

Artykuły przeglądowe

Pełzaki wolno żyjące jako nosiciele patogenicznych bakterii

Free-living amoebae as vehicles of pathogenic bacteria

Monika Derda, Anna Sułek-Stankiewicz i Edward Hadaś

¹Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań

Adres do korespondencji: Monika Derda, Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań; E-mail: mderda@amp.edu.pl

ABSTRACT. The free-living amoebae are ubiquitous organisms. They are found in humid soil and all water reservoirs, i.e. fresh, sea, freezing and hot water. They mainly feed on bacteria. Pathogenic properties of amoebae and the mechanisms underlying pathological changes induced during human infection have not yet been fully elucidated. They are the causative agents of primary amoebic meningo-encephalitis (PAM), granulomatous amoebic encephalitis (GAE), a chronic progressive disease of the central nervous system, amoebic keratitis (AK), a chronic eye infection; amoebic pneumonitis (AP), a chronic lung infection, and skin infection. Only a few isolates are strongly and permanently pathogenic to humans. Some isolates lose their pathogenic properties after one passage. It has been assumed that such "temporary", unstable pathogenic properties of the amoebae may be caused by internal factors carried by them. It is generally known that the free-living amoebae may be naturally infected with pathogenic bacteria, which have the ability to survive for a long time and to proliferate in the amoebae cells. The role of the amoeba in the process of maintaining, propagating and transmitting human pathogens has not been well recognized. It has been suggested that some infections can be acquired by inhaling aerosols containing amoebae cells filled with bacteria. The presence of bacteria inside the free-living amoebae poses a great challenge to organisations responsible for testing and inspecting the quality and cleanliness of surface waters, swimming pools and drinking water intakes.

Key words: endosymbiotic bacteria, free-living amoebae, pathogenicity, virulence.

Kosmopolityczne pełzaki wolno żyjące można spotkać w glebie, powietrzu, w zbiornikach wody słodkiej i słonej [1]. Uczestniczą one w obiegu pokarmowym i energetycznym, redukując naturalne zanieczyszczenia biologiczne w zbiornikach wodnych. Określa się je mianem organizmów amfizoicznych [2], co oznacza, że występują one nie tylko w środowisku wolnym, ale również we wnętrzu makroorganizmów, w których namnażają się i zdobywają pokarm. Organizmy te wzbudziły szczególne zainteresowanie badaczy, ponieważ stwierdzono, że w sprzyjających warunkach mogą stać się organizmami chorobotwórczymi dla człowieka i zwierząt. Z medycznego punktu widzenia najbardziej interesujące są gatunki należące do rodzaju *Acanthamoeba* i *Naegleria*, ale również gatunek *Balamuthia mandrillaris* i *Sappinia diploidea*.

Pełzaki wolno żyjące, w zależności od miejsca

Pasożytywanie, mogą wywoływać różne stany chorobowe. Szczegółowe badania medyczne doprowadziły do wyodrębnienia jednostek chorobowych takich jak pierwotne pełzakowe zapalenie opon mózgowych i mózgu (PAM — primary amoebic meningo-encephalitis) [3] wywoływane przez pełzaki z rodzaju *Naegleria* oraz ziarniniakowe zapalenie mózgu (GAE — granulomatous amoebic encephalitis) [4] i zapalenie rogówki oka (AK — *Acanthamoeba* keratitis) [5–7] wywoływane przez pełzaki z rodzaju *Acanthamoeba*.

Pierwsze śmiertelne przypadki zapalenia opon mózgowych i mózgu wywołane przez pełzaki opisał Fowler i Carter w roku 1965 [8]. W następnych latach opisano szereg dalszych przypadków.

Przypadki PAM stwierdzano zazwyczaj u osób, które pływały w jeziorach, ciepłych basenach lub innych zbiornikach wodnych, gdzie temperatura

wody przekraczała 20°C. Zarażenie człowieka pełzakami z rodzaju *Naegleria* następowało drogą donosową. Okres inkubacji PAM wynosił od 4 do 7 dni. Choroba miała szybki, gwałtowny przebieg, była trudna w leczeniu i szybko doprowadzała do zgonu pacjentów. Zaobserwowano objawy kliniczne takie jak: bóle głowy, nudności, wymioty, gorączka, brak łaknienia i sztywność karku.

Ziarniniakowe zapalenie mózgu (GAE) jest chorobą przewlekłą i dotyczy głównie osób osłabionych, immunologicznie niekompetentnych, przyjmujących leki immunosupresyjne lub chorych na AIDS [9–13]. Pełzaki poza drogą donosową wnikają również do układu nerwowego prawdopodobnie drogą naczyń krwionośnych, poprzez uszkodzoną skórę lub z pierwotnych zmian w płucach czy nerkach. Typowymi objawami chorobowymi są zaburzenia neurologiczne, halucynacje, dezorientacja, ból głowy, gorączka i zaburzenia wzroku. Pełzaki powodowały ponadto liczne zmiany w narządach człowieka i zwierząt; obserwowano je w płucach [14–16], nadnerczach, skórze, uchu, żuchwie [17–20].

