

## Bacteriologie

### **Inleiding**

Bacteriologie handelt over bacteriën.

Mycologie over Fungi (schimmels, gisten en dimorfe fungi) en chromista

Chromista zien eruit als schimmels. Bv *Saprolegnia* geeft problemen bij vissen

Schimmels zijn meercelligen (vertakte organismen)

Gisten zijn eencelligen (rond of ovaalvormige organismen)

Dimorfen kunnen zowel als gist als als schimmel tot uiterlijk komen

Bacteriën zijn **prokaryoten** (geen kernmembraan), fungi en chromista zijn **eukaryoten** (wel kern)

Deze cursus gaat vnl over pathogenen (of zoönosen) hoewel er meer bacteriën en fungi bestaan die niet pathogeen zijn. Slechts 2-5% van alle bacteriën zijn ziekteverwekkende bacteriën

Niet-pathogeen zijn:

- vrijlevende (afbraak organisch materiaal in de bodem bv)
- microflora of microbiota. Levend op mens of dier maar niet pathogeen. Bv thv huid/slijmvlies/maag/darm, ze komen eigenlijk overal voor waar er contact is met de buitenwereld. Dit zijn nuttige bacteriën bv voor de vertering of om te beletten dat pathogenen aanslaan (aspecifieke afweer)

Antibiotica werken tegen bacteriën en zijn:

- selectief: ze werken enkel tegen bacteriën en niet tegen de gastheercellen (enkel tegen prokaryoten en/of ribosoomtype 70S.)
- niet-selectief: ze maken geen onderscheid tussen pathogene bacteriën en niet-pathogene.

Fylogenetisch (afstamming): er zijn 3 afstammingslijnen uit 1 voorouder.

De archaea en eukaryoten hebben nog een gemeenschappelijke voorouder, de bacteria zijn er dan al afgesplitst.

1. voorouder bacteria

- gemeenschappelijke voorouder:
2. voorouder archaea
  3. voorouder eukaryoten

Er zijn 7 koninkrijken:

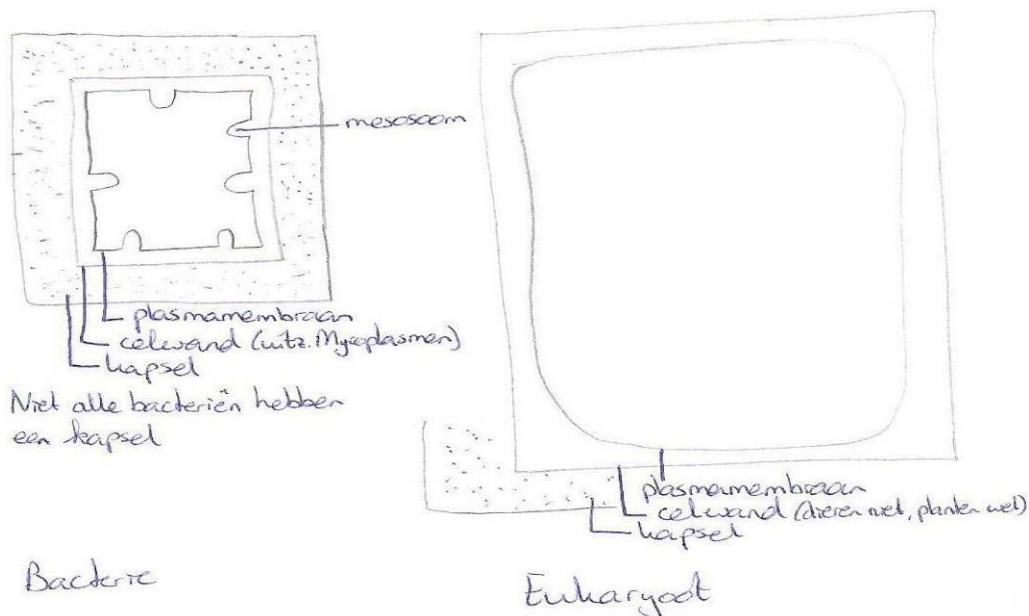
- bacteria      - protozoa      - animalia      -fungi
- archaea      - plantae      - chromista

Enkel de bacteria en archaea zijn prokaryoten

Korte samenvatting van de evolutie van de aarde en het leven op aarde (blz 9 t/m 13)  
lezen, niet kennen.

Fenotypische verschillen bacteria en eukaryota:

- Afmetingen. Algemeen: bacteriën < 10 µm; eukaryoten > 10 µm;



Diagnose: otitis externa bij de hond: verschillende oorzaken:

- *Staphylococcus pseudintermedius* (bacterie) Gr (+); ca 1 µm, bolvormig
- *Malassezia pachydermatis* (gist) ovaalvormig, minstens 10x groter dan bacteriën. Bij vermeerdering:

- Genetisch materiaal; Bacteriën: 1 chromosoom, meestal circulair en vastgehecht aan het mesosoom (septaal mesosoom, 2 septale mesosomen spelen rol bij vermeerdering); eventueel extrachromosomaal DNA-materiaal en geen kernmembraan. Eukaryoten: meerdere chromosomen, kernmembraan aanwezig (kernporiën in envelop, kernlichaampje)
  - Plasmamembraan invaginaties (bacteriën) tegenover intracellulaire membraneuze structuren (golgi, endoplasmatisch reticulum) (eukaryoten)
  - Aanwezigheid van mitochondriën en chloroplasten bij eukaryota (oxidatieve processen/fotosynthese) niet aanwezig bij bacteriën (pathogene bacteriën)
  - Ribosoomtype (70S tegenover 80S) belangrijk voor selectieve werking antibiotica.
- Verschillende antibiotica groepen die werken op ribosomen (interferentie eiwitsynthese)
- Tetracyclines: tetracycline, oxytetracycline, chloortetracycline, doxycycline, minocycline.
  - Aminoglycosiden: streptomycine, dihydrostreptomycine, neomycine, gentamicine (let op schrijfwijze! Afkomstig van andere groep bacteriën), kanamycine
  - Macroliden: 14-ringmacroliden (dier en humane geneeskunde): erythromycine en chlathromycine; 16-ringmacroliden (diergeneeskunde): tylosine en tilomycosine
  - Lincosamiden: lincomycine, clindamycine, pirlimycine
  - Florfenicol (vnl bij runderen gebruikt)

Er staan nog andere verschillen tussen bacteriën en eukaryoten in cursus, lezen, niet kennen

## Morfologie en structuur van bacteriën

Morfologie: bacteriën moeten vaak gekleurd worden (meestal Gram kleuring) en onder de microscoop bekeken worden om zichtbaar te zijn.

Gram kleuring:

1. Kleuren met paarse kleurstof → allen paars gekleurd
2. Ontkleuren met een mengsel van alcohol/aceton. (+) → paars; (-) → kleurloos wegens verschillen in celwand.
3. Tegenkleuren met rode kleurstof: (+) → paars; (-) → rood

### Vorm

2 basisvormen: coc en bacil

ertussenin zitten de cocco-bacillen:

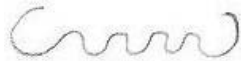


Er bestaan ook fusiforme bacillen (spits uiteinde)



Afwijkende vormen:

- Spirocheten, gr (-) → spiraalvormig; diameter tussen 0.1 en 0.3  $\mu\text{m}$ ; lengte kan tot >10  $\mu\text{m}$ . Een groep van spirocheten = *Leptospira* → spiraalvormig met 1 of 2 uiteinden haakvormig omgebogen



- Actinomyceten, gr (+) → zien eruit als schimmels



- *Mycoplasma*, gr (+) → geen celwand, celwand bepaalt de vorm, dus kunnen verschillende vormen aannemen (vnl. bolvorm)

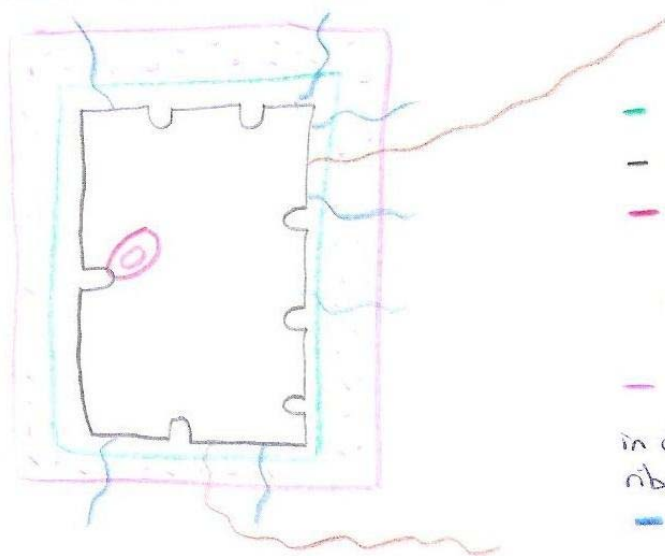


### Afmetingen

Diameter *Streptococcus* en *Staphylococcus* is ongeveer 1  $\mu\text{m}$

Chemische samenstelling, lezen, niet kennen

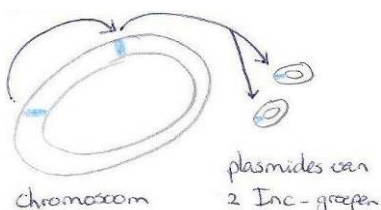
## Structuur



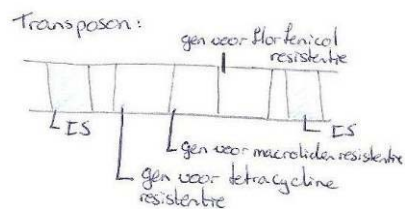
- celwand (uitz. Mycoplasma)
- plasmamembraan
- 1 chromosoom vast aan het septaal mesosoom (eventueel nog plasmides aanwezig)
- kapsel
- in de cel: cytoplasma met ribosomen.
- kimbriae
- flagel (enkel bij beweeglijke vormen)

### • Genetisch materiaal

- Chromosoom of nucleoïde vast op septaal mesosoom: 1 chromosoom, dubbelstrengig circulair, geen kernmembraan, staat in voor de vitale functies
- Eventueel plasmiden (extrachromosomaal DNA): ook meestal dubbelstrengig circulair maar kleiner, al dan niet integreerbaar in chromosoom. Verschillende groepen op basis van grootte. Er kunnen verschillende soorten plasmiden tegelijk voorkomen, maar sommigen kunnen niet samen (incompabiliteit, Inc-groepen)
- Speciaal DNA op chromosoom of plasmiden: oa.
  - Profagen (virus van bacterie in chromosoom of plasmide geïntegreerd.)
  - Insertiesequenties en transposons

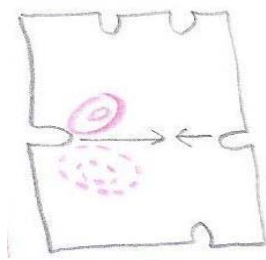


- Insertiesequentie → zorgt voor het verspringen van transposons.
- Transposon bevat IS en ander genetisch materiaal bv. resistentie genen.
- IS = mobiel DNA.



- Genomische eilanden (goed omschreven gebied in chromosoom/plasmide van vreemd DNA; te herkennen via Guanine/Cytosine %)
- Pathogeniciteitseilanden (met genen voor virulentiefactoren)
- Resistentie eilanden (integrans met anti-microbiële resistentie-determinanten) → mogelijkheid om resistentiegenen op te pikken en op te stapelen (accumulatie resistentiegenen in chromosoom/plasmide/transposon)

- Protoplasma (met ribosomen)  
De ribosomen (70S) bestaan uit 50S en 30S. Beide sub-units bestaan uit eiwitten en rRNA
- Plasmamembraan  
Opgebouwd uit een dubbele laag fosfolipiden en eiwitten. Aanwezig bij alle bacteriën. Geen sterolen in membraan aanwezig (in tegenstelling tot dieren: cholesterol en planten: ergosterol) uitzondering mycoplasma: wel sterolen in membraan na opname uit het milieu waar ze vermeerderen.  
De plasmamembraan bevat mesosomen (instulpingen). De 2 septale mesosomen spelen een rol bij de binaire vermeerdering (pathogene bacteriën delen ongeveer elke 15 minuten) Aan 1 v/d 2 septale mesosomen zit het chromosoom vast.

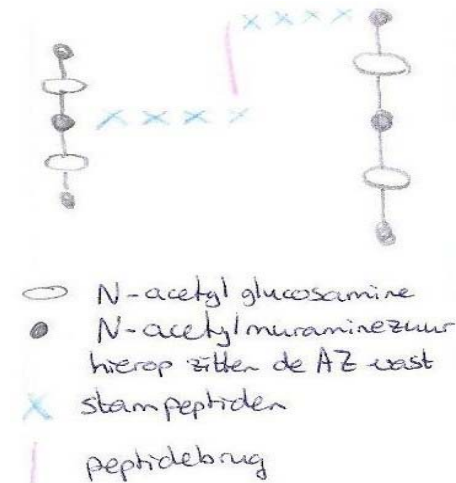


- 1 kopie chromosoom (autonoom)
- 2 het naar elkaar toegroeien van de septale mesosomen
- 3 kloning celtooid → identieke dochterbacteriën

- Celwand (uitz. *Mycoplasma*) bepaalt de vorm van de bacterie. Als bacteriën geen celwand meer (kunnen) vormen gaan ze dood door een hoge osmotische druk. oa  $\beta$ -lactam antibiotica interfereren met de bouw van de celwand (selectief want dierlijke cellen hebben geen celwand) → penicillines (penicilline, ampiciline, amoxicilline) en cephalosporines  
 $\beta$ -lactam antibiotica werken dus niet tegen *Mycoplasma*.  
Er bestaan verschillende celwanden bij gram (+) en (-). Binnen de gram (+) is er nogmaals een opdeling in de "gewone" en de "bijzondere" gram (+)  
In de celwand van alle bacteriën zit peptidoglycaan (uitz. Chlamydiën; *Chlamydia/Chlamydophila* → obligaats intracellulair, dus vermeerderen enkel in cellen; geen peptidoglycaan dus gram (-)) maar de hoeveelheid peptidoglycaan verschilt, hoe meer er aanwezig is, hoe paarser de kleur bij een gram-kleuring.

### Peptidoglycaan

Complex polymeer bestaande uit 3 elementen: suikers (polymeer van disacchariden), stampeptiden (peptide zijketens, 4 AZ) en/of peptidebruggen. De peptidebruggen ontbreken meestal bij gr (-), hier zitten de AZ rechtstreeks op elkaar.



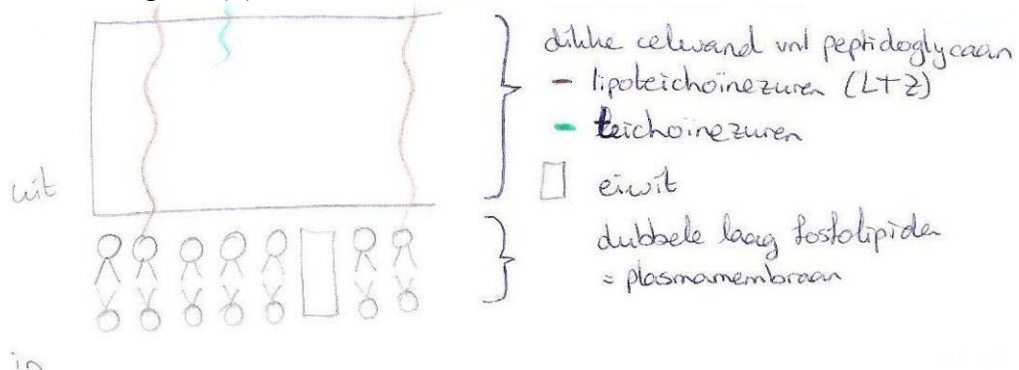
Synthese peptidoglycaan: monomeren (disaccharide) aanmaak in protoplasma. Stampeptiden worden ook in protoplasma aangemaakt en aangebouwd.

In de plasmamembraan zitten enzymes (actieve kant naar binnenzijde cel) die de inbouw van monomeer en stampeptide in de celwand verzorgen (polymeriseren) en oa voor de peptidebruggen zorgen.

Deze enzymes worden penicilline bindende proteïnes genoemd. Penicilline en cephalosporines ( $\beta$ -lactam antibiotica) binden hierop om de bouw van de celwand te verhinderen. Er worden nog wel monomeren aangemaakt, maar er kan geen celwand meer van gevormd worden.

### Structuur bij gram (+) en gram (-) bacteriën

- Gewone gram (+) bacteriën



Bv *Strepto-* en *Staphylococcon*.

Dikke celwand vnl bestaande uit peptidoglycaan (verschillende lagen op elkaar als netwerk). De celwand bevat ook nog eiwitten, lipoteichoïnezuren en teichoïnezuren.

Lipoteichoïnezuren (LTZ) zijn oppervlakte antigenen.

Teichoïnezuren verzorgen de adhesie aan de gastheercel, de opname van  $\text{Ca}^{2+}$  en  $\text{Mg}^{2+}$  en het in stand houden van de structuur van de celwand.

Lipoteichoïnezuren kunnen aan gram (+) bacteriën toxische eigenschappen geven. Macrofagen/monocyten hebben receptoren die deze lipoteichoïnezuren herkennen (toll-like receptors) (indirect herkennen deze dus bacteriën) en reageren hierop door cytokines te vormen. → ontsteking: permeabiliteit verhoogt, vasodilatatie etc. Dus een bacteriële infectie op grote schaal kan leiden tot een grote ontsteking, shock en uiteindelijk sterfte.

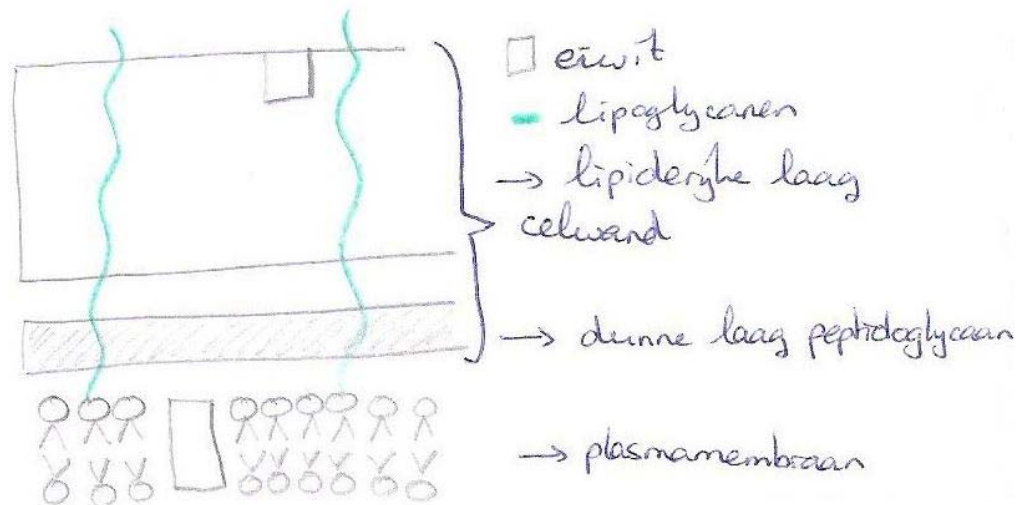
Lipopolysacchariden (LPS) doen net hetzelfde bij gram (-) bacteriën (endotoxines)

LTZ: lipidedeel vast in plasmamembraan met lange keten glycerofosfaat eenheden erop

LPS: lipidedeel (lipid-A-deel) met lange keten polysacchariden erop (PS bestaan uit core en O-antigenen)

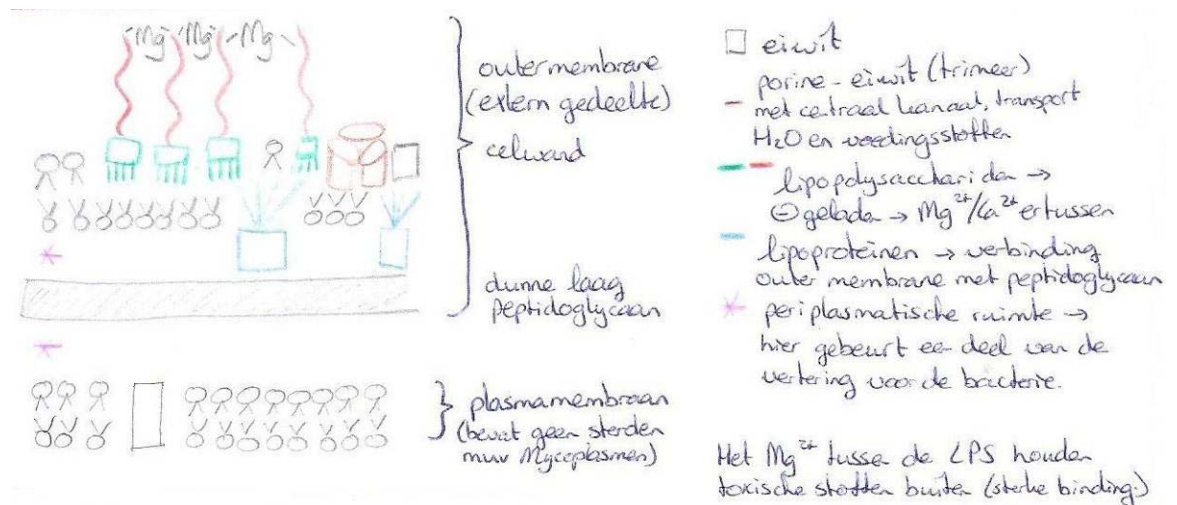
- Bijzondere gram (+)

Bv *Mycobacterium* (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.avium* subspecies *paratuberculosis* veroorzaken (para)tuberculose), *Corynebacterium* (abscessen, etter), *Rhodococcus equi* (longabscessen bij veulens <6mnd), *Nocardia* (mastitis, vrijlevende kiem in de bodem, veroorzaakt bindweefselwoekering, moeilijk te behandelen.)



