



FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013-2014

Aspergillose bij de kat

door

Sofie Van der Meeren

Promotoren: Prof. dr. Frank Pasmans
Prof. dr. Freddy Haesebrouck

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2014 Sofie Van der Meeren

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vevat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vevat in de masterproef.



FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013-2014

Aspergillose bij de kat

door

Sofie Van der Meeren

Promotoren: Prof. dr. Frank Pasmans
Prof. dr. Freddy Haesebrouck

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2014 Sofie Van der Meeren

VOORWOORD

In de eerste plaats wil ik professor dr. Frank Pasmans bedanken. Hij gaf me de toestemming om een zelf gekozen onderwerp uit te werken. Hij verbeterde heel zorgvuldig en gaf goede tips en nuttige informatie.

Ten tweede zou ik professor dr. Jan Declercq willen bedanken. Door zijn documentatie stond ik al een heel eind verder.

Daarnaast wil ik professor dr. Freddy Haesebrouck bedanken als mijn medepromotor.

Als laatste wil ik mijn ouders en partner bedanken. Ze steunden mij ten volle en gaven me veel moed en doorzettingsvermogen. Ik wil hen ook bedanken voor de vele verbeteringen die ze uitvoerden.

INHOUDSOPGAVE

VOORBLAD

TITELBLAD

VOORWOORD

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING & TREFWOORDEN	1
INLEIDING	2
LITERATUURSTUDIE	3
1. ETIOLOGIE	3
1.1. TAXONOMIE.....	3
1.2. MORFOLOGIE EN IDENTIFICATIE	5
1.3. VIRULENTIEFACTOREN	7
2. EPIDEMIOLOGIE	9
2.1. VERSPREIDING	9
2.2. ASPERGILLOSE	10
3. PATHOGENESE	11
3.1. OPNAME	11
3.2. PREDISPONERENDE FACTOREN	11
3.3. KOLONISATIE	12
4. SYMPTOMEN	14
4.1. SINO-NASALE ASPERGILLOSE	14
4.2. SINO-ORBITALE ASPERGILLOSE.....	14
4.3. SYSTEMISCHE ASPERGILLOSE.....	15
5. LETSELS	16
6. DIAGNOSE	17
6.1. AANTONEN VAN DE SCHIMMEL.....	17
6.1.1. <i>Staalname</i>	17
6.1.2. <i>Cytologie</i>	17
6.1.3. <i>Histologie</i>	17
6.1.4. <i>Cultuur</i>	18
6.1.5. <i>Opsporen van A. fumigatus antigenen</i>	20
6.2. MEDISCHE BEELDVORMING.....	21
6.2.1. <i>Computed-tomography (CT)</i>	21
6.2.2. <i>Rhinoscopie</i>	22
6.2.3. <i>Magnetic resonance imaging (MRI)</i>	23
6.2.4. <i>Radiologie (Rx)</i>	23
6.2.5. <i>Echografie</i>	23
6.3. SEROLOGIE	23
7. BEHANDELING/PREVENTIE	25
7.1. MEDICAMENTEUZE BEHANDELING.....	25
7.1.1. <i>Lokaal</i>	25
7.1.2. <i>Systemisch</i>	25
7.2. CHIRURGISCHE BEHANDELING	27
BESPREKING	28
REFERENTIELIJST	30

SAMENVATTING & TREFWOORDEN

Aspergillose bij de kat is een chronische ziekte. De ziekte wordt veroorzaakt door *Aspergillus fumigatus* en door op *A. fumigatus*-gelijkende schimmels. *Aspergillus fumigatus* is een saprofytische schimmel en is een opportunistisch pathogeen.

Brachycephale kattenrassen, zoals de Pers, de Himalaya en de Exotisch korthaar, zijn erg gevoelig. Ook immuungesupprimeerde katten kunnen sneller ziek worden. De ziekte komt vooral voor bij katten van middelbare leeftijd, met een gemiddelde leeftijd van 6,5 jaar (1,5-13 jaar).

Ze worden besmet vanuit de omgeving. De conidia worden via de aërogene weg opgenomen en worden afgezet ter hoogte van de neus en de sinusholten.

De symptomen beginnen meestal sino-nasaal. De dieren vertonen neusvloeit, kunnen beginnen niezen, er kan epistaxis optreden en de kat kan een inspiratoire dyspnee hebben. De kat zal vermageren en aan conditie verliezen. Daarna kan de ziekte zich uitbreiden naar de sinussen, het zenuwweefsel, subcutaan, oraal en retrobulbair. Sino-orbitale aspergillose komt in 63% van de gevallen voor. Er ontstaat een exophthalmie en het 3de ooglid vertoont prolaps, hyperemie en is verdikt.

Er bestaan verschillende technieken om tot een diagnose te komen: cytologie, histologie, cultuur, medische beeldvorming en serologie.

Aspergillose kan behandeld worden met medicatie en/of via chirurgie. De medicatie kan lokaal en/of systemisch worden toegediend. Het chirurgisch debrideren is erg belangrijk in de behandeling. Het debrideren kan oraal gebeuren, via sinus trepanatie en via exenteratie. De behandeling is meestal een combinatie van verschillende methoden.

Key words: *Aspergillus fumigatus*-Kat-Aspergillose-Sino-nasaal-Sino-orbitaal

INLEIDING

Aspergillose bij de kat is een zeldzame ziekte, er werden slechts 49 casussen gepubliceerd tot nu toe (Barrs, 2012). Als er gesproken wordt over de ziekte 'aspergillose', wordt er bedoeld dat het dier geïnfecteerd is met schimmels die tot het genus *Aspergillus* behoren. Bij katten komt de sino-nasale en/of sino-orbitale vorm veel meer voor dan de pulmonaire infectie, in tegenstelling tot bij de mens.

Sino-orbitale aspergillose komt het meest voor, namelijk in 63% van de casussen (Barrs, 2012) en kan veroorzaakt worden door *A. felis* (Barrs et al., 2013). Deze kan ontstaan door uitbreiding van een sino-nasale aspergillose, maar komt ook voor zonder een voorafgaande sinusitis of rhinitis (Barachetti et al., 2009; Barrs et al., 2013). Sino-orbitale aspergillose moet gedifferentieerd worden van orbitale cellulitis/abces, neoplasie, corpora aliena en infecties met aerobe en/of anaërobe bacteriën (Hamilton et al., 2000; Mclellan et al., 2006).

Sino-nasale aspergillose wordt meestal veroorzaakt door *A. fumigatus*. Tegenwoordig worden er echter meer en meer *A. fumigatus*-gelijkende schimmels gevonden zoals *A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. novofumigatus*, *N. pseudofischeri* en *A. viridinutans* (Barrs et al., 2013). Deze vorm moet gedifferentieerd worden van feliene herpesvirus type 1, corpora aliena (na braken), neoplasie (lymfoma's en carcinoma's), poliepen, lympho-plasmocytair rhinitis, chronische rhinitis, tandabces met oronasale fistel en andere fungi en oomycetes zoals onder andere *Cryptococcus neoformans* en *Cryptococcus gattii* (Barachetti et al., 2009; ¹Billen et al., 2009; De Lorenzi et al., 2006; ¹Hartcourt-Brown, 2006; Malik et al., 2010). *Cryptococcus neoformans* is daarbij de meest voorkomende sino-nasale schimmel bij de kat. Deze invadeert de orbita echter niet (Declercq et al., 2012).

In deze literatuurstudie wordt er een overzicht gegeven van de ziekte aspergillose. Er wordt achtereenvolgens het volgende besproken: etiologie, epidemiologie, pathogenese, symptomen, letsels, diagnose en behandeling.

LITERATUURSTUDIE

1. ETIOLOGIE

1.1. TAXONOMIE

Niemand weet hoeveel fungi er bestaan. Er wordt geschat dat er 1,5 miljoen fungi voorkomen in de natuur. Er werden al 100 000 fungi beschreven. Ascomycota is één van de vier phyla in het rijk van de fungi. De zustergroep zijn de Basidiomycota. Zij zijn het dichtst aan elkaar verwant. De Ascomycota en de Basidiomycota bevatten species die zich multicellulair ontwikkelen en gedifferentieerde weefsels bezitten. In de Ascomycota zijn er geen sporangia meer, maar zorgen de conidia voor een asexuele reproductie. De seksuele reproductie vindt plaats in asci. Hierin worden meiotische sporen (ascosporen) gevormd (Stajich et al., 2009).

