©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Mitt. Österr. Ges.
Tropenmed. Parasitol. 21 (1999)
31 - 38

Klinische Abteilung für Krankenhaushygiene (Leiter: Univ. Prof. Dr. W. Koller) (1) und
Abteilung für Medizinische Parasitologie (Leiter: Univ. Prof. Dr. H. Aspöck) (2)
des Klinischen Instituts für Hygiene der Universität Wien (Vorstand: Univ. Prof. Dr. M. Rotter)

„Limax-Amöben" und Bakterien – vergleichende Untersuchungen an Pseudomonas aeruginosa vor und nach Passage durch Acanthamoeba

Ch. Aspöck[1], Julia Walochnik[2], H. Aspöck[2]

Einleitung

Limax-Amöben sind freilebende, fakultativ parasitische Protozoen mit amöboiden Stadien und haben in der Humanmedizin sowohl als Erreger von Infektionen als auch als Vektoren von Bakterien eine Bedeutung. Ersteres wurde erstmals durch CULBERTSON et al. beschrieben, der freilebende Amöben als Ursache von Meningoenzephalitis bei Mäusen und Affen nachweisen konnte (7). Die Vektorenfunktion dieser Protozoen ist seit Anfang der 80er Jahre bekannt, als ROWBOTHAM humanpathogene Legionellen aus freilebenden Amöben isolieren konnte (17).

Unter dem Gesichtspunkt der Erregerübertragung haben Limax-Amöben auch einen krankenhaushygienischen Stellenwert. Es wurde schon früher über natürliche Infektionen von Amöben mit verschiedenen Bakterienspezies berichtet (10), aber aus mehreren Gründen lag der Schwerpunkt der Studien auf der Interaktion zwischen Amöben und Legionellen. So haben diese Bakterien wie die Amöben ihren Lebensraum im Wasser, sie vermehren sich intrazellulär und sie spielen als Infektionserreger fast nur bei immungeschwächten Patienten eine Rolle (18, 3). Nicht zuletzt mag auch ihre relativ rezente und spektakuläre Entdeckung im Jahre 1976 anläßlich einer Epidemie während eines Kongresses amerikanischer Legionäre von Bedeutung sein.

Nosokomiale Infektionen betreffen immungeschwächte Patienten, daher sind Virulenz der betroffenen Erreger und Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen besonders wichtig. Interessant waren in diesem Zusammenhang verschiedene Studien, die Pathogenitäts- und Virulenzsteigerungen „beider Parteien" durch die Symbiose der Mikroorganismen zeigten. So waren Corynebakterien, die mehrmals gemeinsam mit Akanthamöben bei Patienten mit aktiver Amöben-Keratitis isoliert worden waren, im Rattenversuch – obwohl selbst avirulent – für die Entwicklung der Amöben-Keratitis essentiell (1). Andererseits weisen mehrere Studien darauf hin, dass Bakterien durch die Amöbenpassage ihre Pathogenität steigern konnten (6, 12).) Niedrige Eisenkonzentrationen, wie sie in Amöbenzellen vorherrschen, induzieren bei Bakterien die Produktion vieler Toxine (15). FIELDS konnte in seinem Experiment virulente Legionellen in viel höherem Maß aus *Hartmannella* rückisolieren als avirulente (11). Und einige Studien ergaben sogar Hinweise, dass es intraamöbal zu einer Steigerung der Desinfektionsmittel- (2) oder Antibiotikaresistenz (4) kommen kann.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Wir haben in unseren Experimenten die Auswirkungen von Interaktionen zwischen Limax-Amöben und *Pseudomonas aeruginosa* untersucht. Bei Pseudomonaden handelt es sich um sehr anspruchslose und ubiquitäre Feuchtigkeitskeime, die durchaus nicht – wie etwa Legionellen – auf intrazelluläres Wachstum angewiesen sind (14). Ihre Pathogenität ist sehr vielfältig, und sie sind besonders als Erreger von Krankenhausinfektionen gefürchtet. Zur gezielten Vermeidung von Übertragungen sind hier häufig auch epidemiologiche Zusammenhänge abzuklären. Dazu kommt noch, dass Pseudomonaden über verschiedene Antibiotikaresistenzen verfügen und daher ein therapeutisches Problem darstellen.