Lipide rijke celwand dus moeilijk afbreekbaar door macrofagen. De celwand bevat ook eiwitten en lipoglycanen (bij *Mycobacterium* subspecies komt lipoarabinomannan (LAM) voor. Dit heeft dezelfde functie als LPS of LTZ) LAM interfereert met macrofagen etc → vrijstellen cytokines zoals TNF → letsels (Bij tuberculose worden letsels veroorzaakt door de afweerreacties van de gastheer (TNF, macrofagen etc))

## - Gram (-) bacteriën



Otitis externa kan ook veroorzaakt worden door *Pseudomonas aeruginosa*.  
 Behandeling: EDTA → doet de Mg<sup>2+</sup> of Ca<sup>2+</sup> verdwijnen waardoor  
 (toxische) stoffen naar binnen kunnen dringen.

Outer membrane: - fosfolipiden  
 - (lipo)proteïnen  
 - lipopolysacchariden

## • Proteïnen

- Lipoproteïnen: structureel; verbinding outer membrane met peptidoglycaan
- Porines: trimeer met kanaal voor H<sub>2</sub>O → transport en opname voedsel
- Synthese kapsel wordt beïnvloed door eiwitten in celwand (enzymes)
- Eiwitten met rol in pathogenese:
  - Adhesie: pas na vasthechting op de gastheercel is vermeerdering mogelijk
  - IJzeropname: als de bacterie wil vermeerderen heeft hij vrij ijzer nodig. De gastheer zorgt ervoor dat er weinig vrij ijzer is door dit te binden op transferrine/lactoferrine/hemoglobine. Verschillende ijzeropnamesystemen van bacteriën:
    - ✓ Chelator (stof met hoge affiniteit voor ijzer)
    - ✓ Transferrine bindende proteïnes
    - ✓ Hemoglobine bindende proteïnes

- ✓ IJzeropname via een chelator: oa. septicemische *Escherichia coli*
  - Gram (-)
  - Behoort tot de groep (familie) van enterobacteriaceae (darmbacteriën, evenals *Salmonella*)

- Heterogeen! (verschillende stammen) op te delen in 2 groepen op gebied van pathogeniciteit:
  - *E.coli* zonder specifieke virulentiefactoren
  - *E.coli* met specifieke virulentiefactoren

De *E.coli*'s zonder specifieke virulentiefactoren behoren tot de normale microflora van de dikke darm en zijn weinig pathogeen. Ze zijn wel belangrijk ivm mastitis en endometritis (vnl rund/varken) kort na de partus wanneer de afweer verminderd is.

De *E.coli*'s met specifieke virulentiefactoren behoren ook tot de normale microflora van de dikke darm en zijn facultatief pathogeen (diarree, septicemie bij neonatalen, etc.)

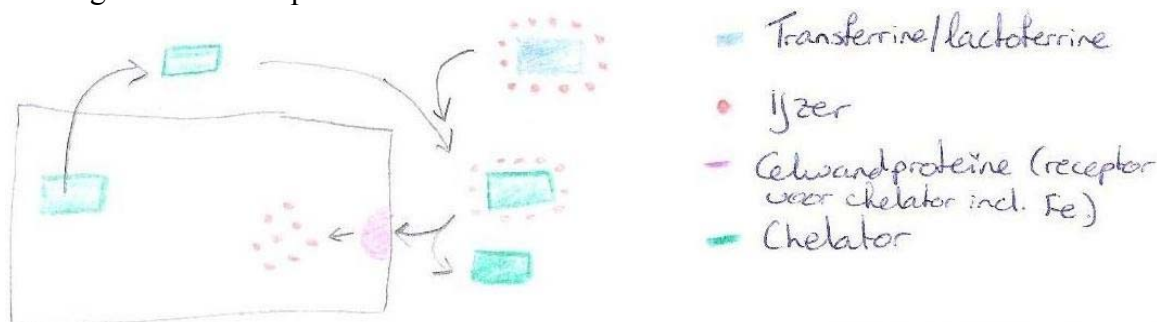
Septicemie wil zeggen: toestand dat er ziektekiemen in het bloed aanwezig zijn en zich daar of in organen kunnen vermeerderen. Dit is belangrijk bij pasgeboren zoogdieren (vnl kalf, veulen, big, lam). Indien er problemen zijn bij colostrumopname (te laat/te weinig/teveel kiemen al aanwezig) zijn neonatalen slecht beschermd tegen oa neonatale septicemie. Pups en kittens hebben hier minder vaak last van omdat bij hen de antistoffen in oa het bloed en de dunne darm voor 95% uit de colostrum afkomstig is en voor 5% transplacentair.

Septicemische *E.coli* kalf/veulen pathogenese:

Opname per os of via navel door mest moederdier → naar bloedbaan → kan geen kwaad als er antistoffen uit het colostrum aanwezig zijn → antistoffen binden met *E.coli*. Als er te laat of te weinig colostrum opgenomen wordt of als de infectie te vroeg gebeurt (bv door niet hygienische controle door een dierenarts naar de ligging van het kalf in de uterus kunnen er al *E.coli*'s in de baarmoeder ingebracht worden en het kalf dus al in de uterus geïnfecteerd raken) → minder/geen colostrale antistoffen → septicemische *E.coli* vermeerdert in bloed doordat het in staat is Fe te onttrekken aan transferrine/lactoferrine → algemene symptomen, shock en sterfte bij een (hyper)acute infectie door endotoxines in de celwand van de kiem.

Als er sprake is van een trage(re) infectie → uitzaaiingen naar organen → symptomen afhankelijk van soort orgaan dat aangetast is, vaak gewrichten → poly-arthritis.

Hoe gebeurt de Fe-opname?



Septicemische *E.coli*: vormt een chelator in zijn protoplasma via ribosomen en scheidt deze uit wanneer hij opgroeit in een Fe-arm milieu. De chelator bindt ijzer van de gastheer en bindt hierna op een celwandproteïne en het Fe wordt

opgenomen in de cel, de chelator wordt later afgebroken door de gastheer. De kiem heeft ijzer nodig om te vermeerderen, via dit systeem kan hij eraan geraken, niet alle *E.coli*'s hebben dit systeem, enkel septicemische.

Als er genoeg colostrum aanwezig is → antistoffen tegen celwandproteïne van *E.coli* binden hierop waardoor de chelator met Fe gebonden niet meer kan binden en niet meer door de kiem gebruikt kan worden voor vermeerdering.

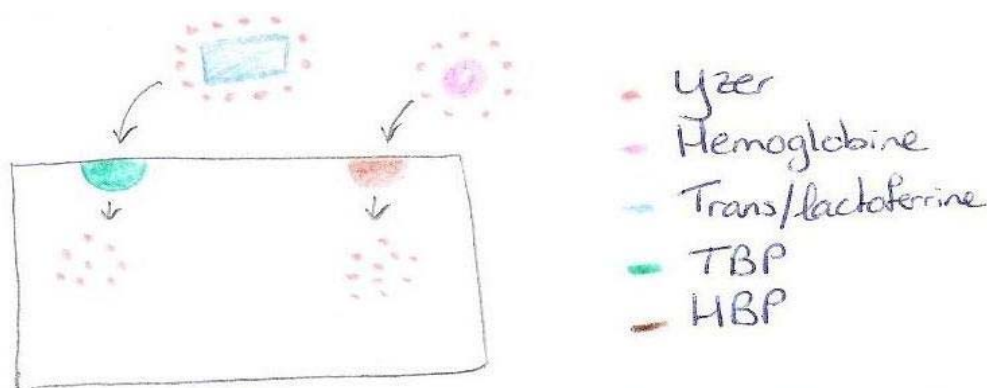
✓ IJzeropname via transferrine/lactoferrine bindende proteïnes

Oa: *Mannheimia haemolytica* bij herkauwers dat leidt tot ademhalingsproblemen en *Actinobacillus pleuropneumoniae* die ademhalingsproblemen bij het varken veroorzaakt (varken dood met bloederig schuim rond de muil en zwarte (afgestorven) longdelen) *A.pleuropneumoniae* veroorzaakt bij een trage infectie fibrineuze pleuritis en bij een snelle infectie hemorrhagische/necrotiserende pneumonie.

Pathogenese *A.pleuropneumoniae*:

Opname door inhalatie, geeft enkel problemen als de kiem tot diep in de longen kan geraken (alveolen of terminale bronchiolen). Dit kan gebeuren als er zeer veel kiemen zijn (hoge infectiedruk) of als er sprake is van slechte ventilatie (teveel ammoniak in de lucht, afkomstig van de faeces, waardoor de ciliën in de luchtwegen kapot gaan) of als er tegelijk sprake is van bv een virale infectie (afweer omlaag) of bij een gelijktijdige infectie door een kiem zonder celwand (*Mycoplasma hyopneumoniae*; tast de trilharen aan)

Na de inhalatie gebeurt er eerst adhesie en daarna begint de vermeerdering als er voldoende Fe beschikbaar is. Hierna worden exotoxines gevormd (meestal eiwitten geproduceerd door welbepaalde bacteriën; APX-toxines) Exotoxines zijn verantwoordelijk voor letsels. APX= Actinobacillus pleuropneumoniae behorend tot de RTX groep (repeat **enterotoxines**?) De RTX groep is een groep die openingen maakt in de gastheercel (eukaryote cellen) thv het endotheel van de long (bloederige letsels, hemorrhagische pneumonie), thv het alveolair epitheel (necrose), thv rode bloedcellen (komt Hb en dus Fe vrij) en thv macrofagen/monocyten (afweer omlaag in de longen)



Om te vermeerderen heeft de kiem ijzer nodig

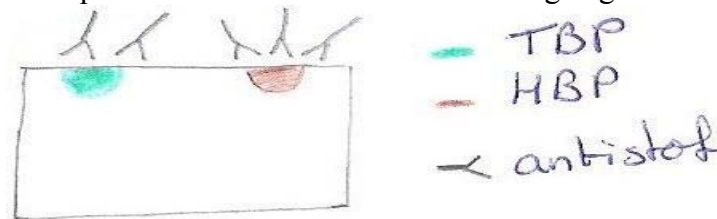
Wanneer *A.pleuropneumoniae* opgroeit in een Fe-arm milieu gaat de kiem transferrine en hemoglobine bindende proteïnes tot expressie brengen. De transferrine bindende proteïnes (TBP) binden transferrine en lactoferrine, de

hemoglobine bindende proteïnes (HBP) binden hemoglobine. Na binding met de bindende proteïnes kan het ijzer dat gebonden zit op transferrine, lactoferrine of hemoglobine in de cel opgenomen worden.

- ✓ IJzeropname hemoglobine bindende proteïnes  
APX exotoxines binden ook op rode bloedcellen → komt Hb vrij na lyse → bindt op Hb-bindende proteïnes → Fe naar protoplasma in de cel. (tekening zie transferrine/lactoferrine bindende proteïnes)

Men kan vaccineren tegen *A.pleuropneumoniae* met

- Geïnactiveerde vaccins die APX-toxines bevatten behandeld met formol. Hierdoor gaat het toxisch effect verloren maar ze blijven antigenisch → er worden antistoffen tegen gevormd (geen volledige bescherming)
- Geïnactiveerde vaccins met *A.pleuropneumoniae* behandeld met formol (kiem gaat kapot maar blijft antigenisch) opgegroeid in Fe-arm milieu in labo → Hb en trans/lactoferrine bindende proteïnes komen tot expressie en hier worden antistoffen tegen gevormd.



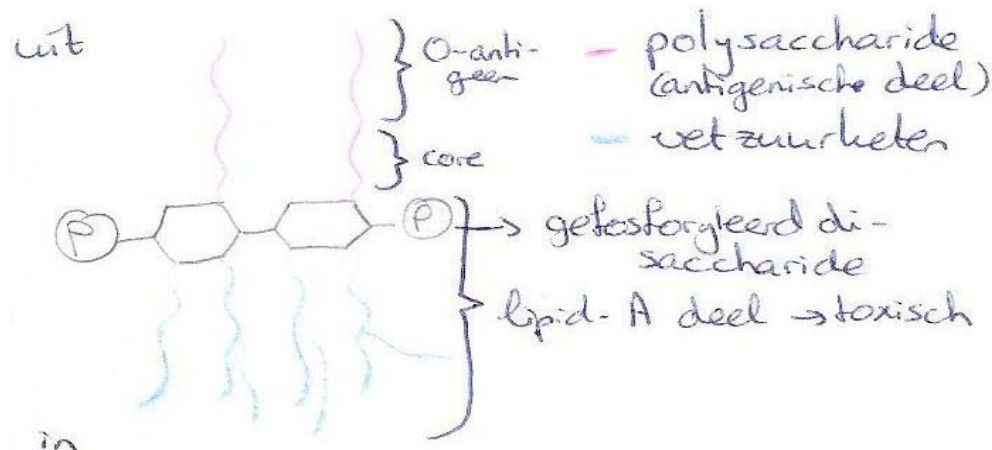
- Vaccinatie met combinatie van de 2: antistoffen tegen APX-toxines en Hb/ferrine bindende proteïnes.

Terminologie:

Toxoïd = exotoxine + formol (beschermt tegen letsels)

Bacterin = volledige kiem + formol

- Lipopolysacchariden
  - Opbouw



De O-antigenen (deel polysaccharide), ook wel somatische antigenen genoemd, zijn specifiek per bacterie en binnen de bacteriesoort per serotype.

- **Functie**  
Bescherming tegen toxische stoffen en complement.  
Polymyxines: antibiotica (oa. Colistine) die enkel werken op gram (-) bacteriën, ze leggen zich tussen de polysaccharideketens waardoor deze uit elkaar geduwd worden en er een gat in de celwand ontstaat.  
Selectief, niet tegen gastheercel want deze bevatten geen LPS. Werkt ook niet tegen gram (+) en *Mycoplasma*.
  
- **Toxische eigenschappen van de gram (-) celwand: endotoxines**  
Endotoxine is een verzamelnaam voor de toxische bestanddelen van de celwand van gram (-). LPS: chemisch gepurifieerd endotoxine (vnl. lipid-A deel) en eiwitten zijn endotoxines.  
LPS werkt in op macrofagen/monocyten → bindt op toll-like receptor → zetten deze aan tot vorming van cytokines (bedoeld als afweer, koorts, algemene symptomen) maar als te sterk gebeurt → shock → sterfte  
Endotoxine belang:
  - Infectie met gram (-), endotoxine komt vrij bij vermeerdering (membraanvesikels) en lyse
  - Organisch stof (oa in stallen) → longproblemen vnl bij paard (RAO of COPD, recurrent airway obstruction = chronic obstructive pulmonary disease)  
Oorzaak: sterke reactie in luchtwegen op endotoxines/schimmelsporen; tgv allergie worden de longen/luchtwegen 'dichtgedrukt'.  
Remedie: paarden buiten zetten en om te voorkomen dat er stof van hooi afkomt dit geven ondergedompeld in water.
  
- Protoplasten, sferoplasten, L-vormen (blz 41) lezen, niet kennen
  
- Kapsel en slijmkapsel bij bacteriën
  - Niet bij alle bacteriën
  - Bestaat uit polysacchariden en/of eiwitten
  - Virulentiefactor (kolonisatie of invasie gemakkelijker)
  - Rol bij adhesie (*Mannheimia haemolytica* heeft kapsel dat een rol speelt bij de adhesie aan surfactant van de long)
  - Bescherming tegenover fagocytose en complement (afweersysteem)
  - K-antigenen (kapsel = antigenisch)

Biofilm bestaat uit bacteriën op een bepaald oppervlakte ingesloten in zelf geproduceerd slijm. Hierdoor worden ze moeilijk behandelbaar voor het afweersysteem of anti-microbiële middelen.

- Flagellen
  - Beweeglijkheid
  - H-antigenen (proteïne draden)
- Pili/fimbriae en fibrillae: kortere proteïne draden op oppervlakte bacteriën
  - Seks pili: conjugatie
  - Gewone pili: fimbriae (kort, dik, rigide) en fibrillae (lang, dun, flexibel): adhesie en F-antigenen.

Pathogenese enterotoxigene *E.coli* (ETEC) → waterige diarree bij:

- Big: neonataal (tot 3 dagen); speenleeftijd; tss 2-3 weken oud (voor spenen)
- Kalf: neonataal
- Mens: reizigersdiarree

*E.coli* (heterogeen) Gr (-)

Biotypes op basis van biochemische eigenschappen

Serotypes op basis van antigene eigenschappen

Pathogeniteit: - zonder specifieke virulentiefactoren in DD → mastitis/endometritis

- met specifieke virulentiefactoren → oa diarree/septicemie

Voor serotypering zijn de oppervlakte antigenen belangrijk

- O-antigenen of somatische antigenen (celwand) (= LPS bij alle coli's)
  - Sommige coli's → kapsel → K-antigenen (= PS)
  - Meeste coli's → flagel voor beweging → H-antigenen (= eiwitten)
  - F-antigenen fimbriae/fibrillae (= eiwitten)
- Er zijn > 2000 serotypes, bv: O78, K80, H12 of O42, K2, H-

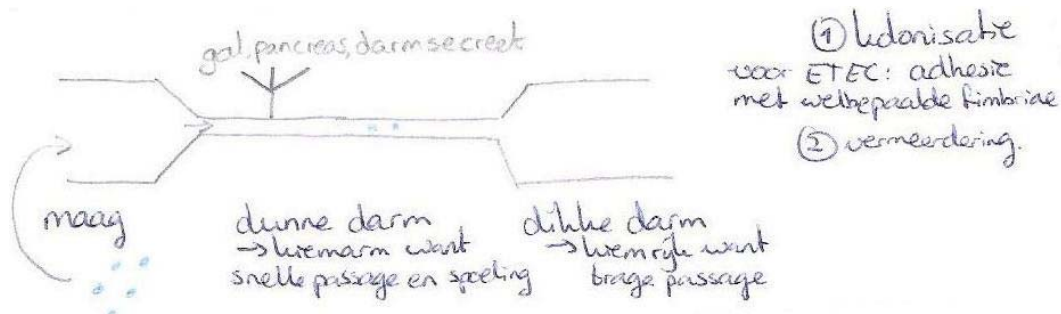
ETEC

Beperkt aantal serotypes

Pathogeniteit thv dd, specifieke virulentiefactoren (adhesiefactoren, fimbriae → kolonisatie; exotoxines, enterotoxines → ST (thermostabiel) of LT (thermolabiel).

Zijn facultatief pathogeen. Kunnen behoren tot de normale microflora DD.

Opname kiem per os → maag → dd (kiemarm want snelle passage en spoeling door gal, pancreassecrēt en darmsecrēt)



De fimbriae zijn belangrijk bij adhesie in de dd thv specifieke bindingsplaatsen (belang bij vaccinatie)

Big:

- F4 fimbriae → ETEC met F4 = hemolytisch → geeft een zone zonder rbc in een bloedagar → oorzaak van neonatale diarree, diarree op 2-3 weken én speendiarree
  - F5, F6, F41 fimbriae (of combinatie) → niet hemolytisch → oorzaak van neonatale diarree
  - F18 fimbriae → hemolytisch → oorzaak van speendiarree
- Alle receptoren op de enterocyten in de dd voor F-antigenen zijn verschillend van elkaar en zijn bv voor F5, F6, F41 enkel neonataal aanwezig.

Kalf/lam

- F5
- F5 icm F41

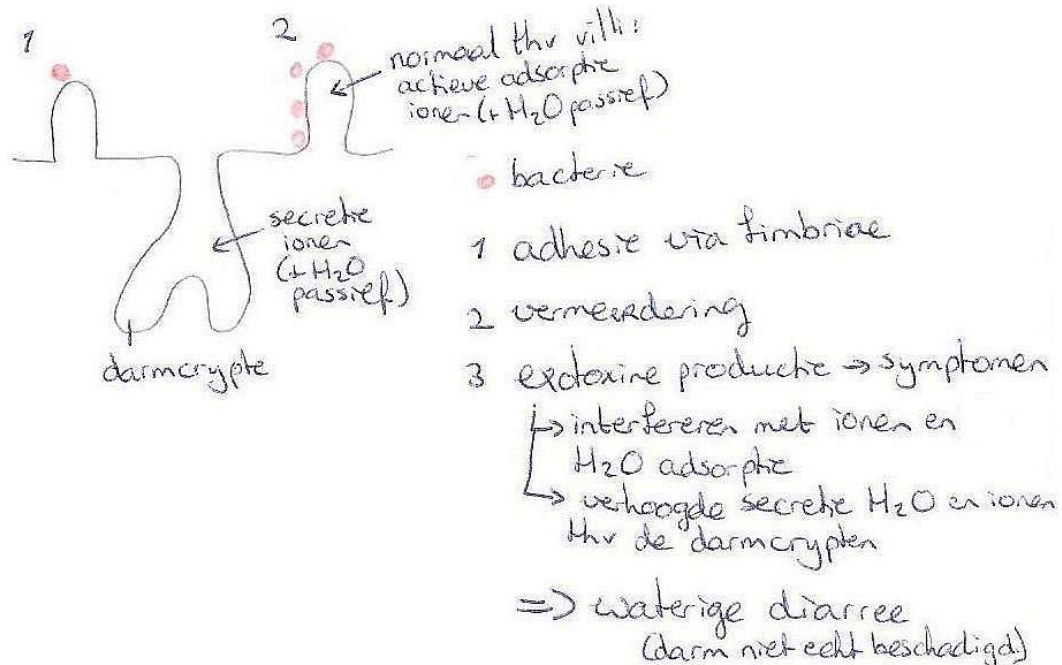
Beiden niet hemolytisch, en geven beiden neonatale diarree

De adhesie veroorzaakt (nog) geen diarree, dit doet de exotoxineproductie pas.

