

VÝSKYT AMÉB A AMÉBAM REZISTENTNÝCH MYCOBAKTÉRIÍ V ZDROJOVEJ A PITNEJ VODE

OCCURRENCE OF AMOEBA AND AMOEBA-RESISTENT MYCOBACTERIA IN SOURCE AND DRINKING WATER

JANA ŠTECOVÁ^{1, 2}, MARIJA KAEVSKA²

¹Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno

²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i, Brno

SÚHRN

Prístup k pitnej vode je jedným zo základných predpokladov života. Na to, aby toto mohlo byť zabezpečené je potrebné najskôr zdrojovú vodu upraviť chemickými, biologickými a fyzikálnymi postupmi. Napriek všetkým úpravám sa v pitnej vode vyskytujú rôzne druhy mikroorganizmov, pričom niektoré z nich môžu predstavovať zdravotné riziko pre človeka. Tento prehľadný článok sa zameriava najmä na výskyt améb v úpravniach vody a v pitnej vode a jej význam ako rezervoár netuberkulózne mykobaktérie. Tieto mykobaktérie pritom môžu predstavovať vážne ohrozenie zdravia ľudí, nakoľko spôsobujú závažné ochorenia kože, dýchacieho systému, lymfatického systému a gastrointestinálneho traktu.

Kľúčové slova: voda pitná, mykobaktérie, améby

SUMMARY

Unrestricted access to drinking water of good quality is one of the basic prerequisite of life. For this to be achieved it is necessary to treat the raw water through chemical, biological and physical methods. However, the water treatment is not exhaustive and some microorganisms are able to overcome it whereby posing a health risk. This review draws attention mainly to the occurrence of free living amoeba at different stages of water treatment and their importance as a reservoir of potentially pathogenic non-tuberculous mycobacteria. Mycobacteria may present a severe threat to human health considering they cause serious infections to the skin, as well as of the respiratory and gastrointestinal systems.

Key words: drinking water, mycobacteria, amoeba

Úvod

Prvky sú jednobunkové eukaryotické heterotrofné alebo mixotrofné organizmy. Rozšírené sú všade, kde je aspoň trochu vlhké prostredie. Taxonómia je zložitá a často sa mení, ale všeobecne sem môžeme zaradiť niekoľko taxonomických skupín. Sú to hlavne *Amoebozoa* (meňavkovce, meňavky – améby), *Opisthokonta* (hlavne golierikovce – *Choanozoa*), *Chromalveolata* (napr. nálevníky – *Ciliophora*), *Excavata* (napr. červenoočka – *Euglenozoa*) a *Rhizaria* (napr. dierkavce – *Foraminifera*).

Spomedzi mnohých druhov voľne žijúcich améb, sú len niektoré spájané s ochoreniami človeka. Sú to napr. *Acanthamoeba* spp., *Naegleria fowleri*, či *Balamuthia mandrillaris*. *Acanthamoeba* spp. a *B. mandrillaris* vyvolávajú chronické a často fatálne ložiskové postihnutie mozgu – granulomatóznu amébovú encefalitídu, hlavne u starších ľudí a imunokompromitovaných pacientov. Okrem toho spôsobujú aj infekcie kože a pľúc. *Acanthamoeba* spp. je pôvodcom amébovej keratitídy, vážneho zápalu rohovky postihujúceho prevažne zdravých jedincov. Neliečený môže viesť k slepote. *Naegleria fowleri* spôsobuje závažné ochorenie centrálného nervového systému – primárnu amébovú meningoencefalitídu. Postihuje zdravé deti a mladých ľudí (1).

Tieto améby sú oportúnnymi patogénmi, ochorenia nimi spôsobované nie sú veľmi časté, ale sú závažné, hlavne u imunokompromitovaných pacientov. Napriek tomu, améby sú významnejšie ako rezervoár patogénnych baktérií.

Prvky, kam zaraďujeme aj améby, tvoria perzistentné cysty, ktoré sa v niektorých prípadoch pri nepriaznivých podmienkach stávajú útočiskom baktérií, vrátane mykobaktérií, kde u niektorých zástupcov bolo zdokumentované prežívanie a dokonca množenie sa v amébach. Rod *Mycobacterium* zahŕňa známe druhy *M. tuberculosis* a *M. leprae*, pôvodcov tuberkulózy a lepry, ale aj veľkú skupinu netuberkulózných, environmentálnych mykobaktérií, pričom niektoré druhy sú pôvodcami ochorení kože, dýchacieho, lymfatického systému a gastrointestinálneho traktu. K významným zástupcom tejto druhej skupiny patrí napr. *M. avium* komplex.

