

## Hoofdstuk I: Situering van bacteriën en fungi in het rijk van de levende wezens

### 1. Inleiding

Prokaryoten	Archae	4 groepen
	Eubacteria	11 groepen, geen fotosynthese, osmotroof, celwand
Eukaryoten	Algen	fotosynthese, osmotroof, celwand
	Protozoa	geen fotosynthese, fagotroof, geen celwand
	Fungi	geen fotosynthese, osmotroof, celwand
	Planten & dieren	

### (2. Korte samenvatting van de evolutie van de aarde en het leven op aarde)

### (3. Fylogenie van eubacteria, archae en eucaryotes)

### 4. Fenotypische verschillen tussen eubacteria, archae en eucaryotes

<i>Eubacteria</i>	<i>Eucaryotes</i>
klein	groter
aseksuele reproductie, recombinaties	aseksueel/seksueel, m x v
binaire deling, geen centriolen, mitotische figuren	klassieke mitose, condensatie tot chromosomen
multicellulaire vormen niet uit diploïde zygote, geen weefseldifferentiatie	multicellulaire wel uit diploïde zygote, wel weefseldifferentiatie
geen kernmembraan	kernmembraan, DNA rond histonen, chromosomen
geen nucleolen	nucleolen
celwand met peptidoglycaan	celwand van cellulose/chitine/afwezig
1 RNA polymerase, 4 subunits	3 RNA polymerases, 12-14 subunits
alleen protoplasmamembraaninvaginaties	Golgi-apparaat, ER
geen gericht cytoplasmatisch transport	gericht cytoplasmatisch transport (microtubuli)
strikt anaëroob – strikt aëroob	alle aëroob
metabolische verscheidenheid, evt oxidatieve enzymen tegen protoplasmamembraan	Krebscyclus, oxidatieve enzymen in mitochondria
kleine ribosomen (70S) → AB!	grotere ribosomen (80S)
geen sterolen protoplasmamembraan (wel bij mycoplasmen)	veel sterolen cytoplasmamembraan
flagellen (als aanwezig) zeer eenvoudig	evt flagellen complexer (microtubuli)

## Hoofdstuk II: Morfologie en structuur van Eubacteria

### 1. Vorm

Kok: bol, bacil: staaf, kokkobacil: intermediair, fusiform: ellips met spitse uiteinden, spirocheet: spiraal (gram -), actinomyceet: vertakt (lijkt op schimmel).

Kokken: diplokokken, tetragenen, sarcinen, streptokokken: ketting, stafylokokken: druivetros, bacillen: diplobacillen, streptobacillen, palissaden.

### 2. Afmetingen

Kokken: 1 µm, bacillen: 2-5 µm lang 0,2-1 µm breed, spirocheten tot 20 µm.

Lengte beïnvloed door milieu en groeifase, kleinst in logaritmische groeifase.

### 3. Chemische samenstelling

### 4. Structuur

#### A. Genetisch materiaal

Chromosoom: 1 dsDNA, circulair, ca. 1 mm lang (1000x lengte bacterie), niet omgeven door kernmembraan, op één punt geassocieerd met protoplasmamembraan invaginatie = septaal mesosoom. Zichtbaar gemaakt mbv. basische kleurstoffen (Giemsa) na hydrolyse RNA → chromatine lichaampje.

Plasmide = kleine circulaire dsDNA-fragmenten, al dan niet integreerbaar in chromosoom.

Transposon = mobiel DNA-fragment, "springen" van plasmide → plasmide/ episoom/ chromosoom, chromosoom → faag enz., "jumping genes".

#### B. Protoplasma

Geen mitochondriën, ER, Golgi-apparaat of microtubuli. Ribosomen anders dan van eukaryotes. Enzymen geassocieerd met protoplasmamembraan. Protoplasmatische granulen met reserve materiaal.

C. Plasmamembraan

Dubbele laag fosfolipiden, glycolipiden en eiwitten. Geen sterolen (alleen bij mycoplasma's). Soms ingewikkelde invaginaties = mesosomen. Functioneel analoog met inwendige mitochondriale membraan eukaryoten. Regelt transport, semipermeabel.

D. Celwand

Rol in classificatie, homeostase, pathogeniteit, immuniteit. Gram+ & -. Kleuring: 1) Kristalviolet, 2) Lugol ( $I_2 + KI$ ) → alle bacteriën paars-blauw door Kristalviolet-Iodide complex, 3) ontkleuren met alcohol/acetone → gram- ontkleurd, 4) tegenkleuring safranine → gram + paarsblauw, gram- roze-rood. Ook onderscheid mbv. KOH → verslijming bij gram-.

a. Peptidoglycaan

Bepaalt vorm, vangt spanning interne OD op. Opgebouwd uit N-acetylglucosamine en N-acetylmuraminezuur disaccharide polymeren (identisch voor alle bacteriën), oligopeptide zijketens en oligopeptidebruggen (niet bij meeste gram- en sommige gram+).

b. Structuur van de celwand bij Gram positieve en Gram negatieve bacteriën

1. Celwand van "gewone" Gram-positieve bacteriën

Meerdere peptidoglycaan lagen. Vaak ook teichoïne-zuren, gedeeltelijk bovenop externe zijde, belangrijkste oppervlakte Ag, rol in transport  $Ca^{2+}$  en  $Mg^{2+}$ -ionen, soms ook voor adhesie. Ook eiwitten, rol in biosynthese kapsel, adhesie, gebruikt als receptor voor bacteriofagen, AB, voedingsstoffen.

2. Celwand van Gram positieve bacteriën behorende tot de genera *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, ea. actinomyceten

Zeer lipiden-rijk. Binnenste laag peptidoglycaan. Lipoglycanen met lipide deel vast op plasmamembraan, polysaccharide deel tot oppervlakte kiem, bv. lipoarabinomannan (LAM, bij tuberkelbacillen), werkt in op macrofagen → ↑TNF vrijstelling, ↓IFN-gemedieerde activatie, scavenger voor zuurstofradicalen.

3. Celwand van Gram negatieve bacteriën

Binnenste laag peptidoglycaan, beschermd door externe laag. Periplasmatische ruimte, hierin hydrolytische enzymen gesecreteerd. Buitenste laag:

- proteïnen en lipoproteïnen: verbinding beide lagen, porinen, proteïnen voor selectief transport, rol biosynthese kapsel, receptor voor virussen, AB, pili, rol excretie stoffen, adhesie;
- lipopolysacchariden: buitenste gedeelte steeds terugkerende O-antigen subunits, specifiek, functioneren als Ag (somatische/O-Ag), sommige bact. bevatten meerdere O-Ag, andere geen ("rough-mutanten" → ruwer uitzicht), belangrijk serologische classificatie. Middelste gedeelte "rough core" polysaccharide, analoog voor alle gram-, induceren niet specifieke weerstand tegen sepsis, vaak typische octose en heptose suikers. Lipide gedeelte (lipid A) gefosforyleerd diglucosamine met #VZ, iig altijd  $\beta$ -OH-myristinezuur. Lipid A deel toxisch = endotoxine, vrij na lyse of door vrijstellen stukjes celwand tijdens vermeerdering. Belet binnendringen toxische stoffen, verstoord door behandeling met EDTA.

E. Protoplasten, sferoplasten en L-vormen

Protoplasten = gram+, peptidoglycaanlaag verwijderd.

Sferoplasten = gram-, zonder peptidoglycaanlaag. Nog wel deel celwand.

L-vormen = proto-/sferoplasten die nog kunnen vermenigvuldigen, veroorzaken soms chronische infecties. Soms terug peptidoglycaanlaag → ziekte heropflakking → virulenter.

F. Kapsel of slijmkapsel

Gevormd als in gunstig milieu (en als ze het genetisch materiaal hebben). Polysacchariden, soms eiwitten of beide. Kapsel = goed gestructureerd. Los netwerk = slijmkapsel. Moeilijk op te ruimen door GH, beschermt tegen uitdrogen en inwerking schadelijke stoffen, fagocytose tegengaan, beschermen tegen complement, adhesie. Soms ook Ag-eigenschappen: K-Ag.

G. Flagella

Niet bij alle bacteriën. Als ze ze kunnen maken, dan zijn ze ook aanwezig. Drie typen: 1 polaire flagel, meerdere polaire flagellen (uni-/bilateraal), verschillende flagellen homogeen verspreid (axiaal filament = flagel omheen lichaam). Meestal antigenisch: H-Ag → serologische identificatie. Voortbeweging.

H. Pili en fimbriae

Bij veel maar niet alle gram-, minder bij gram+. Verspreid over cel, verschillende lengte, zelfde diameter. Piline polymeren. Meestal antigenisch: F-Ag. Soms meerdere antigenisch verschillende fimbriae met verschillende diameter. Gewone pili/fimbriae rol adhesie,

F4,5,6,17,18,41,111, meestal niet piline voor vasthechting maar "minor" fimbriële component.  
Seks pili voor vasthechting tijdens bacteriële conjugatie.

I. Endosporen

Door *Bacillus* en *Clostridium*, bij overgang gunstige-ongunstige omstandigheden. 1 bacteriecel → 1 spore: overlevingsvorm. Resistent tegen hitte en desinfectantia. Chromatine kern omgeven door verschillende lagen ondoordringbare omhulsels. Speciale eiwitten en zuren → verantwoordelijk voor hiteresistentie. Door omhulsels en zeer lage/geen metabole activiteit ongevoelig voor AB en moeilijk gekleurd.

J. Bacteriën met een afwijkende structuur

*Mycoplasma* en *Ureaplasma*: geen celwand (resistent tegen normale AB), cholesterol in plasmamembraan.

*Chlamydia*: obligaet intracellulair, gram-, geen peptidoglycaan → overgenomen door MOMP (major outer membrane protein).

