

# Bacteriologie

Professor: Prof. Dr. F. Haesebrouck

15 lessen voor de algemene bacteriologie

5 lessen voor de bijzondere bacteriologie

Alles wat in de les gezegd wordt moet gekend zijn voor het examen, de rest niet.

## Examen

Theoretisch	18/20
• meerkeuze (juist / niet juist)	40 punten
• Open vragen	
Algemene bacteriologie + mycologie	40 punten
Bijzondere bacteriologie + mycologie	20 punten
Practisch	2/20
• permanente evaluatie tijdens de practica + vragen	

Voorbeelden open vragen

- bespreek de voornaamste fenotypische verschillen tussen prokaryoten en eukaryoten aan de hand van figuren

Practicum verantwoordelijke

Evelyne de Graaf

# Bacteriologie samenvatting

## Inleiding

### Bacteriologie

- bacteriën
- zijn prokaryoten = geen kenmembraan
- saprolegnia die op

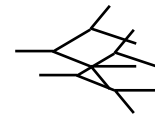
### mycologie

fungi= schimmels  
en chromista met

schimmels lijken

- zijn eukaryoten = wel kenmembraan

Meercellig  
vertakt



eencellig

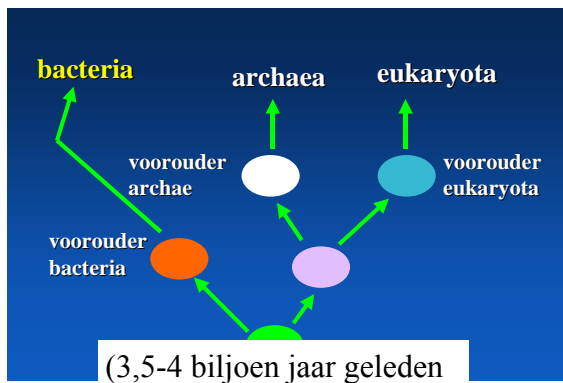
+ gisten   
onderdeel

In deze cursus zijn we vooral de **pathogene** bacteriën en mycologische structuren, dit is maar een heel klein deel (paar procent) van alle bacteriën en mycologische structuren. Het grootste deel van de bacteriën is echter **vrijlevend** zoals de paddestoelen of behoren tot de normale **microbiota**. Deze komt voor op de mucosa en de huid. Ze heeft als **functie** het belletten dat pathogenen aanslaan en ook een rol in de vertering.

Ook zien we bacteriën met die **zoönotisch** zijn = kunnen behalve bij een paar diersoorten ook bij andere diersoorten en de mens ziekte veroorzaken.

### Antibiotica behandeling

- selectief karakter van antibiotica = werken alleen op prokaryoten en niet op eukaryoten
- Niet selectief karakter = ook niet pathogene prokaryoten worden gedood.
- Bovendien opletten voor antibiotica resistentie.



### Afstammingslijnen

- onderzocht door fylogenetisch onderzoek
- Men heeft ontdekt dat al het leven op aarde is ontstaan uit 1 gemeenschappelijke voorouder. Deze heeft aanleiding gegeven voor 3 afstammingslijnen, de bacteria, archaea (beide prokaryoten) en eukaryota, maar staan de archaea dichter bij de eukaryoten.

Nu worden alle levende wezens ingedeeld in 7 koninkrijken

- Bacteria prokaryoten
- Archaea prokaryoten
- Protozoa eukaryoten
- Chromista “
- Plantae “
- Animalia “
- Fungi “

Archeae: bevatten de extremofielen die voorkomen in vulkanen, submariën maar soms ook in intestinale, vaginale of orale plaatsen, maar hun betekenis is nog niet bekend.

### Fenotypische verschillen tussen bacteria en eukaryota

Zie ook figuur schrift figuur 1.

**Antibiotica (goed kennen) examenvraag**

- de volgende Ab verhinderen eiwitsynthese, omdat ze binden op 70S ribosomen en ze zijn dus niet schadelijk voor eukaryoten, want die hebben 80S ribosomen.

**Tetracyclines**

- tetracyline
- Oxytetracycline
- Chloortetracycline
- Doxytetracycline
- Minocycline

**Aminoglycosiden**

- streptomycine
- Neomycine
- Kanamycine
- Gentamycine

**Macroliden**

- erythromycine
- Chlarythromycine
- Tylosine
- Tilmycosine

**Lincosamiden**

- lincomycine
- Clindamycine
- Pirlimycine

**florfenicol**

# Algemene bacteriologie





## Hoofdstuk 1: morfologie en structuur van bacteriën

### Vorm

Gramkleuring:


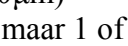
Gr+		Gr-
	1) paars kleuren	
Paars		paars
	2) ontkleuren met alcohol en ethanol	
Paars		kleurloos
	3) tegen kleuren met rood	
Paars		rood

Basisvormen:

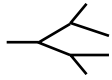



- Coc vorm  Coccobacil  = intermediaire vorm
- bacil vorm  fusiform  = intermediaire vorm

Afwijkende vormen:

Gr+

- spirocheten  = spiraalvormig opgewonden, zeer dun (0,1-0,3µm) en zeer lang (soms meer dan 10µm)
- Leptospira idem,  maar 1 of 2 haakvormig omgebogen uiteinden

Gr-

- Actinomyceten  = prokaryoot die eruit ziet als een schimmel
- mycoplasmen    of nog meer balkvormig
- Kettingvormend = strepto

### Afmetingen

Makkelijk om te vergelijken is de Staphylococcus aureus met een afmeting van 1 µm. Verder zijn er veel grotere, maar ook veel kleinere. De mycoplasma zijn het kleinste.

### Structuur

Zie ook figuur 2 schrift.

**Pili = fimbriae of fibrillae** = proteïnedraden

**Flagellen** = alleen beweeglijk bij bacteriën

**Septaal mesosoom** = bevat het chromosoom

**Plasmamembraan, celwand en kapsel** zie eerder

Zie ook nog wat verder.

### A Genetisch materiaal

Zie ook figuur 3 schrift.

= chromosoom of nucleotide (zo genoemd, want geen kernmembraan)

+ plasmiden

+ speciaal DNA op chromosoom of plasmide zoals transposons, profagen, genomische eilanden en insertiesequenties = (kunnen verspringen op het chromosoom naar een andere plek, idem voor plasmide, maar kunnen ook van chromosoom naar plasmide of andersom springen) Bij dit verspringen kunnen ze een kopie achterlaten, maar dit hoeft niet. Dit is

afhankelijk van de soort.

- genetisch materiaal = 1 chromosoom van ds DNA meestal circulair en bevat alle vitale functies. Het chromosoom kan vermenigvuldigen voor de bacterie deelt ==> meerdere identieke kopieën per bacterie mogelijk.

**Transposon** = dit is een stukje DNA geflankeerd door 2 insertiesequenties, met daartussen ander DNA materiaal, dat de drager is van specifieke fenotypische kenmerken. Dit kan bv een resistentiegen bevatten. Dit springt in zijn geheel over en zo kan een ander plasmide een resistentiegen gaan bevatten en dit overdragen naar een andere bacterie.

### Plasmide

= autonoom extra-extrachromosomaal DNA

= kan autonoom dus zelfstandig vermeerderen

- meestal ook circulaire ds DNA-fragmenten.
- Grote plasmiden komen met minder kopieën voor per cel. Kleine plasmiden juist met meer.
- Veel bacteriën bevatten meerdere types plasmiden, sommige interfereren met elkaars vermenigvuldiging. Indien dit het geval is gaat een van beide verloren dit fenomeen noemt men **incompabiliteit**. Als 2 plasmiden niet naast elkaar kunnen bestaan behoren ze tot dezelfde **inc groep**.
- Coderen meestal voor niet vitale functies als de bacterie in een niet selectieve omgeving zich bevindt. Ze kunnen coderen voor resistentie aan zware metalen, Ab, chemotherapeutica, synthese van virulentiefactoren, ed.

### Profagen

= DNA afkomstig van een bacteriofaag dat zich als plasmide gedraagt of in het genoom geïntegreerd is.

### Genomische eilanden

= vreemd DNA opgenomen uit de omgeving, +/- stabiel is ingebouwd, gegroepeerd en goed omschreven is in het chromosoom of plasmide aanwezig is. Dit kan afwijken van het kenmerkend GC% van een bacterie. Je hebt 2 soorten”

- **pathogeniciteitseilanden** = lineair DNA fragment in chromosoom dat meerdere genen bevat voor virulentiefactoren (virulentie = vermogen van bacterie om ziekte te veroorzaken). Ze hebben een GC% verschil
- **Resistentie-eilanden of integrons** = gebied op chromosoom of transposon dat in staat is resistentiegenen op te nemen.