Binnen de Ascomycota zijn er 3 subphyla, de Taphrinomycotina, de Saccharomycotina en de Pezizomycotina (de euascomycetes of filamenteuze ascomyceten). Pezizomycotina is de grootste groep met meer dan 3000 genera. Binnen het subphylum zijn er verschillende klassen: Leotiomycetes, Dothideomycetes, Arthoniomycetes, Eurotiomycetes, Chaetothyriomycetes, Mycocaliciaceae, Lecanoromycetes, Ostropales, Sordariomycetes en Pezizomycetes. *Aspergillus fumigatus* behoort tot de klasse Eurotiomycetes (Berbee, 2001). Verder behoort *Aspergillus fumigatus* tot de orde Eurotiales en de familie Trichocomaceae (Van Cutsem en Rochette, 1991).

Aspergillose bij de kat wordt meestal veroorzaakt door *Aspergillus fumigatus*. Toch worden er meer en meer op *A. fumigatus*-gelijkende schimmels gevonden aan de hand van moleculaire technieken (*A. lentulus*, *A. udagawae*, *A. novofumigatus*, *Neosartorya pseudofischeri* en *A. viridinutans*) (Barrs et al., 2013) (Fig. 1).

Volgens Malik et al. (2010) worden infecties die beperkt blijven tot de neusholten en nasopharynx veroorzaakt door *Aspergillus fumigatus*. De infecties die zich echter uitbreiden naar de orbita, ogen, hersenen en de mondholte worden vaker veroorzaakt door op *A. fumigatus*-gelijkende species (*N. pseudofischeri*, *N. udagawae*, *N. aureola*, *A. lentulus*). Deze species zijn erg resistent tegen amphotericine B en andere oudere azole antimycotica. Het is dus belangrijk om te weten met welk species de patiënt geïnfecteerd is, om een correcte therapie te kiezen (Malik et al., 2010).

Barrs et al. (2013) toonden aan dat sino-orbitale aspergillose door een nieuw species kan worden veroorzaakt, namelijk *Aspergillus felis*. *A. felis* vertoonde een grote fenotypische gelijkheid met *A. viridinutans* en *A. fumigatus* (Fig. 1). Ze werden van elkaar onderscheiden aan de hand van de maximale groeitemperatuur. Voor *A. felis* was dit 45°C, voor *A. fumigatus* 50°C en *A. viridinutans* groeide niet meer bij 45°C. *A. felis* was fylogenetisch het nauwst verwant aan *N. aureola* en *A. udagawae*. Dit werd bevestigd door de morfologie van de ascosporen. Ze produceerden allemaal lensvormige ascosporen. *A. udagawae* had een maximale groeitemperatuur van 42°C. *A. felis* had een heterothallische reproductie t.o.v. *N. aureola*.

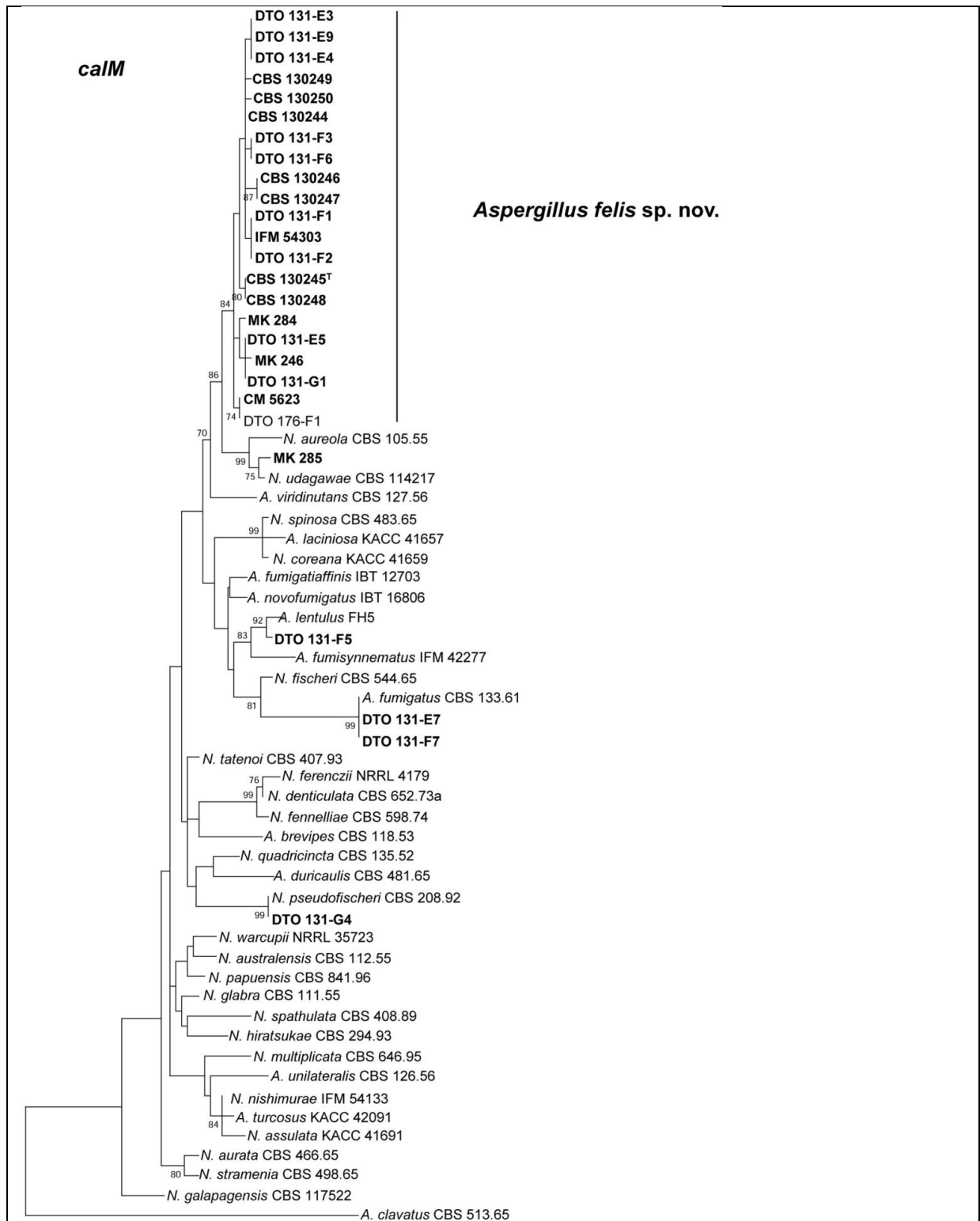


Fig. 1: Phylogenetische analyse voor *A. felis* en verwante species op basis van de calmoduline sequentie data. De nummers boven de vertakkingen zijn de 'bootstrap values', enkel deze boven 70% worden vermeld. In deze analyse is *A. fumigatus* het sterkst verwant met *N. fischeri*. *A. felis* is het sterkst verwant met *N. udagawae* en *N. aureola* (uit Barrs et al., 2013).

1.2. MORFOLOGIE EN IDENTIFICATIE

Aspergillus fumigatus is een saprofytische schimmel met donkerblauwe conidioforen en gesepteerde hyfen. De hyfen vertakken dichotoom in een hoek van 45°. *Aspergillus fumigatus* wordt aanzien als een opportunistische pathogeen (De Lorenzi et al., 2006).

Aspergillus fumigatus werd geënt op Czapek yeast autolysate agar (CYA), die geïncubeerd werd gedurende 7 dagen bij 37 °C (Samson et al., 2007). De diameter van de kolonies varieerde van 21-75 mm. De kleur van de kolonies was eerst wit tot geel, later als de conidiën zich ontwikkelden, werd de cultuur grijsig, turkoois of donker turkoois tot donkergroen of dof groen (Samson et al., 2007). Oude culturen hebben een grijsachtig, rokerig uitzicht (Van Cutsem en Rochette, 1991). De kolonies hadden een zacht, fluwelig oppervlak en hadden een donzige textuur. De kolonies groeiden snel met overvloedige vorming van conidia (Samson et al., 2007) (Fig. 2).