Ľudská činnosť pri úprave pitnej vody je jedným z faktorov, významne ovplyvňujúcich prežívanie mykobaktérií a améb v nej. Voľba prístupov môže mykobaktériám zabrániť rast, na druhej strane ich môže v raste zvýhodňovať. Podľa niektorých štúdií chlorácia vody umožňuje mykobaktériám lepšie podmienky na prežívanie, pretože eliminuje iné prítomné baktérie. Navyše, mykobaktérie sú schopné prežívať v prostredí s nízkym obsahom ži-

vín, kde ostatní rivali bakterií nepřežijú, pričom pre mykobaktérie predstavujú výživnú hmotu (2).

Ochorenia spôsobované netuberkulóznymi mykobaktériami

Patogénne druhy skupiny netuberkulózných mykobaktérií (NTM) spôsobujú široké spektrum chorôb a treba sa o ne zaujímať aj v prípade záujmu o verejné zdravie, hlavne v súvislosti s pacientami so zníženou imunitou. Mykobaktérie spôsobujú ochorenia kože, dýchacieho systému, lymfatického systému a gastrointestinálneho traktu človeka (3).

Jedným z najzávažnejších NTM patogénov je *Mycobacterium avium* komplex (MAC), kam zaraďujeme *Mycobacterium avium* (*M. avium* ssp. *avium*, *M. avium* ssp. *hominis* a *M. avium* ssp. *paratuberculosis*) a *Mycobacterium intracellulare*. Klinicky významné NTM infekcie sú v rozvinutých krajinách najbežnejšie spôsobované MAC.

U imunokompromitovaných pacientov (napr. pacienti s vírusom HIV, pacienti po operáciách) môže nákaza MAC spôsobiť široké spektrum ochorení. Najčastejšie sa jedná o progresívnu infekciu pľúc, vedúcu k zlyhaniu dýchacích ciest, dokonca k smrti (4). Infekčným agens v prípade takýchto pacientov bez AIDS býva skôr *M. intracellulare*, než *M. avium*. Ukazuje sa, že druhé zmienené je patogénnejšie pre pacientov s AIDS (5).

Krčná lymfadenitída je choroba často spôsobovaná mykobaktériami skupiny MAC (6), napádajúca hlavne deti vo veku od 6 mesiacov do 2 rokov, práve v období, keď im rastie mliečny chrup. Infekcia napáda takmer výlučne krčnú a podčelústnú lymfatickú uzlinu. Prvým príznakom býva opúchanie uzlín. Antimykobakteriálna terapia nebýva veľmi účinná a zvyčajne sa pristupuje k chirurgickému odstráneniu infikovanej lymfatickej uzliny (7).

Pri všetkých týchto chorobách sa ako veľmi pravdepodobný zdroj nákazy ukazuje nejaký vodný zdroj – pitná voda infikovaná mykobaktériami. Môže ísť o vodu prijímanú z potrubí v domácnostiach, teplú vodu používanú v nemocniciach, v kúpeľoch, či vodu na kúpaliskách (3).

Infekcie spojené s „amébami rezistentnými baktériami“

Väčšina améb prechádza dvoma vývojovými štádiami: vegetatívnym štádiom trofozoída (obr. 1A) a pokojovým štádiom cysty (obr. 1B), ktorá im umožňuje pre-

žívať v nepriaznivých podmienkach aj pri nedostatku živín. Améby v štádiu trofozoída sa živia baktériami a inými mikroorganizmami pomocou fagocytózy. Tieto sú následne trávené v kyslých vakuolách, fagolizozómoch. Avšak niektoré mikroorganizmy sa vďaka rozličným mechanizmom dokážu vyhnúť stráveniu a navyše sa dokážu vo vnútri améby aj replikovať (8). Mikroorganizmy s touto schopnosťou nazývame zvyčajne „amébami rezistentné mikroorganizmy“, v prípade bakterií analogicky „amébami rezistentné baktérie“ (9). Viacero rodov améb bolo identifikovaných ako potenciálni hostitelia pre baktérie. Najčastejšie rod *Acanthamoeba*, ďalej rody *Hartmannella*, *Naegleria* a *Saccamoeba* (10, 11).