Exotoxines (enterotoxines) geproduceerd door ETEC's:

- LT enterotoxine: eiwit, hoog moleculair gewicht, goed antigeen
- ST enterotoxine: polypeptide, laag moleculair gewicht, slecht antigeen → niet in vaccins

Werking toxines:



Pathogenese ETEC → diarree

Per os opname → 1. adhesie aan enterocyten dd via fimbriae

2. vermeerdering
3. productie enterotoxines → enzymstelsel → symptomen

- Endosporen:

Gevormd als de bacterie zich in slecht milieu bevindt. Slechts gevormd door 2, voor ons belangrijke, genera: *Bacillus* en *Clostridium* (grote gr (+) staven). Endosporen zijn weerstandsvormen → niet gevoelig aan koken/desinfectie etc

*Bacillus:*

- Aëroob: O<sub>2</sub> nodig voor vermeerdering
- Facultatief anaëroob: vermeerdering mogelijk bij aan én afwezigheid van O<sub>2</sub>.

*Clostridium:*

- Anaëroob: enkel vermeerdering zonder O<sub>2</sub>, in geval van contact met O<sub>2</sub> → sporevorming.

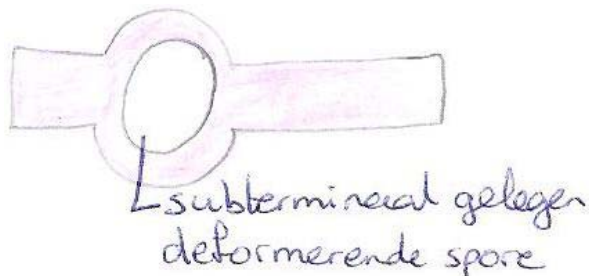
Zowel *Bacillus* als *Clostridium* vormen exotoxines.

*Bacillus anthracis*: miltvuur. Vnl pathogeen voor rund en paard

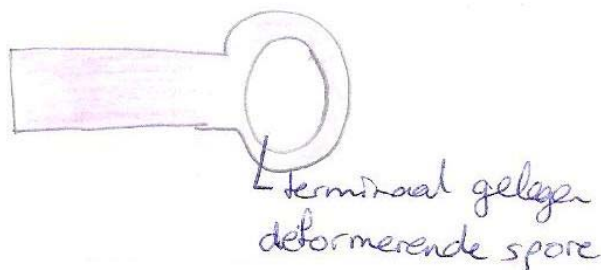


Wanneer de kiem in een slecht milieu terecht komt (buiten het lichaam van de gastheer) gaat het over tot sporevorming. Niet-deformerend = niet uitstekend.

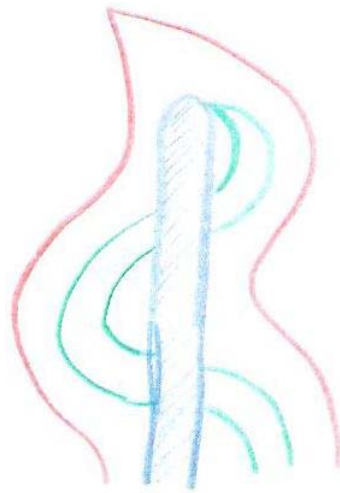
*Clostridium perfringens*: gasgrangeen. (Hemorrhagische letsels; Enterotoxemie)



*Clostridium tetani*: tetanus



- Bacteriën met een afwijkende structuur
    - Genera *Mycoplasma* en *Ureaplasma*:
      - Geen celwand → vele vormen
      - In de plasmamembraan komt cholesterol voor
    - Genera *Chlamydia* en *Chlamydophila*
      - Gr (-)
      - Geen peptidoglycaan (functie overgenomen door eiwitten)
      - Obligaat intracellulair (enkel vermeerdering binnen gastheercel zoals bij virussen)
    - *Spirocheten*
      - Gr (-)
      - *Leptospira*: 1 of 2 uiteinden omgebogen
- Elektronenmicroscopisch uitzicht:



- axiaal filament  
(gemodificeerde flagellen  
↳ belangrijk voor beweging)
- cytoplasma cilinder
  - plasmamembraan
  - Gr ⊖ celwand
- enveloppe cfr. kapsel

**Metabolisme en groei van bacteriën:** zeer complex, veel verscheidenheid

Chemische en fysische voorwaarden:

- Indeling op basis van stofwisseling: koolstofbron en energiebron

Alle pathogene bacteriën zijn chemo-heterotroof: koolstof- en energiebron zijn complexe organische stoffen.

Verdere indeling chemo-heterotrofe bacteriën (energie)

- Obligaat oxidatieve bacteriën → respiratie (energiebron wordt geoxideerd)
- Obligaat fermentatieve bacteriën → fermentatie
- Facultatief fermentatieve bacteriën → respiratie en fermentatie

Respiratie: elektronen overdracht

Energiebron (complexe organische molecule) → geoxideerd → elektronenacceptor ( $O_2 =$  aërobe respiratie, bv  $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energie}$ ; of anders dan  $O_2 =$  anaërobe respiratie: minder energie-opbrengst, bv  $SO_4^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow S^{2-}$  of  $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$ )

Fermentatie: geen elektronen overdracht; geen  $O_2$  nodig

Energiebron (suiker, AZ; wordt enkele keren gefosforyleerd, hierbij komt energie vrij) → fosforylatie met vrijkomen van energie → Intermediair 1 → fosforylatie met vrijkomen van energie → Intermediair 2 → → → eindproduct (organisch zuur, alcohol)

Fermentatie kan gebruikt worden voor de identificatie van de kiem (diagnose)

Vb: kalf van 3 dagen heeft diarree → meststaal → opgroeien in labo (milieu) → welke bacterie *E.coli* of *Salmonella*? Geven beide dezelfde types kolonie. Maar *Salmonella* kan geen lactose gebruiken als energiebron door fermentatie, *E.coli* wel.

- Voedingsstoffen blz 47 lezen, niet kennen

- Zuurtegraad

pH van pathogene bacteriën: 7-7.5 nodig om te kunnen vermeerderen

<4 → kapot uitz: *Mycobacterium* spp oa *M.tuberculosis*  
resistent aan zuren en alkali

Toepassing: bewaren van voedsel in azijnzuur: geen vermeerdering meer.

Diagnose TBC: neem stalen van de long, behandel dit met HCl/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/NaCl hierdoor gaan alle bacillen kapot muv *M.tuberculosis* → makkelijke isolatie.

- CO<sub>2</sub>

In de atmosfeer aanwezig aan 0.03% dit is genoeg voor bijna alle pathogene bacteriën om te kunnen vermeerderen.

Uitz: capnofiele bacteriën, deze hebben 5-10% nodig.

- *Taylorella equigenitalis*; Gr (-), Contagieuze Eguine Metritis (CEM)
- *Histophilus somni*; Gr (-), tast centraal zenuwstelsel aan van runderen.

- O<sub>2</sub>

Als O<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O terecht komt worden er toxische zuurstofradicalen gevormd: O<sub>2</sub><sup>-\*</sup>, OH<sup>-\*</sup> en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Een bacterie die in een zuurstofrijke omgeving leeft heeft dus enzymen nodig die deze zuurstofradicalen kunnen afbreken.

Indeling op basis van zuurstofbehoefte:

- Obligaat aëroben; vermeerderen graag in zuurstofrijke lucht (20%)
- Facultatief aëroben; kunnen groeien in zowel aan als afwezigheid van O<sub>2</sub> bv *E.coli*
- Micro-aërofielen; zuurstof nodig, maar in lagere concentratie dan lucht (6%) bv *Helicobacter pylori*, geeft maagzweren/kanker; *Campylobacter jejuni*, Gr(-) zit bij pluimvee in de darm, geeft diarree bij de mens.
- Obligaat anaëroben; hebben geen enzymen om zuurstofradicalen te ontgiften, bij contact met O<sub>2</sub> ofwel dood, ofwel sporevorming.

#### - Temperatuur

Minimale, optimale en maximale groeitemperatuur



Indeling op basis van groeitemperatuur:

- Psychrofielen: lage T
    - Bederven voedsel bij 4°C
    - Groeien trager
    - Belangrijk voor koudbloedieren
  - Mesofielen: ca 37°C
    - Belangrijk voor warmbloedieren (zoogdieren, vogels, etc)
  - Psychrotoleranten: lage T én 37°C
 

Bv *Listeria monocytogenes*; pathogeen voor zoogdieren en vogels, Gr (+), vrijlevend, vermeerdt ook nog bij 4°C maar trager
  - Thermofielen: hoge T
- Vocht en osmotische druk
- Liefst in isotonisch milieu voor de meeste pathogene bacteriën, als je een bacterie in gedestilleerd water plaatst gaat deze niet kapot (uitz. *Mycoplasma*) vanwege de stevige celwand, maar een bacterie zal hier niet vermeerderen
  - Halofielen leven graag in een hypertoon milieu (zevissen) en vermeerderen hier ook.
- Toepassing hypertoon milieu: bewaren voedsel (zouten, suikeren, drogen) en lyofilisatie (vaccins bewaren via vriesdrogen); invriezen bij zeer lage T, H<sub>2</sub>O onttrekken en bewaren in vacuum → onbeperkt houdbaar

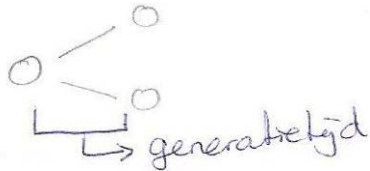
Penetratie van voedingsstoffen: blz 52/53 lezen, niet kennen.

#### Groei en vermeerdering

- Groei en vermeerdering van de cel  
Binaire deling.



- Vermeerdering populatie  
Generatietijd = de tijd tussen 2 delingen in.



De meeste pathogene bacteriën (de niet psychrofielen) hebben in een optimaal milieu een generatietijd van 15-30 minuten. Uitz: *Mycobacterium*: bv *M.bovis* (rundertuberculose) 18uur → consequentie voor de diagnose: 4-6 kweken in medium.

Soorten voedingsbodems → zie practica

**Bacteriële genetica**

Structuur en expressie van bacteriële genen (blz 60) lezen, niet kennen,  
enkel regulatiemechanisme: niet alle genen op het chromosoom/plasmiden worden  
continu tot expressie gebracht.

*Actinobacillus pleuropneumoniae* Gr(-) → tast longen varken aan. Virulentiefactoren:  
Transferrine/Hb bindende proteïnes → enkel tot expressie in Fe-arm milieu  
Bv ETEC heeft in de darm wel fimbriae en op een bloedplaat niet (heeft ze daar ook niet  
nodig)

Replicatie van het bacteriele genoom (blz 61) lezen, niet kennen

Fenotypische en genotypische variatie

Bij een fenotypische variatie (in uiterlijk) is er geen wijziging van het genetisch  
materiaal, wel van de expressie hiervan.

Bij een genotypische variatie is er wel wijziging in het genetisch materiaal

Wijziging van het genetisch materiaal

- Mutatie → overerfbare verandering in DNA-sequentie
  - fout in binaire deling
  - frequentie 1 op de  $10^5$  tot 1 op de  $10^{11}$

Vb: verworven resistentie tegen streptomycine (antibiotica; aminoglycosiden)

*E.coli* is gevoelig aan streptomycine → bindt aan kleine sub-unit ribosomen en  
interfereert met de eiwitsynthese. Tenzij er via een mutatie een verworven resistentie  
aanwezig is (freq: 1 op de  $10^8$ )

Spontane mutatie is geen probleem totdat er een selectiedruk uitgeoefend wordt.

Geen selectie:  $10^8$  *E.coli*'s waarvan 1 resistente → vermeerderen → slechts enkele  
resistente bv 4 op  $4 \cdot 10^8$  → zelfde frequentie, zo laag dat de enkele resistenten niet terug  
te vinden zijn

Wel selectiedruk: als je streptomycine toevoegt aan het milieu waarin  $10^8$  *E.coli*'s leven  
met 1 resistente. Enkel deze kan vermeerderen → 100% overblijvende = resistent →  
gevoelige populatie verdrongen door resistente.

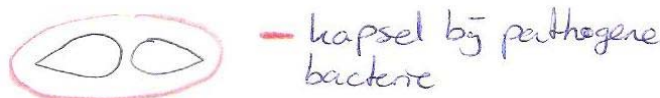
Let op: antibioticum is niet mutageen, het zorgt er enkel voor dat de (gunstige) mutaties  
overblijven.

## - Transformatie

Is een opname van naakt DNA, de acceptorbacterie moet in staat zijn DNA op te nemen  
(competente bacterie)



- Natuurlijke transformatie komt niet bij alle bacteriën voor.  
Bv *Streptococci*: verworven resistentie tegenover  $\beta$ -lactam (penicillines) Gr(+), diplococ



#### *S. Pneumoniae*:

Mens: facultatief pathogeen, behoort tot de normale microflora in de keel, onder bepaalde omstandigheden kan het longontsteking (pneumonie) of septicemie (verschillende organen aangetast na vermeerdering in bloedbaan/organen) veroorzaken.

Rund: Mastitis

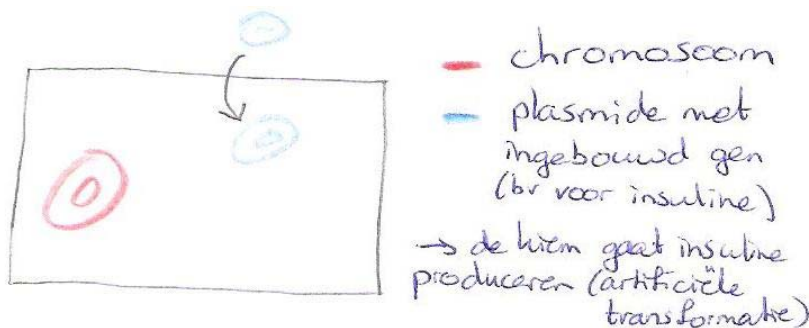
Hond/kat: Septicemie, bron van besmetting = mens

Paard: Pneumonie, bron = niet-gekend

*S. Pneumoniae* is gevoelig voor penicilline.

En bv orale *Streptococci* hebben iets andere penicilline bindende eiwitten (pbe) en zijn ook gevoelig aan penicilline. Als het gen voor pbe van de orale *Streptococci* vrijkomt na bv. lyse  $\rightarrow$  *S.pneumoniae* is een competente bacterie  $\rightarrow$  opname gen voor iets ander pbe  $\rightarrow$  gewijzigd pbe (gecodeerd door mozaïekgenen, brokstukken eigen gen en brokstukken gen van orale *Streptococci*)  $\rightarrow$  bv beide pbe's aan elkaar vast aanwezig  $\rightarrow$  penicilline kan niet meer binden  $\rightarrow$  resistent

- Artificiele transformatie

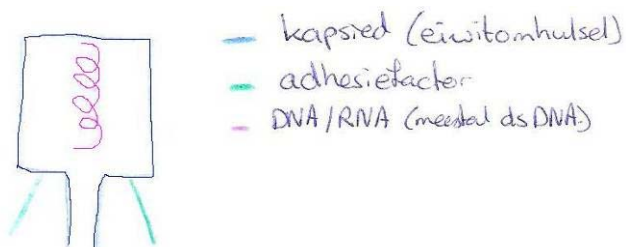


Competentie niet nodig want bv. T omlaag, electroporatie of  $\text{Ca}^{2+}$  omhoog waardoor een vreemd gen makkelijker opgenomen kan worden (perforatie celwand/plasmamembraan)

#### - Lysogene conversie

Virale genen in het genoom van de bacterie die tot expressie komen en aanleiding geven tot andere eigenschappen.

Bacteriofaag (13 families, vele genera) vnl caudovirales (met staartje) belangrijk:

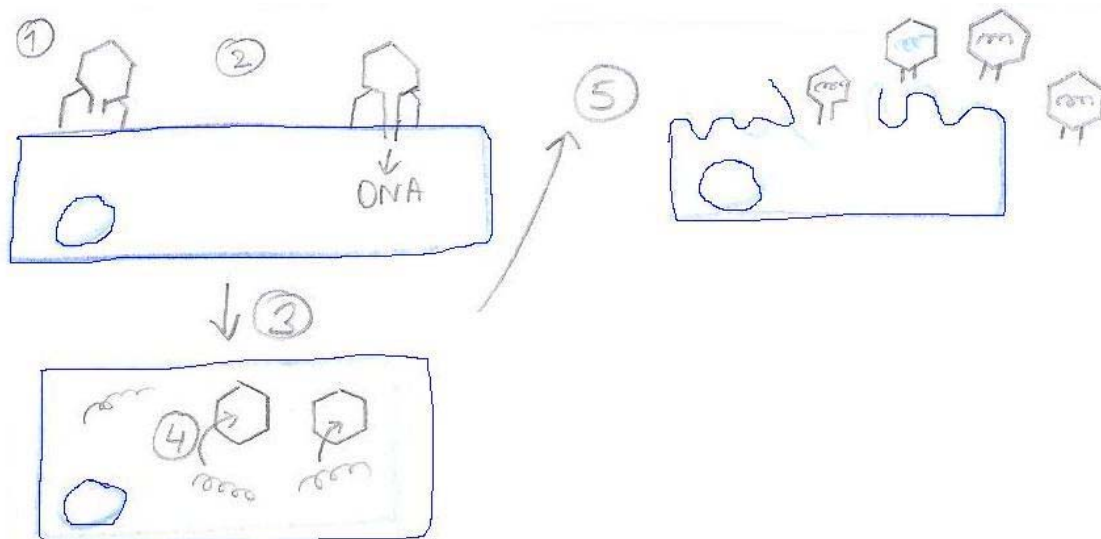


Cyclus van een faag:

Virulente faag → lytische cyclus

Getemperde faag → lytische of lysogene cyclus

Lytische cyclus:



1. adsorptie

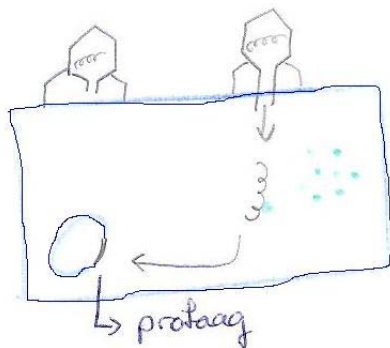
2. penetratie (door zijn 'staart') en overbrengen DNA

3. biosynthese (vorming nieuw DNA en kapsied)

4. rijping (DNA opgenomen in kapsied, dit gebeurt ongeordend, er kan bijvoorbeeld DNA van de bacterie in het kapsied terechtkomen of er kunnen lege kapsieden gevormd worden.)

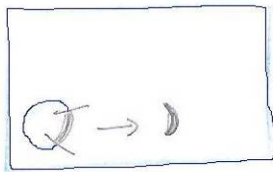
5. vrijkomen nieuwe virussen na lyse van de bacteriecel

Lysogene cyclus:

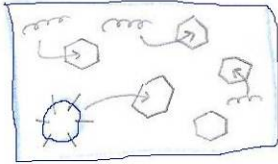


Na adsorptie, penetratie en het inbrengen van DNA worden er repressor eiwitten (groene bolletjes) gevormd waardoor er geen replicatie van virale genen en kapsied plaatsvindt.

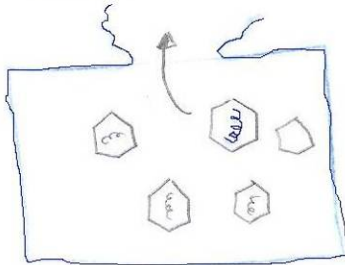
Het viraal nucleïnezuur wordt vervolgens ingebouwd in het chromosoom van de bacterie (lysogenie, lysogene bacterie). Na binaire deling (met behoud van de profaag) gebeurt er op een bepaald moment bij sommige bacteriën een verandering van de lysogene naar de lytische cyclus (zie hieronder) omdat het repressor eiwit verdwijnt. Dit is uit te lokken door UV-licht



Vrijkomen profaag



Biosynthese en rijping



Vrijkomen nieuwe virussen, lyse van de bacteriecel

Lysogenie: een profaag zit min of meer stabiel ingeplant in het bacteriële chromosoom

Defectieve fagen: de profaag kan niet meer uit het chromosoom komen.

