
BACTERIELE INFECTIES BIJ SLANGEN EN DE BEHANDELING ERVAN MET ANTIBIOTICA, EEN RECENTE VISIE. - DEEL 1.

Door, R. Jooris, Gemoedsveld 3, 9200 Wetteren, België.

INHOUD: Inleiding - Werkmethode - Monstersamenstelling en populatieonderzoek - De bacteriële flora van de Ophidiatabellen 1 - 6.

INLEIDING

Bacteriën spelen een belangrijke rol als potentiële ziekteverwekkers van reptielen, zowel als primaire of als secundaire oorzaak (Cooper, 1981; Ippen en Schröder, 1977; Ross en Marzec, 1984). In tegenstelling tot het vaststellen van infecties van protozoaire aard, b.v. diarree als gevolg van een abnormale toename van het aantal flagellaten in de darm, coccidiose, enz. is een diagnose door bacteriologisch onderzoek niet altijd even duidelijk en is het soms moeilijk een verband te leggen tussen een infectie en het veroorzakende micro-organisme. Culturen van monsters, genomen bij reptielen, geven immers veelal een mengflora en bovendien is er tot nu toe weinig vergelijkend onderzoek verricht tussen gewone en ziekteverwekkende flora. Bij sommige onderzoekers zijn er tegenstrijdigheden voor wat het al dan niet ziekteverwekkende karakter van een bacterie betreft. *Salmonella*-bacteriën zijn hier wel het meest illustere voorbeeld van. Sommige onderzoekers klasseren de *Salmonella*'s als kostgangers bij koudbloedigen met weinig kwaadaardig karakter (Cooper, 1981) of hoogstens onder gunstige omstandigheden ziekteverwekkend (Chiodini, 1983), terwijl anderen deze bacteriën als oorzaak van diverse ziekten beschouwen (Ippen en Schroder, 1977; Frye, 1981).

Gedurende de laatste twee jaren werd daarom een honderdtal bacteriologische kweken aangelegd van diverse monsters, afkomstig uit een slangenpopulatie die klinisch gezonde dieren en symptoomdieren omvatte. De bedoeling hiervan was, een beter inzicht te krijgen, zowel in de normale flora als in de infectieuze pathologie en vooral om een duidelijk verband te kunnen leggen tussen een klinisch vastgestelde infectie en de geïsoleerde micro-organismen.

WERKMETHODE - COLLECTIE - ISOLATIE - DETERMINATIE

De uitslag van een bacteriologisch onderzoek is in grote mate afhankelijk van een correcte staalname en het snelle transport naar het laboratorium. Het is daarom van groot belang, dat het monster centraal in de infectiehaard genomen wordt om zoveel mogelijk reeds afgebroken flora uit de omgeving te vermijden (Needham, 1983). Voor het verzamelen en transporteren van faecesmonsters gebruikten we de klassieke steriele faecespotjes. Alle andere monsters werden genomen met de bacteriologische wattenprop die gedurende het transport in transportmedium (Microdiagnostics) wordt bewaard.

Voor de primaire isolatie werden de volgende voedingsbodems (afhankelijk van het te onderzoeken monster) gebruikt: SALMONELLA-SHIGELLA AGER (Oxoid), MAC CONKEY AGAR (Oxoid) no. 3, MANNITOL SALT AGAR (Oxoid), COLUMBIA AGAR NSC (Merck) + 5% paardebloed, YERSINIA AGAR 5 (Bio-Merieux), C.L.E.D. MEDIUM (Oxoid), AEROMONAS AGAR (Gibco), CAMPYLOBACTER AGAR (BLASER) (bio-Merieux), BLOOD AGAR BASE (Oxoid) + 5% paardebloed, CHOCOLADE-POLYVITEX-BACITRACINE AGAR (Bio-Merieux), SABOURAUD AGAR (gluc. 2%) + ACTIDIONE + CHLORAMHENICOL (Pasteur), DERMATOPHYTEN AGAR naar TAPLIN (Merck).