Spirocheten: spiraalvorm, axiaal filament, envelop van polysacchariden.

## Hoofdstuk III: Metabolisme en groei van Eubacteria

### 1. Chemische en fysische voorwaarden

A. Indeling van bacteriën op basis van hun stofwisseling

Heterotroof: organische verbindingen als C-bron.

Autotroof: C uit C1-verbinding (CO<sub>2</sub> of CH<sub>4</sub>).

Fototroof: fotosynthese voor energie.

Chemotroof: energie uit chemische verbinding.

Alle pathogene micro-organismen zijn chemo-heterotroof.

B. Voedingsstoffen

Essentiële voedingsstoffen: noodzakelijk voor heterotrofe bacteriën. Energie, C, N, P, S, Fe, Mg, Mn, Na, K, sporenelementen. Alleen bacteriën met zeer complex metabolisme hebben hier genoeg aan → kunnen rest zelf hieruit maken.

Niet-essentiële voedingsstoffen: alleen gebruikt als ze beschikbaar zijn. Complexere organische verbindingen. Ook gebruikt door bacteriën die ze niet nodig hebben → leggen eigen synthese tijdelijk stil.

Oxideren energiebron via aërobe respiratie (O<sub>2</sub> elektronen acceptor, veel energie), anaërobe respiratie (anorganische stof (niet O<sub>2</sub>) als acceptor, minder energie), fermentatie (organische stof is acceptor, energieopbrengst veel lager, eindproduct organisch zuur (↓pH)/alcohol, al dan geen gasvorming).

C. Zuurtegraad

Meeste humaan en veterinair belangrijke bact. groeien snelst bij neutrale tot licht alkalische pH: 7,0-7,5, meestal sterven ze af bij pH<4.

D. Koolstofdioxide concentratie

CO<sub>2</sub> exogeen opgenomen uit biotoop of endogeen (bv. bij decarboxilatie reacties tijdens katabole processen). Veel bact. groeien sneller bij meer CO<sub>2</sub> → CO<sub>2</sub> incubator gebruikt bij kweken.

E. Zuurstof concentratie

O<sub>2</sub> wordt omgezet in superoxide radicaal (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) en vorming H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, erg toxisch. Aërobe bact. beschikken over superoxide dismutase (SOD), katalase, peroxidase om deze stoffen te detoxifiëren, O<sub>2</sub> vaak ook gebruikt voor aërobe respiratie. Micro-aërofielen en aërobe facultatief anaërobe bact. hebben minder capaciteit voor detoxifiëren. Anaërobe bact. hebben geen detoxificatie mechanismen.

a. Obligaet aërobe bacteriën: alleen in aanwezigheid van O<sub>2</sub>, veel katalase en SOD, aërobe respiratie

b. Aëroob facultatief anaërobe bacteriën: gebruiken eerst O<sub>2</sub> en schakelen daarna over op fermentatie. Sommige ook anaërobe respiratie.

c. Micro-aërofielen: strikt aëroob, maar niet bij 20% want beperkt vermogen voor detoxifiëren. Aërobe respiratie.

d. Obligaet anaërobe bacteriën: vnl. in darmlumen. Geen SOD. Fermentatie.

F. Temperatuur

Eén van de belangrijkste factoren. Bij zeer lage T minimaal metabolisme, geen groei of deling, lange overleving. Vanaf "minimale groeitemperatuur" metabolisme versnellen, groeien, uiteindelijk delen. Bij "optimale groeitemperatuur" groei en deling snelst. Bij "maximale groeitemperatuur" eiwitten, DNA, NA beschadigd, groei valt bijna stil. Verdere T stijging doet

cel sterven. Optimale T 10°C onder maximale, 35-37°C (→ koorts remt groei). Grootst aantal bacteriën gevormd bij suboptimale T. Verschil min-max T klein bij parasitaire soorten.  
Psychrofiële bacteriën: groeien goed bij 0°C, max T 30°C.  
Mesofiële bacteriën: groeien tss 10-50°C, optimum <45°C.  
Psychrotolerante bacteriën: mesofielen die ook bij koelkastT kunnen vermeerderen.  
Thermofiële bacteriën: groeien tss 40-90°C, optimum >45°C.

G. Vocht en osmotische druk

Prefereren zeer hoog vochtgehalte (95%), maar worden niet gedood bij lagere vochtgehaltes, wel metabolisme stilgelegd. Hypotone oplossingen: plasmoptise van cellen met zwakkere celwand. Hypertone oplossingen: plasmolyse (bv. zouten voedsel → niet steriel! Ook voor bewaren culturen mbv. lyofilisatie).

2. Penetratie van voedingsstoffen

A. Penetratie doorheen kapsel en celwand

Gram+: geen barrière. Gram-: eiwitten regelen transport, bv. porinen, receptoren (tot expressie gebracht als substraat aanwezig in milieu). Alleen laag moleculaire verbindingen opgenomen, rest gehydrolyseerd door extracellulaire enzymen, bij gram- in periplasmatische ruimte.

B. Penetratie doorheen de plasmamembraan

Door diffusie (geen E verbruikt, zeer traag, weinig belang omdat meeste moleculen intracellulair hogere concentraties) of transport (kost E, gekatalyseerd door permeasen). Gebrek aan transporterende/metaboliserende enzymen → voedingsstof niet gemetaboliseerd.

3. Metabolisme

(A. Catabolisme)

(B. Anabolisme)

C. Metabolisme en identificatie

Classering volgens substraten die ze afbreken en de eindproducten die gevormd worden.

4. Groei en vermenigvuldiging

A. Vermenigvuldiging van een bacteriecel

Vorming protoplasma, alleen lengte neemt toe, chromosoom gedupliceerd, protoplasmamembraan naar binnen thv. septaal mesosoom → scheidingswand. Geen genetische recombinatie.

B. Vermenigvuldiging van een bacterie populatie

- latentiefase (lag fase): #levende bacteriën neemt niet toe, aanpassen metabolisme aan nieuwe milieu, synthese DNA, RNA, enzymen, groeien in lengte, 30min-3u;
- exponentiële groeifase: delen volgens constant ritme, generatietijd (tijd tss twee delingen) constant, #bact. na #generaties:  $A=x \cdot 2^G$  ( $x$ =# bij start),  $G=t/g$  ( $g$ =generatietijd);
- groei niet meer exponentieel: tekort voedingsstoffen, zuurstof, energie, accumulatie toxische metabolieten;
- stationaire fase: sommige sterven, sommige delen → netto constant;
- exponentieel afsterven;
- als grootste deel afgestorven, kunnen kleine #bact. nog lange tijd overleven.

5. Soorten voedingsbodems

Cultuur = elke vorm van groei of kweek van micro-organismen in vitro. Reincultuur = één enkele soort bacteriën. Voedingsbodem = cultuur medium, substraat/vloeistof met voedingsbestanddelen om micro-organismen te kweken.

A. Weefselextracten en synthetische milieus

Weefselextract: van planten of dieren, of eiwitten extraheren en hydrolyseren tot peptiden/AZ, vaak gesupplementeerd, commercieel beschikbaar. Rijk aan voedingsstoffen → meeste bact. groeien erop. Samenstelling echter niet exact gekend.

Synthetisch milieu: samenstelling gekend. Eenvoudig: alleen C-bron, E-bron (soms dezelfde suiker), N-bron, mineralen. Ook toevoegen vitaminen of andere groeifactoren.

B. Vloeibare en vaste milieus

Vloeibaar = bouillon, alle bact. groeien door elkaar, gebruikt voor aanrijking en identificatie.

Groei vastgesteld adhv. troebelheid of pH indicator.

Vast milieu: met agar, voor isoleren in reincultuur = nodig voor identificatie.

C. Universele milieus

Voor vermenigvuldiging meeste bact., bv. tryptose bouillon/agar (glucose, NaCl, tryptose (=peptonen), (agar)), serum bouillon (tryptose bouillon + serum), bloed agar (water, peptones, zetmeel, NaCl, agar, runderbloed).

- D. Selectieve milieus en aanrijkingsmilieus  
Selectief: stoffen toegevoegd die voor sommige bact. toxisch zijn maar voor andere niet.  
Vloeibare selectieve = aanrijkingsmilieu, bv. bloed-azide agar (natriumazide is bacteriostatisch voor gram-, RBC → hemolysereacties), tetrathionaat bouillon (galzouten, briljant groen, Salmonella aanreiken, coliforme bact. geremd), kristalviolet (remt gram+), AB.
- E. Identificatie milieus  
= electief, herkennen eigenschappen bepaalde bacteriesoorten, uitsluitend met reinculturen.  
Bv. nagaan suikerfermentatie (H<sub>2</sub>O, NaCl, peptonen, agar, lactose, indicator), Kliglermilieu (vergisting glucose en lactose, gasvorming (H<sub>2</sub>S)).
- F. Combinatie milieus  
Selectief en voor identificatie, bv. McConkey agar (gram- darmbacteriën, galzouten, kristalviolet (remt gram+), nagaan lactosevergiftiging, neutraalrood (zuur rood, alkalisch geel), lactose+ helder rood, lactose- (*Salmonella*) licht roze-geel), brilliantgroen agar (isolatie *Salmonella*, brilliantgroen remt gram+ en coliformen, nagaan lactose- en sucrosevergiftiging, fenolrood (zuur geel, alkalisch paars), lactose+ (*E. coli*) geel, lactose- (*Salmonella*) rood).