Unter diesen Aspekten haben wir uns mit der Frage beschäftigt, ob die Bakterien in der intraamöbalen Phase Einflüssen unterliegen, die einerseits ihre Antibiotikaempfindlichkeit, und andererseits ihre Zuordnung unter epidemiologischen Gesichtspunkten betrifft. Ziel unserer Experimente war es daher, einerseits mögliche genetische Veränderungen sowie andererseits phänotypisch exprimierte Entwicklungen von Antibiotikaresistenzen aufzudecken.

Methoden

Unsere Experimente bestanden aus drei Teilen, wobei jeweils *Pseudomonas aeruginosa* vor und nach Passage durch Amöben vergleichend untersucht wurde.

Im ersten Versuch wurde ein gegen therapeutisch eingesetzte Antibiotika in vitro sensibler Stamm von *Pseudomonas aeruginosa* mittels Agardiffussions- und Epsilometertest auf seine Antibiotikaempfindlichkeit geprüft.

Im zweiten Versuch wurden ein gegen alle getesteten Antibiotika empfindlicher und ein gegen alle getesteten Antibiotika resistenter Stamm simultan phagozytiert, und nach Rückkultivierung und Isolierung beider Stämme wurde die Antibiotikaempfindlichkeit mittels Agardiffusionstest geprüft.

Im dritten Versuch wurde ein Stamm der American Type Culture Collection, Manasses, Virginia (ATCC-Stamm 27853) mittels Pulsed-Field Gel Elektrophorese (PFGE) typisiert.

Bakterien

Für die Experimente wurden einerseits *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Versuch 3) und andererseits zwei in der Routine-Diagnostik der Klinischen Abteilung für Mikrobiologie aus klinischem Material kultivierte Stämme, davon einer gegen alle getesteten Antibiotika empfindlich (Versuch 1 und 2) und einer gegen alle getesteten Antibiotika resistent (Versuch 2), verwendet.

Die Antibiotika-Empfindlichkeit wurde je nach Versuch und nach verwendetem Test gegen die Penicilline Ampicillin, Azlozillin und Piperacillin, die Penicillin-Betalaktamase-Inhibitor-Kombinationen Piperacillin + Tazobactam und Amoxycillin + Clavulansäure, die Cephalosporine Cefazolin, Cefoxitin, Cefamandol, Cefuroxim, Cefotaxim, Ceftazidim, Ceftriaxon und Cefpirom, das Monobactam Aztreonam, das Carbapenem Imipenem, die Aminoglykoside Gentamicin und Amikacin, Trimethoprim und das Chinolon Ciprofloxacin getestet. Der Agardiffusionstest wurde nach den Richtlinien des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) durchgeführt, der Epsilometertest, bei dem das zu prüfende Antibiotikum in absteigender Konzentration auf einem Papierstreifen aufgetragen ist, und somit eine minimale Hemmkonzentration (MHK) abgelesen werden kann, nach Anleitung der Erzeugerfirma (Fa. AB Biodisk, Solna, Schweden) überprüft.

Die molekularbiologische Typisierung (Versuch 3) mittels PFGE wurde mit dem Kit der Firma Biorad durchgeführt. Dabei wird die Bakterien-DNS extrahiert, mittels Spe I enzymatisch gespalten und in der PFGE-Kammer elekrophoretisch aufgetrennt sowie mit einer zugehörigen Foto-Dokumenationseinrichtung ausgewertet.

Amöben

Die Amöben waren aus klinischen Proben (Augenabstrich und Kontaktlinsenbehälter) von Keratitis-Patienten gezüchtet und nach den Kriterien von Pussard und Pons (16) als *Acanthamoeba* sp. Gruppe II identifiziert worden. Auf NonNutritiv-Agarplatten wurden 100 µl einer Boullion einer Übernachtkultur von *Pseudomonas aeruginosa* ausgestrichen und im Zentrum jeder Petrischale