De incubatie van de monsters had plaats bij een temperatuur van 36°C en 28°C in een normale, CO₂-

rijke anaerobe of micro-aerofiele BBL Gaspak Systems atmosfeer, dit afhankelijk van het te onderzoeken monster. Er dient wel opgemerkt te worden dat onderzoek naar anaeroben alleen werd uitgevoerd wanneer het monster een stinkende, rottende geur verspreidde (b.v. schubrot) en de tijdspanne tussen monsternamen en enting binnen aanvaardbare grenzen lag.

De secundaire isolatie had plaats op KLIGLER IRON AGAR (Oxoid) en OF BASAL MEDIUM (HUGH EN LEIFSON) + 1% glucose (Eco-Bio). Determinatie van de bacteriën gebeurde door middel van de klassieke identificatiebodems: MOBILITEIT-INDOL-UREASE MEDIUM, SIMMON'S CITRAAT AGAR, FENYLALANINE MEDIUM, DECARBOXYLASE MEDIUM (LYSINE, ARGININE, ORNITHINE) MUCAAT AGAR, MALONATE BROTH, M.R.-V.P. BOUILLON, CYSTINE TRYPTICASE MEDIUM (Eco-Bio) + GLUCI-DISKS (B.D.), door enzymatische reacties met Rosco-Diagnostic-Tablets en met behulp van de commerciële systemen API.

MONSTERSAMENSTELLING EN POPULATIE-ONDERZOEK

In totaal werden er 124 monster genomen, waarvan meer dan de helft faecesmonsters (tabel 1). De monsters werden verzameld bij een populatie van 92 dieren, hoofdzakelijk slangen en afkomstig uit een reptilium en uit particuliere collecties. Tabel 2 geeft een overzicht van het aantal soorten waarbij monster werden genomen. Van deze populatie waren er 46 symptoomdieren met de volgende klinisch vastgestelde infecties: pneumonie (14), gastro-intestinale stoornissen van niet protozoaire aard (13), stomatitis ulcerosa (2), oropharyngale cellulitis (1), rhinitis (2), abscessen (2), huidfunonkels (1), necrotiserende dermatitis (3), schimmeldermitis (2), geïnfecteerde brandwonden (1), algemene systeem infectie (2), dood door onbekende oorzaak (3).

Daarnaast werden er ook monsters genomen, het merendeel uit faeces - en uit de keelholte bij klinisch

gezonde dieren, met de bedoeling een beter inzicht te krijgen in de normale flora van de koudbloedigen en om te zien welke verschuivingen er zich eventueel voordoen bij infectueuze toestanden.

DE BACTERIELE FLORA VAN DE OPHIDIA

INTESTINALE FLORA

De darmflora van de slangen bestaat hoofdzakelijk uit gram negatieve staven. Tabel 3 geeft de procentuele verhouding weer van het aantal gevonden bacteriën-soorten, uitgedrukt t.o.v. het totaal aantal isolaties. De Enterbacteriaceae (72,6%) en de Pseudomonadaceae (19,1%) zijn de meest frequent voorkomende micro-organismen. Gram positieve bacteriën bekleeden slechts een minderheidspositie (1,3%). Af en toe worden ook gisten en schimmels uit faecesmonsters geïsoleerd, meestal bij dysbacteriose ten gevolge van de behandeling met antibiotica.

Analoog met ander onderzoeken (Mayer en Frank, 1974) is de opmerkelijk hoge score van Salmonella-sp. die nog duidelijker wordt wanneer we het aantal gevonden bacteriënsoorten uitdrukken t.o.v. het totaal aantal onderzocht faecesmonsters (tabel 4). Salmonellabacteriën werden geïsoleerd in niet minder dan de helft van de faecesmonsters, deze genomen bij een populatie die van het overgrote deel uit 75% asymptomatische dieren (procentuele verhouding berekend op de representatieve monsters: 56 monsters werden als representatief beschouwd; niet representatief waren de monsters van de slangen die een protozoaire diarrhee doormaakten en faecesmonsters waarbij geen gegevens vermeld waren.