De kolonies van *A. felis* groeiden snel op CYA en MEA met een diameter van 5-5,5 cm op CYA en een diameter van 5,5 cm op MEA na 7 dagen bij 25 °C. De kolonies op CYA waren vlokvorming, wit en vertoonden weinig sporulatie. De kolonies op MEA waren fluweelachtig, crème tot groen met sporulatie na 5-7 dagen (Barrs et al., 2013).

Om de kolonies microscopisch te beoordelen worden de filamenteuze hyfen in lactophenol gebracht, met of zonder katoenblauw. Daarna worden de schimmelhyfen op een draagglasje gebracht en bedekt met een dekglasje. Microscopisch worden er gesepteerde hyfen en conidioforen gezien, waarop vesikels en phialiden staan. In de flesvormige phialiden worden de conidiën of sporen gevormd (Van Cutsem en Rochette, 1991).

De conidia van *A. fumigatus* hadden een bolvormige tot ellipsvormige vorm en waren glad tot ruw. Ze hadden een diameter van 2-3,6 µm. De vesikels waren groot en peervormig tot baseball-batvormig, soms bolvormig, met een diameter van 10-26 µm. 'The conidial heads' waren zuilvormig. De lengte van de gespecialiseerde hyfe van de conidiofoor was 50-350 µm en de dikte was 6-10 µm (Samson et al., 2007) (Fig. 2).

PCR is een techniek om de schimmels verder te identificeren op genetisch vlak. PCR is volgens Pfaller et al. (2012) snel, gevoelig en kost-effectief. De test is objectief, omdat ze niet wordt beïnvloed door de groeisnelheid. De volgende genen worden geamplificeerd en gesequenseerd: Internal transcribed spacer (ITS), 28S ribosomal subunit en beta-tubuline. De nucleotide sequenties worden geanalyseerd met behulp van Lasergene Software en worden dan vergeleken met sequenties van de database, BLAST. Een homologie van tenminste 99,5% met de database is noodzakelijk voor een zekere identificatie.

Bij Kano et al. (2008) werd een isolaat op basis van grootte en microscopische kenmerken geïdentificeerd als *A. fumigatus*. Er werd na therapie-falen PCR uitgevoerd op het *Aspergillus* spp. isolaat. De kat bleek besmet te zijn met *A. udagawae* in de plaats van met *A. fumigatus*.

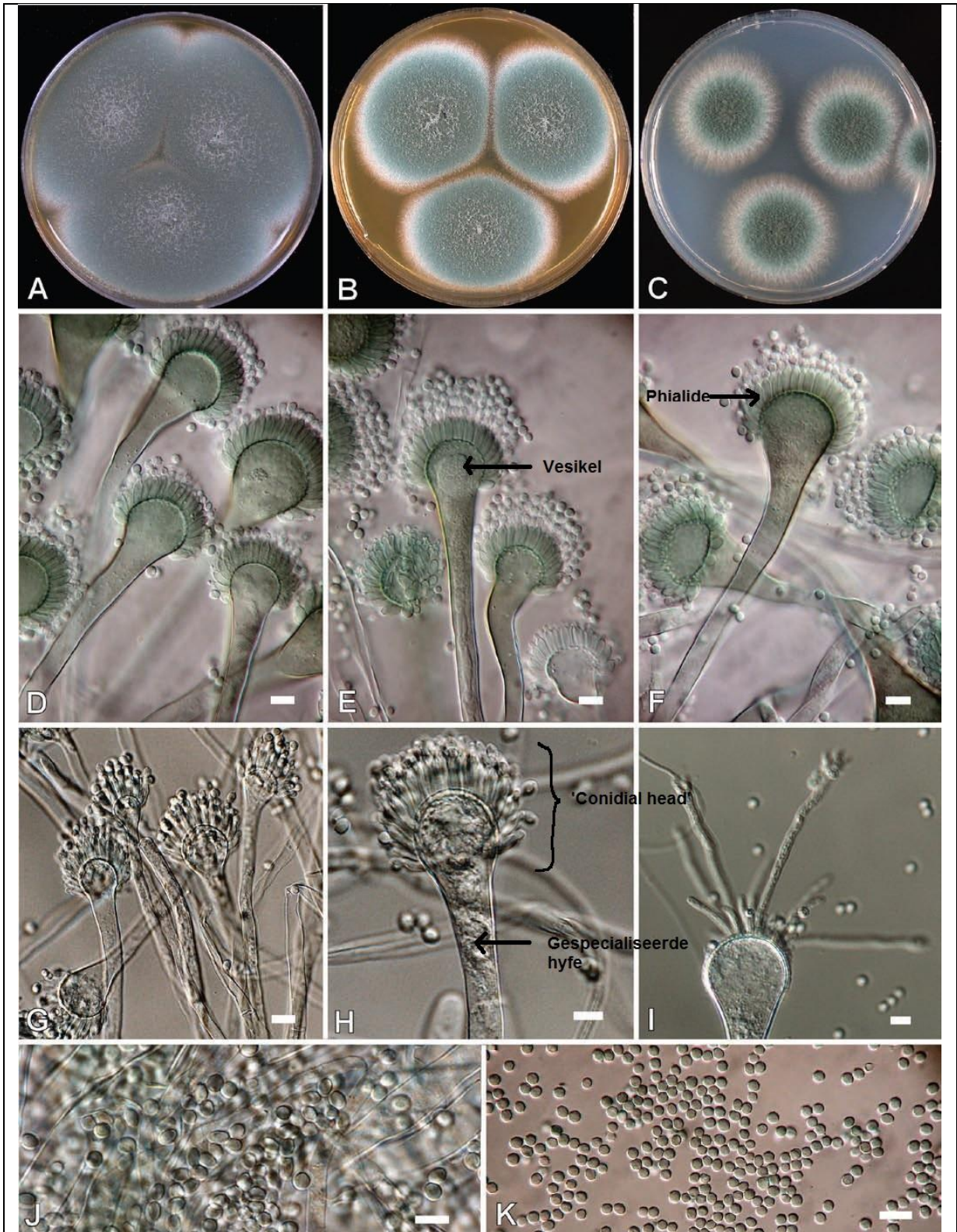


Fig. 2: *Aspergillus fumigatus*. A: CYA 7 dagen, 25°C; B: MEA 7 dagen, 25°C; C: CYA 3 dagen, 37°C; D-I: Conidioforen; J-K: Conidia (Schaal= 10µm). De conidioforen bestaan uit een gespecialiseerde hyfe (pijl) en een 'conidial head' (accolade). Een 'Conidial head' bestaat uit een vesikel (pijl) en phialiden (pijl). De phialiden produceren conidia (J-K) (naar Samson et al., 2007).

1.3. VIRULENTIEFACTOREN

Om plantencellen af te breken heeft *A. fumigatus* een groot aantal glycosylhydrolases. De schimmel heeft geen lignine peroxidase of manganese peroxidase. Het kan geen hard hout afbreken, maar wel bladeren (Tekaia en Latgé, 2005).

Via 2-delige phosphorelaysystemen kunnen sommige organismen hun omgeving waarnemen en hieraan adapteren. Histidine kinases (HK) functioneren in deze phosphorelays. Bij *A. fumigatus* werden er 13 HK genen geïdentificeerd. SLN1 is een belangrijk HK voor *S. cerevisiae* en *Candida albicans*. De functie van SLN1 is bij *A. fumigatus* nog niet duidelijk. Een ander lid van deze groep, FOS1, is belangrijk voor de virulentie van *A. fumigatus* (Tekaia en Latgé, 2005).

Een ander belangrijk virulentiemechanisme is de cyclische 'AMP signaling pathway'. GPAB, G proteïne alfa subunit, is een stimulator van adenylaat cyclase. Wanneer dit gen gemuteerd wordt, leidt het tot een verminderde virulentie van *A. fumigatus*. De groei blijft onveranderd (Tekaia en Latgé, 2005).

In de wand van de conidia bevindt zich het 'conidial dihydroxynaphthalene-melanine'. Dit wordt ook beschouwd als een virulentiefactor. Het blokkeert oxydatieve reacties en beschermt tegen beschadiging door macrofagen en neutrofielen. Het is belangrijk in de natuur als bescherming tegen UV licht (Tekaia en Latgé, 2005).

