

Pathogenese en diagnose van infecties veroorzaakt door *E. coli* en *Clostridium spp.*

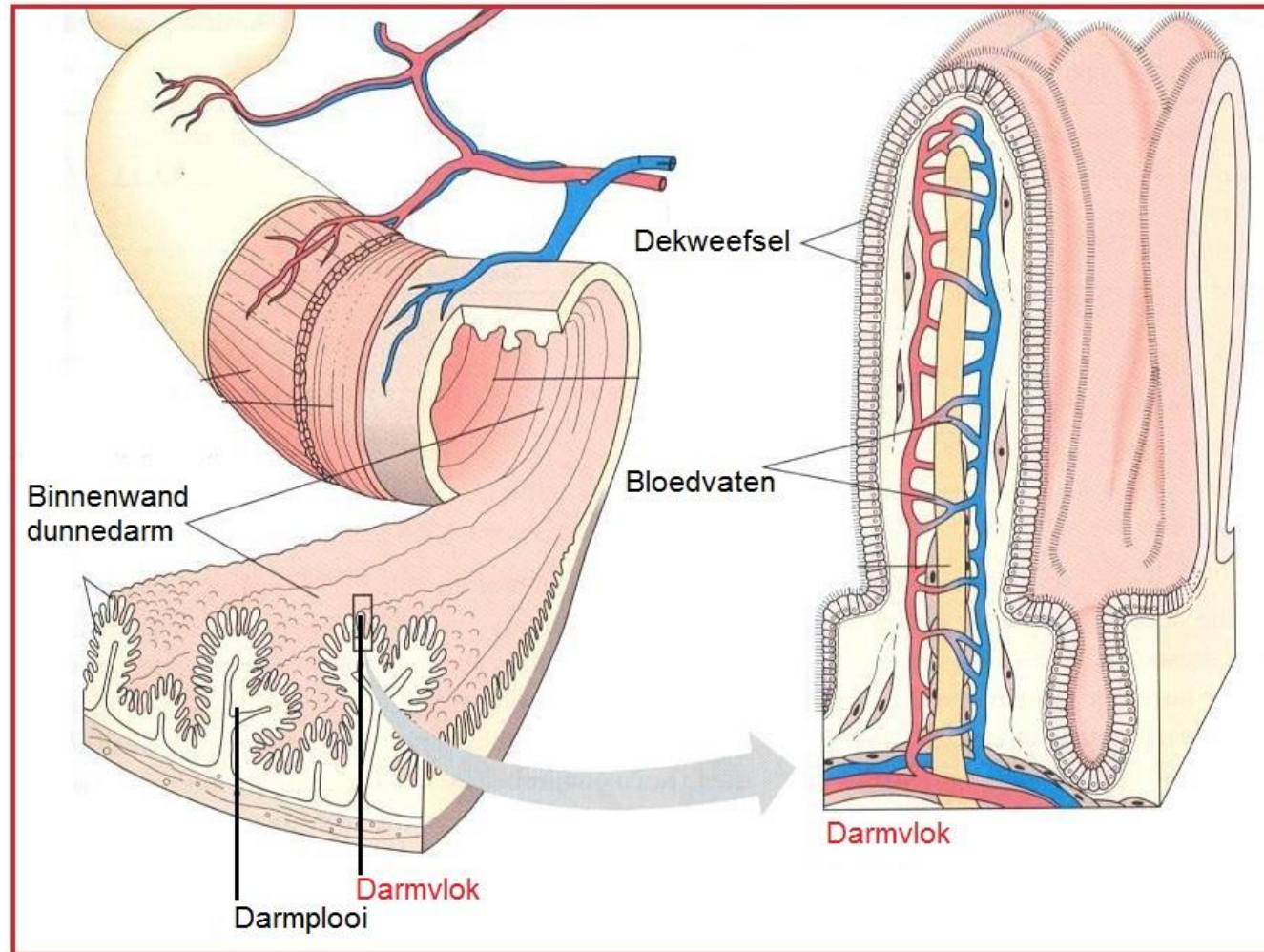
Dr. Philip Vyt



Overzicht

- Structuur van de darmwand
- Infectieuze oorzaken van darmaandoeningen
 - Zonder darmschade > verhoogde secretie (toxines)
 - Met schade aan de darmwand
 - > verlies van lichaamsvocht
 - > invloed op resorberend vermogen
- E. coli
- Clostridium spp.

Structuur van de darmwand



Toxinogene enteritis

- Aanhechting aan darmwand
- Productie van toxines
 - > vochtverlies in lumen
- E. coli: bij jonge dieren tot 40kg
 - Neonataal
 - Speendiarree
 - Na opzet in afmest
- Enterococcus hirae: kraamhok

E. coli enteritis

- *Escherichia coli*
 - Normale bewoner van darm
 - Gram neg
 - Mobiel (flagellae / pili)
 - Facultatief anaeroob
 - Pathogene types:
 - Adhesines
 - Exotoxines
 - Endotoxines
 - ...



E. coli enteritis

- Klassificatie E. coli
 - Vroeger: serotypering
 - Somatische antigenen O
 - Kapselantigenen K
 - Flagellaire antigenen H
 - Fimbriae F
 - Pathotype: op basis van associatie tussen adhesiefactoren en toxines
 - ETEC, EHEC, AEEC...
 - Toxineproductie
 - VTEC, ...

E. coli enteritis

- Adhesines: eerste noodzakelijke stap !
 - Eiwitprotrusies (fimbriae) op buitenkant (tot 2 μ lengte, 2-7nm dik)
 - F4 (K88): F4ab, F4ac, F4ad; grote subunit (Faed) en meerdere kleine subunits > meerdere bindingsplaatsen mogelijk
 - F5 (K99)
 - F6 (987P)
 - F18
 - F41 (F7)
 - Gastheerspecifiek >> receptoren
 - F4: su > meerdere phenotypes, wisselende gevoeligheid
 - F5: su, bo, ov

Fimbriae of animal ETEC

Fimbriae **Enterotoxins**

| | |
|--------------|--------------|
| F4ab, ac, ad | LT, STa, STb |
| F41 | STa |
| F5 (K99) | STa, STb |
| F6 (987P) | STa, STb |
| F18ac | LT, STa, STb |
| F17a | STa, LT-IIa |

Host

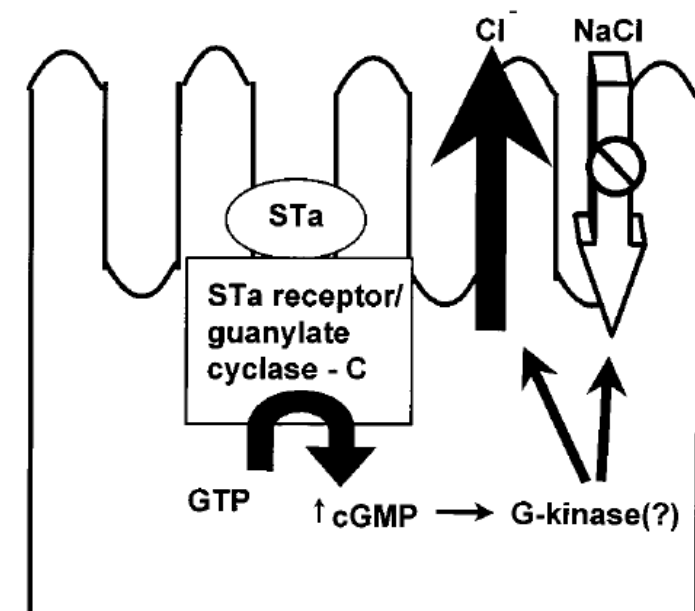
| |
|--------------------------------------|
| neonatal and weaned piglets |
| calves, lambs and goat kids |
| calves, lambs and goat kids, piglets |
| neonatal piglets |
| weaned piglets |
| calves |

Associated O-serotypes

| |
|---|
| 8, 45, 138, 141, 147, 149, 157 |
| 9, 20, 64, 101 |
| 8, 9, 20, 64, 101 |
| 8, 9, 20, 46, 101, 138, 141, 147, 149 |
| 8, 25, 45, 108, 138, 141, 147, 149, 157 |
| 19, 101 |

E. coli enteritis

- Exotoxines: tweede stap
 - Stoornis in ionenuitwisseling
 - Excretie in het lumen: Cl^- , (HCO_3^-)
 - Verminderde resorptie: Na^+
 - Aantrekken van vocht in het darmlumen
- LT
- STa
- STb



