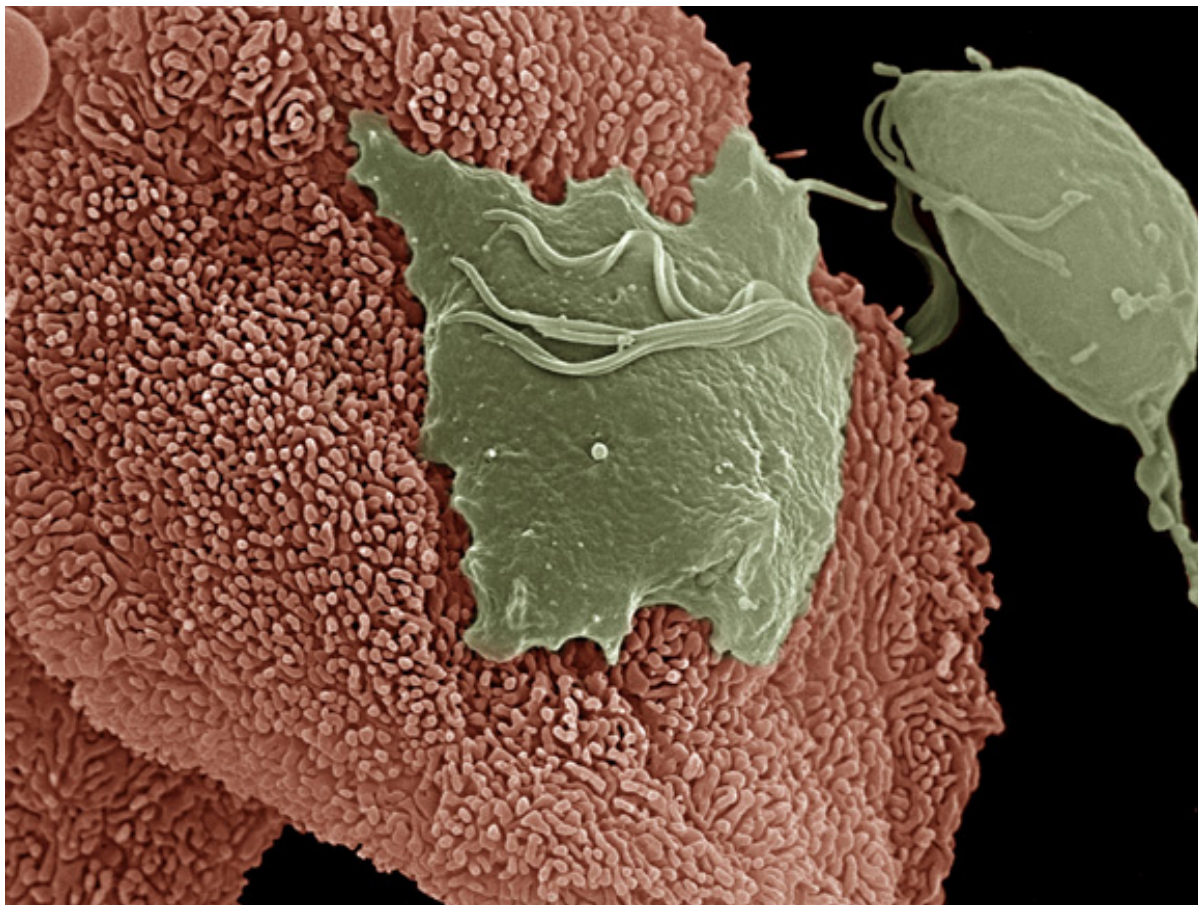
Bakalářská práce

Vít Smola

Školitel: RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.

Praha 2009

Je mou milou povinností poděkovat svému školiteli, Ivanu Čepičkovi, za cenné poznámky k tomuto rukopisu a především za dlouhodobé kvalitní vedení mých dosavadních projektů. Na tomto místě nemohu též opomenout své rodiče, bez jejichž všestranného příspěvku by moje práce nebyla myslitelná.



Obr. 1: T. vaginalis přisedající k vaginálnímu epitelu. Převzato z www.nih.gov/news/pr/jan2007/niaid-11.htm.

Prohlašuji tímto, že jsem uvedenou práci vypracoval samostatně pod vedením RNDr. Ivana Čepičky, Ph.D. a že jsem uvedl veškeré použité prameny.

V Praze dne 7. srpna 2009

.....
Vít Smola

Obsah

Abstrakt	3
Abstract	3
I. Úvod	4
II. Charakteristika patogenních trichomonád	4
III. Urogenitální zástupci	7
3.1. <i>Trichomonas vaginalis</i>	7
3.1.1 Klinický obraz	8
3.1.2 Molekulární podstata infekce	9
3.1.3 Léčba a rezistence	11
3.1.4 Asociace s HIV	13
3.1.5 Asociace s prokaryoty	14
3.2. <i>Tritrichomonas foetus</i>	16
IV. Patogeni dýchacího traktu	18
V. Patogeni trávicího traktu a systémoví patogeni	21
3.1 <i>Histomonas meleagridis</i>	21
3.2 <i>Dientamoeba fragilis</i>	23
3.3 <i>Trichomonas gallinae</i>	24
VI. Závěr	26
VII. Použitá literatura	26

Abstrakt

Trichomonadida jsou skupinou převážně endobiotických zástupců žijících v mnoha druzích hostitelů. Jednotlivé druhy mají různou hostitelskou specifitu. Ta nejužší je u druhů, které sekundárně opustily trávicí trakt a pronikly i do dalších orgánů. Z hlediska humánní a veterinární medicíny je z této skupiny nejvýznamnějších šest druhů. Nejzkoumanějším a zároveň nejvýznamnějším patogenem je *Trichomonas vaginalis*, který napadá urogenitální trakt člověka. Zde působí nepříjemné záněty vaginy, popřípadě způsobuje širší zápaly pánevní oblasti. Další druhy, jako *Tritrichomonas foetus*, *Histomonas meleagridis* a *Trichomonas gallinae*, působí velké úhyny a z toho plynoucí ekonomické ztráty na hospodářských zvířatech, v prvním případě u skotu, u dalších dvou druhů na domácím ptactvu. I druh *Dientamoeba fragilis* je podle posledních výzkumů mírně patogenní. Stejně tak rod *Cochlosoma*, zejména druh *C. anatis* je mírně patogenní a působí určité ne zcela specifikované problémy u domácího ptactva. Stále nedořešená je potenciální patogenita druhu *Monocercomonas colubrorum*. V posledních letech se objevily zajímavé souvislosti, jako např. asociace *T. vaginalis* s HIV a s plicními chorobami. Zároveň neutuchá snaha po vývoji nových, specifitěji zaměřených a účinnějších terapeutik, která by měla eliminovat působené choroby a další doprovodné efekty.

Klíčová slova: HIV; hostitel; infekce; patogeni; trichomonády; trichomonóza; sex; symptom

Abstract

Trichomonadida is the group of mainly endobiotic protists living in many host species. Particular species differ in host range and specificity. The species, that escaped from the digestive tract to inner organs possess the most limited host specificity. Six trichomonad species are important in human and veterinary medicine. *Trichomonas vaginalis*, the most important species, infect the urogenital tract of human and causes vaginal inflammation or wider inflammations of the pelvic cavity. The other species, such as *Tritrichomonas foetus*, *Histomonas meleagridis* and *Trichomonas gallinae*, kill lot of domestic animals which results in serious economical problems. According to the recent research, *Dientamoeba fragilis* and the genus *Cochlosoma* are slightly pathogenic as well. The potencial pathogenity of *Monocercomonas ruminantium* is still unclear. Recently, an interesting association of *T. vaginalis* with HIV and pulmonary disorders has been discovered. At the same time, there are efforts focused on development of more specific and effective therapeutics, which would decrease the prevalence of diseases caused by trichomonads.

Key words: HIV; host; infection; pathogens; trichomonads; trichomoniasis; sex; symptom

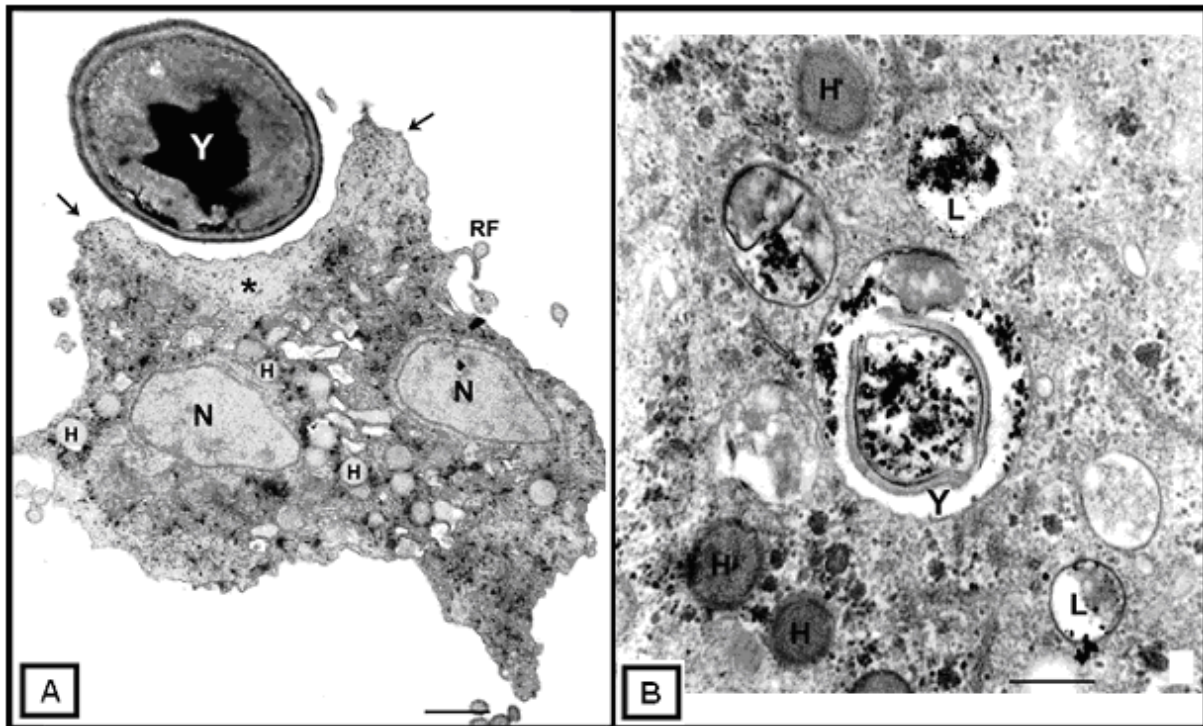
I. Úvod

Poznání patogenních druhů hrálo mezi jednobuněčnými eukaryoty vždy hlavní roli a nejinak to bylo mezi trichomonádami. V dnešní době se toto poznání jeví jako ještě mnohem naléhavější, neboť v posledních letech se začaly objevovat po dlouhá léta skryté souvislosti a díky rozvoji moderních diagnostických metod se teprve dnes začíná objevovat dosud netušená prevalence a patogenní potenciál těchto parazitických organismů. U lidských trichomonád bude skutečné rozšíření, jejich zoonotický potenciál a počet na lidi adaptovaných kmenů jistě mnohem vyšší, než se po dlouhá léta předpokládalo. Například nedávno objevená asociace *Trichomonas vaginalis* s HIV je velice závažná a musí si vyžádat podstatně zodpovědnější přístup ze strany světového zdravotnictví, než tomu bylo doposud. Též v rámci plicních onemocnění se ukazuje, že trichomonády mohou fungovat jako faktory, které značně ztěžují průběh infekce. Začíná být patrné, že dosud poněkud opomíjená skupina vysoce rizikových pacientů s nízkým hygienickým standardem je obrovským rezervoárem různých oportunních infekcí, trichomonády nevyjímaje. Je proto třeba trichomonózu eliminovat v co největší míře. K tomu je třeba vývoje nových a specifičtěji zaměřených přípravků a hlavně vytvoření evidencí a pravidelných kontrol vysoce rizikových nositelů.

Hlavním důvodem pro sepsání tohoto rukopisu byla moje snaha o doplnění si znalostí o patogenních zástupcích skupiny, která je mi velmi blízká a jejímž výzkumem se v posledních letech věnuji. Dalším impulsem byl prostý zájem o klinické projevy těchto organismů, neboť zájem o projevy živých soustav mě provází od samotných počátků své vědecké práce, a právě patogenní druhy jich mají nespočet.

II. Charakteristika patogenních trichomonád

Trichomonády (řád Trichomonadida) patří do morfologicky velmi dobře definované skupiny (kmene) Parabasala. Většina zástupců je endobiotická, čemuž odpovídá vyvinutá undulující membrána, jež je adaptací pro pohyb ve vazkém prostředí střeva. Undulující membrána je v některých případech podložena kostou. Trichomonády mají zcela originální cytoskeletární uspořádání, kterému dominuje mohutný peltoaxostylární systém. Dalším nápadným a naprosto jedinečným znakem, podle kterého dostala název celá skupina Parabasala, je mohutný Golgiho komplex napojený na žíhané fibrily a zvaný parabazální aparát. Cytostom u trichomonád není vyvinut a fagocytóza s výjimkou tritrichomonád probíhá celým povrchem těla (viz. obr. 2). Nemají mitochondrie, jejich funkci v podobě energetického metabolismu obstarávají hydrogenosomy. Unikátním znakem je též kryptopleuromitóza, zvláštní typ mitózy, při které se nerozpouští jaderná membrána a dělicí vřetenko zůstává mimojaderné.

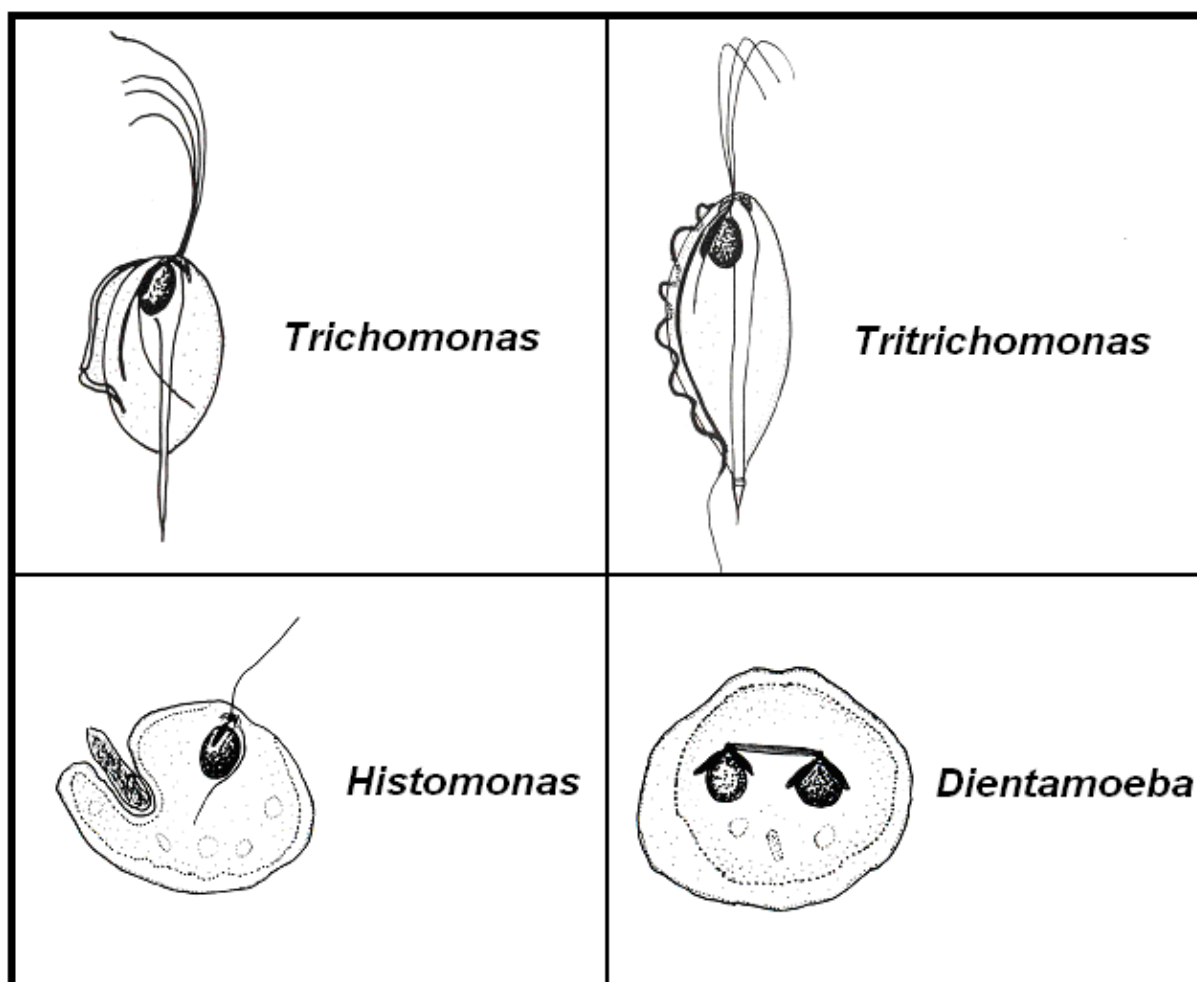


Obr. 2: fagocytyující buňky *T. vaginalis*. V prvních fázích je zde předložena kvasinka pohlcena pseudopodiemi a kompletně zachycena v buňce, přičemž je ve fagosomu degradována. Měřitko: 500 nm. Převzato z Pereira-Neves a Benchimol (2007), upraveno.