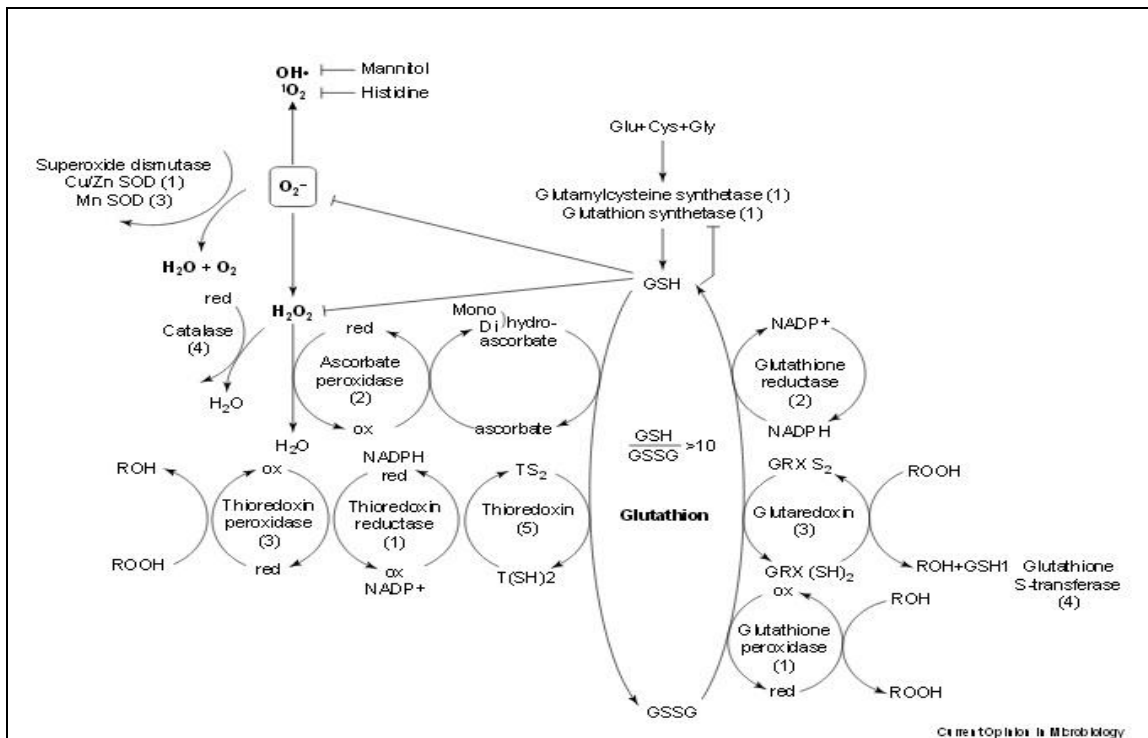


Fig. 3: Het verdedigingsmechanisme van *A. fumigatus* tegen de reactieve oxidantia van het afweermecanisme van de fagocyten. Reactieve oxydantia zoals hydroxide radicaal (OH·), superoxide radicaal (O₂⁻) en waterstofperoxide (H₂O₂) worden bestreden door 2 hoofdmechaniemen die zich baseren op oxidase en glutathion (uit Tekaia en Latgé, 2005).

A. fumigatus heeft verschillende oxidoreductases en metabolieten om de oxidatie door de fagocyten te remmen. De belangrijkste moleculen en reacties zijn weergegeven in figuur 3 (Tekaia en Latgé, 2005).

Toxische moleculen worden door efflux-pompen terug naar buiten gepompt. *A. fumigatus* codeert voor meer dan 40 'ATP-binding cassette transporters'. Er zijn ook meer dan 100 genen die coderen voor 'major facilitator transporters'. Ondanks de vele efflux-pompen en het hoge gebruik aan azole fungiciden wordt er geen serieuze azole-resistentie waargenomen. Dit kan verklaard worden door het gebrek aan specificiteit van de efflux-pompen (Tekaia en Latgé, 2005).

A. fumigatus is de meest gevonden thermofiele schimmel. De schimmel kan nog groeien bij 55,8 °C en kan overleven tot 75,8 °C (Tekaia en Latgé, 2005).

Bloedserum is fungistatisch door het transferrine. *A. fumigatus* bezit sideroforen van de hydroxamaat familie, fericrocine en triacetylfulvarinine. De sideroforen zorgen voor het verwijderen van het ijzer van transferrine. *A. fumigatus* heeft hoge hoeveelheden van magnesium nodig om te groeien. MgtC, een membraan proteïne, zorgt voor de magnesium opname. Het is één van de weinige bacteriële genen die in *A. fumigatus* gevonden worden. Fosfaat is ook nodig voor de groei. De hoeveelheid aanwezig in het serum is onvoldoende. Het zou 10 keer meer moeten bedragen. Extracellulaire fosphatasen en fosfolipasen zorgen voor de vrijstelling van fosfaat. Fosfolipase kan ook een rol in de pathogeniciteit hebben door een verstoring van de membraan integriteit van de gastheer. Zink moet opgenomen worden uit de omgeving. Er werden 5 zink-transporters in het genoom gevonden (Tekaia en Latgé, 2005).

Het belangrijkste toxine is het gliotoxine. Dit zorgt voor een verstoring van de mucociliaire clearance. Naast het gliotoxine zorgen ook fumagilline en 'helvolic acid' voor een verstoring van de mucociliaire clearance. Gliotoxine zorgt eveneens voor een inhibitie van de adhesie aan de macrofagen, monocytten en fibroblasten, de fagocytose en verhindert de aanmaak van cytotoxische T-cellen.

Alkaline protease en restricticine dragen bij tot de suppressie van de polymorfonucleaire cellen. Daarnaast vermindert de 'conidial inhibitory factor' chemotaxis van polymorfonucleaire cellen door een interactie met de contractiele elementen in het cytoplasma van de cellen.

'*A. fumigatus* diffusible product' verhindert de productie van inflammatoire cytokines door het niet activeren van de nucleaire transcriptie factoren NF-kappaB en AP-1.

A. fumigatus bevat ook een heel gamma van extracellulaire enzymen, zoals protease, peptidase, fosphatase en nuclease (Tomee en Kauffman, 2000).

2. EPIDEMIOLOGIE

2.1. VERSPREIDING

Aspergillus fumigatus is een saprofyt en groeit op de bodem en op afstervende vegetatie, zoals composthopen.

A. fumigatus kan zich zowel sexueel als asexueel vermenigvuldigen. Het vormt ascosporen, sexuele vorm, onder specifieke condities en het vormt conidia, asexuele vorm, op de meeste substraten. De conidia kunnen via de lucht verspreid worden. Dit is de belangrijkste weg van infectie. De conidia kunnen de gastheer ook infecteren via lesies van de huid, de ogen, de oren en via het gastro-intestinaal kanaal. Directe transmissie, van dier naar dier, komt niet voor (Hartmann et al., 2013). De blootstelling aan conidia is constant, toch worden niet alle gastheren ziek. Gezonde gastheren zijn beschermd door hun immuunsysteem (O’Gorman, 2011).

De conidia zijn erop gebouwd om zich via de lucht te verspreiden. Ze zijn klein en doordat ze hydrofoob zijn, kunnen ze lang in de lucht blijven. Ze hebben een doornig oppervlak, wat de verspreiding in de lucht verhoogt. Door melanine in de celwand zijn ze beschermd tegen UV-straling. Ze zijn thermotolerant en kunnen dus een grote variatie aan temperatuur verdragen. Wanneer ze op de grond terechtkomen, besmetten ze alles wat met lucht in contact staat. Ze kunnen lang overleven in droge toestand (O’Gorman, 2011).

Per jaar is er een constante blootstelling aan 1 tot 100 *A. fumigatus* conidia per m³ lucht. Er worden door verschillende auteurs sterke seizoensveranderingen in de concentratie van *A. fumigatus* sporen beschreven. De concentraties stijgen meestal gedurende de herfst en de winter. De stijging werd volgens Mullins et al. (1976) veroorzaakt door al de gevallen bladeren in de herfst (O’Gorman, 2011).