Bron: Nataro, 1998

Toxines

- Heat-labile toxine:LT
sterk immunogeen
meerdere varianten
productie bij pH stijging, glucose
afgeremd bij korte vetzuren
- Heat-stable toxines: STA, STB, EAST1
korte eiwitketens, weinig immunogeen
STA: bindt aan guanylaat cyclase op enterocyten (jejunum, ileum)
STB: vooral su; bindt op glucosphingolipide in membraan
STA > STB

E. coli enteritis

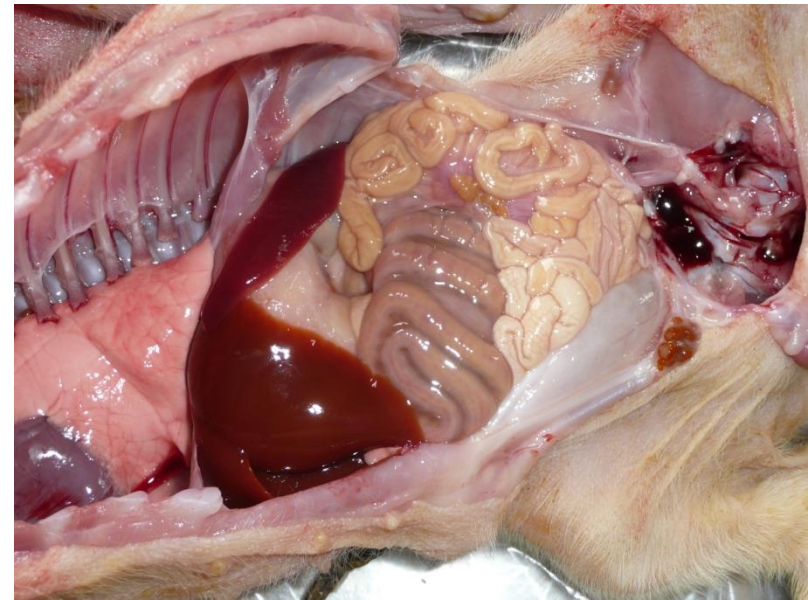
- Predisponerende factoren: derde stap
 - Kolonisatie van het maagdarmkanaal > pH neonataal
 - Darmperistaltiek
 - Leeftijd van de big: vb K99 receptoren
 - Invloed op de darmflora
 - Reactie van de mucosa
 - Genetische gevoeligheid
 - ...

E. coli enteritis

- Virulentie van de kiem afh v.
 - Adhesiefactoren
 - Toxines
 - > Genetische informatie op plasmides > combinaties, ook met resistentiegenen
- Klinische uiting mede beïnvloedt door
 - predisponerende factoren
 - Infectiedruk
 - Immuniteit

E. coli enteritis

- Pathogenese
 - Adhesie
 - Toxineproductie
 - Vochtsecretie in darmlumen
 - Deshydratie
 - Metabole acidose
 - sterfte



E. coli enteritis

- Kliniek neonataal
 - Diarree: uitzicht variabel
 - Deshydratatie (tot 30%)
 - Sterfte



