

Mycologie

Mycologie handelt over chromista en fungi. Beiden zijn, in tegenstelling tot bacteriën, eukaryoten.

Morfologie en structuur

- Gisten: unicellulaire micro-organismen. Meer dan 10x groter dan bacteriën, meestal ronde/ovale cellen.
- Dimorfe fungi, kunnen zowel in gist als schimmelvorm voorkomen afhankelijk van het milieu
- Schimmels: multicellulair, dichotoom vertakt, filamenteus. (tekening 1)

Chromista zien eruit als schimmels

Structuur

- Omhulsels (voor zowel gisten als schimmels):
 - Plasmamembraan: dubbele laag fosfolipiden, eiwitten, sterolen (ergosterol) (tekening 2)
 - Celwand: polysacchariden, glycoproteïnen (zelfde effect als LPS, LTZ en LAM)
 - Kapsel: aanwezig bij sommige gisten, niet bij schimmels, bestaat uit polysacchariden.
- Inwendig
 - Kern met meerdere chromosomen, nucleolus
 - Mitochondriën
 - Ribosomen (80S) (antibiotica werken dus niet → antimycotica)
 - Golgi-apparaat
 - Endoplasmatisch reticulum

(tekening 3)

Vermenigvuldiging

Voor vermenigvuldiging is een gunstig milieu nodig:

- Temperatuur (psychrofielen, mesofielen, psychrotoleranten, thermofielen)
- Vocht (hoe vochtiger hoe beter voor de vermeerdering)
- pH (lichtjes zuur of neutraal is optimaal voor de meerderheid)
- Voedingsstoffen

Vermenigvuldiging kan gebeuren via de vegetatieve vorm (voor schimmels: dichotoom vertakken; voor gisten: 'blastospore'-vorming, let op! Zijn geen spores maar knopvorming) (tekening 4) en via sporulatie.

Er gebeurt altijd eerst vegetatieve vermeerdering voordat er sporevorming optreedt. Bij zeer snelle vermenigvuldiging van gisten kunnen er pseudohyfen ontstaan waarbij de blastospores aan elkaar blijven hangen. (tekening 5)

- Sporulatie

- Overlevingsvormen en verspreidingsvormen, veel schimmels vormen beide. De overlevingsvorm zijn grote spores in kleine aantallen die niet loskomen van de hyfe totdat de hyfe uit elkaar valt. De verspreidingsvorm zijn kleine spores in

grote aantallen die wel loskomen van de hyfe, ze kunnen eventueel een actief systeem voor de verspreiding hebben (katapult achtig systeem) maar vaak via luchtstromen.

- Aseksuele en seksuele sporen sporen, veel schimmels vormen beide.
Uitzondering: mitosporische fungi (de meest belangrijke groep voor de diergeneeskunde) vormt enkel aseksuele spores. Bij aseksuele sporevorming gebeurt er mitose, de seksuele sporevorming is belangrijk voor de classificatie en bestaat uit meiose na versmelting van 2 kernen.

Schimmels: haploïd: n chromosomen.

(tekening 6)

- aseksuele sporulatie:

- In een hyfe
 - ✓ Arthrosporen: belangrijk in verband met overleving, ontstaan door verdikking van de wand van de hyfe en komt vrij wanneer de hyfe uit elkaar valt. (tekening 7)
 - ✓ Chlamydo-spore: gelijkaardig aan arthrosporen maar vormt een nog dikkere wand waardoor deze uitsteekt boven het oppervlakte van de hyfe. (tekening 8)

Dermatofyten (Microsporum, Trichophyton) vormen onder andere arthro- en chlamydo-sporen.

- Langs een hyfe of op een gespecialiseerde hyfe → verspreidingsfunctie.
 - ✓ Conidiosporen, ofwel terminaal in een groep op een conidiofoor (vb Aspergillus flavus, hyfen met septa, conidiosporevorming) (tekening 9), ofwel langs de hyfe (vb dermatofyten, Microsporum en Trichophyton) grote multicellulaire spores (macroconidia) of kleinere unicellulaire spores (microconidia)
 - ✓ Sporangiosporen gevormd door Zygomyceten (hyfen zonder septa) in een sferisch sporangium. (vb Saprolegnia, behoort tot de chromista maar is schimmelachtig, belangrijk bij vissen, vormen een sporangium met sporangiosporen die men zoösporen noemt, flagellen bezitten en beweeglijk zijn. Deze zoösporen kunnen actief andere vissen (of eieren) zoeken en besmetten)

- seksuele sporulatie

Dit heeft een overlevingsfunctie en er gebeurt een versmelting van kernen.