Zhou a kol. (12) zistili, že aerosól, ktorý tvorí sprchová hlavica pri sprchovaní obsahuje kvapky dostatočne malé na to, aby dokázali preniknúť hlboko do dýchacích ciest. V prípade, že je voda kontaminovaná mikroorganizmami, môžu sa v týchto kvapkách nachádzať a ľahko preniknúť do tela človeka. Dokonca bola vyslovená hypotéza, že zvýšené využívanie sprch namiesto kúpeľov má za následok zvýšenie výskytu pľúcnych infekcií NTM (13). Takouto chorobou je aj komunitná pneumónia („community acquired pneumonia“), kde jeden zo známych spôsobov nákazy je cez kontaminovanú vodu pri sprchovaní (14). Medzi rizikové faktory patrí chronické pľúcne ochorenie („chronical lung disease“), fajčenie a nadmerné požívanie alkoholu. Okrem toho, ohrozenejšími jedincami sú imunokompromitovaní pacienti a pacienti po transplantáciách (13).

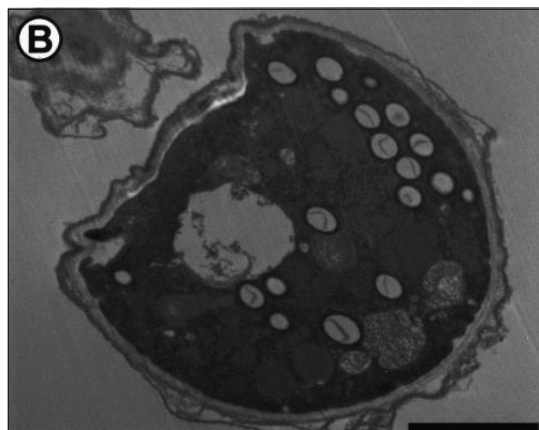
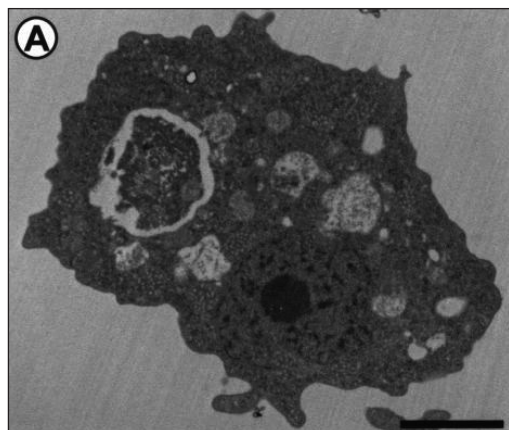
Výskyt améb v pitnej vode

Výskyt améb v zdrojovej vode

Prehľadová štúdia vypracovaná Loretom a Greubom (15) spracovala výsledky viacerých výskumov zaoberajúcich sa výskytom améb v neupravovanej, zdrojovej vode. Améby boli detekované vo všetkých typoch povrchových vôd a to v rozmedzí 43 až 100 percent vyšetrených vzoriek. Hoffmann a Michel (16) uviedli, že najväčšie koncentrácie a druhovú rozmanitosť améb dosahovali vo vode z riek (90 000 améb.l⁻¹ a 17 druhov).

Výskyt améb v úpravniach pitnej vody

Keďže améby sa prirodzene vyskytujú v zdrojovej vode, musia sa samozrejme vyskytovať aj v úpravni vody, kde je snaha o ich odstránenie. Samotná efektívnosť sa hodnotí pomocou logaritmu, kde vyššie číslo označuje vyššiu efektívnosť kroku úpravy.



Obr. 1: Vývojové štádiá *Hartmannella vermiformis*. A) Trofozoit, vegetatívne štádium. B) Cysta, pokojové štádium. Upravené z Greub a Raoult (10).

$\log \text{ odstránenia} = -\log (\text{koncentrácia}_{\text{vstup}} / \text{koncentrácia}_{\text{vstup}})$

Thomas a Ashbolt (9) sumarizovali výsledky niekoľkých štúdií hodnotiacich efektívnosť úpravnej vody v odstraňovaní améb počas procesu úpravy. Úpravne sa značne líšili v prvom kroku (čistení/filtrácia), keď logaritmus odstránenia kolísal v hodnotách od 0 až po 4,6 log. V niektorých prípadoch mohla byť nízka efektívnosť spôsobená zdrojovými vodami s vysokými koncentraciami améb. Avšak niektoré úpravne, ktorých vstupná voda nebola bohatá na améby (10 améb.l⁻¹), tiež zaznamenali efektívnosť prvého kroku veľmi nízku (0 log) (17). V takomto prípade je možné, že samotné filtračné médium je kolonizované amébami. Je to pravdepodobné, pretože prvoky (medzi nimi aj améby), kolonizujú vrchné vrstvy pieskových filtrov, odkiaľ sa môžu ľahko uvoľniť (18).

