

## Niche and pathways of pathogens to animals

Mikula I, Vrťiak OJ, Novak M, Sokol J

### Niky a cesty patogénov k živočíchom

#### Abstract

**Mikula I, Vrťiak OJ, Novak M, Sokol J:**  
Niche and pathways of pathogens to animals.  
Bratisl Lek Listy 2000; 101 (6): 340–347

Infectious diseases are not a relict of the past but a topical phenomenon determined by complex evolution of the currently existing and constantly changing microbial agents and their hosts. With regard to abundance of species within the microbial kingdom and rate of its changes and development, it is difficult to predict the role of the microbial factor in mortality of humans and animals. The study and generalization of sequential similarities of microbial virulence factors after the completion of genome sequencing of principal pathogens can play a positive role in this direction.

At present, molecular-genetic methods allow us to study the phylogenetic relationships of microbes and categorize them according to new criteria.

The efficient control of diseases caused by microbes requires knowledge on their physiological and ecological niche from which they penetrate, in various ways, into the host organisms and, under suitable conditions, induce mass diseases. This process has several stages and, in the recent period, it is increasingly affected by human activities. The knowledge on all participants in this process, i.e. the microbe and its niche, factors of virulence and pathways of their dissemination, requires a scientifically based surveillance.

Abundance and variability is characteristic for both microbial kingdom and microbial niche. Some identification of pathogenic properties of microorganisms and factors affecting their movement from their niche to the recipients results in activation of old classical diseases (e.g. plague, cholera, tuberculosis etc.) or emerging of new, so far unknown infectious diseases (“emerging inf. disease” – EID), caused for example by lentiviruses, oncoviruses, filiviruses, bartonella, borrelia etc. This has provided the basis for establishment of new medical trends and approaches, such as “Emergency medicine” or “Travel medicine”, expressing their purpose by their names.

#### Abstrakt

Mikula I., Vrťiak O.J., Novák M., Sokol J.:  
Niky a cesty patogénov k živočíchom.  
Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 6, s. 340–347

Infekčné choroby nie sú prežívajúcim reliktom minulosti, sú aktuálnym fenoménom determinovaným komplexom evolúciou vytvorených a stále sa meniacich mikrobiálnych činiteľov a ich hostiteľov.

Vzhľadom na početnosť mikrobiálneho sveta a frekvenciu, akou sa vyvíja a mení, je problematické predpovedať, ako sa bude mikrobiálny činiteľ uplatňovať v chorobnosti ľudí a zvierat. Pozitívne sa v tomto smere môže uplatniť štúdium a zovšeobecnenie sekvenčných podobností faktorov virulencie mikróbov, po ukončení genómového sekvenovania hlavných patogénov.

Molekulovogenetické metódy už v súčasnosti umožňujú študovať fylogenetickú príbuznosť mikróbov a kategorizovať ich podľa nových kritérií.

V boji s chorobami spôsobenými mikróbmami je dôležité poznať ich fyziologické a ekologické niky, z ktorých sa rôznymi cestami dostávajú do organizmov hostiteľov, kde za prihodných okolností navodia hromadné ochorenie.

Tento proces je viacstupňový a v poslednom období ho čoraz viac ovplyvňuje aktivita človeka. Pri poznaní všetkých účastníkov tohto procesu, t.j. mikróba a jeho niky, faktorov virulencie a cesty jeho šírenia sa musí vo väčšej miere uplatniť cieľový výskum.

Tak, ako je mikróbný svet početný a mnohoraký, tak je rozsiahly a pestrý aj sortiment ich ník. Patogénne vlastnosti niektorých mikroorganizmov a ich pohyb z ník k recipientom vedie k aktivácii „starých, klasických“ chorôb (ako je napr. mor, cholera, tbc), prípadne k vynáraníu sa doteraz neznámych infekčných chorôb spôsobených napr. členmi lentivirusov, onkovírusov, filivirusov, bartonel, borrelií a pod. Toto podnietilo konštituovanie nových medicínskych smerov a prístupov, ako je napr. „medicína pre naliehavé situácie“, „medicína cestovného ruchu“, vyjadrujúcich v názvoch svoje poslanie.

University of Veterinary Medicine, Kosice. [mikula@uvm.sk](mailto:mikula@uvm.sk)

Neuroimmunological Institute SAV, Bratislava, and State Veterinary Administration SR, Bratislava

**Address for correspondence:** I. Mikula, MVD, DSc, University of Veterinary Medicine, Komenského 73, SK-041 81 Košice, Slovakia.  
Phone: +421.95.633 92 87, Fax: +421.95.632 36 66

Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, Neuroimunologický ústav Slovenskej akadémie vied v Bratislave a Štátna veterinárna správa SR v Bratislave

**Adresa:** Prof. MVDr. I. Mikula, DrSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice.

**The control of existing or proposed infectious diseases in the 21st century (in which majority of factors such as urbanization, environmental factors, evolution of the microbial kingdom, will contribute to the persistence or “emergence” of new diseases) will be affected by the input of new knowledge in the field of molecular biology, such as introduction of biosensors, genetic tests, microchips, new generation of DNA vaccines, enteric vaccines and antibodies produced by transgenic animal bioreactors or plants, “customized” vaccines assessed for individual genetic profiles, etc. (Tab. 5, Ref. 21.)**

**Key words: microbial niche, pathogens.**

Úspechy v boji s infekčnými a invazívnymi chorobami ľudí a zvierat sú často sprevádzané nečakanými problémami.

Eufóriu spojenú s pozitívnym účinkom antibiotík na choroboplodné procesy vyvolané bakteriálnymi pôvodcami vystriedal vznik polyrezistentných až multirezistentných patogénov. Z nich sa genetické informácie rezistencie šíria v nekontrolovateľnom rozsahu do najrôznejších terestrálnych (i subterestrálnych), prípadne aquatických mikrobiálnych spoločenstiev. Zdravotný, ekonomický a ekologický dosah tohto človekom navodeného javu je neodhadnuteľný. Rezistencia voči antibiotikám je jednou z príčin nového epidemického výskytu tuberkulózy ľudí, vzniku nozokomiálnych infekcií ľudí i zvierat, stúpajúcich alergií a podobne.