### B protoplasma

- geen mitochondriën, ER, golgi of microtubuli
- Wel 70S ribosomen die uit een 50S en 30S subunit bestaan. Beide subunits zijn opgebouwd uit eiwit en rRNA. Eukaryoten hebben overeenkomstige ribosomen, maar deze zijn groter en 80S.

### C de plasmamembraan

Zie schrift tekening 4.

- dubbele fosfolipidenlaag waarin ook glycolipiden en eiwitten voorkomen.
- Hebben geen sterolen (eukaryoten wel), behalve mycoplasmen die sterolen uit de omgeving op kunnen nemen.
- Er kunnen invaginaties of **mesosomen** worden gevormd. **Septaal mesosoom** zijn de

twee mesosomen die na elkaar toe groeien bij de binaire deling. Een ervan houdt het chromosoom en zijn kopie goed vast.

- Verder identieke functie als bij eukaryoten

### **D de celwand**

- geeft bacterie steun en structuur, nodig want anders zou door osmotische druk de bacterie barsten door wateraanzuiging.
- Bacteriën worden dus opgedeeld in Gr+ en Gr-. Hun celwanden zijn anders. Binnen de Gr+ heb je nog de gewone en bijzondere celwanden die er ieder ook anders uitzien.
- $\beta$ -lactam antibiotica, zullen ervoor zorgen dat de bacterie bij zijn groei geen celwand aanmaakt en de bacteriën gaan dus dood.

$\beta$ -lactam antibiotica

- Penicillines
  - Penicilline
  - Ampicilline
  - amoxicilline
- Cephalalosporines

### **Peptidoglycaan**

Zie fig 5.

- oligopeptidebruggen komen niet altijd voor, dan liggen de tetrapeptide zijketens gewoon tegen elkaar. Bij de meeste Gr- komen ze niet voor en soms niet bij Gr+.
- De kleur van de gramkleuring wordt bepaald door de hoeveelheid peptidoglycaan. Bij de Gr+ komt er een dikke laag voor, bij de Gr- een dunne laag.
- Synthes peptidoglycaan: zie ook fig 6. Aparte eenheden in protoplasma gevormd en door een eiwit aan elkaar gemaakt = gepolymeriseerd, maar als dit eiwit door B-lactam is gebonden werkt het niet en krijg je een slecht eiwit.

### **Celwand van gewone Gr+**

Zie ook fig 7 en 8.

Eigenschappen LTZ en TZ:

- het zijn oppervlakte antigenen met het stuk dat buiten de peptidoglycaan laag uitsteekt.
- Rol in opname Ca en Mg
- Zorgen voor adhesie aan gastheercellen = 1e stap in infectie (al dan niet geholpen door de eiwitten in de peptidoglycaanlaag)
- Belangrijk voor structuur celwand en essentieel voor groei.
- LTZ heeft ook toxische eigenschappen en zorgt voor de ontstekingsreactie van het dier, dus koorts, shock en mogelijk sterfte.
- LTZ is ook analoog van LPS in Gr- celwand
- LPS = lipopolysaccharide en is ook een endotoxine

### **Celwand van bijzondere Gr+**

- Zie ook fig 9.
- oa Mycobacterium Nocardia, Corynebacterium en Rhodococcus.
- Mycobacterium: veroorzaker tuberculose of TBC en door M. avium ook paratuberculose. Dit laatste geeft diarree bij vrwl dieren van 2-5 jaar en is onbehandelbaar met Ab.
- Corynebacterium: geeft etterabscessen
- Rhodococcus equi geeft vnl bij veulens jonger dan 6 maand longabscessen
- Nocardia geeft mastitis bij runderen.

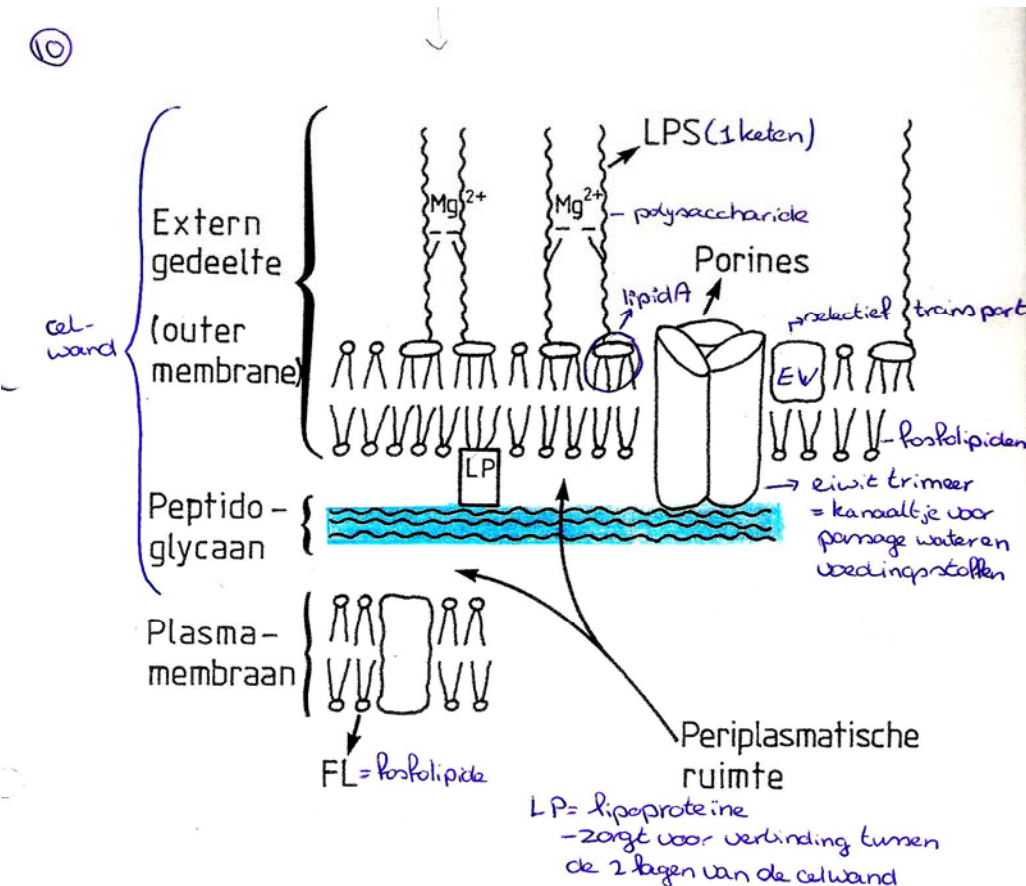
- Lipoglycanen: best gekende = LAM of lipoarabinomannan en komt oa voor bij mycobacterium. Het LAM lokt macrofagen die TNF uitscheiden = tumor Necrosis Factor wat leidt tot letsels.

### Celwand van Gr- EX vraag

Zie ook fig 10

- buitenste laag = fosfolipiden, lipoproteïnen, proteïnen en lipopolysacchariden, met elk hun eigen functie. Zie figuur. Proteïnen kunnen porines vormen, andere doen aan selectief transport van allerlei stoffen en nog ander kunnen instaan voor de productie van het kapsel. Ook kunnen ze een receptor voor Ab zijn of als receptor voor pili bij bacteriële conjugatie. En zeker belangrijk is dat ze een rol spelen in de ijzeropname.
- Stoffen zoals polymyxines gaan de structuur van de LPS verstoren, zodat er toxische stoffen door de celwand kunnen en de bacterie sterft.
- Functie LPS = verhinderen dat schadelijke stoffen dieper in de celwand dringen. Dit komt doordat verschillende LPS door kationen bij elkaar worden gehouden. De toevoeging van chelatoren als EDTA en polymyxines gaat deze structuur verloren. Ok bescherming tegen complement.
- Endotoxines van Gr- celwand: endotoxines zijn structuren in de outer membrane van de celwand die vrijkomen bij lyse of bij kiemvermeerdering en bij de gastheer oa het complement activeren en zou ontsteking kunnen veroorzaken. Een van de structuren is LPS. Aangezien bacteriën overal voorkomen en vermeerderen en lyse ondergaan, komt ook het LPS en endotoxine overal voor. Dus een naald die op de grond valt kan bij het geïnjecteerde dier al een endotoxine shock veroorzaken.