- Ascosporen → in een ascus (zakvormige structuur) gevormd (tekening 10)
- Zygosporen → dikwandige sporen gevormd tussen 2 hyfen in (tekening 11)

Indeling in phyla gebeurt op basis van de seksuele sporulatie:

- Ascomycota → hyfen bevatten septa, vormt aseksuele sporen maar welke hangt af van de soort, vormen ascosporen als seksuele sporen
- Zygomycota (zygomyceten) → hyfen hebben geen septa, de aseksuele sporen zijn sporangiosporen (tekening 12) en de seksuele sporen zijn zygosporen.

Pathogenese

Blz 219 (vrijlevende en symbiotische fungi. Pathogene en niet pathogene fungi) lezen, is vergelijkbaar met bacteriologie

- Hoe veroorzaken fungi ziekte?

- Mycose (vermeerdering in/op lichaam gastheer)

Soms exotoxine productie vb gliotoxine van *Aspergillus fumigatus* (onderdrukt immuniteit)

Vb aspergillose en dermatomycose

Pathogenese aspergillose:

Etiologie: *Aspergillus fumigatus* en andere, de morfologie is belangrijk voor de identificatie (hyfen met septa, conidiospores, verschillende aspergillushoofdjes (conidiofoor) bij verschillende *Aspergillus* soorten.

Cultuureigenschappen: groeit gemakkelijk, 2 dagen incuberen voor duidelijke kolonies, groeit bij lichaamstemperatuur alsook bij kamertemperatuur en groeit nog tot 45°C (weinig eisend). Uitzicht kolonies (**tekening 13**)

Fungus-dier interacties: facultatief symbiotisch (kan dus ook vrijlevend voorkomen) en ziekte-ontwikkeling bij predisponerende factoren zoals verzwakking van de afweer van de gastheer of bij een hoge infectiedruk.

Hond: opname via inhalatie uit de omgeving (neus of sinus frontalis) meestal is er ook een vreemd voorwerp in de neus aanwezig dat de trilharen beschadigd. Deze trilharen kunnen dan dus niet meer hun functie in de lokale afweer uitvoeren en de spores niet meer naar buiten vegen.

Symptomen: komt vaak voor bij honden van jonge en middelbare leeftijd en langsnuitige honden (differentiaal diagnose: tumoren (vnl oudere dieren) → rhinoscopie toepassen)

- Rhinitis (chronisch en niet met antibiotica te behandelen), neusvloeï (etterig/muceus), neusbloedingen
- Mandibulaire lymfeknopen opgezet
- Sinus frontalis eventueel licht gebombeerd (palpatie)
- Algemene symptomen meestal afwezig

Diagnose: te stellen via rhinoscopie

Herkauwers (varken, paard): → Mycotische abortus. Opname oraal, via inhalatie of via de conjunctiva. De spores kunnen bij hoge infectiedruk in de bloedbaan terechtkomen en de foetus aborteren door vermenigvuldiging/woekering aan de placenta. Geeft soms zichtbare mycotische letsels aan de placenta en/of foetus.

Etiologie: *Aspergillus fumigatus* en anderen, zygomyceten. Meestal beschimmeld (kuil)voeder.

Vogels:

- ✓ broederpneumonie kuikens (vnl bij hobbykwekers) kort na het uitkippen door onvoldoende gereinigde uitkipkamer/materiaal (hier kan organisch materiaal met spores dus aanwezig blijven) In de uitkipkamer heerst een hoge relatieve vochtigheid en is de temperatuur hoog → ideaal voor vegetatieve vermeerdering en sporulatie → hoge infectiedruk → inhalatie door 1-dagskuiken → woekering thv long en/of luchtzakken met eventueel uitbreiding

- ✓ Aspergillose van luchtzakken en long bij parkieten en papegaaien (meestal oudere dieren) wanneer deze in (te) vochtige hokken worden gehouden.

Pathogenese dermatomycose:

Etiologie: dermatofyten (*Microsporum*, *Trichophyton*): schimmels die keratine aantasten, aanwezig in de epidermis en de haren.