#### Vakcíny — pozitívne i negatívne dôsledky

Masové používanie Sabinovej a Salkovej vakcíny v 60. rokoch proti poliomyelitíde malo pozitívny účinok na prevalenciu nákazy, ktorá zanedlho bude eradikovaná. Jej použitie je však spojené s vnesením vírusu SV40 (jeho nika je v tkanive niektorých druhov opíc) do populácie očkovaných.

Podobne to bolo aj s vakcínami proti adenovírusom, ktorými boli zaočkovaní americkí vojaci. Množia sa dôkazy o tom, že simiálny SV40 vírus je karcinogénny nielen pre hlodavcov, ale aj pre ľudí. Nie bez opodstatnenosti je indícia, že v uvedených očkovacích akciách, resp. pri výrobe ďalších antivírusových vakcín pripravených na bunkových kultúrach opíc, preniesol sa na ľudí aj simiálny lentivírus imunitnej nedostatočnosti a pôvodca T4-lymfoidnej leukémie. Argumenty pre takúto indíciu spočívajú na blízkej antigénnej príbuznosti ľudských a opičích lentivírusov, prípadne onkovírusov.

U hrabavej hydiny k analogickému stavu došlo s pôvodcami aviárnych leukoticko-sarkomatóznych vírusov (ALSV), ktoré boli do úžitkových chovov vnášané tam, kde sa očkovacie látky (osobitne proti NDV) vyrábali z kuracích embryí pochádzajúcich nie z SPF, ale z bežných chovov. Podobne sa ALSV vniesli do populácie ľudí. Ich uplatnenie sa u ľudí posudzuje kontroverzne.

Eradikácia kiahní roku 1976 (posledný spontánny výskyt) a následné vypustenie plošnej imunizácie Jennerovou heterológickou vakcínou (vytvorenou z kmeňa OPV-commune) vytvorilo priestor pre uplatnenie iných ortopoxvírusov, najmä pre OPV-bovis a jemu podobných kmeňov, ktoré cirkulujú nielen v Európe v populáciách terestrálnych hlodavcov. Z týchto ekologických ník sa prenášajú na iné živočíchy (najmä na ferálne mačky, ktoré sú predátorom hlodavcov; na psov a iné domáce

Riešenie existujúcich, resp. proponovaných infekčných chorôb bude v budúcom 21. storočí (v ktorom väčšina faktorov, ako je urbanizácia, environmentálne faktory, evolúcia mikróbného sveta a pod., ktoré budú prispievať k pretrvávaniu, či „vynáraníu“ nových chorôb) poznamenané vstupom nových poznatkov z oblasti molekulovej biológie, ako je napríklad zavádzanie biosenzorov, genetických testov, mikročipov, nových generácií DNA-vakcín, enterálnych vakcín a protilátok produkovaných transgénnymi animálnymi bioreaktormi, prípadne rastlinami, vakcín „šitých“ na individuálny genetický profil atď. (Tab. 5, lit. 21.)

Kľúčové slová: mikróbné niky, patogény.

zvieratá). Infekcia vírusmi patriacimi k OPV-bovis neprebíha u ľudí síce tak zhubne ako pri ľudských kiahňach, no u imunosuprimovaných jedincov má ťažký priebeh. Eradikácia OPV-variola bola možná predovšetkým preto, že tento vírus nemal okrem človeka žiadnu inú ekologickú niku. (Pre surveillance infekcií z ekologických ník OPV-bovis, OPV-simiae a hádam aj OPV-bubali, bude treba vypracovať aktuálne podklady pre ochranu neočkovanej, teda plne vnímavej ľudskej i zvieracej populácie.)

#### Problémy v diagnostike patogénov

Zdokonaľovanie diagnostických metód pomáha pri izolácii mnohých doteraz nekultivovateľných patogénov (napr. bartonel, legionel a pod). Tak to bolo aj s *Helicobacter pylori*, ktorého sa prvýkrát podarilo adaptovať na umelé živné pôdy roku 1982. Bol to významný úspech, lebo umožnil bližšie spoznať vlastnosti celej skupiny helikobaktérií, vrátane ich účasti na chorobných procesoch ľudí i zvierat. Ich doterajšie štúdium ukázalo, že u ľudí a niektorých druhov zvierat ide o najrozšírejšiu infekciu (s postihom 60-90 % členov populácie). Ďalej sa nezvratne dokázalo, že *H. pylori* je u časti infikovaných ľudí zodpovedný za peptický i nepeptický gastrický vred a adenokarcinóm žalúdka. V tomto smere ide o prvý bakteriálny (prvostupňový — definitívny) karcinogén. Napriek tomu, že niektoré kmene sú rezistentné voči antibiotikám, možno už v súčasnosti pričasnej kauzálnej diagnóze uvedené stavy ľudí úspešne liečiť (tzv. troj-terapia) a v budúcnosti hádam na báze vakcinácie aj predchádzať. U fretiek spôsobuje rakovinu žalúdka *H. mustelae* a u niektorých druhov opíc nateraz ešte neoklasifikovaný člen rodu *helicobacter*. Fyziologickou a hádam aj ekologickou nikou pre *H. pylori* sú tkanivá človeka. Existujú však prípady, keď prenos *H. pylori* (aj *H. heilmannii*) na človeka sa realizoval z partnerských domových (nie ferálnych) mačiek a psov. Na podobné patogenetické pôsobenie poukazujú nielen uvedené chorobné stavy, ale aj etiologická kauzalnosť *H. heilmannii* s gastrickým vredom u ošípaných. Fyziologická nika helikobaktérií v kyslom prostredí žalúdka u človeka a monogastrických zvierat sa konštituovala preto, že majú pre uchytienie a reprodukciu v uvedenom prostredí primerané genetické vybavenie (tvorba ureázy a iných enzýmov), špirálový tvar a pohyblivosť, ktoré im umožňujú prenikať do podslizničia. Aj tento prípad poukazuje, že mnohé mikroorganizmy si v evolúcii vytvorili niky v prostredí, kde väčšina biot je deštruovaná.