## Hoofdstuk IV: Bacteriële genetica

### 1. Structuur en functie van het bacterieel genoom

Twee complementaire dsDNA strengen, rond elkaar gewonden tot helix, supercoiled, circulair. Vaak ook plasmiden of transposons, eveneens twee complementaire dsDNA strengen als helix en circulair, kunnen autonoom vermenigvuldigen → evt. meerdere per bacterie, ook verschillende. Soms incompatibiliteit tss verschillende plasmiden: de ene belet aanwezigheid van een andere. Genetische info plasmiden onder gunstige omstandigheden fenotypisch tot expressie gebracht, meestal geen essentiële metabole activiteiten → niet onmisbaar, maar wel nuttig. Sommige eiwitten worden enkel gevormd wanneer ze noodzakelijk zijn, bacteriën produceren geen overbodige eiwitten. Regulatiemechanismen:

#### A. Inductie-repressie mechanisme

Genen die coderen voor enzym (voor lactose: Z voor B-galactosidase, Y voor galactoside permease, A voor galactoside acetylase) liggen meestal na elkaar (= operon), voorafgegaan door promotor, regulator en operator. Transcriptie start bij binding RNA polymerase aan promotor. Regulatorgen eerst overgeschreven → prod. repressoreiwitten, binden op operator in afwezigheid van lactose → geen verdere overschrijving. Als lactose aanwezig is worden de repressoreiwitten gebonden waardoor RNA polymerase wel tot aan de genen kan komen. Lactose is hier de induceerder/depressor.

#### B. Kataboliet repressie

Soms preferentie voor bepaalde voedingsstoffen (glucose > lactose). Voor RNA polymerase kan binden aan operator, moet een activator proteïne binden op de operator. Dit proteïne wordt alleen omgezet in de juiste 3D-structuur in aanwezigheid van cAMP. Een afbraakproduct (kataboliet) van glucose belet de vorming/bevordert de afbraak van cAMP → activator proteïne niet omgezet → RNA polymerase kan niet binden → geen vorming enzymen lactose-afbraak.

#### C. Het adaptatie mechanisme

Aanwezigheid gesynthetiseerd eindproduct aanleiding om synthese stop te zetten. Bv. *E. coli* produceert geen tryptofaan als er genoeg tryptofaan in het milieu aanwezig is.

### 2. Replicatie van het bacterieel genoom

Replicatie start bij replicator, bevindt zich bij mesosoom. Dubbele helix ontplooit, primase synthetiseert kort stukje DNA, DNA polymerase zet synthese verder, chromosoom rolt door mesosoom. Transversaal celwand segment scheidt twee chromosomen tss dochtercellen.

### 3. Fenotypische variatie en genotypische variatie

Fenotypische variatie: nieuwe eigenschap tot uiting die al in het genoom aanwezig was, maar nog niet tot expressie werd gebracht, meestal tgv. signalen uit het milieu → tegelijkertijd bij alle bacteriën in populatie.

Genotypische variatie: verwerving/verlies eigenschap door genoomwijziging, slechts bij enkele bacteriën in populatie, populatie als geheel vertoont geen merkbare veranderingen tenzij milieu selectief werkt en de bacteriën met gewijzigd genetisch materiaal bevordert.

#### 4. Mogelijkheid tot wijziging van het genetisch materiaal: genotypische variatie

##### A. Mutatie

- a. puntmutaties: door fout tijdens replicatie DNA, spontaan ( $1$  op  $10^5$ - $10^9$ ) of geïnduceerd door mutagenen. Vaak reversibel door nieuwe mutatie op zelfde plaats → onderzoek mutagene eigenschappen stoffen in Ames test.
- b. deletiemutaties: 1-100 baseparen niet gedupliceerd → verschuiving leesraam → vaak nonsense codon afgelezen en transcriptie stopgezet → geen effect als aan einde gen, als aan begin gen eiwit niet functioneel. Niet reversibel door terugmutaties.
- c. effecten van mutaties: soms geen effect op fenotype, soms wel, soms letaal. Als wel genotypisch effect spelen milieufactoren selectieve rol. Bemoelijkten identificatie.

##### B. Transformatie

Receptor bacterie neemt DNA op van donor bacterie en recombineert beide. Competente bacterie = bacterie die stukjes DNA (vrijgekomen na lyse van een andere bact.) kan opnemen. Dmv. endonucleasen en ligasen stuk DNA receptorcel verwijderd en vervangen door nieuwe stuk (bij voldoende genetische verwantschap). Natuurlijke (bv. apathogene pneumokokken die DNA overnemen voor kapsel van gedode pneumokokken) en artificiële (ook bij niet competente bact., "genetic engineering") transformatie.

##### C. Conversie

Bacterie verwerft nieuwe eigenschappen door infectie getemperde bacteriofaag.

- a. bacteriofagen: virussen die bacteriën parasiteren, bindt aan opp. bact. → doorboort celwand → spuit nucleïnezuur in cytoplasma.  
Lytische cyclus: door virulente fagen, faag DNA maakt enzymen voor replicatie genoom en faag eiwitten, bacterieel metabolisme stil gelegd → nieuwe faag DNA geïncorporeerd in nieuwe faag mantel → bacterieel DNA en celwand gelyseerd → nieuwe virulente fagen komen vrij.  
Lysogene cyclus: door getemperde fagen, faag DNA geïncorporeerd in bacterieel chromosoom → resp. profaag & lysogene bacterie → synchroon vermenigvuldigd → hele populatie lysogene bacteriën. Soms profaag los uit chromosoom → lytische cyclus.
- b. conversie: toegevoegde faag DNA in lysogene bacterie kan deze andere eigenschappen verlenen.

##### D. Transductie

Bacterieel DNA uitgewisseld tussen twee bacteriën door tussenkomst van bacteriofagen.

Alleen als er wat fout gaat bij replicatie bacteriofaag.

Beperkte transductie: als getemperde profaag bacterieel chromosoom verlaat, breuk op verkeerde plaats. Grote fout: groot deel faag DNA blijft achter → geen nieuwe fagen gevormd → geen transductie. Kleine fout: wel lytische cyclus → fagen vrij met allemaal stukje bacterieel DNA → recombinatie bij besmetting (verwante) bact.. Beperkt want steeds dezelfde genen getransduceerd, omdat fagen steeds op dezelfde plaats in chromosoom integreren → alleen genen getransduceerd die vlakbij deze integratieplaats liggen.

Veralgemeende transductie: zowel virulente als getemperde fagen. In laatste fase lytische cyclus bacterieel DNA soms gelyseerd tot stukjes die even groot zijn als faag DNA → toevallig bacterieel DNA omkapseld in rijpingsfase → lyse → enkele transducerende fagen vrij → recombinaties bij besmetting. Eender welk stuk bacterieel genoom getransduceerd.

##### E. Transposons en insertiesequenties

Insertiesequenties (IS) = stukken DNA die kunnen verplaatsen binnen & tss DNA-moleculen, plasmiden en bacteriofagen. Transposon = IS die ook drager is van specifieke fenotypische kenmerken. Uiteinden zijn inverted repeats → het stuk blijft één geheel. Er kan een kopie achterblijven op oorspronkelijke plaats → sterke spreiding genetisch materiaal. Bij infiltratie mogelijk inactivatie gen, mutaties (hiervan gebruik gemaakt bij "transposon-mutagenese"), verstoring genexpressie → gedrag cel moduleren, ↑/↓transcriptie.

##### F. Conjugatie

Overdracht genetisch materiaal donor bacterie naar acceptor bacterie via eiwitunnel, meest voorkomend via overdraagbare plasmiden, ook conjugatie-transposons.

- a. plasmide-gemedieerde conjugatie: gram- bact., donor bevat plasmide met genen voor sexpili = overdraagbaar plasmide, genen die coderen voor conjugatie = sexfactor, sexpili vastgehecht op bact. met geschikte receptoren → pili trekken samen, bact. dicht bij elkaar → vorming eiwitunnel → 1 streng overdraagbaar plasmide opengeknipt & migreert, in beide bact. complementaire streng gesynthetiseerd. Niet overdraagbare plasmide: niet overgedragen door conjugatie tenzij mobilisatie = als bact. ook conjugeerbaar plasmide bevat, niet conjugeerbare plasmide gaat mee met conjugeerbare. Sommige

overdraagbare plasmiden integreren in bacterieel chromosoom → ook deel overgedragen (breuk thv. aanhechting sexfactor → eerst chromosoom zelf, sexfactor als laatste → crossing-over in receptor, duplicatie in donor. Vaak chromosoom gebroken in proces en sexfactor blijft achter in donor). Bij gram+ ook conjugatie, maar geen sexpili: potentële acceptor-bact. produceren feromonen → zetten bact. met overdraagbaar plasmide aan tot vorming kleeftof → vasthechting → overdracht zoals bij gram-.

(b. conjugatie via conjugatie-transposons)

## 5. Antibioticaresistentie

### A. Definities

a. antibiotica-gevoeligheid en antibioticaresistentie:

- microbiologisch criterium: resistent als in vitro duidelijk minder gevoelig geworden dan normale populatie (kan al resistent zijn), bruikbaar om 'verworven resistentie' op te sporen, mbv. minimum inhibitorische concentratie (MIC) = laagste concentratie van een AB die de groei van een bacterie volledig verhindert, bacteriostatisch, resistent als MIC beduidend hoger dan normale waarde van species. Resistente stammen vaak min. 50x minder gevoelig → meestal ook in vivo niet meer gevoelig.
- farmacologisch criterium: resistent als MIC hoger dan bloed-/weefselspiegel bij normale dosering.
- klinisch criterium: correlatie in vitro gevoeligheid (MIC) met al dan niet gunstige klinische reactie bij normale dosis.

b. natuurlijke ongevoeligheid en verworven antibioticaresistentie: natuurlijke ongevoeligheid/resistentie = AB/chemotherapeutica in normale dosis niet tegenover alle bacteriën werkzaam, want iedere bact. soorteigen gevoeligheidsniveau. Verworven antibioticaresistentie = (aan normale dosis) ongevoelige bacteriepopulatie binnen species dat normaal gevoelig is aan een AB, tgv. wijziging genetisch materiaal.

c. kruisresistentie en multipele resistentie: kruisresistentie = niet alleen verworven resistentie tgv. bepaald AB maar ook tgv. andere AB die behoren tot dezelfde scheikundige familie. Multipele resistentie = tgv. verschillende AB die niet tot dezelfde scheikundige familie behoren (vaak ook verschillende werkingsmechanismen), geleidelijk (opvolgend) of plots (plasmiden → overdraagbaar).