A. fumigatus wordt in grote hoeveelheden teruggevonden in composthopen. De kolonisatie is hoog, volgens Millner et al. (1994) 10⁶ tot 10⁷ colony-forming-units (CFU) *A. fumigatus* per gram droog gewicht compost (O’Gorman, 2011). De verwerking van compost zorgt voor grote vrijstellingen van sporen, 10⁴ tot 10⁷ CFU per m³ lucht. Dit kan een overbelasting van het immuunsysteem geven. De concentraties dalen snel, weg van de composthoop.

Stof is een belangrijk reservoir en kan gevonden worden op de zolder, in de kelder of in huizen die weinig gepoetst worden. Andere bronnen zijn: verse en gedroogde bloemen, de potgrond van sierplanten en het roken van tabak en marihuana. In thee, koekjes, fruit en kruiden kunnen *A. fumigatus* conidia terug gevonden worden. Bij het tuinieren, stofzuigen en afstoffen worden conidia in de lucht verspreid (O’Gorman, 2011).

In ziekenhuizen zijn de belangrijkste bronnen de valse plafonds en jaloezieën, omdat hier veel stof kan opstapelen. *A. fumigatus* kan beginnen groeien in wateropvangsers, vuurvrij materiaal en luchtfilters. Gaasverbanden, elastische verbanden en adhesieve tape worden ervan verdacht te zorgen voor indirecte transmissie. Conidia in het water kunnen in de lucht terechtkomen door verdamping tijdens het douchen (O’Gorman, 2011).

Verbouwingswerken, opgravingswerken, verplaatsing van aarde en het verwijderen van oud vuurvrij en isolerend materiaal verstoren de *A. fumigatus* reservoirs en veroorzaken een stijging van de concentraties aan conidia in de lucht gedurende een korte periode (O’Gorman, 2011).

Een stijging in de concentratie van *A. fumigatus* met 1 CFU per m⁻³ lucht veroorzaakt een stijging in de incidentie van nosocomiale invasieve aspergillose van 0,3% naar 1,2% (O’Gorman, 2011).

2.2. ASPERGILLOSE

De eerste casus in verband met aspergillose bij de kat verscheen in 1980. Sindsdien werden er nog 49 casussen gepubliceerd, waarvan 2/3^{de} in de laatste 5 jaar (Barrs, 2012). Aspergillose is een opkomende ziekte in een geografisch gebied dat al maar uitbreidt (Malik et al., 2010). Volgens Barrs et al. (2013) komt deze uitbreiding door de opwarming van de aarde. Aspergillose werd al beschreven in Italië (Barachetti et al., 2009; Giordano et al., 2010), Japan (Kano et al., 2008), Amerika (Furrow en Groman, 2009; Halenda en Reed, 1997; Hamilton et al., 2000; McLellan et al., 2006; Whitney et al., 2005), Groot-Brittannië (Goodall et al., 1984), Australië (Wilkinson et al., 1982), Zwitserland (Tomsa et al., 2003) en België (Declercq et al., 2012). Sino-orbitale aspergillose komt het meest voor, namelijk in 63% van de casussen (Barrs, 2012).

De gemiddelde leeftijd van alle katten was 6,5 jaar (1,5-13 jaar). Er is geen geslachtspredispositie. Van alle patiënten waren 40% brachycephale raskatten (Barrs, 2012).

Volgens Ossent (1987) hadden 23 katten een systemische mycose, aspergillose of mucormycose. Er werden in totaal 8080 katten, tussen 1966 en 1985, post mortem onderzocht. De incidentie over de gehele studie was 1/351. Gedurende de eerste 10 jaar (1966-1975) was er een incidentie van 1 op 1056 en gedurende de volgende 10 jaar (1976-1985) was de incidentie gestegen tot 1 op 246. Er is dus een duidelijke stijging van de incidentie van systemische mycose.

3. PATHOGENESE

3.1. OPNAME

Katten worden geïnfecteerd door sporen aanwezig in de omgeving. Er zijn veel sporen aanwezig op de bodem, in afval en op diervoeding. Via aerogene weg worden de sporen opgenomen en afgezet in de neus- en sinusholtes (Hartmann et al., 2013).

3.2. PREDISPONERENDE FACTOREN

De predisponerende factoren zijn: het ras, antibiotica- en glucocorticoïden behandeling, immunosuppressieve ziekten, voorafgaande infecties en de leeftijd.

De meest aangetaste rassen zijn de brachycephale katten (Barachetti et al., 2009; Barrs et al., 2012). Enkele voorbeelden van deze rassen zijn de Perzische kat, de Himalaya kat en de Exotische korthaar. Door de brachycephale kop is er minder drainage van secret uit de bovenste luchtwegen (Hartmann et al., 2013). Mogelijk wordt bij deze rassen een gebrekkige mucosale immuniteit overgeërfd (Barrs, 2012).

Tot de immunosuppressieve ziekten behoren het Feline Leukemie Virus (FeLV), het Feline Infectieuze Peritonitis virus (FIP), panleukopenie virus en Feline Immunodeficiëntie Virus (FIV)(Barachetti et al., 2009). De toediening van glucocorticoïden leidt ook tot een immunosuppressie. Alhoewel immunosuppressie een belangrijke predisponerende factor is waren de meeste katten negatief voor FeLV en voor FIV. Alleen voor de kat in de casus van Goodall et al. (1984) was de test positief voor FeLV.

Voorafgaande infecties kunnen feline herpesvirus type-1, feline calicivirus en chronisch, idiopathische lympho-plasmocytair rhinitis (LPR) zijn (Barachetti et al., 2009). De LPR kan ontstaan als reactie op inademing van irriterende stoffen, deeltjes of allergenen of als reactie op infectieuze agentia, zoals het feline herpesvirus type-1. Het is niet zeker of LPR de oorzaak kan zijn van aspergillose of het gevolg. De onderliggende etiologie kan ook immuun-gemedieerd zijn. Het is zeker dat LPR leidt tot een verminderde mucociliaire clearance en een proliferatie van de slijmklieren in de neusmucosa, met meer mucus secretie tot gevolg. De kolonisatie van de neus kan hierdoor veel gemakkelijker plaats vinden.

Volgens Barrs (2012) komt de ziekte voor bij katten van middelbare leeftijd. De gemiddelde leeftijd van alle katten was 6,5 jaar (1,5-13 jaar). Bij de kat is er geen geslachtsprevalentie.

Predisponerende factoren van een systemische aspergillose waren bij 16 van de 23 katten aanwezig, waaronder panleukopenie virus, FeLV, FIP, endoparasieten, chirurgie, dystocia en een infectie na vaccinatie. Er waren 19 van de 23 katten met een voorgeschiedenis van antibiotica of corticoïden behandeling (Ossent P., 1987).

De latex agglutinatie test voor het opsporen van *Cryptococcus neoformans* antigeen werd enkel uitgevoerd bij Mclellan et al. (2006) en bij 1 van de 4 katten besproken bij Whitney et al. (2005) en was negatief voor beide gevallen.

3.3. KOLONISATIE

De verdedigingsmechanismen van de gastheer zijn de mucuslaag, het mucociliaire-clearance mechanisme, lokale infiltratie van ontstekingscellen zoals mastcellen, eosinofielen, neutrofielen, lymfocyten en macrofagen.

Een verstoring van de mucociliaire clearance is een belangrijke factor om ziekte te veroorzaken. *A. fumigatus* zorgt voor een vertraging van de beweging van de trilharen (ciliënslag) en beschadigt het respiratoir epitheel. Het belangrijkste toxine dat dit veroorzaakt, is het gliotoxine. Fumagilline en 'helvolic acid' dragen hier ook tot bij, maar moeten in veel hogere concentraties aanwezig zijn. Het mucociliaire-clearance mechanisme zorgt ervoor dat er geen partikels in contact kunnen komen met het epitheel. Door het minder goed functioneren van het mucociliaire-clearance mechanisme, kunnen conidia zich vasthechten aan het epitheel (Hartmann et al., 2013; Tomee en Kauffmann, 2000).

A. fumigatus kan zich binden aan laminine, fibronectine, type I en IV collageen, fibrinogeen en C3. Laminine is een extracellulair matrix glycoproteïne dat terug te vinden is in het subendotheliale basaalmembraan. Laminine kan door ontsteking of lyse van het epitheel worden blootgesteld. Op het oppervlak van de conidia is er een laminine-bindend proteïne. Het zijn enkel de pathogene *Aspergillus* spp. die binden aan fibrinogeen. De fibrinogeen-receptoren worden gesynthetiseerd gedurende de maturatie van de conidia (Tomee en Kauffmann, 2000).