**Tab. 1. Phylogenetic relationships of some intracellular bacteria in protozoa (Görtz and Brigge, 1998).**  
**Tab. 1. Fylogenetický vzťah niektorých intracelulárnych baktérií v protozoách (Görtz a Brigge, 1998).**

Bacterial taxon Bakteriálny taxón	Intracellular bacterium Intracelulárne baktérie	Host Hostiteľ
Proteobacteria	<i>Holospora species</i>	Paramecium (ciliate)
α-subclass	<i>Caedibacter caryophila</i>	Paramecium (ciliate)
β-subclass	<i>Ehrlichia-like</i>	Saccamoeba (amoeba)
τ-subclass	<i>Polynucleobacterneccessarius</i>	Euplotes (ciliate)
Chlamydiaeae	<i>Sarobium lyticum</i>	Small amoeba
Methanobacteria	<i>Parachlamydia acanthamoebae*</i>	Acanthamoeba
	<i>Methanoplanusendosymbiosus</i>	Metopus (ciliate)

\*provisionally classified as "Candidatus Parachlamydia acanthamoebae"

\*predbežne kvalifikovaný ako „Candidatus Parachlamydia alanthemoeba“.

### Zmeny prístupu k identifikácii mikroorganizmov

Asi 90 % živej hmoty Zeme tvoria mikroorganizmy. Sú súčasťou všetkých terestrálnych i aquatických biocenóz. Človek hostí asi 1,2 kg mikroorganizmov, ktoré kolonizujú predovšetkým jeho tráviaci aparát. Podobne je to aj u iných živočíchov. Ide pritom o veľký počet autochtónnych mikroorganizmov, ktoré sa u zdravých jedincov udržiavajú v ich fyziologických nikách sekretmi epitelových a iných buniek hostiteľa a evolúciou vytvorenou rovnováhou jednotlivých druhov mikroorganizmov medzi sebou. Istá časť z nich figuruje ako nika oportúnnych mikróbov. Uplatnia sa pri porušení vzájomnej rovnováhy, hlavne však pri sekundárnych imunopresívnych stavoch imunitnej nedostatočnosti navodenej napr. lentivirusmi. Spoznanie mechanizmov a pôsobkov buniek hostiteľov, ktoré udržiavajú medzi ním a mikróbnymi spoločenstvami „mierový stav“, je veľmi aktuálna úloha a cesta kontroly, prevencie i liečby mnohých enterálnych (i iných) infekcií.

Inventarizácia mikroorganizmov a iných biot, ktoré kolonizujú jednotlivé zemské sústavy, nebola doteraz urobená. Spôsobené je to viacerými okolnosťami. Predovšetkým ich početnosťou, variabilitou, ale aj nevhodnosťou detekčných metód. Podľa viacerých autorov treba rátať s tým, že na Zemi existuje 20–80 miliónov druhov, z ktorých mnohé veľmi rýchlo miznú (Wuketis, 1997). Podľa Cassisa (1998) denne sa biodiverzita ochudobňuje o 100 druhov, čo značí, že za nasledujúcich 50 rokov viac ako jedna štvrtina druhov vymizne. Strata ktoréhokolvek druhu znamená nenahraditeľnú stratu najvzácnejšej suroviny — genetickej informácie, ktorú by mohlo v nastupujúcom období genetickej revolúcie ľudstvo účelovo využívať. Dôsledky ochudobnenia bakteriálnej diverzity z hľadiska uplatnenia mikroorganizmov ako patogénov sa nedajú predvídať. Podľa Hermana (1997) ľudstvo vstúpilo do takej etapy evolúcie, kde narastajúci počet chemických a fyzikálnych mutagénov výrazne mení nielen diverzitu, ale aj vlastnosti mikroorganizmov a ich hostiteľov. Ako dôsledok vznikajú nové choroby živočíchov a celý evolučný proces stráca svoju benevolenciu (Herman, 1997). Podľa Relmana (1999) viac ako 99 % mikroorganizmov v terestrálnych a aquatických ekosystémoch sa nedá umelo kultivovať.

Predpokladá sa, že doteraz používanými kultivačnými metódami bolo zachytených menej ako 20 % mikroorganizmov (Ward a spol., 1990). Podľa iných autorov je to len približne 10 %. Súčasné kultivačné metódy sú pre zachytenie a spoznanie niektorých

mikroorganizmov neadekvátne preto, že ich nemožno uskutočňovať v podmienkach fyziologických ník (napr. v podmienkach dna oceánov a pod.). Z týchto fyziologických ník musia sa mikroorganizmy najprv vyňať, adaptovať na nové prostredie a až potom sa môže sledovať ich skladba a vlastnosti. Je pochopiteľné, že takto „in vitro“ pestovaný mikroorganizmus nemôže exprimovať všetky jeho pôvodné vlastnosti. Preto sa pri štúdiu mikróbnych spoločenstiev začínajú úspešne používať metódy nezávislé od ich kultivácie. Z nich nachádzajú takmer univerzálne uplatnenie sekvenencie 16SrRNA, resp. DNA, ktoré sú u jednotlivých druhov veľmi konzervatívne. Pomocou nich možno spoznať a identifikovať aj vzdialené fylogenetické typy nekultivovateľných mikróbných spoločenstiev (Ward a spol., 1990). Uvedené metódy pomáhajú objasniť aj fylogenetické pozadie intracelulárnych nekultivovateľných mikroorganizmov (Görtz a Brigge, 1998). Fylogenetické vzťahy niektorých intracelulárnych baktérií v protozoách sú v tabuľke 1.