B. Chromosomale en infectieuze resistentie (was: genetische basis verworven resistentie)

Verworven resistentie kan ontstaan door mutatie of overdracht resistentiegenen.

Mutatie: chromosomale resistentie, AB selectieve rol, meestal alleen verticaal doorgegeven tijdens replicatie, soms niet stabiel → heeft tendens te verdwijnen als selectiedruk verdwijnt. Soms 1 mutatie voldoende ("single step resistance"), vaak eerder gradueel, meerdere mutaties in zelfde gen nodig ("multiple step resistance"), bij langer contact met (te lage doses) AB. AB waartegen vnl. door mutatie resistentie wordt ontwikkeld worden gecombineerd met andere AB, want kans dat twee mutaties bij dezelfde kiem voorkomen is kleiner.

Infectieuze/overdraagbare resistentie: meestal mbt. plasmiden of transposons (hoewel chromosomaal DNA ook overgedragen kan worden), bijv. via conjugatie, mobilisatie, insertie van een conjugatie-transposon, transformatie of transductie. Vertikaal en horizontaal intraspecies, interspecies en intergenera. Resistentie plasmiden vrij stabiel, ook zonder selectiedruk. Vaak multipele resistentie (resistentie tgv. diverse AB op 1 plasmide): selectiedruk via gebruik 1 AB kan leiden tot multipele AB resistentie. Plasmiden kunnen ook virulentiegenen bevatten.

C. Mechanismen van verworven antibioticaresistentie

- a. structurele verandering van het doeleiwit: AB die binden op bacteriële ribosomen en zo interfereren → mutatie ribosomale eiwit → geen interferentie meer, competitie met PABA (essentieel voor vorming purinebasen → DNA) → minderwaardig foliumzuur → enzym met hogere affiniteit voor PABA door verworven resistentie (mutatie)/plasmide.
- b. reductie van de accumulatie van het antibioticum in de bacterie: selectieve belemmering opname AB (↓permeabiliteit/actief transport door verandering receptoren), verhoogde excretie, door resistentiegenen op plasmiden.
- c. adaptatie van de bacterie door ontwikkeling van een alternatieve metabolische stap: inhibitie oorspronkelijke metabolische stap geen effect meer, bv. door nieuw transporteiwit → gebruik gepreformeerd foliumzuur uit milieu.
- d. via genen die coderen voor enzymen die inwerken op antibiotica of chemotherapeutica: meestal op plasmiden, AB afgebroken door bv. penicillinasen.

## Hoofdstuk V: Invloed van fysische en chemische agentia op bacteriën

### 1. Definities

Steriel = vrij van levende (zich kunnen vermenigvuldigende) micro-organismen.

Asepsis = afwezigheid van micro-organismen in weefsel.

Sepsis = toxische toestand door enzymatische afbraak weefsels, niet per se door m-o.

Desinfectans = chemische verbinding voor doden (inactiveren) m-o (virussen). Te toxisch voor levend weefsel.

Antisepticum = wel op levend weefsel te gebruiken. Niet systemisch.

Antibioticum & chemotherapeuticum = wel systemisch. Bacteriostatisch of bactericied.

### 2. Enkele algemene werkingsmechanismen van antibacteriële agentia

A. Schade aan celwand of plasmamembraan

Interferentie met opname essentiële voedingsstoffen/excretie toxische metabolieten, binnendringen toxische stoffen, verliezen essentiële voedingsstoffen. Vnl. detergenten.

B. Schade aan genetisch materiaal

Alleen belangrijk als gen codeert voor vitale structuur/vitaal enzym. O.a. door irradiatie en zware metalen (+ inhibitie RNA synthese).

C. Inhibitie van het bacterieel metabolisme

Meestal op enzymen: denatureren eiwitten → verlies functie, oxideren/complexeren vrije sulfhydrylgroepen, competitieve inhibitie (bv. PABA ↔ sulfonamiden, sommige nemen foliumzuur op uit milieu → resistent, overmaat PABA doet werking teniet), inhiberen proteïnesynthese (binden aan ribosomen).

### 3. Sterilisatie

A. Sterilisatie door verhoogde temperatuur

a. sterilisatie door verbranding: bv. flamberen entnaalden.

b. sterilisatie door droge warmte: 30min 170°C, ventilator voor luchtcirculatie & warmteverdeling.

c. sterilisatie door vochtige warmte: denaturatie proteïnen bevordert, 60-70°C 10tal min voor meeste vegetatieve bact., 6u 100°C/5min 120°C voor gewone sporen, 15min 121°C voor sporen thermofiele bact.

- autoclaveren: stoom onder druk verwarmd, controle bij iedere sterilisatie dmv. kleefband met kleurstoffen;

- koken: geen sterilisatie, tenzij zeer lange tijd, alleen vegetatieve bact. sterven;

- pasteurisatie: vegetatieve bact. gedood zonder smaak en/of kwaliteit aan te tasten, 30min 60°C, 20sec 70°C, 3sec 80°C), niet steriel;

- uperisatie: melk verstoven in ruimte met stoom onder hoge druk, enkele sec 150°C (UHT = ultra hoge temperatuur), condenseert terug, effectiever dan pasteurisatie.

d. effect van lage temperaturen: sommige sterven langzaam bij <0°C, maar zeker geen methode om aantal kiemen te verminderen.

(B. Bestraling)

(C. Filtratie)

(D. Chemische stoffen)

### (4. Reiniging en ontsmetting)

### 5. Antibiotica en chemotherapeutica

A. Definities

Antibioticum = stof die oorspronkelijk geïsoleerd werd uit schimmels/bact., achteraf sommige synthetisch nagemaakt en gewijzigd.

Chemotherapeuticum = zuiver synthetisch.

Beide werken in op ontwikkeling van bact. in concentratie die door GH kan worden verdragen → selectieve werking door biochemische verschillen bact. ↔ GH. Bruikbaarheid f(selectieve werking & therapeutische index). TI = verhouding toxische over effectieve dosis van een stof.

B. Oorsprong van antibiotica

Antibiose = fenomeen waarbij soort organismen verdrongen wordt door andere soort.

C. Antimicrobieel spectrum van antibiotica

Iedere bacteriesoort typische soorteigen gevoeligheid, normale gevoeligheid/resistentie. Ieder AB werkzaam tgo. bepaald aantal bact. = antimicrobieel spectrum.

D. Bactericide en bacteriostatische antibiotica – chemotherapeutica

Bacteriostase = groei bacteriën tegengegaan/geremd, reversibel, vaak voldoende voor genezing GH omdat natuurlijke verdedigingsmechanismen dan ziekteverwekkers



overmeesteren, langdurige effectieve bloedspiegel nodig, intermitterende toedieningen kunnen voldoende zijn als interval niet langer is dan herstelperiode kiemen.

Bactericide stoffen: doden bacteriën, na verwijdering AB geen heropflakking groei als alle kiemen gedood.

Onderscheid werking hangt vaak samen met ABconcentratie. Bij patiënten met onderdrukte afweer bactericide AB te verkiezen, ook als kiemen op plaats waar afweermechanisme niet efficiënt kan optreden (bv. endocarditis).

(E. Werkingsmechanisme en indeling → farmacologie)

(F. Opsporen van kiemgroeiremmende stoffen → practicum)

## Hoofdstuk VI: Pathogenese van bacteriële infecties

### 1. Vrijlevende en parasitaire micro-organismen

Vrijlevende: in bodem, water, afgestorven vegetatie, leven van dood organisch materiaal = saprofytair, grootste deel niet in staat ziekte te veroorzaken.

Parasitaire: kunnen vermeerderen in/op levend organisme. Obligaat parasitair: vermeerderen enkel in/op levende GH, wel overleven buiten GH. Facultatief parasitair: vrijlevend & in GH.

Symbiose: voordelen voor GH en micro-organisme, bv. bacteriën caecum Rod, rumen Ru, kolonisatie resistentie.

Commensalen: micro-organisme enige dat profiteert, maar veroorzaakt geen ziekte.

Facultatief pathogeen: meestal normale flora dier, oiv. predisponerende factoren of als op abnormale plaats ziekte veroorzaken.

Obligaat pathogeen: niet normale flora, subklinisch of ziekte, mogelijk zoönosen of juist GHspecifiek.

### 2. Besmettingsbronnen voor bacteriële infecties

Afhankelijk van natuurlijk biotoop bacterie. Vanuit milieu (facultatief parasitair), via direct/indirect contact besmette GH (obligaat parasitair), deze kan ziek zijn of geen ziektekenen vertonen (als in incubatieperiode, subklinische infectie, convalescerende dieren = dragers). Facultatief pathogene kunnen endogene/exogene infectie veroorzaken. Obligaat pathogene alleen exogene. Sommige veroorzaken ziekte zonder binnendringen GH: prod. toxinen.

### 3. Intredepoorten

Slijmvliezen SVS, AHS, UGS, huid, placenta, navelstreng. Meeste bacteriën veroorzaken enkel infectie als ze op bepaalde manier GH binnendringen. Letsels niet noodzakelijk bij intredepoort, target orgaan kan ergens anders zijn.

### 4. Pathogenese van bacteriële infecties

#### A. Definities

Pathogeniteit = vermogen (van species) om ziekte te veroorzaken.

Virulentie = graad van pathogeniteit van bepaalde stam.

Septicemie = als bacteriën zich in het bloed vermenigvuldigen.