Záverečným krokom úpravy vody býva dezinfekcia (zvyčajne chloráciou). Obsah detekovateľných améb vo vzorkách po tomto purifikačnom kroku značne klesol. Avšak zo štúdií vyplynulo, že niektoré druhy améb (napr. *Hartmannella*, *Echinamoeba* a *Vannella*), ktoré kolonizujú zdrojovú vodu iba mierne, sú schopné narásť a kolonizovať úpravne vo väčšom množstve aj po poslednom ošetrovacom kroku (19). Navyše sa vo viacerých úpravniach ukázalo, že améby rodu *Hartmannella* sú úplne odolné voči dezinfekcii a môžu teda vstupovať do distribučného systému pitnej vody nepoškodené (17). Celkovo bola zistená najčastejšia celková účinnosť približne 1–2 log (9).

Valster a kol. detekovali *Hartmannella vermiformis* v distribučnom systéme vody, kde bola asociovaná so zvýšenou koncentraciou organickej hmoty (7,9 ppm uhlíku) a aktívnej biomasy meranej ako ATP (10,6 g.l⁻¹) (20). Loret a kol. (21) tiež poukázali na pozitívnu koreláciu medzi koncentraciou améb a rozpustenou organickou hmotou v úpravni, teda stanovovanie koncentrácie organickej hmoty by sa mohlo stať užitočným ukazovateľom prítomnosti améb. Zistenie konkrétnych korelačných faktorov (hodnôt) si bude vyžadovať ďalší výskum. Najúčinnnejším purifikačným krokom na odstraňovanie améb sa zdajú byť fyzikálne postupy ako čistenie a filtrácia (16, 21). Preventívne proti výskytu améb v úpravni vody treba zabezpečiť efektívne čistenie, pravidelný „backwashing“ (spätné čistenie) filtrov a sledovanie faktorov, ktoré umožňujú amébam rast a množenie sa – organická hmota, biofilm a sediment (15).

Výskyt améb v distribučnom systéme pitnej vody

Distribučný systém pitnej vody pozostáva z rozvodnej siete potrubí a rezervoárov vody. Štúdie skúmajúce úpravne vôd ukázali, že améby sú schopné vstupovať do distribučného systému (16, 17), ale iba 8 štúdií z 26 preukázalo prítomnosť améb aj v rezervoároch. Celkovo bola frekvencia izolácie améb vyššia ako 10 %, čo naznačuje, že sú to všadeprítomné organizmy.

Teplota hrá v ich výskyte vo vode takisto svoju úlohu. Valster a kol. (20) ukázali, že vyššia koncentrácia *Hartmannella vermiformis* bola získaná v letnom období, ako na jeseň, na tom istom odberovom mieste.

Zatiaľ nie je úplne jasné, ako améby kolonizujú rozvodové potrubia, ale je isté, že veľkú úlohu v tomto proce-

se zohráva biofilm (22), ktorý sa tvorí na vnútornej strane potrubí a amébam slúži ako potrava. Vo vyšších koncentraciách sa môžu nachádzať aj v sedimente v distribučnom systéme (19). Preto sa pri sledovaní koncentrácie améb v distribučnom systéme vody netreba sústrediť iba na vzorkovanie vody. Treba brať do úvahy aj biofilm a sedimenty, odkiaľ sa améby do vody môžu uvoľniť. Pri ich zanedbaní môže dôjsť k podhodnoteniu výsledkov.

Ďalším faktorom, ktorý ovplyvňuje výskyt améb v pitnej vode, ich hustotu a diverzitu je dĺžka distribučného systému. Štúdia spravená Hoffmannom a Michelom (16) uvádza zvyšujúcu sa hustotu a diverzitu améb so vzdialenosťou od úpravne. Napovedá to, že znižujúca sa koncentrácia dezinfekčných reziduí a zvýšená tvorba biofilmu uľahčujú amébam ich rast. Biofilm poskytuje amébam ochranu a neodstránia ich teda z vody bežne používané dezinfekčné prostriedky (chlór, chloramín).