### Mikroorganizmy v stave životnosti, ale nekultivovateľnosti

Pri štúdiu prežívania baktérií v prírodných podmienkach sa zistilo, že niektoré mikroorganizmy stratia na istých médiách a za rôznych podmienok kultivovateľnosť, resp. zmenia svoju morfológiu. Aj pri takomto stave vykazujú však často príznaky metabolickej aktivity — životnosti.

Táto reprodukovateľná strata kultivovateľnosti sa opisuje ako: „Stav životnosti, ale nekultivovateľnosti“ — „SŽANK“ (anglicky „viable but nonculturable state“ — „VBNC“). McDougald a spol. (1998) ho charakterizuje ako „časť životného cyklu nediferencovaných baktérií indukovaný environmentálnym stresom“. SŽANK sa sledoval pri viacerých baktériách (tab. 2). Z nazhromaždených údajov vyplýva, že baktérie v určitom prostredí sa pod vplyvom istých faktorov dostávajú do stavu redukovaného metabolizmu. Ako ukázalo hlbšie štúdium bunky prechádzajúce do takého stavu môžu produkovať signály, ktoré sú zachytiteľné inými baktériami. Tak napr. supernatant z nekultivovateľných alebo hladujúcich, stále však živých buniek môže stav SŽANK navodiť v iných rastúcich bunkách (Weichart a spol., 1992). Schopnosť vyvolať ochorenie po inšecii SŽANK *Vibria cholerae* sa dokázala pokusom s dobrovoľníkmi. Z ich stolice sa po klinickom ochorení izolovali kultivovateľné vibriá (Colwell a spol., 1996). Skutočnosť, že mnohé patogény môžu perzistovať v stave SŽANK — teda v dočasne suprimovaných níkách a pritom si zachovať schopnosť vyvolať

ochorenie (alebo produkovať toxíny), má mimoriadny zdravotný význam. V kontexte s tým stojí pred vedcami požiadavka: objasniť fyziologickú a molekulovogenetickú podstatu tejto unikátnej niky patogénov. *Legionella pneumophila*, ak sa nachádza extracelulárne v prostredí s nízkym obsahom živín, dostáva sa do stavu SŽANK po 125-dňovej kultivácii. Jej resuscitácia do stavu kultivovateľnosti sa podarila po pridaní protozoí *Acanthamoeba castellanii* — v nej má totiž svoju fyziologickú niku (tab. 3). Jej pobyt v tomto prostredí je spojený aj so schopnosťou infikovať makrofágy: aby sa v nich mohla replikovať, potrebuje v amébách prekonať predadaptáciu (Gao a spol., 1997). Intracelulárna invazivnosť v bunkách cicavcov môže mať istú spojitost s ich pobytom v amébách.

Dobre známy je stav „dormancie“ alebo „latencie“ pri *Mycobacterium tuberculosis*. Pri ňom zostávajú zárodky v dormantnom (driemajúcom) stave v tkanivách infikovaného človeka alebo zvierat dlho a sú zodpovedné za latentný priebeh choroby. V dormantnom stave sú zárodky rezistentné voči smrtiacemu účinku antibakteriálnych prostriedkov. Pri prechode mykobaktérií do dormantného stavu boli opísané tri markery:

- zmeny v tolerancii na anaerobiózu,
- tvorba unikátneho antigénu,
- desaťnásobné zvýšenie produkcie glycín-dehydrogenázy (Wayne 1994).

Hlbšie spoznanie biologického významu si vyžaduje aj **vznik defektných morfológických foriem baktérií** — napr. strata bunkového obalu (anglicky — „Cell-wall deficient or defective bacteria“ „CWDB“) označovaný aj ako „L-forma“. Takéto kryptické mikroorganizmy, či už intracelulárne alebo extracelulárne sa vyskytujú ubikvitárne. Zistili sa napr. pri idiopatických urinárnych chorobách, Whippleho chorobe, Crohnovej chorobe (Domingue a Woody, 1997). Na CWBD sa môžu podľa týchto autorov konvertovať všetky známe bakteriálne druhy. Medzi činitele, ktoré takýto stav vyvolávajú, patria napr. antibiotiká inhibujúce biosyntézu bunkových stien, vysoké koncentrácie niektorých aminokyselín — najmä glycínu a fenylalanínu, peptidázy a lytické agensy, ktoré rozkladajú mureín bunkovej steny. Ľudské a zvieracie bunky obsahujúce endogénne retrovírusy, možno tiež považovať a klasifikovať za kryptické niky.

Molekulovogenetické metódy priniesli revolúciu v štúdiu živej hmoty. Umožňujú lepšie spoznať skladbu i deje, ktoré sa odohrávajú v eukaryotických bunkách počas ich fyziologickej činnosti i počas obranných pochodov pri napadnutí patogénmi. Prinášajú vysvetlenia aj o pôvode mitochondrií eukaryotických buniek (vznikli z alfaproteobaktérií). Prednedávnom sa na tomto podklade zrodila nová disciplína — celulárna mikrobiológia — ako interdisciplinárny odbor medzi všeobecnou biológiou, mikrobiológiou a imunológiou (Cossart a spol., 1996; Pizzaro-Cerda a spol., 1997).