De profaag kan coderen voor bijkomende eigenschappen (oa exotoxines) → lysogene conversie

Vb: *Clostridium botulinum* (type C en D) → exotoxines worden gecodeerd door een profaag (botulinum toxines) → botulisme (oa verlamming)

Morfologie: grote gr (+) staven die subterminaal gelegen deformerende spores vormen in een slecht milieu.

Cultuur: anaëroob, vrijlevend (bodem, waterig milieu)

Botulisme is meestal het gevolg van een intoxicatie (niet infectie) → opname van exotoxines van *Clostridium botulinum* die geproduceerd werden buiten de gastheer (in het voeder bv)

Soms toxico-infectie: exotoxine vorming in de gastheer

*Clostridium botulinum* wordt onder verdeeld in verschillende types op basis van het soort exotoxine dat ze vormen. Overzicht Type: Exotoxine A:A, B:B, C:C1 (C2 en C3 niet belangrijk maar bestaan wel), D:D, E:E, F:F, G:G

De exotoxines zijn antigenisch verschillend (ze veroorzaken geen kruisreactie/kruisbescherming) maar hebben wel allemaal ongeveer dezelfde werking.

Pathogenese: opname per os van toxine (voeder) → resorptie in de darm → bloed → motorische eindplaat → bindt aan motoneuron thv motorische eindplaat → vrijstelling acetylcholine geremd → geen spiercontractie meer → verlamming

De gevoeligheid voor de verschillende toxine types is diersoortspecifiek

Mens: vnl A, B, E

Paard, rund, schaap: vnl B, C1, D

Hond, kat: C1, niet zo frequent. Enkel na grote toxine opname doordat bv prooi besmet is

Varken: niet gevoelig

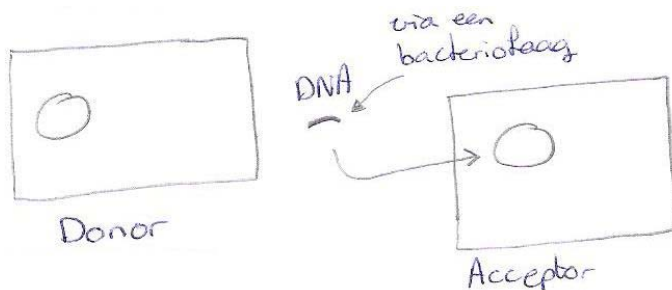
Vogels: C1, komt frequent voor (oa watervogels vnl tijdens een warme zomer)

Watervogels botulisme: vnl tijdens zomer omdat dat de T hoger is. Dit heeft tot gevolg dat de zuurstofconcentratie in het water daalt. De kiem is anaëroob dus die heeft dit liever, bovendien gaat de vissterfte omhoog bij een dalende zuurstofconcentratie. Mogelijk: kadaver heeft *Clostridium botulinum* spores in zijn darm die normaal niet ontkiemen. Nu blijven ze in het spijsverteringsstelsel zitten en door de woekering van alle kiemen in de darm, ook de aëroben en facultatief anaëroben gaat de zuurstofconcentratie sterk omlaag. Hierdoor kunnen de spores zich omvormen naar de vegetatieve vorm (staafjes) en vermeerderen in het kadaver. Bij de vermeerdering is er niet altijd toxine vorming (niet altijd expressie) Voorwaarden voor C1 vorming: anaëroob milieu, hoge T (>20°) en er moet een (dierlijke) eiwitbron aanwezig zijn → alles aanwezig in kadaver in zomer.

Als er aasvliegen op het kadaver afkomen → eitjes → maden (zeer rijk aan toxines en niet gevoelig dus niet kapot) → gegeten door watervogels → verlamming meestal vanaf caudaal naar craniaal → sterfte door verstikking (ademhalingspijpen) of verdrinking → vogel zal ook spores bevatten → weer naar vegetatieve vorm na de dood van de vogel → toxinevorming → cirkel zolang het warm blijft en de kadavers niet opgeruimd worden. De blokkade van acetylcholine is niet blijvend (ca 1 maand). Zie botox  
*Clostridium botulinum* is dus eigenlijk pas toxisch na opname van de profaag, anders is er geen exotoxinevorming.

Behandeling: de besmette dieren in leven houden tot de toxines uitgewerkt zijn (kunstvoeden met kropsonde etc), kadavers opruimen om de cirkel te verbreken, de zuurstofconcentratie in water verhogen.

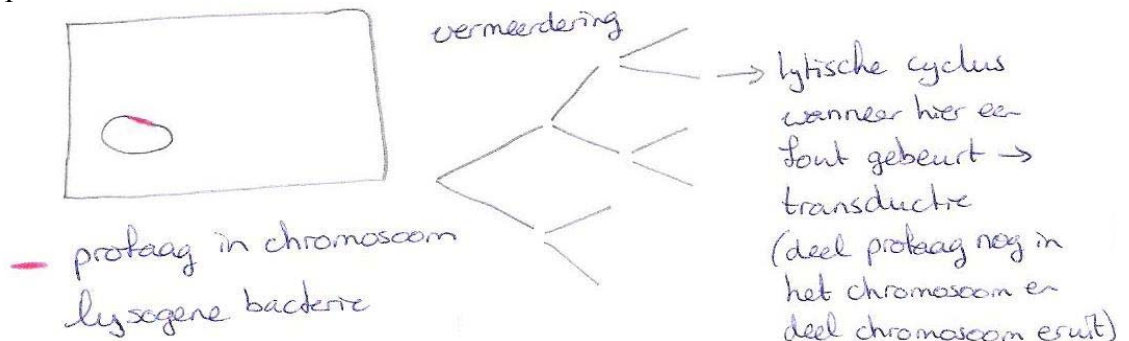
#### - Transductie



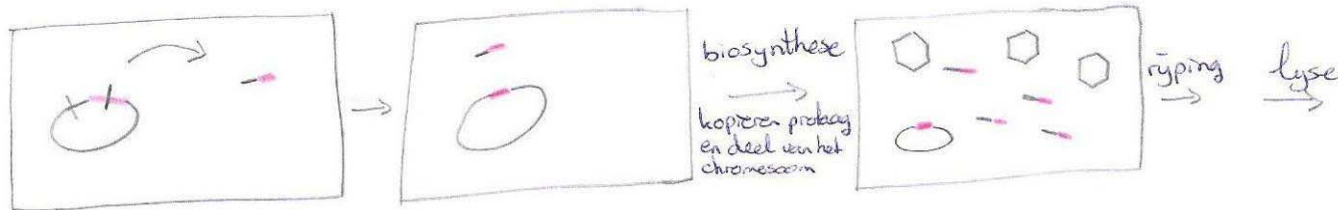
DNA wordt overgedragen van donor naar acceptor via een bacteriofaag.

2 vormen: beperkte transductie (getemperde fagen) en veralgemeende transductie (getemperde en virulente fagen)

- Beperkte:

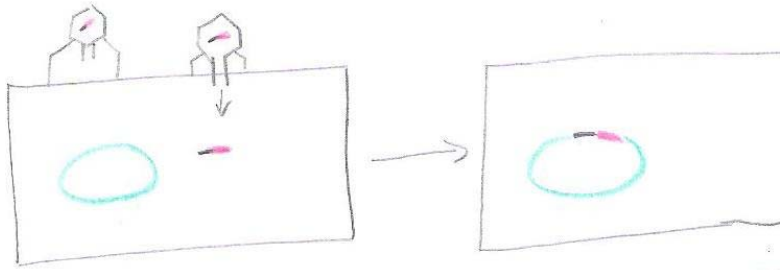


Lytische cyclus: fout in het vrijgeven van de profaag.

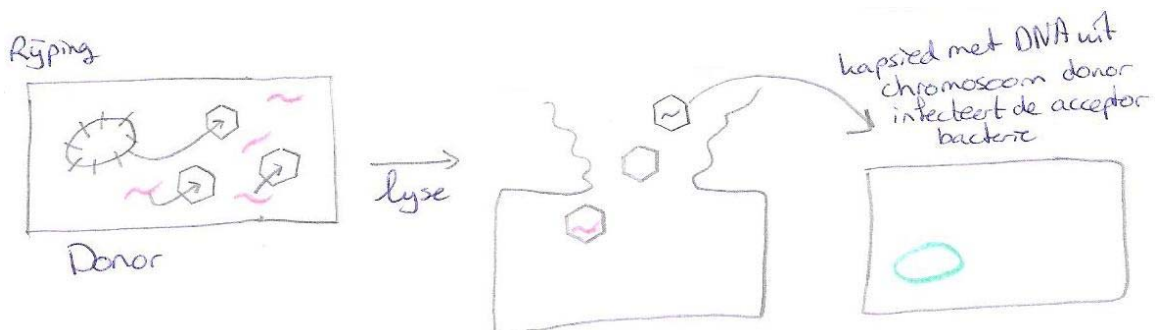


Infectie van de acceptorbacterie (zie hieronder): adsorptie, penetratie, vorming van een repressor eiwit, inbouw in chromosoom van een bacterie geeft een bacterie met gewijzigde eigenschappen (profaag + deel donorbacterie). Dit kan leiden tot een gehele populatie die resistent is.

Dit is de beperkte vorm van transductie omdat altijd dezelfde genen overgebracht worden (de genen die in de omgeving van de profaag liggen)



- Veralgemeend: tijdens de lytische cyclus een fout in de rijping. Minder efficiënt maar om het even wat kan overgebracht worden, niet slechts enkele welbepaalde genen. Adhesie, penetratie (geïnduceerd door het kapsied) maar geen vermeerdering, biosynthese en rijping maar ofwel vernietiging van het DNA door de acceptor ofwel opname in zijn chromosoom door recombinatie

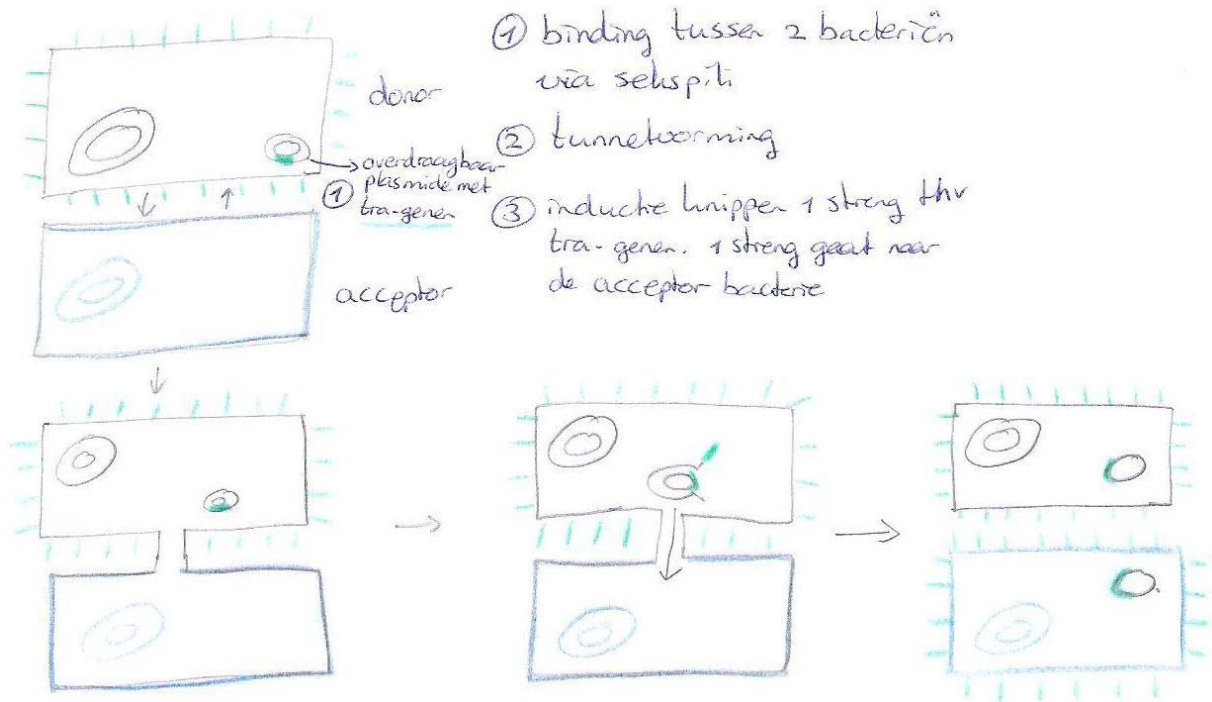


### - Conjugatie

DNA wordt overgedragen van donor naar acceptor via een eiwitunnel die de 2 bacteriën verbindt, dit is een zeer efficiënte overdracht. Er bestaan 2 vormen: via overdraagbare plasmiden en via conjugatieve transposons.

- Plasmide-gemedieerde conjugatie is verschillend bij gr (-) en gr (+), enkel de (-) wordt uitgelegd, voor (+) geldt voor het grootste deel hetzelfde systeem maar iets gewijzigd (zie cursus)

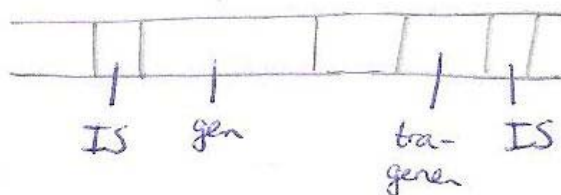
De donor bevat een overdraagbaar plasmide waar transfer-genen op liggen die coderen voor sekspili (conjugatie)



Plasmiden bevatten nog andere genen buiten de transfer-genen (oa. resistentie, virulentie), deze genen worden dus over gedragen

Mobilisatie: bacterie met overdraagbaar plasmide (codeert voor de tunnel) en een mobiliseerbaar plasmide dat mee overgedragen kan worden

- Conjugatieve transposons (op plasmide of chromosoom): nog efficiënter dan de plasmide-gemedieerde conjugatie want bij verspringen laten ze meestal een kopie achter bij de originele cel, komt zowel bij gr (-) als bij gr (+) voor. Door overspringen van deze transposons kan een niet overdraagbaar plasmide (of chromosoom) overdraagbaar worden. Gen(en) op het transposon kan bv. coderen voor resistentie en/of virulentie,



Overdracht chromosomale genen:

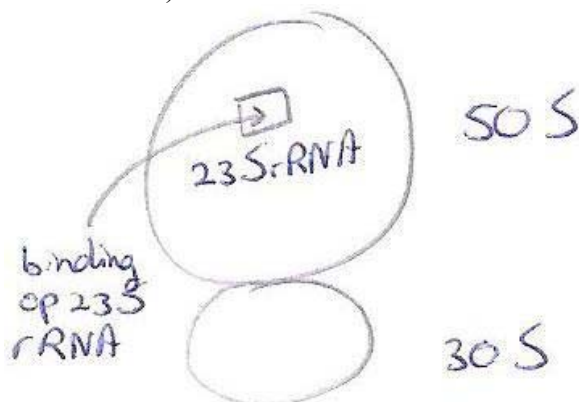
- Integratie conjugatief transposon in chromosoom
- Integratie overdraagbaar plasmide in chromosoom
- Incorporatie van chromosomale genen in plasmide

Conjugatie zorgt voor een sterke spreiding van genen tussen dezelfde soort bacterie, tussen verschillende soorten bacteriën en is mogelijk tussen gr (+) en gr (-)

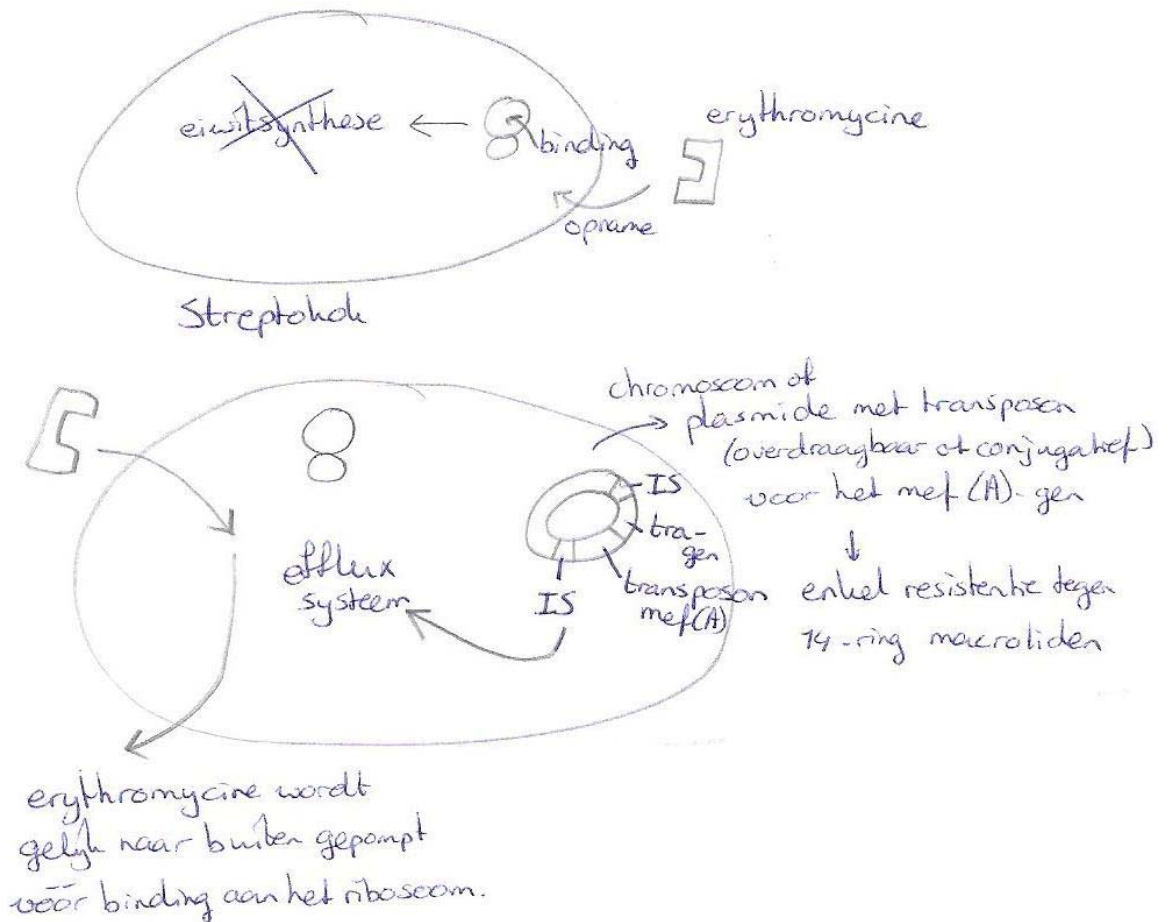
### Antimicrobiële (antibiotica) resistentie

- Definities:

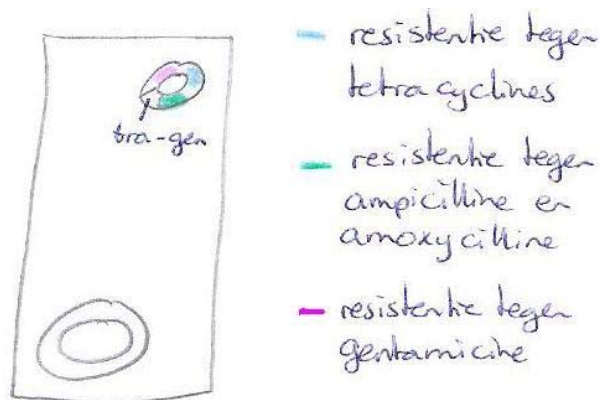
- Gevoeligheid en resistentie → zie practica
- Antibioticum en chemotherapeuticum. Beide zijn antibacterieel maar antibiotica zijn oorspronkelijk in de natuur geïsoleerd, vaak door schimmels (bacteriën) gevormd en chemotherapeutica zijn synthetisch
- MIC-waarde (= minimum inhibitorische concentratie) dit is de laagste concentratie van het antibacterieel middel dat in vitro de groei van de bacterie verhindert. Het is dus een bepaling van de gevoeligheid. Er is hier sprake van een bacteriostatisch effect (geen groei) en niet van een bactericide effect (doden bacteriën) Als de MIC-waarde 1µg/ml is wil dit zeggen dat er geen groei meer is als er 1µg/ml of meer aanwezig is. Bij minder dan 1µg/ml blijft er groei bestaan (in labo!)
- Natuurlijke antimicrobiële resistentie en verworven antimicrobiële resistentie. Natuurlijke resistentie is een kenmerk van een bacteriesoort of groep. Bv *Mycoplasma* is natuurlijk ongevoelig aan β-lactam omdat ze geen celwand bezitten. En polymyxines zijn enkel actief voor gr (-); gr (+) en *Mycoplasma* zijn natuurlijk ongevoelig omdat deze geen LPS in hun celwand bezitten. Polymyxines binden op het lipid-A deel van LPS en veroorzaken zo een verhoogde permeabiliteit door de LPS uit elkaar te duwen. Verworven resistentie omvat het ontstaan van een resistente populatie binnen een gevoelige kiemsoort door verandering van het genetisch materiaal en is dus niet te voorspellen op basis van kiemsoort.
- Kruisresistentie en multiële resistentie. Er is sprake van kruisresistentie als de bacterie een resistentie vertoont tegen antibiotica uit dezelfde scheikundige familie of antibiotica die eenzelfde doelwit hebben. Kruisresistentie is dus te voorspellen en komt oa voor tussen ampicilline en amoxicilline (belangrijk voor interpretatie antibiogram)  
Algemeen: vb macroliden (14-rings (erythromycine) en 16-rings (tylosine, tilmosine) en lincosamiden binden beiden op de grote sub-unit van de ribosomen van de kiemen. (andere antibiotica familie maar gelijkaardig mechanisme)



Bepikt: vb resistentiemechanisme van *Streptokokken* gr (+)  
 Het ERM(B)-gen (erythromycine ribosomale methylase) wijzigt doelwit (bindingsplaats 23SrRNA), kiemen die dit gen bezitten zijn resistent tegen alle macroliden en lincosamiden. (dus algemene kruisresistentie)  
 Het MEF(A)-gen (macroliden efflux systeem) zorgt enkel voor resistentie tegen 14-rings macroliden (dus beperkte kruisresistentie)



Bij multiële resistentie is een kiem resistent tegen verschillende antimicrobiële middelen waartussen geen kruisresistentie bestaat (dus geen familie of zelfde werkingsmechanisme). Dit heeft vaak te maken met overdraagbare genen/resistentie



Deze E. coli is 4x resistent  
 1x kruisresistent  
 3x niet kruisresistent (door bij verwerving plasmiden → accumulatie resistentie)

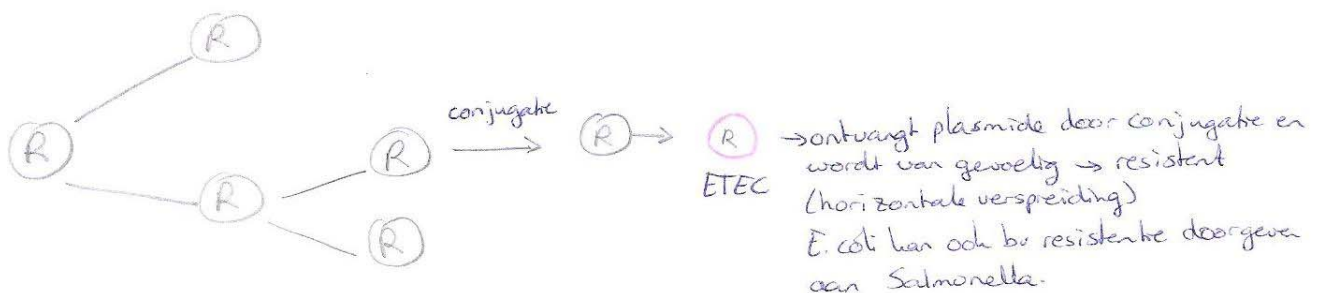
Je hebt E. coli's met resistentie genen tegen tetracycline, ampicilline/amoxycilline en gentamicine. Als je behandelt met tetracycline (selectiedruk toevoegt) blijft deze E. coli leven en vermeerderen. Hier is sprake van coselectie. Je selecteert bacteriën op resistentie tegen het ene antibioticum en deze zijn ook resistent tegen andere.