A. fumigatus beschadigt de epitheliale cellen met behulp van een grote variëteit aan extracellulaire enzymen, zoals nuclease, fosfatasen, peptidase en protease. Deze enzymen kunnen macromoleculen afbreken en zorgen zo voor de voeding van de schimmel. De proteases helpen in de adhesie en penetratie van het weefsel. Ze zorgen ook voor een lokale inflammatie met aantrekking van ontstekingscellen. Schimmel serine protease veroorzaakt desquamatie en induceert productie van IL-6, IL-8 en monocyten chemotactisch proteïne-1. De lokale inflammatie en de desquamatie veroorzaken een optimaal milieu om te adhereren en te penetreren. De schimmel kan hierdoor nog verder invaderen en krijgt voedingsstoffen (Tomee en Kauffmann, 2000).

De schimmel invadeert het bot en veroorzaakt lyse van het botweefsel. Hierdoor kan de schimmel uitbreiden vanuit de neus naar de mondholte, de sinussen, het zenuwweefsel, de nasopharynx, subcutaan en retrobulbair. Meestal breidt een sino-nasale aspergillose bij de kat zich uit naar een sino-orbitale aspergillose (Barrs et al., 2013). De orbita kunnen geïnfecteerd worden door een penetrerende wonde of door uitbreiding vanuit de longen, neus, sinussen en de oogbol (Barachetti et al., 2009).

De alveolaire macrofagen en polymorfonucleaire cellen zijn belangrijk voor de controle en eliminatie van schimmels in de luchtwegen. Macrofagen beschermen tegen conidia en polymorfonucleaire cellen en monocytten beschermen tegen hyfen. Gliotoxine zorgt voor een inhibitie van adhesie aan de macrofagen, monocytten en fibroblasten, de fagocytose en verhindert de aanmaak van cytotoxische T-cellen. Alkaline protease en restricticine dragen bij tot de suppressie van de polymorfonucleaire cellen.

De 'conidial inhibitory factor' vermindert de chemotaxis van polymorfonucleaire cellen door een interactie met de contractiele elementen in het cytoplasma van de cellen. Deze molecuule wordt door de conidia geproduceerd. Het is dus één van de eerste moleculen die bijdragen tot de pathogenese. Gliotoxine wordt geproduceerd door de mycelia en komt dus pas later aan bod in de pathogenese. 'A. fumigatus diffusible product' verhindert de productie van inflammatoire cytokines door het niet activeren van de nucleaire transcriptie factoren NF-kappaB en AP-1. Deze transcriptie factoren zijn nodig voor de opregulatie van de transcriptie van TNF-alfa, IL-1beta en IL-6 (Tomee en Kauffmann, 2000).

Naast de verstoring van de fagocytose, wordt ook de opsonisatie verstoord door *A. fumigatus*. Een water-oplosbare factor vermindert de binding van C3b met het oppervlak van de schimmel en komt zo tussen in de C3b afhankelijke fagocytose en de vernietiging van het micro-organisme. *A. fumigatus* produceert ook een proteolytisch enzyme dat de C3b moleculen vernietigt (Tomee en Kauffman, 2000).

4. SYMPTOMEN

4.1. SINO-NASALE ASPERGILLOSE

De symptomen beginnen meestal in de neus. De dieren vertonen neusvloeit, die mucoeus tot mucopurulent kan zijn (Barachetti et al., 2009; Furrow en Groman, 2009; Goodall et al., 1984; Tomsa et al., 2003; Whitney et al., 2005). Door irritatie in de neus gaan ze vaak niezen (Barachetti et al., 2009; Declercq et al., 2012; Furrow en Groman, 2009; Whitney et al., 2005; Wilkinson et al., 1982). Soms kan er epistaxis aanwezig zijn (Whitney et al., 2005). De schimmel kan invaderen in de mucosa met behulp van de ontstekingsreactie en kan hierbij kleine bloedvaatjes beschadigen. De regio rond de neus kan gezwollen zijn. Door de schimmelmassa in de neus kunnen de katten ademhalingsmoeilijkheden krijgen. Dit uit zich door een inspiratoire dyspnee (Furrow en Groman, 2009). De submandibulaire lymfeknopen zijn in de meeste gevallen gezwollen (Barachetti et al., 2009; Declercq et al., 2012; Giordano et al., 2010; Tomsa et al., 2003; Wilkinson et al., 1982). De kat kan een verminderde eetlust hebben door de infectie en de chronische ontstekingsreactie (Barachetti et al., 2009). De katten vermageren en hebben een slechtere algemene conditie (Declercq et al., 2012). Epiphora kan ontstaan door een blokkade van het traankanaal (Declercq et al., 2012; Kano et al., 2008; Wilkinson et al. 1982).

4.2. SINO-ORBITALE ASPERGILLOSE



Fig. 4: 4 jaar oude, mannelijk gecastreerde Perzische kat met een dorsolaterale deviatie van de linker oogbol, met exophthalmie en protrusie van het 3^{de} ooglid (uit *Mclellan et al., 2006*).

Bij een retrobulbaire uitbreiding is er exophthalmie aanwezig (Fig. 4). Door de retrobulbaire massa is er een weerstand te voelen bij retropulsie (Halenda en Reed, 1997; Hamilton et al., 2000; Mclellan et al., 2006). Het 3^{de} ooglid vertoont prolaps, hyperemie en is verdikt (Barachetti et al., 2009; Giordano et al., 2010; Hamilton et al., 2000; Mclellan et al., 2006; Wilkinson et al., 1982). Door de exophthalmie kan er lagophthalmie ontstaan (Hamilton et al., 2000). Dit is het niet meer kunnen sluiten van de oogleden.

De cornea is onvoldoende beschermd en wordt niet genoeg bevochtigd. Er kan een exposure keratitis, cornea-ulcus, cornea-oedeem en/of conjunctivitis ontstaan (Barachetti et al, 2009; Declercq et al., 2012; Giordano et al., 2010; Tomsa et al., 2003). De pupilreflex en de dreigreflex kunnen afwijkend zijn (Barachetti et al., 2009; Hamilton et al., 2000; Tomsa et al., 2003; Wilkinson et al., 1982).

Subcutaan kan de schimmel zich uitbreiden naar de maxillaire en de frontale regio (Declercq et al., 2012; Giordano et al., 2010).

Er kan een zwelling van de pterygopalatine fossa, labiaal van de tanden of van het zacht gehemelte ontstaan (Declercq et al., 2012; Giordano et al., 2010; Hamilton et al., 2000).

De schimmel kan zich uitbreiden naar het zenuwweefsel. De n. opticus kan aangetast worden met blindheid als gevolg. Wanneer de schimmel de hersenen heeft geïnvadeerd, kan de kat zenuwsymptomen vertonen, bijvoorbeeld: ataxie en scheef houden van de kop (Giordano et al 2010).

4.3. SYSTEMISCHE ASPERGILLOSE

Katten met systemische aspergillose vertonen specifieke symptomen, zoals apathie, anorexie, uitputting en koorts. Andere symptomen kunnen voorkomen naargelang de locatie van de aspergillomen. Systemische aspergillose duurt gemiddeld 1 week, waarna de dieren sterven of geëuthanaseerd worden. De longlesies waren acuut en hemorrhagisch en de intestinale lesies waren goed gedemarkeerd, segmentaal en acuut of subacuut. *Aspergillus* spp. heeft een grote affiniteit voor bloedvaten en kan deze beschadigen (Ossent, 1987).

5. LETSELS

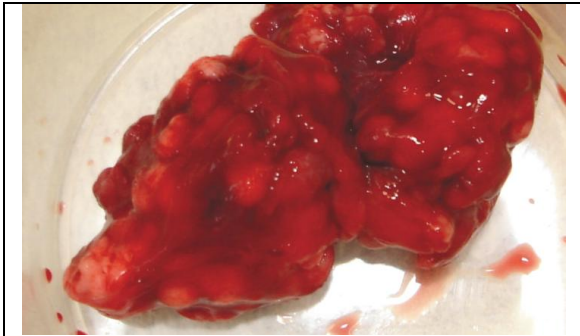


Fig. 5: Retrobulbaire massa verwijderd via orbitale exenteratie. De massa heeft een gegranuleerd uitzicht (uit Hartmann et al., 2013).