#### Adaptácia mikroorganizmov v intracelulárnych habitatoch

V evolúcii živej hmoty sa mnohé mikroorganizmy adaptovali na intracelulárne habitanty, kde našli relatívne bezstresové a z hľadiska výživy vhodné podmienky pre existenciu. Toto prostredie sa stalo ich fyziologickou nikou. Rozsah intracelulárnych asociácií je od vzniku eukaryotických organel až po vznik fakultatívnych, či obligátnych patogénov. V časovom horizonte proces sia-

**Tab. 2. Studies investigating the viable but nonculturable response (McDougald et al., 1998).  
Tab. 2. Štúdium životaschopnej, ale nekultivovateľnej odozvy (McDougald a spol., 1998).**

Bacterium Baktérie	Resuscitation method Resuscitačné metódy
Aeromonas (Vibrio) salmonicida	Prídavok živín
Agrobacterium tumefaciens	Nutrient addition
Alcaligenes eutrophus	
Campylobacter jejuni	Prechod zvieratom (pasážovanie) Animal passage
Enterobacter aerogenes	
E. cloacae	
Enterococcus faecalis	
Escherichia coli	Prechod ileálnou slučkou kráľika Rabbit ileal loop passage
Helicobacter pylori	
Klebsiella pneumoniae	
Legionella pneumophila	Injekcia do embryonovaných vajíčok Injection into embryonated eggs
Micrococcus flavus	
M. luteus	Resuspendovanie v čerstvom médiu s laktátom a supernatantom z buniek v stacionárnej fáze Resuspension in fresh medium with lactate and supernatant from stationary phase cells
Pasteurella piscicida	Prídavok živín Addition of nutrient
Pseudomonas aeruginosa	
P. fluorescens	Transfer A-deficientných buniek do čerstvého média Transfer of N-starved cells to fresh medium
P. putida	Bez glukózy Without glucose
P. syringae	
Rhizobium meliloti	
Salmonella enteritidis	
S. typhimurium	Prídavok živín Nutrient addition
Shigella dysenteriae	
S. flexneri	
S. sonnei	
Vibrio anguillarum	
V. campbelli	
V. cholerae	Pasážovanie ileálnou slučkou kráľika, tepelný šok, črevo človeka Rabbit ileal loop passage, heat shock, human intestine
V. fischeri	
V. harveyi	
V. mimicus	
V. natriegens	
V. parahaemolyticus	
V. proteolyticus	
V. vulnificus	Posun teploty nahor, injekcia do myší, komora s kontrolovaným prostredím Temperature increased, injection into mice, environmental chamber
Yersinia ruckeri	Prídavok živín Addition of nutrient



**Tab. 3. Presently confirmed *Legionella* species.**  
**Tab. 3. V súčasnosti známe druhy *Legionella* species.**

Participation in diseases of humans Účasť pri ochoreniach ľudí	Name Názov
	<i>L. anisa</i>
	<i>L. birminghamensis</i>
	<i>L. bozemanii</i> * ( <i>Fluoribacter Bozemana</i> ) SG 1-2
	<i>L. cherii</i>
	<i>L. dumoffii</i> * ( <i>Fluoribacter dumoffii</i> )
	<i>L. feeleii</i> * SG 1-2
	<i>L. gormanii</i> * ( <i>Fluoribacter gormanii</i> )
	<i>L. jordanis</i>
	<i>L. lansingensis</i>
	<i>L. longbechae</i> SG 1-2
	<i>L. lytica</i> *
Patogénne pre človeka Pathogenic	<i>L. maceachemii</i> ( <i>Tatlockia mace achemii</i> )
	<i>L. micdadei</i> * ( <i>Tatlockia micdadei</i> )
	<i>L. moravica</i>
	<i>L. nauturum</i>
	<i>L. oakridgensis</i> *
	<i>L. pneumophila</i> * SG 1-16
	<i>L. quinlivanii</i> SG 1-2
	<i>L. sainthelensis</i> SG 1-2
	<i>L. santicrois</i>
	<i>L. tusconensis</i>
	<i>L. wadsworthii</i>
	<i>L. adelaidensis</i>
	<i>L. brunensis</i>
	<i>L. cincinnatiensis</i>
	<i>L. erythra</i>
	<i>L. fairfieldensis</i>
	<i>L. geestiana</i>
	<i>L. gratiana</i>
	<i>L. hackeliae</i> * SG 1-2
	<i>L. israelensis</i>
Nepatogénne pre človeka Nonpathogenic	<i>L. jamestowniensis</i>
	<i>L. londiniensis</i> SG 1-2
	<i>L. moravica</i>
	<i>L. nauturum</i>
	<i>L. parisiensis</i>
	<i>L. quateirensis</i>
	<i>L. rubrilucens</i>
	<i>L. shakespearei</i>
	<i>L. spritensis</i>
	<i>L. steigerwaltii</i>
	<i>L. waltersi</i>
	<i>L. worsleiensis</i>

\*Indicates species with experimentally proved ability to parasitize amoebes  
 \*indikuje druhy s experimentálne dokázanou schopnosťou parazitovať v amébach

ha do začiatkov života na Zemi, nekončí sa však ani v súčasnosti. Aktívne — vedome, či nevedome — zasahuje do neho svojou aktívnou aj človek.

Intracelulárne endosymbionty a parazitické mikroorganizmy sa vyskytujú takmer vo všetkých formách života. Týkajú sa i nie-

ktorých baktérií, ktoré tiež môžu obsahovať intracelulárne patogény (Corsaro a spol., 1999). Symbióza založená na syntropii viedla ku vzniku mnohých nových fyziologických systémov, lebo sa stala užitočnou obojstranne. Nie je to inak ani s organelami buniek človeka, príbuznosť ktorých s organelami baktérií je dokázateľná molekulovobiologickými metódami. Sme teda „my“, resp. niektoré naše bunkové organely potomkovia mikróbov?

Intracelulárne bakteriálne, vírusové a subvírusové patogény ľudí a zvierat sú dobre známe. S mnohými máme dočinenia (zo známych dôvodov) doteraz.