#### - Genetische basis van verworven resistentie

Door wijziging van genetisch materiaal (mutatie → fout tijdens binaire deling of overdracht resistentiegenen → transformatie/transductie/conjugatie)

Verworven resistentie door mutatie heeft meestal betrekking op chromosomale genen en is over het algemeen enkel vertikaal overdraagbaar (resistente moedercel geeft resistente dochtercellen) Er wordt een onderscheid gemaakt tussen 1-traps en meertraps resistentie naar gelang het aantal mutaties nodig in 1 gen (zowel bij 1 als bij meer traps 1 gen) voor resistentie. Meertrapsresistentie is vnl mogelijk bij een langdurige behandeling met een lage concentratie van een antibioticum

Verworven resistentie door overdracht resistentiegen heeft meestal betrekking op extra-chromosomaal DNA en kan zich horizontaal en vertikaal verspreiden



Transposons (conjugatief) bevatten vaak resistentie genen die vaak een kopie achterlaten op het oorspronkelijke transposon → sterke verspreiding resistentie genen.

Vaak multipele resistentie → co-selectie

Voor de spreiding van (verworven) resistentie is selectiedruk zeer belangrijk.

Mechanismen van verworven resistentie

- Structurele verandering doelwit

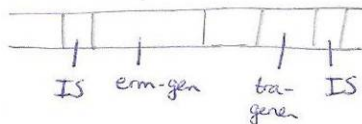
→ verhindert binding antibioticum met kiem vb.

Streptomycine (resistentie door mutatie)

*Streptococcus pneumonia* (β-lactam; resistentie door transformatie)

Macroliden (resistentie door wijziging doelwit (conjugatief transposon))

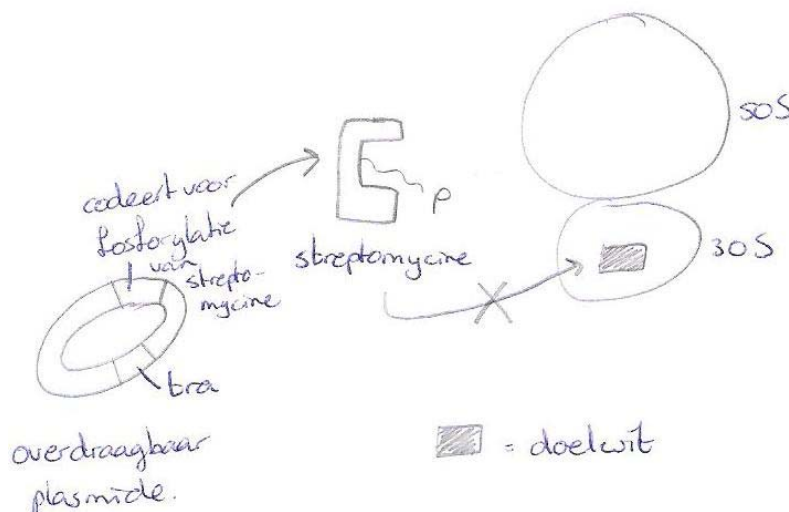
Gr (+) coccen (*streptococcus* en *staphylococcus*)



Als dit transposon verworven wordt, wordt deze kiem resistent.

Erm codeert voor een enzyme (N-methyl transferase) dat adenine residuen methyleert → wijziging bindingsplaats → kruisresistentie

- Verhoogde synthese doelwit  
→ binding blijft mogelijk maar er is een teveel aan doelwitten. Vb te lezen in de cursus, niet kennen.
- Reductie accumulatie antibioticum in bacterie  
Opname wordt verminderd terwijl de uitscheiding vermeerderd wordt (vb *Streptokokken* mef (A).)
- Alternatieve metabole stap  
Vb te lezen in de cursus, niet kennen.
- Inhibitie activatie van het antibioticum  
Vb te lezen in de cursus, niet kennen.
- Productie van enzymen die het antibioticum inactiveren  
Vb verworven resistentie tov streptomycine (wijziging doelwit door mutatie of enzymen die antibioticum inactiveren)



Bv overdraagbaar plasmide dat gen bevat dat codeert voor enzyme dat streptomycine fosforyleert en dus inactieveert.

Belangrijke groep enzymes voor resistentie tegen  $\beta$ -lactam antibiotica  $\rightarrow$   $\beta$ -lactamasen.

Dit wordt oa gevormd door

- *Enterobacteriaceae*, gr(-), oa *Salmonella* en *E.coli*  $\rightarrow$  normaal gevoelig voor amoxicilline en ampicilline tenzij deze kiemen een plasmide bevatten met het gen voor  $\beta$ -lactamase dat amoxicilline/ampicilline afbreekt.
- *Staphylokokken*, gr(+) $\rightarrow$  normaal gevoelig aan penicilline amoxicilline en ampicilline maar door bijv. een transposon/plasmide gen dat codeert voor  $\beta$ -lactamasen  $\rightarrow$  breken al deze antibiotica af.

**Invloed van fysische en chemische agentia op bacteriën – antibacteriële therapie**

Onderaan blz 88 + 89 lezen, niet kennen

Blz 90-95 Sterilisatie → zie practica, wel kennen

Antibiotica en chemotherapeutica

## - Definities

Antibiotica komen oorspronkelijk uit de natuur, gevormd door vrijlevende organismen om concurrenten uit te schakelen, maar kunnen wel gewijzigd geweest zijn of synthetisch nagemaakt. Chemotherapeutica zijn synthetische producten. Beiden hebben een selectieve werking op prokaryoten.

Therapeutische index (blz 95) lezen, globaal kennen → mogelijke bijwerkingen/toxiciteit.

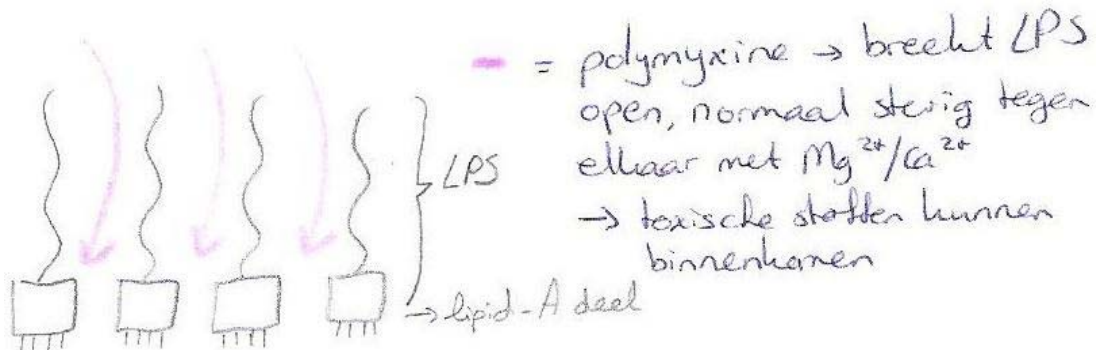
- Oorsprong van de antibiotica lezen, niet kennen

- Antimicrobieel spectrum van antibiotica en chemotherapeutica.

Antibiotica werken niet op alle kiemen, het spectrum geeft aan welke wel gevoelig zijn:

- Nauw spectrum: bv Gr (-) of Gr (+)
- Breed spectrum, werken bij zowel Gr (-) als Gr (+) maar er bestaat geen antibioticum dat op alle bacteriën werkt.

Vb nauw spectrum Gr (-): polymyxines oa colistine. Dit bindt op het lipid-A deel van LPS dat enkel aanwezig is bij Gr (-) uitgezonderd *Mycoplasmen*



Er zijn ook Gr (-) met celwand die ongevoelig zijn aan polymyxine, bv *Proteus* (otitis externa bij honden) en *Yersinia pseudotuberculosis*

Antibioticum met Gr (-) spectrum: aminoglycosiden (strepto/neo/kanamycine en gentamicine) → werkt ook op *Staphylococcus* (Gr (+))

Antibioticum met Gr (+) spectrum: penicilline. Maar werkt ook tegen Gr (-) anaëroben en *Pasteurellaceae* (gr (-)) oa: *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Mannheimia*, *Haemophilus*, *Bibersteinia trehatosi* (schapen)

- Bactericide en bacteriostatische antimicrobiële producten.

Een bacteriostatisch antimicrobieel product zal de groei van bacteriën tegengaan of remmen, maar de bacteriën kunnen opnieuw vermeerderen en groeien bij wegvallen van dit product. Een bactericide antimicrobieel product doodt de bacteriën

In de praktijk is er weinig verschil want na toediening van een statisch antibioticum werkt de afweer van de gastheer de kiemen weg na doding. Er is wel een bactericide nodig als de gastheer geen (toereikende) afweer heeft (immuñiteitsdeficiëntie of plaatsen waar de immuñiteit slecht bij kan zoals het centraal zenuwstelsel of endocard)

- Antibiotica en chemotherapeutica als geneesmiddel

→ inhiberen of doden van bacteriën met als bedoeling het doden van pathogene bacteriën  
Overvloedig gebruik (mens en dier) is nadelig. Maar gebruikt omdat ze selectief werkzaam zijn tegen prokaryoten en omdat er (nog altijd) gedacht wordt dat bacteriën schadelijke organismen zijn.

Indeling van de bacteriën:

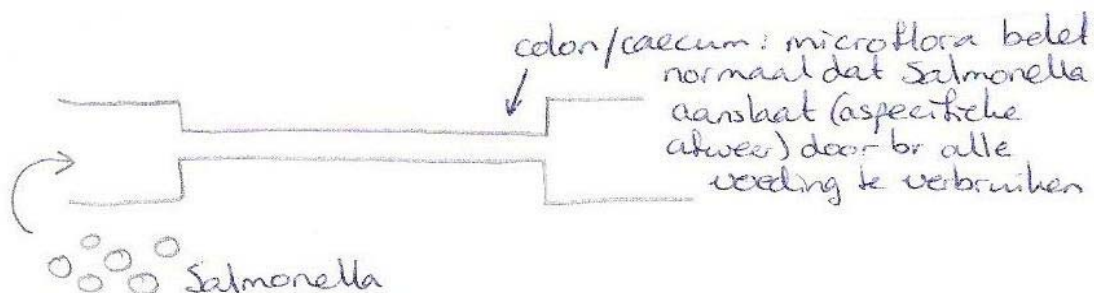
- Pathogene en niet-pathogene kiemen (de meesten zijn niet pathogeen)
- Vrijlevende en symbiotische kiemen Vrijlevende kiemen leven in de omgeving (bodem/water), de meesten hiervan zijn niet pathogeen. Uitz. *Clostridium botulinum* en *Clostridium tetani*. De symbiotische kiemen zijn aangepast aan gastheren (hogere organismen)

Symbiotisch:

- Mutualisme → de bacterie is bijna noodzakelijk voor de gastheer. Vb pensbacteriën of bacteriën in caecum paard/konijn.
- Commensalisme → meest voorkomend: de kiem is niet nodig maar wel nuttig voor de gastheer. Vb meeste bacteriën van de microflora/biota → kunnen facultatief pathogeen zijn.
- Parasitisme → nadelig voor de gastheer → pathogeen

Facultatief pathogeen: pathogene kiemen die tot de normale microflora kunnen behoren, in tegenstelling tot obligaat pathogenen.

vb *Mannheimia haemolytica* die normaal in de tonsillen voorkomt kan migreren naar de long (oiv stress, virale infectie, *Mycoplasma bovis* infectie → *M.bovis* vernielt de trilharen in de luchtwegen en heeft een negatief effect op de macrofagen en neutrofielen, hierdoor heeft *M haemolytica* een grotere kans om in de longen te komen), omgeving (bv NH<sub>3</sub>...) In de long veroorzaakt deze kiem pneumonie.



Salmonellose:

*S. Enteritica* bij pluimvee maar ook pathogeen bij de mens als er sprake is van een grote opname.

Serotypes oa. *S. Enteritica* Enteritidis → eendagskuikens worden bij 1 tot 10 kolonievormende eenheden al ziek (de *Salmonella* slaat snel aan in de dd en DD want er is nog geen microflora aanwezig.)

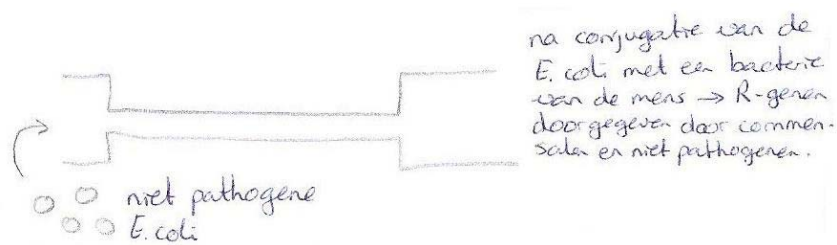
→ kuikens van 3 weken oud: pas bij  $10^6$  kolonievormende eenheden symptomen aanwezig (of bij minder als de microflora verstoord is)

- Nadelen van het gebruik van antibiotica en chemotherapeutica

- Niet selectief tussen pathogene en niet pathogene bacteriën → floraverstoring mogelijk → oa *Salmonella* kan sneller aanslaan  
Hoe breder het spectrum hoe slechter omdat dan meer bacteriën beïnvloedt worden.
- Grotere spreiding resistentie door selectiedruk (mens en dier)
  - Pathogene kiemen
  - Commensale microbiota (kunnen een reservoir vormen van resistentie genen die door gegeven kunnen worden aan pathogene kiemen)
 Bij groepsmedicatie is er meer spreiding van resistentie dan bij individuele therapie

- Gevolgen van antibiotica resistentie bij bacteriën van dieren:

- Kan interfereren bij de behandeling → minder antibiotica mogelijkheden om de kiem te bestrijden
- Spreiding resistentie in het milieu
  - ✓ Bacteriën die resistent zijn kunnen in de omgeving terecht komen via oa faeces en hier hun resistentiegenen aan andere bacteriën doorgeven
  - ✓ (vnl bij groepsmedicatie) het antibioticum kan in het milieu terechtkomen door uitscheiding, drinkwatermedicatie of behandeling van vijvervissen. Hierdoor kunnen omgevingsbacteriën ook te maken krijgen met selectiedruk.
- Spreiding resistentie van dier naar mens
  - ✓ Commensale microbiota → als (tijdelijke) kolonisatie



Maar de resistentiegenen stijgen voornamelijk door antibiotica behandelingen bij de mens zelf.

Zoönotische kiem: *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* (voedselinfecties)

- Direct effect

Je geeft antibiotica aan een dier → je selecteert op resistentie bij de kiemen van dit dier. Wanneer dit zoönotische kiemen zijn kan de mens besmet raken met resistente bacteriën → moeilijk te behandelen. (normaal antibioticum: macroliden of fluoroquinolones (remt DNA-synthese bacterie))

Vb *Campylobacter jejuni* komt vnl voor bij pluimvee maar is niet pathogeen → veel dragers in darm.



ileum + DO → enteritis → diarree

Als *C.jejuni* de mens infecteert, (besmetting via rauw kippenvlees, fecale verontreiniging in slachthuis, risico bij barbeque of slechte hygiëne in de keuken → kruiscontaminatie) kan dit leiden tot diarree, eventueel algemene symptomen. Symptomen en/of complicaties zijn afhankelijk van de infectiedruk, virulentie bacteriestam, afweer gastheer. Meestal ontstaat er 1 week ziekte en is er geen behandeling nodig tenzij er complicaties optreden zoals uitzaaiing naar andere organen via de bloedbaan, dan is er een antibiotica behandeling nodig.

YOPI zijn meestal vatbaarder (Young, Old, Pregnant, Immunosuppressive)

Bij pluimvee word er vaak enrofloxacin (fluoroquinolone) gebruikt, hierdoor worden resistente *C.jejuni* geselecteerd. Als de mens besmet met deze *C.jejuni* kiemen → geen behandeling met fluoroquinolones meer mogelijk.

- Indirect effect

Overdracht resistentie genen van dierlijke naar menselijke kiemen.

Wanneer *Salmonella* aanslaat kan er eventueel conjugatie optreden met menselijke bacteriën en kunnen er resistentie genen doorgegeven worden.

Blz 101-103 conclusies lezen, enkel kennen wat in de les gezien is

Faagtherapie als een alternatief voor antibioticatherapie

In plaats van antibiotica om een bacteriële infectie te behandelen → lytische (gastheerspecifieke) fagen gebruiken.

Voordelen: - gastheerspecifiek → gunstig in verband met de microflora  
- meestal relatief resistent in de omgeving  
- vermeerderen in de kiem → beperkte toediening genoeg

Nadelen lezen in de cursus

Niet onmiddellijk toepasbaar maar in de toekomst wellicht goed bruikbaar.

Wel al succesvol gebruikt bij karkasbehandeling.

## Pathogenese van bacteriële infecties.

### Vrijlevende en symbiotische bacteriën

Obligaat symbiotisch → kunnen alleen op de gastheer vermeerderen bv *Actinobacillus pleuropneumoniae* (is net als alle andere *Pasteurellaceae* niet resistent in de omgeving, kan hooguit enkele weken overleven) en *Salmonella enterica* (is wel resistent in de omgeving, kan tot 6 jaar overleven in faeces.)

Facultatief symbiotisch → kunnen zowel op een gastheer als in de omgeving vermeerderen bv *Clostridium tetani* en *Listeria monocytogenes*

### Pathogene en niet pathogene bacteriën

De meeste bacteriën zijn niet pathogene bacteriën, deze veroorzaken geen ziekte.

Obligaat pathogenen → veroorzaken niet altijd ziekte (symptomen) maar behoort niet tot de normale microflora, deze bacteriën veroorzaken altijd exogene infecties, vb TBC-kiemen, *Listeria monocytogenes*

Facultatief pathogenen → kunnen tot de normale microflora behoren maar onder bepaalde omstandigheden ziekte veroorzaken. Deze bacteriën kunnen zowel een exogene als een endogene infectie veroorzaken vb *Mannheimia haemolytica* is normaal aanwezig in de tonsillen, maar onder invloed van predisponerende factoren kan deze kiem zich naar de longen begeven en daar ziekte veroorzaken (endogene infectie) Deze kiemen kunnen uitgescheiden worden en andere kalveren besmetten (exogene infectie) (on)gebalanceerde pathogeniciteit (blz 108 en 109) lezen, niet kennen.