Bacteremie = bacteriën in bloed zonder te vermeerderen (cfr. viremie), kan tijdelijk zijn, niet per se gevolgd door ziekte, avirulente bact. snel door macrofagen verwijderd.

Hyperacuut, acuut, subacuut of chronisch verloop: tempo waarin stadia op elkaar volgen.

Incubatieperiode = tijd tss besmetting (als exogeen) en optreden eerste symptomen.

Invasieperiode = tijd eerste ziektekenen tot volle ontplooiing ziektekenen.

Regressieperiode = leidt tot herstel/dood, soms langdurige uitscheiding (carriers).

#### B. Hoe veroorzaken bacteriën ziekte?

Invasiviteit = vermogen om te penetreren in weefsels GH, afweermechanismen te overwinnen, te vermenigvuldigen en te verspreiden.

Toxigeniteit = vermogen toxinen te vormen, geen verband met vermenigvuldigen.

Toxi-infecties = zowel invasief als toxigeen karakter belangrijk.

a. pathogenese ziekten veroorzaakt door bacteriën die een invasief vermogen bezitten:

- indeling
  - extracellulaire micro-organismen: geen intracellulaire vermeerdering, na fagocytose vernietigd door macrofagen/neutrofielen;
  - facultatief intracellulaire micro-organismen: na fagocytose niet vernietigd, maar vermeerderen in macrofagen;
  - obligaat intracellulaire micro-organismen: bv. chlamydiën en rickettsiën.

- hoe veroorzaken invasieve bacteriën ziekte?
  - extracellulaire (en facultatief intracellulaire) veroorzaken letsels door trombosevorming, prod. extracellulaire enzymen en lokaal verbruik voedingsstoffen en/of zuurstof;
  - facultatief en obligaat intracellulaire induceren weefselbeschadiging door lyse cellen waarin ze vermeerderen;
  - ontstekingsreactie → aantrekken neutrofielen/macrofagen → vrijstelling zuurstofradicalen en enzymen → letsels.
- factoren die het invasief karakter van een bacterie in de hand werken
  - kapsel/LPS: beschermen tegen complementsysteem en fagocytose;
  - secretie eiwitten waarop C3b gestabiliseerd → activatie complementsysteem op verkeerde plaats → uitputting;
  - ijzer-chelatoren & receptor voor ijzer-chelator complex, binden transferrine/lactoferrine GH & onttrekken ijzer;
  - productie extracellulaire enzymen: hyaluronidasen (hydrolyse BW), collagenase, fibrinolysine, coagulase (vorming fibrinewand rond infectiehaard → bescherming), hemolysinen (lyse RBC → ijzer vrij), leukocidinen (lyse WBC → ↓afweerreacties), RNAasen/DNAasen (↑nucleotiden → hoeven ze niet zelf te maken);
  - vermeerderen in macrofagen: beschermd tegen humorale afweer;
  - adhesiefactoren: ↑kolonisatievermogen.
- b. pathogenese van ziekten veroorzaakt door bacteriën die toxines produceren
  - exotoxines: metabolieten gemaakt in protoplasma en vrijgesteld door actieve excretie, soms pas vrij na lyse, meeste sterk antigenisch (muv. ST *E. coli*). Anatoxinen = met formol behandelde exotoxinen → verliezen toxische activiteit, maar niet antigeniteit → parenterale injectie → vorming antitoxinen (As) → neutraliseren exotoxines ("toxoïede vaccins"). Sommige zeer specifiek doelwit → karakteristiek ziektebeeld.
  - endotoxines: lipid A deel LPS gram-, hittestabiel. Septicemieën gram- kunnen gepaard gaan met shock & sterfte. Minder specifiek dan exotoxines. Induceren prod. cytokines door macrofagen: TNF, IL-1, IL-6, CSF, IFN (cascadesysteem) → PG, tromboxanen, PAF. TNF en IL-1 → IL-6 en CSF, neutrofielen, endotheelcellen (chemotaxis, diapedese & infiltratie), koorts, prod. ontstekingsmediatoren → VD, ↑permeabiliteit, intravasculaire stolling. Complement activatie (O-Ag via alternatieve weg, lipid A deel via klassieke weg) → vrijzetting anafylatoxinen → mestcellen → VD, ↑permeabiliteit → hypotensie & shock als op grote schaal. Activeren Hageman factor (XII) → intravasculaire stolling.  
Parenteraal toegediende vloeistoffen moeten pyrogeen- & endotoxine-vrij zijn → dmv. filtratie (want hittestabiel).  
Gunstige effecten als in juiste dosis en op juiste tijdstip: ↑aspecifieke afweer tgo. infecties en tumoren, bescherming tegen bestraling, mitogeen op B lymfocyten (↑As prod. = adjuvans effect) (tgv. prod. monokines door macrofagen).
- C. Pathogenese van enkele bacteriële aandoeningen
  - a. tetanus: neurotoxine *Clostridium tetani*, Eq Ov Cap zeer gevoelig, tetanospasmine vrij na lyse → ventrale hoorn RM en hersenstam → blokkeert synapsen remmende neuronen (inhibeert vrijstelling glycine en  $\gamma$ -aminoboterzuur). Wonde gecontamineerd door sporen, voldoende lage zuurstofspanning nodig (steekwonden), niet invasief, tetanospasmine via zenuwvezels, lymfe- en bloedvaten. Sterfte door verstikking. Ontsmetten wond met  $H_2O_2$  →  $O_2$  vrij.
  - b. enterotoxigene vorm van colibacillose: kolonisatie dmv. adhesie met fimbriae. Enterotoxines (exotoxines) inhiberen absorptie  $Na^+$ -ionen (en passief water) thv. villi en/of stimuleren secretie  $HCO_3^-$  en  $Cl^-$ -ionen (en passief water) thv. crypten → waterige diarree. LT enterotoxines: thermolabiel (30min 60°C), sterk antigenisch. ST enterotoxines: thermostabiel, laag moleculair gewicht → slechte Ag.
  - c. neonatale *Escherichia coli* septicaemie bij zoogdieren: toxi-infectie, door septicaemische *E. coli*, facultatief pathogeen. Weinig gevoelig aan bactericide werking plasma, hebben ijzeropname systeem (aërobactine (chelator) + receptor), celwand met endotoxine, O-Ag rol weerstand tgo. plasma en fagocytose, kapsel beschermt tegen fagocytose en complement. Uitsluitend bij neonatale dieren die te weinig colostrum toegediend kregen. Hyperacuut: shock ( $TNF\alpha$ ) & sterfte zonder voorafgaande symptomen, acuut: algemene symptomen en snelle sterfte, trager: orgaan localisaties (polyarthritis (typisch), pneumonie, pleuritis, meningoencephalitis).

## (Hoofdstuk VII: Afweer tegenover bacteriële infecties) zie immunologie

### Hoofdstuk VIII: Diagnose van bacteriële infecties

Bacteriële infectie vermoed adhv. niet-specifieke symptomen. Diagnose dmv. aantonen agens zelf, aantonen specifieke humorale immuunrespons, aantonen specifieke cellulaire immuunrespons.

#### 1. Diagnose door het aantonen van het agens

- A. Verloop van een bacteriologische diagnose door het aantonen van het agens  
Keuze tss verschillende technieken gemaakt obv. anamnese, soort staal, vermoedelijke etiologische diagnose. Microscopisch onderzocht na maken afdruk preparaat of uitstrijkje, sommige stalen niet gefixeerd of gekleurd (bv. urinestaal voor leptospiren). Meest gebruikte kleuring is Gram-kleuring.  
Rechtstreeks aantonen agens (bv. voor bact. die moeilijk groeien in vitro) dmv. serologische testen (ELISA, immunofluorescentie, co-agglutinatie) of aantonen DNA.  
Meestal agens eerst geïsoleerd = gekweekt in vitro:
- i) selectie en inoculatie primaire media, bedoeling is maken reïncultuur, op selectieve of universele milieus of beide, meestal agars. Eerst aanrijking als mogelijk te weinig kiemen mbv. vloeibaar milieu, meestal selectief, niet-selectieve alleen mogelijk als zeer steriel monster anders overgroeit door contaminanten;
  - ii) studie kolonie- en kiemmorfologie: vaste milieus afgelezen;
  - iii) identificatie kiemen: tot op species niveau (evt. subspecies), sommige species onderverdeeld in biotypes, serotypes of faagtypes. Soms noodzaak voor stamtypering, vnl. bij epidemiologische studies;
  - iv) antibiogram: bij bacteriën waar verworven resistentie probleem is.
- B. Het verzamelen en verzenden van diagnose materiaal
- stalen liefst van levend dier met typische symptomen of recent gestorven dier, rekening houdend met evt. woekeren van darmbacteriën;
  - representatief voor ziekte: genomen waar m-o zich optimaal vermenigvuldigen;
  - verzameld met steriel materiaal, melk & urine in steriele recipiënten, voor andere stalen plastic wegwerpmateriaal, koelen om overwoekeren door residentieële flora te voorkomen. Beter swab dan volledige organen of delen ervan, in transportmedium;
  - aparte stalen apart verpakt en gekoeld;
  - identificatie & anamnese;
  - binnen 48u geïnoculeerd.
- C. Microscopisch onderzoek
- a. natieve preparaten: bacteriën behouden natuurlijke vorm en grootte, beweeglijkheid en groei bestudeerd. Contrast bacteriecel en omgeving minimaal → donkerveld-microscop.
  - b. gefixeerde preparaten: dunne vloeistof film op draagglasje, gedroogd & gefixeerd door hitte. Van orgaanstukjes afdrukpreparaat gemaakt. Swabs onmiddellijk op draagglasje uitgestreken. Kleuringen:
    - i) Gram kleuring: zie eerder, gram+ paars, gram- roze.
    - ii) Ziehl-Neelsen: kleuring met carbol fuchsine (rood) → ontkleuring met H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> of HCl in alcohol → tegenkleuring methyleenblauw, zuurvaste bacteriën (*Mycobacterium*) niet ontkleurd (rood), rest ontkleurd (blauw).
- D. Selectie en inoculatie van de primaire media  
Swabs rechtstreeks gebruikt, kleinere organen en weefseldelen kort geflambeerd om te beletten dat bacteriën die het staal achteraf contamineerden zouden uitgroeien. Eerste inoculatie = primaire inoculatie in primair milieu. Uiteindelijke doel is isolatie in reïncultuur van alle bacteriestammen die in het staal aanwezig zijn. Soms eerst vloeibaar aanrijkmilieu gebruikt om concentratie te verhogen. Primaire media moeten voldoende universeel zijn om ook niet verwachte species te isoleren. Incubatie 24-48u 35-37°C, deksel omlaag.
- E. Aflezen primaire media  
Vloeibare milieus: troebelheid, bezinsel, oppervlaktegroeï, ringvorming. Vaste milieus: koloniegrootte, uitzicht rand, vorm, verhevenheid, doorzichtigheid, glans, pigmentvorming, hemolyse (op bloedagar).
- F. Identificatie van geïsoleerde bacteriën door het nagaan van biochemische eigenschappen  
Alleen op reïncultuur → bacteriën in vloeibaar milieu moeten eerst overgeënt worden.
- a. koolhydraat dissimilatie: nagaan of geïsoleerde bacterie een bepaald suiker kan fermenteren, milieu (H<sub>2</sub>O, NaCl, peptonen, agar, suiker, indicator) in proefbuis gegoten →