Zie figuur 11 voor belangrijk stuk over ijzeropname.



Nog even kijken naar O-antigenen enz in gram—celwand, dus stuk vanaf blz 36 nog even lezen.

Stuk van blz 36-45

Virulentie factor van fimbriae = rol in vasthechting bacterie aan doelwitcel met als voorbeeld de ETEC of enterotoxigene E. coli, wat een facultatief pathogene bacterie is. Op bloedagar te zien als lichte zones, want zijn hemolytisch. Deze veroorzaken een waterige diarree bij neonatale biggen (1-3 dagen na geboorte), oudere biggen en speendiarree. Juist deze groepen zijn gevoelig, omdat ze bepaalde receptoren hebben waarop de kiem moet binden met zijn F4 fimbriae. Ander types met F5, F5, F41 fimbriae zijn niet hemolytisch en geven alleen neonatale diarree. Ook bij herkauwers kunnen ze neonatale diarree veroorzaken en bij mensen reizigersdiarree. Vasthechting is belangrijk, want anders wordt de kiem door de snelle peristaltiek en spoelingseffect van spijsverteringssappen te vlug door de dd en DD gevoerd zodat hij zich niet kan vasthechten en geen ziekte kan veroorzaken. ETEC: eerst adhesie dan xxx en als 3e enterotoxines die inwerken op enzymssystemen en zo diarree veroorzaken. Zie fig 14 schrift.

Virulentiefactoren =

- adhesie factoren zoals fimbriae
- Exotoxines met als onderdeel de enterotoxines specifiek voor het spijsverteringsstelsel waarbij bij deze laatste nog onderscheid wordt gemaakt tussen Thermo Stabiele TS en Thermo Labiele TL soorten. De TL zijn eiwitten met hoog MG en dus goede antigenen. De TS zijn kleinere polypeptideketens met laag MG en dus slechte Ag, waartegen geen As worden gemaakt.

## G endosporen

oa gevormd door bacteriën van *Bacillus* en *Clostridium* en meestal bij de overgang van gunstige naar ongunstige omstandigheden. Het zijn dus weerstandvormen om te overleven aan oa koken en ontsmettingsmiddelen. Het is een kleine cel inclusief bacterieel DNA die omgeven is door zeer resistente eiwitten. Spores worden aangeduid volgens met 2 termen:

- centraal, terminaal etc
- En deformerend (uitstekend als bolletje aan oppervlak) of niet deformerend.

*Clostridium* perfringens heeft subterminale deformerende spores en veroorzaakt oa gasgangreen.

## H bacteriën met een afwijkende structuur

*Mycoplasmen* en *Ureaplasma* : geen celwand en kunnen dus allerlei vormen aannemen

*Chlamydia* en *Chlamidophila*: obligaat intercellulaire vermeerdering van Gr- en hun celwand bevat geen peptidoglycaan. Het gevolg is dat je ze moet kweken op een celcultuur en niet op een broedplaat.

*Spirochetes*: hebben een kernmerkende spiraalvorm met 1 of 2 haakvormig omgebogen uiteinden. Zie figuur 13 in schrift. Het geheel is omgebouwd om een axiaal filament dat eigenlijk een soort gewijzigde flagel is en het geheel zal spiraalvormig zicht rondbewegen. De cytoplasmacilinder of protoplasmacylinder is natuurlijk nog wel omgeven door een Gr- celwand.

Examenvragen zie minerva

## Hoofdstuk 2: metabolisme en groei van bacteriën

### 1: indeling op basis van hun stofwisseling

**Indeling op manier hoe ze aan hun C bron komen = ook energie**

**Heterotrofe bacteriën:** gebruiken organische verbindingen als energiebron

**Autotrofe bacteriën:** gebruiken C1 verbindingen als CO<sub>2</sub> en CH<sub>4</sub> (methaan) als energiebron.

**Indeling hoe ze aan hun andere energie komen**

**Fototrofe bacteriën:** doen aan fotosynthese en gebruiken licht als energiebron

**Chemotrofe bacteriën:** halen hun energie uit een chemische verbinding. Deze groep wordt nog ingedeeld in een chemo-autotrofe en chemo-heterotrofe groep. Alle pathogene bacteriën behoren tot de chemo-heterotrofen. Wat betekent dat zowel hun energie als koolstofbron een complexe organische stof is als suiker, Az of vet en dus geen CO<sub>2</sub> of methaan.

**Indeling van de chemo-heterotrofen:**

**Obligaat oxydatieve bacteriën:** hebben overdracht van elektronen van de energiebron en dus organische stof naar een elektronen acceptor. Dit proces wordt respiratie genoemd. En is de tegenhanger van fermentatie, waar er geen elektronen overdracht is. In het geval van de aerobe respiratie is de terminale acceptor dus zuurstof. : de bekende  $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energie}$  .

anaeroob en is SO<sub>4</sub> de terminale acceptor. Of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, maar hierbij ontstaat er minder energie dan bij aerobe respiratie. Het berust op  $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$  of  $SO_4^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} \rightarrow S^{2-}$

**Obligaat fermentatieve bacteriën:** hebben geen elektronen overdracht.

Energiebron (suiker) + P → E + I1 + P → E + I2 + P → enz zodat er een eindproduct als een organisch zuur of alcohol ontstaat

**Facultatief fermentatieve bacteriën:** kunnen energie uit respiratie en fermentatie halen.

## 2: zuurtegraad

De meeste pathogene kiemen groeien goed bij een neutrale pH van 7-7,5. De meeste gaan dood bij een pH lager dan 4, enkele uitzonderingen als de mycobacteriën (kunnen ook bij alkalische pH's vermeerderen) daargelaten, deze vermeerderen niet, maar gaan ook niet dood. Een toepassing is het aanzuren van voedsel om het beter te bewaren.

## 3: CO<sub>2</sub> of koolstofdioxide concentratie

Normaal is dit 0,03% in de atmosfeer en is nodig voor alle micro-organismen om te groeien. Hiernaast zijn er nog een aantal die **capnofiele bacteriën** worden genoemd en 5-10% CO<sub>2</sub> nodig voor een vermeerdering. Kweken hiermee doe je dus in een broedstoof.

## 4: de O<sub>2</sub> of zuurstofconcentratie

Zuurstof + water geeft zuurstofradicalen. De meeste bacteriën kunnen hier niet tegen, degene die dan toch nog kunnen vermeerderen hebben stoffen om radicalen af te breken of neutraliseren. Een aantal van die radicalen die ontstaan zijn: O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (superoxide) en OH<sup>-</sup> (hydroxy).

**Obligaat aërobe bacteriën:** O<sub>2</sub> is vereist voor groei (hebben dus enzymen om O<sub>2</sub> af te breken en de radicalen te neutraliseren)

**Facultatief anaërobe bacteriën:** groeien in aan en afwezigheid van zuurstof

**Micro-ärofielen:** strikt aëroob, maar geen groei in de normale atmosfeer van 20% O<sub>2</sub>, maar een lagere waarde van 6%. Dit komt uiteraard ook in het lichaam voor.

**Obligaat anaërobe bacteriën:** alleen groei in afwezigheid van zuurstof. Een aantal sterven af in contact met zuurstof andere vormen endosporen.

## 5: temperatuur

**Minimale groeitemperatuur:** hoogte van de soort afh, maar hierboven gaat de bacterie groeien.

**Optimale groeitemperatuur:** de groei gaat het snelst

**Maximale groeitemperatuur:** essentiële componenten als eizitten, DNA en RNA worden beschadigd en groei valt stil.

**Psychrofiële bacteriën:** groeien goed bij lage temperaturen, als koelkasten en koudbloeddieren.

**Mesofiele bacteriën:** groeien tussen 10-50 graden C en veroorzaken meestal ziekten bij warmbloeddieren.

**Psychrotolerante bacteriën:** mesofielen die ook bij frigotemperatuur vermeerderen

**Thermofiele bacteriën:** groeien tussen 40-90 graden C en komen in mest en warmwaterbronnen voor.

### **6: vocht en osmotische druk**

Leven meestal in isotonisch milieu, maar in hyper- of hypotoon milieu gaan ze niet dood, omdat een sterke celwand ze tegen te sterke vervorming behoed. Hypertoon milieu is overigens na een tijdje wel dodelijk en veroorzaakt plasmolyse, behalve voor halofielen uit bv de zee. Dit gebruikt men ook bij de bewaring van voedsel doorinzouten of suiker toevoegen. Let wel op dat vaak de bacteriën wel slapen en bij verwijdering van deze ongunstige omstandigheden weer gaan leven.