Od pewnego czasu obserwuje się wzrost liczby przypadków pełzakowego zapalenia rogówki oka (AK). Pierwsze przypadki AK opisano w roku 1974 [21]. Większość przypadków zapalenia rogówki oka ma związek z używaniem soczewek kontaktowych i roztworów do ich pielęgnacji. Soczewka kontaktowa zmienia warunki panujące na powierzchni oka i sprawia, że staje się ono bardziej podatne na uszkodzenia i infekcje. W przypadkach AK niezwiązanych z noszeniem soczewek kontaktowych, zarażenie wiąże się najczęściej z mechanicznym urazem rogówki. Mechanizm wywoływania zmian patogenicznych przez pełzaki nie jest do końca poznany. Przypuszcza się, że może być związany między innymi z reakcjami immunologicznymi żywiciela na obecność pełzaków.

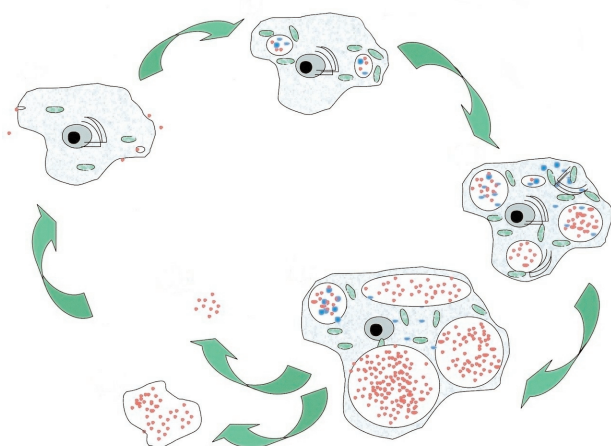
W ostatnich latach zwrócono uwagę na rolę pełzaków wolno żyjących jako wektorów chorobotwórczych bakterii. Z reguły pełzaki w naturalnym środowisku w znacznym stopniu mogą ograniczać liczebność populacji bakterii, ale mogą również ułatwiać przeżywanie niektórym chorobotwórczym szczepom i stanowić ich naturalny rezerwuuar.

W warunkach naturalnych główne źródło pokarmu dla pełzaków stanowią bakterie. Pełzaki produkują enzymy, które umożliwiają im degradację składników bakteryjnej ściany komórkowej [22–24]. Jednak nie wszystkie gatunki bakterii są dobrym pokarmem dla pełzaków. Fakt ten może być spowodo-

wany obecnością toksyn, toksycznych pigmentów lub specyficzną budową błon zewnętrznych bakterii. Bakterie takie jak np. *Pseudomonas aeruginosa* występujące w dużych ilościach w otoczeniu pełzaków hamują wzrost pierwotniaków, a nawet mogą spowodować ich śmierć [25].

W układzie pełzak-bakteria obserwujemy szereg rozmaitych zależności prowadzących do wewnątrzkomórkowego przeżywania i namnażania bakterii. Zależności te można z grubsza określić jako symbiotyczne lub pasożytnicze. W takim układzie „drapieżnik-ofiara” (pełzak-bakteria) znajdują się szczepy bakterii blokujące procesy ich trawienia przez pełzaki. W ten sposób pełzaki mogą stać się przenosicielami (wektorami) bakterii. Inne bakterie wykształciły mechanizmy pozwalające na wykorzystanie środowiska pełzaka dla własnej reprodukcji i ochrony przed skutkami działania szkodliwych czynników środowiska zewnętrznego. Taki model oddziaływania obserwuje się w przypadku pełzaków zakażonych *Listeria monocytogenes*. Bezsprawnie po wniknięciu do pełzaka bakterie uwalniają się z wodniczki trawiennej, przenikają do cytoplazmy, mnożą się aż do spowodowania lizy [26]. Znane są także bakterie mnożące się wewnątrz pełzaków bez wywołania lizy komórki (np. *Vibrio cholerae*) [27] oraz bakterie przeżywające w pełzakach bez możliwości namnażania się. Jeżeli mechanizmy obronne pierwotniaka są nieskuteczne lub osłabione, wówczas znajdujące się wewnątrz bakterie mogą utrzymywać swoją żywotność lub mogą rozwinąć formę endosymbiozy. Swoistość i wybiórczość powiązań endosymbiotycznych jest słabo poznana. Niektóre bakterie mogą zarażać jedynie pierwotniaki z rodzaju *Acanthamoeba*, podczas gdy innym bakteriom odpowiada wyjątkowo szeroki zakres przenosicieli z kilku rodzajów [28, 29]. Niedopasowane pary pełzak-bakteria nie są zdolne do endosymbiozy [28].