Istá časť mikroorganizmov sa v priebehu evolúcie adaptovala na intracelulárny habitant voľne žijúcich protozoí, ktoré sú v prírode súčasťou mnohých terestrálnych a aquatických ekosystémov. Sú veľmi početné preto, že sa značnou mierou zúčastňujú na toku energie a kolobehu látok. Protozoá prijímajú živiny z prostredia fagocytózou, a preto je samozrejmé, že sa do ich vnútorného prostredia dostávalo v evolúcii aj mnoho mikroorganizmov. Niektoré sa stali ich trvalými „supútnikmi“ a pretože sa tejto nike prispôbili, stratili aj svoje pôvodné genetické vybavenie. Väčšina z nich je nekultivovateľná a ich existenciu a fylogenetické vzťahy možno dokázať len molekulovogenetickými metódami. Okrem nich sa do vnútorného prostredia protozoí dostali aj také mikroorganizmy, ktoré vedia odolať ich tráviacim, alebo iným letálnym mechanizmom. Takéto mikroorganizmy môžu napádať a lyzovať nielen bunku protozoí, ale aj bunky živočíchov.

#### Adaptácia mikroorganizmov v protozoách

Túto skutočnosť — existenciu ník patogénov v protozoách — medicína donedávna nepovažovala za podstatnú. Pretože medzi organizmom človeka a voľne žijúcimi protozoami nebol intenzívny a trvalý kontakt. Situáciu zmenil človek, ktorý sa „urbanizuje“, buduje rozličné nové technológie a čoraz viac zasahuje do ekosystémov vytvorených a ustálených v doterajšej evolúcii. Príkladom je približovanie vôd rôznej proveniencie cestou vodovodných sietí do urbanistických habitantov ľudí a hospodárskych zvierat. Tento proces je spojený so zmenou životného prostredia protozoí a iných mikroorganizmov; napr. zvyšovanie iónov železa vo vodovodných potrubíach zvyšuje rast niektorých z nich. Pretepľovanie vody s následnou tvorbou usadenín a mikrofílov vo vnútorných výstelkách rozvodov je spojené s tvorbou živín potrebných pre ich rast a pod. Pri transporte a čoraz širšom využívaní vody dochádza k jej aerosolizácii a kontaktu so sliznicami dýchacieho systému. Drobné kvapôčky dostanú sa až do alveol. Voda sa stáva súčasťou klimatizačných zariadení, osviežovačov vzduchu v bytových priestoroch a pod. Tvorba aerosólu je spojená s ďalšími „civilizačnými“ procedúrami, ako je prechod z „vaňovej“ hygieny na sprchovanie, používanie rôznych druhov vodných masáží a pod. Dôsledky eklatantne ilustruje vznik jednej z „nových“ chorôb „legionelózy“, ktorá rozširuje sortiment chorôb postihujúcich dýchací aparát nielen u ľudí, ale aj u zvierat. V epidemickej forme je známa ako Legionárska choroba, Pontiacská horúčka, či Lochgoillská horúčka a pod. Jej podiel v sporadických — „bytových“ formách pneumónii (najmä u imunoprimovaných ľudí) nie je známy. Patogénne a nepatogénne formy sú uvedené v tabuľke 3.

Replikáciu *Mycobacterium avium* v prvoku *Acanthamoeba castellanii* opísali Cirillo a spol. (1977). *M. avium* pestovaný

**Tab. 4. Mycobacterium species (Livanainen, 1999).**  
**Tab. 4. Druhy mykobaktérií (Livanainen, 1999).**

Slow-growers Pomaly rastúce		Rapid-growers Rýchlo rastúce	
Obligatory pathogenic Obligátne patogénne		Potentially pathogenic Potenciálne patogénne	
M. africanum <sup>d</sup>	M. microti <sup>bd</sup>	M. abscessus	M. porcinum <sup>bd</sup>
M. bovis <sup>d</sup>	M. tuberculosis <sup>d</sup>	M. chelonae	M. mucogenicum
M. leprae <sup>d</sup>	M. fortuitum	M. novocastrense <sup>d</sup>	
	M. peregrinum	M. senegalense <sup>bd</sup>	
Potentially pathogenic Potenciálne patogénne		Non-pathogenic Nepatogénne	
M. asiaticum	M. kansasii	M. agri	M. madagascariense
M. avium	M. lentiflavum	M. aichiense	M. mageritense
M. branderi <sup>d</sup>	M. lepraemurium <sup>bd</sup>	M. alvei	M. methylovorum
M. buckleyi <sup>cd</sup>	M. malmoense	M. aurum	M. moriokaense
M. celatum <sup>d</sup>	M. marinum	M. austro-africanum	M. murale
M. conspicuum <sup>d</sup>	M. paratuberculosis <sup>bd</sup>	M. brumae	M. neoaurum
M. farcinogenes <sup>bd</sup>	M. scrofulaceum	M. chitae	M. obuense
M. genavense <sup>d</sup>	M. shimoidei <sup>d</sup>	M. chlorophenolicum	M. parafortuitum
M. haemophilum <sup>d</sup>	M. simiae	M. chubuense	M. phlei
M. heidelbergense <sup>d</sup>	M. szulgai	M. confluentis	M. portiferae <sup>d</sup>
M. interjectum <sup>d</sup>	M. triplex <sup>d</sup>	M. diernhoferi	M. pulveris
M. intermedium <sup>d</sup>	M. ulcerans	M. duvalii <sup>d</sup>	M. rhodesiae <sup>d</sup>
M. intracellulare	M. xenopi	M. fallax	M. shangaiense
Non-pathogenic Nepatogénne		M. flavescens	M. smegmatis
M. bohemicum <sup>cd</sup>	M. hiberniae	M. gadium	M. sphagni
M. cookii	M. nonchromogenicum	M. gilvum	M. thermoresistibile
M. gastris	M. terrae	M. hassiacum	M. tokaiense
M. gordonae	M. triviale	M. hodleri	M. vaccae
		M. komossense	M. yunnanense

<sup>b</sup> pathogenic for animals  
patogénne pre zvieratá

<sup>c</sup> a proposed species  
navrhované druhy

<sup>d</sup> not isolated from natural or tap water, soil or vegetation  
neizolované z prírodnej alebo vodovodnej vody, pôdy, alebo z vegetácie

v amébách bol pre myšky viac virulentný ako kmeň pestovaný na klasických živných médiách (tab. 4).