Hlavním infekčním a také aktivním stádiem je trofozoit, přičemž trichomonády netvoří cysty, pouze pseudocysty, což jsou kulovité buňky s internalizovanými bičíky skrytými v endocytických vakuolách. Cysty jsou tvořeny za stresových podmínek působením abnormální teploty, případně experimentálně přidáním prostředí hydroxymočoviny do kultivačního média. Jsou pravděpodobně schopny binárního dělení (Pereira-Neves et al. 2003).

Velké množství trichomonád žije v obratlovcích, především v jejich tlustém a slepém střevě. Většina takových druhů není pro své hostitele patogenní (Honigberg 1963). Patogenní jsou ty druhy, které unikly ze střeva do dalších orgánů, jako je urogenitální trakt, plíce, popřípadě jiné vnitřní orgány. Přenos nastává pohlavní cestou, nebo kontaminativně. Z celkového množství několika desítek zástupců byla patogenita prokázána u šesti druhů, u druhů *Monocercomonas colubrorum* a *Trichomonas tenax* probíhají stále diskuze. To u druhu *Pentatrachomonas hominis* se již vcelku jasně, že patogenním není a ve střevním traktu žije jako neškodný komenzál. Tento druh zde zmiňuji i proto, abych poukázal na jeho obrovské hostitelské spektrum, které sahá od lidí, primátů, psů a koček k mnoha dalším skupinám savců (Honigberg 1978). Je klidně možné, že je schopen žít v podstatě ve všech teplokrevných obratlovcích. Prevalence tohoto druhu mezi lidmi je dosti variabilní a odvislá především od hygieny. Pohybuje se v rozmezí 4 – 20 % (Honigberg 1978). Z rodu *Trichomonas* jsou patogenní *T. vaginalis* a *T. gallinae*. Dalším patogenním druhem

je *Tritrichomonas foetus*, který je jakousi obdobou *T. vaginalis* v urogenitálním traktu skotu. Významným patogenem je též *Histomonas meleagridis* z polyfyletické čeledi Monocercomonadidae, druh, který podobně jako *Trichomonas vaginalis* umí vytvářet améboidní formy. Z čeledi Monocercomonadidae je patogenní ještě *Dientamoeba fragilis*. Tento druh byl dlouhou dobu považován za nepatogenní organismus, ale v dnešní době se zjistilo, že v některých případech působí citelné komplikace. Rod *Cochlosoma* sestává z několika druhů, některé žijí v domácím ptactvu, především u kachen a krocanů (*C. anatis*), další druhy byly popsány z některých volně žijících ptáků (*C. turdi* v drozdech, *C. picae* v kukačkách) a netopýrů (Kulda, Nohýnková 1978). Patogenita tohoto rodu není příliš významná, ale každopádně byla prokázána (Cooper et al. 1995). Jeho nejnápadnější a i mezi všemi trichomonádami jedinečnou strukturou je adhezivní disk, připomínající přísavný disk u rodu *Giardia*.



Obr. 3: Schématické nákresy rodů *Trichomonas*, *Tritrichomonas*, *Histomonas* a *Dientamoeba*. Převzato z Brugerolle a Lee (2002), upraveno.

V následujících třech tématických kapitolách se důkladněji zaměřím na pět cílových druhů, u kterých zmíním hlavní náležitosti týkající se tématu této bakalářské práce. Těžištěm práce je pak druh *T. vaginalis*, na který bylo za mnoho posledních let zacíleno největší úsilí, ze kterého vzniklo obrovské množství informací. Přesto však je plno věcí stále skryto a čeká na své odhalení. Stejně tak jako náš přístup, který se odráží ve správném zúročení získaných informací.

III. Urogenitální zástupci

Do této kategorie náleží dva nejznámější druhy patogenních trichomonád, a to *Trichomonas vaginalis* a *Tritrichomonas foetus*. Co se jejich životního cyklu týče, jako u ostatních „pravých trichomonád“ (Trichomonadida) u nich nebylo pozorováno pohlavní rozmnožování. Jak již bylo řečeno v úvodní kapitole, oba druhy netvoří cysty, pouze pseudocysty (Pereira-Neves et al. 2003). Přenos nastává pohlavním stykem, popřípadě kongenitálně. U *T. foetus* se předpokládá i kontaminativní přenos. *T. vaginalis* prochází při kontaktu s tkání hostitele améboidní transformací, zatímco *T. foetus* žádnou transformaci během invaze neprodělává.

Mezi *T. vaginalis* a *T. foetus* existuje několik morfologických rozdílů, nejvýznamnější je rozdíl v počtu bičíků (*T. vaginalis* má 4 přední, *T. foetus* jen tři). Z hlediska medicínského je nejdůležitější rozdíl v tom, že oba druhy mají odlišné primární hostitele, pro *T. vaginalis* je hlavním hostitelem člověk, primárně jeho urogenitální trakt. Pro *T. foetus* je hlavním hostitelem skot, u něhož způsobuje bovinní trichomonózu, a pak také prasata, u nichž žije jako komenzál trávicího traktu a nosí dutiny. Patogenní mechanismy obou hostitelů jsou v mnoha případech velice podobné. Jedním z rozdílů je, že u *T. foetus* nebyla prokázána žádná hemolytická aktivita (De Carli et al. 1996). *T. foetus* invaduje plod (fétus), může se objevit v placentě, fétálních plicích, střevě a lymfatických uzlinách. Navíc je velice efektivním kauzálním činitelem potratů (abortů) u infikovaného skotu. *T. vaginalis* je častěji latentní, čímž si ale uchovává větší skrytý potenciál v dalším šíření. V některých případech vstupuje do plic dospělých pacientů, a pokud jsou takové plíce postižené nějakou plicní chorobou, může *T. vaginalis* zhoršovat její průběh. Jako jedno z nejzávažnějších se dnes jeví asociace tohoto druhu s nákazou HIV, která nebyla po dlouhou dobu spatřena, ale až v dnešní době se začíná ukazovat a docenovat její rozsah. Oba druhy tak způsobují celosvětově velké ekonomické a zdravotní problémy. Proto je třeba se zajímat se zvýšenou měrou o jejich skutečný výskyt, molekulární podstatu jejich adherence a cytotoxického působení a samozřejmě se zabývat vývojem účinnějších a specifitěji zaměřených přípravků, než jaké máme k dispozici dnes.

3.1 *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis je sexuálně přenosný patogen, jehož průměrná délka je 10 µm a šířka 7 µm (Honigberg a King 1964). Po kontaktu s vaginální, popřípadě dalšími sliznicemi, drasticky přetváří svůj vzhled a stává se značně pleomorfní (Heath 1981; Arroyo et al. 1993). Trofozoit má čtyři přední bičíky a jeden zpětný tvořící undulující membránu, jež je podepřena nekontraktilní kostou (Honigberg a King 1964). Navzdory relativně malému počtu studií pojednávajících o prevalenci a incidenci trichomonózy, ukazují současné práce, že trichomonóza je celosvětově nejrozšířenější sexuálně přenosná neviróvá infekce (Leitsch et al. 2009). Incidence tohoto onemocnění je přes 170 miliónů případů ročně, především v rozvojových zemích (Rein a Müller 1990; Sharif et al. 2009). Například bylo zjištěno, že 67 % žen, které navštívily kliniku v Ulaanbaataru, specializující se na sexuálně přenosné choroby, bylo infikováno *T. vaginalis* (Schwebke et al. 1998; Schwebke a Burgess 2004). Primárním místem infekce je vagina. Druh *T. vaginalis* je mikroaerofilní a adaptovaný k životu v proměnlivém prostředí pochvy.

3.1.1 Klinický obraz

Infekce nastává u žen ve fertilním věku a vyžaduje navíc hormonálně upravený terén. Ve vagině je velice důležitá přítomnost laktobacilů (*Lactobacillus acidophilus*), kteří jsou potravně závislí na glykogenu. Tyto mikroorganismy produkcí laktátu snižují pH pochvy na příznivou hodnotu kolem pH 4, která je vhodná v obraně proti četným infekcím. Infekce *T. vaginalis* eliminuje autochtonní laktobacily, což vede ke změně pH poševního sekretu na pH vyšší než 5 (Spiegel 1990). Mukus i protilátky jsou produkty sekrece děložního hrdla. Kromě toho sekretují i vaječníky a děložní sliznice. Všechny tyto části pohlavní soustavy mohou být infekcí postiženy.

Jak jsem již naznačil výše, pro infekci je potřebný upravený terén. Připomínám, že tento terén se přirozeně pravidelně mění v rámci menstruačního cyklu, při kterém dochází ke kvalitativním i kvantitativním změnám v mukusu. Nejméně mukusu a sekrečních protilátek je na počátku druhé poloviny periody, která je nejen nejvhodnější dobou pro početí, ale i nejpříznivější pro průnik patogenů.

Při infekci dochází v prvních fázích k degradaci mucinu (Lehker a Sweeney 1999). Následně trofozoiti kontaktují poševní epitel a zahájí améboidní transformaci a kolonizaci povrchu epitelu. Dochází k cytotoxickému působení a k indukci zánětu. Inkubační doba je relativně variabilní, od 4 do 28 dní (Petrin et al. 1998). První fáze infekce probíhá jako akutní vulvovaginitis, kterou charakterizuje vodnatý páchnoucí žlutozelený výtok z pochvy. Klasicky bývá popisován jako pěnovitý, ale ve skutečnosti bývá pěnovitý pouze u 10 % pacientek (Schwebke a Burgess 2004). Akutní fáze přechází do fáze chronické, ze které se někdy dostává do latentního stavu, ale nikdy spontánně nevymizí. Asymptomatická je asi polovina pacientek (Fouts a Kraus

1980). K exacerbaci (znovuvzplanutí) dochází často po menstruaci a v těhotenství. Infekce tak cykluje od asymptomatických stavů až po vážné zánětlivé potíže (Rein a Müller 1990).

Hlavní patologií tohoto parazita je poškození epitelové vrstvy, kdy vzniká otok, který vede k erozi epitelu, silnému zánětu a vaskularizaci subepiteliární vrstvy. Kromě destrukce epitelu vaginy může *T. vaginalis* příležitostně osidlovat i uretru, vejcovody, vaječníky a děložní sliznici (Rein and Chapel 1975). V některých případech může nákaza vést až k neplodnosti (El-Shazly et al. 2001).

U mužů je infekce *T. vaginalis* většinou asymptomatická, ale může způsobit hnisavou uretritidu a záněty prostaty (Krieger 1990). Kromě uretritidy jsou při akutní fázi běžnými potížemi průhledný hnisavý výtok, potíže při močení a svědění, popřípadě pálení po pohlavním styku (Krieger 1990). Dalšími možnými komplikacemi u mužů je balanopostitida (zánět kůže žaludu a předkožky), potíže s prostatou a neplodnost (Holmes et al. 1975; Mardh a Coleen 1975; Krieger 1984). K tomu podotýkám, že žádný objektivní důkaz pro sterilitu u mužů neexistuje.

V dnešní době se ukazuje, že se tento parazit může podílet na rozličných zánětlivých onemocněních. Typicky mluvíme o širších zápalech oblasti pánevní. Moodley et. al. (2002) našli propojení mezi původci způsobujícími vaginální výtoky a záněty pánevní oblasti. Mezi žádnými jinými zkoumanými patogeny, ať už u původce kapavky *Neisseria gonorrhoeae* nebo u *Chlamydia trachomatis*, toto propojení nalezeno nebylo. Nejvyšší riziko bylo u pacientů postižených *T. vaginalis* a zároveň HIV. Problematika asociace *T. vaginalis* s HIV je natolik závažná, že jí věnuji jednu z následujících kapitol.

Velice pravděpodobná je souvislost nákazy *T. vaginalis* s předčasným porodem a nízkou porodní hmotností dítěte (Hardy et al. 1984; Cotch et al. 1997). Též byla dokumentována onemocnění typu pneumonie, zánět průdušek, zánět nosohltanu atp., u kterých *T. vaginalis* zhoršovala symptomy (Honigberg 1990). Byl také prokázán kongenitální přenos z matky na plod (Hammerschlag 1998; Marecki et al. 1997).

3.1.2 Molekulární podstata infekce

Cytoadherence je indukována kontaktem, při němž jsou mobilizovány adheziny a cytoskelet. Navíc je teplotně a pH závislá. Adheze je zprostředkována čtyřmi adhezními proteiny, přičemž AP65 je kódován geny, jež jsou velice podobné genům kódujícím jablečný enzym (Engbring et al. 1996; O'Brien et al. 1996). Signální mechanismy probíhají zřejmě za účasti heterotrimerických G-proteinů. Exprese některých adhezínů je regulována železem (Lehker et al. 1991; Arroyo et al. 1993; Tsai et al. 2002; Garcia et al. 2003), přičemž adheze vyžaduje přítomnost cysteinových proteináz (Arroyo a Alderete 1989). Adheziny jsou aktivovány povrchovou cysteinovou proteinázou. Aktivita proteinázy je na několika úrovních stimulována železem (Schwebke

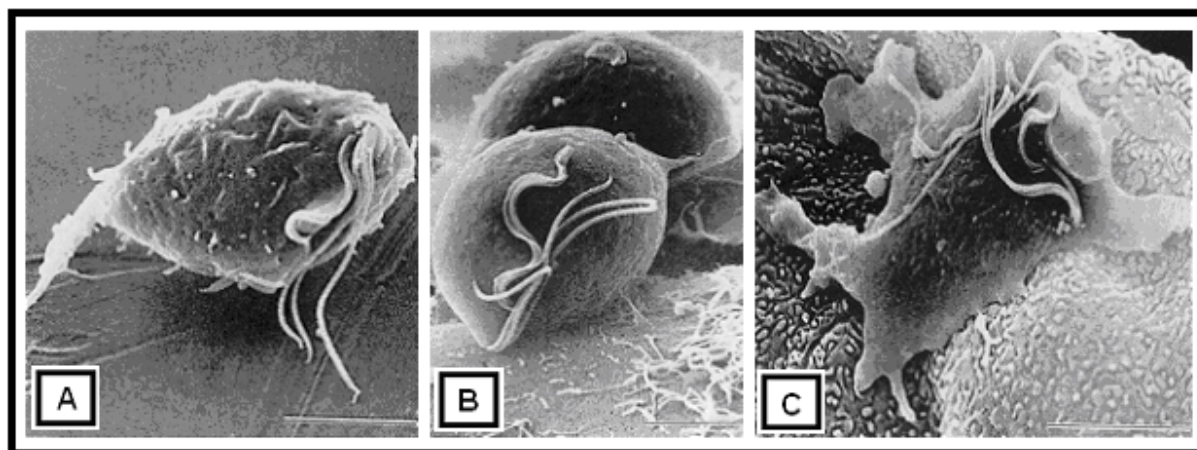
a Burgess 2004). Chemoatraktivní účinek pro trofozoity *T. vaginalis* byl objeven u lamininu (Filho et al. 1988). Podobné lamininové receptory jako u *T. vaginalis* byly nalezeny u makrofágů, bakterií a rakovinných buněk (Lopes et al. 1988).