Podczas kąpieli lub mycia się pełzaki zawierające wewnątrz bakterie mogą kolonizować powierzchnię błon śluzowych lub uszkodzoną skórę żywiciela. Temperatura ciała żywiciela sprzyja namnażaniu się bakterii wewnątrz pełzaków. Zwykle po 36–48 godzinach pełzaki mogą być już całe wypełnione bakteriami. Mogą zawierać nawet do 10⁴ bakterii. Tak więc pełzak może stać się pośrednio inkubatorem dla rozwoju chorobotwórczych bakterii [30]. Końcowym etapem rozwoju bakterii w pełzaku jest liza komórki, prowadząca do uwolnienia nowych generacji bakterii i w konsekwencji do zarażenia żywiciela. Taki cykl rozwojowy bakterii we-



Rys. 1. Cykl rozwojowy pełzaka prowadzący do namnożenia się bakterii i uwalniania ich w postaci wolnej oraz w małych pęcherzykach
 Fig. 1. The life cycle of amoeba leading to multiplication and expulsion of bacteria as a free cells and in small vesicles

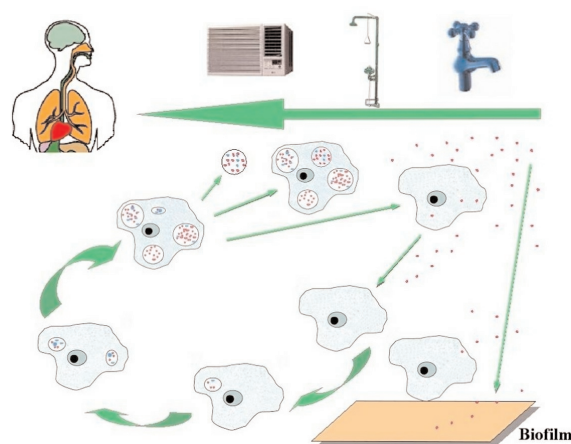
wnątrz pełzaków przedstawiono na Rys.1.

Transmisja bakterii związanych z pełzakami może odbywać się również poprzez wdychanie aerozoli zawierających zarażone pierwotniaki lub cysty [15] oraz pęcherzyki z bakteriami, które uwalniane są zwłaszcza przez przedstawicieli rodzaju *Acanthamoeba* [31]. Takie aerozole mogą powstawać w zraszczach, fontannach, prysznicach lub podczas silnych wiatrów porywających krople wody ze zbiorników. Cysty pierwotniaków mogą ponadto zapewnić bakteriom dodatkową ochronę w przetrwaniu w niespecyficznych warunkach [32], a nawet możliwość transmisji np. bezwzględnie beztlenowych bakterii *Molibuncus curtisii* ginących w środowisku tlenowym [33].

Powiązania pomiędzy pełzakami wolno żyjącymi a bakteriami były znane od dawna, mimo to obecność potencjalnie patogennych bakterii w pełzakach nie przyciągała większej uwagi. Na możliwość wykorzystania pełzaków wolno żyjących jako rezerwuarów i inkubatorów chorobotwórczych dla człowieka gatunków bakterii zwróciły uwagę zainicjowane w latach 70. badania nad biologią *Legionella pneumophila*, jako czynnikiem nieznaney wcześniej choroby legionistów [30]. W 1976 roku, w Filadelfii po izolacji *Legionella pneumophila* z systemu klimatyzacyjnego podczas pierwszego wybuchu choroby stwierdzono, że najważniejszą rolę w przenoszeniu legionellozy ma wewnątrzkomórkowa inwazja pełzaków przez pałeczki, ponie-

waż w środowisku gatunek ten nie może mnożyć się pozakomórkowo. Uznano to za istotny punkt w patogenezie i ekologii *Legionella pneumophila*. Podobne zjawisko dotyczy tzw. LLAPs (*Legionella*-like amoebal pathogens). Bakterie te, po raz pierwszy zostały opisane w 1956 roku przez Drożańskiego [34] i nazwane *Sarcobium lyticum*. Są one filogenetycznie ściśle spokrewnione z Legionellae i łączono je z występowaniem choroby legionistów. Podobnie jak pałeczki *Legionella* są to również obligatoryjne pasożyty wewnątrzkomórkowe pełzaków wolno żyjących, które uwalniane są do środowiska podczas rozpadu komórki żywiciela [35]. Na Rys. 2 przedstawiono drogi transmisji pałeczek *Legionella* i innych bakterii poprzez aerozole i wodę.