steekenting → als fermentatie → ↓pH → geel verkleuring fenolrood. Gasvorming uit zich door verbrokkeling agar of doordat het naar boven wordt gedrukt.

Amylase test: hydrolyse van zetmeel, vaste voedingsbodem met zetmeel, na zichtbaar worden koloniën wordt niet gehydrolyseerde zetmeel blauw gekleurd met iodine → bleke zones rond koloniën als amylase;

- (b. proteolyse testen)
  - (c. H<sub>2</sub>S productie)
  - (d. indol productie)
  - e. katalase test: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toegevoegd → vorming O<sub>2</sub>(g) = positief;
  - f. oxidase test: oxidase kleurt reagens eerst roze, dan paars, dan zwart;
  - g. coagulase test: kiemen geïncubeerd met plasma, stolling = positief = pathogene stafylokokken (*S. aureus*, *S. intermedius*);
  - h. DNase test: streepenting op agarmilieu+DNA, 24u incubatie, DNA neergeslagen met HCl → bleke zone rond DNase producerende bacteriën (min. 4x diameter entstreep) = positief = pathogene stafylokokken (*S. aureus*, *intermedius*, *hyicus*);
  - i. respiratoir type: buisjes met vaste voedingsbodem+thioglycollaat → verwarmd tot 100°C → O<sub>2</sub> verwijderd, stollen → O<sub>2</sub> kan niet vrij diffunderen → zuurstofgradiënt;
  - j. beweeglijkheidstesten: steekenting in halfvast milieu, beweeglijke kiemen zwermen uit;
  - k. microtestsystemen: bv. API-systeem, op korte tijd veel testen, resultaat gemakkelijk geïnterpreteerd.
- G. Serologische testen voor het identificeren van bacteriën of bacteriële antigenen
- a. precipitatie testen: reactie die optreedt na incubatie *oplossing* van Ag met juiste hoeveelheid As → alleen bij optimale verhouding precipitatie macroscopisch zichtbaar → multivalente Ag reageren met bivalente As → grote Ag-As-aggregaten → slaan neer. Bij niet optimale verhouding worden kleinere complexen gevormd → min of meer oplosbaar → precipiteren niet. Men moet dus verschillende verdunningen testen.
    - buisjesprecipitatie test: seriële verdunningen onbekende Ag, geïncubeerd met gekend antiserum → bij hoogste concentratie geen precipitatie, bij 1 of 2 verdunningen maximale precipitatie;
    - ring precipitatie test: antiserum in smalle testbuis/capillair, boven op serumlaag Ag dilutie aangebracht → As en Ag diffunderen naar elkaar toe → ontstaan zone waar verhouding optimaal is → precipitatielijns;
    - agar gel immunodiffusie test: bv. Ouchterlony techniek: diffusie vanuit geponste gaatjes in agar → vorming precipitatielijns (of -lijnen als test met meerdere Ag tegenover serum met meerdere As) in zone met beste verhouding.
  - b. agglutinatie testen: wanneer *onoplosbare* Ag partikels (bacteriën, RBC) geïncubeerd worden met specifiek antiserum, onbekende bacterie-suspensie geïncubeerd met gekende As → vorming brug tss bacteriën → netwerk → slaat neer. Alleen met bacteriesuspensies die niet spontaan uitvlokken. Agglutinatie geïnhibieerd bij overmaat As, want elk partikel dan omgeven door zoveel As dat er geen brugvorming kan optreden = prozone effect (ook bij hemagglutinatie en precipitatie reacties).
  - (c. passieve en co-agglutinatie testen)
  - (d. toxine-antitoxine testen)
  - (e. immunofluorescentie-testen)
  - (f. complement fixatie test) zie virologie
  - (g. ELISA test)
  - (h. immunoblotting)
- H. Identificatie van bacteriën door middel van gekende bacteriofagen (faagtypering)  
Bacteriofagen vaak zeer gastheer-specifiek, dus te gebruiken voor identificatie bacteriën. Lytische fagen toegevoegd aan onbekende reïncultuur op agarplaat, bij vermeerdering fagen ontstaan openingen in de kolonies.
- I. Technieken gebaseerd op detectie van DNA of RNA voor identificatie van bacteriën  
Sommige technieken zowel voor rechtstreeks aantonen agens en voor kiemen na isolatie.
- a. hybridisatie testen: binden van twee DNA-strengen die niet van dezelfde dubbele helix afkomstig zijn, aangetoond dmv. probes
    - kolonie hybridisatie: kolonies overgebracht op nylon/nitrocellulose-membraan → kiemen gelyseerd → DNA gedeneureerd en gebonden op membraan → probe toegevoegd;
    - dot blot: DNA/RNA eerst geëxtraheerd uit bacteriën, daarna gebonden op membraan.
    - bv. om na te gaan of *E. coli* enterotoxines en fimbriae kan produceren.

- (b. DNA-fingerprinttechnieken voor identificatie van bacteriën)
- (c. polymerase kettingreactie)

## 2. Bacteriële diagnose door het aantonen van een specifiek humorale respons

Onbekende As opgespoord dmv. gekende Ag, moeilijker dan voor virussen dus minder gebruikt. Veel vaker aspecifieke reacties tgv. voorkomen gemeenschappelijke of verwante Ag bij verschillende bacteriën.

- de ELISA test: indirecte: gekende bacteriële Ag (bv. *Brucella abortus*) gebonden op vaste fase → te testen serum toegevoegd → wassen → conjugaat (As tegen Ig van DS onderzochte serum, hieraan enzym gebonden) toegevoegd → wassen → enzymatische activiteit duidt op binding As op Ag;
- snelle agglutinatie test: druppel onbekend serum x druppel gekende bacterie suspensie → brugvorming → complex dat neerstaat;
- de buisjes agglutinatie test: om hoeveelheid As gericht tegen bepaalde bacteriën te titreren, serie serumdiluties in agglutinatiebuisjes → standaard hoeveelheid bacteriële suspensie toegevoegd → incubatie (37°C, enkele uren) → complex → homogeen beleg op bodem. Agglutinatie titer serum = omgekeerde van de verdunning die nog duidelijke agglutinatie veroorzaakt. Alleen semi-quantitatief (resultaat 2<sup>e</sup> test kan met factor 2 verschillen). Agglutinatie geïnhibeerd bij overmaat As;
- de Coombs test of antiglobuline test = indirecte agglutinatie test: doel is opsporen As die wel binden op bacteriële Ag maar niet spontaan agglutineren = incomplete As (mss omdat ze te diep in partikel liggen waardoor het fysisch onmogelijk is om bruggen te vormen, of mss omdat ze na binding nog maar zeer beperkt kunnen bewegen in scharnierzone). Maken serumdiluties → toevoegen standaard dosis Ag → incuberen → Ag-As-complexen afgecentrifugeerd → wassen (vrije As verwijderd) → As tegen Ig → incubatie → Ag-As-antiAs-As-Ag-complexen slaan wel neer;
- abortus bang ring test: aantonen As tegen *Brucella abortus* in melk. melk + gekleurde *B. abortus* kiemen → incubatie → As agglutineren kiemen → hydrofobe complexen → kleven aan vetdruppeltjes roomlaag → gekleurde ring. Goede screeningstest.

## 3. Bacteriële diagnose door het aantonen van een specifieke cellulaire respons

Nagaan of er in het bloed specifieke T-lymfocyten aanwezig zijn die na contact met bacterieel Ag (gepresenteerd door APC) lymfokines vormen. Vnl. voor diagnose facultatief intracellulaire bact.

### A. Huidreactietesten

Als sommige bacteriële extracten (geen bacterie) intradermaal worden ingespoten bij dieren die al eerder in contact kwamen met deze bacterie → ontstekingsproces door interactie met gesensibiliseerde T-lymfocyten → karakteristieke harde zwelling = overgevoelighedsreactie van het uitgestelde type (type IV), bv. tuberculine test. Als subcutaan ingespoten → niets te zien omdat ontsteking dieper plaatsvindt.

### B. Gamma interferon test

Bv. nagaan infectie *Mycobacterium bovis*. Bloed verdacht dier in cultuur gebracht → geïncubeerd met bacteriële Ag (gezuiverde eiwitten *M. bovis*) → verwerkt door APC bloed → tot expressie gebracht icm. MHCII → stimuleert T-lymfocyten met receptoren voor *M. bovis* → vrijstelling IFN $\gamma$  → opgezocht in supernatans mbv. bv. ELISA. Omslachtig, wel heel gevoelig.