Plasmolyse wordt ook gebruikt om bacteriën te bewaren, men vriest ze snel in en droogt ze snel onder vacuüm = lyofilisatie en kunnen zo jaren bewaart blijven.

### **Groei en vermenigvuldiging**

Dit gebeurt door binaire deling, de lengtegroei neemt toe en het chromosoom wordt verdubbeld. De protoplasmamembraan groeit thv de septale mesosomen naar binnen en vormt zo 2 nieuwe cellen die genetisch hetzelfde materiaal bezitten.

**Generatietijd** = de tijd tussen 2 delingen. Deze is op een gegeven moment constant en meestal rond de 15 minuten, in ieder geval vrij kort, muv mycobacterium bovis, die een generatietijd van 18 uur.

Rest van dit hoofdstuk zie practicum

### **H3: Bacteriële genetica**

Genetisch materiaal = chromosoom of nucleotide, autonoom extra-chromosomaal DNA als plasmiden en genetische elementen met een zekere autonomie die zich bevinden op het chromosoom of plasmide zoals profagen, insertiesequenties, transposons en genomische eilanden.

Expressie van genen hangt af van tal van regulatiemechanismen. Zo zullen sommige bacteriën op een broedplaat geen fimbriae hebben en in de darm wel. Zie ook eerder over transferrine bindende proteïnes.

### **Fenotypische variatie en genotypische variatie**

**Fenotypische variatie:** hierbij komt er een nieuwe eigenschap tot uiting die voorheen wel in het genoom aanwezig was, maar niet tot expressie werd gebracht. Dus geen wijzigingen op DNA niveau. Dus bv verschijnen van fimbriae of transferrine bindende eiwitten.

**Genotypische variatie:** hierbij is er wel genoomwijziging, waardoor een bacterie zijn eigenschap wijzigt, verliest of verwerft. Meestal is dit maar bij een beperkt aantal bacteriën van de populatie.

### **Mogelijkheden tot wijziging van het genetische materiaal**

**1) mutatie** = overerfbare mutaties in de DNA sequentie. Het is meestal een fout in de binaire deling, die als puntmutatie zich kan voordoen of zelfs als breuk van de keten waardoor deletie of inversie kunnen optreden. Het aantal spontane mutaties is gemiddeld met een aantal

van 1 op  $10^5$  tot  $10^{11}$  bacteriën voor.

Vb: verworven resistentie tegen streptomycine. Normaal bindt dit Ab op het 30S ribosoom van de E. Coli, zodat er geen eiwitvermeerdering en dus totaal geen vermeerdering van de bacteriën meer is. Stel dat de mutatie nu invloed heeft op het uitzicht van de 30S subunit en het ribosoom blijft nog wel functioneel, dan kan het streptomycine misschien niet meer binden en is de bacterie ongevoelig voor het Ab.

Je kunt hier op selecteren in vitro. Je neemt een bouillon met bacteriën, laat ze goed delen en voegt daar je Ab aan toe. Degene die een mutatie hebben ondergaan en nu resistent zijn zullen overleven, de rest gaat dood. De nieuwe cultuur bestaat dus uit allemaal resistente bacteriën. Maar let op in vivo verloopt dit ook zo. Iedere keer dat je een Ab gebruikt zal er een klein deel van de bacteriën niet sterven en een nieuwe resistente kolonie opbouwen.

**2) transformatie** = hierbij gaat een receptor bacterie DNA opnemen van een donor bacterie en het recombineren in het eigen DNA. Zie ook figuur 15. Een bacterie die een stukje DNA kan opnemen noemt men competente bacteriën.

**Natuurlijke transformatie** = wordt uitgelegd met het voorbeeld van verworven resistentie tegenover penicilline Ab door verandering in de penicillinebindende proteïnes van *Streptococcus pneumoniae*. In normale microbiota van de mens komt deze facultatief pathogene kiem voor die longontsteking of septicemie kan veroorzaken. Normaal is deze gevoelig voor de penicilline. Dit penicilline bindt op het penicilline bindend proteïne PBP in de plasmamembraan van de bacterie en zorgt dat ze geen celwand kan vormen en dood gaat. Nu komen er in de microbiota ook streptococci voor die een iets anders PBP hebben, maar ook gevoelig zijn. Als natuurlijk of door Ab de kiemen nu afsterven komt hun DNA vrij, ook die stukje coderend voor de PBP. Deze kunnen opgenomen worden door een normale streptococci en ingebouwd in zijn genoom. Zo krijgt deze mozaïek genen. Er treedt ook een recombinatie op van de PBP, waardoor penicilline niet meer kan binden. Zie ook figuur 16.

**Artificiële transformatie** = Niet alle bacteriën zijn competent, maar in het labo kan via elektroporatie = een sterke elektrische ontlading door een mengsel van DNA en bacteriën in combinatie met hoge concentraties cadmiumionen en bij lage temperatuur, toch iets geforceerd binnen brengen.

**3) lysogene conversie** = bacterie verwerft nieuwe eigenschappen doordat ze wordt geïnfecteerd met een getemperde bacteriofaag.

**Bacteriofaag** = virussen die bacteriën parasiteren. Hun DNA is meestal dubbel strengig. De faag bindt aan het oppervlak van de bacterie thv een specifieke receptor en spuit zijn DNA in. Nu kan er een **lytische cyclus of lysogene cyclus volgen**.

**Lytische cyclus** = is altijd bij virulente fagen het eerste. Het bestaat uit

- absorptie aan bacterie
- penetratie doorheen de celwand
- biosynthese door de bacterie van nieuw faag DNA en eiwitten
- rijping, wat inhoudt dat het DNA en de eiwitten (oa kapsied) samengesteld worden tot nieuwe fagen
- vrijkomen van nieuwe virussen, door uiteenvallen van de bacterie.

**Lysogene cyclus** = komt voor bij getemperde fagen

- adsorptie
- penetratie
- het faag gen dat is ingebracht codeert voor een repressor eiwit dat door de bacterie wordt geproduceerd en dat de faagproductie onderdrukt. Hierna zal het DNA geïncorporeerd worden in dit van de bacterie en wordt **profaag** genoemd.
- De bacterie gaat zich vermenigvuldigen en er ontstaat een hele kolonie met nieuwe bacteriën inclusief profaag.

- Nu wordt er geswitched naar en lytische cyclus doordat de concentratie aan repressor eiwitten verminderd. Zie figuur 17.

### **Botulisme**

= intoxicatie (want vermeerdering in voeder en exotoxines veroorzaken ziekte en niet de bacterie, dus geen infectie) veroorzaakt door de opname van bijzonder krachtige exotoxines van *Clostridium botulinum*. De aandoening wordt gekenmerkt door ontstaan van verlamingsverschijnselen. De kiem is een Gr+, sporenvormer (deformerend en subterminaal) die strikt anaëroob is. Ze wordt onderverdeeld in 7 types A, B, C, D, E, F en G en die respectievelijk de toxines A t/m G vormen. Ze verschillen onderling in antigenische verschillen en hebben geen kruisimmunititeit.

Mens: A,B,E en F

Paard, rund en kleine herkauwers: B, C1 en D

Hond en kat weinig gevoelig.

Kippen en watervogels: C1 en dit is tevens het enigste voorbeeld dat je moet kennen.

Epidemiologie: de toxines binden thv van de motorische eindplaat van zenuwvezels en voorkomen zo de vrijstelling van Ach en hierdoor is er geen contractie meer mogelijk en heb je verlamming.

Omstandigheden: gunstige temperatuur, geen zuurstof, dode vegetatie of slib voor vermeerdering.

Proces: vissen en eenden sterven en hun mest bevat spores (ze zijn hier niet aan overleden). Andere bacteriën gaan xxx en verbruiken de O<sub>2</sub> op. Gevolg is een ideale bron voor ontluiking en xxxx in van de kiemen van botulisme. Als er dan aan de voorwaarde voor toxineproductie is voldaan heb je een kadaver besmet met toxines. Het kadaver ontbindt en vliegen leggen er eieren op, dus krijg je maden en stukjes kadaver besmet met toxine. Een eend kan dit opeten, waardoor de eend ziek wordt en verlamt raakt. Uiteindelijk zal de eend sterven aan verstikking of verdrinking en kan de cyclus weer opnieuw beginnen.