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

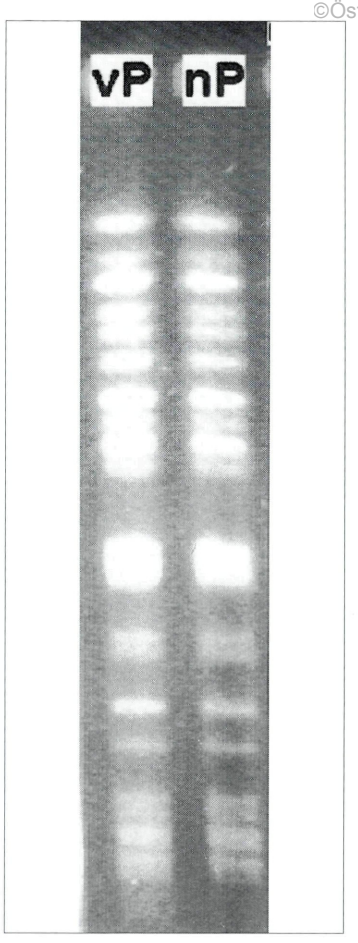

Abbildung 1:

PFGE-Bandenmuster nach enzymatischer Spaltung mit dem Restriktionsenzym Spe I von *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 vor (vP) und nach (nP) Passage durch *Acanthamoeba*.

1 µl einer Amöbensuspension aufgebracht. Diese sogenannten Kokulturen von Amöben und Bakterien wurden 7 Tage bei 30 °C bzw. 37 °C bebrütet. Die reifen Amöbenzysten wurden anschließend mit einem sterilen Wattetupfer geerntet und in 5 ml sterile (autoklavierte) Amöbensaline transferiert. Nach dreimaligem Waschen durch Zentrifugation bei 1000 g/ 20 min wurde das Pellet in 3%iger Salzsäure suspendiert und bei Zimmertemperatur inkubiert. Dadurch sollten an den Amöben außen gelagerte Bakterien eliminiert werden, die bei der weiteren Untersuchung mit den intrazellulär gelegenen vermengt worden, aber nicht unterscheidbar gewesen wären. Ein Kontrollversuch hatte gezeigt, dass keiner der für die Untersuchungen herangezogenen Bakterienspezies befähigt ist, 36 h in 3%iger HCl zu überleben. Die Säure wurde nach 36 h durch dreimaliges Waschen in steriler Amöbensaline entfernt, und die Zysten in Amöbensaline resuspendiert. Die Amöben-Zysten wurden durch mehrfaches Einfrieren und Auftauen aufgebrochen.

Ergebnisse

Im ersten Versuch wurde von einem Stamm von *Pseudomonas aeruginosa*, der gegen therapeutisch eingesetzte Antibiotika in vitro sensibel war, vor und nach Passage durch Amöben ein Antibiogramm erstellt. Sowohl die Hemmhofdurchmesser im Agardiffussionstest (Tab. 1) als auch die MHK im Epsilometertest (Tab. 2) zeigten keine Änderungen der Antibiotikaempfindlichkeit, eine lediglich beim Epsilometertest einmal zu Beginn aufgetretene Resistenz gegen Aminoglykosid-Antibiotika konnte in Folgeversuchen nicht bestätigt werden.

Im zweiten Versuch wurden ein gegen alle getesteten Antibiotika empfindlicher und ein gegen alle getesteten Antibiotika resistenter Stamm simultan phagozytiert. Nach Rückkultivierung und Isolierung beider Stämme wurden Antibiogramme mittels Agardiffusionstest erstellt. Der Vergleich der Hemmhofdurchmesser (Tab. 3) zeigte bei beiden Stämmen keine Änderungen der Antibiotikaempfindlichkeit.

Im dritten Versuch wurde die DNA von *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 nach enzymatischer Spaltung mit dem Restriktionsenzym *Spe I* und Auftrennung mittels PFGE molekularbiolgisch typisiert. Dabei zeigte sich ein unverändertes Bandenmuster vor und nach Passage durch die Amöben (Abb. 1).

Diskussion

Die Fragestellung unserer Experimente war, ob *Pseudomonas aeruginosa* in seinen therapeutisch und epidemiologisch relevanten Eigenschaften durch die Amöben-Passage verändert werden kann. Dies betraf einerseits die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika und andererseits Ergebnisse von Untersuchungen über klonale Verwandtschaftsbeziehungen. Als Voraussetzungen für diese Überlegung mußten folgende zwei Fragen geklärt werden:

1. Kommen Amöben in Gewässern syntop mit *Pseudomonas aeruginosa* vor?
2. Sind die Bakterien nach der Passage durch die Amöben noch lebensfähig?