OROPHARYNGALE FLORA

Ook de bacteriële flora van de mond-keelholte be-

staat hoofdzakelijk uit gram negatieve staven (tabel 5). Wel is er hier een lichte procentuele verschuiving in het voordeel van de niet-enterobacteriën (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*). Wanneer we het frequentievoorkomen van de geïsoleerde bacteriënsoorten uitdrukken t.o.v. het aantal onderzochte monsters (tabel 6), blijken *Escherichia coli* en *Pseudomonas aeruginosa* de meest voorkomende soorten te zijn, gevolgd door *Pseudomonas maltophilia*, *Salmonella* sp., *Aeromonas hydrophila* en *Proteus mirabilis*. Wel opmerkelijk is het terug isoleren van *Salmonella*-bacteriën uit oropharyngale monsters. De *Salmonella*'s werden gevonden bij symptoombieren, slangen met pneumonieverschijnselen. Uit culturen, aangelegd van oropharyngale monsters van wildvang slangen en slangen gehouden in gevangenschap uit Papoea-Nieuw Guinea, werden geen *Salmonella*'s geïsoleerd (Ross en Marzec, 1984). Helaas werd hier niet vermeld, of in de onderzochte populatie ook dieren met ziekteverschijnselen aanwezig waren.

TOTAAL AANTAL ONDERZOEKEN	124
---------------------------	-----

AARD VAN DE MONSTERS

FAECES	67
OROPHARYNGALE OORSPRONG	27
TANDVLEESSECREET	6
EPIDERMISTELSEL	5
CLOACAAL SECREET	3
NASOPHARYNGAAL SLIJM (ETTER)	3
TRACHEAAL SLIJM (ETTER)	2
CLOACALE ULCUS	2
LONGWEEFSELEXTRACT (POST MORTEM)	2
LEVEREXTRACT (POST MORTEM)	2
GIF	2
ABDOMINALE CYSTE (POST MORTEM)	1
FURUNKEL	1
NECROTISEREND WEEFSEL	1

Tabel 1: Overzicht van de genomen monsters.

SAURIA

EUBLEPHARIS MACULARIUS
LACERTA LEPIDA LEPIDA
LACERTA DUGESII

OPHIDIA

PYTHON RETICULATUS
PYTHON MOLURUS
PYTHON CURTUS
PYTHON REGIUS
MORELIA ARGUS VARIEGATA
LIASIS CHILDRENI
CHONDROPYTHON VIRIDIS
EPICRATES ANGULIFER
EPICRATES CENCHRIA CENCHRIA
EPICRATES CENCHRIA MAURA
LICHANURA TRIVIRGATA
CORALLUS CANINUS
CORALLUS ENYDRIS ENYDRIS
BOA CONSTRICTOR
LAMPROPELTIS TRIANGULUM SINALOAE
LAMPROPELTIS MEXICANA ALTERNA
LAMPROPELTIS ZONATA PULCHRA
LAMPROPELTIS GETULUS FLORIDANA
ELAPHE sp.
ELAPHE GUTTATA ssp.
ELAPHE GUTTATA GUTTATA
ELAPHE OBSOLETA LINDHEIMERI
ELAPHE OBSOLETA ROSALLENI
ELAPHE OBSOLETA QUADRIVITTATA
BOIGA DENDROPHILA
NAJA NAJA NAJA
NAJA NAJA KAOUTHIA
NAJA HAJE HAJE
NAJA MOSSAMBICA
NAJA PALLIDA
HEMACHATUS HAEMACHATUS
BUNGARUS MULTICINCTUS

BITIS GABONICA RHINOCEROS
BITIS NASICORNIS
BITIS ARIETANS
CERASTES CERASTES CERASTES
ERISTOCOPHIS NACMAHONII
VIPERA ASPIS ASPIS
VIPERA AMMODYTES TRANSCAUCASIANA
VIPERA KAZNAKOVI
VIPERA URSINII URSINII
VIPERA LEBETINA SCHWEIZERI
VIPERA RADDEI RADDEI
VIPERA RUSSELLI ssp.
CROTALUS LEPIDUS ssp.
CROTALUS CERASTES ssp.
CROTALUS DURISSUS ssp.
CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS
CROTALUS ENYO ssp.
CROTALUS WILLARDI
CROTALUS RUBER ssp.
TRIMERESURUS FLAVOVIRIDIS
TRIMERESURUS KANBURIENSIS
TRIMERESURUS OKINAVENSIS

Tabel 2: Overzicht van de onderzochte soorten.