Celkovo sa v literatúre uvádza, že rezervoáre vody sú miestom opätovného nárastu populácie améb a distribučný systém slúži ako miesto pre ich perzistenciu a rast (9).

Prežívanie a množenie rôznych baktérií v amébach

Prežívanie v amébach má pre baktérie viacero výhod. Améby tvoria perzistentné cysty, ktoré pomáhajú baktériám prekonať extrémne teploty, vyschnutie, vystavenie ultrafialovému žiareniu (23). Navyše tieto cysty poskytujú ochranu pred niektorými chemikáliami používanými pri úprave vody, ako je chlór (24) a trochu menej monochloramín (25). Ďalšie používané chemikálie, ktoré majú na cysty menší účinok sú peroxid vodíka, izopropylalkohol a antibiotiká zamerané na baktérie (23, 26). Predpokladá sa tiež, že améby zabezpečujú okrem ochrany pre baktérie dôležité faktory nutné na prežitie v nepriaznivých podmienkach, ako je napr. výživa. Asociácia s amébami by mohla byť v prostredí pitnej vody s málo živinami adaptačným mechanizmom na prežitie (27).

Baktérie sa v amébach môžu správať paraziticky, symbioticky, alebo môžu byť schopné oboch typov rastu. V prípade správnych podmienok sa veľké množstvo baktérií môže z améby dostávať lýzou bunky améby (28) alebo vezikulami (29).

Dôležité je, že patogénne druhy „amébam rezistentných baktérií“ používajú na napadnutie, prežitie a replikáciu v amébach veľmi podobné mechanizmy, aké využívajú pri napádaní buniek pľúcnych makrofágov človeka (20). Teda v prípade ich vypustenia z améby do okolia majú už gény virulencie spustené a preto sú porovnateľne virulentnejšie, než pred vstupom do améby. Táto schopnosť ich môže v prostredí biologicky zvyšovať, čo môže byť kritické pre ich vývoj na humánny patogén (29).

Prežívanie a výskyt mykobaktérií v amébach

Baktérie vo vodnom prostredí často rastú v biofilme, či na vodných rastlinách alebo na kameňoch. Améby patria k hlavným predátorom týchto prostredí. Ako odpoveď na túto aktivitu si veľa baktérií vytvorilo odolnosť voči stráveniu v potravinových vakuolách améb (21).

Mykobaktérie sa vyskytujú bežne v prírode v rôznych prostrediach, ktoré zahŕňajú prírodné vodné zdroje aj umelo vytvorené rozvody vody, pôdy, protozoa a rastliny (30). Vďaka ich vysokej odolnosti ich môžeme nájsť aj v zásobách a rozvodoch pitnej vody v mestách. Toto priamo súvisí s tým, že niektoré druhy sú schopné prežiť dezinfekciu chlóróm aj ozónom. Dokonca sa dá povedať, že práve rastom popularity týchto metód a ich väčším využívaním v praxi, sa zmenila bakteriálna populácia v rozvodnom systéme vody (2).

Taktiež, veľa mykobakteriálnych druhov ukázalo schopnosť žiť intracelulárne v prvokoch, konkrétnejšie aj v amébách (31). Vďaka ich hydrofóbnej bunecnej stene sa mykobaktérie dobre prichytávajú na povrchy a sú ľahko fagocytovateľné amébami (32). Dokonca dokážu aktívne povzbudiť svoj vstup do bunky fagocytov (33). Mykobaktérie dokážu využívať živiny améby ako zdroj potravy a samotnú amébu ako ochranu voči nepriaznivým vonkajším podmienkam, keďže ich cysty sú vysoko rezistentné voči širokému spektru vplyvov (napr. extrémne teploty, sucho, rôzne biocídne látky).

Niektoré štúdie ukázali, že *M. avium* dokáže rásť na zlúčeninách produkovaných *Acanthamoeba polyphaga* a tiež bol pozorovaný rýchlejší rast *Tetrahymena pyriformis* infikovanej *M. avium*, než tej neinfikovanej. Toto naznačuje, že vzájomný vzťah améby a mykobaktérie môže byť nielen parazitický ale aj symbiotický (34).