Do klasických cytotoxických mechanismů patří mechanismy závislé na kontaktu i mechanismy nezávislé na kontaktu. Mechanismy na kontaktu závislé mají jak cytolytický, tak hemolytický účinek a významně v nich figuruje 30 kDa cysteinová proteináza (Yadaf et al. 2007), jež je vázána na membránu nebo je fokálně vypouštěna při kontaktu. Do mechanismů nezávislých na kontaktu patří 30 kDa protein, který má hemolytický účinek a pracuje perforinovým mechanismem, a pak 200 kDa CDF faktor (cell detaching factor). *In vivo* v tkáňových kulturách způsobuje CDF odlupování buněk (Pindak et al. 1986), což koreluje s klinickými symptomy při akutní infekci (Garber et. al. 1989). CDF je významným patogenním faktorem, např. nepatogenní druh *Pentatrichomonas hominis* žádnou CDF aktivitu nevykazuje (Petrin et al. 1998). Jeho účinek je závislý na pH a optimum se nachází při pH 6,5 (Garber et. al. 1989), při normálním vaginálním pH 4 je neaktivní. Nárůst vaginálního pH je tak zásadním krokem pro úspěšnou invazi tohoto parazita. Lokální vaginální protilátky mohou jeho efekt snížit (Garber a Lemchuk-Favel 1990). Produkce CDF je ovlivněna koncentrací estrogenů ve vagině (Petrin et al. 1998), konkrétně je CDF inhibován estradiolem, což je v souladu se zhoršováním symptomů při menstruaci. To vysvětluje, proč dochází k úlevě při intravaginální aplikaci estradiolových tablet, bez jakéhokoli vymýcení infekce (Lirosi a Guarascio 1972). CDF a proteinázy degradují proteiny jako laminin, fibronektin a další komponenty extracelulární matrix, čímž uvolňují hostitelské buňky z tkání. Leukocyty produkovaná hladina inhibitorů proteáz u pacientů s *T. vaginalis* je signifikantně nižší než u neinfikovaných pacientů (Draper et al. 1998, 2000). To ukazuje na možnou roli proteáz *T. vaginalis* u pozorovaného zvýšeného rizika HIV infekce, asociované s infekcí tímto parazitem (Sorvillo a Kerndt 1998).

In vivo byl objeven interleukin 8 produkovaný neutrofily stimulovanými trofozoity *T. vaginalis* (Shaio et al., 1992; Ryu et al., 2004). IL 8 je hlavní mediátor zánětlivých reakcí, jehož primární funkcí je indukce produkce volných kyslíkových radikálů (ROS; Song et al. 2008). Role ROS u *T. vaginalis* nebyla po dlouhou dobu ujasněna, přestože se na jedné straně vědělo, že ROS jsou neutrofily produkovány k eliminaci pozřených mikrobů (Sandborg a Smolen 1988), a na druhé straně, že zvýšení intracelulárního ROS indukované např. *Entamoeba histolytica* zprostředkovává apoptózu neutrofilů (Sim et al. 2005). Práce Song et al. (2008) ukazuje, že *T. vaginalis* spouští apoptózu lidských neutrofilů skrze ROS řízenou aktivací kaspázy 3, přičemž hlavním zdrojem intracelulárních ROS by dle autorů měla být NADPH oxidáza. Ukazatelem apoptózy se autorům stala především změna exprese povrchového receptoru CD16, která je

jedním z uznávaných apoptotických projevů. Pro úplnost dodávám, že u *E. histolytica* žádná na ROS závislá aktivace kaspázy 3 neexistuje.

Po úspěšném vyléčení trichomonózy se nevytváří žádná imunita, přestože existují důkazy o postinfekční imunitě, které bylo dosaženo u laboratorních zvířat (Abraham et al. 1996). Nejdůležitější je jakási vrozená imunita spočívající v chemotaxi a následném přílivu neutrofilů do místa zánětu (Wølnner-Hanssen et al. 1989).



Obr. 4: Proces améboidní transformace u *T. vaginalis*. A) Vzhled trofozoita před kontaktem; dobře viditelné jsou bičíky, axostyl a undulující membrána, B) Trofozoit kontaktuje vaginální epiteliální buňku, C) Vyvinutá améboidní forma. Trofozoit adhezuje definovanou buněčnou částí, která se nachází naproti undulující membráně. Měřítko 5 μ m. Převzato z Petrin et al. (1998), upraveno.

3.1.3 Léčba a rezistence

Nejčastěji používaným lékem je metronidazol, který se podává perorálně jedním ze dvou hlavních způsobů. Nejčastěji se podává jednorázová dávka 2 g. Druhou možností je 500mg dávka, která je podávána jednou denně po dobu jednoho týdne. Jednorázová dávka je užívána častěji, neboť nižší totální dávka je vhodnější z hlediska úspěšnosti a především se lépe dodržuje, což je u některých rizikových skupin zásadní. Zatímco na počátku 80. let byla úspěšnost vyléčení tímto zásahem 97 % (Lossick 1980), dnes už je tato úspěšnost znatelně nižší, asi 90,5 % (Schwebke a Barrientes 2006). Rezistence k metronidazolu je však relativní, neboť lze překonat vyšší jednorázovou dávkou. Dnes už byla popsána i rezistence k nedávno certifikovanému tinidazolu, přípravku patřícího do stejné skupiny jako metronidazol (Dunne et al. 2003). Metronidazol lze podat i intravenózní cestou, přičemž úspěšnost je podobná (Lossick 1990).

Především v 90. letech existovala všeobecná neochota k používání 5-nitroimidazolových preparátů u těhotných žen, zejména ve Spojených státech. Bylo tomu tak kvůli obavám z vedlejších efektů, které byly často popisovány (Sobel et al. 1999, 2001; Cudmore et al. 2004).

V současné době se však pro plod považuje za mnohem nebezpečnější riziko trichomonózy než riziko související s expozicí metronidazolem (Ali a Nozaki 2007).

U klinických izolátů se za aerobních podmínek ukazuje jejich mírně vyšší citlivost k tinidazolu než k metronidazolu (Ali a Nozaki 2007), za anaerobních podmínek zde však žádný signifikantní rozdíl objeven nebyl (Crowell et al. 2003). Kromě obou výše zmíněných látek byla zkoumána účinnost mnoha nitroimidazolových derivátů, jako jsou ornidazol, secnidazol, nimorazol a další, ovšem pro nedostatek prostoru se o nich nemohu detailněji zmínit (více v pracích Lau et al. 1992; Yarlett et al. 1987a, b).

Metronidazol se do buňky dostává pasivní difuzí. V buňce je pak redukován na cytotoxický meziprodukt, který ji komplexně poškozuje. Je velice pravděpodobné, že hlavním mechanismem cytotoxického působení metronidazolu je vazba jeho reaktivních intermediátů na DNA (Lindmark a Müller 1973) a na proteiny (Leitsch et al. 2009). Vzniklá narušení by mohla indukovat nárůst opravných mechanismů, a tím vyvolat energetickou krizi v důsledku obrovských výdajů na expresi a údržbu opravných enzymů. Vedle doposud jediné uznávané aktivace tohoto léčiva, a sice pomocí redukováného ferredoxinu, se totiž dnes předpokládá i jiná možnost, konkrétně aktivace pomocí thioredoxin reduktázy (Leitsch et al. 2009). Tento enzym se zdá být jedním z důležitých cílů nitroimidazolů. Všechny tyto záležitosti mohou vést k narušení buněčné integrity parazita a jeho zničení (Chapman et al. 1985; Leitsch et al. 2009). U vysoce rezistentních kmenů dochází k četným redukcím, v dřívějších pracích se předpokládalo, že dokonce mohou být hydrogenosomy u takových kmenů ztraceny, ale později se zjistilo, že pouze modifikují svou podobu (Kulda 1999). Rezistence trofozoitů *T. vaginalis* jeví zvýšený podíl laktátové fermentace jako adaptaci na ztrátu pyruvát ferredoxin oxidoreduktázy (PFOR) a ferredoxinu, tedy pyruvát oxidující dráhy v hydrogenosomech (Brown et al. 1999; Dunne et al. 2003). Toto pochopitelně platí pro anaerobní rezistenci. U aerobní rezistence, která se vyskytuje pouze za přítomnosti kyslíku a je jediným typem pozorovaným u klinických izolátů, dochází k inhibici akumulace léků. Kyslík zde totiž kompetuje s metronidazolem o elektrony z redukováného ferredoxinu a jakmile není metronidazol redukován, nevzniká ani žádný koncentrační gradient skrze plasmatickou membránu, který klasicky umožňuje vstup metronidazolu. Navíc zde existuje tzv. jalový cyklus, při kterém jsou redukováné volné nitrátové radikály zpětně oxidovány na původní komponentu metronidazolu, přičemž vznikají superoxidové radikály. U buněk s anaerobním metabolismem, kde k takovéto detoxifikaci nedochází, v průběhu vytváření rezistence došlo k patřičným redukcím ve všech komponentách, přenášejících elektron na metronidazol. Samozřejmě by se nemělo zapomínat ani na ztrátu enzymů a drah, které nebyly primárním důvodem, ale důsledkem rezistence k metronidazolu. Konkrétně mám na mysli např. ztrátu enzymů obsahujících železosírná centra (Leitsch et al. 2009) v důsledku narušení metabolismu flavinů.

3.1.4 Asociace s HIV

HIV postupně ničí imunitu svého hostitele, a dovoluje tím vstup různých chorob, které hostitele dříve či později zahubí (Meysick a Gerber 1995; Price et al. 2003; Schwebke a Burgess 2004). Imunosuprese způsobená infekcí HIV zvyšuje vnímavost i k sexuálně přenosným chorobám, přičemž existují onemocnění, která mohou velice účinně ovlivňovat dynamiku tohoto virového onemocnění, tedy nejenom usnadňovat vstup do doposud neinfikovaného hostitele, ale také usnadňovat uvolňování virových částic. K takovým onemocněním patří i urogenitální trichomonóza. *Trichomonas vaginalis* nemusí usnadňovat pouze mechanický průnik virionů lokálním rozrušováním ochranného mukusu, ale i specifickou degradací inhibitorů proteáz sekretovaných leukocyty, které mohou za normálního stavu blokovat vazbu HIV-1 k buňkám (Draper et al. 1998). Tuto řízenou degradaci *T. vaginalis* provádí pomocí svých cysteinových proteáz. Samozřejmě je ale indukce zvýšené vnímavosti tohoto viru díky vznikům makro- i mikroskopických lokálních narušení v mukózním sekretu velice rozšířená a velice důležitá (Fouts a Kraus 1980). Zvýšení citlivosti k infekci HIV virem mohou vyvolávat mnohá sexuálně přenosná onemocnění, ale tím, že je trichomonóza po papilomaviru nejběžnějším takovým onemocněním, je její efekt nejvýznamnější. Trichomonóza může sekundárně zvyšovat riziko nákazy HIV i pouhým zvýšením citlivosti k abnormální bakteriální flóře, jejíž perzistenci je schopna svou činností udržovat (Sharif et al. 2009). Infekce *T. vaginalis* typicky vyvolává agresivní lokální imunitní odpověď, která je spojena se zánětem vaginálního epitelu a exocervixu (zevní část děložního čípku) u žen a také uretry u mužů (Kiviat et al. 1985; Sardana et al. 1994). Taková zánětlivá odpověď indukuje nárůst leukocytů, včetně HIV cílových buněk, což jsou pomocné CD4 lymfocyty a makrofágy, na které se může HIV vázat a získat přes ně přístup do krevního řečiště (Sardana et al. 1994; Levine et al. 1998). Jak volné viriony, tak viry v lymfocytech mohou vstupovat do obnažených vaskularizovaných míst, a zvyšovat tak pravděpodobnost svého přenosu do dosud neinfikovaného hostitele. Zvýšené poševní uvolňování HIV virionů bylo prokázáno právě v asociaci s poševním zánětem (Kreiss et al. 1994; Wang et al. 2001). Stejně tak je dokumentováno zvýšení koncentrace RNA viru HIV ve spermatu mužů infikovaných *T. vaginalis* (Hobbs et al. 1999). Ve studii Price et al. 2003 úspěšná léčba uretritidy zredukovala hladiny RNA viru HIV natolik, že byla dokonce podobná neinfikovaným kontrolám.

V rámci laboratorních studií byly identifikovány dva mechanismy, které mohou přispívat ke snadnějšímu průniku HIV do hostitele postiženého *T. vaginalis*. Jedním je rozrušování urogenitální epitelální výstelky, tím druhým je aktivace lokální imunitní odpovědi, která v přítomnosti infekce virem může zvyšovat jeho replikaci (Guenther et al. 2005).

Velkým problémem infekce *T. vaginalis* jsou její časté asymptomatické projevy, které dosahují i více jak poloviny všech případů (Wilkinson et al. 1999) a vedou k pokračování

normálního pohlavního života postižených jedinců a k dalšímu šíření infekce. Vinou toho má *T. vaginalis* obrovský rezervoár v asymptomatických jedincích s vysokou mírou reinfekcí (Johnston and Mabey 2008).

Sharif et al. (2009) operují s africkými studii, ze kterých vyvozují až trojnásobné zvýšení přenosu viru HIV u trichomonózou nakažených osob. Tyto informace jsou možná trochu nadsazené, ale pokud vycházíme z toho, že promořenost tímto prvokem je v některých státech velmi vysoká, je i sebemenší příspěvek celkově znásoben do obrovských rozměrů. V jiné studii Chesson et al. (2004) odhadují 746 nových případů HIV mezi ženami ve Spojených Státech, které byly způsobené výhradně *T. vaginalis*. Autoři se pokusili i vyčíslit náklady na léčení těchto pacientů, které dosáhly 167 miliónů dolarů, což by v případě pravdy byl velký argument pro intenzivní snahu o snížení prevalence *T. vaginalis*.