Intracelulárne patogény v amébách sú voči bežným prostriedkom používaným na dezinfekciu pitnej vody chránené stenou a vnútorným prostredím prvkov.

### Voda ako habitant

Voda je habitantom nielen legionel, kryptosporidií, kampylobaktérií, mykobaktérií, ale aj početnej ďalšej patogénnej a podmienené-patogénnej mikroflóry, ktorá nadobúda stúpajúci zdravotný význam. Poučná je epidémia cryptosporiázy v Milwaukee, Wisconsin roku 1994, pri ktorej bolo postihnutých vyše 403 000 obyvateľov. Epidémia dokázala, že oocysty cryptosporidií sa môžu uplatniť nielen u imunosuprimovaných ľudí a detí, ale aj u zdra-

vých dospelých jedincov. Kozmopolitný zdravotný význam majú práce vysvetľujúce ekologické aspekty *Vibria cholerae* séroskupiny O1 a aquatickom prostredí. Ako uvádza Borroto (1997), pôvodcu cholery treba v niektorých regiónoch Zeme považovať v súčasnosti za autochtónneho člena mikróbovej flóry ústí riek a pobrežných bažín. Odtiaľ sa na stôl spotrebiteľov môže dostať nielen u miestnych obyvateľov, ale exportom mäkkýšov, koryšov a iných morských živočíchov aj do vzdialených krajín. Prítomnosť *V. cholerae* v mušliach a účinok kulinárskych procedúr na mikrób prednedávnom opísali Abad a spol. (1997).

V kontexte so zvyšujúcou sa prevalenciou mykobakterií u ľudí (jedna tretina ľudskej populácie je infikovaná) venuje sa tejto skupine mikróbov v posledných desaťročiach zvýšená pozornosť. Počet izolácií mykobaktérií (MKB) z klinických vzoriek stále stúpa. Pretože tzv. „atypické“ potencióálne patogénne MKB sa ne-

**Tab. 5. Summary of major NTP/U.S.EPA studies of disinfection byproduct chemicals (Boorman et al., 1999).  
Tab. 5. Účinky niektorých vedľajších produktov pri chemickej dezinfekcii vody (Boorman a spol., 1999).**

Research design Prehľad vzoriek	Positive sites for carcinogenic effects Miesta karcinogénneho účinku				
Dezinfektant D/DBPs	Dávka Dose	Cesta Route	Kolón Colon	Obličky Kidney	Pečeň Liver
Trihalogenmetány THMs					
Brómdichlórmetán					
BDCM	Potkan 50-100mg/kg	olej	MR, FR	MR	–
	Rat 50-100mg/kg	oil	MR, FR	MR	–
	Myš 24,50 mg/kg F	olej	–	–	FM
	75, 150 mg/kg M	oil	–	MM	–
	Mouse 24,50 mg/kg F	gavage	–	–	FM
	75, 150 mg/kg M	oil	–	MM	–
	Myš 5,05-0,5 g/l	olej	–	–	MR <sup>b</sup>
	Mouse 5,05-0,5 g/l	gavage	–	–	MR <sup>b</sup>
	Myš 0,07-0,7g/l	voda	–	–	–
	Mouse 0,07-0,7g/l	water	–	–	–
Chloroform	Potkan 90,200 mg/kg	oil	–	MR	MM,FM
	Rat 90,200 mg/kg	oil	–	MR	MM,FM
	Myš 138,477mg/kg	oil	–	–	–
	Mouse 138,477mg/kg	gavage	–	–	–
Chloroform	Potkan 19, 160mg/kg	voda	–	MR	–
	Rat 19, 160mg/kg	water	–	MR	–
	Myš 34,263 mg/kg	voda	–	–	–
	Mouse 34,263 mg/kg	water	–	–	–
Bromoform		oil	MR,FR	–	–
		olej	MR,FR	–	–
		gavage	–	–	–
Chlórdibrómmetán CDBM	Potkan 40,80 mg/kg	olej	–	–	–
	Rat 40,80 mg/kg	oil	–	–	–
	Myš 50, 100 mg/kg	olej	–	–	–
	Mouse 50, 100 mg/kg	gavage	–	–	–
K. halogénoctové HAAs		voda	–	–	MR,FM
		water	–	–	MR,FM
K. dichlóroctová DCA	0,05-3,5 g/l	voda	–	–	MM
		water	–	–	MM
K. trichlóroctová TCA	0,05-4,5g/l	voda	–	–	negative
	0,05-5g/l	water	–	–	MM,FM
Dezinfekčné prostriedky Disinfectants					
Chlór		voda	–	–	negative
Chlorine	70-275ppm	water	–	–	negative
Chlóramín		voda	–	–	negative
Chloramine	50-200ppm	water	–	–	negative

Abbreviations: F – female, M – male, BDCM – bromodichloromethane, CDBM – chlorodibromomethane, FM – female mouse, FR – female rat, MM – male mouse, MR – male rat, TCA – trichloroacetic acid, <sup>b</sup> – tested in MR only.

Vysvetlivky: F – samička, M – samček, FM – myšia samička; FR – potkanie samička, MM – myši samček, MR – potkanie samček, <sup>b</sup> – testované, potvrdené štúdia obmedzených počtom zvierat a sexuálnych kombináciách.