### Intredepoorten lezen, niet kennen

### Pathogenese van bacteriële infecties

- Definities: subklinisch → zonder symptomen. Incubatieperiode → tijd tussen de infectie en het verschijnen van klinische symptomen.

- Hoe veroorzaken bacteriën ziekte?

- Invasie → vermeerdering gebeurt in weefsels van de gastheer en veroorzaken schade.
- Toxine vrijstelling

Meestal is er sprake van toxico-infecties waarbij beide aanwezig zijn.

- ✓ Pathogenese van ziekten veroorzaakt door bacteriën die een invasief vermogen bezitten.

Indeling:       - extracellulair  
                   - facultatief intracellulair  
                   - obliqaat intracellulair

- extracellulair: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, gr (-): bevat een kapsel dat fagocytose verhindert en vormt APX-toxines (exotoxines) die inwerken op macrofagen en neutrofielen → toxico-infectie.

- facultatief intracellulair: na fagocytose door macrofagen wordt de kiem niet vernietigd, en er is zelfs vermeerdering mogelijk. (niet bij neutrofielen)

- vb: *Mycobacterium* (para)TBC, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Brucella* (oa. abortus), *Yersinia pseudotuberculosis* (volierevogels), *Rhodococcus equi* (longabcessen veulens < 6 mnd)
- obligaats intracellulair: vb *Chlamydia*, *Rickettsia*
  - blz 113 lezen, niet kennen
  - blz 114 lezen → komt terug bij afweer gastheer
- ✓ Pathogenese van ziekten veroorzaakt door bacteriën die toxines produceren.
- exotoxines: zijn bacteriële metabolieten gevormd in het cytoplasma die vrij kunnen komen via excretie (actief) of bij lyse/sporevorming (*Clostridia*). Voornamelijk eiwitten met een hoog moleculair gewicht → goede antigenen, uitzondering: ST enterotoxine van ETEC (polypeptide met een laag moleculair gewicht).
  - Wanneer je exotoxines behandelt met bv formol krijg je een anatoxine (antigeniciteit blijft maar toxiciteit verdwijnt = toxoïed vaccin)
  - toxische bestanddelen van de celwand → is een afweerreactie van de gastheer op celwandcomponenten (innate afweer, schadelijk op grote schaal)
    - Gr (-) = endotoxines = LPS, lipid-A deel dat hittestabiel is → na verwarmen is de kiem dood, maar LPS blijft → afweerreactie blijft.
    - Gr (+) = lipoteichoïnezuren en peptidoglycaan.
  - LPS werkt oa in op macrofagen met toll-like receptoren → herkennen LPS → macrofagen vormen cytokines (ongunstig als teveel) en complement activatie → ontsteking → vasodilatatie, verhoging permeabiliteit → kan shock veroorzaken.
  - De toxische bestanddelen van de celwand induceren algemene symptomen (koorts etc) en eventueel shock en sterfte.
  - Blz 116 indeling op basis van activiteit lezen, niet kennen
  - blz 118-121 lezen, niet kennen

#### - Biofilms

Bacteriën bestaan in vrije vorm (planktonische vorm → belangrijk voor verspreiding van de kiem) en in sessiele vorm ('zittende vorm' → vaak in biofilms → belangrijk om zich op 1 plaats in stand te houden.)

Biofilm = populatie van bacteriën (1 of meerdere soorten, eventueel met fungi) vast op een oppervlakte (levend of niet-levend) ingesloten in slijm dat ze zelf produceren bestaande uit polysacchariden en eiwitten.

Belang: afweer gastheer minder efficiënt (minder complement activatie, antistoffen kunnen de kiem niet bereiken, minder activiteit macrofagen en neutrofielen), lokale schade door massale afweerreacties, vrijstelling kiemen uit biofilm → uitzaaiingen + periodieke opflakkingen ziekte (bacteriën die vrijkomen zijn minder gevoelig aan afweer), resistenter tegen ontsmetting, minder gevoelig aan antibiotica, persisteren van de bacterie in de gastheer want moeilijk op te ruimen, persisteren in omgeving (obligaat symbiotische kiem resistenter in de omgeving als omgeven door een biofilm)

#### - Pathogenese van tetanus

Veroorzaakt door *Clostridium tetani*, een exotoxigene bacterie (cfr botulisme). Er wordt een toxine in de gastheer gevormd. En veroorzaakt een kramptoestand van de dwarsgestreepte spieren die uiteindelijk leiden tot verstikking (diafragma kramp)

Komt voor bij alle zoogdieren maar niet allen zijn even gevoelig, paard, schaap, geit en mens zijn zeer gevoelig → vaccinatie met toxoïed vaccin. Kat, hond, rund en varken zijn minder gevoelig.

Het belangrijkste toxine is tetanospasmine dat veelal als basis dient voor het vaccin.

Vaccinatie gebeurt parenteraal (subcutaan of intramusculair), en wordt meestal herhaald met enkele weken tussen.

Als zeer gevoelige dieren een wonde krijgen, of bij een moeilijke partus, een navelinfectie of chirurgie moeten ze behandeld worden met penicilline. Bovendien moet bij gevaccineerde dieren de vaccinatie herhaald worden om zo meer antistoffen aan te maken. Niet gevaccineerde dieren moeten subcutaan een antiserum ingespoten krijgen dat rijk is aan antistoffen tegen tetanospasmine.

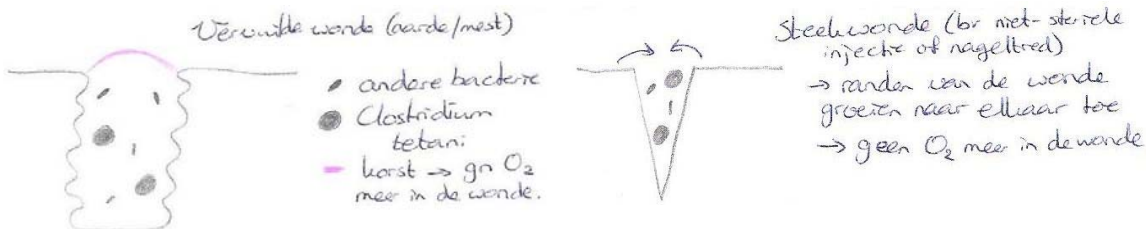
Bv een veulen van een gevaccineerde merrie (rappel tijdens dracht) krijgt maternale antistoffen via het colostrum. Een veulen van een niet gevaccineerde merrie kan besmet worden via de navel en moet je een antiserum geven.

Etiologie: *Clostridium tetani*, gr (+), anaëroob, exotoxineproducerend, sporevorming (zeer resistent) terminaal deformerend,



facultatief symbiotisch (zit oorspronkelijk vrijlevend in de bodem), kán als passant in het spijsverteringsstelsel komen (meestal als spore) → faeces → geen belangrijke bron van infectie voor anderen, dus geen isolatie nodig. Paard kan mensen infecteren maar is niet de belangrijkste infectie bron voor de mens zoals vaak wel beweerd.

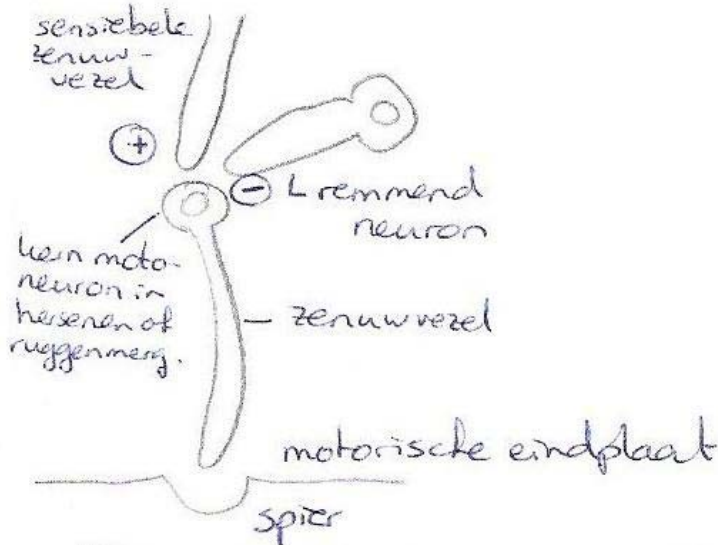
Pathologie: de kiem komt binnen via een wonde (bevuilde wonde of steekwonde)



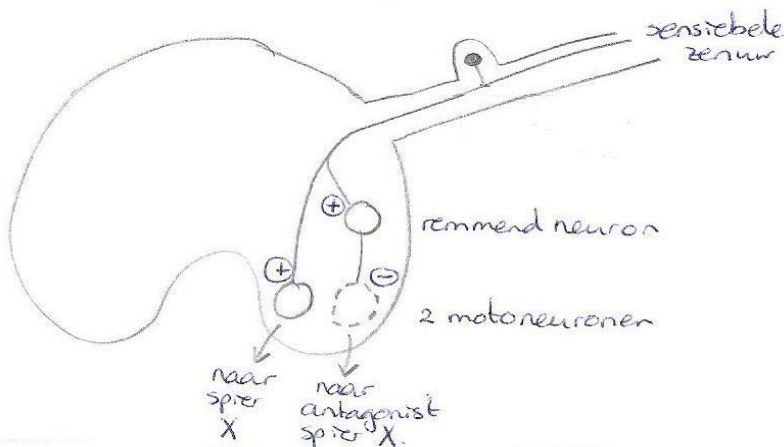
of na een navelinfectie (navel blijft open) → kunnen spores van *Clostridium tetani* in terechtkomen maar ook andere bacteriën → menginfectie. Na een menginfectie kunnen (facultatief) aëroben zich in de wond gaan vermeerderen waardoor de zuurstofspanning verlaagt, spores van *Clostridium tetani* kunnen nu ontluiken en vermeerderen in de wonde waarna de vegetatieve kiemen kunnen lyseren of spores kunnen vormen. Na lyse worden er toxines vrijgegeven (vnl tetanospasmine dat een goed antigeen is)

Het exotoxine kan in de bloedbaan of via zenuwvezels migreren naar het ruggenmerg of hersenstam. Kiem en spores blijven in de wonde. Er is dus geen sprake van septicemie of bacteremie maar toxinemie. In het ruggenmerg en hersenstam worden synapsen van

remmende neuronen geblokkeerd waardoor een continue excitatie van de spieren ontstaat  
→ kramp.



In de ventrale hoorn van het ruggenmerg of in de hersenstam liggen de kernen van motoneuronen die naar dwarsgestreepte spieren lopen. Wanneer deze zenuwvezel gestimuleerd wordt komt er acetylcholine vrij thv de motorische eindplaat en contraheert de spier. Bij stimulatie van de sensiebele zenuwvezel komt er acetylcholine vrij thv de kern van het motoneuron, hierdoor komt er weer acetylcholine vrij thv de motorische eindplaat en contraheert de spier. Remmende neuronen geven remmende transmitters vrij bij stimulatie, oa glycine (in hersenen) en  $\gamma$ -aminoboterzuur. Normaal is er een evenwicht aanwezig tussen de sensiebele zenuw en het remmende neuron. *Clostridium tetani* bindt aan de uiteinden van remmende neuronen waardoor deze de zenuwvezels niet meer remmen, de zenuwen worden dus continu gestimuleerd door continu vrijstellen van acetylcholine door de sensiebele zenuwvezels. De spieren contraheren dus continu (kramp/spasmen)  
(Het toxine in geval van botulisme veroorzaakt verlamming doordat er geen acetylcholine meer wordt vrijgesteld)



Spier X en zijn antagonist mogen nooit tegelijk samentrekken, dit wordt geregeld doordat er wanneer de sensiebele zenuw geprikkeld wordt er ten eerste de motoneuron van spier

X gestimuleerd wordt (acetylcholine) en ten tweede het remmende neuron van de antagonist gestimuleerd wordt (acetylcholine) waardoor deze de motoneuron van de antagonist remt (glycine/  $\gamma$ -aminoboterzuur)

In geval van binding van *Clostridium tetani* aan het remmend neuron wordt de antagonist van spier X niet geremd en kan deze dus tegelijkertijd samentrekken.

Klinische symptomen: stijfheid, bij paarden: verminderde voedselopname en een verschijning van het 3e ooglid wanneer je de kop van het paard naar boven brengt, opengesperde neusgaten en gespitste oren. Ook wordt de staart te hoog gedragen.

- Pathogenese van salmonellose

Salmonellose komt voor bij zoogdieren en vogels, het is een toxico-infectie en facultatief intracellulair.

Etiologie: *Salmonella enterica* subspecies *enterica*, Gr (-), *Enteriobacteriaceae*, verdere indeling in ca 4000 serotypes op basis van O-antigenen (LPS fractie celwand), K-antigenen (kapsel) → Vi (virulentie) antigenen genoemd bij *Salmonella*. Serotype Typhi (typhus) heeft een kapsel, de meeste andere niet, daarom worden de kapselantigenen virulentie antigenen genoemd, en H-antigenen (flagellen) = eiwit.

Serotypes worden benoemd met een combinatie van cijfers en letters en de belangrijkste krijgen een naam: Typhimurium, Enteritidis, Dublin, Typhi.

Kiem-gastheer interacties:

- obligaat symbiotisch, resistent, ook aan uitdroging, kan tot 6 jaar overleven in mest en is na uitdroging minder gevoelig aan verhitting, wel gevoelig aan ontsmettingsmiddelen.
- Virulentie variabel per serotype
- niet in normale microflora → obligaat pathogeen.

Pathogene serotypes: - strikt gastheer specifieke → infecteren slechts 1 gastheer

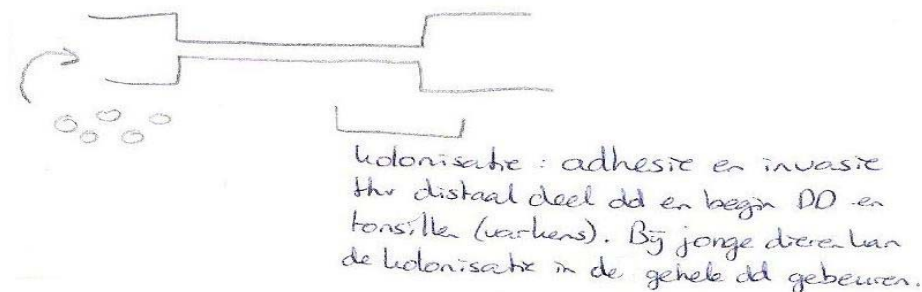
Vb *Salmonella* Typhi (mens), *Salmonella* Pullorum (pluimvee)

- gastheer geadapteerde → infecteren voornamelijk 1 gastheer maar kunnen occasioneel naar andere. Vb *Salmonella* Dublin (vnl rund, kan ook bij mens → meer pathogeen dan infectie door een niet gastheer specifieke stam) *Salmonella* Typhimurium varitas Copenhagen (vnl stammen bij duiven, kan ook bij muizen, mens niet gevoelig) (deze stam mist bepaalde O-antigenen)

- niet gastheer specifieke → dit is een grote groep. Vb *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Typhimurium varitas Copenhagen (zelfde serotype maar andere stammen dan bij gastheer geadapteerde stam), *Salmonella* Enteritidis.

Als duiven niet meer vliegen kan dit veroorzaakt worden door *Salmonella* Typhimurium, hierbij is vnl de elleboog aangetast, of door *Streptococcus gallolyticus* (gr (+)), dit tast vnl de schouder aan.

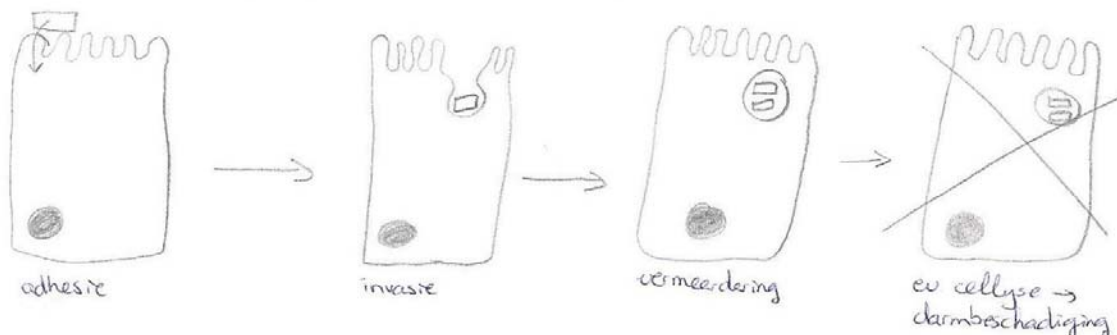
Pathogenese: de kiem is facultatief intracellulair en wordt dus niet steeds vernietigd na opname door macrofagen. Verloop van de infectie: opname per os (eventueel inhalatie of een andere manier), vervolgens kan een intestinale fase en systemische fase voorkomen.



Kolonisatie: afhankelijk van

- kiemfactoren (infectiedruk, virulentie van de stam)
- gastheerfactoren (toestand normale darmflora, indien deze onderdrukt is (na bv antibiotica therapie, voedselverandering, vasten, jonge dieren < 2 weken) slaat *Salmonella* sneller aan door oa vrije bindingsplaatsen op de enterocyten; bij mindere peristaltiek slaat *Salmonella* beter aan (vasten); bij een hogere pH of mindere invloed van de lage pH in de maag slaat *Salmonella* beter aan (voedselinvloed mens: indien *Salmonella* in vet opgenomen beschermt dit vet *Salmonella* tegen een lage pH waardoor *Salmonella* beter kan overleven, varken: korrelvoeding biedt ook bescherming tegen de zure pH); en bij stress of onderdrukte immuniteit slaat *Salmonella* ook beter aan)

Invasie van *Salmonella* in de enterocyt



Effectorproteïnes zorgen ervoor dat *Salmonella* opgenomen wordt in een vacuole en zetten enterocyten aan tot vorming van chemotactische stoffen die neutrofielen aantrekken → bescherming darm → diarree. Maar deze neutrofielen kunnen *Salmonella* fagocyteren wat niet gunstig is voor de kiem. Bij gastheer specifieke en geadapteerde kiemen worden er minder chemotactische stoffen geproduceerd.

Hoe acuter de infectie hoe meer necrotische letsels in de darm aanwezig zijn, bij een tragere infectie vinden we meer hemorrhagische letsels in de darm.

Intestinale fase:

- diarree
- darmbeschadiging
- algemene symptomen (want het endotoxine kan in de bloedbaan terechtkomen)

De invasie kan tot in de lamina propria komen alwaar de kiemen opgenomen kunnen worden door macrofagen, maar de kiem is facultatief intracellulair en kan hierin zelfs nog vermeerderen.

Systemische fase: - verspreiding via bloedbaan (kan bloedvaten aantasten en necrose van de extremiteiten veroorzaken) naar intra- en extracellulair

Symptomen en letsels hangen af van de gastheerspecificiteit van de kiem.

- endotoxine-effecten: algemene symptomen, shock, sterfte
- orgaanlokalisaties

De niet gastheerspecifieke kiemen geven voornamelijk enteritis met als gevolg diarree en algemene symptomen

De gastheerspecifieke en geadapteerde kiemen geven septicemie en orgaanlokalisaties met als gevolg orgaanletsels en algemene symptomen.

Kalf geïnfecteerd met *Salmonella* Typhimurium varitas Copenhagen: diarree met algemene symptomen.

Kalf geïnfecteerd met *Salmonella* Dublin: niet altijd diarree, maar vnl longsymptomen (eventueel arthritis etc)

Koe geïnfecteerd met *Salmonella* Typhimurium varitas Copenhagen: diarree met algemene symptomen.

Koe geïnfecteerd met *Salmonella* Dublin: abortus bij dracht, uiersymptomen (subklinische mastitis, enkel stijging celgetal). De kiem kan langdurig persisteren in de uier (melk) → infectie mens/kalf. Pasteurisatie doodt de kiem.

Een *Salmonella* Dublin infectie bij de mens is zeldzaam en geeft pathologiën in organen. Zoönotisch aspect: vnl niet gastheerspecifieke en sommige gastheergeadapteerde kiemen kunnen een zoönose veroorzaken. De gastheergeadapteerde kiemen slaan moeilijker aan maar zijn ernstiger wegens hun orgaanlokalisaties.

Gastheerspecifieke kiemen kunnen natuurlijk geen zoönose veroorzaken.