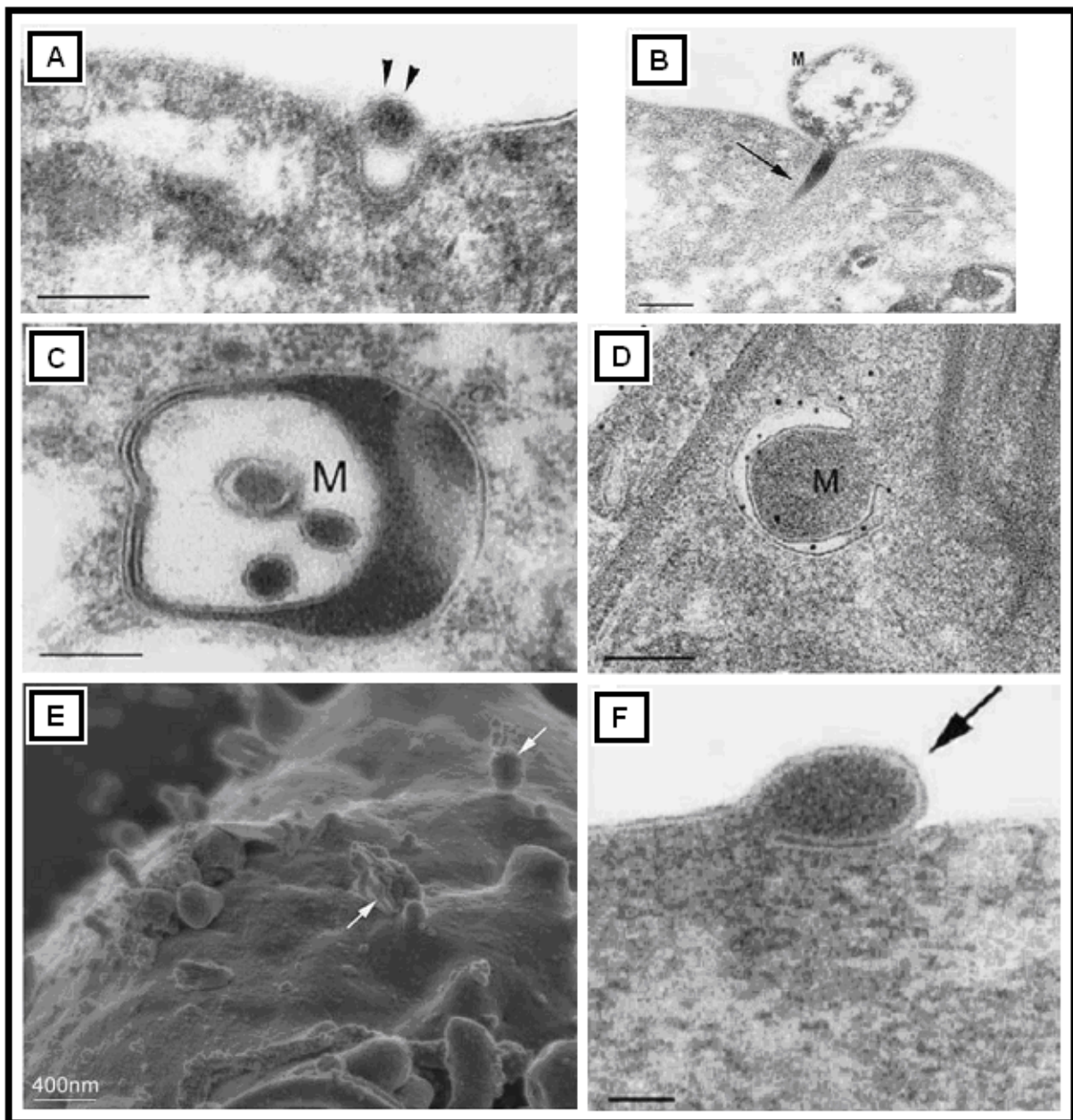
Ač se mi zdála práce autorů Sharif et al. (2009) v některých pasážích jako operující s trochu nadsazenými vizemi, rozhodně jí dávám za pravdu v nutnosti vybudovat jednotný systém evidence nových a stávajících pacientů. Též je třeba vytvořit systém pravidelných kontrol především mezi rizikovými skupinami, které fungují jako velké zásobárny tohoto, ale i dalších onemocnění. Úspěšnost takových kontrolních akcí ukazují pokusné práce z Keni a Tanzanie (Grosskurth et al. 1995; McClelland et al. 2008), kde intenzivní kontrolní zásahy vedly k citelnému poklesu incidence HIV ve zkoumaných komunitách.

3.1.4 Asociace *T. vaginalis* s ostatními viry a prokaryoty

Již před více jak 20 lety byl poprvé nazelen v *T. vaginalis* dvouřetězcový RNA virus (Wang a Wang 1986), přičemž brzy po tomto nálezů byla zjištěna korelace mezi jeho přítomností a expresí jistých povrchových antigenů, přičemž ztráta dsRNA toho viru prokazatelně vedla ke ztrátě exprese oněch povrchových antigenů (Wang et al. 1987). Konkrétně byla věrohodně potvrzena role viru v regulaci povrchového antigenu P270 (Khoshnan and Alderete 1994). Nedávná studie autorů Weber et al. (2003) uvádí prevalenci tohoto viru u 82 % izolátů *T. vaginalis*.

Další zajímavou asociací je kromě výše zmíněného viru také prokaryotický organismus *Mycoplasma*, jehož provázanost s *T. vaginalis* byla popsána mnoha autory (Nielsen 1975; Rappelli et al. 1998; Dessi et al. 2005). Tato asociace může mít významné klinické dopady. Jak naznačují Vancini a Benchimol (2008), je totiž dosti pravděpodobné, že sice menšinový, ale významný podíl těchto bakterií je nějakým způsobem schopen vyhnout se zničení. Tím docílí toho, že mohou přežívat v buňce *T. vaginalis*, případně se v ní pomnožit a především uchránit se zde před stresovými podmínkami v podobě imunitní reakce či některých typů terapie. Jako zásadní se dnes jeví pochopení mechanismů úniku této bakterie lysozomům a samozřejmě její

schopnost přežít v protistech. Velice důležitou roli zde hraje železo, které je stěžejní např. pro ferredoxin oxidoreduktázu a má velkou roli při genové expresi a vazbě k epiteliálním buňkám (Crouch et al. 2001). Nedostatek železa by mohl značně zvyšovat vnímavost k bakteriální invazi. Navíc bylo demonstrováno, že železo moduluje genotypickou variabilitu a fosforylaci konkrétního P270 plášťového proteinu, přičemž jeho nedostatek by tak mohl notně zvyšovat citlivost k bakteriální infekci. Příložené fotografie ze studie Vancini a Benchimol (2008) (viz obr. 5) ukazují na to, že intracelulární *M. hominis* je schopná vyhnout se trávicím vakuolám, což navo-



Obr. 5: Interakce *M. hominis* s *T. vaginalis*. A) Endocytóza, B) *Mykoplasmy* infikující buňky *T. vaginalis*, C) *Mycoplasma*, jež se vyhnula trávicí vakuole, D) Degradovaná *Mycoplasma*, E) *Ppučící mycoplasmy*, F) Detail pučící *mycoplasmy*. Měřítka (kromě E): 500 nm. Převzato z Vancini a Benchimol (2008).

zuje představu, že některé izoláty *T. vaginalis* mohou fungovat jako přírodní rezervoár pro patogenní mykoplasmy.

Každopádně nálezy virových částic, těsná asociace mezi lidským papilomavirem a infekcí *T. vaginalis* a vnitrobuněčná lokalizace bakterií rodu *Mycoplasma* poukazuje na fakt, že *T. vaginalis* je kromě všeho také významným nosičem pro mnoho mikroorganismů.

Vancini a Benchimol (2008) zjistili, že *M. hominis* je buď přímo rezistentní k lysosomálním enzymům trichomonád, nebo že je schopna uniknout před fúzí s těmito váčky. Explicitně pak tvrdí, že zjištění déletrvajícího výskytu mykoplasmy v buňce trichomonády, popřípadě přímo symbiotický vztah navržený již studií Dessi et al. (2005), otevírá nové možnosti pro studium virulence *T. vaginalis*. Jsou tudíž nutné další studie, které zjistí, zda mykoplasma vyvolává nějaké změny v patogenitě tohoto prvoka.

3.2 *Tritrichomonas foetus*

Tritrichomonas foetus způsobuje trichomonózu skotu, jedno z nejčastějších sexuálně přenosných onemocnění. Podobně jako u *T. vaginalis* je přenašečem samec. U býků se onemocnění projevuje většinou mírně, infekce se klasicky zdržuje v předkožkovém vaku, ve spíše výjimečných případech zde může nastat nepříjemný zánět žaludu a předkožky (Jubb et al. 1985). V chronickém stavu se pak tyto trichomonády nacházejí i v močové trubici (Parsonson et al. 1974). U krav onemocnění způsobuje mírný zánět pochvy, popřípadě zánět sliznice děložního hrdla. Infekce však může přejít do dělohy, kde napadá vaginální (Honigberg 1978) a placentální (Rhyan et al. 1988) epitelální buňky. Vzácně může docházet k pyometře, která vyústuje v dočasnou a v některých případech i trvalou neplodnost (Honigberg 1978; Yule et al. 1989). Infekce často vyvolává sterilitu a potraty, které působí obrovské ekonomické ztráty (Honigberg 1978; Corbeil 1994). Je však také možné, že aktivní trichomonóza zabrání oplození, popřípadě velmi brzy ukončí graviditu, v podstatě před mateřským rozpoznáním. Mnoho potratů by tak prošlo bez povšimnutí (Benchimol et al. 2007). Mechanismy, které způsobují sterilitu, nejsou stále příliš známé. Buňky *T. foetus* se *in vivo* přichycují na vaginální a děložní epitelální buňky, u kterých vyvolávají poškození (Singh et al. 2005) a inhibují jejich dělení (Silva-Filho 1988). Produkují enzymy schopné atakovat hostitelské tkáně (Burgess et al. 1990). Tito paraziti kromě rozrušování buněk jsou schopni přímo vyvolávat jejich apoptózu (Singh et al. 2004, 2005). Sommer et al. (2005) zjistili, že apoptózu indukuje cysteinová proteináza CP8. Velice málo toho bylo po dlouhou dobu známo o konkrétních změnách v oocytech po kultivaci s *T. foetus*. *In vivo* kultivace oocytů s *T. foetus* působí rychlou adhezi parazitů k pohlavním buňkám. Na rozdíl od druhu *T. vaginalis*, který spouští améboidní transformaci (González-Robles), *T. foetus* si i při kontaktu

s hostitelskou tkání uchovává svůj vzhled s externalizovanými bičíky. U takto kultivovaných oocytů následně detekujeme významná poškození zóny pelucidy. Benchimol et al. (2007) na základě těchto studií postulují, že *T. foetus* indukuje nejen mechanické poškození, ale i programovanou buněčnou smrt. To samé očekávají i *in vivo*. Ovšem poukazují na nutnost dalších studií, neboť je třeba pamatovat na to, že *in vivo* působí vrozená a získaná imunita, která může otupit vliv trichomonád na oocyty nebo embrya. Jednou z prokázaných vrozených imunitních reakcí je schopnost makrofágů produkovat reaktivní dusíkaté deriváty, které jsou rozhodující v boji proti těmto parazitům. Neutrofilů zřejmě kontrolují situaci od prvotního šíření *T. foetus* reprodukčním traktem (Rutkovski et al. 2007).

T. foetus má kosmopolitní rozšíření a je dosti četným druhem v zemích, kde se chová skot klasickým způsobem, tedy bez umělé inseminace, jež je nejdůležitější prevencí proti tomuto onemocnění. Nejpostiženější země jsou USA a Austrálie. Prevalence v mnoha západních státech Spojených států variovala mezi 4 – 7 % (Parsonson et al. 1976; Abbitt a Meyerholz 1979), na Floridě pak byla kolem 6 % (Rae et al. 2004). V Evropě je prevalence téměř nulová, i když lokálně se při nedodržení pokynů může objevit; např. studie Martín-Gómez et al. (1998) objevila 2% prevalenci *T. foetus* v populaci skotu v severozápadním Španělsku.

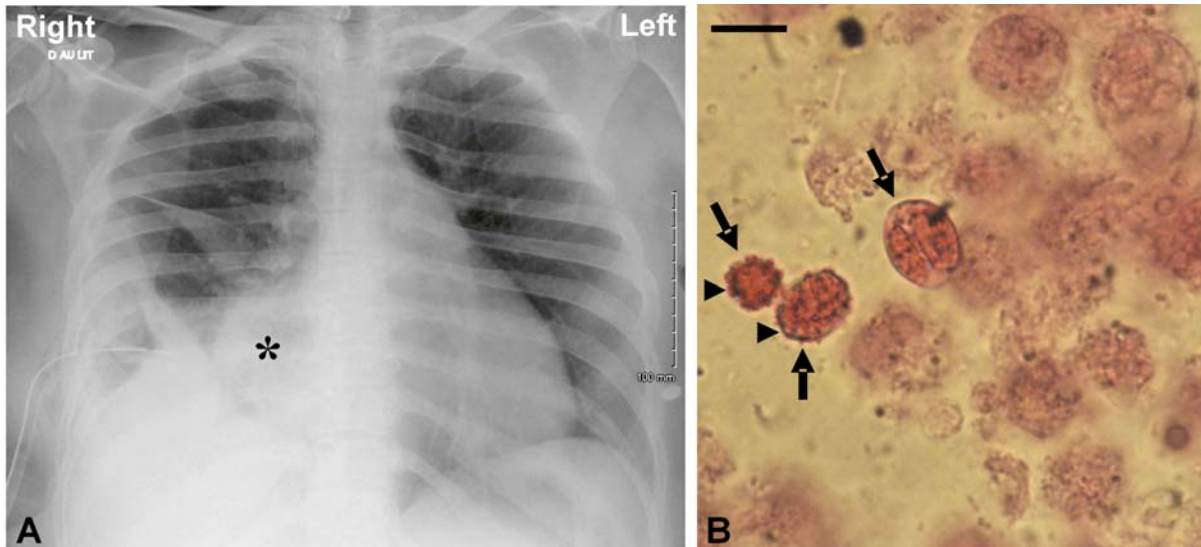
Kromě urogenitálního traktu skotu žijí identické avšak nepatogenní trichomonády v tlustém střevě a nosní dutině prasat (BonDurant a Honigberg 1994). V minulosti byly po dlouhou dobu oddělovány do samostatného druhu *T. suis*. V posledních studiích se však ukázala identita obou druhů (Vaňáčková et al. 1997; Felleisen et al. 1998). Definitivní tečku za tímto sporem podala studie autorů Tachezy et al. (2002), která na základě morfologických, infekčních a molekulárních analýz sjednotila oba dva druhy do jednoho. Pro tento druh by měl platit název *T. suis*, který má prioritu před *T. foetus*. Přesto autoři navrhli mezinárodní nomenklatorické komisi ponechat název *T. foetus* (*nomen protectum*) kvůli jeho velice častému používání coby nebezpečného patogenu. V poslední době byl *T. foetus* nalezen i v tlustém střevě koček a psů (Foster et al. 2004; Gookin et al. 2005; Holliday et al. 2009; Frey et al. 2009). Byl dokonce objeven případ průniku *T. foetus* do dělohy kočky s pyometrou (Dahlgren et al. 2007). Po zákazu používání 5-nitroimidazolových preparátů pro hospodářská zvířata je trichomonóza skotu prakticky neléčitelná, a tak zůstává hlavní zbraní umělá inseminace.