Mechanizmy, które umożliwiają pasożytniczym



Rys. 2. Namnażanie się *Legionella pneumophila* i innych bakterii, oraz drogi ich transmisji poprzez wodę i aerozole

Fig. 2. Multiplication of the *Legionella pneumophila* and other bacteria as well as their ways of transmission by water and aerosols

bakteriom przeżywanie wewnątrz pierwotniaków wyspecjalizowanych w niszczeniu bakterii, jak i w komórkach układu odpornościowego organizmu człowieka, nie są jeszcze do końca poznane. Ale mechanizm regulacyjno-adaptacyjny umożliwiający szybkie zmiany metabolizmu w odpowiedzi na gwałtowne zmiany środowiska musi być wyjątkowo sprawny. Z prowadzonych w ostatnich latach badań wynika, że już sam przebieg endocytozy może decydować o powodzeniu wewnątrzkomórkowej infekcji. Cytologiczne badania ultrastruktury zakażonych pierwotniaków wskazują między innymi na możliwość szybkiego połączenia endosomów zawierających bakterie z retikulum endoplazmatycznym komórki żywiciela, co stanowi dodatkową

ochronę i jest metabolicznym dostosowaniem bakterii do środowiska w nowej niszy [36]. Ponadto sygnałem do regulacji zdolności adaptacyjnych oraz zjadliwości szczepów bakterii w środowisku i w organizmie człowieka, może być zmiana temperatury otoczenia [37]. Na przykład zjadliwe w testach *in vivo*, hodowane w 37°C *Legionella pneumophila*, tracą swe zdolności chorobotwórcze po obniżeniu temperatury ich hodowli do 24°C [38]. Natomiast bakterie obecne w komórce pierwotniaka w wyniku obniżenia temperatury stają się zwykłym, podlegającym strawieniu pokarmem [39].

Barker i wsp. [40], Barker i Brown [32] oraz Abu Kwaik i wsp. [41] wykazali, że rozwój bakterii w komórkach pierwotniaków może wpływać modyfikująco na ich morfologiczne, fizjologiczne i behawioralne właściwości, co ma związek z preadaptacją bakterii do późniejszego śródkomórkowego wzrostu w organizmach ludzi i zwierząt. Badania prowadzone przez Barkera i wsp. [40, 42, 43] oraz Kinga i wsp. [44] wykazały np., że pałeczki *Legionella pneumophila* izolowane z *Acanthamoeba*, są mniejsze od hodowanych *in vitro*, mają odmienne właściwości powierzchniowe związane z absorpcją cząsteczek produkowanych przez pełzaki i wykazują ruchliwość. Ponadto u bakterii tych wykazano syntezę *de novo* specyficznych pięciu antygenów powierzchniowych [42, 45, 46]. Wewnątrzkomórkowy wzrost w pierwotniakach wzmaga również zjadliwość bakterii, które są bardziej infekcyjne i odpowiedzialne za wyższą śmiertelność. Zjawisko to zaobserwowano między innymi w przypadku pałeczek *Legionella pneumophila* [23, 47–49] i *Mycobacterium avium* [50], które wykazywały większą zdolność inwazji do makrofagów i komórek nabłonka oraz wzmoczoną wewnątrzkomórkową replikację, co może kompensować ich niską dawkę infekcyjną. Pomimo, że nie określono dokładnie mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za inwazyjność i replikację bakterii, obecnie przyjmuje się, że namnażanie komórek stymuluje materiał wydzielany przez pełzaki.

Badania strategii przeżywania bakterii wewnątrz pełzaków oparte głównie na powiązaniach *Legionella* z *Acanthamoeba* i *Hartmannella* wskazują, że mechanizmy rozpoznania, wnikania i wewnątrzkomórkowego namnażania się w komórkach pierwotniaków i ssaków są podobne [36, 47]. W procesy inwazji i przeżycia w komórkach żywiciela zaangażowane są między innymi loci licznych genów bakterii, przy czym te same geny mogą być wykorzystywane do wzrastania zarówno w komórkach pierwot-

niaków, jak i ssaków [51].

Od lat 70. poznano wiele innych patogenów bakteryjnych, które mogą przemieszczać się z pełzakami wolno żyjącymi. Są to prątki z rodzaju *Mycobacterium* [52–54], *Vibrio cholerae* [27, 55], *Listeria monocytogenes* [26, 56], bakterie z rodzaju *Chlamydia* [57, 58] i *Rickettsia* [59], *Burkholderia pseudomallei* [60] i *Burkholderia cepacia* [61, 62], a także pałeczki *Salmonella* [37, 63–65], *Shigella*, *Yersinia* i inne bakterie [66], a nawet *Francisella tularensis*, bakteria, która ze względu na wysoką zjadliwość i zakaźność jest uważana za czynnik możliwy do wykorzystania w bioterroryzmie [67]. Sugeruje to, że trzeba na nowo rozpatrzeć kliniczne i epidemiologiczne aspekty występowania bakteryjnych zakażeń pełzaków.