Gr - STAVEN (93,83%)

ENTEROBACTERIACEAE 72,6%

N (=146) %

SALMONELLA subgroep III	28	19,18	23,28
SALMONELLA subgroep I	5	3,42	
SALMONELLA subgroep II	1	0,68	
ESCHERICHIA COLI	28	19,18	
PROVIDENCIA RETTGERI	11	7,53	
PROTEUS MIRABILIS	11	7,53	
CITROBACTER FREUNDII	9	6,16	
MORGANELLA MORGANII	6	4,11	
PROTEUS VULGARIS	4	2,74	
PROVIDENCIA ALCALIFACIENS	2	1,37	
PROVIDENCIA STUARTII	1	0,68	

PSEUDOMONADACEAE 19,18%

PSEUDOMONAS AERUGINOSA	19	13,01
PSEUDOMONAS PUTIDA	4	2,74
PSEUDOMONAS FLUORESCENS	2	1,37
PSEUDOMONAS STUTZERI	1	0,68
PSEUDOMONAS CEPACIA	1	0,68
PSEUDOMONAS PUTREFACIENS	1	0,68
AREOMONAS HYDROPHILA	1	0,68
ACINETOBACTER CALCOACETICUS (biovar LWOFFI)	1	0,68
PASTEURELLA MULTOCIDA	1	0,68

Gr. + COCC. 1,37%

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	1	0,68
STREPTOCOCCUS FAECALIS	1	0,68

GISTEN + SCHIMMELS 4,79%

RHODOTORULA GLUTINIS	1	0,68
CANDIDA GUILLERMONDI	1	0,68

CANDIDA KRUSEI	1	0,68
PHYCOMYCETES sp.	2	1,37
MUCOR sp.	1	0,68
FUNGUS niet gedeterm.	1	0,68

Tabel 3: Frequentievoorkomen van de gevonden bacteriënsoorten in faecale monsters uitgedrukt t.o.v. het totaal aantal isolaties.

Gr. - STAVEN

ENTEROBACTERIACEAE

	<u>N</u> (=67)	<u>%</u>	
SALMONELLA subgroep III	28	41,79	
SALMONELLA subgroep I	5	7,46	50,74
SALMONELLA subgroep II	1	1,49	
ESCHERICHIA COLI	28	41,79	
PROVIDENCIA RETTGERI	11	16,42	
PROTEUS MIRABILIS	11	16,42	
CITROBACTER FREUNDII	9	13,43	
MORGANELLA MORGANII	6	8,95	
PROTEUS VULGARIS	4	5,97	
PROVIDENCIA ALCALIFACIENS	2	2,98	
PROVIDENCIA STUARTII	1	1,49	

PSEUDOMONADACEAE

PSEUDOMONAS AERUGINOSA	19	28,36	
PSEUDOMONAS PUTIDA	4	5,97	
PSEUDOMONAS FLUORESCENS	2	2,98	
PSEUDOMONAS STUTZERI	1	1,49	
PSEUDOMONAS CEPACIA	1	1,49	
PSEUDOMONAS PUTREFACIENS	1	1,49	
AEROMONAS HYDROPHILA	1	1,49	
ACINETOBACTER CALCOACETICUS (biovar LWOFFI)	1	1,49	
PASTEURELLA MULTOCIDA	1	1,49	

Gr. + COCC.