## Hoofdstuk IX: Antibiotica gevoeligheidstesten

### 1. Theoretische basis

#### 1. Microbiologisch criterium

Species-specifieke gevoeligheid als maatstaf. Verworven resistentie door mutaties of overdracht resistentie-genen → minder gevoelig dan men normaal gezien voor de species zou verwachten. Meestal bimodale verdeling gevoeligheidsniveaus, soms trimodaal (bv. meer dan één type resistentie-genen actief), soms geleidelijke vermindering van gevoeligheid. Gevoeligheidsniveaus in vitro makkelijk te bepalen, maar hebben geen praktische betekenis, wel te gebruiken ter identificatie, ook te correleren met klinische effecten. Heel wat infecties verwekt door verschillende kiemsoorten met gelijkaardig gevoeligheidsniveau, reageren niet uniform (on)gunstig op hetzelfde type AB behandeling.

#### 2. Farmacologisch gevoeligheids criterium

Gevoeligheidsniveau stam vergeleken met normaal te verwachten bloedspiegel AB. Bacterie is gevoelig als MIC waarde lager ligt dan de spiegel die met gewone doseringen bereikt wordt in bloed en weefsels. Geen consensus over definitie bloedspiegel (piekniveau of dalspiegel

- belangrijk?). Kan niet toegepast worden op lokale infecties of urineweg-infecties. Opstellen interpretatie-systeem gebaseerd op verhouding gevoeligheidsniveau-plaatselijke concentratie.
3. **Klinisch gevoeligheids criterium**  
Kiem gevoelig als infecties erdoor verwekt gunstig reageren op behandelingen met normale doseringen van het betreffende AB. Alleen deze voor praktijk van belang, maar moeilijk hanteerbaar want van veel factoren afhankelijk (secundaire/primaire virussen en andere kiemen, immuniteitstoestand dier, tijdstip ziekteverloop) en moeilijk meetbaar (klinische proeven op grote schaal nodig).
  2. **Testmethoden**
    - A. **Kwantitatieve dilutietesten**  
Te testen culturen geënt op agarplaten waarin AB in verschillende concentraties opgelost werd (agar-plaat-dilutiemethode) of geënt in vloeibare bodem in microtiterplaten (bouillon-/microtiter-dilutiemethode). MIC = minimale inhibitorische waarde, laagste concentratie AB waarbij kiemgroei nog totaal onderdrukt wordt, bacteriostatische activiteit. Met bouillon-dilutietest overenting uit verdunningen zonder groei op AB-vrij milieu → afleiden MBC = minimale bactericide concentratie, zelden uitgevoerd want afhankelijk van in vitro variabelen en zelden belangrijk. MAC = minimale antibacteriële concentratie, lager dan MIC, maar bacteriën gehandicapt in bv. adhesief vermogen.
    - B. **Kwalitatieve diffusietesten**  
AB diffunderen vanuit papierschijfjes in agarplaat → groei-inhibitie zones → correleren met MIC (sommige AB diffunderen sneller → grotere zones niet per se grotere activiteit). Voor nieuw AB opstellen regressielijn, weinig accuraat en onrechtstreeks → enkel richtlijnen.
  3. **Praktische toepassing**  
Antibiogram: als gevraagd door clinicus, als etiologisch belangrijk, als AB resistentie voorkomt bij kiem. Dichtheid geteste kiemsuspensie moet gestandaardiseerd zijn anders teveel vals-resistente en vals-gevoelige uitslagen. In vitro uitslagen die duiden op gevoeligheid minder betrouwbaar dan deze die duiden op resistentie.

## Hoofdstuk X: Antibacteriële vaccins

Beperkt aantal bacteriële vaccins die goede immuniteit induceren, want pathogenese niet volledig gekend. Kennis van betekenis virulentiefactoren bacteriën noodzakelijk voor ontwikkelen goede vaccins. Ideaal vaccin: hoge langdurige bescherming tegen alle bacterie stammen die een aandoening veroorzaken, bij alle gevaccineerde dieren (ook bij maternale immuniteit), stabiel bij bewaring, makkelijk toe te dienen, geen nevenreacties. Infecties door toxigene bact. makkelijker onder controle te krijgen dan invasieve bact. of bact. die toxi-infecties veroorzaken. Extracellulaire bact. beter onder controle te krijgen dan facultatief intracellulaire bact., want nog onduidelijk hoe cellulaire immuniteit te stimuleren tegen deze bact. Vaccinatie route ook effect op immuniteit: meeste parenteraal toegediend, maar vaak lokale immuniteit beter, maar moeilijker. Wel: opwekken lactogene immuniteit voor neonatale *E. coli* biggen. Duur immuniteit langer bij levende vaccins dan bij geïnactiveerde → booster injecties noodzakelijk. Beïnvloed door adjuvans (mogelijk ongewenste nevenreacties). Nevenreacties ook door bacteriële componenten, immunopathologische reacties. Alle relevante stammen in 1 vaccin is moeilijk als geen gemeenschappelijke antigenen determinanten (induceren protectieve immuniteit). Mogelijk antigenen competitie als teveel Ag in een vaccin (immuunsysteem reageert niet op grote hoeve. Ag) → belangrijke epitopen zoveel mogelijk zuiveren. Meestal preventief, soms curatief (bv. pyoderma hond). Bescherming dier zelf, nakomelingen of beide.

### 1. Vaccins die geen levende kiemen bevatten

Moeten veel Ag bevatten, vaak ook adjuvans toegevoegd (celwand gram- werkt als adjuvans) → versterkt immunologische reactie. Primo-vaccinatie bestaat uit 2 injecties met 4 weken interval (= duur voor aanmaak geheugencellen). In de regel veilig want geen levende kiemen, soms allergische nevenreacties. Vnl. humorale immuniteit, dmv. adjuvans ook cellulaire.

#### A. Toxoïd-vaccins

Op basis van anatoxines: exotoxines → geïnactiveerd (formol, toxische deel geïnactiveerd, niet-toxische deel dat As induceert niet), of gereproduceerd door recombinant technologie (als genetische info gekend).

#### B. Bacterins

Bevatten volledige geïnactiveerde kiem. Kiem geïnactiveerd mbv. formol → wassen (verwijderen formol) → terug in suspensie gebracht. Soms niet gewassen, omdat in

cultuurmedium metaboliëten aanwezig kunnen zijn die belangrijk zijn ivm. bescherming. Nevenwerkingen en antigene competitie kunnen gebruik limiteren. Autovaccins zijn meestal bacterins ("staltvaccin"), niet gekend welke Ag belangrijk zijn, mogelijk bevatten ze ook bestanddelen die immuniteit onderdrukken.

C. Vaccins op basis van onderdelen van kiemen

- oppervlakte antigenen: As tegen fimbriae en evt. ook geïnactiveerde LT enterotoxigenen *E. coli* (combi opp. Ag en toxoid). Andere opp. Ag: eiwitten extern gedeelte celwand gram- (As hebben opsoniserende/complement activerende activiteit), receptor voor ijzer-chelator complex (As blokkeren Fe opname);
- ribosomale vaccins: zekere mate van bescherming, na toevoeging adjuvans cellulaire immuniteit, zelden toegepast;
- synthetische peptiden: niet gecontamineerd. Identificatie belangrijkste epitopen op Ag echter heel ingewikkeld. Vaak niet juiste tertiaire structuur. Zelf weinig immunogeen → moeten gekoppeld worden aan (dure) carriers. Synthese duur;
- combinaties: bacterin+toxoid (clostridiose Ov, atrofische rhinitis Su), opp. Ag+toxoid.

2. **Levende vaccins**

Zeldzaam: induceren geen goede immuniteit of onvoldoende verzwakt (restvirulentie). Verzwakte stammen in natuur teruggevonden, artificieel bekomen (dmv. seriepassages) (bv. Bacille Calmette Guérin vaccin tegen *Mycobacterium bovis*, ook gebruikt als para-immuniteits-induceerder), gekweekt met mutagene stof (→ hopelijk mutaties in virulentiegenen) of via genetische manipulatie (virulente genen eruit geknipt). Experimenteel met vector vaccins: immunogene epitopen ingebouwd in avirulente bacteriën/virussen.

Theoretische voordelen: humorale & cellulaire immuniteit, beter tegen facultatief intracellulaire bact. dan geïnactiveerde entstoffen, langere immuniteit, meestal eenmalige toediening (soms na aantal maanden afgebroken), ook lokale immuniteit te stimuleren na toediening via normale besmettingsweg, minder interferentie met maternale immuniteit.

Nadelen: soms weinig efficiënt omdat ze niet aanslaan door kolonisatieresistentie, mogelijk reversie tot virulentie (vnl. bij vaccins die uitgescheiden worden → seriepassages mogelijk), soms restvirulentie, mogelijk pathogeen voor DS waarvoor vaccin niet bereid werd.

## Hoofdstuk XI: Mycologie

Fungi (schimmels & gisten), celwand, afwezigheid bladgroen, echte celkern (eukaryoten), vegetatief, asexueel en seksueel vermenigvuldigen, in staat cellulose af te breken.

Pseudomycose = ziekte veroorzaakt door gram+ actinomyceten (bacteriën), kunnen filamenteus vertakken, klinisch analoog ziektebeeld, hebben echter andere celwand, geen kernmembraan en zijn gevoelig aan AB.

1. **Morfologie**

Schimmels: multicellulaire filamenteuze organismen, geheel van hyfen = mycelium, soms hyfen onderverdeeld door volledige/onvolledige (pseudo-)/geperforeerde septa, apicale centrifugale groei, ringvormige kolonies op vaste voedingsbodem, reproductief (lucht-)mycelium steekt boven oppervlak uit, vegetatief mycelium dringt in voedingsbodem.