**Afweer tegenover bacteriële infecties**

Natuurlijke resistentie: niet alle bacteriën kunnen alle diersoorten infecteren → natuurlijke resistentie tegenover bacteriën is mogelijk

Aspecifieke afweer: werkend tegenover meerdere bacteriën en een voorafgaand contact met de bacterie of antigenen is niet vereist

Specifieke afweer: gericht tegen 1 bacterie (of meerdere die antigenisch verwant zijn), opgebouwd na contact met de bacterie of haar antigenen

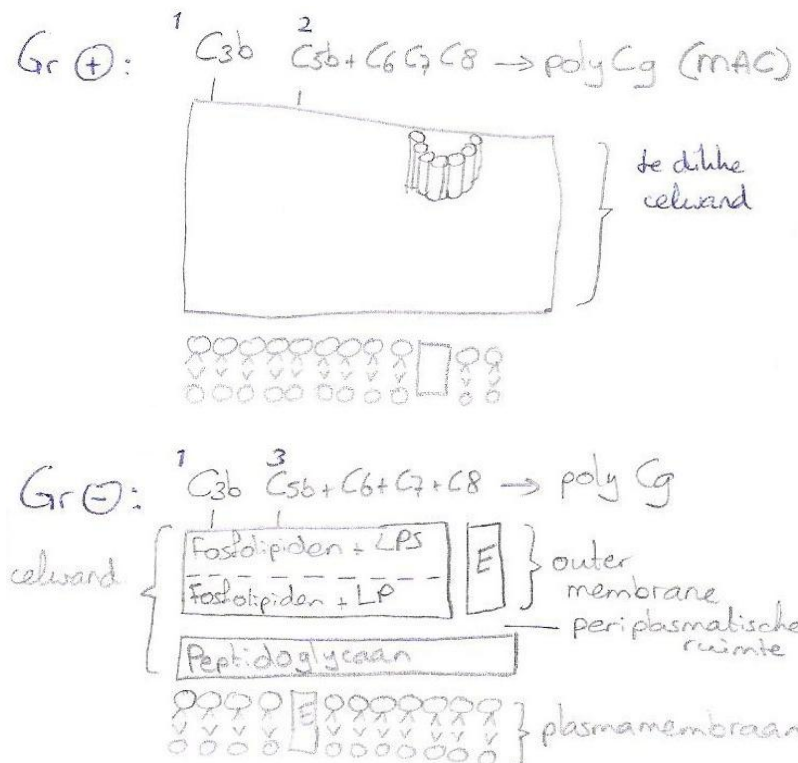
Aspecifieke afweer tegenover bacteriën

- biologische factoren → microbiota
- fysische mechanismen → spoeling darm, keratinisatie
- chemische mechanismen → lactoferrine, lysozyme
- cellulaire mechanismen → fagocyten

## - Aspecifieke inwendige afweer

## ✓ Humorale factoren:

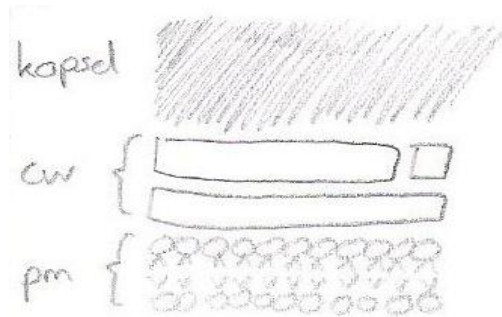
- Lysozyme: enzyme thv epithelia en in de bloedbaan dat peptidoglycaan afbreekt en dus goed werkt tegen gr (+) uitz. *Staphylokokken* en *Streptokokken*, hun peptidoglycaan is niet gevoelig. Lysozyme werkt minder tegen gr (-) want hun peptidoglycaan wordt afgeschermd door de outer membrane en lysozyme werkt ook minder tegen bijzondere gr (+) zoals *Rhodococcus equi* en *Mycobacterium* door het lipiderijke deel boven het peptidoglycaan.
- Transferrine in de bloedbaan en lactoferrine in epithelia: zijn ijzerbindende proteïnen die ijzer capteren zodat dit niet beschikbaar is voor bacteriën.
- Complement systeem: Een cascade systeem van pre-enzymes (niet actieve enzymen in bloedbaan) die elkaar activeren. Activatie mogelijk via de klassieke weg (antistof-antigeen binding + lipid A + lipoteichoïnezuren) → specifieke afweer of via de alternatieve weg → aspecifieke weg Enkel het resultaat van de weg kennen, de weg zelf niet → vernietiging.
  - Oponisatie: C3 → C3a + C3b. C3b is het actief enzym dat bindt aan de oppervlakte van de bacterie waardoor deze bacterie makkelijker te fagocyteren is door macrofagen omdat deze C3b-receptoren hebben. Na fagocytose volgt meestal het doden van de kiem.
  - Lyse via membrane attack complex. C3b activeert C5 → C5a + C5b. C5b bindt aan de bacterie en bindt C6, C7 en C8. Dit complex polymeriseert C9. Poly C9 vormt een porie door de celwand.



- Ontsteking via ontstekingsmediatoren: nevenproducten oa C3a en C5a zijn anafylatoxines, deze werken in op mastcellen, heparine vrijstelling → vasodilatatie, verhoogde permeabiliteit, bij massale vrijstelling zal de bloeddruk dalen en kan er eventueel shock en sterfte ontstaan. Bovendien worden er chemotactische stoffen vrijgesteld die fagocyten aantrekken oa C5a dat neutrofielen aantrekt, hierdoor worden de kiemen gefagocyteerd, nadeel is weefseldestructie door zuurstofradicalen en katalytische enzymen.

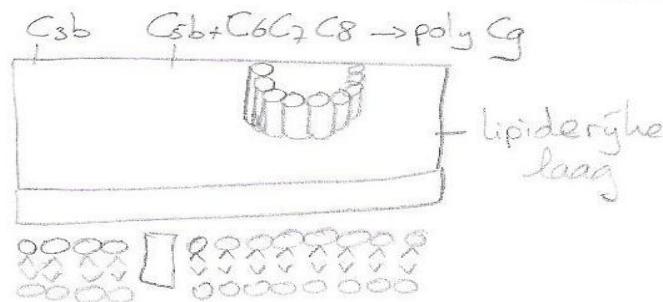
Bacteriën kunnen aan het complement systeem ontsnappen door virulentiefactoren:

- Kapsel, mogelijkheden zijn een camouflagekapsel (dun kapsel dat siaalzuur bevat dat typisch is voor eukaryoten, waardoor de kiem niet herkend wordt als vreemd er geen complementactivatie is en dus geen lyse, geen opsonisatie en geen ontstekingsmediatoren) of een schildkapsel (dik kapsel waardoor MAC te kort is om een porie te vormen in de celwand, geen lyse, wel ontstekingsmediatoren en wel opsonisatie)



- LPS bij gr (-) hebben hetzelfde effect als een schildkapsel, de polysacchariden zijn te lang zodat de MAC niet door de outer membrane bij het lipid-A en peptidoglycaan komt. Wel opsonisatie en ontstekingsmediatoren, geen lyse.
- Secretie van complement activerende eiwitten: C3b bindt op deze eiwitten in plaats van op de bacterie zodat het eiwit vernietigd wordt door poly C9, dit betekent een uitputting van het complementsysteem. Geen opsonisatie en lyse van de bacterie maar wel ontstekingsmediatoren door de eiwitten.
- Facultatief intracellulaire bacteriën (bv *Rhodococcus equi*)  
*R. equi* is een gr (+) met een speciaal type celwand (peptidoglycaan met erboven een lipiderijke laag). Deze kiem gaat in de omgeving (bodem) vermeerderen indien er substraten aanwezig zijn (bv paardenmest). De kiem veroorzaakt (long)abcessen bij veulens <6mnd. Besmetting gebeurt via inhalatie van stof met *R. equi*. Komt vooral 's zomers voor op weides met veel paarden en weinig gras zodat er veel mest en veel stof is. (s zomers droog → stof en veel veulens.) er zijn 2 types virulentiestammen:
  - Pathoog (voor vnl veulens) → bevatten virulentieplasmide met pathogeniciteits eiland waardoor overleving en vermeerdering in macrofagen mogelijk is. Uiteindelijk doden ze ook de macrofagen waardoor zijn enzymen vrijkomen → abcesvorming
  - Niet pathoog

Pathogenese: inhalatie stof met pathogene *R. equi* kiemen, migratie naar longen, complement activatie in de longen.



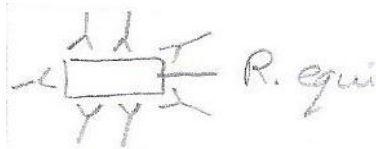
Lipiderijke laag te dik → wel ontstekingsmediatoren en opsonisatie maar geen lyse. Na opsonisatie volgt opname door macrofagen, de pathogene

stammen kunnen hier vermeerderen, niet pathogene stammen worden na fagocytose vernietigd.

Geleidelijk ontstaan er steeds ergere ademhalingsproblemen tot uiteindelijk sterfte.

Om de pathogene kiem te bestrijden heb je een intracellulair antibioticum nodig.

Bescherming voor veulens is mogelijk door serum met antistoffen (vnl IgG) tegen *R. equi* toe te dienen op probleembedrijven. De antistoffen binden de kiemen en vervolgens bindt het Fc gedeelte van de antistoffen met macrofagen wat leidt tot fagocytose van de antistof-kiem (ook een vorm van opsonisatie).



Wanneer de kiem op deze manier opgenomen wordt door macrofagen, wordt deze wel vernietigd. De antistoffen moeten wel al aanwezig zijn voordat de kiem intracellulair komt anders kunnen ze niet meer werken.

Acute fase proteïnen blz 145 lezen, niet kennen

✓ Cellulaire factoren:

- Macrofagen
- Neutrofielen

Extracellulaire kiemen kunnen beschermd zijn tegen fagocytose door een kapsel en/of metabolieten/exotoxines (virulentiefactoren) bv *Actinobacillus pleuropneumoniae* (kapsel + APX-toxines)

Facultatief intracellulaire kiemen worden ook niet vernietigd door fagocytose maar kunnen zelfs blijven vermeerderen in macrofagen.

Specifieke afweer tegenover bacteriën

Is gericht tegen 1 bacterie of een groep van bacteriën met gelijkaardige antigenen en een voorafgaand contact met de bacterie of antigeen is vereist (infectie of vaccinatie)

De specifieke afweer wordt geactiveerd als de aspecifieke afweer tekort schiet en is altijd een combinatie van humorale (antistoffen) en cellulaire (T-lymfocyten en geactiveerde macrofagen) afweer.

- Immunitet tegenover exotoxigene bacteriën:

Tegenover exotoxigene bacteriën worden neutraliserende antistoffen geproduceerd die exotoxines neutraliseren. Bv *Clostridium tetani* vormt tetanospasmine → centraal zenuwstelsel → symptomen. Antistoffen tegen tetanospasmine zijn zeer belangrijk als neutraliserende werking. Gevoelige dieren (paard, schaap, geit, mens) moet je vaccineren met een toxoid vaccin → antistof vorming niet tegen de kiem, deze kan nog vermeerderen, maar tegen het tetanospasmine zodat een infectie geen symptomen meer geeft wegens het neutraliseren van tetanospasmine. In geval van een wonde, moeilijke partus of chirurgie → penicilline geven en een anti-serum met antistoffen tegen

tetanospasmine wanneer het een niet gevaccineerd dier betreft (incl veulens van niet gevaccineerde merries.) Dit anti-serum biedt ca 14 dagen bescherming.

Wanneer het niet zeker is of een dier gevaccineerd is of niet: anti-serum geven én vaccineren. Maar doe dit niet op dezelfde plek anders zullen de antistoffen uit het serum gelijk binden op het geïnactiveerd toxine van je vaccin.

Wanneer een merrie gevaccineerd is geeft zij via het colostrum immuniteit via maternale antistoffen aan het veulen dat 4 maanden beschermd zal zijn.

- Immuniteit tegenover obligaate extracellulaire bacteriën:

Bestaat uit een combinatie van vnl antistoffen en cellulaire immuniteit. Blz 148-151 lezen niet kennen, tenzij al eerder gezien.

- Immuniteit tegenover facultatief intracellulaire bacteriën.

Deze bacteriën kunnen zowel intracellulair als extracellulair vermeerderen en na fagocytose door macrofagen worden deze kiemen niet vernietigd en is zelfs nog vermeerdering mogelijk.

Bv: *Salmonella*, gr (-), *Listeria monocytogenes*, gr (+), *Brucella*, gr (-), *Mycobacterium*, speciale gr (+), *Rhodococcus equi*, speciale gr (+), *Yersinia*, gr (-)

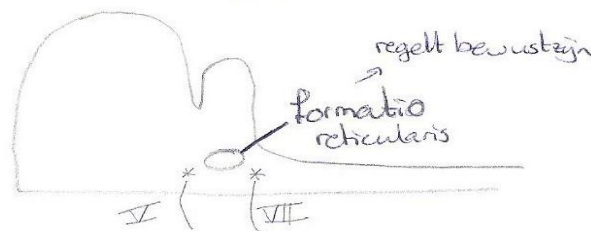
Listeriose

Etiologie: *Listeria monocytogenes*, gr (+) staafjes, facultatief symbiotisch → vrijlevend mogelijk en ziekte veroorzakend. De vrijlevende kiem is psychrotolerant (vermeerdert het liefst bij lichaamstemperatuur maar kan ook bij 4°C). De kiem kan vermeerderen bij een pH van 5.6-9.6 → belangrijk voor kuilvoeder, moet een pH van 4 hebben. Kuilvoeder is een belangrijke bron voor infectie bij herkauwers, wanneer de pH van het kuilvoeder te hoog is kan *Listeria monocytogenes* zich vermeerderen (bij lagere pH treedt er geen vernietiging op, maar dan blijft de hoeveelheid van de kiemen lager) beschimmeld kuilvoeder is dus gevaarlijk, want de schimmels breken eiwitten af waardoor de pH omhoog gaat en dus *Listeria monocytogenes* kan vermeerderen, bovendien kunnen de schimmels zelf al pathogeen zijn en bv abortus veroorzaken.

*Listeria monocytogenes* is zeer weinig gastheer specifiek en kan voorkomen bij zoogdieren, vogels en de mens (zoönose) De mens kan besmet worden vanuit de omgeving, contact met het dier en via voedsel.

Pathogenese herkauwers: opname per os (kuilvoeder), via inhalatie (stof) of via de conjunctiva (als dierenarts opletten dat je niet in je ogen wrijft). De vermeerdering vindt plaats in epitheelcellen (muil/nasofarynx, conjunctiva, spijsverteringsstelsel) of in lymfoïd weefsel geassocieerd met dit epitheel. Deze vermeerdering geeft normaal geen symptomen maar een subklinische infectie (obligaat). Maar wanneer er predisponerende (uitlokkende) factoren aanwezig zijn zoals een hoge infectiedruk of een verlaagde afweer van de gastheer (stress of dracht, in de 2<sup>e</sup> helft van de dracht gaat de cellulaire immuniteit dalen) kunnen er wel klinische symptomen ontstaan:

- Vanuit het epitheel van de muil/farynx kan de kiem bij volwassen herkauwers via de kopzenuwen naar het centraal zenuwstelsel migreren. Wanneer dit via de nervus facialis gebeurt ontstaat er een eenzijdige facialis paralyse, via de trigeminus een eenzijdige trigeminus paralyse. De kiem kan vervolgens naar de formatio reticularis migreren, dit leidt tot tijdelijke excitatie vervolgens een verminderd bewustzijn gevolgd door bv

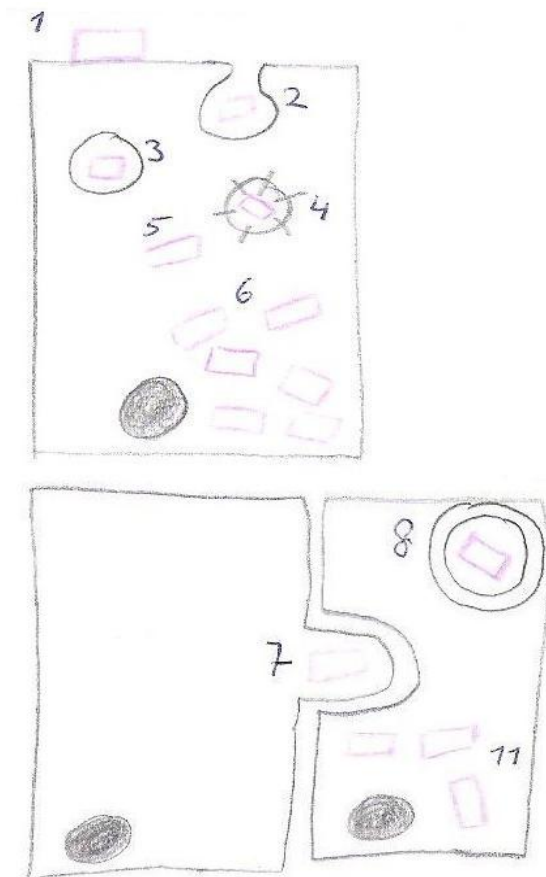


dwanghouding of cirkelopen door verdere migratie door het centraal zenuwstelsel (irreversiebele letstels die moeilijk te behandelen zijn) → veroorzaakt micro- abscesjes (door neutrofiel opstapeling) en perivasculaire cuffing (neutrofielen opstapeling rond bloedvaten)

- De kiem kan ook via de bloedbaan verspreiden (meestal gebeurt de verspreiding maar langs 1 van de 2 mogelijkheden) Via de bloedbaan kunnen verschillende organen aangetast worden: het centraal zenuwstelsel, de baarmoeder (abortus of een zwak kalf dat snel sterft met excretie van de kiem → oppassen voor besmetting bij nageboorte verwijderen), uier ((sub)klinische mastitis, verspreiding via de melk naar kalf/mens, pasteuriseren nodig, de kiem is neit uit de uier weg te krijgen), septicemie (orgaanverspreiding, vnl bij jonge dieren, of in uterus geïnfecteerd kalf)

Wanneer er sprake is van een besmetting bij de mens via een wonde krijg je opzetting van de regionale lymfeknopen, eventueel algemene symptomen en rode puntjes op de zwelling van de wonde die jeuken → antibiotica behandeling nodig.

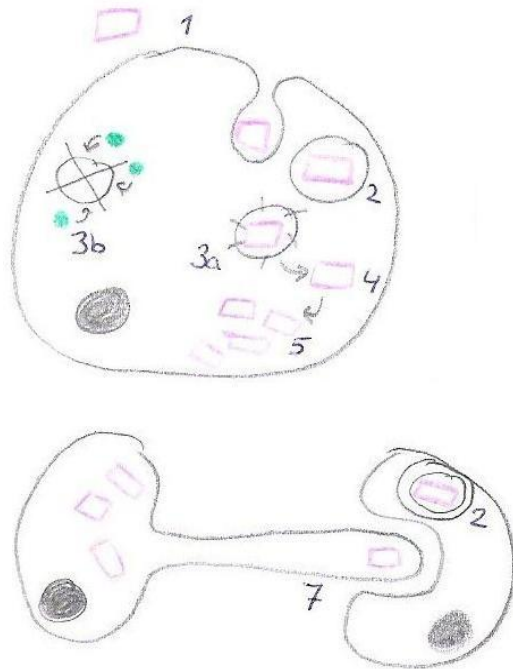
Immunitet tegen *Listeria monocytogenes*: vnl cellulaire afweer vanwege de laterale spreiding.



1. adhesie thv epitheelcellen
2. opname via excretie internalines → veroorzaakt instulpen van de kiem in de cel
3. vacuole
4. vorming listeriolysine en fosfolipase C → maken membranen kapot
5. kiem komt vrij in protoplasma
6. vermeerdering
7. inwerking op actinefilamenten via virulentiefactor → uitstulping epitheelcel in buurcellen
8. afsplitsing → vacuole met dubbele membraan
9. → zie 4.
10. → zie 5. maar nu in een andere cel dan de oorspronkelijke
11. → zie 6. in een andere cel

De kiem komt dus niet extracellulair waardoor er geen antistoffen op kunnen inwerken waardoor de cellulaire immunitet belangrijk is.

Een macrofaag die *Listeria monocytogenes* gefagocyteerd heeft kan die ook door laterale spreiding doorgeven:



1. fagocytose

2. fagosoom

Oftewel: 3a. vorming listeriolyse en fosfolipase C

Oftewel: 3b. lysozoom + fagosoom die *Listeria* vernietigen

Na 3a.: 4. kiem vrij

5. vermeerderen

6. pseudopodievorming macrofaag door virulentiefactoren van *Listeria monocytogenes*

7. instulpen in macrofaag of epitheelcel waarna weer 3a of 3b kunnen volgen

Cellulaire immuniteit:

- Cytotoxische T-lymfocyten: lyseren cellen waarin de kiem zit → kiem vrij → humorale afweer kan erop in gaan werken
- Macrofaag activatie: een geactiveerde macrofaag is groter dan een normale, heeft een hoger oxidatief metabolisme (verhoogde zuurstof- en NO- radicaalvorming) en bevat meer enzymen → 'sterker' dan een normale macrofaag → kan deze kiemen normaal gezien wel uitschakelen (kan dus via 3b)

Opbouw cellulaire immuniteit:

Presentatie epitopen door antigeen presenterende cellen icm MHC, herkend door T-lymfocyten (CD8 cytotoxische en CD4 helper cellen). Na herkenning van het antigeen → T-cellen ondergaan klonale expansie. De cytotoxische cel vernietigd cellen die epitopen met MHC type I presenteren (geïnfekteerde cellen), de helpercel (aanwezig op de plaats waar de kiem vermeerdert en in de bloedbaan → belangrijk naar diagnostiek en type IV overgevoeligheid) gaat na contact met het antigeen icm MHC type II lymfokines produceren.