Morfologie: hyfen met septa

Aseksuele spores: arthrospores (**tekening 15**), chlamydospores (**tekening 16**), macroconidia en microconidia (deze laatste 2 zijn niet te zien bij rechtstreeks microscopisch onderzoek) (**tekening 17**)

Indeling op basis van reservoir (belangrijk in verband met bestrijding)

- Geofiele dermatofyten

Facultatief symbiotisch, de bodem is het reservoir.

Vb: *Microsporum gypseum*: vnl belangrijk bij hond en paard, manier van besmetting is enkel vanuit de bodem, niet tussen dieren onderling of dier-mens (geen zoönose dus). Letsels vnl thv kop, pootjes en buik (na contact met aarde). *Microsporum nanum*, vnl belangrijk bij het varken (eventueel mens), spreidt wel onderling want is zowel een geofiele als zoöfiele dermatofyt dus deze kan verspreiden naar andere varkens nadat 1 varken contact heeft gehad met besmette aarde.

- Zoöfiele dermatofyten

Obligaat symbiotisch, geen vermeerdering in de omgeving. Spores zijn zeer resistent, ook in de omgeving. Reservoir is de natuurlijke gastheer waarbij de dermatofyt makkelijk aanslaat en niet altijd klinische symptomen geeft (drager). Zijn weinig gastheerspecifiek dus kan naast de natuurlijke gastheer ook andere diersoorten besmetten (eventueel zoönose) maar het aanslaan gaat bij niet-natuurlijke gastheren moeilijker en geeft altijd (lokale) symptomen.

Belangrijke voorbeelden:

- ✓ *Microsporum canis* (natuurlijke gastheer is de kat!) Is de meest voorkomende dermatofyt bij de hond. Slaat gemakkelijk aan bij de mens en komt ook voor bij paard en hond. Overgaan van mens op mens is moeilijk.
- ✓ *Trichophyton verrucosum* (rund). Slaat gemakkelijk aan bij de mens en komt ook voor bij het varken.
- ✓ *Trichophyton mentagrophytes varitas mentagrophytes* (knaagdieren) en *varitas erinacei* (egel) Slaat gemakkelijk aan bij de mens en komt ook voor bij konijn en hond (vnl terriërs)
- ✓ *Trichophyton equinum* (paard) Kan eventueel naar de mens maar is moeilijk.
- ✓ *Microsporum nanum* (varken) Kan eventueel naar de mens maar is moeilijk. Is ook geofiel.
- ✓ *Microsporum gallinae* (pluimvee) Slaat niet aan bij de mens
- Anthropefiele dermatofyten

Reservoir is de mens, komt niet frequent voor bij dieren. Geen voorbeelden van te kennen.

Pathogenese: lokale infectie van de huid (**tekening 18**)

De ontsteking is meestal erger bij niet-natuurlijke gastheren: vasodilatatie (roodheid, vnl bij de mens te zien), verhoogde permeabiliteit (zorgt voor exsudaat en korstvorming), aantrekking macrofagen (zorgt ervoor dat de schimmel wordt afgebroken, komt minder voor bij de natuurlijke gastheer)

Onder de meest specifieke vorm geven dermatofyten karakteristieke letsels (ringvuur, katrienwiel) (**tekening 19**)

Bij de hond kunnen na infectie met bepaalde dermatofyten (vnl *M.gypseum* en *T.mentagrophytes*) 'kerion'-letsels ontstaan. (**tekening 20**)

De schimmel boort diep in de haarfollikel doorheen de wand wat een circulair letsel met openingen waar etter uitkomt geeft. (**tekening 21**) Vaak komen er ook secundaire infecties voor met bacteriën (vnl *Staphylococcus pseudintermedius*). Dus behandelen met een antibioticum en een antimycoticum.

Bij hond en kat komt er soms onchomycose voor, dit is een aantasting van de nagels. (**tekening 22**)

- Intoxicatie (fungus zelf is toxisch)
- Mycotoxicose (vermeerdering buiten de gastheer, daar toxine productie, de toxines worden opgenomen door de gastheer en veroorzaken problemen)
Een mycotoxicose is een intoxicatie. Meestal veroorzaakt door fungi in het voeder. In het voeder vermeerderen de fungi en produceren ze mycotoxines. Mycotoxines zijn toxines geproduceerd door fungi, ze worden door sommige schimmel/gist soorten geproduceerd maar niet door alle stammen van een soort en ook niet altijd (afhankelijk van de omgeving en het substraat) dit is belangrijk in verband met de diagnose.