Obecność żywych chorobotwórczych bakterii wewnątrz pełzaków wolno żyjących stwarza nowe wyzwania dotyczące zapobiegania chorobom i uzdatniania skażonych źródeł wody. Od dawna wiadomo, że liczne gatunki i szczepy pełzaków wykazują oporność na przemijającą ekspozycję na podwyższone temperatury i substancje odkażające. Odzwierciedla to ich adaptację do niesprzyjających czynników spotykanych w przyrodzie, czyniąc pełzaki trudnymi do usunięcia z sieci wodnej. Jednocześnie nie podejmuje się prób opanowania obecności pełzaków w środowisku, ponieważ udział zakażeń ludzi jest niski. Tę niezwykłą oporność pełzaków można połączyć z niepokojącym faktem braku skutecznych metod ograniczających wzrost wielu bakterii w wodzie pitnej. Zalecenia dotyczące odkażania termicznego i chemicznego wody badanej w warunkach laboratoryjnych są oparte bowiem na wrażliwości rozproszonych bakterii. Tymczasem bakterie zamknięte wewnątrz komórek są mniej dostępne dla czynników przeciwbakteryjnych i odkażających, ze względu na występowanie fizycznej bariery ochronnej. Jak wykazały liczne badania *in vitro* bakterie takie charakteryzują się istotnie wyższym poziomem oporności na działanie środków dezynfekcyjnych, biocydów [40], a także wykazują opór w stosunku do niekorzystnych warunków środowiska, takich jak: wahania temperatury, osmolarność, pH, promieniowanie jonizujące [41]. Nawet jeżeli odkażanie termiczne i chemiczne zmniejsza liczbę bakterii, efekt jest czasowy i często obserwuje się rekolonizację wody. Użyteczna w odkażaniu wody może okazać się blokada receptorów powierzchniowych pełzaków uniemożliwiająca zwiążanie i wejście bakterii do pierwotniaka [68]. Pozakomórkowe bakterie są bardziej wrażliwe na warun-

ki środowiska i nie są chronione przed biocydami i środkami dezynfekcyjnymi.

Na podstawie badań nad współzależnościami na poziomie pierwotniak/bakteria, trudno jest jeszcze do końca określić wzajemną rolę żywiciela i pasożyta w rozwoju mechanizmów inwazyjnych i zjadliwości pełzaka i bakterii dla człowieka [69]. Nie podlega jednak dyskusji epidemiologiczna rola pierwotniaków jako rezerwuarów czynników infekcyjnych czy wektorów w rozprzestrzenianiu się niektórych chorób zakaźnych. Wiadomo też, że leczenie chorób powodowanych przez bytujące w komórkach pełzaka bakterie stwarzają wiele trudnych do przezwyciężenia problemów medyczno-terapeutycznych [70].

Obecność bakterii wewnątrz pełzaków lub ewentualnie na ich powierzchni, stanowi szczególnie wyzwanie dla badań epidemiologicznych i kontroli czystości wód powierzchniowych, kąpielisk oraz ujęć wody pitnej. Istnieje bowiem możliwość powiązania zagrożenia występowania niektórych chorób bakteryjnych człowieka z obecnością pełzaków w wodzie. Ponadto niektóre pełzaki wolno żyjące same w sobie są już potencjalnymi patogenami człowieka.