M. avium, *M. fortuitum* a *M. marinum* napádajú, a dokážu sa replikovať vo vnútri druhov rodu *Acanthamoeba* (34). *M. avium* inhibuje lyzozomálnu fúziu a môže zabíjať infikovanú amébu. Pri porovnaní počtu kolónií, ktoré vyrástli po kultivácii v normálnom médiu a tých, ktoré vyrástli po kultivácii v amébách, sa ukázalo, že druhé zmienené sú invazívnejšie voči amébam alebo ľudským epiteliálnym bunkám a makrofágom.

Všeobecne bolo experimentálne dokázané, že mykobaktérie zo skupiny *Mycobacterium avium* komplex sa dokážu replikovať v amébách *Acanthamoeba castellanii* (34), *Dictyostelium discoideum* (35) a *Acanthamoeba polyphaga* (36). Ben Salah a Drancourt (36) taktiež ukázali, že preferovaná lokalizácia *M. avium* komplex vo vnútri cysty améby je v rámci exocysty. Predpokladá sa, že pozícia v exocyste je výhodná, pretože umožňuje mykobaktérii rýchle opustenie bunky améby v prípade priaznivých podmienok.

Výskyt améb v Českej republike a v strednej Európe

V Českej republike bolo vykonaných niekoľko štúdií zaoberajúcich sa výskytom améb vo vode. Zdravotné riziko predstavujú aj améby vo vode na kúpanie. Výskytom améb a ostatných mikroorganizmov v bazénoch a prírodných kúpaliskách sa zaoberalo viacero autorov (37, 38).

Na Slovensku boli tiež vyšetrované vzorky vôd používaných na kúpanie. Prítomnosť améb bola zistená v rozmedzí 17 až 35 % vyšetrených vzoriek (39). Najčastejšie sa vyskytovala *Acanthamoeba* spp., ďalej améby rodov *Hartmanella* a *Naegleria*, avšak väčšina izolátov nebola presnejšie identifikovaná.

V Poľsku boli izolované voľne žijúce améby z prírodných vodných tokov a aj tam boli najčastejšie detekované *Acanthamoeba* spp. a *Hartmanella* (40).

Je potrebné rozšíriť štúdium vodnej mikrofóry o prevenciu a nálezy améb vo vodovodnej sieti pitnej vody v Českej republike. V súčasnosti je známe, že voda kontaminovaná amébami predstavuje významné riziko pre nositeľov kontaktných šošoviek. Avšak, riziko infekcie amébami cez aerosol, pneumónie a iné ochorenia spôsobené „amébam rezistentnými baktériami“ zostávajú nejasné.

Záver

Voľne žijúce améby sú všadeprítomné v povrchových a zdrojových vodách. Konvenčné prístupy ošetrovania pitnej vody nie sú účinné na niektoré améby tvoriace cysty, ktoré sú schopné odolávať nepriaznivým podmienkam ako sú extrémne teploty, niektoré chemické zlúčeniny, či UV žiarenie. Niektoré druhy améb sú teda schopné prekonať celý postup úpravy vody. Améby sa v pitnej vode živia hlavne baktériami žijúcimi v biofilme. Niektoré druhy, medzi nimi aj niektoré druhy mykobaktérií (napr. *M. avium*), si voči nim vyvinuli odolnosť. V závislosti od druhu sú schopné v amébe prežívať, rásť a množiť sa v nej. Pritom používajú rovnaké mechanizmy, ako pri napádaní ľudských makrofágov, čo zvyšuje ich patogenitu.

Podľa legislatívy (vyhláška č. 252/2004 Sb. v platnom znení) sú pri mikrobiologickom rozbere vody sledované niektoré indikátorové baktérie (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*), ďalej enterokoky a koliformné baktérie, či baktérie rastúce pri 22 °C a pri 36 °C. Pri rozbere teplej vody sa navyše hodnotí aj prítomnosť legionel a atypických mykobaktérií.

Silná asociácia medzi výskytom voľne žijúcich améb a mykobaktérií v pitnej vode naznačuje nutnosť brať do úvahy výskyt améb pri kontrole amébam rezistentných mikroorganizmov. Je potrebné si uvedomiť riziko, ktoré améby v pitnej vode predstavujú pre ľudí a zamerať sa na lepšie spôsoby prečisťovania a upravovania pitnej vody. K tomu v súčasnosti patrí zlepšenie filtrácie vody (časté a správne čistenie) a tiež kontrola výskytu biofilmu. Ďalší výskum v oblasti dezinfekcie vody s dôrazom na elimináciu protozoálnych cyst by prispel k minimalizácii zdravotného rizika pochádzajúceho z pitnej vody.

Podakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory MŠMT v rámci programu NPU I (projekt LO1218).

LITERATÚRA

1. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007 Jun;50(1):1-26.
2. Falkinham JO 3rd, Norton CD, LeChevallier MW. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and other *Mycobacteria* in drinking water distribution systems. Appl Environ Microbiol. 2001 Mar;67(3):1225-31.
3. Whitley H, Keegan A, Giglio S, Bentham R. *Mycobacterium avium* complex - the role of potable water in disease transmission. J Appl Microbiol. 2012 Aug;113(2):223-32.
4. Prince DS, Peterson DD, Steiner RM, Gottlieb JE, Scott R, Israel HL, et al. Infection with *Mycobacterium avium* com-

- plex in patients without predisposing conditions. *N Engl J Med.* 1989 Sep 28;321(13):863-8.
5. Han XY, Tarrand JJ, Infante R, Jacobson KL, Truong M. Clinical significance and epidemiologic analyses of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* among patients without AIDS. *J Clin Microbiol.* 2005 Sep;43(9):4407-12.
 6. Thegerström J, Romanus V, Friman V, Brudin L, Haemig PD, Olsen B. *Mycobacterium avium* lymphadenopathy among children, Sweden. *Emerg Infect Dis.* 2008 Apr;14(4):661-3.
 7. Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO 3rd. Health impacts of environmental mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2004 Jan;17(1):98-106.
 8. Isberg RR, O'Connor TJ, Heidtman M. The *Legionella pneumophila* replication vacuole: making a cosy niche inside host cells. *Nat Rev Microbiol.* 2009 Jan;7(1):13-24.
 9. Thomas JM, Ashbolt NJ. Do free-living amoebae in treated drinking water systems present an emerging health risk? *Environ Sci Technol.* 2011 Feb 1;45(3):860-9.
 10. Greub G, Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin Microbiol Rev.* 2004 Apr;17(2):413-33.
 11. Thomas V, McDonnell G, Denyer SP, Maillard JY. Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks for water quality. *FEMS Microbiol Rev.* 2010 May;34(3):231-59.
 12. Zhou Y, Benson JM, Irvin C, Irshad H, Cheng YS. Particle size distribution and inhalation dose of shower water under selected operating conditions. *Inhal Toxicol.* 2007 Apr;19(4):333-42.
 13. O'Brien DP, Currie BJ, Krause VL. Nontuberculous mycobacterial disease in northern Australia: a case series and review of the literature. *Clin Infect Dis.* 2000 Oct;31(4):958-67.
 14. Feazel LM, Baumgartner LK, Peterson KL, Frank DN, Harris JK, Pace NR. Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Sep 22;106(38):16393-9.
 15. Loret JF, Greub G. Free-living amoebae: Biological by-passes in water treatment. *Int J Hyg Environ Health.* 2010 Jun;213(3):167-75.
 16. Hoffmann R, Michel R. Distribution of free-living amoebae (FLA) during preparation and supply of drinking water. *Int J Hyg Environ Health.* 2001 Mar;203(3):215-9.
 17. Thomas V, Loret JF, Jousset M, Greub G. Biodiversity of amoebae and amoebae-resisting bacteria in a drinking water treatment plant. *Environ Microbiol.* 2008 Oct;10(10):2728-45.
 18. Bomo AM, Stevik TK, Hovi I, Hanssen JF. Bacterial removal and protozoan grazing in biological sand filters. *J Environ Qual.* 2004 May-Jun;33(3):1041-7.
 19. Corsaro D, Pages GS, Catalan V, Loret JF, Greub G. Biodiversity of amoebae and amoeba-associated bacteria in water treatment plants. *Int J Hyg Environ Health.* 2010 Jun;213(3):158-66.
 20. Valster RM, Wullings BA, Bakker G, Smidt H, van der Kooij D. Free-living protozoa in two unchlorinated drinking water supplies, identified by phylogenetic analysis of 18S rRNA gene sequences. *Appl Environ Microbiol.* 2009 Jul;75(14):4736-46.
 21. Loret JF, Jousset M, Robert S, Saucedo G, Ribas F, Thomas V, et al. Amoebae-resisting bacteria in drinking water: risk assessment and management. *Water Sci Technol.* 2008;58(3):571-7.