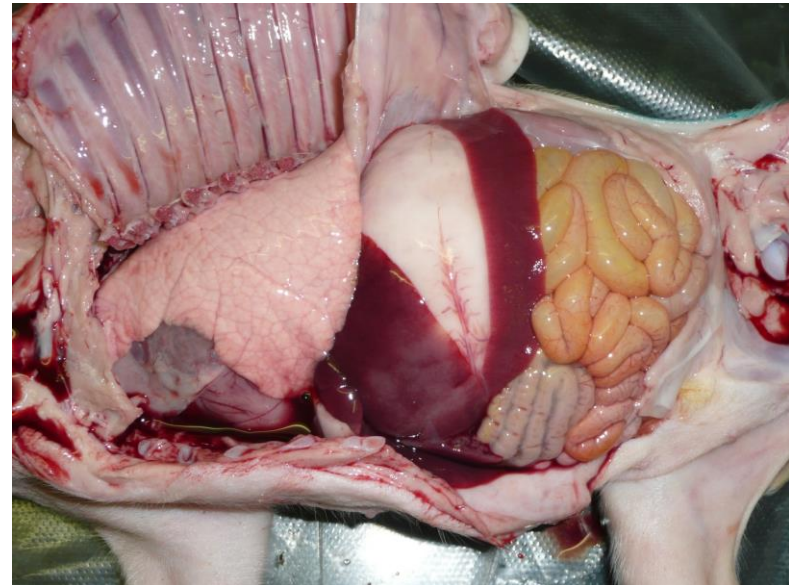
E. coli enteritis

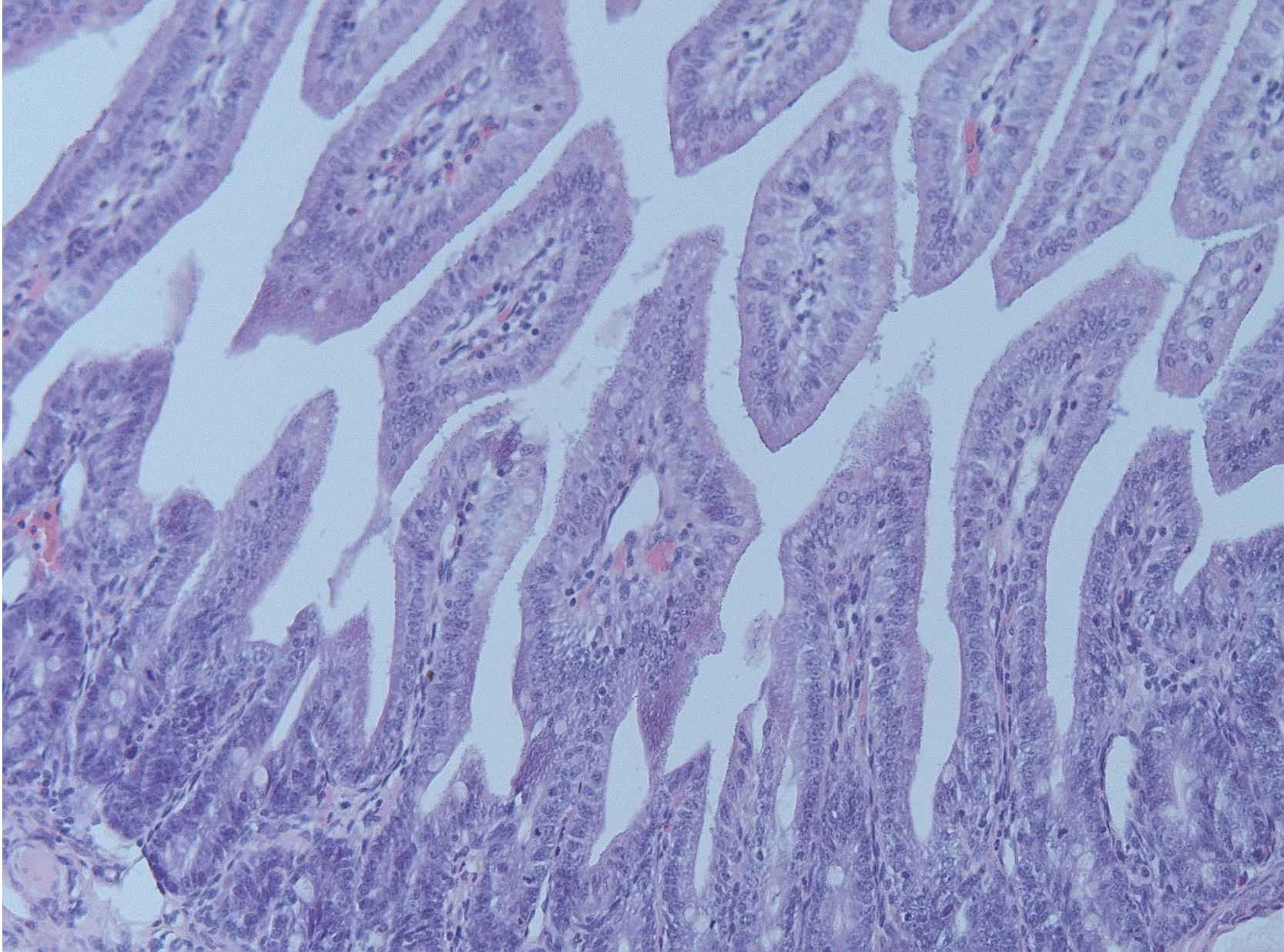
- Pathologie

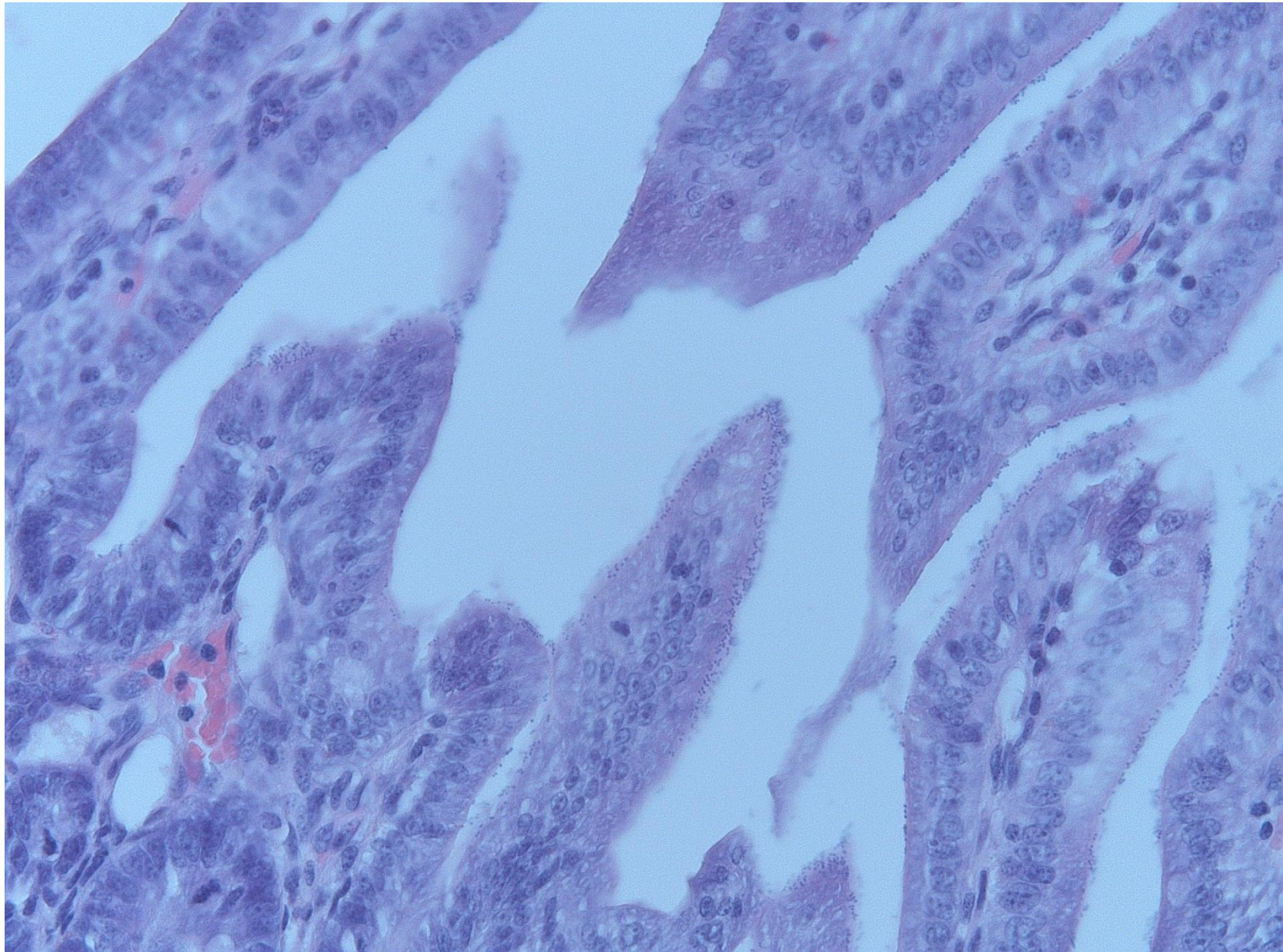
- gestuwde en uitgezette darmen
- Gevulde maag
- Meer chronische gevallen: lucht in darmen, lege maag

- Histologie

- Niet-invasieve enteritis
- Soms kiemadhesie







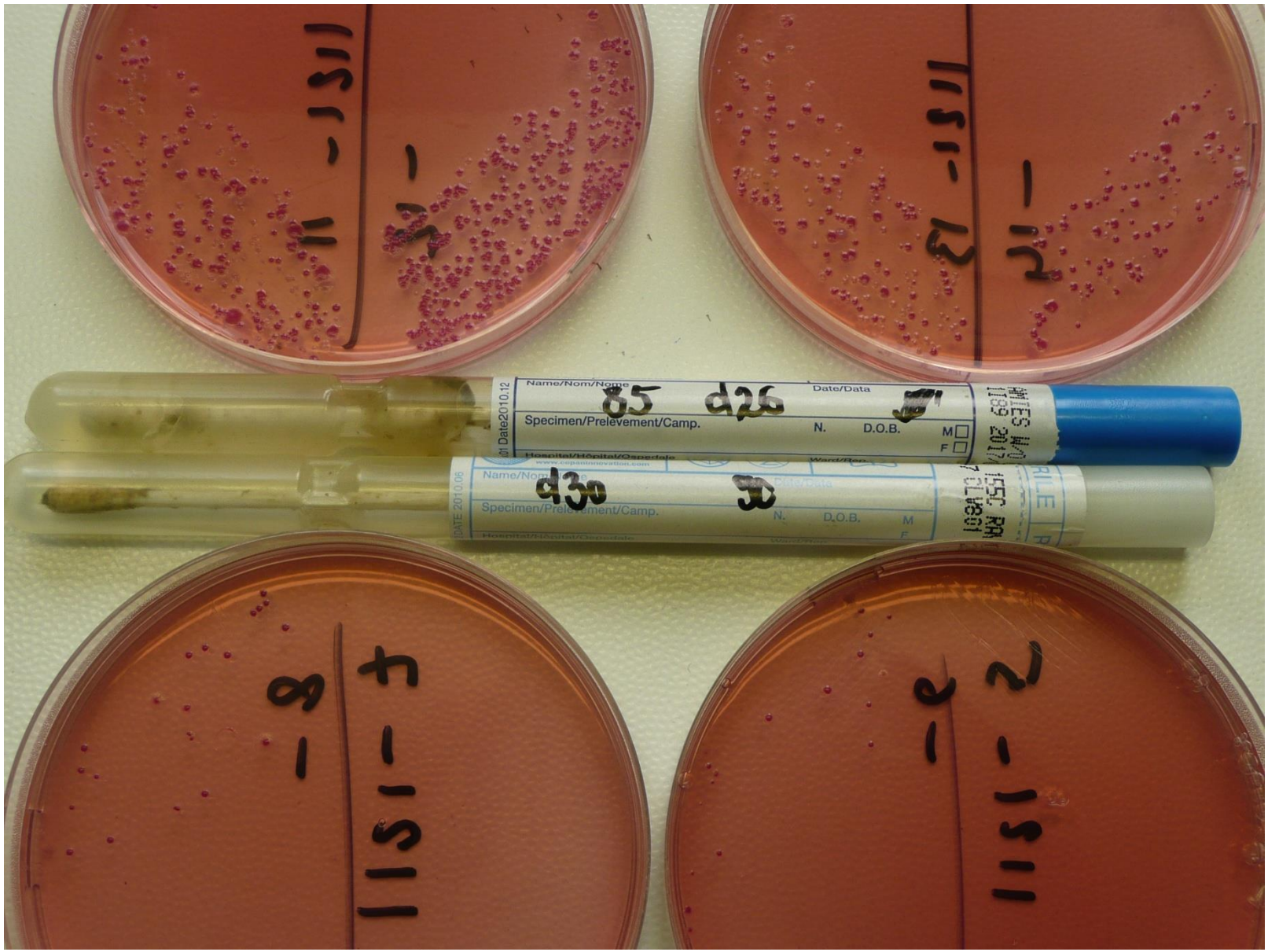
Diagnose

- Bacteriologie
- Aantonen van adhesiefactoren, toxines
 - Pcr-test: aantonen van gen voor
 - F4, F5, F6, F18, F41
 - LT, STa, STb, STx1, STx2
- Histologie

Swabs

| Swab | Ingredients | Purpose |
|------------------|--|--|
| Amies | Conservation medium, buffered | bacteriologie, pcr |
| Amies + Charcoal | charcoal | gevoelige bacteria |
| UTM | Conservation medium, buffered antibiotics | virusses, Chlamidia, Mycoplasma |
| dry | nihil | bacterio, pcr, viral culture (humid !) |