Ad 1.:
In den letzten Jahren wurden von uns verschiedene Studien über „Limax-Amöben" durchgeführt, wobei mehrfach verschiedene Stämme von „Limax-Amöben" aus Sanitäranlagen des Allgemeinen Krankenhauses der Stadt Wien isoliert werden konnten. Dabei handelte es sich um Amöben der Genera *Acanthamoeba, Echinamoeba, Hartmannella* und *Vahlkampfia*. An zwei Stellen konnte das syntope Vorkommen von Bakterien der Spezies *Pseudomonas aeruginosa* und *Comamonas acidovorans* nachgewiesen werden (20, 21, 22). Auch andere Autoren berichten über syntop vorkommende freilebende Amöben und Pseudomonaden in verschiedenen Feuchthabitaten, wie Augenspülanlagen (5), Kontaktlinsenbehälter (8, 9, 13) und Whirlpools (19).

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 1:

Hemmhofdurchmesser in mm von *Pseudomonas aeruginosa* im Agardiffussionstest vor und nach Passage durch *Acanthamoeba*.

	vor Passage	nach Passage
Azlocillin	18	20
Ceftazidim	25	25
Cefpirom	21	21
Aztreonam	22	22
Imipenem	26	26
Gentamicin	15	15
Amikacin	18	18
Ciprofloxacin	28	28

Tabelle 2:

MHK von *Pseudomonas aeruginosa* im Epsilometertest vor und nach Passage durch *Acanthamoeba*.

	vor Passage	nach Passage
Piperacillin	4	2
Piperacillin +Tazobactam	2	2
Amoxycillin + Clavulansäure	0	0
Cefoxitin	0	0
Cefuroxim	0	0
Cefotaxim	12	12
Ceftazidim	0,75	0,75
Ceftriaxon	8	12
Imipenem	2	3
Gentamicin	2	2
Amikacin	2	3
Ciprofloxacin	0,064	0,064

Ad 2.:

Nachdem es technisch gelungen war, von Amöben phagozytierte Bakterien rückzuisolieren und weiterzukultivieren (erfolgreiche Kultivierung von *Escherichia coli, Proteus mirabilis* und *Pseudomonas aeruginosa* nach Passage durch *Acanthamoeba* und *Hartmannella*), wurde versucht, während der Passage eventuell aufgetretene Veränderungen der Bakterien zu erkennen.

Ein großes Problem bei der Therapie von durch *Pseudomonas aeruginosa* hervorgerufenen Infektionen ist das Resistenzpotential dieser Bakterien. Durch mehrfache natürliche Resistenzen ist die Anzahl möglicher Substanzen an sich limitiert, dazu kommt noch die Entstehung von Resistenzen unter der Therapie. Zu nennen sind hier sowohl chromosomal-kodierte, die Ureidopenicilline, Cephalosporine der 3. Generation sowie Monobaktame betreffen, als auch plasmidkodierte Resistenzen mit Auswirkungen auf Betalaktame, Aminoglykoside, Chinolone und Trimethoprim.

Barker et al. (4) beschrieben eine Resistenzzunahme von Legionellen gegenüber Rifampin und Ciprofloxacin nach Passage durch Amöben, und machten dafür Änderungen der Proteine, Lipopolysaccharide und Fettsäuren im Bereich der Bakterienwand verantwortlich. Einer der Hauptmechanismen für Antibiotikaresistenz von *Pseudomonas aeruginosa* ist durch Blockade der in der Zellwand gelegenen Porinkanäle bedingt. Um eine durch die Interaktion zwischen Amöbe und Bakterium auftretende Resistenz zu entdecken, verwendeten wir im ersten Versuch ein gegen die routinemäßig eingesetzten Substanzen empfindliches Isolat.