Vb *Aspergillus flavus*: morfologie en cultuureigenschappen zie *A.fumigatus*, uitzondering: geel-groene spores in plaats van blauw/grijs. Sommige stammen van *A.flavus* gaan onder bepaalde omstandigheden toxines (aflatoxine) vormen. Toxines worden vnl gevormd wanneer de schimmel onder invloed staat van stressfactoren. Voor *A.flavus* zijn dit: verhoogde omgevingstemperatuur (vnl in de tropen), vetrijk substraat. Wanneer het aflatoxine wordt opgenomen door dier/mens → bij massale inname (accuut): leveraantasting; bij chronische opname van kleine hoeveelheden: levercarcinomen.

Diagnose mycotoxicose: voeder onderzoeken

- ✓ Mycologisch onderzoek

Het opsporen van de schimmel, maar interpretatie niet gemakkelijk want bij een positief testresultaat voor *A.flavus* moet er nog onderzocht worden of het een stam betreft die aflatoxine kan vormen (dit is in het labo nog te onderzoeken), maar vervolgens moet er bekeken worden of de milieu-omstandigheden ten tijde van de infectie stresserend waren voor de schimmel zodat deze toxines ging vormen. Bij een negatief testresultaat voor *A.flavus* kan het zijn dat de schimmel vermeerderd heeft, aflatoxines gevormd heeft en vervolgens afgestorven is, in dit geval is de schimmel niet aanwezig maar het schadelijke toxine wel.

✓ Toxicologisch onderzoek

Dit onderzoek is betrouwbaarder omdat er rechtstreeks gekeken wordt of er toxines aanwezig zijn. Er moet dan wel een test bestaan om de toxines van een bepaalde schimmel aan te kunnen tonen.

Voor *A.flavus* bestaat er zo'n test.

Er bestaan >300 mycotoxines.

Eigenschappen van mycotoxines:

- Uiteenlopende structuur
- Stabiel: temperatuur, pH, chemische agentia
- Wel vaak gevoelig aan UV of bacteriële enzymen
- Slechte antigenen (geen immunologische bescherming)
- Meestal lipofiel (makkelijk te verspreiden in weefsels)
- Uiteenlopende toxiciteit-biologische effecten → onduidelijk ziektebeeld (vnl remming eiwitsynthese, remming celproliferatie en remming cellulaire stofwisseling; hierdoor vermindert de groei en vruchtbaarheid, bovendien is verminderde celproliferatie immunosuppressief zodat secundaire infecties makkelijker ontstaan.

Aflatoxicose: etiologie: aflatoxines gevormd door *A.flavus* wanneer er een vetrijk substraat aanwezig is of de omgevingstemperatuur verhoogd. Opname van het aflatoxine gebeurt samen met het voeder en verspreid vervolgens via het bloed naar vnl de lever.

- Allergische en immunopathologische aandoeningen
 - Allergische aspergillose bij de mens
 - RAO (recurrent airway obstruction) bij het paard, ook COPD (chronic obstruction pulmonary disease) of dempingheid. Bij paarden meestal ten gevolge van een allergie-achtige reactie op organisch stof. Dit organisch stof kan spores van schimmels (oa *Aspergillus*) bevatten, LPS van gram (-) bacteriën, peptidoglycaan of LTZ. Soms zijn er ook secundaire infecties aanwezig, meestal veroorzaakt door *Streptococci* (antibiotica bijgeven).
Behandeling: dieren buiten, stof in het voeder beperken (hooi nat maken of luzernekuil) en een bedding zonder stof.

- Virulentiemechanismen bij fungi die een mycose veroorzaken, blz 225-227 lezen, niet kennen

Afweerreacties van de gastheer tegenover mycosen, blz 228-229, lezen, zie bacteriologie.

Diagnose

Er is een onderscheid tussen de diagnose stellen van een mycose (agens (vnl), antistoffen of cellulaire respons aantonen) en die van een mycotoxicose (toxine aantonen of een mycologisch onderzoek maar hiervan is de interpretatie moeilijk).