E. coli enteritis

- Aanpak
 - Kiem: antibiogram noodzakelijk
 - Rehydratatie
 - Nestwarmte !
 - Vaccinatie zeug

E. coli enteritis

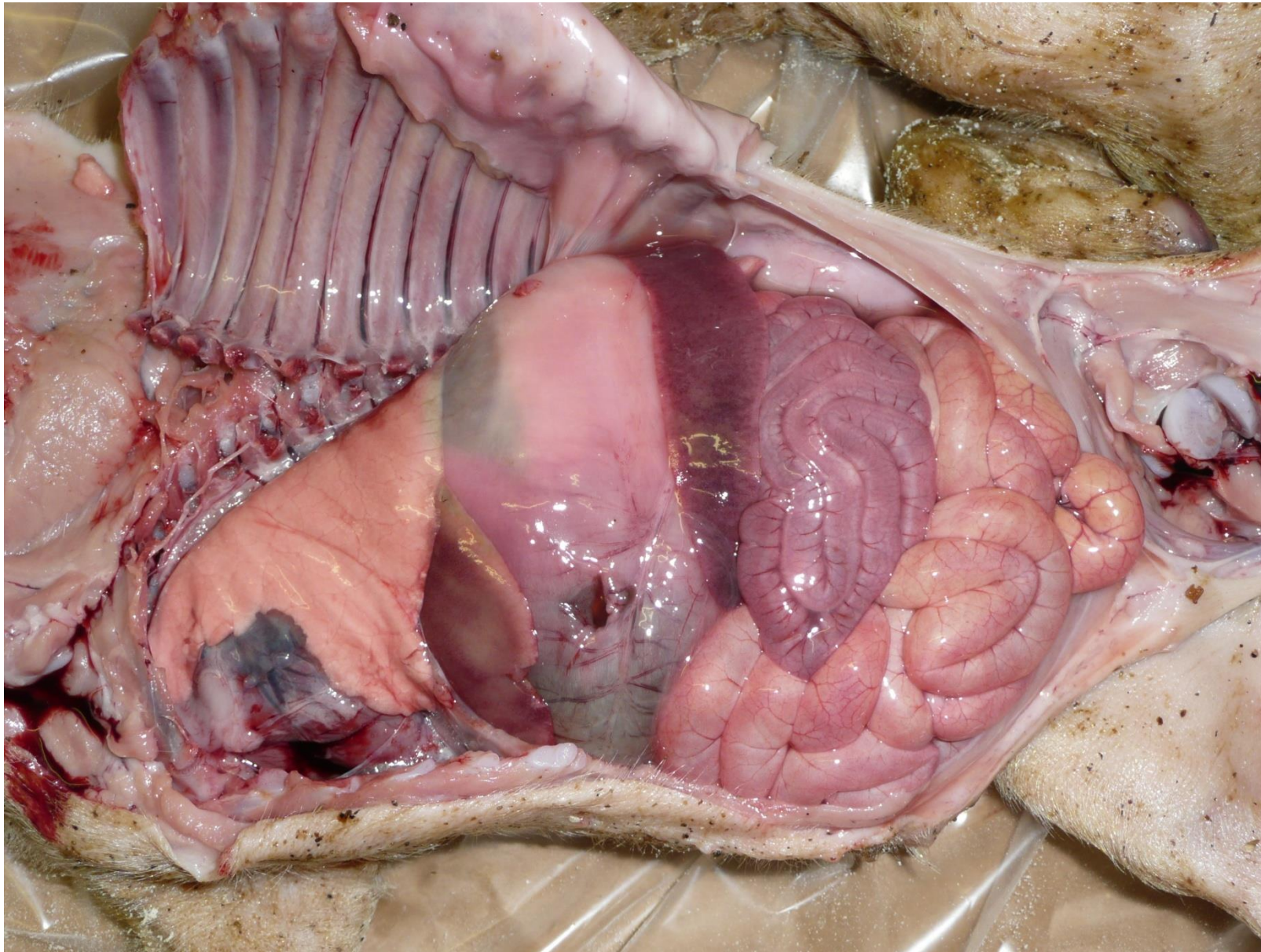
- Preventief:
 - Infectiedruk laag houden
 - Hygiëne
 - Excretie door de zeug
 - Uitlokkende factoren:
 - Nestwarmte
 - Melkgifte
 - Immunititeit

E. coli enteritis

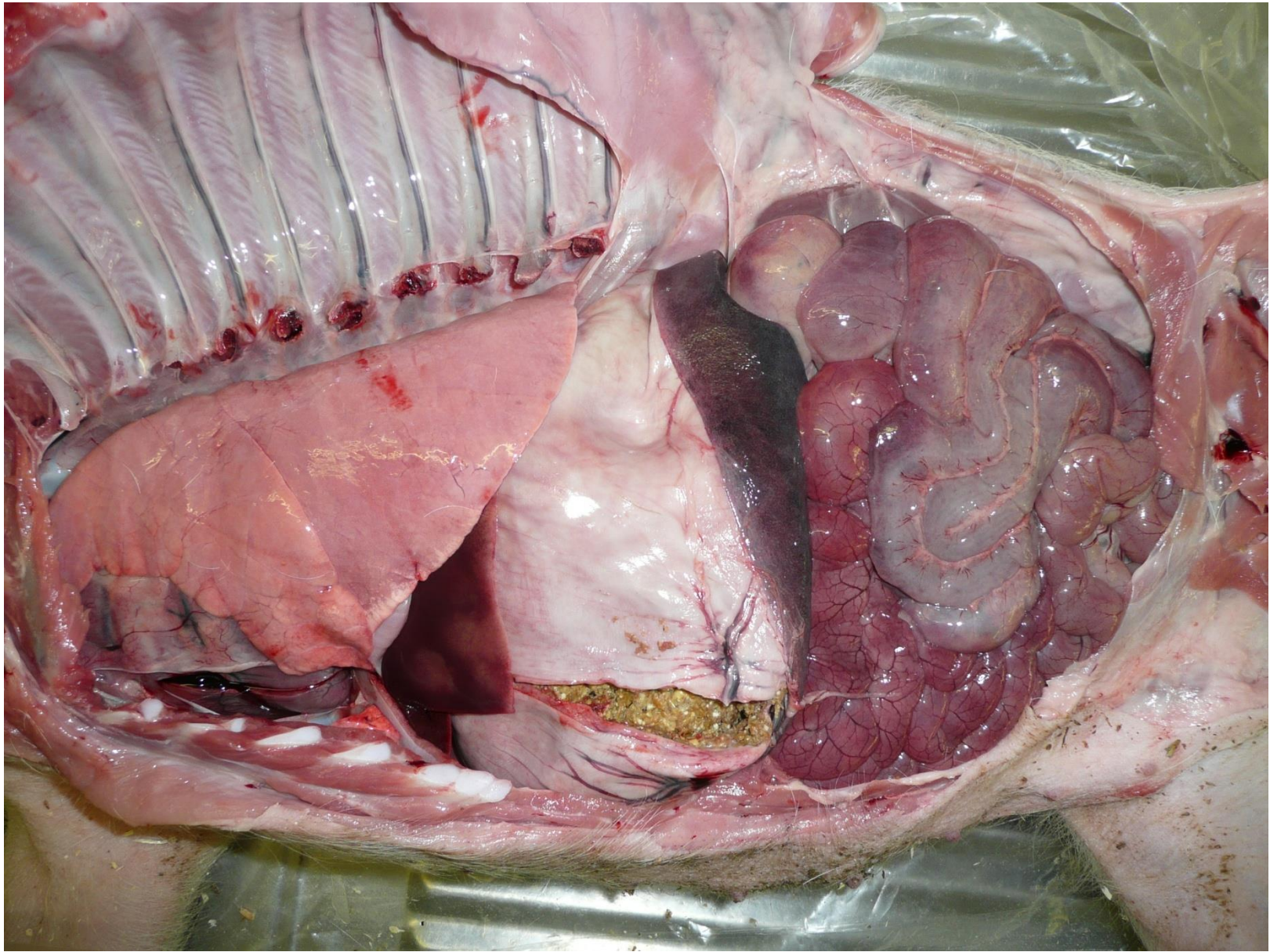
- Immuniteit: humoraal (colostraal / lactogeen)
 - Neutralisatie van adhesines
 - Geen binding aan receptor
 - Neutralisatie toxines
- Vaccinatie zeug belangrijk bij aanpak !
- Opname colostrum en melkgifte !