Eine weitere Hypothese war, dass es durch Konjugation innerhalb der Amöben zu einer Übertragung plasmidkodierter Resistenzen kommen könnte. Bei chronischen Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa,* insbesondere bei zystischer Fibrose, kommt es häufig zur gleichzeitigen Besiedelung mit mehreren Stämmen mit verschiedenen und auch wechselnden Resistenzverhalten. Wir haben daher einen (von den natürlichen Resistenzen abgesehenen) empfindlichen und einen gegen alle getesteten Antibiotika resistenten Stamm simultan durch die Amöben phagozytieren lassen. Die Stämme waren morphologisch gut voneinander unterscheidbar (in erster Linie durch Pyozyanine), sodass nach der Rückgewinnung keine Isolierschritte nötig waren, bei denen genetische Änderungen womöglich wieder verschwunden wären. Es gab keinerlei Hinweis auf eine intrazelluläre Übertragung, da die Hemmhofdurchmesser nahezu unverändert blieben, weshalb auch keine weitergehenden Bestimmungen, wie jene der minimalen Hemmkonzentration, durchgeführt wurden.

Pseudomonas aeruginosa nimmt generell eine führende Stellung unter den Hospitalkeimen ein. Bestimmte Stämme sind jedoch – vor allem in Abhängigkeit vom Patientengut und vom im jeweiligen Spital verwendeten therapeutischen Regime – vorherrschend und werden in Feuchthabitaten konserviert. Für die gezielte Bekämpfung von Übertragungen ist die Aufklärung von Kreuzinfektionen Voraussetzung. Verschiedene Methoden werden dafür herangezogen und sind mehr oder weniger gut geeignet. So sind phänotypische Methoden wie der Vergleich von Antibiogrammen zwar einfach durchzuführen, allerdings von begrenzter Aussagekraft. Verläßliche Aussagen können nur durch molekularbiologische Techniken getroffen werden, und der Goldstandard ist hier die Pulsed-Field Gel-Elektrophorese. Bei der Auswertung der Bandenmuster gibt es international vereinbarte Grenzen, ab denen Stämme als nicht oder nur weit verwandt gelten und daher eine Kreuzinfektion unwahrscheinlich ist. Im Falle einer Änderung des Bandenmusters durch Interaktion zwischen Amöben und Bakterien würden derartige Aussagen verzerrt werden.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle 3:

Hemmhofdurchmesser in mm von *Pseudomonas aeruginosa* im Agardiffussionstest vor und nach Passage durch *Acanthamoeba*.

	„sensibel"		„resistent"	
	vor Passage	nach Passage	vor Passage	nach Passage
Ampicillin	0	0	0	0
Amoxycillin + Clavulansäure	0	0	0	0
Azlocillin	18	20	0	0
Cefazolin	0	0	0	0
Cefamandol	0	0	0	0
Cefotaxim	18	18	0	0
Ceftazidim	25	25	0	0
Cefpirom	21	21	8	8
Aztreonam	22	22	7	7
Imipenem	26	26	7	7
Gentamicin	15	15	13	13
Amikacin	18	18	16	16
Trimethoprim	0	0	0	0
Ciprofloxacin	28	28	12	13

Es konnten also mit den bisher angewandten Techniken keine Veränderungen an *Pseudomonas aeruginosa* vor und nach Passage durch *Acanthamoeba* festgestellt werden, Experimente mit weiteren Methoden sind jedoch geplant. Zur Bestimmung von kleineren genetischen Änderungen müßte eine Sequenzanalyse der resistenzkodierenden DNA-Abschnitte durchgeführt werden, es ist allerdings zu klären, inwieweit derartige Unterschiede von klinischer Relevanz sind. Festgehalten zu werden verdient jedoch, dass die DNA und insbesondere die genetische Kodierung der Resistenzfaktoren von *Pseudomonas aeruginosa* offenbar sehr stabil ist.

Zusammenfassung

Neben ihrer Bedeutung als Erreger von Keratitis, Meningoenzephalitis und anderen Infektionen sind freilebende Amöben der Gattung *Acanthamoeba* als Vektoren von Bakterien auch von krankenhaushygienischer Relevanz. Die in dieser Arbeit behandelten Versuche wurden durchgeführt, um die Frage nach einer möglichen Veränderung der in *Acanthamoeba*-Zysten überlebenden Bakterien zu untersuchen.