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	1	1,49	
STREPTOCOCCUS FAECALIS	1	1,49	

GISTEN + SCHIMMELS

RHODOTORULA GLUTINIS	1	1,49
CANDIDA GUILLERMONDI	1	1,49
CANDIDA KRUSEI	1	1,49
PHYCOMYCETES sp.	2	2,98
MUCOR sp.	1	1,49
FUNGUS niet gedeterm.	1	1,49

Tabel 4: Frequentievoorkomen van de gevonden bacteriënsoorten in faecale monsters uitgedrukt t.o.v. het totaal aantal onderzochte faecesmonsters.

Gr - STAVEN (82%)

ENTEROBACTERIACEAE (50%)

	<u>N</u> (=50)	<u>%</u>	
ESCHERICHIA COLI	7	14,00	
SALMONELLA subgroep III	3	6,00	8,00
SALMONELLA subgroep I	1	2,00	
PROTEUS MIRABILIS	3	6,00	
MORGANELLA MORGANII	2	4,00	
CITROBACTER FREUNDII	2	4,00	
PROVIDENCIA RETTGERI	1	2,00	
PROVIDENCIA ALCALIFACIENS	1	2,00	
ENTEROBACTER CLOACEAE	1	2,00	
KLEBSIELLA PNEUMONIAE	1	2,00	
KLEBSIELLA OXYTOCA	1	2,00	

PSEUDOMONADACEAE (26%)

PSEUDOMONAS AERUGINOSA	7	14,00	
PSEUDOMONAS MALTOPHILIA	4	8,00	
PSEUDOMONAS STUTZERI	1	2,00	
PSEUDOMONAS ALCALIGENES	1	2,00	
AEREOMONAS HYDROPHILA	3	6,00	
ACINETOBACTER CALCOACETICUS (biovar LWOFFI)	2	4,00	

Gr + COCC. (8%)

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	2	4,00	
MICROCOCCUS sp.	2	4,00	

Gr + staafjes (2%)

CORYNEBACTERIUM sp.	1	2,00	
---------------------	---	------	--

GISTEN + SCHIMMELS (8%)

RHODOTORULA RUBRA	1	2,00
RHODOTORULA GLUTINIS	1	2,00
CANDIDA PARAPSILOSIS	1	2,00
MUCOR sp.	1	2,00

Tabel 5: Frequentievoorkomen van de gevonden bacteriënsoorten in oropharyngale monsters uitgedrukt t.o.v. het totaal aantal isolaties

Gr - STAVEN

ENTEROBACTERIACEAE

	<u>N</u> (=27)	<u>%</u>
ESCHERICHIA COLI	7	25,92
SALMONELLA subgroep III	3	11,11
SALMONELLA subgroep I	1	3,70
PROTEUS MIRABILIS	3	11,11
MORGANELLA MORGANII	2	7,41
CITROBACTER FREUNDII	2	7,41
PROVIDENCIA RETTGERI	1	3,70
PROVIDENCIA ALCALIFACIENS	1	3,70
ENTEROBACTER CLOACEAE	1	3,70
KLEBSIELLA PNEUMONIAE	1	3,70
KLEBSIELLA OXYTOCA	1	3,70

PSEUDOMONADACEAE

PSEUDOMONAS AERUGINOSA	7	25,92
PSEUDOMONAS MALTOPHILIA	4	14,80
PSEUDOMONAS STUTZERI	1	3,70
PSEUDOMONAS ALCALIGENES	1	3,70
AEREOMONAS HYDROPHILA	3	11,11
ACINETOBACTER CALCOACETICUS (biovar LWOFFI)	2	7,41

Gr + COCC.

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	2	7,41
MICROCOCCUS sp.	2	7,41

Gr + staafjes

CORYNEBACTERIUM sp.	1	3,70
---------------------	---	------

GISTEN + SCHIMMELS

RHODOTORULA RUBRA	1	3,70
RHODOTORULA GLUTINIS	1	3,70
CANDIDA PARAPSILOSIS	1	3,70
MUCOR sp.	1	3,70

Tabel 6: Frequentievoorkomen van de gevonden bacteriënsoorten in oropharyngale monsters uitgedrukt t.o.v. het totaal aantal isolaties