Er kan een mucopurulente sinusitis in de frontale sinussen aanwezig zijn (Barachetti et al., 2009; Halenda en Reed, 1997; Wilkinson et al., 1982). Het exsudaat in de frontale sinus bestond uit schimmelhyfen, neutrofielen en fibrine. Er was een inflammatie van de beenderen die de frontale sinus aflijnen. Het aantal osteoblasten was verhoogd (Halenda en Reed, 1997).

De orbitale massa's bestaan uit granuloma's met coagulatieve necrosehaarden en *Aspergillus* spp. hyfen (Fig. 5). Op histologische preparaten van de granuloma's worden centrale necrosehaarden gezien, die omringd worden door een ontstekingsreactie, met plasmacellen, eosinofielen en lymfocyten. In de periferie zijn veel vertakte, gesepteerde schimmelhyfen aanwezig (Barachetti et al., 2009; Giordano et al., 2010; Hamilton et al., 2000; Kano et al., 2008; Wilkinson et al., 1982). Er is een ontstekingsreactie aanwezig in de orbitale spieren (Halenda en Reed, 1997; Giordana et al., 2010).

De submandibulaire lymfeknopen zijn middelmatig vergroot. In de lymfeknopen zijn er hyperplastische lymfoïde follikels met veel plasmacellen te zien (Giordano et al., 2010; Wilkinson et al., 1982).

De kat in de casus van Barachetti et al. (2009) had een keratitis, een cornea-ulcus en corneaal oedeem in het rechter oog. In het chiasma opticum zag men een gliosis, een spongiosis en een milde lympho-plasmocyttaire meningitis.

6. DIAGNOSE

6.1. AANTONEN VAN DE SCHIMMEL

6.1.1. Staalname

Er kunnen stalen genomen worden op verschillende manieren: een swab van de neusvloeï, een blinde swab van de neusmucosa of een swab of een biopsie van een aangetaste zone geleid door rhinoscopie (De Lorenzi et al., 2006). De biopsie via rhinoscopie kan genomen worden via een speciale manchet waar zowel de endoscoop als de biopsietang in passen. Een rongeur kan naast de manchet ingebracht worden. Hiermee kunnen grotere stalen worden genomen. Er kan na verwijderen van de endoscoop uit de manchet een punch biopt genomen worden, een suctie van de massa gebeuren of een biopsietang in de manchet gebracht worden. Deze biopten worden dan gebruikt om histopathologisch te onderzoeken of om een bacteriële en schimmelcultuur uit te laten groeien (²Harcourt-Brown, 2006).

Er is, zowel door De Lorenzi et al. (2006) en ¹Billen et al. (2009), aangetoond dat de kans op een positieve cultuur het hoogst is bij staalname geleid door rhinoscopie. De minst gevoelige techniek was de blinde swab van de neusmucosa.

Declercq et al. (2012) stelden vast dat een diep punchbiopt een betere bemonsteringstechniek was dan een naaldpunctie of een excisiebiopt.

Er kan in de plaats van bioptname geleid door rhinoscopie, een biopt genomen worden onder leiding van computed-tomography (Giordano et al., 2010).

De staalname kan ook gebeuren door een flush van de neusgangen met fysiologische zoutoplossing. Dit werd uitgevoerd door Furrow en Groman (2009).

6.1.2. Cytologie

Een swab wordt uitgerold op een draagglaasje en gedroogd aan de lucht. Daarna kan er een kleuring gebeuren met May-Grünwald Giemsa (De Lorenzi et al., 2006), Periodic Acid Schiff-Kleuring (PAS) (Barachetti et al., 2009) of Diff-Quickkleuring (Declercq et al., 2012).

Bij de meeste cytologische preparaten is er necrotisch materiaal en een pyogranulomateuze ontsteking met een groot aantal eosinofielen aanwezig (Barachetti et al., 2009; Declercq et al., 2012; Furrow en Groman, 2009; Halenda en Reed, 1997; McLellan et al., 2006). Er kunnen positief gekleurde, gesepteerde hyfen gevonden worden op de PAS-kleuring (Barachetti et al., 2009; Furrow en Groman, 2009).

6.1.3. Histologie

De histologische preparaten kunnen gekleurd worden met hematoxyline-eosine kleuring (HE-kleuring) en de PAS-kleuring (Declercq et al., 2012).

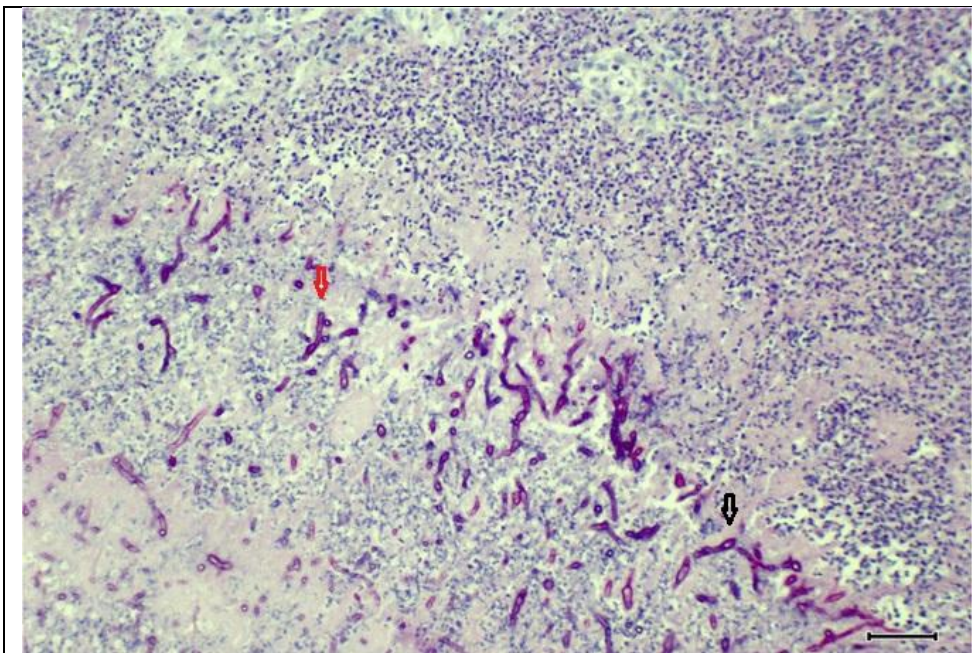


Fig.6: Epitheel van de frontale sinus. Gesepeteerde schimmelhyfen (rode pijl), met parallelle wanden en occasioneel apicale, bulleuze dilataties (zwarte pijl), *Aspergillus* spp.. De schimmelhyfen zijn diep in het epitheel aanwezig (PAS-kleuring, schaal= 60 µm) (naar Barrs et al., 2012).

Op de histologische preparaten zijn er necrotische zones te zien die omgeven zijn door inflammatoire cellen. Er is een gemengd ontstekingsbeeld aanwezig. In de coagulatie necrose haarden kunnen er hyfen met septa waargenomen worden. De hyfen zijn dunwandig, vertakken zich dichotoom en hebben apicale, bulleuze dilataties. Deze kunnen morfologisch geïdentificeerd worden als *Aspergillus* spp. (Barachetti et al., 2009; Declercq et al., 2012; Furrow en Groman, 2009; Giordano et al., 2010; Kano et al., 2008; Mclellan et al., 2006; Tomsa et al., 2003; Whitney et al., 2005; Wilkinson et al., 1982) (Fig. 6). De hyfen kunnen het kraakbeen van het 3^{de} ooglid infiltreren (Giordano et al., 2010). In de casus van Tomsa et al. (2003) was het aangetaste weefsel gecalcificeerd.