Aus Patientenmaterial isolierte Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* sowie ein ATCC-Stamm dieser Bakterienspezies wurden jeweils mit Amöben kokultiviert, wobei zwei Stämme von *Acanthamoeba* sp., Gruppe II eingesetzt wurden. Die Bakterien wurden aus den *Acanthamoeba*-Zysten rückisoliert, sodass *Pseudomonas*-Stämme vor und nach der Passage durch *Acanthamoeba* vergleichend getestet werden konnten. Dabei wurde einerseits die Antibiotika-Empfindlichkeit mittels Agardiffusions- und Epsilometertest geprüft, zum anderen wurde der ATCC-Stamm vor und nach Passage molekularbiologisch mittels Pulsed-Field Gel-Elektrophorese typisiert.

Keines der Experimente ergab irgendeinen Hinweis auf Veränderungen der Bakterien innerhalb der Amöben. Dies läßt auf eine beachtliche genetische Stabilität von *Pseudomonas aeruginosa* schließen.

Schlüsselwörter Freilebende Amöben, *Acanthamoeba, Pseudomonas aeruginosa,* Passage.

Summary

Free-living amoebae and bacteria – comparative studies on Pseudomonas aeruginosa before and after Acanthamoeba passage

Apart from their importance as active pathogens causing keratitis, meningoencephalitis and other infections, free living amoebae of the genus *Acanthamoeba* are also of hospital-hygienic relevance as they may harbour bacteria inside their cysts thus acting as vectors. The experiments presented here were performed in order to find out possible alterations of the bacteria having survived within the cysts of *Acanthamoeba*.

Strains isolated from patients and one ATCC-strain, all belonging to the species *Pseudomonas aeruginosa* were co-cultivated with amoebae, using two strains of *Acanthamoeba* sp. group II. Afterwards the bacteria were reisolated from the *Acanthamoeba*-cysts. Thus strains of *Pseudomonas* both before and after the passage by *Acanthamoeba* could be compared. On one hand the sensitivity to antibiotics was tested by using the agardiffusion test and the Epsiolmeter test, on the other hand the ATCC-strain was identified by Pulsed-Field Gel Electrophoresis.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

None of the experiments revealed any alterations of the bacteria within the amoebae. From this it may be concluded that *Pseudomonas aeruginosa* shows remarkable genetic stability.

Key words Free-living amoebae, *Acathamoeba, Pseudomonas aeruginosa,* passage.

Danksagung Frau Fahira Basota danken wir für die Durchführung der Resistenzbestimmungen und der molekularbiologischen Typisierung der Bakterien.

Literatur

1. BADENOCH, P. R., JOHNSON, A. M., CHRISTY, P. E., COSTER, D. J. (1990):
Pathogenicity of Acanthamoeba and a Corynebacterium in the rat cornea.
Arch. Ophtalmol. 108, 107-112.

2. BARKER, J., BROWN, M., COLLIER, P., FARRELL, I., GILBERT, P. (1992):
Relationship between Legionella pneumophila and Acanthamoeba polyphaga: physiological status and susceptibility to chemical inactivition.
Appl. Environ. Microbiol. 58, 2420-2425.

3. BARKER, J., BROWN, M., (1994):
Trojan Horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the enviroment.
Microbiology 140, 1253-1259.

4. BARKER, J., SCAIFE, H., BROWN, M.R.W. (1995):
Intraphagocytic growth induces an atibiotic-resistant phenotype of Legionella pneumophila.
Antimicrob. Agents. Chemother. 39, 2684-2688.

5. BOWMAN, E., VASS, A., MACKOWSKI, R., OWEN, B., TYNDALL, R. (1996):
Quantitation of free-living amoebae and bacterial populations in eyewash stations relative to flushing frequency.
Am. Indust. Hyg. Ass. Journal 57, 626-633.

6. CIRILLO, J. D., FALKOW, S., TOMPKINS, L. S., BERMUDEZ, L. E. (1997):
Interaction of Mycobacterium avium with enviromental amoebae enhances virulence
Infec. Immun. 65, 3759-3767.

7. CULBERTSON, C. G., SMITH, J. W. MINNER, J. R. (1958):
Acanthamoeba: Observations on animal pathogenicity.
Science 127, 1506.

8. DEVONSHIRE, P., MUNRO, F. A., ABERNETHY, C., CLARK, B.J. (1993):
Micorbial contamination of contact lens cases in the west of Scotland.
Brit. J. Ophthalmol. 77, 41-45.