IV. Patogeni dýchacího traktu

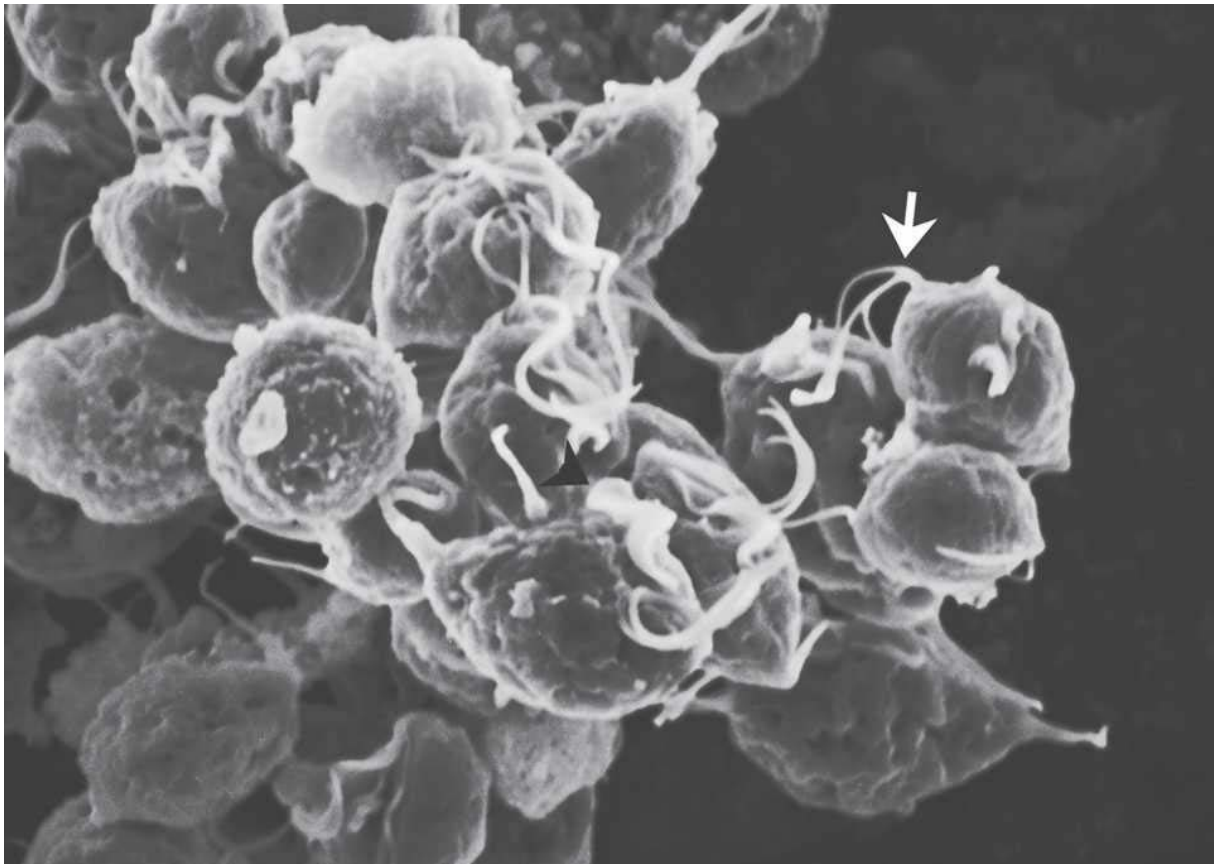
Přestože jsou trichomonády lokalizovány především v urogenitálním a intestinálním traktu a také v ústní dutině, mohou druhotně invadovat místa odlišná od své typické lokalizace. Jedním takovým místem jsou i horní a dolní cesty dýchací. Celkově bylo dosud identifikováno 6 druhů, které byly klasifikovány jako původci plicní trichomonózy (Mantini et al. 2009). Mnoho linií jistě

teprve čeká na své objevení. Z druhů, které byly v dýchacích cestách nalezeny relativně často, jmenujme *Trichomonas tenax* (Lewis et al. 2003; Mallat et al. 2004; Bellanger et al. 2008), jenž je spjat s nízkou úrovní ústní a vůbec celkové hygieny. Do respiračního traktu klasicky vstupuje vdechnutím orofaryngeálního sekretu. Překvapivě byly v dýchacím traktu identifikovány i další druhy, jako *Trichomonas vaginalis* (Duboucher et al. 2003) a *Tritrichomonas foetus* (Duboucher 2006). Byl zde detekován též druh s neprokázanými patogenními účinky, *Pentatrachomonas hominis* (Jongwutiwes et al. 2000) a dále jsou z dýchacího traktu hlášeny nálezy linií rodu *Tetratrachomonas* (Kutisova et al. 2005; Cepicka et al. 2005). Tyto linie tvořily jednu společnou fylogenetickou větev, která zahrnuje i ptačí druhový komplex *Tetratrachomonas gallinarum*. Na fakt, že existuje jistě plno dosud neobjevených linií rodu *Tetratrachomonas*, jasně poukázala studie autorů Mantini et al. (2009), která uveřejnila objev nové linie zmíněného rodu, která se navíc odlišuje od všech ostatních izolátů nalezených v lidech (obr. 8). Linie byla objevena v pleurální dutině pacienta s ohraničeným empyémem (hnisavý zánět pohrudnice) (obr. 6), vedoucím k dušnosti. Pohrudniční tekutina byla infikována i četnými bakteriemi. Tato studie jednoznačně vyzdvihuje otázku skutečného rozšíření plicních trichomonád v lidech a jejich zoonotického potenciálu. Je také nanejvýš pravděpodobná existence četných kmenů adaptovaných na lidi s úzkou hostitelskou specifitou (Mantini et al. 2009).

Trichomonády se často vyskytují spolu s *Pneumocystis* (Honigberg 1990; Duboucher et al. 2004, 2007) a pak také při akutních respiračních potížích, jako je ARDS, což je zkratka pro syndrom dechové tísně dospělých, závažného postižení plic, které bývá reakcí na těžké nemoci dýchacího ústrojí, popřípadě na šok, přičemž bývá narušena tvorba surfaktantu a dochází k zánětu a poškození pneumocytů I. typu. Je však třeba uvést, že osídlení plic trichomonádami je indukováno spíše druhotně upraveným terénem a příznivými podmínkami, týkajícími se lokální hypoxie, než že by souviselo přímo s imunosupresí. Čili ačkoli pravděpodobně primárně neindukují onemocnění, jejich sekundárními projevy už jsou zhoršené symptomy a ztížená terapie. Trichomonády mohou hrát podle všeho roli ve zvýraznění plicních lézí a celkově tak ztěžovat průběh onemocnění. Plicní infekce mohou být velkým a dosud stále nedoceneným rezervoárem pro výskyt trichomonád. Při již zmíněném empyému byla proliferace trichomonád v pohrudniční dutině zjištěna v 16 případech (Wang et al. 2006; Mantini et al. 2009). Všechny případy byly nalezeny v nedávné době, což podtrhuje obavu z toho, že frekvence výskytu těchto patogenů je vysoce podhodnocená. Patrně je to způsobené nedostatečnou pravidelnou diagnostikou u vysoce rizikových pacientů s plicními potížemi, jak naznačil již Honigberg (1990). Navíc je třeba brát v potaz i dlouhé prodlevy mezi sběrem a analýzou (Bellanger et al. 2008).



Obr. 6: Lokalizace a vzhled příslušníků nové linie rodu *Tetratrichomonas*. *A)* Rentgenová radiografie odhalující encystovaný zánět s masivním výtokem v pravé části pohrudnice (označený hvězdičkou). *B)* MIF barvený roztěr mukusu ze zánětlivého místa, ve kterém jsou patrné tři buňky trichomonád. Peltoaxostylární komplex a bičíky nejsou dobře patrné. Patrné jsou akorát relativně dobře vyvinuté undulující membrány (označeno trojúhelníčky). Měřítka: 10 μ m. MIF = Merthiolate-Iodine-Formalin. Převzato z Mantini et al. (2009).



Obr. 7: Trichomonády (*Trichomonas vaginalis*) z nasopharyngeálního sekretu. Převzato z Carter et al. (2008).

hostitele. Především u mladých ptáků vyvolává akutní průjemové onemocnění, které u starších nabírá už v počátcích chronický průběh. Pro většinu ptáků je *H. meleagridis* nepatogenní, z výše uvedených hrabavých postihuje nejvíce mladé krocany, u kterých způsobuje 50 – 100% mortalitu, a pak kuřata, v jejichž řadách jsou ztráty přibližně 10 – 20 % (McDougald 2005). Kromě domácího ptactva jsou hlášeny i exotické nálezy, např. z nanduů (Dhillon 1983). Nejvhodnějším nositelem pro onemocnění je kur domácí (Lund a Chute 1970, 1974), popřípadě kachny (Lund et al. 1974; Chaudhury et al. 1984), u kterých probíhá nákaza asymptomaticky.

Přenos mezi ptáky nastává často přes vajíčka hlístic *Heterakis gallinarum*, která obsahují trofozoity *H. meleagridis* a jsou jediným známým vektorem tohoto patogenu. Histomonády se také mohou přenášet přes žížaly (Lund et al. 1966; Kemp a Franson 1975), které v sobě umí koncentrovat velká množství infekčních vajíček hlístic s histomonádami. Mnoho výzkumníků po dlouhou dobu věřilo, že jsou hlístice nezbytnými vektory pro šíření infekce, což se ale ukázalo jako mylné. Že je možná nákaza bez zmíněných vektorů dokázali Hu a McDougald (2003). Hu et al. (2004) našli u krocánů laterální mechanismus přenosu, zvaný „cloacal drinking“, při němž jsou nasávány tekuté výkaly i s histomonádami pomocí retrográdního pohybu moči z kloaky, působeného reverzní peristaltikou. Právě díky tomuto mechanismu je u krocánů pravděpodobně tak vysoká prevalence. U kuřat, která jsou histomonózou ohrožena podstatně méně, žádný přímý přenos typu „cloacal drinking“ není a vyskytuje se u nich pouze přenos skrze vajíčka hlístic. Kuřata umírají buď na koagulaci krve („black-head disease“), nebo na nějakou sekundární infekci. Mladí krocani jsou vystaveni kontaminovaným tekutým výkalům z již postižených jedinců právě již zmíněným specifickým transportem „cloacal drinking“.

Infekce *Histomonas meleagridis* je často asociována s bakteriálními a dalšími parazitickými infekcemi (Radi 2004), jako jsou *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Salmonella* a *Clostridium* (Harrison et al. 1954). Vedle klasického krevního přenosu, díky kterému se léze objevují v játrech, ledvinách, slezině a plicích, byla prokázána i invaze histomonád bez použití krevního systému, a sice do Fabriciovy burzy (Marx 1973; Cortes et al. 2004).

K přeměně na vysoce patogenní améboidní formu je nutná přítomnost některých druhů bakterií (Franker a Doll 1964). Zvláště důležité jsou *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* a *Bacillus subtilis* (Bradley et al. 1964; Bradley a Reid 1966). V prostředí bez bakterií jsou histomonády avirulentní (McDougald 2005). Améboidní forma se již pohybuje zcela jako klasická měňavka a invaduje střevní sliznici, ve které vznikají velká poškození. Především pak tyto patogeny migrují do jater, kde působí infekční enterohepatitidu. Na slepých střevech, játrech, popřípadě dalších orgánech vznikají charakteristické léze kráterovitého tvaru s pokleslým středem a dobře definovanými okraji (viz obr. 10). Ve slepém střevě u kuřat jsou léze velice variabilní. Slepá střeva i játra jsou ve výsledku naplněna různými buněčnými zbytky, sérovými proteiny atd.

(McDougald 2005). Již po pár dnech dochází k dramatickému nárůstu koncentrace imunoglobulinů a dochází ke koagulaci krve (již výše uvedená „black-head disease“) (Clarkson 1966). Trvalá imunita proti histomonóze není vysoce protektivní a nemá dlouhého trvání (McDougald et al. 2005). Onemocnění však u napadených dospělých jedinců velice rychle přechází do chronicity, kde už manifestace není zdaleka tak bouřlivá. Slepice a další ptactvo uzdravené z tohoto onemocnění produkují stejný počet vajec, ale mají hůře fungující metabolismus a nevyrovnanou hmotnost (Hu et al. 2006).

Zákaz používání účinných přípravků v podobě 5-nitroimidazolových preparátů pro hospodářská zvířata zvýrazňuje potřebu účinného managementu v podobě preventivního užívání účinných arzenových přípravků jako karbarson (McDougald 1979), dále účinnou léčbu střevních hlístic albendazolem a fenbendazolem (Hegngi 1999). Dále jsou potřebné kroky v podobě správného odděleného chovu a pravidelného střídání nekontaminované podestýlky.

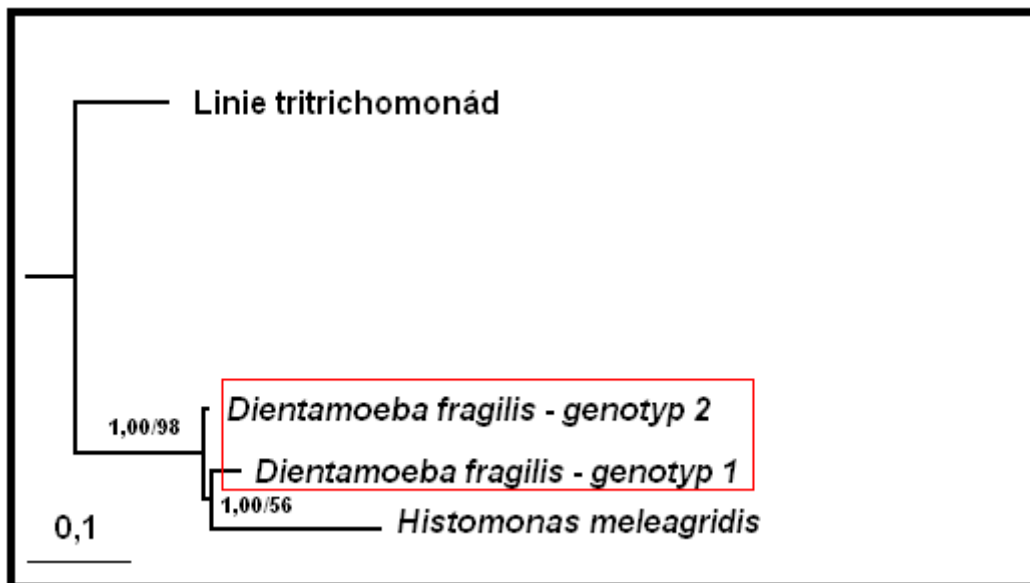
3.2 *Dientamoeba fragilis*

Buňky druhu *Dientamoeba fragilis* jsou zcela meňavkovité, postrádají bičíky a pelto-axostylární systém. Cytokineze jeho buněk je znatelně zpožděna za karyokinezi, a proto mají až čtyři pětiny buněk dvě jádra. Navíc nacházejí v telofázi (McDougald a Reid 1978). Této zajímavosti si všimli již Jepps a Dobell (1918), kteří ještě zdaleka nepovažovali tento druh za patogenní, dokonce si mysleli, že člověk pro něj není koncový hostitel a že se do něho *D. fragilis* dostává náhodně. Pro svůj vzhled byl tento druh zařazován po dlouhou dobu mezi entaméby a teprve nálezy hydrogenosomů a kryptopleuromitózy naznačily, že se jedná o zástupce trichomonád (Camp et al. 1974).

Již Dobell (1940) poukázal na velice pravděpodobný přenos *D. fragilis* spolu s vajíčky hlístů. Tento závěr vyvodil z toho, že považoval *D. fragilis* za blízce příbuzný druhu *Histomonas meleagridis*. Blízkou fylogenetickou příbuznost obou druhů potvrdil Gerbod (2001). Za nejpravděpodobnější kandidáty Dobell považoval druhy *Trichuris trichiura* a *Ascaris lumbricoides*. Dnes se za nejpravděpodobnějšího nositele považují vajíčka *Enterobius vermicularis*. Jako první s touto myšlenkou přišli Burrows a Swerdlow (1956). Tito pánové navíc našli ve vajíčkách roupů améboidní organismy, jejichž jádra velice připomínala ty nalezené u *D. fragilis*. Od té doby vyšlo mnoho prací, které tuto domněnku potvrzují (Melvin a Brooke 1962; Yang a Scholten 1977; Preiss et al. 1991). Ockertovi (1972, 1975) se dokonce podařilo úspěšně infikovat dva lidské jedince vajíčky *E. vermicularis*, izolované z chlapce, který byl zároveň infikován *D. fragilis*. Přes všechny tyto a další práce přímý důkaz přenosu *D. fragilis* vajíčky roupů doposud chybí. Infekce dientamébou je pravděpodobně nejčastější u dětí, např. Keystone et al. (1984) našel *D. fragilis* u 8 % torontských dětí (n = 900). V případě že akceptujeme roupa *E.*

vermicularis jako hlavního nosiče trofozoitů *D. fragilis*, je nejčastější výskyt *D. fragilis* právě u dětí velice pravděpodobný, neboť stejně to platí i pro *E. vermicularis*. Zvýšený výskyt roupů v dětských kolektivech odpovídá nižším hygienickým návykům v nich panujícím. Co se týče dalších hostitelů *D. fragilis*, některé starší práce (Hegner a Chu 1930; Knowles a Das Gupta 1936; Myers a Kuntz 1968) uvádí nálezy z primátů, konkrétně z makaků a pavíánů, ovšem diagnóza je provedena jen na morfologické úrovni a není tak jasné, zda náhodou nejde o úplně jiné druhy. Kromě toho byly provedeny pokusy o intrarektální infekci makaků lidskými dientamébami, ovšem s neúspěšným výsledkem (Dobell 1940). Stark et al. (2008) během dvou let prozkoumali 608 fekálních vzorků z širokého okruhu potenciálních zvířecích hostitelů, včetně různých ptačích a domácích zvířat, přičemž pozitivní byly pouze vzorky ze západních goril nížinných (*Gorilla g. gorilla*).