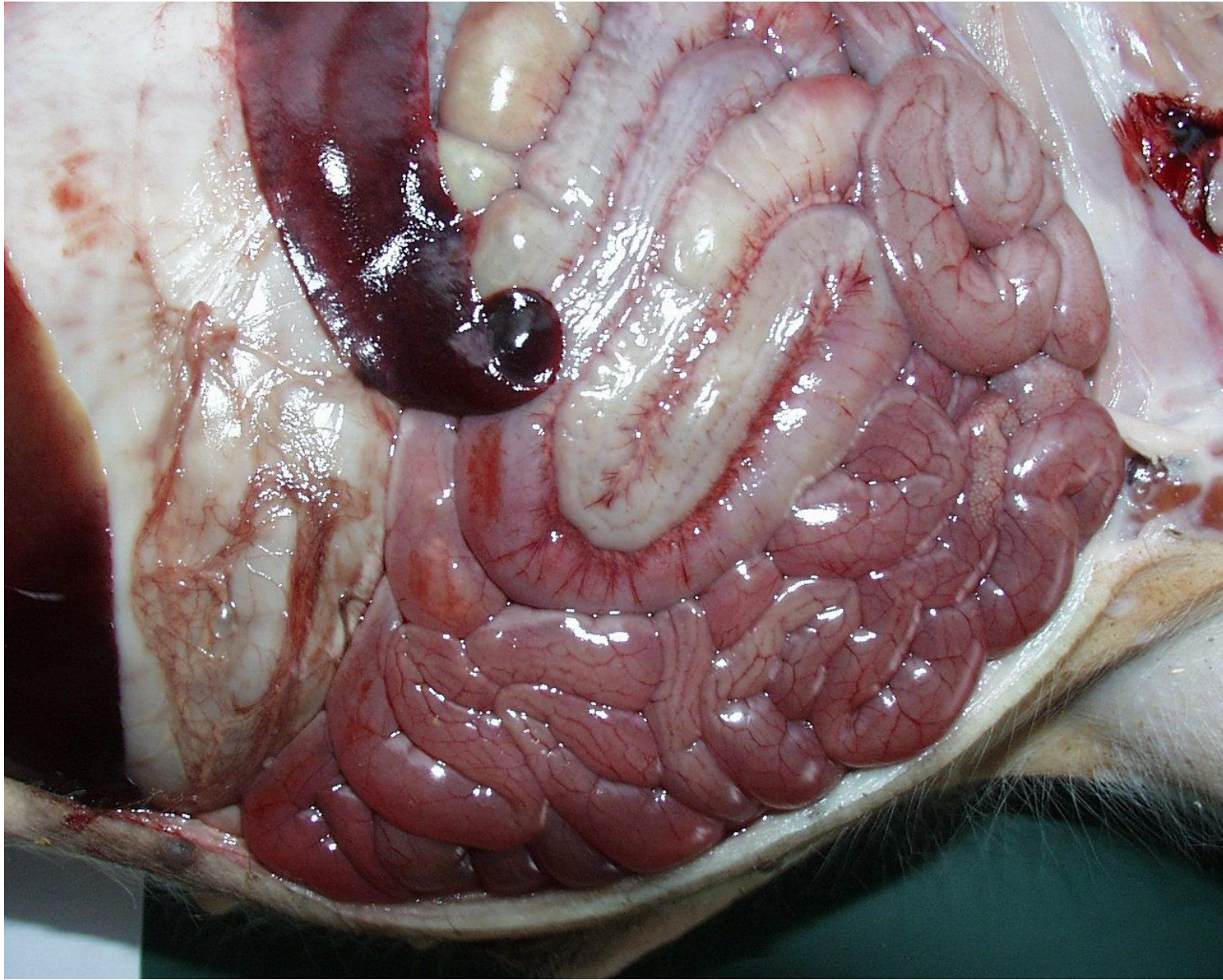
Speendiarrée

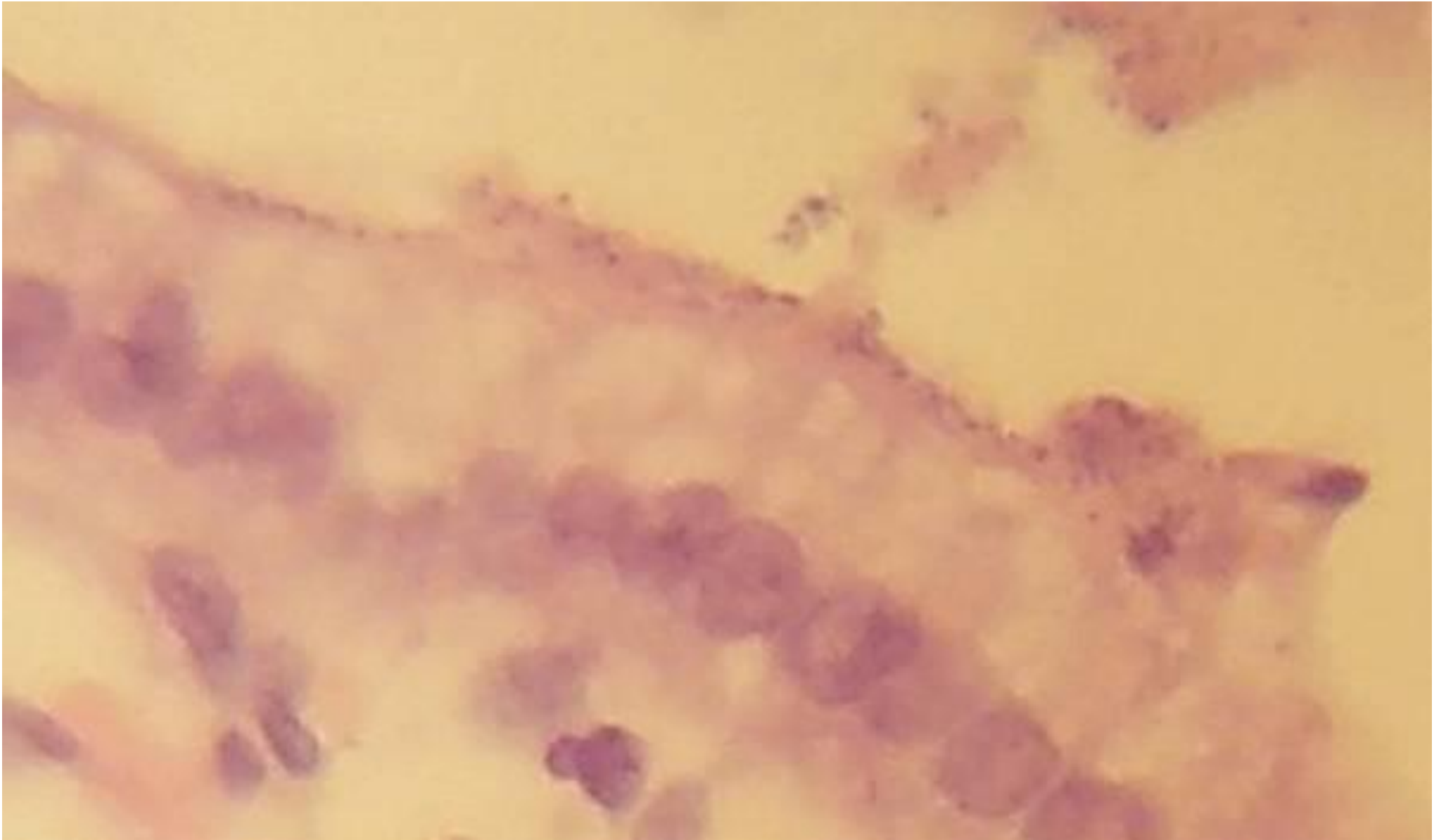
- Enteropathogene *E. coli*
 - Stuwling, uitgezette dundarm
 - Waterige, soms bloedgetinte inhoud
 - Normale mucosa
 - Weinig gevuld colon
 - Gevulde maag
 - Dehydratatie
- Staalname: bacteriologie + typering, histologie
- Aanpak
 - Omgevingsfactoren
 - Kiem
 - vaccinatie