9. DONZIS, P.B., MONDINO, B. J. WEISSMANN, B. A. BRUCKNER, D. A. (1987):
Microbial contamination of contact lens care systems.
Am. J. Ophthalmol. 104, 325-333.

10. DROZANSKI, W. J. (1963):
Observations on intracellular infection of amoebae by bacteria.
Acta Microbiol. Pol. 12, 9-24.

11. FIELDS, B. S., UTLEY FIELDS, S. R., CHIN LOY, J. N., WHITE, E. H., STEFFENS, W. L., SHOTTS, E. B. (1993):
Attachment and entry of Legionella pneumophila in Hartmannella vermiformis.
J. of Infect. Diseases 167, 1146-1150.

12. KING, C., SHOTTS, E., WOOLEY, R., PORTER, K. (1988):
Survival of coliforms and bacterial pathogens within protozoa during chornation.
Appl. Environ, Microbiol. 54, 3023-3033.

13. LARKIN, D. F. P., KILVINGTON, S., EASTY, D. L. (1990):
Contamination of contact lens storage cases by Acathamoeba and bacteria.
Brit. J. Ophthalmol. 74. 133-135.

14. MICHEL, R., BURGHARDT, H., BERGMANN, H. (1995):
Acanthamoeba, naturally inracellulary infected with Pseudomonas aeruginosa, after their isolation from a microbiologically contaminated drinking water system in a hospital.
Zbl. Hyg. 196, 532-544.

15. MILLER, J. F., MEKALANOS, J. J., FALKOW, S. (1989):
Coordinate regulation an sensory transduction in the control of bacterial virulence.
Science 243, 916-922.

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at
16. PUSSARD, M., PONS, R. (1977):
Morphologie de la parot kystique et taxonomie du genre acanthamoeba (protozoa, amoebida).
Protitologica 13, 557-598.

17. ROWBOTHAM, T. (1980):
Preliminary report on the pathogenicity of Legionella pneumophila for fresh-water and soil amoebae.
J. Clin. Pathol. 33, 1179-1183.

18. VANDENESCH, F., SURGOT, M., BORNSTEIN, N., PAUCOD, J. C., MARMET, D., ISOARD, P., FLEURETTE, J. (1990):
Relationship between free-living amoeba and Legionella: studies in vitro and in vivo.
Zbl. Bakt. 272, 265-275.

19. VESALUOMA, M., KALSO, S., JOKIPII, L., WARHURST, D., PÖNKÄ, A., TERVO, T. (1995):
Microbiological quality in Finnish public swimming pools and whirlpools with special reference to free-living amoebae: a risk factor for contact lens warers.
Brit. J. Ophtalmol. 79. 178-181.

20. WALOCHNIK, J., PICHER, O., ASPÖCK, CH., ULLMANN M., ASPÖCK, H. (1997):
Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von "Limax-Amöben" (Acanthamoeba und Hartmannella) auf Kulturen verschiedener gramnegativer Bakterienspezies.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 19, 21-28.

21. WALOCHNIK, J., PICHER, O., ASPÖCK, Ch., ULLMANN, M., SOMMER, R., ASPÖCK, H. (1998):
Syntopes Vorkommen und humanmedizinisch relevante Interaktionen von „Limax-Amöben" und Bakterien in Feuchthabitaten im Krankenhaus.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 20, 93-99.

22. WALOCHNIK, J., PICHER, O., ASPÖCK, Ch., ULLMANN M., SOMMER, R., ASPÖCK, H. (1999):
Interactions of "Limax-amoebae" and gramnegative bacteria – Experimental studies and review of current problems.
Tokai. J. Exp. Clin. Med. 23 (6): im Druck.

Korrespondenzadresse Dr. Christoph Aspöck
Klinische Abteilung für Krankenhaushygiene
AKH, BT 24, Leitstelle 7 Q

Währinger Gürtel 18-20
A-1090 Wien · Austria

©Österr. Ges. f. Tropenmedizin u. Parasitologie, download unter www.biologiezentrum.at

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie

Jahr/Year: 1999

Band/Volume: 21

Autor(en)/Author(s): Aspöck Christoph, Walochnik Julia, Aspöck Horst

Artikel/Article: "Limax-Amöben" und Bakterien - vergleichende Untersuchungen an Pseudomonas aeruginosa vor und nach Passage durch Acanthamoeha. 31-38