Dus vooral uitbraken in de zomer in een bepaalde vijver.

Bestrijding: meer O<sub>2</sub> in water, kadavers verwijderen en temperatuur dalen.

Voorwaarden voor toxineproductie:

- anaëroob milieu
- temperatuur hoger dan 20 graden C
- vocht
- pH neutraal tussen 7 en 7,5
- voldoende eiwit aanwezig

### **4)transductie** zie ook fig 18.

= uitwisseling van bacterieel DNA tussen 2 bacteriën door tussenkomst van een bacteriofaag en komt bijgevolg alleen voor als er iets fout gaat bij de replicatie van de bacteriofaag in de eerste bacterie.

**Beperkte transductie** = bij het verlaten van het bacterieel DNA wordt er op de verkeerde plaats geknipt en blijft een stukje van de profaag achter en een stukje bacterieel DNA verdwijnt. Als er niet teveel faag materiaal verloren gaat wordt een goede faag gevormd en wordt een volgende bacterie, waar op dezelfde plaats het DNA wordt ingebouwd, voorzien van een stukje DNA van de donorbacterie en kan zo een nieuwe eigenschap verwerven. Het beperkte slaat op het feit dat het altijd dezelfde genen zijn die zo worden overgebracht, omdat de profaag zich altijd op dezelfde plaats inbouwd. Dit kan alleen bij een getemperde faag.

**Veralgemeende transductie** = dit kan bij getemperde (altijd lysogene cyclus) en virulente fagen (altijd lytische cyclus). Vlak voor de cellyse wordt het bacterieel DNA versnippert. Nu kan het gebeuren dat een faag ook een stukje bacterieel DNA opneemt. Dit kan van overal

van het chromosoom afkomstig zijn en is daarom algemeen.

### **5 Transposons en insertiesequenties** zie fig 19

**Insertiesequenties** = bepaalde DNA stukken die in een DNA molecule of tussen 2 DNA moleculen kunnen verspringen en zich niets van de gangbare recombinatie aantrekken.

**Transposon** = insertiesequenties die ook nog drager zijn van specifieke fenotypische kenmerken.

### **6 conjugatie**

=overdracht van genetisch materiaal van een donor naar een acceptorbacterie via een eiwit-tunnel. Het kan bij bacteriën door speciale overdraagbare plasmiden (dus niet alle plasmiden) geïnduceerd worden. Ook transposons kunnen op deze manier worden overgedragen.

**Plasmide-gemedieerde conjugatie** = in de donorbacterie gaat het uit van een overdraagbaar plasmide, dit is een plasmide dat genen bevat die coderen voor de sekspili. De gene die coderen voor conjugatie noemt men tra-genen van transfer genen. Naast deze informatie bezit zo'n plasmide nog allerlei andere genen zoals genen voor Ab-resistentie en virulentiefactoren. Naast de overdraagbare plasmiden zijn er ook **mobiliseerbare genen**. Het fenomeen van mobilisatie kan optreden als een bacterie een overdraagbaar plasmide heeft voor de sekspili en als het mobiliseerbaar plasmide via dit kanaal overgaat naar de acceptorbacterie. Ook chromosomale genen kunnen overgedragen worden op deze manier, maar komt minder frequent voor. Let op bij deze manieren van conjugatie blijft er altijd een kopie achter in de donorbacterie. Ook Gr<sup>+</sup> conjugeren op deze manier alleen zijn de sekspili meestal afwezig.

**Conjugatie via transposons** = kan tussen Gr<sup>-</sup> en Gr<sup>+</sup> onderling en tussen Gr<sup>-</sup> en Gr<sup>+</sup>. Deze transposons bevinden zich in het chromosoom van de donor. Ze kunnen delen van het chromosoom overbrengen, maar ook kunnen ze in plasmiden zitten en deze overbrengen door ze overdraagbaar te maken of te mobiliseren bij mobilisatie. Zie figuur 21.

### **Antibiotica resistentie**

#### **Zie ook practica**

**Microbiologisch criterium** = wordt vooral gebruikt om verworven antibiotica resistentie na te gaan. Men bepaald de **minimum inhibitorische concentratie of MIC-waarde** van dit antibiotica voor een bepaalde bacterie stam. MIC = laagste concentratie van een Ab die de groei van een bacteriestam volledig inhibeert = bacteriostatisch effect. Dus aan een bouillon met bacterien verschillende concentraties van Ab toevoegen en kijken waar er geen groei meer optreed.

**Genetisch criterium** = men kijkt of bepaalde genen die coderen voor resistentie aanwezig zijn in een bepaalde stam. Indien aanwezig dan meestal resistent, tenzij ze niet tot expressie komen. Voorwaarde is wel dat het mechanisme en de genen die de resistentie veroorzaken gekend zijn.

**Farmacologisch criterium** = Men gaat de MIC waarde van de bacterie bepalen en kijkt dan of dit in bepaalde weefsels bereikt kan worden.

**Klinisch criterium** = men bepaald in vitro de MIC waarde van een bacterie aan een bepaald Ab. De omstandigheden van de proef zijn hetzelfde als ze in het dier zouden zijn. En men kan dus zien of een behandeling succesvol is in het dier of niet.

**Natuurlijke ongevoeligheid of natuurlijke resistentie** = iedere bacteriesoort vertoont een specifieke gevoeligheid tegenover verschillende Ab. Dit is de normale gevoeligheid of resistentie. Vb

Beta-lactam en polymyxines werken in op de celwand en aangezien mycoplasmen geen celwand hebben zijn ze van nature uit hier resistent aan.

**Verworven Ab-resistentie** = een species dat normaal gevoelig is aan een Ab is dat nu niet,

door een wijziging in het genetisch materiaal.

**Kruisresistentie** = de bacterie vertoont ook verworven resistentie tegenover Ab die eenzelfde scheikundige formule hebben of op het hetzelfde doelwit binden. Dit kan algemeen zijn tegen alle of beperkter tegen een paar van de Ab van deze familie. Vb. het ermB = erythromycine resistentie methylase gen van streptococcon codeert voor resistentie tegen macroliden en lincosamiden. Het mefA of macroliden efflux gen codeert enkel tegen 14 en 15 ring macroliden en blijft werkzaam tegen 16 ring macroliden.

Er bestaan oa kruisreacties tussen ampicilline en amoxycilline en men moet hier rekening mee houden bij de interpretatie van antibiogrammen.

**Multipele resistentie** = een bacterie wordt resistent aan verschillende Ab waartegen geen kruisresistentie bestaat. Dit komt doordat er plasmiden zijn die in staat zijn om meerdere resistentiegenen te accumuleren.

Let op: er kan coselectie op treden. Als een dier met multipele resistentie ongevoelig wordt voor Ab 1 en er worden bacteriën geselecteerd die dit resistentiegen bevatten op een plasmide met multipele resistentie, dan zijn ze ineens ook ongevoelig aan die ander Ab.

### **Genetische basis van verworven resistentie**

Door mutatie of overdracht van resistentiegenen.

**Mutatie** = heeft meestal betrekking op chromosomale genen. Door het Ab worden de bacteriën geselecteerd die een **toevallige** mutatie hebben gehad en ongevoelig zijn voor dat Ab, omdat alle ander dood gaan. Een Ab induceert dus geen mutatie. Deze vorm van resistentie wordt verticaal doorgegeven van de ene bacterie op zijn nakomelingen bij binaire deling. Soms is 1 mutatie al voldoende om resistentie te bekomen = **single step resistance**. Dit staat tegenover **multi step resistance** waar meerdere mutaties voor nodig zijn.

**Infectieuze of overdraagbare resistentie** = heeft meestal betrekking op plasmiden of transposons. Dit kan wel horizontaal worden overgedragen.

### **Mechanisme van verworven Ab-resistentie**

**Structurele veranderingen van het doelwit** = het doelwit wijzigt en het Ab kan niet meer binden en de kiem is niet meer gevoelig.

- Vb sommige Ab binden op ribosomale eiwitten van een kiem en interfereren dus met de eiwitsynthese als er een wijziging bv een mutatie is in dit gen, veranderd de structuur van het ribosomaal eiwit en kan het Ab niet meer binden. Als voorwaarde is dan wel dat het ribosoom nog wel een goede functie uit kan voeren.
- Resistentie tegenover macroliden bij Gr+ kokken = ze binden thv de 50S subunit. er zijn meerdere genen die erm A t/m Z worden genoemd die als ze mutatie ondergaan een soort resistentie geven.