Literatura

- [1] Page F.C.A. 1976. A revised classification of the *Gymnamoeba* (Protozoa: Sarcodina). *Zoological Journal of the Linnean Society* 58: 61–77.
- [2] Page F.C.A. 1974. *Rosculus ithacus* Hawes, 1963, (Amoebida, Flabellulidae) and the amphizoic tendency in amoebae. *Acta Protozoologica* 13: 143–154.
- [3] Carter R.F. 1968. Primary amoebic meningo-encephalitis: clinical, pathological and epidemiological features of six fatal cases. *Journal of Pathology and Bacteriology* 96: 1–25.
- [4] Martinez A.J., Garcia C.A., Halks-Miller M., Arce-Vela R. 1980. Granulomatous amebic encephalitis presenting as a cerebral mass lesion. *Acta Neuropathologica* 51: 85–91.
- [5] Bos H.J., Volker-Dieben H.J., Kok-van Alphen C.C. 1981. A case of *Acanthamoeba* keratitis in The Netherlands. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 75: 86–91.
- [6] Johns K.J., O'Day M.D., Head W.S., Neff R.J., Elliott J. 1987. Herpes simplex masquerade syndrome: *Acanthamoeba* keratitis. *Current Eye Research* 6: 207–211.
- [7] Moore M.B. 1988. *Acanthamoeba* keratitis. *Archives of Ophthalmology* 106: 1181–1183.
- [8] Fowler M., Carter R.F. 1965. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. *British Medical Journal* 5464: 740–742.
- [9] Casper T., Basset D., Leclercq C., Fabre J., Peyron-Raison N., Reynes J. 1999. Disseminated *Acanthamoeba* infection in a patient with AIDS: response to 5-fluorocytosine therapy. *Clinical Infectious Diseases* 29: 944–945.
- [10] Martinez A.J., Visvesvara G.S. 1997. Free-living, amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathology* 7: 583–598.
- [11] Schwarzwald H., Shah P., Hicks J., Levy M., Wagner M.L., Kline M.W. 2003. Disseminated *Acanthamoeba* infection in a human immunodeficiency virus-infected infant. *Pediatric Infectious Disease Journal* 22: 197–199.
- [12] Walochnik J., Obwaller A., Aspöck H. 2000. Correlations between morphological, molecular biological, and physiological characteristics in clinical and non-clinical isolates of *Acanthamoeba* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4408–4413.
- [13] Walochnik J., Obwaller A., Haller-Schober E.M., Aspöck H. 2001. Anti-*Acanthamoeba* IgG, IgM, and IgA immunoreactivities in correlation to strain pathogenicity. *Parasitology Research* 87: 651–656.
- [14] Kingston D. 1969. Towards the isolation of respiratory syncytial virus from the environment. *Journal of Applied Bacteriology* 31: 498–510.
- [15] Kingston D., Warhurst D.C. 1969. Isolation of amoebae from the air. *Journal of Medical Microbiology* 2: 27–36.
- [16] Jadin J.B. 1975. Wolnożyjące pełzaki chorobotwórcze. *Wiadomości Parazytologiczne* 21: 493–498.
- [17] Borochovit D., Martinez A.J., Patterson G.T. 1981. Osteomyelitis of a bone graft of the mandible with *Acanthamoeba castellanii* infection. *Human Pathology* 12: 573–576.
- [18] Gullett J., Mills S., Hadley K., Podemski B., Pitts L., Gelber R. 1979. Disseminated granulomatous *Acanthamoeba* infection presenting an unusual skin lesion. *American Journal of Medicine* 67: 891–896.
- [19] Ringsted J., Jager B.V., Suk D., Visvesvara G.S. 1976. Probable *Acanthamoeba* meningoencephalitis in a Korean child. *American Journal of Clinical Pathology* 66: 723–729.
- [20] Visvesvara G.S., Mirra S.S., Brandt F.H., Moss D.M., Martinez A.J. 1983. Isolation of two strains of *Acanthamoeba castellanii* from human tissue and their pathogenicity and isoenzyme profiles. *Journal of Clinical Microbiology* 18: 1405–1412.
- [21] Naginton J., Watson P.G., Playfair T.J., McGill J., Jones B.R., Steele A.D. 1974. Amoebic infection of the eye. *Lancet* 2: 1537–1540.
- [22] Drożański W. 1969. Bacteriolytic enzyme produced by *Acanthamoeba castellanii*. *Acta Microbiologica Polonica A* 1: 155–168.
- [23] Neumeister B., Reiff G., Faigle M., Dietz K., Northoff H., Lang F. 2000. Influence of *Acanthamoeba castellanii* on intracellular growth of different *Legio-*