Philip Vyt - DiaLab







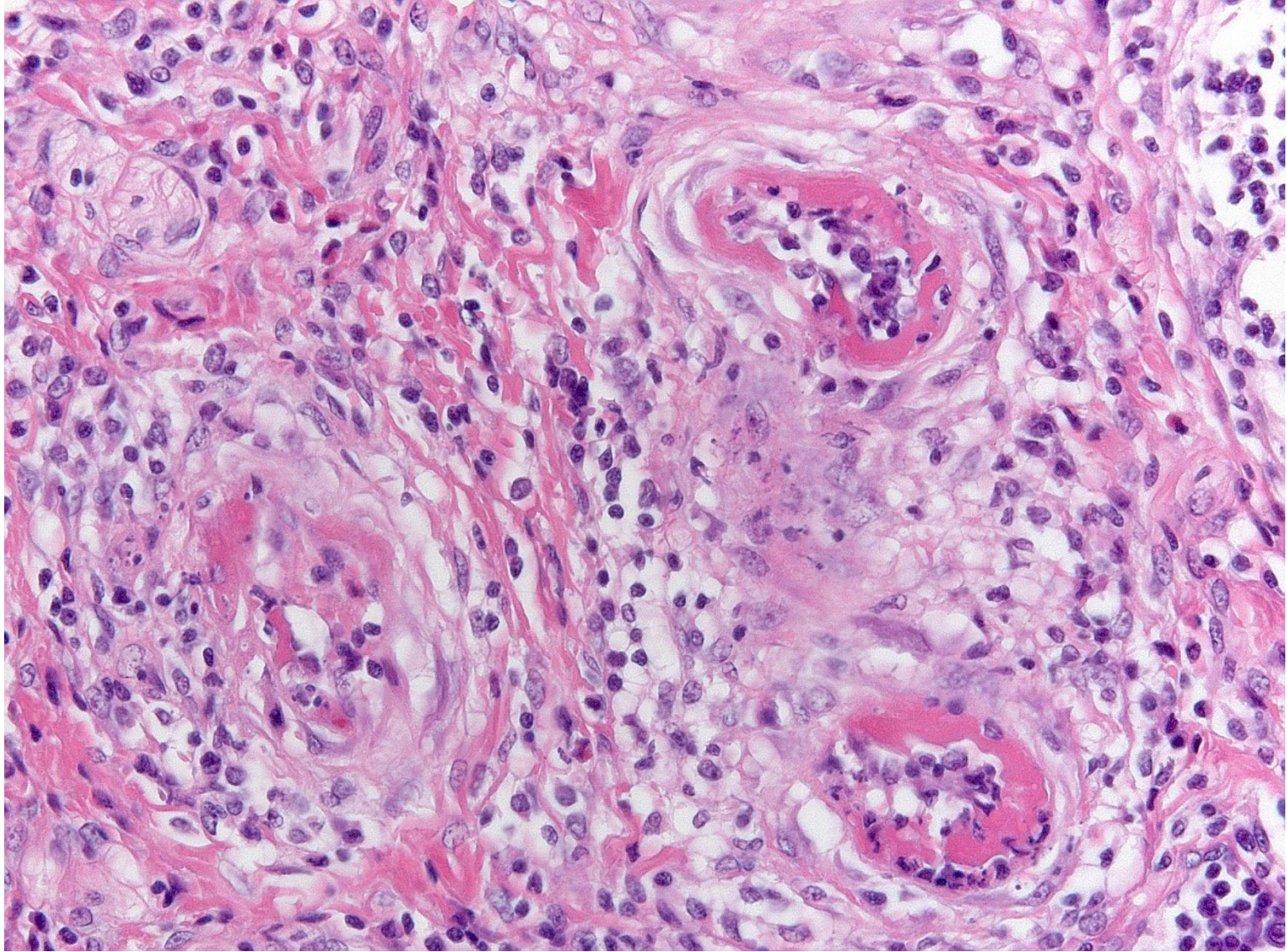
Slingerziekte

- Verotoxigene *E. coli*
 - Gestuwde dundarm, gestuwde mesenteriale LK
 - Meestal normale inhoud
 - Normale mucosa
 - normaal gevuld colon
 - Gevulde maag
 - Algemeen oedeem
- Staalname: bacteriologie + typering, histologie
- Aanpak
 - Omgevingsfactoren
 - Kiem
 - Vaccinatie
 - Genetische selectie: mutatie in fucosyltransferase gen (FUT)
 - > F18- minder gevoelig 12 vs 70% kliniek



Dr. Philip Vyt, DiaLab





Clostridium perfringens

Sterke productie van toxines > virulentie

- Enteritis
 - Anaerobe bacterien met toxines > afsterven enterocyten
 - Beschadigde darmvlokken > resorberend vermogen daalt
> verlies lichaamsvocht
 - Weefselreactie: afdichten van het defect > fibrine, litteken
> blijvende schade
- Enterotoxemie: orgaanletsels
- Wondinfecties (gasgangreen)

Clostridium perfringens

Table 2. Current *C. perfringens* toxinotyping scheme.

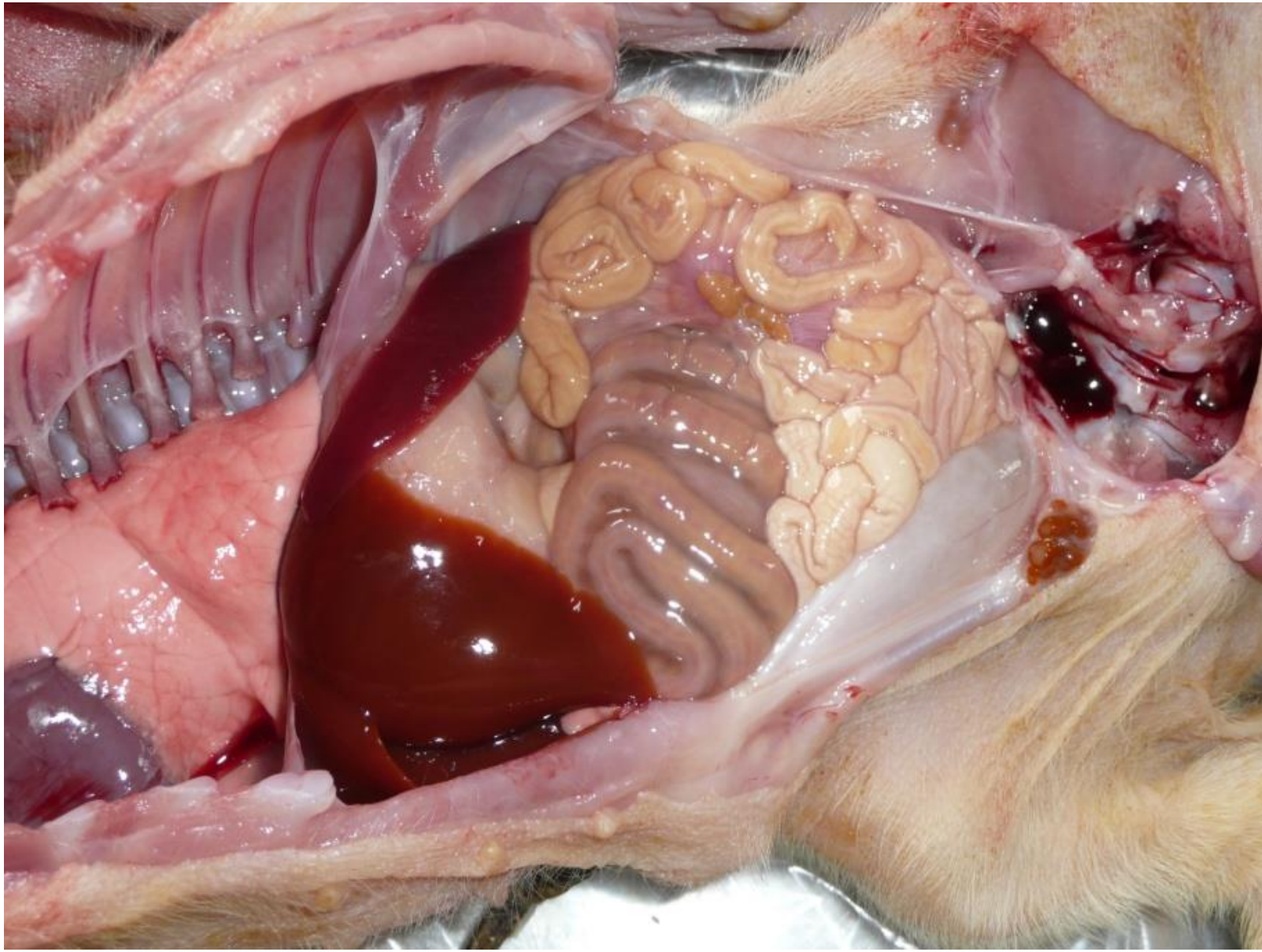
| Toxinotype | Toxin produced | | | | | |
|------------|----------------|-----|-----|-----|-----|------|
| | CPA | CPB | ETX | ITX | CPE | NetB |
| A | + | - | - | - | - | - |
| B | + | + | + | - | - | - |
| C | + | + | - | - | ± | - |
| D | + | - | + | - | ± | - |
| E | + | - | - | + | ± | - |
| F | + | - | - | - | + | - |
| G | + | - | - | - | - | + |