Na základě sekvence genu pro SSU rRNA byly mezi izoláty *D. fragilis* objeveny dva odlišné genotypy, nicméně více než 99% izolátů patří ke genotypu 1. Studie Windsor et al. (2006) podrobila oba typy genotypů důkladné studii, ve které byly pro fylogenetickou analýzu použity sekvence genu pro 5,8S rRNA. Výsledná genetická vzdálenost naznačuje, že druh *D. fragilis* je ve skutečnosti komplex dvou samostatných druhů.



Obr. 9: Výňatek z fylogenetického stromu znázorňující vzájemnou genetickou vzdálenost obou dvou genotypů druhu *Dientamoeba fragilis*. Nezakořeněný strom sestavený metodou MrBayes na základě sekvencí genu pro 5,8S rRNA. Levá hodnota bootstrapu platí pro MrBayes a levá pro maximum likelihood. * znamená hodnotu do 50 shod. Měřítko ukazuje hodnotu 10%. Převzato z Windsor et al. (2006), upraveno.

Mnoho původních prací uvádí rozmanité symptomy, dle autorů působené právě tímto prvokem. Většina z nich však není v dnešní době pokládána za validní, neboť někteří autoři při svém studiu

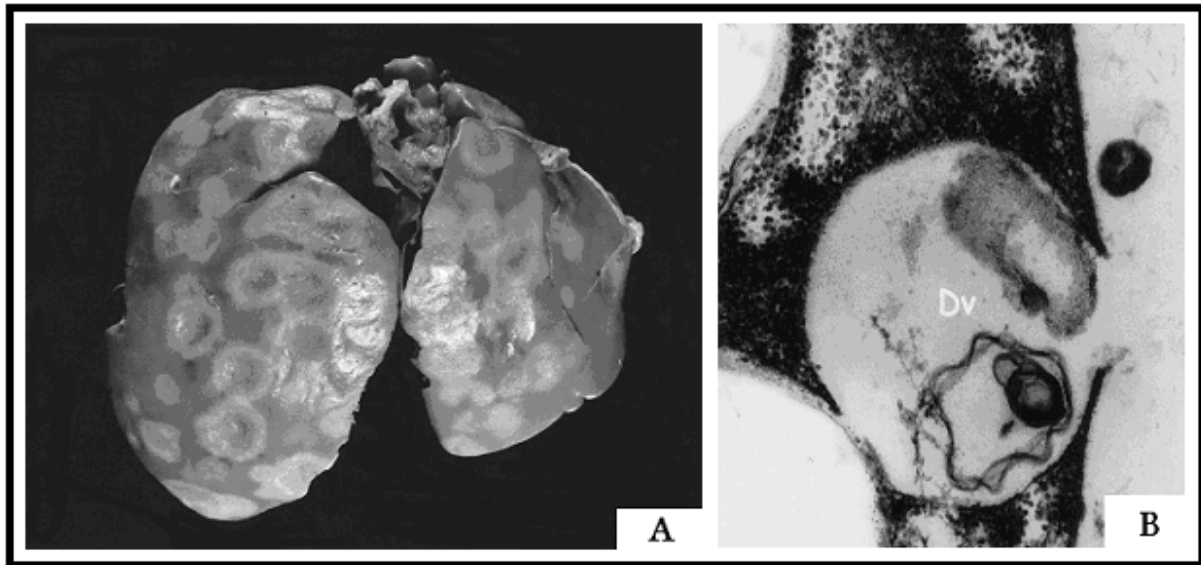
zcela opominuli v postiženém hostiteli hledat některé patogenní skupiny. V jiných případech zase byli vedle *D. fragilis* objeveni patogeni, kteří sami o sobě uváděné symptomy způsobují. *Dientamoeba* tak byla po dlouhou dobu považována za komenzála, ale dnes se ukazuje, že alespoň v některých případech bývá příčinou průjmů, břišních bolestí, nevolností a možná i zánětů slepého střeva (Katz a Taylor 2001). Dalšími možnými potížemi jsou žlučové potíže (Talis et al. 1971), svědění (Spencer et al. 1982), kolitida (Shein a Gelb 1983) a pak by mohlo jít o akutní průjem u lidí infikovaných HIV (Mendez et al. 1994).

3.3 *Trichomonas gallinae*

Trichomonas gallinae je bičíkovec se čtyřmi předními bičíky a jedním zpětným, který tvoří undulující membránu. Tento druh způsobuje těžká onemocnění ptáků. Lokalizuje se v jejich ústní dutině, ve voleti a v jícnu. Po invazi však může být krví roznesen do některých vnitřních orgánů, jako jsou játra, plíce, srdce, mozek, kde působí nekrotické léze a následný úhyn hostitele (Stabler 1954). Napadá především holuby a jiné měkkozobé ptáky (Stabler, 1954; Krone et al., 2005; Bunbury et al., 2007), a dravce (Stabler 1954). Studie autorů Sansano-Maestre et al. (2009) odhalila u *D. fragilis* existenci dvou typů genotypů A a B. Genotyp A převažuje u měkkozobých a genotyp B u dravců. Na druhou stranu genotyp B byl přítomen u všech ptáků, u kterých se vyskytovaly makroskopické léze.

Dosavadní studie dokazují široké spektrum virulence jednotlivých kmenů tohoto druhu, které jsou závislé na konkrétním izolátu a hostiteli (Kocan a Knisley 1970; Henderson et al., 1988). Experimentálně bylo dokázáno, že u hodně virulentních kmenů stačí minimum jedinců k drastické infekci, kdežto u velmi málo virulentních kmenů je třeba k vyvolání silnější infekce až 10^6 buněk (Honigberg 1979). Naprosto nejčastější skupinou hostitelů *T. gallinae* jsou holubovití (Columbidae) s až 100% lokální prevalencí (Stabler 1954). Velké problémy může tento parazit působit v koloniích. Známe jsou mnohé případy. Z těch nejnovějších je to např. ohrožení populace orla jestřábího (*Hieraetus fasciatus*) ve Španělsku (Real et al. 2000). Současné randomizační metody poukazují na fakt, že jednotlivé genotypy zřejmě korelují s geografickou distribucí a hostitelskými druhy, které poukazují na vnitrodruhový přenos a také na striktní hostitelskou specifitu (Gaspar da Silva et al. 2007). Mortalita mladých holubů nakažených virulentními kmeny může dosáhnout až 50 % (McDougald 2003), lokálně v některých případech u velmi mladých holubů i 100 %. Konkrétní patogenní mechanismy nejsou příliš známy, každopádně *T. gallinae* atakuje erythrocyty a spouští hemolýzu prostřednictvím na kontaktu závislých mechanismů (DeCarli a Tasca 2002). Průměrná hemolytická aktivita varíruje od 3,5 % do 53,4 %, přičemž nekoresponduje s klinickou virulencí (Gerhold et al. 2009). Z toho vyplývá, že hemolytická aktivita není vhodná pro *in vitro* analýzu virulence *T. gallinae*. Přenos je primárně přímý, parazit

je přenášen se slinami během krmení, popřípadě během námluv. Přenos může být též kontaminativní (Stabler 1954), popřípadě predací.



Obr. 10: A) Játra postižená *H. meleagridis* (Převzato z <http://www.kstate.edu/parasitology/625tutorials/Histomonas.html>), B) Exocytóza nestrávených odpadních produktů u *D. fragilis* (Převzato z Johnson et al. 2004).

VI. Závěr

Kromě několika málo volně žijících zástupců jsou Trichomonadida především střevní komenzálové, kteří žijí v trávicím traktu obratlovců i bezobratlých. Pouze šest z nich je prokazatelně patogenních, přesto tyto druhy působí rozsáhlé ekonomické a zdravotní škody. Přestože se do dnešní doby podařilo získat mnoho informací týkajících se všech myslitelných aspektů patogenity trichomonád, je třeba dále pokračovat, neboť mnohé detailní molekulární interakce nejsou dořešeny nebo jsou úplně neznámé. Navíc dnes se již vytipovaly metabolické dráhy, které mají velký potenciál k tomu, aby na ně mohly být zacíleny terapeutické postupy, ale doposud ještě chybí podrobnější charakteristika. Dále je třeba zlepšit diagnostiku, zefektivnit kontroly pacientů především v rozvojových zemích a mezi skupinami různých rizikových pacientů, kteří mohou být potenciálně velikou zásobárnou těchto parazitů. Navíc existují oblasti, které jsou dnes prozkoumány velice nedostatečně. Konkrétně mám na mysli jednobuněčné eukaryotické parazity střevního traktu nám příbuzných lidoopů, o nichž je známo až trestuhodně málo. U volně žijících primátů se v poslední době začínají objevovat různé infekční nemoci („emerging diseases“), plynoucí z čím dál těsnějšího kontaktu primátů s člověkem. Poznání jejich jednobuněčných parazitů je tak i vzhledem k jejich ochraně nezbytné.

VII. Použitá literatura

1. Abbitt B., Meyerholz G. W. 1979. *Trichomonas foetus* infection of range bulls in South Florida. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician* **74**: 1339–1342
2. Abraham M., Desjardins C. M., Filion L. G., Garber G. E. 1996. Inducible immunity to *Trichomonas vaginalis* in a mouse model of vaginal infection. *Infection and Immunity* **64**: 3571–3575.
3. Ali V., Nozaki T. 2007. Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infection by amitochondriate protozoan parasites. *Clinical Microbiology Reviews* **20**: 164–187.
4. Arroyo R., Alderete J. F. 1989. *Trichomonas vaginalis* surface proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells. *Infection and Immunity* **57**: 2991–2997.
5. Arroyo R., Gonzalez-Robles A., Martinez-Palomo A., Alderete J. F. 1993. Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesion synthesis follows cytoadherence. *Molecular Microbiology* **7**: 299–309.
6. Bellanger A. P., Kabaret O., Costa J. M., Foulet F., Bretagne S., Botterel F. 2008. Two unusual occurrences of trichomoniasis: rapid species identification by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* **46**: 3159–3161.
7. Benchimol M., da Silva Fontes R., Burla Dias Â J. 2007. *Tritrichomonas foetus* damages bovine oocytes in vitro. *Veterinary Research* **38**: 399–408.
8. BonDurant R. H., Honigberg B. M. 1994. Trichomonads of veterinary importance. In Kreier J. P. (ed.) *Parasitic Protozoa*. 2nd ed. Academic Press, New York. **2**: 111–188.
9. Bradley R. E., Johnson J., Reid W. M. 1964. Apparent obligate relationship between *Histomonas meleagridis* and *Escherichia coli* in producing disease. *Journal of Parasitology* **50**: 51.
10. Bradley R. E., Reid W. M. 1966. *Histomonas meleagridis* and several bacteria as agents of infectious enterohepatitis in gnotobiotic turkeys. *Experimental Parasitology* **19**: 91–101.
11. Brown D. M., Upcroft J. A., Dodd H. N., Chen N., Upcroft P. 1999. Alternative 2-keto acid oxidoreductase activities in *Trichomonas vaginalis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. **98**: 203–214.
12. Brugerolle G., Lee J. J. 2002. Phylum Parabasalia. In Lee J. J., Leedale G. F., Bradbury P. (eds) *An illustrated guide to the Protozoa*. 2nd edition. Allen Press. Inc., Lawrence, Kansas, pp 1196–1250.
13. Bunbury N., Jones C. G., Greenwood A. G., Bell D. J. 2007. *Trichomonas gallinae* in mauritian columbids: implications for an endangered endemic. *Journal of Wildlife Diseases* **43**: 399–407.

14. Burgess D. E., Knoblock K. F., Daugherty T., Robertson N. P. 1990. Cytotoxic and hemolytic effects of *Tritrichomonas foetus* on mammalian cells. *Infection and Immunity* **58**: 3627–3632.
15. Burrows R. B., Swerdlow M. A. 1956. *Enterobius vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **5**: 258–265.
16. Camp R. R., Mattern C. F. T., Honigberg B. M. 1974. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps et Dobell. I. Electronmicroscopic observations of the binucleate stages. II. Taxonomic position and revision of the genus. *Journal of protozoology* **21**: 69–82.
17. Cepicka I., Kutisova K., Tachezy J., Kulda J., Flegr J. 2005. Cryptic species within the *Tetratrichomonas gallinarum* species complex revealed by molecular polymorphism. *Veterinary Parasitology* **128**: 11–21.
18. Cepicka I., Hampl V., Kulda J., Flegr J. 2006. New evolutionary lineages, unexpected diversity, and host specificity in the parabasalid genus *Tetratrichomonas*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **39**: 542–551.
19. Chapman A., Hann A. C., Linstead D., and Lloyd D. 1985. Energy-dispersive X-ray-microanalysis of membrane-associated inclusions in hydrogenosomes isolated from *Trichomonas Vaginalis*. *Journal of General Microbiology* **131**: 2933–2939.
20. Chaudhury B., Mahauta S., Chakraborty A. 1984. Histomoniasis in domestic ducks: case report. *Indian Journal Veterinary Pathology* **8**: 53–54.
21. Chesson H. W., Blandford J. M., and Pinkerton S. D. 2004. Estimates of the annual number and cost of new HIV infections among women attributable to trichomoniasis in the United States. *Sexually Transmitted Diseases* **31**: 547–551.
22. Clarkson M. J. 1966. Progressive serum protein changes in turkeys infected with *Histomonas meleagridis*. *Journal of Comparative Pathology* **76**: 387–396.
23. Cooper G. L., Shivaprasad H. L., Bickford A. A., Nordhausen R., Munn R. J., Jeffrey J. S. 1995. Enteritis in turkeys associated with an unusual flagellated protozoan (*Cochlosoma anatis*). *Avian Diseases* **39**: 183–190.
24. Corbeil L. B. 1994. Vaccination strategies against *Tritrichomonas foetus*. *Parasitology Today* **10**: 103–106.
25. Cortes P. L., Chin R. P., Bland M. C., Crespo R., Shivaprasad H. L. 2004. Histomoniasis in the bursa of Fabricius of chickens. *Avian Diseases* **48**: 711–715.
26. Cotch M. F., Pastorek J. G., Nugent R. P., Hillier S. L., Gibbs R. S., Martin D. H., Eschenbach D. A., Edelman R., Carey J. C., Regan J. A., Krohn M. A., Klebanoff M. A., Rao A. V., Rhoads G. G. 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. *Sexually Transmitted Diseases* **24**: 353–360.

27. Crouch M. L., Benchimol M., Alderete J. F. 2001. Binding of fibronectin by *Trichomonas vaginalis* is influenced by iron and calcium. *Microbial Pathogenesis* **31**: 131–144.
28. Crowell A. L., Sanders-Lewis K. A., Secor W. E. 2003. In vitro metronidazole and tinidazole activities against metronidazole-resistant strains of *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **47**: 1407–1409.
29. Cudmore S. L., Delgaty K. L., Hayward-McClelland S. F., Petrin D. P., Gerber G. E. 2004. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Review* **17**: 783–793.
30. Dahlgren S. S., Gjerde B., Pettersen H. Y. 2007. First record of natural *Tritrichomonas foetus* infection of the feline uterus. *Journal of Small Animal Practice* **48**: 654–657.
31. DeCarli G. A., Brasseur P., da Silva A. C., Wendorff A., Rott M. 1996. Hemolytic Activity of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **91**: 107–110.
32. DeCarli G. A., Tasca T. 2002. *Trichomonas gallinae*: a possible contact-dependent mechanism in the hemolytic activity. *Veterinary Parasitology* **106**: 277–283.
33. Dessi D., Delogu G., Emonte E., Catania M. R., Fiori P. L., Rappelli P. 2005. Long-term survival and intracellular replication of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* cells: potential role of the protozoon in transmitting bacterial infection. *Infection and Immunity* **73**: 1180–1186.
34. Dhillon A. S. 1983. Histomoniasis in a captive great rhea (*Rhea americana*). *Journal of Wildlife Diseases* **19**: 274.
35. Dobell C. 1940. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. *Parasitology* **32**: 417–461.
36. Draper D., Donohoe W., Mortimer L., Heine R. P. 1998. Cysteine proteases of *Trichomonas vaginalis* degrade secretory leukocyte protease inhibitor. *The Journal of Infectious Diseases* **178**: 815–819.
37. Draper D., Landers D. V., Krohn M. A., Hillier S. L., Wieseneld H. C., Heine R. P. 2000. Levels of vaginal secretory leukocyte protease inhibitor are decreased in women with lower reproductive tract infections. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **183**: 1243–1248.
38. Duboucher C., Noël C., Durand-Joly I., Gerbod D., Delgado-Viscogliosi P., Jouveshomme S., Leclerc C., Cartolano G. L., Dei-Cas E., Kapron M., Viscogliosi E. 2003. Pulmonary coinfection by *Trichomonas vaginalis* and *Pneumocystis* sp. as a novel manifestation of AIDS. *Human Pathology* **34**: 508–511.
39. Duboucher C., Gerbod D., Noël C., Durand-Joly I., Delgado-Viscogliosi P., Leclerc C., Pham S., Kapron M., Dei-Cas E., Viscogliosi E. 2004. Frequency of trichomonads as coinfecting agents in *Pneumocystis* pneumonia. *Acta Cytologica* **49**: 273–277.