Gisten: unicellulair, ronde of ovale cellen, meestal geen hyfen → geen mycelium, soms wel pseudohyfen (filamenteuze structuren van aan elkaar vastgehechte langgerekte blastosporen (aseksuele vermeerdering)).

Sommige fungi kunnen afwisselend gistvorm en schimmelvorm aannemen (f(pH, CO<sub>2</sub>, licht, voedingsstoffen). Pleomorfisme = vergelijkbaar, maar irreversibel, in vitro door mutatie, gemuteerde schimmels vormen geen voortplantingsstructuren meer → moeilijk gedetermineerd. Kern omgeven door dubbele kernmembraan, bevat meerdere chromosomen (haploïd), nucleolus, mitochondriën, ER, 80S ribosomen, Golgi-apparaat, centriolen. Cytoplasma omgeven door plasmalemma opgebouwd uit fosfolipiden, ergosterol (↔ cholesterol dierlijke cellen → antimycotica), eiwitten. Celwand opgebouwd uit chitine, chitosan, glucan, mannan. Soms ook polysaccharide kapsel.

2. **Vermenigvuldiging**

A. Gunstige milieu voorwaarden voor vermenigvuldiging

- temperatuur: thermofiele: vermenigvuldigen enkel bij >50°C, overleven bij 80°C. Mesofiele: groeien bij 20-50°C (overleven 60°C meestal niet). Psychrofile: groeien bij lage T. Psychrotolerante: groeien zowel bij lage als lichaamst. 100°C is fungicid (hoog ivm. sporevorming, niet zo hoog als bact. sporen), -272°C niet;
- vocht: 85-100% ideaal;

- pH: licht zure pH (6 optimaal) itt. bacteriën;
  - voedingsstoffen: alle chemotroof, kunnen wel eigen proteïnen synthetiseren uit KHD, mineralen en (an)organische N-bron. Extracellulaire enzymen breken grotere moleculen af → opname door cytoplasmamembraan (mogelijkheid groeien op bep. voedingsbodem afh. van deze enzymen). Na verloop van tijd voedingsbodem uitgeput, soms lokale toxiciteit door afvalstoffen → centrifugale groei. Opstapeling afvalstoffen in fagolysozomen binnenste myceliumdraden → versmelten tot vacuolen → drukt cytoplasma door septa naar volgende nog levende myceliumdraden. Op levend weefsel meestal ontstekingsreactie, centrale deel letsel opgeruimd door macrofagen → centraal verdwijnt inflammatoire reactie, terwijl ze aan de periferie terug uitgelokt wordt ("katrienwiel").
- B. Verschillende manieren van vermenigvuldiging
- vermeerdering door vertakking: vegetatief, dicht tegen top hyfe, dichotome vertakking = speciale vorm bij sommige schimmels;
  - vermeerdering door vorming sporen: voortplantings- & weerstandsvormen, seksuele sporen resistenter dan asexuele, fungi die alleen asexueel voortplanten = Fungi imperfecti of Deuteromycota;
    - asexuele sporevorming: meest frequent, geen kernfusie → exacte kopie oorspronkelijke fungus
      - bij gisten: zgn. blastoconidia → pseudohyfe, wijst op snelle vermeerdering gist, op in vivo preparaten wijst het op invasiviteit (virulentie);
      - bij schimmels:
        1. asexuele sporen in een hyfe, vrij wanneer hyfen uiteenvallen in fragmenten, = arthroconidia (oa. bij dermatofyten);
        2. conidia: als voorgaande maar sterk verdikte celwand, ook bij dermatofyten
        3. terminale conidia: terminaal in groep op gespecialiseerde hyfen (conidioforen, *Aspergillus* hoofdjes), sterigmata = structuren op conidiofoor die sporen produceren, bv. *Aspergillus*, *Penicillium*;
        4. macro- en microconidia: als voorgaande maar langsheen hyfen, bij dermatofyten;
        5. sporangiosporen: asexuele sporen die ontstaan in sferische structuur = sporangium.
    - seksuele sporevorming: door fusie 2 haploïde kernen (n) → diploïde kern (2n) → meiose → 4 haploïde sporen, zeer weerstandbiedend, meestal maar één keer per jaar (paddestoelen). Ascospore: gevormd in zakvormige structuur. Zygosporie: dikwandig, gelegen tussen twee hyfen.

tinea pedis = voetschimmel  
favus = poederkam  
onychomycose = nagelschimmel  
intertrichose = tussenteen schimmel  
dermatofytose = huidschimmel  
aspergillose = *Aspergillus* infectie

### 3. Pathogenese

(A. Vrijlevende en parasitaire fungi)

B. Hoe veroorzaken fungi ziekte

1. verwekken van een mycose = fungus treedt op als parasiet, fysische aanwezigheid en invasief karakter rol in letsels
  - aspergillose: uiteenlopende klinische syndromen, geen besmettingsbron, systemisch
    - broedernpneumonie kuikens: kort na uitkippen in gecontamineerde broedmachine, sporen ontkiemen in luchtzakken en longen, woekeren, uitzaaien naar andere organen, sterfte na 1 week;
    - aspergillose Ca, Fe: bij (langsnuitige) hond aantasting neusgangen, af en toe, uitzaaiingen mogelijk maar zeldzaam, bij katten aandoening zeldzamer maar frequenter uitzaaiingen. Vnl. bij verzwakte GH, dieren die langdurig AB kregen, bij verhoogde infectiedruk. Besmetting meestal via inhalatie;
    - mycotische abortus Bo (Su, Eq): na opname groot aantal sporen, verband met voederen beschimmeld kuilvoeder/hooi. Vnl. via inhalatie, maar ook peroraal. Sporen kunnen via bloed placenta bereiken → abortus;
    - aspergillose papegaaien & parkieten: aantasting luchtzakken en long na inhalatie.



- dermatofytose: lokale huidandoening, door *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*. Zoöfiele dermatofyten: obligaats parasitair, bepaalde DS fungeren als reservoir = natuurlijke GH (*T. verrucosum* Bo, *T. mentagrophytes* Rod, *T. equinum* & *M. equinum* Eq, *M. canis* Fe(!)), sporen overleven lang in omgeving. Anthropofiele dermatofyten: obligaats parasitair, aangepast aan Ho, *T. mentagrophytes* (tussenteen schimmel), *T. rubrum*, *M. audouinii*. Zoönose → aangetaste dieren behandelen met handschoenen aan want infectie kan op intacte huid. Schimmel woekert thv. oppervlakkige huidlagen en dringt binnen in haarfollikels → hydrolyseert keratine → beschadigt epidermis & haarfollikels, zet irriterende stoffen vrij → ontstekingsreactie → centrifugale groei (katrienwielen).
- (2. ingestie van fungi)
- 3. verwekken van een mycotoxicose: mycotoxinen = zeer giftige metabolieten, veroorzaken mycotoxicose, zijn hittestabiel, chemisch heterogeen, pathologische effecten variëren sterk. Meest opvallende effect slechte conditie en verminderde productie. Bv. aflatoxicose van *Aspergillus flavus*, op vetrijk substraat, leverbeschadiging (acute vorm) of levertumoren (chronisch, problematisch);
- (4. allergische of immunopathologische reacties)
- (C. Virulentie mechanismen bij fungi die een mycose veroorzaken)
- (4. Afweerreacties van de gastheer tegenover mycosen)**
- 5. Diagnose**
  - A. Inleiding  
In principe op dezelfde manier als bij bacteriële infecties, meestal door aantonen agens zelf.
  - B. Diagnose van een mycose door het aantonen van het agens in stalen van aangetaste dieren
    - 1. verzamelen van stalen voor mycologisch onderzoek: hoeveelheid ongewenste contaminanten tot minimum beperken, vuil vooraf verwijderen mbv. alcohol. Droge monsters bewaard bij kamertemperatuur in dubbele omslag of goed sluitend recipiënt (geen zakje ivm. condensvorming). Vochtige monsters moeten zo snel mogelijk worden onderzocht, bewaren bij 4°C, best verzameld met steriel/wegwerp materiaal, swab.
    - 2. verloop van een mycologische laboratorium diagnose: meestal agens geïsoleerd (= gekweekt in vitro)
      - i) selectie en inoculatie van primaire media: meestal vaste voedingsbodem, universele (Sabouraud dextrose agar)/selectieve (Sabouraud + inhibitoren tegen saprofiete fungi)/ combinatie milieus (selectief & electief);
      - ii) incubatie: meestal 25°C (+ soms 37°C), meeste groeien optimaal bij 25-30°C want aan opp. huid, duur variabel, als na 1 maand nog geen groei → negatief;
      - iii) identificatie van de fungi: obv. morfologie, soms andere testen. Macroscopisch: meestal typisch, groeisnelheid, uitzicht en vorm, kleur, diffusie pigmenten. Microscopisch: typische sporen, typische mycelium groei. Andere technieken: biochemische/antigene eigenschappen, aantonen specifieke DNA-/RNA-sequenties.
    - 3. diagnose van dermatomycose: vermoeden obv. letsels. Staalname: haren van periferie letsels, evt. centrum, huidschilfers & korsten van periferie, deeltjes die diep in de korst gelegen zijn, mbv. tandenborstel bij asymptomatische sporedragers. Lamp van Wood: geelgroene fluorescerende schijn bij infectie *M. canis*. Meestal enkel hyfen en arthroconidia teruggevonden bij rechtstreeks microscopisch onderzoek → cultuuronderzoek voor species identificatie.
- 6. Behandeling**  
Met antimycotica, zie farmacologie. AB kunnen ontstaan mycotische aandoeningen in de hand werken door onderdrukking normale bacteriële flora.
- (7. Classificatie van fungi)**