**Reductie van de accumulatie van het Ab in de bacterie.** = selectieve belemmering van de opname van het Ab (verminderde permeabiliteit op transport) of een verhoogde excretie van het Ab.

**Productie van enzymen die Ab of chemotherapeutica inactiveren** = hun genen zijn meestal gelegen op extra-chromosomaal DNA. Een voorbeeld zijn genen tegen beta-lactamase in stafylokokken en *Enterobacteriaceae*. Ze wijzigen het Ab door er iets op te zetten of af te halen, waardoor het Ab zijn kiem niet meer kan binden en dus de bacterie ongevoelig is.

### **Ab en chemotherapeutica**

**Ab** = een stof die oorspronkelijk werd geïsoleerd uit schimmels of bacteriën en later worden sommige van deze stoffen synthetisch nagemaakt of gewijzigd.

**Chemotherapeuticum** = wordt niet geproduceerd door bacteriën of schimmels en is zuiver

synthetisch gemaakt.

Buiten dit verschil werken ze wel identiek.

**Selectieve werking** = ze werken alleen op bacteriën en niet op eukaryote cellen. Dit is gebaseerd op een aantal biochemische verschillen tussen bacterie en gastheerweefsel, als ribosomen, celwand ea.

### **Antimicrobieel spectrum van Ab en chemotherapeutica**

**Antimicrobieel spectrum van Ab** = het gedeelte van de bacteriën waartegen het Ab werkzaam is. Voorbeelden van spectra zijn Gr-, Gr+, breed en smal.

**Breed spectrum Ab** = zijn actief op de belangrijkste vertegenwoordigers van Gr- en Gr+.

**Let wel op de begrippen mogen zeker niet te letterlijk genomen worden.**

**Gr- spectrum** = aminoglycosiden en werken op 30S deel ribosoom

- streptomycine
- kanamycine
- neomycine
- gentamycine

**Gr+ spectrum** = penicilline

**Bactericid** = doden bacteriën en als ze allemaal worden gedood treed er geen heropflakking van de groei op.

**Bacteriostatisch** = groei van bacteriën

### **Indeling van bacteriën**

1. **pathogeen en niet pathogeen** maar de meeste zijn niet pathogeen
2. **vrijlevend en symbiotisch** tot deze laatste groep horen de mutualisten (levensnoodzakelijk voor de gastheer zoals pensbacteriën), commensalen (niet noodzakelijk, maar wel nuttig en niet schadelijk, sommige echter wel facultatief pathogeen) en de parasieten (wel schadelijk voor gastheer). Een ander voordeel van de mutualisten en commensale is dat ze zorgen voor kolonisatieresistentie. Doordat ze aanwezig zijn is er geen plaats voor pathogenen om aan te slaan. Dit verklaart waarom eendagkuikens die nog geen goede microflora hebben wel ziek worden bij contact met een klein aantal Salmonella's en volwassen kippen niet.

### **Antibiotica als geneesmiddel**

**Bacteriostatisch** = groeistilstand

**Bacteriocid** = celdood

Selectief = ze werken alleen op bacteriën en niet op gastheercellen

Niet-selectief = ze werken niet alleen op de schadelijke of potentieel schadelijk bacteriën, maar ook op de goede.

### **Nadelen van gebruik van Ab**

- Het niet selectief karakter, hierdoor wordt de patient tijdelijk gevoeliger aan schadelijke bacteriën, omdat er dan geen kolonisatie resistentie is. Daarom zijn breed spectrum Ab slechter dan eng spectrum Ab.
- Spreiding van Ab resistentie wordt in de hand gewerkt. Gevoelige kiemen worden onderdrukt en de resistente gaan overleven en een nieuwe kolonie vormen. Dit kan leiden tot het feit dat therapie geen enkel zichtbare verbetering geeft.
- Resistentie selectie gebeurt ook bij de normale kiemen van huid en slijmvliezen, waardoor de facultatief pathogenen in het voordeel kunnen komen en later mogelijk ziekte veroorzaken.

- Groepsmedicatie geeft ook meer spreiding van resistentie kiemen dan individuele medicatie

### **Gevolgen van Ab resistentie bij kiemen van dieren**

- eerdere behandeling bij het dier kan tot gevolg hebben dat hetzelfde Ab niet meer werkt.
- Resistentiegenen kunnen spreiden van dierlijke bacteriën naar omgevingskiemen door contaminatie van het milieu met Ab, waardoor in het milieu door selectiedruk de resistentie kiemen worden geselecteerd. Dit is een gevaar bij bv drinkwater of vij-verwater medicatie.
- Onder bepaalde omstandigheden kan Ab resistentie ook spreiden van bacterie naar de mens, maar meestal is resistentieprobleem bij de mens te wijten aan overmatig Ab gebruik bij de mens zelf.

Spreiding naar de mens:

- Zoönotische bacteriën die van dieren of dierlijke producten naar de mens kunnen gaan en daar ziekte kunnen veroorzaken. Voorbeelden zijn *Salmonella* en *Campylobacter*. Als er dus bij de dieren resistentie kiemen aanwezig zijn, dan kan dat problemen geven om zieke mensen te behandelen. Dit is **direct effect**. Pluimvee wordt om andere redenen behandeld met enrofloxacin en selecteren resistentie campylobacters. De mens eet ze op en raakt besmet in DD en mens is bijgevolg niet meer te behandelen met fluoroginolonen. Hoe het vlees besmet raakt: Door ontdooi vocht dat na het braden de kip opnieuw besmet. Of als dit vocht in aanraking komt met bv de salade. Of het wordt slecht verhit op de barbecue.
- Er is ook een **indirect effect**. Ab gebruik leidt tot resistentieselectie bij de normale microbiota kiemen van het dier. Deze kiemen kunnen hun resistentiegenen eventueel overzetten naar die bij de mens door conjugatie na opname door de mens die zo ook een resistentie microbiota krijgt.

Voorbeeld is *Campylobacter*

- *C. jejuni* : bij pluimvee en vormt belangrijkste besmettingsbron voor de mens.
- *C. coli* : varken
- Bevinden zich in ileum en colon
- Gevolgen: enteritis, diarree, algemene symptomen en duurt ongeveer 1 week. Soms komt het in het bloed terecht en dan krijgt men complicaties. Maar hiervoor is infectiedruk en YOPI belangrijk (I = immunosuppressie). In deze gevallen is het ook raadzaam om Ab te geven.

### **Faagtherapie als alternatief voor Ab therapie**

**Lytische fagen** = vermeerderen in hun gastheer bacterie en doden hem daarmee. Dit klinkt positief voor behandeling van bacteriële ziektes, maar proeven waren niet zo succesvol.

Voordelen:

- veel fagen zijn gastheerspecifiek, dus pathogenen uitschakelen en niet microbiota.
- Fagen zijn vrij resistent in de omgeving
- Fagen vermeerderen zichzelf in de kiem, dus weinig van nodig

Nadelen:

- de gastheerspecificiteit gaat zo ver dat niet alle stammen binnen een species worden aangetast. En soms niet eens alle stammen binnen een serovar. ==> mengsel van fagen moet gebruikt worden.
- De faag moet de bacterie bereiken, in een vloeibaar milieu in labo of bloed is dit geen probleem, maar in bv de darmwand wel. Hierdoor grote aantallen fagen nodig.

Voorbeeld van gebruik: Op karkas van bv een kip kan met fagen vernevelen in het slachthuis, zodat die de Salmonella's gaan lyseren en het werkt ongeveer.

## H5: pathogenese van bacteriële infecties

### Vrijlevende en symbiotische micro-organismen

**Vrijlevende micro-organismen** = het grootste deel van alle bacteriën leeft in water en in de grond. Ze zijn meestal niet in staat ziekte te veroorzaken en zijn zelfs nuttig, omdat ze organische verbindingen weer afbreken tot bouwstenen voor hogere levensvormen.

**Symbiotische micro-organismen** = leven in nauw verband met hogere levensvormen.

- **obligaat symbioten** = kunnen enkel vermeerderen in of op een levende gastheer, maar kunnen wel erbuiten enige tijd overleven (*Salmonella enterica* wel 6 jaar), maar sterven als het te lang duurt.
- **Facultatief symbiotische micro-organismen** = kunnen zowel vrijlevend als in de gastheer voorkomen en op beide plaatsen vermeerderen zoals *Listeria monocytogenes* en *Clostridium tetani*.