Thelper-1 → Interferon- $\gamma$  → activatie macrofagen → kiem wordt vernietigd

Vervolgens zijn er voor alle facultatief intracellulaire bacteriën 2 mogelijkheden:

- Een dier dat zeer sterk reageert bouwt veel cellulaire immuniteit op en doodt alle kiemen

- Bij een dier dat minder reageert ontstaat er een evenwicht tussen de cellulaire immuniteit en de kiem, niet alle kiemen worden vernietigd door een onvoldoende activatie van de macrofagen. Er is geen vermeerdering van de kiem meer maar er blijven wel enkele kiemen leven, deze dieren worden dragers. Dit is gevaarlijk wanneer de cellulaire immuniteit onderdrukt wordt want dan kan de kiem ontsnappen uit de cel (excretie) en andere dieren infecteren en/of zelf (weer) ziek worden.

De cellulaire immuniteit wordt onderdrukt in geval van:

- Stress (vb een varken is drager van *Salmonella/Listeria* in lymfoïd weefsel van de darm, wanneer dit dier naar het slachthuis getransporteerd wordt is er sprake van een stress-situatie → vermeerdering kiem → uitscheiden kiem in mest → fecale verontreiniging van het karkas mogelijk in het slachthuis → infectie mens)
- 2<sup>e</sup> helft van de dracht (koe die drager is kan de kiem gaan uitscheiden en aborteren. Recente infecties via kuilvoeder kunnen ook abortus veroorzaken)
- Toenemende leeftijd
- Therapie (bv kankertherapie, corticosteroiden)
- Virale infecties (bv AIDS)

De cellulaire immuniteit is bedoeld om de kiem te onderdrukken of doden maar kan ook zelf de oorzaak voor letsels zijn (bv TBC), lezen in de cursus, niet kennen

Type IV overgevoeligheid:

Belangrijk ivm diagnostiek voor infecties door facultatief intracellulaire bacteriën.

Bv tuberculine test: rund: *Mycobacterium bovis* veroorzaakt TBC bij verschillende zoogdieren en is een zoönose. Runder TBC is wettelijk bestreden en België is officieel vrij van *Mycobacterium bovis*.

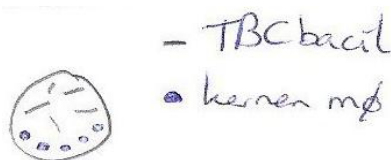
Pathogenese rund: opname via inhalatie → kiem vermeerdert in lymfeknopen van de kop/keelstreek of de mediastinale lymfeknopen in de thorax of in de long waar het door de reactie van de gastheer granulomen geeft. De kiem kan vervolgens eventueel uitzaaien. Opname kan ook oraal → kiem vermeerdert in de lymfeknopen van de kop/keelstreek of de mesenteriale lymfeknopen in de buik. Waarna de kiem alweer kan uitzaaien.

Het al of niet krijgen van symptomen is afhankelijk van de reactie van de gastheer en de virulentie van de bacterie.

Granulomen (tuberculoom) zijn bindweefselwoekeringen of necrose en het ontstaan van reuzecellen. Hoe sterker de gastheer hoe meer bindweefselwoekeringen, hoe zwakker hoe meer necrosevorming.

De lipidenrijke celwand van de kiem speelt een rol in het ontstaan van de letsels want deze kan niet verteerd worden door macrofagen. Dit heeft tot gevolg:

- Langdurig aantrekken van macrofagen
- Versmelten macrofagen tot grotere cellen (reuzecellen)



- Macrofagen produceren cytokines die bindweefselwoekeringen veroorzaken
- Bij lyse van de macrofaag komen er enzymen vrij die necrose (weefselverval) veroorzaken

Als reactie op het lipo arabino mannan (LAM) uit de celwand van de bacterie gaat de macrofaag TNF- $\alpha$  produceren (letsels door reactie gastheer) en dit verhindert activatie (van wat?)

Tuberculinatie: verplicht bij aankoop van runderen: manier om diagnose te stellen

- Rund moet in quarantaine
- Binnen 48 uur moet de nieuwe eigenaar een dierenarts verwittigen die een tuberculinatie test in de hals moet uitvoeren en bloed moet nemen om te testen op brucellose, leukinose en virale infecties voordat het rund bij de rest van het vee mag.

In de hals wordt intradermaal (niet subcutaan want dan verspreiding via de bloedbaan) tuberculine (gezuiverde eiwitten van TBC bacillen (*Mycobacterium bovis*) ingespoten. Als er na 72u een zwelling aanwezig is op de plaats van inspuiten zijn er T-lymfocyten in de bloedbaan aanwezig die reageren op *Mycobacterium bovis*, maar dit kan een vals positief resultaat zijn.

Een rund dat besmet (geweest) is met *Mycobacterium bovis* bezit Thelper cellen tegen antigenen hiervan. Wanneer je tuberculine intradermaal inspuit activeer je antigeen-presenterende cellen in de huid → specifieke T-lymfocyten in de bloedbaan reageren op deze antigeen presenterende cellen door cytokines te produceren → ontsteking (zwelling) → dus in geval van een zwelling zijn er specifieke T-lymfocyten aanwezig. (heeft dus niks met antistoffen te maken)

## Vaccins

Een ideaal vaccin induceert een hoge, langdurige bescherming tegenover alle bacterie stammen die de aandoening veroorzaken en bij alle gevaccineerde dieren (ook bij diegene met maternale immuniteit), is stabiel bij bewaring, is gemakkelijk toe te dienen en induceert geen nevenreacties. Het ideale vaccin bestaat niet.

### Soorten vaccins

- Vaccins die geen levende kiemen bevatten (op basis van antigeen of DNA-vaccins)

Antigeen vaccins: Vaccins op basis van antigeen bevatten meestal veel antigeen en vaak een adjuvans, de primovaccinatie moet 2x gebeuren met een 3-4 tal weken tussentijd, induceren vnl antistofvorming maar dit hangt af van het toegevoegde adjuvans, en is veilig (eventueel wel nevenwerkingen als allergie tegen kiem of adjuvans). Deze vaccins kunnen in 3 groepen verdeeld worden:

- Toxoïd vaccins (op basis van geïnactiveerde exotoxines)  
Bestaat uit een exotoxine bewerkt met formol of wordt via een recombinant technologie gevormd. Bv tetanus
- Bacterins (op basis van geïnactiveerde volledige kiem)  
In deze groep heb je de commerciële vaccins (geregistreerd, niet toxisch en werking bewezen) en de auto-vaccins. Deze auto-vaccins bevat geïnactiveerde kiemen geïsoleerd bij een bepaald dier of bedrijf en deze mogen enkel gebruikt worden bij dit dier of bedrijf. Vb *Streptococcus suis*, gr (+), de kiemen leggen zich in kettingvorm.



*S. suis, kettingvorm*

Bij varkens veroorzaakt deze kiem meningitis (bij vnl gespeende biggen), arthritis (bij vnl zuigende biggen) etc. Meningitis leidt tot ataxie van de achterhand, zijlig met fietsbewegingen en uiteindelijk sterfte, arthritis geeft bewegingsstoornissen. De kiem veroorzaakt een purulente infectie (etterverwekker), er worden dus veel neutrofielen aangetrokken. De kiem kan via direct contact met varkens (dus niet via het vlees) bij de mens meningitis en eventueel doofheid veroorzaken (zoönose). *Streptococcus* kun je bestrijden via auto-vaccins, er bestaan geen commerciële vaccins voor. → kiem isoleren → opgroeien → kiem verzamelen en met formol behandelen → geïnactiveerd vaccin inspuiten bij zeugen die dan via colostrum maternale antistoffen doorgeven of inspuiten bij biggen.

Belangrijk: er kunnen nevenreacties optreden zoals een lokale zwelling op de plaats van inspuiten of een algemene reactie van allergische aard (kan abortus of shock en sterfte geven, altijd adrenaline bij je hebben). Je moet dus niet gelijk alle dieren vaccineren maar elk nieuw lot eerst op enkelen proberen.

- Subunit vaccins (op basis van geïnactiveerd deel van de kiem of antigeen)
  - fimbriae
  - transferrine bindende proteïnes, vb *Actinobacillus pleuropneumoniae*, gr (-): vormt exotoxines (APS-toxines die letsels geven) en heeft een ijzer-opnamesysteem (transferrine en hemoglobine bindende proteïnen) er bestaan vaccins (bacterins → *Actinobacillus pleuropneumoniae* opgroeien in een ijzer-arm milieu zodat de transferrine bindende

proteïnes tot expressie gebracht worden of subunit-vaccins die enkel het transferrine bindende proteïne bevatten) waardoor antistoffen tegen transferrine bindende proteïnes worden gevormd. Wanneer er antistoffen aanwezig zijn tegen transferrine bindende proteïnes kunnen de kiemen geen transferrine (incl ijzer) meer binden en dit dus niet gebruiken voor hun vermeerdering.

Er zijn ook combinatievaccins mogelijk: vb voor *Actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccin op basis van transferrine bindende proteïnes en een toxoïd vaccin op basis van APX-toxines behandeld met formol.

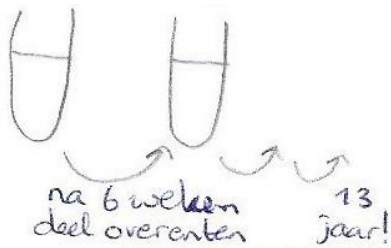
Ook combinaties van bv bacterins en toxoïd vaccins zijn mogelijk.

DNA-vaccins (blz 166) lezen in de cursus + zie virologie.

- Levende vaccins: bevatten levende bacteriën, maar verzwakt.

De oorsprong van de vaccinstam kan in de natuur gevonden zijn maar een verschil in virulentie hebben met de pathogene stam, hier blijft vaak wel nog een rest-virulentie aanwezig en dit vaccin is dus niet compleet onschuldig. De vaccinstam kan ook artificieel bekomen zijn door enerzijds seriep passages in vitro en anderzijds genetische manipulatie.

Seriepassages: vb BCG (bacille calmette guérin) → vaccin tegen TBC (*Mycobacterium tuberculosis*) op basis van de *Mycobacterium bovis* kiem.



De generatietijd van *Mycobacterium bovis* is 18u en het duurt dus 6 weken tot de kiem volgroeid is. BCG is 13 jaar gekweekt in vloeibaar milieu totdat er een toevallige mutatie een minder virulente stam gaf. Deze mutageen is minder pathogeen voor de mens, maar het paard en oa AIDS patiënten zij wel nog gevoelig. Het vaccin geeft slechts 6-12mnd bescherming.

Genetische manipulatie: De bacterie wordt gekweekt in aanwezigheid van een mutagene stof, je brengt er deleties in aan (biotechnologie) of je gebruikt een vector vaccin (genetische informatie van de bacterie wordt in een vector overgebracht en dieren worden gevaccineerd met deze vector, vervolgens worden er antistoffen aangemaakt tegen de antigenen van de vector (niet van de pathogene bacterie of virus) → zie virologie.

Voordelen van levende vaccins

- je stimuleert de cellulaire én humorale immuniteit (bij geïnactiveerde vaccins activeer je enkel de humorale immuniteit tenzij je een adjuvans toevoegt dat de cellulaire immuniteit activeert)
- primovaccinatie slechts 1x nodig, uitz. oa *Streptococcus equi* subspecies equi (droes) (geïnactiveerde vaccins moeten 2x met 3-4 weken tussen gegeven worden)
- snellere inductie van bescherming

- soms toe te dienen via normale infectieweg, dit zorgt ook voor lokale immuniteit thv de normale opnameweg (geïnactiveerde vaccins moeten altijd met een naald ingespoten worden)
- soms minder interferentie met maternale immuniteit  
vb kennelhoest hond (infectieuze tracheobronchitis) komt vnl voor bij pups van 6-8 weken oud (soms al bij 3-4 weken)

Etiologie: *Bordetella bronchisepta*, gr (-), bindt op de trilharen van de trachea en bronchen → verlamming trilharen → droge hoest en/of kokhalzen. Meestal is er geen koorts aanwezig en ook geen longafwijkingen bij auscultatie, maar bij aanwezigheid van *Bordetella bronchisepta* is een menginfectie met een andere kiem makkelijker waardoor er wel koorts en longproblemen kunnen ontstaan.

Bestrijding:

- bacterins (parenteraal subcutaan of intramusculair, 2x met 3-4 weken tussen en dan na 1-2 weken beschermd, interferentie met maternale immuniteit tot 4-6 weken → te laat)  
interferentie: als de teef antistoffen heeft tegen *Bordetella bronchisepta* worden deze via het colostrum doorgegeven aan de pup. Deze antistoffen verspreiden zich via de bloedbaan in de pup, wanneer je deze pup < 4 weken vaccineert is er in de bloedbaan nog een hoge concentratie antistoffen aanwezig die gaan reageren met het vaccin, de vaccinatie werkt dan dus niet omdat er geen activatie van het immuunsysteem van de pup geweest is. >4 weken zijn de meeste maternale antistoffen afgebroken → geen interferentie meer → vaccinatie werkt.
- levend verzwakt vaccin, kan intranasaal toegediend worden, slechts 1 vaccinatie nodig omdat er vermeerdering van het vaccin in de trachea optreedt, snelle bescherming (binnen de week), en al vanaf 2 weken geen interferentie meer met de maternale immuniteit omdat er in de trachea/bronchen een lagere concentratie maternale antistoffen aanwezig is in vergelijking met de bloedbaan.

Nadelen van levende vaccins

- De vaccins worden gelyofiliseerd (gevriesdroogd), na heractivatie moet het vaccin gelijk gebruikt worden omdat het anders dood zal gaan.
- Geen antibiotica en/of ontsmettingsmiddelen tegelijkertijd gebruiken omdat deze stoffen ook het vaccin zullen doden/inactiveren.
- Soms rest-virulentie aanwezig → uitkijken bij immunosuppressieve mensen + tijdelijk lichte symptomen mogelijk, bij twijfel of deze symptomen het gevolg zijn van een infectie of de vaccinatie mag je geen antibiotica geven
- Soms blijft het vaccin pathogeen voor andere diersoorten (vb BCG voor het paard)
- Reversie tot virulente bacteriën via (terug)mutaties. Bij commerciële vaccins is hier veel onderzoek naar gedaan en is dit risico niet aanwezig

## Diagnose van bacteriële infecties

### Diagnose door het aantonen van het agens

Het aantonen van de kiem in stalen (van levend of dood dier), deze manier wordt het meest gebruikt → zie practica (blz 170-189)

### Diagnose door het aantonen van een specifieke humorale respons

Het aantonen van antistoffen in het serum met behulp van serologische testen. Je kunt ofwel de kiem identificeren (= aantonen agens) ofwel antistoffen opsporen met antigenen.

- Onbekende kiem met gekende antistoffen mengen en kijken of er een reactie optreedt. Bv: neonatale diarree (ETEC), adhesiefactoren F4, F5, F6, F41 fimbriae, enterotoxines (exotoxines). Je isoleert de kiem en groeit hem op, je voegt antistoffen tegen bijvoorbeeld F4 toe. Wanneer er een reactie volgt was je ETEC kiem een stam met F4 fimbriae
- Onbekend serum met gekende antigenen mengen, dit wordt zelden als routine gedaan. Wanneer er een reactie optreedt zitten er antistoffen tegen dit antigeen in je serum. Soms wordt er gewerkt met gepaarde sera:
  - Acuut serum (pre-serum) neem je zo snel mogelijk na de ziekte.
  - 2<sup>e</sup> staal (post-serum of convalescentserum) enkele weken later en je vergelijkt de hoeveelheid antistoffen in de verschillende sera. Wanneer de concentratie in het 2<sup>e</sup> staal 4x hoger is, is het dier onlangs geïnfecteerd met de kiem waartegen deze antistof gericht is → indirecte diagnose.  
Vb gebruikt bij *Leptospira* serotype Icterohemorrhagiae. Dit is een obligaat symbiotische kiem die in de omgeving enkel kan overleven in een waterig milieu. Ratten zijn dragers thv de niertubuli maar worden zelf niet ziek (reservoir). Besmetting van hond/paard/mens gebeurt via de mucosae en de huid (bv bij wonden), de kiem verspreidt zich meteen via de bloedbaan en geeft algemene symptomen. Bij vermeerdering in de lever/nier ontstaat endotheel aantasting → bloeding, hepatitis (icterus), nefritis en uremie (verhoogde concentratie ureum in de bloedbaan). Zowel ratten als besmette dieren scheiden de kiem uit in de urine.  
Bij deze ziekte worden er gepaarde sera genomen voor de diagnose, de antistofvorming komt snel op gang dus het 2<sup>e</sup> staal kan vrij snel na het 1<sup>e</sup> genomen worden (1-2 weken) en het eerste mag niet te laat na de diagnose van de ziekte genomen worden.

Het serologisch onderzoek wordt zelden gebruikt enkel bij epidemiologisch onderzoek (voor het voorkomen van een kiem op bedrijfsniveau en voor het meten hoeveel positieve bedrijven er zijn.) en bij wettelijk bestreden ziekten. Bij wettelijk bestreden ziekten, zoals runderbrucellose, zijn de maatregelen die iedereen moet nemen wettelijk vastgelegd, in dit geval eradicatie.

Etiologie: *Brucella abortus*, gr (-), facultatief intracellulair, obligaat pathogeen.

Klinisch: abortus bij rund, algemene infectie bij mens

Bedrijven/dieren die positief zijn (wanneer er antistoffen tegen *Brucella abortus* aanwezig zijn) worden opgeruimd.

Blz 190-192 verschillende testen, lezen niet kennen, enkel wat in de practica gezien wordt.

Diagnose door het aantonen van een specifieke cellulaire respons

Hier wordt er gekeken of er in het bloed specifieke Thelper cellen aanwezig zijn die cytokines vormen na contact met een bacterieel antigeen dat in de bloedbaan gebracht wordt of aanwezig is. Er wordt dus niet getest op aanwezigheid van antistoffen!

Dit is belangrijk bij facultatief intracellulaire bacteriën.

- Huidreactie testen (bv tuberculine test).
- IFN- $\gamma$  test (in labo), hiervoor wordt er bloed genomen (op heparine, dus niet gestold, monocyt en lymfocyt blijven aanwezig) van een verdacht dier, dit wordt in cultuur gebracht in microtiterplaten icm een specifiek antigeen (bv eiwitten van *Mycobacterium bovis*). Na incubatie bij 37°C gaan we via ELISA na of er IFN- $\gamma$  gevormd wordt. Wanneer er IFN- $\gamma$  gevormd wordt is er na antigeenpresentatie (icm MHC II) een reactie geweest van specifieke Thelper cellen.

**Antimicrobiële gevoeligheidstesten, het antibiogram**, blz 196 en verder: belangrijk maar wordt bij de practica gezien.

Schriftelijk examen: wat in de lessen gegeven wordt is het belangrijkste (aantekeningen en slides). 15 lessen algemene bacteriologie en 5 bijzondere (pathogene bacteriën). In de cursus staan meer details die niet allemaal gekend hoeven te zijn. Wat je op het practicum krijgt moet je ook kennen voor het examen. (Staat ook in cursus)

Multiple choice: juist/niet juist 40ptn (+1, 0, -1 giscorrectie)

Open vragen: Algemene bacteriologie: 40ptn

Bijzondere bacteriologie: 20ptn

Voorbeeld examenvragen:

- Bespreek adhv figuren de voornaamste fenotypische verschillen tussen bacteriën en eukaryoten.
- Noem 2 bacteriële genen die endosporen vormen
- Maak een figuur van de structuur van peptidoglycaan en duid er de verschillende componenten op aan.

Multiple choice voorbeelden:

1. Doxycycline, neomycine en clindamycine zijn antibiotica die binden op de ribosomen van bacteriën (juist)
2. Penicilline bindt op de ribosomen van bacteriën
3. Alle bacteriën die pathogeen zijn voor dieren bezitten een celwand
4. Mesosomen zijn plasmamembraaninvaginaties die voorkomen bij bacteriën (juist)
5. *Actinobacillus pleuropneumoniae* kan transferrine bindende proteïnes produceren (juist)
6. De transferrine bindende proteïnes van *Mannheimia haemolytica* bevinden zich in de protoplasma membraan
7. O-antigenen zijn eiwitten die voorkomen in de celwand van veel Gram-negatieve bacteriën
8. Septicemische *Escherichia coli* veroorzaken voornamelijk ziekte bij varkens van meer dan 50 kg lichaamsgewicht
9. Bespreek: plasmide-gemedieerde conjugatie bij Gram negatieve bacteriën. Maak hierbij ook gebruik van figuren.
10. Voor een *Escherichia coli* stam die geïsoleerd werd bij een varken bedroeg de minimum inhibitorische concentratie (MIC) van oxytetracycline 64µg/ml. Leg uit wat bedoeld wordt met MIC.
11. Symbiotische micro-organismen gebruiken hogere levensvormen als vaste of tijdelijke woonplaats (juist)
12. Infecties met obligaat pathogene bacteriën resulteren altijd in klinische symptomen (niet juist)
13. *Mannheimia haemolytica* is een obligaat pathogeen agens dat ademhalingsstoornissen veroorzaakt bij kalveren (niet juist → facultatief pathogeen)
14. Chlamydiën zijn obligaat intracellulaire bacteriën (juist)

Voorbeeld examenvraag:

In verband met specifieke afweer tegenover bacteriën speelt complement activatie via de alternatieve weg een belangrijke rol. Bespreek het resultaat van deze complement activatie.