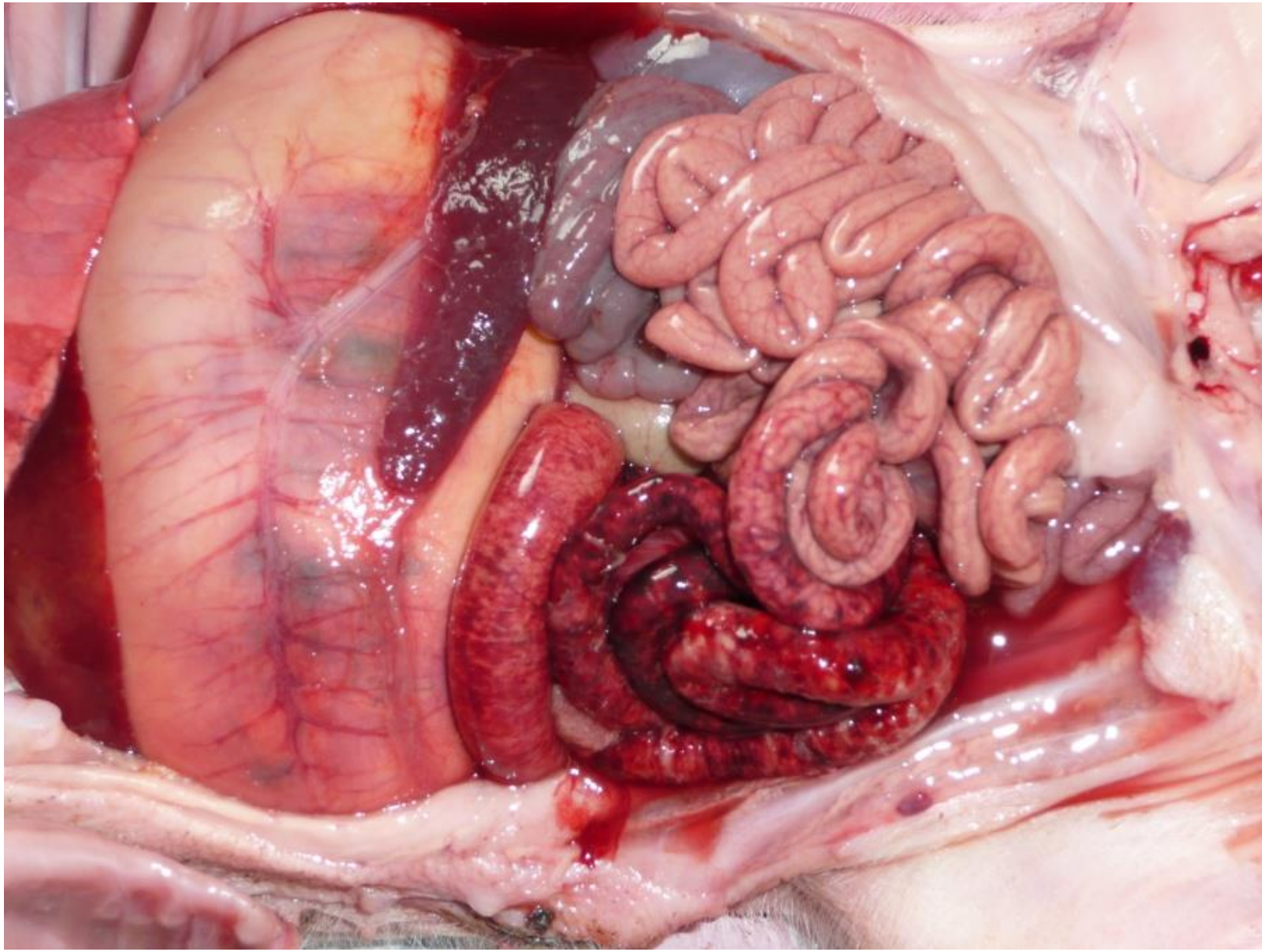
Clostridium perfringens

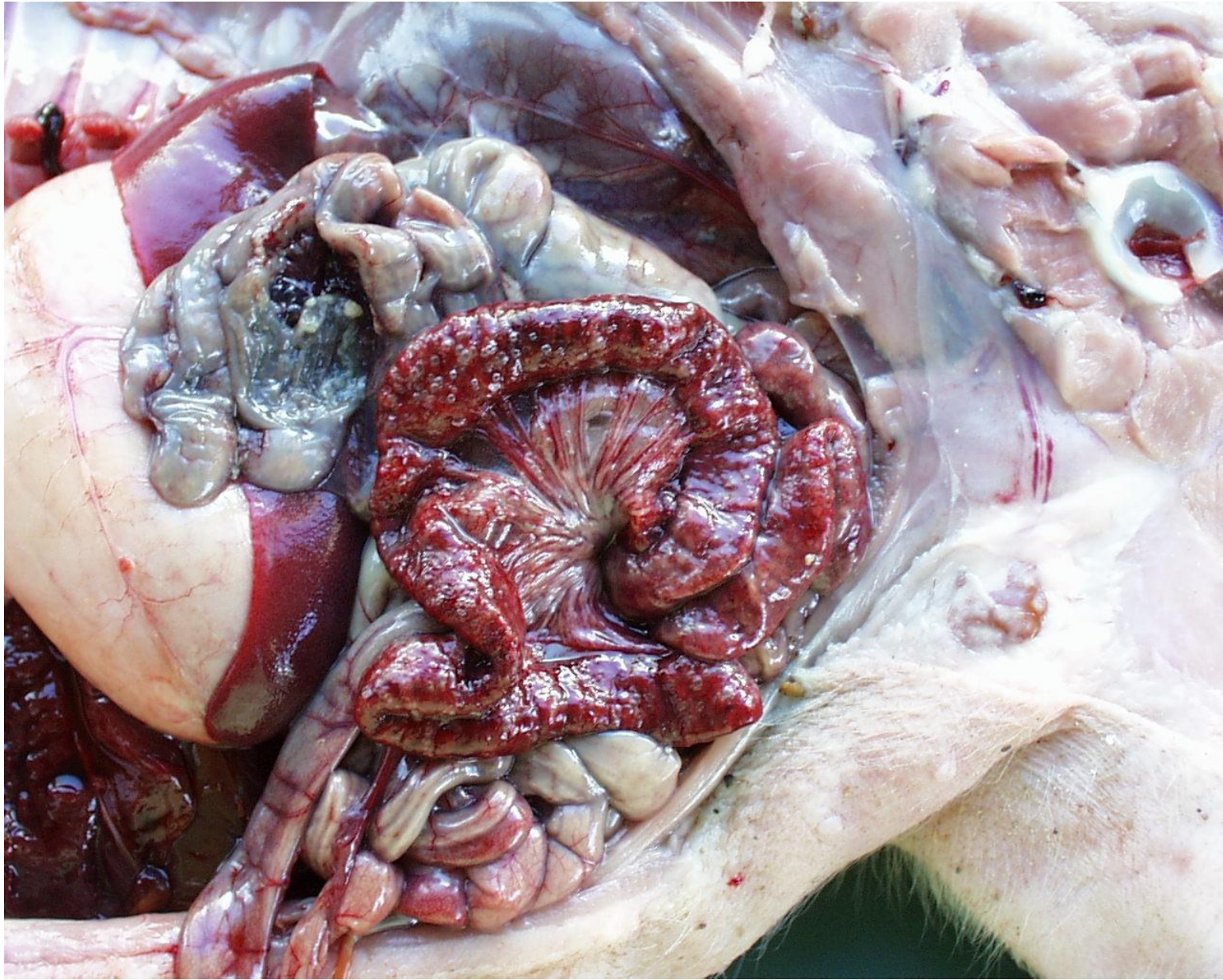
- CPA: phospholipase
> hydrolysis of phosphatidylcholine en sphingomyeline
- CPB: tunnelvorming in membraan
> verstoring osmotische druk
> celdood
Zéér gevoelig aan trypsine
- CPE: tunnelvorming in membraan
> cytotoxisch
- CPI: opgenomen via endocytose
> polymeren ervan ingebouwd in membraan >poriën
- CPD: cfr CPB, grote poriën
- CPB2: gelijkend op CPB, 'minor toxin'
- Enterotoxine: binding thv tight junctions
> permeabiliteit membraan
- Productie afbraak-enzymes: proteases, hyaluronidases, collagenases
- sporenvorming