De symbioten worden in 3 grote groepen ingedeeld:

**Commensalisme** = deze organismen gebruiken een hoger levensvorm als woonplaats en bron van voedsel. Ze komen veelvuldig voor in oa spijsverteringsstelsel en mond. Dit komt onmiddellijk op gang na de geboorte, de As van de moeder beschermen het jong tegen binnendringen van deze organismen in de weefsels. Een bijkomend voordeel van deze flora is dat ze afweermechanismen permanent stimuleren. Meestal zijn ze zeer specifiek en is hun voorkomen in het lichaam per species verschillend. Vaak heeft het dier zelfs nog voordeel aan hun kolonisatie, doordat het beter voedsel kan opnemen of juist beletten dat pathogenen aanslaan. Ze worden geduld aan het oppervlak, als ze binnendringen worden ze snel opgeruimd, maar soms kunnen ze schaden aanbrengen als ze masaal bv thv een kwetsuur binnendringen of op een plaats komen die normaal steriel is, zoals de blaas.

**Mutualisme** = samenleving is verplicht voor een van beide en soms voor beide om te kunnen overleven. Denk aan pensbacteriën bij herkauwers die cellulose afbreken.

**Parasitisme** = relatie alleen nuttig voor de parasiet en veroorzaakt hinder of schade bij de gastheer.

### Pathogene en niet pathogene micro-organismen

**Niet pathogene micro-organismen** = is het overgrote deel van alle micro-organismen, ook huid en slijmvliezen bevatten er velen die daar als commensalen leven. Incidenteel kunnen ze ziekte veroorzaken, zie verder als pathogeen facultatieve micro-organismen, maar meestal zijn ze juist nuttig, omdat ze beletten dat pathogenen aanslaan.

**Pathogene micro-organismen** = veroorzaken schade of hinder aan de gastheer.

- **facultatief pathogenen** = behoren tot normale microbiota van het dier. Bij verminderde afweer, stijging infectiedruk kunnen ze ziekte veroorzaken. Voorbeeld is *Mannheimia hemolytica*. Deze kan bij normale runderen tot de normale microbiota in de tonsillen behoren. Oiv stress (stress, virale infecties, mycoplasmen, teveel ammoniak in de omgeving etc) kan ze ontsnappen en naar de longen verplaatsen en er vermeerderen, wat leidt tot een ernstige bronchopneumonie en pleuritis. Dit is een voorbeeld van een **endogene besmetting**. Een aangetast dier gaat de kiemen ook uitscheiden en bv een kalf besmetten, dit is dan een **exogene besmetting**.
- **Obligaat pathogene micro-organismen** = behoren dus niet tot de normale microbiota en kunnen tot zowel klinische als subklinische (geen symptomen) infecties leiden. Het gaat hier enkel om exogene besmettingen.

- **Zoönosen** = gaan van mens naar dier of omgekeert, maar dit is slechts een kleine groep.

### **Pathogenese van bacteriële infecties**

**Subklinische infectie** = er zijn geen duidelijke ziektekenmerken aanwezig, maar er kan eventueel wel schade of een algemeen gevoel van malaise zijn.

**Verloop van een bacteriële infectie** = men maakt onderscheid tussen hyperacuut, acuut, subacuut of chronisch al naar gelang hoe snel de verschillende stadia (incubatietijd, invasieperiode en regressieperiode) elkaar opvolgen.

**Incubatieperiode** = is de tijd die verloopt tussen besmetting (indien exogeen) en het optreden van de eerste symptomen.

**Invasieperiode** = tijd tussen eerste symptomen en tijd dat ze zich volledig hebben ontplooid.

**Regressieperiode** = leidt uiteindelijk dan tot herstel of dood.

Vooraf bij chronische ziekten is dit allemaal moeilijk te onderscheiden.

### **Hoe veroorzaken bacteriën ziekte**

- 1) **invasie** = vermeerdering in weefsels gastheer
- 2) **Toxigeniteit** = toxines vormen
- 3) **Combinaties** = toxi-infecties

### **Ziekte door invasie**

- **extracellulaire micro-organismen** = deze kiemen kunnen niet intracellulair vermeerderen en worden na opname door macrofagen en neutrofielen vernietigd. Om zicht te verdedigen hebben ze dus een kapsel of produceren stoffen om de macrofagen of neutrofielen te vernietigen.
- **Facultatief intracellulaire micro-organismen** = kunnen intra- en extracellulair vermeerderen en worden niet vernietigd na opname door macrofagen en neutrofielen en kunnen zelfs vermeerderen in deze fagocyten. Voorbeelden zijn tuberkelbacillen als *Mycobacterium bovis* en *M. avium* subsp. *Paratuberculosis* (komt voor bij vrouwelijke runderen ouder dan 2 jaar en zorgt voor vermagering en oedeem, de infectie gebeurt vnl bij het kalf en de incubatieperiode is langer dan 2 jaar) ook *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Brucella species*, *Rhodococcus equi* en *Yersinia* zijn hier voorbeelden van.
- **Obligaat intracellulaire micro-organismen** = kunnen dus enkel intracellulair vermeerderen en hiertoe behoren de chlamydiën en rickettsiën.

### **Ziekte door toxines**

#### **Exotoxines**

= dit zijn exotoxines die gemaakt worden in het protoplasma en door actieve excretie worden vrijgesteld. Soms komen ze echter pas vrij na lyse van de bacterie.

Meestal zijn het ook hoogmoleculaire eiwitten, dus goede Ag, behalve de ST exotoxines van *E. coli*.

**Anatoxines** = zijn met formol behandelde exotoxinen, die daardoor hun toxiciteit verliezen, maar niet hun antigeniteit. Dus deze gebruikt in vaccin, omdat ze wel As opwekken, maar niet toxisch zijn. Deze vaccins heten **toxoiden vaccins**.

#### **Indeling op basis van hun activiteit**

- **type I** = binden op receptor thv de gastheercelmembraan, wat via een signaal leidt tot een verstoring van het gastheercel metabolisme. Een goed voorbeeld is het STa toxine van ETEC (enterotoxigene E coli). Dit bindt op de guanylaatcyclase (normale enzyme voor deze receptor) receptor thv de enterocyten van de dunne darm. Als deze receptor

wordt gestimuleerd wordt er cGMP geproduceert in de enterocyste zodat er minder ionen en dus water resorptie is vanuit het darmlumen en er juist meer ionen en water worden gesecreteerd met als gevolg diarree.

- **Type II** = beschadigen de celmembraan van de gastheercel. Dit doen ze door het vormen van porines. Met als voorbeeld de Apx toxines van *Actinobacillus pleuropneumoniae*.
- **Type III** = zijn de intracellulaire toxines en dringen dus binnen in de gastheercel. Ze bestaan uit 2 functionele delen het B-component die zorgt voor de binding op de gastheercelreceptor en de A-component die in de cel wordt opgenomen het toxisch effect veroorzaakt. Een voorbeeld hiervan zijn de LT enterotoxines van ETEC. Zie ook 23 figuur schrift.

#### **Toxische bestanddelen uit de celwand**

- **endotoxines van de Gr- bacteriën** = Hun belangrijkste component is LPS dat hittestabiel is. Gevolg is dat alle Gr- endotoxines bevatten, maar niet allemaal even krachtig zijn. Hun belangrijkste gevolgen zijn dat ze algemene symptomen als koorts etc kunnen veroorzaken en in erge gevallen shock en sterfte. Hoe ze dit doen is complex en meerdere factoren spelen een rol. Het enige dat je ervan moet weten is toll-like receptors op macrofagen bepaalde substanties op bacteriën herkennen, zoals LPS, peptidoglycaan en lipoteichoïnezuren. Als gevolg hierop produceren ze cytokinen en andere lymfokines. Deze lokken op hun buurt verdedigingsreacties (neutrofielen diapederen, productie ontstekingsmediatoren, vasodilatatieve stoffen en bloedstollingsproducten, ook complement wordt geactiveerd, dat op zijn buurt oa mastcellen kan activeren) door het hele lichaam uit. = afweer. Maar in sommige gevallen is dit te ernstig en krijg je heftige reacties als shock en sterfte. Het heeft 1 belangrijk gevolg: **alle parenterale stoffen die worden toegediend moeten vrij zijn van endotoxines** en verhitten werkt niet hiervoor.
- **Lipoteichoïnezuren van Gr+ bacteriën** = ook zij kunnen macrofagen aanzetten tot de productie van cytokinen. Ook peptidoglycaan kan dat doen.