 22. Storey MV, Winiecka-Krusnell J, Ashbolt NJ, Stenström TA. The efficacy of heat and chlorine treatment against thermotolerant *Acanthamoebae* and *Legionellae*. *Scand J Infect Dis.* 2004;36(9):656-62.
 23. Aksozek A, McClellan K, Howard K, Niederkorn JY, Alizadeh H. Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cysts to physical, chemical, and radiological conditions. *J Parasitol.* 2002 Jun;88(3):621-3.
 24. Storey MV, Ashbolt NJ, Stenström TA. Biofilms, thermophilic amoebae and *Legionella pneumophila* - a quantitative risk assessment for distributed water. *Water Sci Technol.* 2004;50(1):77-82.
 25. Donlan RM, Forster T, Murga R, Brown E, Lucas C, Carpenter J, et al. *Legionella pneumophila* associated with the protozoan *Hartmannella vermiformis* in a model multi-species biofilm has reduced susceptibility to disinfectants. *Biofouling.* 2005;21(1):1-7.
 26. Miltner EC, Bermudez LE. *Mycobacterium avium* grown in *Acanthamoeba castellanii* is protected from the effects of antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Jul;44(7):1990-4.
 27. King CH, Shotts EB Jr, Wooley RE, Porter KG. Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chlorination. *Appl Environ Microbiol.* 1988 Dec;54(12):3023-33.
 28. Greub G, Mege JL, Raoult D. *Parachlamydia acanthamoebae* enters and multiplies within human macrophages and induces their apoptosis. *Infect Immun.* 2003 Oct;71(10):5979-85.
 29. Harb OS, Gao LY, Abu Kwaik Y. From protozoa to mammalian cells: a new paradigm in the life cycle of intracellular bacterial pathogens. *Environ Microbiol.* 2000 Jun;2(3):251-65.
 30. Hruska K, Kaevska M. *Mycobacteria* in water, soil, plants and air: a review. *Vet Med.* 2012;57(12):623-79.
 31. Adékambi T, Ben Salah S, Khelif M, Raoult D, Drancourt M. Survival of environmental mycobacteria in *Acanthamoeba polyphaga*. *Appl Environ Microbiol.* 2006 Sep;72(9):5974-81.
 32. Strahl ED, Gillaspie GE, Falkinham JO 3rd. Fluorescent acid-fast microscopy for measuring phagocytosis of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and *Mycobacterium scrofulaceum* by *Tetrahymena pyriformis* and their intracellular growth. *Appl Environ Microbiol.* 2001 Oct;67(10):4432-9.
 33. Cosma CL, Sherman DR, Ramakrishnan L. The secret lives of the pathogenic mycobacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:641-76.
 34. Cirillo JD, Falkow S, Tompkins LS, Bermudez LE. Interaction of *Mycobacterium avium* with environmental amoebae enhances virulence. *Infect Immun.* 1997 Sep;65(9):3759-67.
 35. Skriwan C, Fajardo M, Hägele S, Horn M, Wagner M, Michel R, et al. Various bacterial pathogens and symbionts infect the amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Int J Med Microbiol.* 2002 Mar;291(8):615-24.
 36. Ben Salah I, Drancourt M. Surviving within the amoebal exocyst: the *Mycobacterium avium* complex paradigm. *BMC Microbiol.* 2010 Apr 1;10:99.
 37. Jelíková H, Šašek J, Kožíšek F, Chlupáčová M. Zdravotní a hygienická rizika z bazénových vod a prostředí bazénů. *Hygiena.* 2008;53(3):84-92.
 38. Pumann P, Chlupáčová M, Kožíšek F. Zdravotní a hygienická rizika z přírodních koupacích vod. *Hygiena.* 2008;53(3):102-107.
 39. Trnková K, Bieliková A, Izák M, Klement C. Diagnostika akantamébovej keratitidy. *Čes Slov Oftal.* 2009;65(5):155-60.
 40. Adamska M, Leonska-Duniec A, Lanocha N, Skotarczak B. Thermophilic potentially pathogenic amoebae isolated from natural water bodies in Poland and their molecular characterization. *Acta Parasitol.* 2014 Sep;59(3):433-41.

Došlo do redakce: 24. 7. 2014

Přijato k tisku: 23. 2. 2015

Ing. Marija Kaevska, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Hudcova 70

621 00 Brno

E-mail: kaevska@vri.cz