40. 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., and Viscogliosi E. 2006. Molecular identification of *Tritrichomonas foetus*-like organisms as coinfecting agents of human *Pneumocystis* Pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 1165–1168.
41. Duboucher C., Boggia R., Morel G., Capron M., Pierce R. J., Dei-Cas E., and Viscogliosi E. 2007. *Pneumocystis* pneumonia: immunodepression, *Pneumocystis jirovecii* ... and the third man. *Nature Reviews Microbiology* **5**: 966
42. Dunne R. L., Dunn L. A., Upcroft P., O'Donoghue P. J., Upcroft J. A. 2003. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. *Cell Research* **13**: 239–249.
43. El-Shazly A. M., El-Naggar H. M., Soliman M., El-Negeri M., El-Nemr H. E., Handousa A. E., Morsy T. A. 2001. A study on *Trichomonas vaginalis* and female infertility. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* **31**: 545–553.
44. Engbring J. A., O'Brien J. L., Alderete J. F. 1996. *Trichomonas vaginalis* adhesins display molecular mimicry to metabolic enzymes. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **408**: 207–223.
45. Felleisen R. S. 1998. Comparative genetic analysis of tritrichomonadid protozoa by the random amplified polymorphic DNA technique. *Parasitology Research* **84**: 153–156.
46. Filho C. e S., de Souza W., Lopes J. D. 1988. Presence of laminin-binding proteins in trichomonads and their role in adhesion. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* **85**: 8042–8046.
47. Foster D. M., Gookin J. L., Poore M. F., Stebbins M. E., Levy M. G. 2004. Outcome of cats with diarrhoea and *Tritrichomonas foetus* infection. *Journal of American Veterinary Medical Association* **225**: 888–892.
48. Fouts A. C., Kraus S. J. 1980. *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *The journal of infections diseases* **141**: 137–143.
49. Franker C. K., Doll J. P. 1964. Experimental histomoniasis in gnotobiotic turkeys. II. Effects of some cecal bacteria on pathogenesis. *Journal of Parasitology* **50**: 636–640.
50. Frey C. F., Schild M., Hemphill A., Stünzi P., Müller N., Gottstein B., Burgener I. A. 2009. Intestinal *Tritrichomonas foetus* infection in cats in Switzerland detected by *in vitro* cultivation and PCR. *Parasitology Research* **104**: 783–788.
51. Garber G. E., Lemchuk-Favel L. T., Bowle W. R. 1989. Isolation of a cell-detaching factor of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Clinical Microbiology* **27**: 1548–1553.
52. Garber G. E., Lemchuk-Favel L. T. 1990. Association of production of cell-detaching factor with the clinical presentation of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Clinical Microbiology* **28**: 2415–2417.

53. Garcia A. F., Chang T. H., Benchimol M., Klumpp D. J., Lehker M. W., Alderete J. F. 2003. Iron and contact with cells induce expression of adhesions on surface of *Trichomonas vaginalis*. *Molecular Microbiology* **47**: 1207–1224.
54. Gaspar da Silva D., Barton E., Bunbury N., Lunness P., Bell D. J., Tyler K. M. 2007. Molecular identity and heterogeneity of *Trichomonas* parasites in a closed avian population. *Infection, Genetics and Evolution* **7**: 433–440.
55. Gerbod D., Edgcomb V. P., Noel C., Zenner L., Wintjens R., Delgado-Viscogliosi P., Holder M. E., Sogin M. L., Viscogliosi E. 2001. Phylogenetic position of the trichomonad parasite of turkeys, *Histomonas meleagridis* (Smith) Tyzzer, inferred from small subunit rRNA sequence. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **48**: 498–504.
56. Gerhold R. W., Yabsley M. J., Fischer J. R. 2009. Hemolytic activity of *Trichomonas gallinae* isolates does not correspond with clinical virulence. *Veterinary Parasitology* **160**: 221–224.
57. González-Robles A., Lazaro-Haller M., Espinosa-Castellano M., Anaya-Velazquez F. A., Martinez-Palomo A. 1995. *Trichomonas vaginalis*: ultrastructural bases of the cytopathic effect. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **42**: 641–651.
58. Gookin J. L., Birkenheuer A. J., St John V., Spector M., Levy M. G. 2005. Molecular characterization of trichomonads from feces of dogs with diarrhoea. *Journal of Parasitology* **91**: 939–943.
59. Grosskurth H., Mosha F., Todd J., Mwijarubi E., Klokke A., Senkoro K., Mayaud P., Chagalucha J., Nicoll A., ka-Gina G. 1995. Impact of improved treatment of sexually transmitted diseases on HIV infection in rural Tanzania: randomised controlled trial. *Lancet* **346**: 530–536.
60. Guenther P. C., Secor W. E., Dezzutti C. S. 2005. *Trichomonas vaginalis*-induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infection and immunity* **73**: 4155–4160.
61. Hammerschlag M. R. 1998. Sexually transmitted diseases in sexually abused children: medical and legal implications. *Sexually Transmitted Infectious* **74**: 167–174.
62. Hardy P. H., Hardy J. B., Nell E. E., Graham D. A., Spence M. R., Rosenbaum R. C. 1984. Prevalence of six sexually transmitted disease agents among pregnant inner-city adolescents and pregnancy outcome. *Lancet* **2**: 333–337.
63. Harrison A. P., Hansen P. A., DeVolt H. M., Holst A. P., Tromba F. G. 1954. Studies on the pathogenesis of infectious enterohepatitis (blackhead) of turkeys. *Poultry Science* **33**: 84–93.
64. Heath J. P. 1981. Behaviour and pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in epithelial cell cultures: a study by light and scanning electron microscopy. *The British Journal of Venereal Diseases* **57**: 106–117.

65. Hegner R., Chu H. J. 1930. A comparative study of the intestinal protozoa of wild monkeys and man. *American Journal of Hygiene* **12**: 62–108.
66. Hegngi F. N., Doperr J., Cummings T. S., Schwarz R. D., Saunders G., Zajac A., Larsen C. T., Pierson F. W. 1999. The effectiveness of benzimidazole derivatives for the treatment and prevention of histomonosis (blackhead) in turkeys. *Veterinary Parasitology* **81**: 29–37.
67. Henderson G. M., Gulland F. M. D., Hawkey C. M. 1988. Haematological findings in budgerigars with megabacterium and trichomoniasis infections associated with going light. *Veterinary Records* **123**: 492–494.
68. Hobbs M. M., Kazembe P., Reed A. W., Miller W. C., Nkata E., Zimba D., Daly C. C., Chakraborty H., Cohen M. S., Hoffman I. 1999. *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. *Sexually Transmitted Diseases* **26**: 381–387.
69. Holliday M., Deni D., Gunn-Moore D. A. 2009. *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in a rescue colony in Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* **11**: 131–134.
70. Holmes K. K., Handsfield H. H., Wang S. P., Wentworth B. B., Turck M., Anderson J. B., Alexander E. R. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *The New England Journal of Medicine* **292**: 1199–1205.
71. Honigberg B. M. 1963. Evolutionary and systematic relationships in the flagellate order Trichomonadida Kirby. *Journal of Protozoology* **10**: 20–63.
72. Honigberg B. M., King V. M. 1964. Structure of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Parasitology* **50**: 345–364.
73. Honigberg B. M. 1978. Trichomonads of veterinary importance. In Kreier J. P. (ed.) *Parasitic protozoa*, vol. II. Academic Press, New York, pp 163–273.
74. Honigberg B. M. 1979. Biological and physiological factors affecting pathogenicity of trichomonads. In Levandowsky M., Hunter S. H. (Eds.) *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Academic Press, New York, pp 409–427.
75. Honigberg B. M. 1990. Trichomonads found outside the urogenital tract of humans. In Honigberg B. M. (ed.), *Trichomonads parasitic in humans*. Springer-Verlag, New York, **229**: 342–393.
76. Hu J., McDougald L. R. 2003. Direct lateral transmission of *Histomonas meleagridis* in turkeys. *Avian Diseases* **47**: 489–492.
77. Hu J., Fuller L., McDougald L. R. 2004. Infection of turkeys with *Histomonas meleagridis* by the cloacal drop method. *Avian Diseases* **48**: 746–750.
78. Hu J., Fuller L., Armstrong P. L., McDougald L. R. 2006. *Histomonas meleagridis* in Chicken: Attempted Transmission in the absence of vectors. *Avian Diseases* **50**: 277–279.

79. Jepps M. W., Dobell C. 1918. *Dientamoeba fragilis* n.g., n. sp., new intestinal amoeba from man. *Parasitology* **10**: 352–367.
80. Johnson E. H., Windsdor J. J., Clark C. G. 2004. Emerging from obscurity: Biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clinical microbiology reviews* **17**: 553–570.
81. Johnston V. J. and Mabey D. C. 2008. Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. *Current Opinion in Infectious Diseases* **21**: 56–64.
82. Jongwutiwes S., Silachamroon U., Putaporntip C. 2000. *Pentatrachomonas hominis* in empyema thoracis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**: 185–186.
83. Jubb K. V. F, Kennedy P. C., Palmer N. (eds.). 1985. *Pathology of Domestic Animals*, 3rd, vol. 3, pp. 339–367. Academic Press, Orlando.
84. Katz D. E., Taylor D. N. 2001. Parasitic infections of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology Clinics of North America* **30**: 797–815.
85. Kemp R. L., Franson J. C. 1975. Transmission of *Histomonas meleagridis* to domestic fial by means of earthworms recovered from pheasant yard soil. *Avian Diseases* **19**: 741–744.
86. Keystone J. S., Yang J., Grisdale D., Harrington M., Poklon L., Andreychuk R. 1984. Intestinal parasites in metropolitan Toronto day-care centres. *Canadian Medical Asociacion Journal* **131**: 733–735.
87. Khoshnan A., Alderete J. F. 1994. *Trichomonas vaginalis* with a double-stranded RNA virus has upregulated levels of phenotypically variable immunogen mRNA. *The Journal of virology*. **68**: 4035–4038.
88. Kiviat N. B., Paavonen J. A., Brockway J., Critchlow C. W., Brunham R. C., Stevens C. E., Stamm W. E., Kuo C. C., DeRouen T., Holmes K. K. 1985. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. I. Epithelial and inflammatory cellular changes. *JAMA* **253**: 989–996.
89. Knowles R., Das Gupta B. M. 1936. Some observations on the intestinal protozoa of macaques. *Indian Journal of Medical Research* **24**: 547–556.
90. Kocan R. M., Knisley J. O. 1970. Challenge infection as a means of determining the rate of *Trichomonas gallinae*-free immune birds in a population. *Journal of Wildlife Diseases* **6**: 13–15.
91. Kreiss J., Willerford D. M., Hensel M., Emonoyi W., Plummer F., Ndinya-Achola J., Roberts P. L., Hoskyn J., Hillier S., Kiviat N. 1994. Association between cervical inflammation and cervical shedding of human immunodeficiency virus DNA. *The Journal of Infections Diseases* **170**: 1597–1601.
92. Krieger J. N. 1984. Prostatitis syndromes: pathophysiology, differential diagnosis, and treatment. *Sexually Transmitted Diseases* **11**: 100–112.

93. Krieger J. N. 1990. Epidemiology and clinical manifestations of urogenital trichomoniasis in men. In Honigberg B. M. (ed.) *Trichomonas* parasitic in humans. Springer-Verlag, New York, pp 235–245.
94. Krone O., Altenkamp R., Kenntner N. 2005. Prevalence of *Trichomonas gallinae* in northern goshawks from the Berlin area of northeastern Germany. *Journal of Wildlife Diseases* **41**: 304–309.
95. Kulda J., Nohýnková E. 1978. Flagellates of the human intestine and of intestines of other species. In Kreier J. P. (ed) *Parasitic protozoa*, New York Academic press, pp 1–138.
96. Kulda J. 1999. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *International Journal for Parasitology* **29**: 199–212.
97. Kutisova K., Kulda J., Cepicka I., Flegr J., Koudela B., Teras J., Tachezy J. 2005. Tetratrichomonads from the oral cavity and respiratory tract of humans. *Parasitology* **131**: 1–11.
98. Lau A. H., Lam N. P., Piscitelli S. C., Wilkes L., Danziger L. H. 1992. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole antiinfectives. *Clinical Pharmacokinetics* **23**: 328–364.
99. Lehker M. W., Arroyo R., Alderete J. F. 1991. The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan parasite *Trichomonas vaginalis*. *The Journal of Experimental Medicine* **174**: 311–318.
100. Lehker M. W., Sweeney D. 1999. *Trichomonas* invasion of the mucous layer requires adhesins, mucinases, and motility. *Sexually Transmitted Infection* **75**: 231–238.
101. Leitsch D., Kolarich D., Binder M., Stadlmann J., Altmann F., Duchene M. 2009. *Trichomonas vaginalis*: metronidazole and other nitroimidazole drugs are reduced by the flavin enzyme thioredoxin reductase and disrupt the cellular redox system. Implications for nitroimidazole toxicity and resistance. *Molecular Microbiology* **72**: 518–536.
102. Levine W. C., Pope V., Bhoomkar A., Tambe P., Lewis J. S., Zaidi A. A., Farsky C. E., Mitchell S., Talkington D. F. 1998. Increase in endocervical CD4 lymphocytes among women with nonulcerative sexually transmitted diseases. *The journal of infectious diseases*. **177**: 167–174.
103. Lewis K. L., Roberty D. E., Ribes J., Seabolt J. P., Bensadoun E. S. 2003. Empyema caused by *Trichomonas*. *Chest* **123**: 291–292.
104. Lindmark D. G., Müller M. 1973. Hydrogenosome, a cytoplasmic organelle of anaerobic flagellate *Tritrichomonas Foetus*, and its role in pyruvate metabolism. *Journal of Biological Chemistry* **248**: 7724–7728.
105. Liroso G., Guarascio A. 1972. Effects of hormonal changes in the vaginal environment in the treatment of vaginitis especially due to *Trichomonas*. *Minerva Ginecologica* **24**: 23–27.