širia v populáciách ľudí kontaktom, stalo sa zrejmé, že ich primárne niky sú v prostredí. V tabuľke 4 sú nateraz známe druhy myko-

baktérií a ich patogénnosť. Ako z nej vidieť, potenciálnych patogénnych MKB je 26 z pomaly rastúcich druhov (teda tvoria väčši-

nu izolantov) a 4 z rýchlorastúcich. Potenciálne patogénne a nepatogénne MKB sa vyskytujú vo vodách a pôdach. Ich funkcia a postavenie v ekosystémoch nie je uspokojivo vysvetlené. Z ich vodných a pôdných ník sa dostávajú do organizmov živočíchov predovšetkým enterálnou cestou (možná je však infekcia cez poškodenú kožu, sliznice dýchacieho aparátu a pod.) a často sa stávajú súčasťou enterálnej bakteriálnej flóry. Uplatňujú sa ako oportúnne patogény, t.j. tie, ktoré pôsobia pri zníženej obranyschopnosti hostiteľa. Iivanainenová a spol. (1999) vo svojich štúdiách dokázali, že vyšší počet environmentálnych MKB vo vode i pôdach koreloval s nižším pH. Ich vyššie počty boli aj v rašeliniskách.

Množstvo MKB v suchom sedimente vôd bolo  $1,1 \cdot 10^2$ — $1,5 \cdot 10^4$  cfu g<sup>-1</sup>. So vzostupom acidity sa množstvo MKB zvyšovalo, kým množstvo heterofilných baktérií znižovalo. Počty MBT boli až 100-krát vyššie v lesných pôdach s pH 3,4—4,4 ako v sedimentoch vôd s pH 4,5—6,3 (Iivanainenová a spol., 1999).

#### Premena mikroorganizmu na trvalého obyvateľa améby

Akýkoľvek patogén, ako dokázal vo svojej práci Jeon (1983), môže sa stať trvalým obyvateľom vnútorného prostredia améby už za 200 generácií. Táto skutočnosť je vážnym mementom pre zamedzenie kontinuálneho a progredujúceho fekálneho a iného znečistenia povrchových vôd, pôd i oceánov, do ktorých sa komunálne a iné vody dostávajú v stave značného znečistenia. Riešenie problému nie je v chlorovaní, či v inom chemickom alebo fyzikálnom opracovaní znečistených vôd, ktoré boli vyvinuté a zavedené v tomto storočí do širokého používania. Pri dezinfekcii vôd chemickými prostriedkami vznikajú totiž mnohé vedľajšie produkty, ktoré sa ukázali kancerogénnymi v pokusoch na zvieratách. Vznik niektorých takýchto produktov a ich kancerogénny účinok znázorňuje tabuľka 5.

#### Literatúra

**Abad F.X., Pintó R.M., Gajardo R., Bosch A.:** Viruses in mussels: public health implications and depuration. *J. Food Protect.*, 60, 1997, s. 677—681.

**Boorman G.A., Dellarco V., Dunnick J.K., Chapin R.E., Hunter S., Hauchman F., Gardner H., Cox M., Sills R.C.:** Drinking water disinfection byproducts: Review and approach to toxicity evaluation. *Environm. Health Persp.*, 107, 1999, s. 207—218.

**Borrito R.J.:** Ecology of *Vibrio cholerae* serogroup 01 in aquatic environmental. *Rev. Panam. Salud. Publica*, 1, 1997, s. 3—8.

**Cassis G.:** Biodiversity loss: a human health issue. *MJA*, 169, 1998, s. 568—569.

**Cirillo J.D., Falkow S., Tompkins L.S., Bermudez L.E.:** Interaction of *Mycobacterium avium* with environmental amoebae enhances virulence. *Infect. Immun.*, 65, 1997, s. 3759—3766.

**Colwell R.R., Brayton P., Herrington D., Tall B., Huq A., Levine M.M.:** Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* 01 revert to a culturable state in the human intestine. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 12, 1996, s. 28—31.

**Corsaro D., Venditti D., Padula M., Valassina M.:** Intracellular life. *Crit. Rev. Microbiol.*, 25, 1999, s. 39—79.

**Cossart P., Boquet P., Normark S., Rappuoli R.:** Cellular microbiology emerging. *Science*, 271, 1996, s. 315—316.

**Domingue G.J., SR., Woody H.B.:** Bacterial persistence and expression of disease. *Clin. Microbiol. Rev.*, 10, 1997, s. 320—344.

**Gao L.Y., Harb O.S., Abu-Kwaik Y.:** Utilization of similar mechanisms by *Legionella pneumophila* to parasitize two evolutionarily distant host cells, mammalian macrophages and protozoa. *Infect. Immun.*, 65, 1997, s. 4738—4746.

**Görtz H.D., Briggé T.:** Intracellular bacteria in protozoa. *Naturwissenschaften*, 85, 1998, s. 359—368.

**Herman J.:** Medicine and evolution: time for a new paradigm? *Med. Hypotheses*, 48, 1997, s. 403—406.

**Iivanainen E., Martikainen P.J., Väänänen P., Katila M.L.:** Environmental factors affecting the occurrence of mycobacteria in brook sediments. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 1999, s. 673—681.

**Jeon K.W.:** Integration of bacterial endosymbiosis in amoeba. *Int. Rev. Cytol., Suppl.* 14, 1983, s. 29.

**McDougald D., Rice S.A., Weichart D., Kjelleberg S.:** Nonculturability: adaptation or debilitation? *FEMS Microbiol. Ecol.*, 25, 1998, s. 1—9.

**Pizzaro-Cerda, J., Moreno E., Desjardins M., Gorvel J.P.:** When intracellular pathogens invade the frontiers of cell biology and immunology. *Histol. Histopathol.*, 12, 1997, s. 1027—1038.

**Relman D. A.:** The search for unrecognized pathogens. *Science*, 284, 1999, s. 1308—1310.

**Ward D.M., Weller R., Bateson M.M.:** 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 345, 1990, s. 63—65.

**Wayne L.G.:** Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Europ. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 13, 1994, s. 908—914.

**Weichart D., Oliver J.D., Kjelleberg S.:** Low temperature induced non-culturability and killing of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 100, 1992, s. 205—210.

**Wuketis F.M.:** The status of biology and the meaning of biodiversity. *Rev. Artic.*, 84, 1997, s. 473—479.

Received December 16, 1999.

Accepted May 12, 2000.