#### **Pathogenese van enkele bacteriële aandoeningen**

- 1) **Tetanus**
- 2) **Enterotoxigene vorm van colibacillose**
- 3) **Neonatale *E. coli* septicaemie bij zoogdieren**
- 4) **Salmonellose**

**Tetanus** zie figuur 24

= tonische krampstoestand van dwarsgestreepte spieren

- veroorzaakt door neurotoxine van *Clostridium tetani*
- alle zoogdieren zijn gevoelig, maar paard, schaap en geit het meeste van onze huisdieren
- uitzicht: Gr+ anaërobe staaf met terminaal, deformerende sporen
- facultatief symbiotisch met reservoir in bodem
- sporen komen voor in feces van mens en dier en zijn meestal oraal opgenomen en ongeschonden door het spijsverteringsstelsel gekomen. Sporen komen ook in de bodem voor. Dieren kunnen elkaar niet besmetten.

#### **Pathogenese**

In een wonde bevuild met *C. tetani*, zullen andere bacteriën gaan vermeerderen en de O<sub>2</sub> concentratie doen dalen. Hierna zal *C. tetani* beperkt vermeerderen en dit ideaal in wonde afgesloten door een korst of in diepe steekwonden (nageltred of vuile injectie). De kiem zal afsterven en zijn endotoxines = tetanospasmine vrijstellen. De via bloed of zenuwbanen zal

dit het ruggenmerg en de hersenstam bereiken en zo daar de remmende neuronen blokkeren.

### **Enterotoxigene vorm van colibacillose**

#### **Zie ook eerder**

- veroorzaken: bij neonatale, oudere en speenbiggen diarree, ook neonataal bij herkauwers en reizigersdiarree bij de mens.
- De enterotoxigene *E. coli* bevatten fimbriae (F2,3,4,5,6,17,18,41) waarmee ze zicht thv de dunne darm vasthechten
- Ze inhiberen de opnamen van ionen thv de darm en stimuleren de secretie ervan.
- Het wordt veroorzaakt door ST en LT toxines. LT zijn thermolabiel, hoog moleculair gewicht en sterk antigenisch. ST is thermostabiel, laag moleculair gewicht en slecht antigenisch.

### **Neonatale *Escherichia coli* septicaemie bij zoogdieren**

#### **Zie ook eerder**

- veroorzaakt door septicaemische *E. coli*, wat facultatief pathogene kiemen zijn en ook veel voorkomen in gezonde spijsverteringsstelsel van dieren.
- Ze hebben meerdere virulentiefactoren:
  - weinig gevoelig aan bactericide werking van plasma
  - ze hebben een ijzerchelator en een celwandproteïne dat het ijzer + receptor opneemt. En ze kunnen dus vermeerderen in lichaamsholten en weefsels van dieren waar weinig ijzer is.
  - De celwand bevat LPS dat een endotoxine is
  - Het kapsel beschermt tegen fagocytose, en zorgt dat er pas een immunreactie van de gastheer is als er specifieke As tegen het kapsel zijn gevormd. En het beschermt ook nog tegen het complementsysteem.
- komt voor bij neonatale dieren die te weinig colostrum hebben gekregen, zoals rund, kleine herkauwers, paard, varken, hond en kat.
- Pathogenese zie figuur 25 in schrift.

### **Salmonellose**

- Gr-
- Behoort tot de enterobacteriaceae en groeit goed in vitro
- Belangrijk species = *Salmonella enterica* met belangrijk subspecies *enterica*. Dit bestaat dan nog uit 51 serotypes (zoals Typhimurium en Dublin en verschillen enorm in pathogeniteit) en 2400 serovars
- Obligaat symbiotisch
- Relatief resistent in de omgeving (6 jaar), ook vrij resistent aan uitdrogen en kan langdurig overleven in stof. Ze zijn wel gevoelig aan de inwerking van zonlicht en de meeste commercieel beschikbare desinfectantia, mits de kiem zich niet in stof of poreus materiaal kan verstoppen.
- *Salmonella* Typhi die thyfus bij de mens veroorzaakt en *Salmonella* Pullorum bij pluimvee zijn belangrijke serovars die maar bij 1 diersoort voorkomen en dus erg gastheerspecifiek zijn.
- *Salmonella* Dublin (vnl rund en schaap en occasioneel bij mens en varken), *Salmonella* Typhimurium van Copenhagen (vnl duiven en occasioneel muizen)
- Er is nog een derde groep die niet gastheer specifiek is en eigenlijk bij alle dieren voorkomen.

#### **Pathogenese**

Salmonella kan zowel enteritis als systemische aandoeningen geven. Meestal hoe groter

de gastheerspecificiteit hoe meer het een systemische aandoening is.

- Niet elke opname leidt tot kolonisatie afh van
  - Kiemfactoren
    - infectiedruk (veel nodig bij kolonisatie)
    - virulentie van de stam = gastheerspecificiteit en virulentie van de kiemsoort
  - gastheerfactoren
    - normale of verstoorde flora, bij verstoorde flora, Ab gebruik, vaste en jonge dieren slaat het makkelijker aan.
    - Peristaltiek: alles dat peristaltiek verstoort laat het gemakkelijker aanslaan, zoals vasten
    - pH stijging: bij een vette maaltijd zoals mayonaise of chocolade stijgt de pH en slaat de kiem makkelijk aan, bovendien beschermd vet de kiem tegen de pH
    - alle factoren die de immuniteit onderdrukken zoals stress laten de kiem gemakkelijker aanslaan.
- opname gebeurt meestal per os wat leidt tot een intestinale en systemische fase, maar kan ook door inhalatie van aerosolen gebeuren.

### **Intestinale fase**

- 1) adhesie aan de enterocyt of M-cel
- 2) invasie in de enterocyt of M-cel. Salmonella injecteert in de gastheercel bepaalde effectorproteïnes. Deze zorgen voor een herschikking van het cytoskelet in de gastheercel en dat de cel de kiem opneemt, maar de effectorproteïnes trekken ook neutrofielen aan, zodat er ontsteking volgt en beschadiging van de darmmucosa (oa door O2 radicalen productie van neutrofielen), zodat er diarree ontstaat, maar ook koorts en andere algemene symptomen kunnen aanwezig zijn.
- 3) kiemen kunnen doorbreken in de propria, waar macrofagen ze opnemen, helaas breken die ze niet af, maar vermeerderen ze ook daar

### **systemische fase**

Dit is dus de fase van de kiem in het bloed. Doordat de macrofagen niet altijd gelijk doorgaan bij opname van de kiem, kunnen er macrofagen met vermeerderende kiemen via het bloed in andere organen terecht komen. Bij zeer veel vermeerdering krijg je ook veel endotoxine productie en volgt shock en mogelijk de dood. De symptomen hier zijn afh van de organen die aangetast zijn en bevatten ook de algemene symptomen. Bij drachtige dieren kan abortus optreden.

**Zoönotisch aspect** = bij gastheerspecifieken is er geen zoönotisch effect, bij niet gastheergeadapteerde Salmonella's is het vnl orgaanlokalisaties.

Kalf: meestal S. Typhimurium met diarree en alg symptomen of Dublin die dan geen diarree, maar pneumonie, artritis en necrose van de extremiteiten geeft.

Koe: meestal Dublin, met abortus en subklinische mastitis

Duif: niet of slecht vliegen bij infecties met Typhimurium die gastheergeadapteerd is en de ellebogen aantast. Let op ook *Streptococcus gallolyticus* leidt tot slecht vliegen, maar deze tast de schouder aan.

## **H6: afweer tegenover bacteriële infecties**

**Natuurlijke resistentie** = sommige diersoorten zijn niet gevoelig aan infecties met bepaalde bacteriën die wel pathogeen zijn voor andere diersoorten.

**Aspecifieke afweer** = is werkzaam tegen meerdere bacteriën en voorafgaand contact met de bacterie of bacteriële antigenen is niet vereist.

**Specifieke afweer** = deze vorm van afweer is slechts gericht tegenover een bacterie ( of meerdere bacteriën die antigenisch verwant zijn) en wordt slechts opgebouwd na contact met de bacterie of haar antigenen.

**Zie ook examenvragen slides**