- nella* species in human monocytes. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 914–919.
- [24] Weekers P.H., Engelberts A.M., Vogels G.D. 1995. Bacteriolytic activities of the free-living soil amoebae, *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga* and *Hartmannella vermiformis*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 68: 237–243.
- [25] Wang X., Ahearn D.G. 1997. Effect of bacteria on survival and growth of *Acanthamoeba castellanii*. *Current Microbiology* 34: 212–215.
- [26] Ly T.M.C., Müller H.E. 1990. Interactions of *Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri* and *Listeria innocua* with protozoans. *Journal of General and Applied Microbiology* 36: 143–150.
- [27] Thom S., Warhurst D., Drasar B.S.F. 1992. Association of *Vibrio cholerae* with fresh water amoebae. *Journal of Medical Microbiology* 36: 303–306.
- [28] Gautom R.K., Fritsche T.R. 1995. Transmissibility of bacterial endosymbionts between isolates of *Acanthamoeba* spp. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 42: 452–546.
- [29] Michel R., Muller K.D., Hauröder B., Zoller L. 2000. A coccoid bacterial parasite of *Naegleria* sp. (Schizopyrenida: Vahlkampfiidae) inhibits cyst formation of its host but not transformation to the flagellate stage. *Acta Protozoologica* 39: 199–207.
- [30] Rowbotham J.T. 1980. Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *Journal of Clinical Pathology* 33: 1179–1183.
- [31] Greub G., Raoult D. 2002. Crescent bodies of *Parachlamydia acanthamoeba* and its life cycle within *Acanthamoeba polyphaga*: an electron micrograph study. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3076–3084.
- [32] Barker J., Brown M.R. 1994. Trojan horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. *Microbiology* 140: 1253–1259.
- [33] Tomov A.T., Tsvetkova E.D., Tomova I.A., Michailova L.I., Kassovski V.K. 1999. Persistence and multiplication of obligate anaerobe bacteria in amoebae under aerobic conditions. *Anaerobe* 5: 19–23.
- [34] Drożniński W. 1956. Fatal bacterial infection in soil amoebae. *Acta Microbiologica Polonica* 5: 315–317.
- [35] Drożniński W. 1991. *Sarcobium lyticum* gen. nov., sp. nov., an obligate intracellular bacterial parasite of small free-living amoebae. *International Journal of Systematic Bacteriology* 41: 82–87.
- [36] Abu Kwaik Y. 1996. The phagosome containing *Legionella pneumophila* within the protozoan *Hartmannella vermiformis* is surrounded by the rough endoplasmic reticulum. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 2022–2028.
- [37] Maurelli A.T. 1989. Temperature regulation of virulence genes in pathogenic bacteria: a general strategy for human pathogens? *Microbial Pathogenesis* 7: 1–10.
- [38] Mauchline W.S., Araujo R., Wait R., Dowsett A.B., Dennis P.J., Keevil C.W. 1993. Physiology and morphology of *Legionella pneumophila* in continuous culture at low oxygen concentration. *Journal of General Microbiology* 138: 2371–2380.
- [39] Anand C.M., Skinner A.R., Malic A., Kurtz J.B. 1983. Interaction of *L. pneumophila* and a free living amoeba (*Acanthamoeba palestinensis*). *Journal of Hygiene (London)* 91: 167–178.
- [40] Barker J., Brown M.R., Collier P.J., Farrell I., Gilbert P. 1992. Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 2420–2425.
- [41] Abu Kwaik Y., Gao L.Y., Harb O.S., Stone B.J. 1997. Transcriptional regulation of the macrophage-induced gene (*gspA*) of *Legionella pneumophila* and phenotypic characterization of a null mutant. *Molecular Microbiology* 24: 629–642.
- [42] Barker J., Lambert P.A., Brown M.R. 1993. Influence of intra-amoebic and other growth conditions on the surface properties of *Legionella pneumophila*. *Infection and Immunity* 61: 3503–3510.
- [43] Barker J., Scaife H., Brown M.R. 1995. Intraphagocytic growth induces an antibiotic-resistant phenotype of *Legionella pneumophila*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39: 2684–2688.
- [44] King C.H., Fields B.S., Shotts Jr. E.B., White E.H. 1991. Effects of cytochalasin D and methylamine on intracellular growth of *Legionella pneumophila* in amoebae and human monocyte-like cells. *Infection and Immunity* 59: 758–763.
- [45] Susa M., Hacker J., Marre R. 1996. De novo synthesis of *Legionella pneumophila* antigens during intracellular growth in phagocytic cells. *Infection and Immunity* 64: 1679–1684.
- [46] Cirillo J.D., Falkow S., Tompkins L.S. 1994. Growth of *Legionella pneumophila* in *Acanthamoeba castellanii* enhances invasion. *Infection and Immunity* 62: 3254–3261.
- [47] Cianciotto N.P., Fields B.S. 1992. *Legionella pneumophila* mip gene potentiates intracellular infection of protozoa and human macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89: 5188–5191.
- [48] Cirillo J.D., Cirillo S.L., Yan L., Bermudez L.E., Falkow S., Tompkins L.S. 1999. Intracellular growth in *Acanthamoeba castellanii* affects monocyte entry mechanisms and enhances virulence of *Legionella pneumophila*. *Infection and Immunity* 67: 4427–4434.
- [49] Moffat J.F., Edelstein P.H., Regula Jr. D.P., Cirillo J.D., Tompkins L.S. 1994. Effects of an isogenic Zn-metalloprotease-deficient mutant of *Legionella pneumophila* in a guinea-pig pneumonia model. *Molecular Microbiology* 12: 693–705.