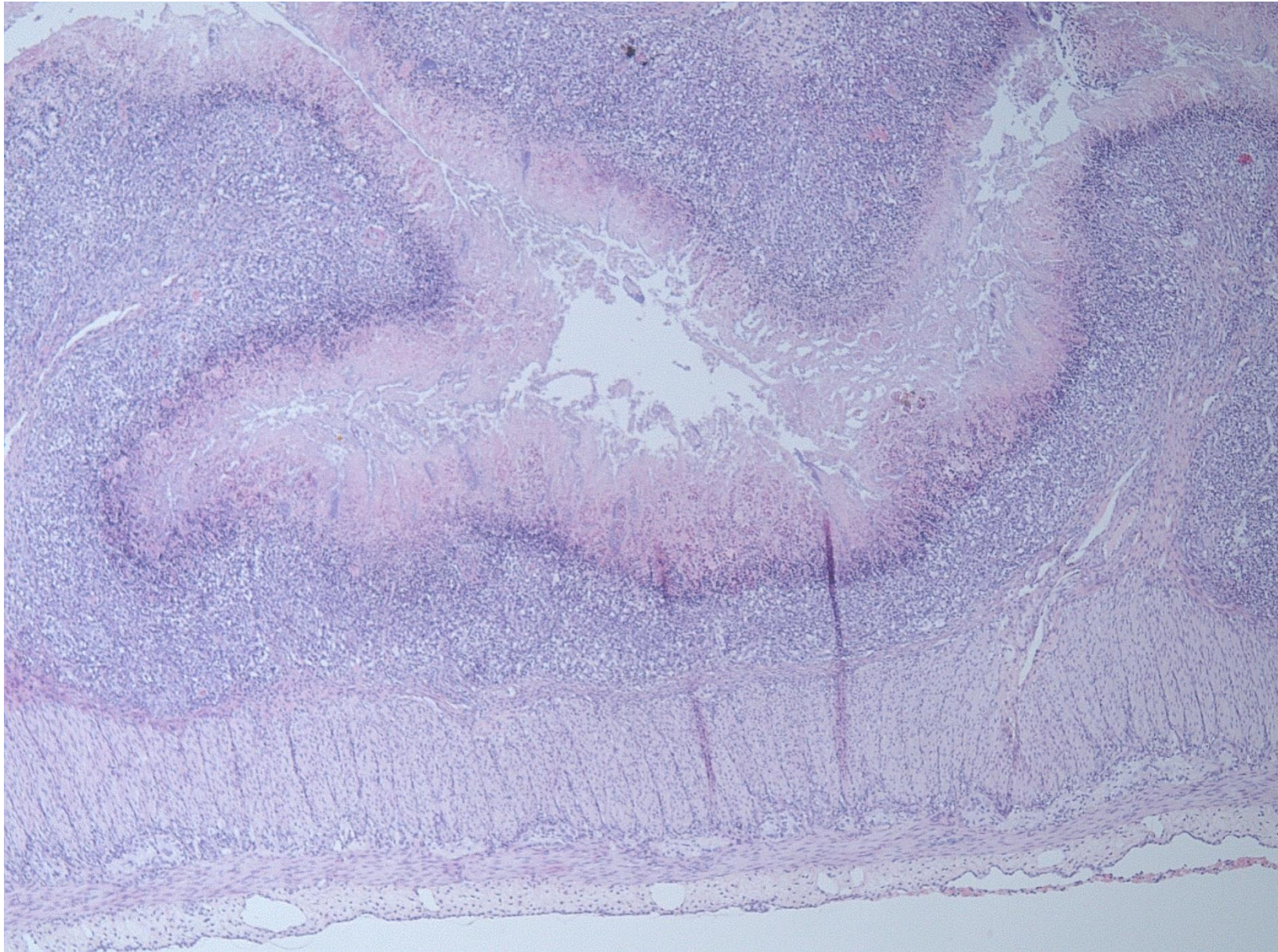
Clostridium enteritis

- Letsels:
 - deshydratatie
 - opgezette darmen, waterige, hemorragische inhoud
 - Letsels van uitgebreide ontstekingsreactie: oedeem
 - Bij Clostridium perfringens type C: gasvorming in de darmwand
 - Wisselende maagvulling
- Diagnose:
 - Bacteriologie / PCR
 - Aantonen van toxines / genen







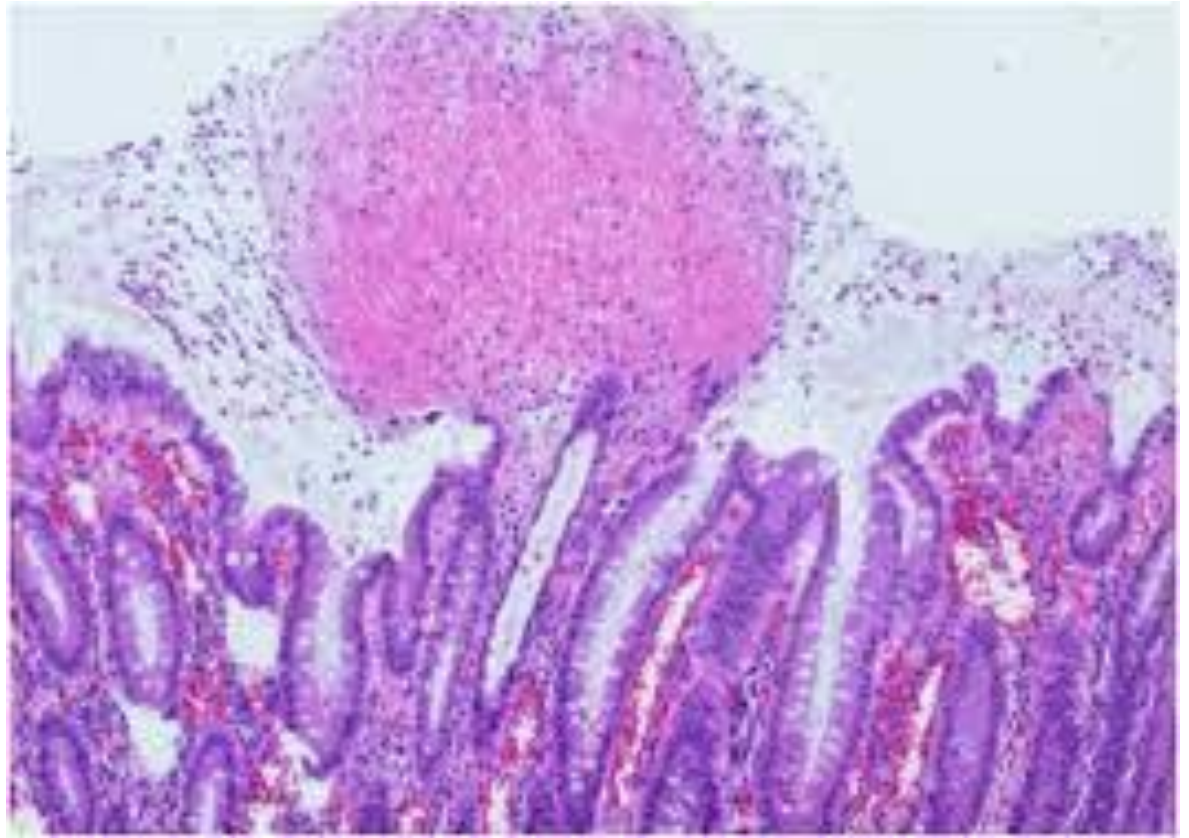


Clostridium difficile

- Bewoner van darm, sporenvorming, anaeroob
- TcdA, TcdB: glycosyltransferases
 - > grijpen in op cytoskelet
- 10% hypervirulente stammen
 - > produceren binair toxine cdta en / of cdtb
 - > grotere bindingscapaciteit aan cellen
 - > actievere toxines
- Enteritis geassocieerd met antibioticabehandeling
- Belang van darmflora: Lactobacilli, Bifidobacteria inhiberen adhesie van toxines

Clostridium difficile

- Diagnose:
 - Letsels:
 - oedeem op mesocolon
 - Milde enteritis, pasteuze mest
 - Histologie: beschadigde villustoppen in colon
 - Cultuur
 - PCR: kiem + toxines
 - (Aantonen toxines in mest)





Moortelhoekstraat 2

9111 Belsele

0479/510064

philip.vyt@dialab.be