106. Lopes J. D., Da-Mota G. F., Carneiro C. R., Gomes L., Costa e Silva Filho F., Brentani R. R. 1988. Evolutionary conservation of laminin-binding proteins. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **21**: 1269–1273.
107. Lossick J. G. 1980. Single-dose metronidazole treatment for vaginal trichomoniasis. *Obstetrics & Gynecology* **56**: 508–510.
108. Lossick J. G. 1990. Treatment of sexually transmitted vaginosis/vaginitis. *Reviews of Infectious Diseases* **12**: S665–S681.
109. Lund E. E., Webe E. E., Ellis D. J. 1966. Earthworm transmission of *Heterakis* and *Histomonas* to turkeys and chickens. *Journal of Parasitology* **52**: 899–902.
110. Lund E. E., Chute A. M. 1970. Relative importance of young and mature turkeys and chickens in contaminating soil with *Histomonas*-bearing *Heterakis* eggs. *Avian Diseases* **14**: 342–348.
111. Lund E. E., Chute A. M. 1974. The reproductive potential of *Heterakis gallinarum* in various species of galliform birds: implications for survival of *H. gallinarum* and *Histomonas meleagridis* to recent times. *International Journal for Parasitology* **4**: 455–461.
112. Lund E. E., Chute A. M., Vernon M. E. L. 1974. Experimental infections with *Histomonas meleagridis* and *Heterakis gallinarum* in ducks and geese. *Journal of Parasitology* **60**: 683–686.
113. Mallat H., Podglajen I., Lavarde V., Mainardi J. L., Frappier J., Kornet M. 2004. Molecular characterization of *Trichomonas tenax* causing pulmonary infection. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 3886–3887.
114. Mantini C., Souppart L., Noël Ch., Dugong T. H., Mornet M., Carroger G., Dupont P., Masseret E., Goustille J., Capron M., Duboucher Ch., Dei-Cas E., Viscogliosi E. 2009. Molecular characterization of a new *Tetratrichomonas* species in empyema. *Journal of Clinical Microbiology* **47**: 2336–2339.
115. Mardh P. A., Colleen S. 1975. Search for uro-genital tract infections in patients with symptoms of prostatitis. Studies on aerobic and strictly anaerobic bacteria, mycoplasmas, fungi, trichomonads and viruses. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology* **9**: 8–16.
116. Marecki M., Heeb K., Zitka W. 1997. Protozoan infection in the perinatal period. *The Journal of Perinatal & Neonatal Nursing* **11**: 21–33, 87–88.
117. Martín-Gómez S., González-Paniello R., Pereira-Bueno J., and Ortega-Mora L. M. 1998. Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in beef bulls in northwestern Spain. *Veterinary Parasitology* **75**: 265–268.
118. Marx D. J. 1973. Turkey bursa of Fabricius infected with *Histomonas meleagridis*. *Journal of Protozoology* **20**: 519.
119. McDougald L. R., Reid W. M. 1978. *Histomonas meleagridis* and relatives. In Krajer 140–163.

120. McDougald L. R. 1979. Efficacy and compatibility of amprolium and carbarsone against coccidiosis and blackhead in turkeys. *Poultry Science* **58**: 76–80.
121. McDougald L. R. 2003. Parasitic Disease. In Glisson J. R., Swayne D., Fadly A. M., Saif Y. M., Barnes H. J., and McDougald L. R. (eds.) *Diseases in Poultry*. Blackwell Publishing Company.
122. McDougald L. R. 2005. Blackhead disease (Histomoniasis) in poultry: A critical review. *Avian Diseases* **49**: 462–476.
123. Melvin D. M., Brooke M. M. 1962. Parasitologic surveys on Indian reservations in Montana, South Dakota, New Mexico, Arizona and Wisconsin. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **11**: 765–772.
124. Mendez O. C., Szmulewicz G., Menghi C., Torres S., Gonzalez G., Gatta C. 1994. Comparison of intestinal parasite infestation indexes among HIV positive and negative populations. *Medicine* **54**: 307–310.
125. Meysick K., Gerber G. E. 1995. *Trichomonas vaginalis*. *Current Opinion Infectious Diseases* **8**: 22–25.
126. Moodley P., Wilkinson D., Connolly C., Moodley J., Sturm A. W. 2002. *Trichomonas vaginalis* is associated with pelvic inflammatory disease in women infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases* **34**: 519–522.
127. Myers B. J., Kuntz R. E. 1968. Intestinal protozoa of the baboon *Papio doguera* Pucheran, 1856. *Journal of Protozoology* **15**: 363–365.
128. Nielsen M. H. 1975 The ultrastructure of *Trichomonas vaginalis* Donnè before and after transfer from vaginal secretion to diamonds medium. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* **83**: 381–389.
129. O'Brien J. L., Lauriano C., Alderete J. F. 1996. Molecular characterization of a third malic enzyme-like AP65 adhesin gene of *Trichomonas vaginalis*. *Microbial Pathogenesis* **20**: 335–349.
130. Ockert G. 1972. Zur epidemiologie von *Dientamoeba fragilis* Jepps et Dobell 1918. 2. Mitteilung: Versuch der Uebertragung der Art mit Enterobius-Eiern. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology* **16**: 222–225.
131. Ockert G. 1975. Zur epidemiologie von *Dientamoeba fragilis*. 3. Weitere zur Uebertragung der Art mit Enterobius-Eiern. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology* **19**: 17–21.
132. Parsonson I. M., Clark B. L., Dufty J. 1974. The pathogenesis of *Tritrichomonas foetus* infection in the bull. *Australian Veterinary Journal* **50**: 421–423.
133. Parsonson I. M., Clark B. L., Dufty J. H. 1976. Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. *Journal of Comparative Pathology* **86**: 59–66.

134. Pereira-Neves A., Ribeiro K. C., Benchimol M. 2003. Pseudocysts in trichomonads – new insights. *Protist* **154**: 313–329.
135. Pereira-Neves A., Benchimol M. 2007. Phagocytosis by *Trichomonas vaginalis*: new insights. *Biology of the Cell* **99**: 87–101.
136. Petrin D., Delgaty K., Bhatt R., Gerber G. 1998. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Review* **11**: 300–317.
137. Pindak F. F., Gardner W. A., Mora de Pindák M. 1986. Growth and cytopathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in tissue cultures. *Journal of Clinical Microbiology* **23**: 672–678.
138. Preiss U., Ockert G., Brkejme S., Otto A. 1991. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology* **35**: 27–34.
139. Price M. A., Zimba D., Hoffman I. F., Kaydos-Daniels S. C., Miller W. C., Martinson F., Chilongozi D., Kip E., Msowoya E., Hobbs M. M., Kazembe P. M., Cohen M. S. 2003. Addition of treatment for trichomoniasis to syndromic management of urethritis in Malawi: a randomized clinical trial. *Sexually Transmitted Diseases* **30**: 516–522.
140. Radi Z. A. 2004. An epizootic of combined *Clostridium perfringens*, *Eimeria* sp. and *Capillaria* sp. Enteritis and *Histomonas* sp. hepatitis with *Escherichia coli* septicaemia in bobwhite quails (*Colinus virginianus*). *International Journal of Poultry Sciences* **3**: 438–441.
141. Rae D. O., Crews J. E., Greiner E. C., Donovan G. A. 2004. Epidemiology of *Tritrichomonas foetus* in beef bull populations in Florida. *Theriogenology* **61**: 605–618.
142. Rappelli P., Addis M. F., Carta F., Fiori P. L. 1998. *Mycoplasma hominis* parasitism of *Trichomonas vaginalis*. *Lancet* **352**: 1286.
143. Real J. Manosa S., Munoz E. 2000. Trichomoniasis in a Bonelli's eagle population in Spain. *Journal of Wildlife Diseases* **36**: 64–70.
144. Rein M. F., Chapel T. A. 1975. Trichomoniasis, candidiasis, and the minor venereal diseases. *Clinical Obstetrics and Gynecology* **18**: 73–88.
145. Rein M. F., Müller M. 1990. *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. In Holme K. K., Mårdh P. A., Sparing P. F., Wiesner P. J. (ed.) Sexually transmitted diseases. McGraw-Hill, New York, pp 481–492.
146. Rhyan J. C., Wilson K. L., Burgess D. E. 1988. Fetal and placental lesions in bovine abortion due *Tritrichomonas foetus*. *Veterinary Pathology* **25**: 350–355.
147. Rutkowski M. R., McNamee L. A., Harmsen A. G. 2007. Neutrophils and inducible nitric-oxide synthase are critical for early resistance to the establishment of *Tritrichomonas foetus* infection. *Journal of Parasitology* **93**: 562–574.

148. Ryu J. S., Kang J. H., Jung S. Y., Shin M. H., Kim J. M., Park H., Min D. Y. 2004. Production of interleukin-8 by human neutrophils stimulated with *Trichomonas vaginalis*. *Infection and Immunity* **72**: 1326–1332.
149. Sandborg R. R., Smolen J. E. 1998. Early biochemical events in leukocyte activation. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* **59**: 300–320.
150. Sansano-Maestre J., Garijo-Toledo M. M., Gómez-Muñoz M. T. 2009. Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. *Avian Pathology* **38**: 201–207.
151. Sardana S., Sodhani P., Agarwal S. S., Sehgal A., Roy M., Singh V., Bhatnagar P., Murthy N. S. 1994. Epidemiologic analysis of *Trichomonas vaginalis* infection in inflammatory smears. *Acta Cytologica* **38**: 693–697.
152. Schwebke J. R., Aira T., Jordán N., Jolly P. E., and Vermund S. H. 1998. Sexually transmitted diseases in Ulaanbaatar, Mongolia. *International Journal of STD & AIDS* **9**: 354–358.
153. Schwebke J. R., Burgess D. 2004 Trichomoniasis. *Clinical Microbiology Review* **17**: 794–803.
154. Schwebke J. R., Barrientes F. J. 2006. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50**: 4209–4210.
155. Shaio M. F., Lin P. R., Lee C. S., Hou S. C., Tang P., Yang K. D. 1992. A novel neutrophil-activating factor released by *Trichomonas vaginalis*. *Infection and immunity* **60**: 4475–4482.
156. Shein R., Gelb A. 1983. Colitis due to *Dientamoeba fragilis*. *The American Journal of Gastroenterology* **78**: 634–636.
157. Sharif S. C., Sorvillo F. J., Smith L. 2009. Current issues and considerations regarding trichomoniasis and human immunodeficiency virus in African-Americans. *Clinical Microbiology* **22**: 37–45.
158. Silva-Filho F. C., De Souza W. 1988. The interaction of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus* with epithelial cells in vitro. *Cell Structure and Function* **13**: 301–310.
159. Sim S., Yong T. S., Park S. J., Im K. I, Kong Y., Ryu J. S., Min D. Y., Shin M. H. 2005. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species mediated activation of ERK1/2 is required for apoptosis of human neutrophils induced by *Entamoeba histolytica*. *Journal of Immunology* **174**: 4279–4288.
160. Singh B. N., Lucas J. J., Hayes G. R., Kumar I., Beach D. H., Frajblat M., Gilbert R. O., Sommer U., Costello C. E. 2004. *Tritrichomonas foetus* induces apoptotic cell death in bovine vaginal epithelial cells. *Infection and Immunity* **72**: 4151–4158.
161. Singh B. N., Hayes G. R., Lucas J. J., Brach D. H., Gilbert R. O. 2005. In vitro cytopathic effects of a cysteine protease of *Tritrichomonas foetus* on cultured bovine uterine epithelial cells. *American Journal of Veterinary Research* **66**: 1181–1186.

162. Sobel J. D., Nagappan V., Nyirjesy P. 1999. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis - an emerging problem. *The New England Journal of Medicine* **341**: 292–293.
163. Sobel, J. D., Nyirjesy P., Brown W. 2001. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clinical Infectious Diseases* **33**: 1341–1346.
164. Sommer U., Costello C. E., Hayes G. R., Beach D. H., Gilbert R. O., Lucas J. J., Singh B. N. 2005. Identification of *Trichomonas vaginalis* cysteine proteases that induce apoptosis in human epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry* **280**: 23853–23860.
165. Song H. O., Shin M. H., Ahn M. H., Min D. Y., Kim Y. S., Ryu J. S. 2008. *Trichomonas vaginalis*: Reactive oxygen species mediates caspase-3 dependent apoptosis of human neutrophils. *Experimental Parasitology* **118**: 59–66.
166. Sorvillo F., Kerndt P. 1998. *Trichomonas vaginalis* and amplification of HIV-1 transmission. *Lancet* **351**: 213–214.
167. Spencer M. J., Chapin M. R., Garcia M. S. 1982. *Dientamoeba fragilis*: a gastrointestinal protozoan infection in adults. *The American Journal of Gastroenterology* **77**: 565–569.
168. Spiegel C. A. 1990. Microflora associated with *Trichomonas vaginalis* and vaccination against vaginal trichomoniasis. In Honigberg B. M. (ed.) *Trichomonads parasitic in humans*. Springer-Verlag, New York, pp 213–224.
169. Stabler R. M. 1954. *Trichomonas gallinae*: a review. *Experimental Parasitology* **3**: 368–402.
170. Stark D., Philips O., Peckett D., Munro U., Marriott D., Harkness J., Ellis J. 2008. Gorillas are a host for *Dientamoeba fragilis*: An update on the life cycle and host distribution. *Veterinary Parasitology* **151**: 21–26.
171. Tachezy J., Tachezy R., Hampl V., Šedinová M., Vaňáčová Š., Vrlík M., Van Ranst M., Flegr J., Kulda J. 2002. Cattle pathogen *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby and Delafond 1843) belong to the same species. *Journal of eucaryotic microbiology* **49**: 154–163.
172. Talis B., Stein B., Lengy J. 1971. *Dientamoeba fragilis* in human feces and bile. *Israel Journal of Medical Sciences* **7**: 1063–1069.
173. Tsai C. D., Liu H. W., Tai J. H. 2002. Characterization of an ironresponsive promoter in the protozoan pathogen *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Biological Chemistry* **277**: 5153–5162.
174. Vancini R. G., Benchimol M. 2008. Entry and intracellular location of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis*. *Archives of Microbiology* **189**: 7–18.
175. Vaňáčová Š., Tachezy J., Kulda J., Flegr J. 1997. Characterization of trichomonad species and strains by PCR fingerprinting. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. **44**: 545–552.

176. Wang A., Wang C. C. 1986. The double-stranded RNA in *Trichomonas vaginalis* may originate from virus-like particles. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). **83**: 7956–7960.
177. Wang A., Wang C. C., Alderete J. F. 1987. *Trichomonas vaginalis* phenotypic variation occurs only among trichomonads infected with the double-stranded RNA virus. The Journal of Experimental Medicine. **166**: 142–150.
178. Wang C. C., McClelland R. S., Reilly M., Overbaugh J., Emery S. R., Mandaliya K., Chohan B., Ndinya-Achola J., Bwayo J., Kreiss J. K. 2001. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. The Journal of Infectious Diseases **183**: 1017–1022.
179. Wang H. K., Jerng J. S., Su K. E., Chang S. C., Yang P. C. 2006. Case report: *Trichomonas empyema* with respiratory failure. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **75**: 1234–1236.
180. Weber B., Mapeka T. M., Maahlo M. A., Hoosen A. A. 2003. Double stranded RNA virus in South African *Trichomonas vaginalis* isolates. Journal of Clinical Pathology **56**: 542–543.
181. Wilkinson D., Karim S. S. A., Harrison A., Lurie M., Colvin M., Connolly C., Sturm A. W. 1999. Unrecognized sexually transmitted infections in rural South African women: a hidden epidemic. Bulletin of World health organization **77**: 22–28.
182. Windsor J. J., Macfarlane L., Clark C. G. 2006. Internal transcribed spacer dimorphism and diversity in *Dientamoeba fragilis*. Journal of Eukaryotic Microbiology **53**: 188–192.
183. Wølner-Hanssen P., Krieger J. N., Stevens C. E., Kiviat N. B., Koutsky L., Critchlow C., DeRouen T., Hillier S., Holme K. K. 1989. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis. JAMA **261**: 571–576.
184. Yadaf M., Dubey M. L., Gusta I., Bhatti G., Malla N. 2007. Cysteine proteinase 30 in clinical isolates of *T. vaginalis* from symptomatic and asymptomatic infected women. Experimental Parasitology **116**: 399–406.
185. Yang J., Scholten T. H. 1977. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **26**: 16–22.
186. Yarlett N., Hof H., Yarlett N. C. 1987a. Activities of metronidazole and niridazole against *Trichomonas vaginalis* clinical isolates. Journal of Antimicrobial Chemotherapy **19**: 767–770.
187. Yarlett N., Rowlands C. C., Yarlett N. C., Evans J. C., Lloyd D. 1987b. Reduction of niridazole by metronidazole resistant and susceptible strains of *Trichomonas vaginalis*. Parasitology **94**: 93–99.

188. Yule A., Skirrow S. Z., BonDurant R. H. 1989. Bovine trichomoniasis. *Parasitology Today* **5**: 373–377.