- [50] Cirillo J.D., Falkow S., Tompkins L.S., Bermudez L.E. 1997. Interaction of *Mycobacterium avium* with environmental amoebae enhances virulence. *Infection and Immunity* 65: 3759–3767.
- [51] Harb O.S., Gao L., Kwaik Y.A. 2000. From protozoa to mammalian cells: a new paradigm in the life cycle of intracellular bacterial pathogens. *Environmental Microbiology* 2: 251–265.
- [52] Jadin J.B. 1975. Amibes limax vecteurs possible de Mycobacteries et de *Mycobacterium leprae*. *Acta Leprologica* 59: 57–67.
- [53] Krishna-Prasad B.N., Gupta S.K. 1978. Preliminary report on engulfment and retention of mycobacteria by trophozoites of axenically grown *Acanthamoeba castellanii* Douglas, 1930. *Current Science* 47: 245–247.
- [54] Steinert M., Birkness K., White E., Fields B., Quinn F. 1998. *Mycobacterium avium* bacilli grow saprozoically in coculture with *Acanthamoeba polyphaga* and survive within cyst walls. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 2256–2261.
- [55] Abd H., Weintraub A., Sandström G. 2005. Intracellular survival and replication of *Vibrio cholerae* O139 in aquatic free-living amoebae. *Environmental Microbiology* 7: 1003–1008.
- [56] Ly T.M.C., Müller H.E. 1990. Ingested *Listeria monocytogenes* survive and multiply in protozoa. *Journal of Medical Microbiology* 33: 51–54.
- [57] Amann R., Springer W., Schönhuber W., Ludwig W., Schmid E.N., Müller K.D., Michel R. 1997. Obligate intracellular bacterial parasites of *Acanthamoeba* related to *Chlamydia* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 115–121.
- [58] Essig A., Heinemann M., Simnacher U., Marre R. 1997. Infection of *Acanthamoeba castellanii* by *Chlamydia pneumoniae*. *Applied of Environmental Microbiology* 63: 1396–1399.
- [59] Fritsche T.R., Horn M., Seyedirashti S., Gauton R.K., Schleifer K., Wagner M. 1999. In situ detection of novel bacterial endosymbionts of *Acanthamoeba* spp. Phylogenically related to members of the order *Rickettsiales*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 206–212.
- [60] Inglis T.J., Rigby P., Robertson T.A., Dutton N.S., Henderson M., Chang B.J. 2000. Interaction between *Burkholderia pseudomallei* and *Acanthamoeba* species results in coiling phagocytosis, endamebic bacterial survival, and escape. *Infection and Immunity* 68: 1681–1686.
- [61] Marolda C.L., Hauröder B., John M.A., Michel R., Valvano M.A. 1999. Intracellular survival and saprophytic growth of isolates from the *Burkholderia cepacia* complex in free-living amoebae. *Microbiology* 145: 1509–1517.
- [62] Landers P., Kerr K.G., Rowbotham T.J., Tipper J.L., Keig P.M., Ingham E., Denton M. 2000. Survival and growth of *Burkholderia cepacia* within the free-living amoeba *Acanthamoeba polyphaga*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases* 19: 121–123.
- [63] Gaze W.H., Burroughs N., Gallagher M.P., Wellington E.M.H. 2003. Interactions between *Salmonella typhimurium* and *Acanthamoeba polyphaga*, and observation of a new model of intracellular growth within contractile vacuoles. *Microbial Ecology* 46: 358–369.
- [64] Finlay B.B., Falkow S. 1989. *Salmonella* as an intracellular parasite. *Molecular Microbiology* 3: 1833–1841.
- [65] Williams P.H., Robertson M., Hinson G. 1988. Stages in bacterial invasion. *Society for Applied Bacteriology Symposium Series* 17: 131–147.
- [66] Abd H., Johansson T., Golovliov I., Sandstrom G., Forsman M. 2003. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 600–606.
- [67] Winięcka-Krusnel J., Linder E. 2001. Bacterial infections of free-living amoebae. *Research in Microbiology* 152: 613–619.
- [68] Venkataraman C., Haack B.J., Bondada S., Abu Kwaik Y. 1997. Identification of a Gal/GalNAc lectin in the protozoan *Hartmannella vermiformis* as a potential receptor for attachment and invasion by the Legionnaires' disease bacterium, *Legionella pneumophila*. *Journal of Experimental Medicine* 186: 537–547.
- [69] Ockert G. 1993. Review article: occurrence, parasitism and pathogenetic potency of free-living amoeba. *Applied Parasitology* 34: 77–88.
- [70] Hof H. 1991. Microbial strategies for intracellular survival. *Infection* 19: 202–205.

Wpłynęło 15 listopada 2005,
Zaakceptowano 5 stycznia 2006