- Diagnose van een mycose door het aantonen van het agens in stalen van aangetaste dieren

Verzamelen van stalen: in geval van een dermatomycose moet je staal (haren/schilfers, haren niet afknippen maar uittrekken) aan de randen van het letsel genomen worden. Bij het paard zit de huid vol met bacteriën en schimmels waardoor het moeilijk is om hier

mycologisch onderzoek op te doen → wond/letsel eerst 30sec. met alcohol ontsmetten (geen jood! Want dat werkt tegen schimmels) waardoor de bacteriën en saprofyte schimmels gedood worden. Wanneer je dus ook een test wilt doen op de bacteriën moet je eerst hier een staal van nemen voordat je gaat ontsmetten en een staal kunt nemen voor het mycologisch onderzoek.

Bewaren en versturen van de stalen:

- Droge monsters (huid, haren, nagels): bewaren bij kamertemperatuur, de sporen gaan dan niet kapot.
- Vochtige monsters: bewaren bij 4°C en niet langer dan 24u bewaren.
- Swabs: vervoeren in een transportmedium (slappe agar met weinig tot geen voedingsstoffen). De functie van dit transportmedium is dat het oorzakelijk agens (gist) blijft leven en eventuele contaminerende zaken niet kunnen gaan woekeren, je mag niet teveel materiaal/staal op de swab aanbrengen omdat dan wel genoeg voeding aanwezig is voor contaminerende kiemen.

Algemeen: niet bewaren in een plastic zakje omdat er dan condensvocht ontstaat waardoor bacteriën en/of schimmels gaan woekeren.

Mastitis kan door een gist veroorzaakt worden. Je neemt dan een melkstaal die je koelt en binnen 24u (laat) onderzoeken. Of je brengt het melkstaal op een swab en onmiddellijk in een transportmedium.

Verloop van het mycologisch onderzoek: zie practicum bacteriologie

- Rechtstreeks microscopisch onderzoek
Bv Malassezia pachydermatis: otitis en huidaandoeningen bij hond en kat, een grote kiem met typisch uitzicht: (tekening 23)
Kan aanwezig zijn in gezonde oren maar dan zijn ze bij microscopisch onderzoek (bijna) niet te zien vanwege de lage concentratie. Mag niet woekeren want dan ontstaan er symptomen.
- Rechtstreekse identificatie zonder kweek
Bv serologische technieken (ELISA), typische DNA sequenties opzoeken met PCR. Blz 232 lezen niet kennen.
- Schimmel isoleren
 - ✓ Selectie en inoculatie van primaire media: niet selectief milieu (sabouraud dextrose agar), selectief milieu of combinatie milieu
 - ✓ Enting: droge monsters gewoon inplanten in de agar, vochtige monsters in verschillende entrichtingen (zie practicum bacteriologie)
 - ✓ Incubatie: dermatofyten incuberen bij 25°C (uitz T.verrucosum: 37°C), algemene infecties incuberen bij 37°C. Incubatieduur voor Aspergillus is ca 2 dagen, voor dermatofyten minder dan een week (humaan: tot 1mnd)
 - ✓ Identificatie: op basis van morfologie (microscopisch en macroscopisch) (tekening 24) of op basis van andere technieken, lezen, niet kennen

Behandeling blz 236 lezen, niet kennen (zie farmacologie)

Classificatie van het koninkrijk fungi blz 236-240 lezen niet kennen enkel wat we al gezien hebben van de zygomyceten/ascomyceten.

Mitosporische fungi: omvat veel belangrijke fungi in de diergeneeskunde, vermeederen niet seksueel maar onder bepaalde omstandigheden toch. Seksueel (teleomorph) en asexueel (anamorph) stadium krijgen andere namen en ze kunnen zelfs tot andere phyla behoren.

Classificatie van het koninkrijk chromista blz 240/241 lezen niet kennen

De microsporidia: eukaryoten met afwijkende eigenschappen blz 241/242 lezen niet kennen

Voorbeeld examenvragen:

- Op basis van welke indeling kunnen dermatofyten ingedeeld worden en illustreer met voorbeelden.
- Dermatofyten zijn belangrijke pathogene agentia bij huisdieren. Maak een figuur van het uitzicht van deze schimmels bij microscopisch onderzoek van een cultuur. Duid er de verschillende structuren op aan.