6.1.4. Cultuur

6.1.4.1 Groeimedia

Er kunnen 2 soorten groeimedia gebruikt worden. De eerste is een Sabouraud-agar met chloramphenicol en de tweede is een Sabouraud-agar met chloramphenicol en met cycloheximide (actidione). Actidione is een eukaryotische, proteïne-synthese inhibitor en wordt aan de agar toegevoegd om de groei van een aantal saprofytaire fungi te remmen. Het nadeel is dat ook enkele pathogene fungi, zoals *Cryptococcus neoformans*, *Torulopsis*, enkele *Candida* spp., sommige *Aspergilli* en de Zygomyceten, geremd worden. Volgens Van Cutsem en Rochette (1991), mag er voor het opsporen van *Aspergillus* spp. geen actidione aan de agar toegevoegd worden, omdat de meeste *Aspergillus*-stammen daar erg gevoelig voor zijn. Toch werd bij ¹Billen et al. (2009) actidione aan de agar toegevoegd.

6.1.4.2 Enten

Het staalname materiaal wordt via een inoculatie-Öse of haakje aseptisch op de voedingsbodem aangebracht. De Öse of het haakje moet voor en na elke bewerking in de bunsenvlam worden gehouden. De gloeiende Öse of het haakje wordt afgekoeld, alvorens met de cultuur of het monster in contact te komen. Droge monsters worden in kleine stukjes afzonderlijk ingeplant op verschillende plaatsen op de agar. Het monster wordt lichtjes in het medium gedrukt. Vochtige monsters worden met een Öse volgens een bepaald patroon uitgestreken op de agarbodem (Van Cutsem en Rochette, 1991) (Fig. 7).

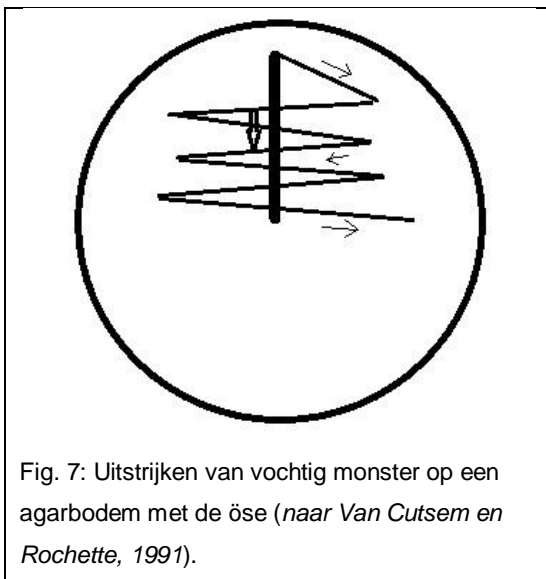


Fig. 7: Uitstrijken van vochtig monster op een agarbodem met de öse (naar Van Cutsem en Rochette, 1991).

Bij Wilkenson et al. (1982) werd de granulomateuze massa gedurende 2-3 seconden ondergedompeld in kokend water. Dit werd gedaan om de buitenkant te steriliseren. Het granulomateuze materiaal werd dan in een tube gemengd met fysiologische zoutoplossing tot een homogene massa. De homogene massa werd geënt op een Sabouraud dextrose agar.

6.1.4.3 Incubatie

A. fumigatus wordt het best geïncubeerd bij 45°C. Er wordt echter meestal bij 25°C en 37°C geïncubeerd. Bij 37°C was er significant meer schimmelgroei dan bij kamertemperatuur (¹Billen et al., 2009) (Fig. 8). Een vochtig milieu bevordert de groei en een droog milieu remt de groei van de cultuur. Na 24 uur kan er, na een incubatie bij 37°C, al schimmelgroei gezien worden. Na 48 uur kunnen de karakteristieke conidioforen worden waargenomen (Van Cutsem en Rochette, 1991).

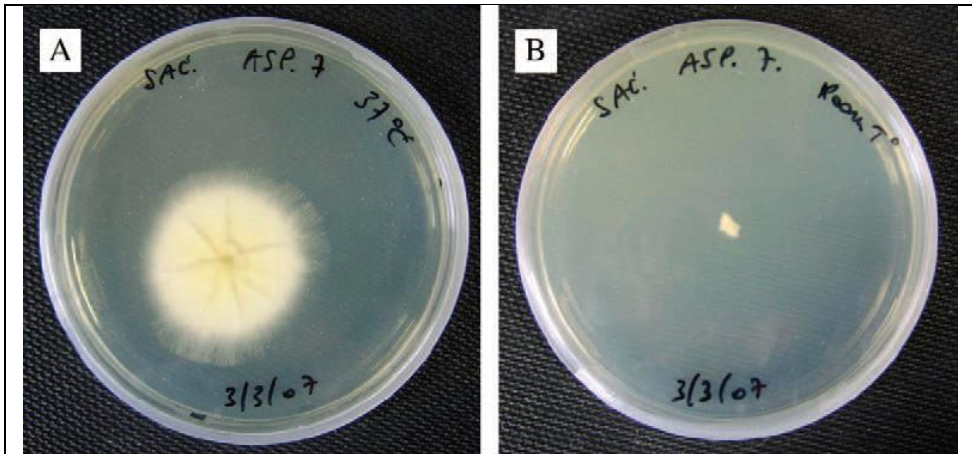


Fig. 8: Incubatie bij 37°C (A) en op kamertemperatuur (B) gedurende 4 dagen. Er was enkel groei te zien op A, een grote kolonie van *Aspergillus fumigatus*. Bij 37°C was er significant meer groei dan bij kamertemperatuur (uit ¹Billen et al., 2009).

6.1.5. Opsporen van *A. fumigatus* antigenen

De Platelia™ is een commercieel verkrijgbare enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA) (²Billen et al., 2009). De test detecteert een specifiek antigeen van *Aspergillus* species, namelijk galactomannan. Galactomannan is een water-oplosbaar, warmte stabiele polysaccharide dat deel uitmaakt van de celwand. Het komt in de circulatie terecht als de schimmel de weefsels invadeert (Whitney et al., 2013).

In de studie van Whitney et al. (2013) werd er voor de galactomannan ELISA test een cut-off waarde van 0,5 en 1,5 optische densiteit index genomen. Er waren geen significante verschillen tussen de verschillende groepen (aangetaste groep en controle groep). De meeste besmette katten waren besmet met *Aspergillus felis*. De katten waarbij de cut-off index 2 keer de optisch densiteit index was, waren allemaal besmet met *Aspergillus felis*. De specificiteit was het hoogst bij het gebruik van de optische densiteit index 1,5. De specificiteit bij het gebruik van controlegroepen was 78,08%. Wanneer de gezonde katten of de katten met een luchtwegaandoening zonder *A. fumigatus* uit de analyse werden weggelaten, was de specificiteit 93,33%. De serum galactomannan kwantificatie is niet betrouwbaar voor de diagnose van aspergillose bij alle katten. Dit is echter een goede test als deze wordt uitgevoerd op katten die sterk verdacht zijn van aspergillose door andere diagnostische technieken.

In de studie van ²Billen et al. (2009) werd er voor de galactomannan ELISA test een cut-off waarde van 0,5 optische densiteit index genomen. Er werd hier ook geen significant verschil gevonden tussen de groepen. De specificiteit was 82,3% en de sensitiviteit was 23,5%.

6.2. MEDISCHE BEELDVORMING

6.2.1. Computed-tomography (CT)

Volgens Saunders en Van Bree (2003) was de sensitiviteit van CT 92 %. Op CT kan er beter worden gedifferentieerd tussen een nasale neoplasie en nasale aspergillose. Een hyperplastische mucosa is beter te onderscheiden van een weke delen densiteit in de neusholte. CT kan een 'weke delen densiteit' zien waar op radiologie alles normaal lijkt. Ook osteolyse wordt op CT sneller opgemerkt. Destructie van de ethmoturbinaria is goed te zien met CT. Er is geen superpositie, waardoor het interpreteren minder moeilijk wordt. De afbeelding kan in verschillende grijs-schalen bekeken worden. Het onderscheid tussen 'weke delen densiteit' en vloeistof kan goed gemaakt worden (Saunders en Van Bree, 2003).

Op de CT-scans zijn er vaak grote retrobulbaire massa's te zien (Barachetti et al., 2009; Giordano et al., 2010; Hamilton et al., 2000; Kano et al., 2008; McLellan et al., 2006; Halenda en Reed, 1997). Door de retrobulbaire massa wordt de oogbol verplaatst naar dorsotemporaal (Fig. 9).

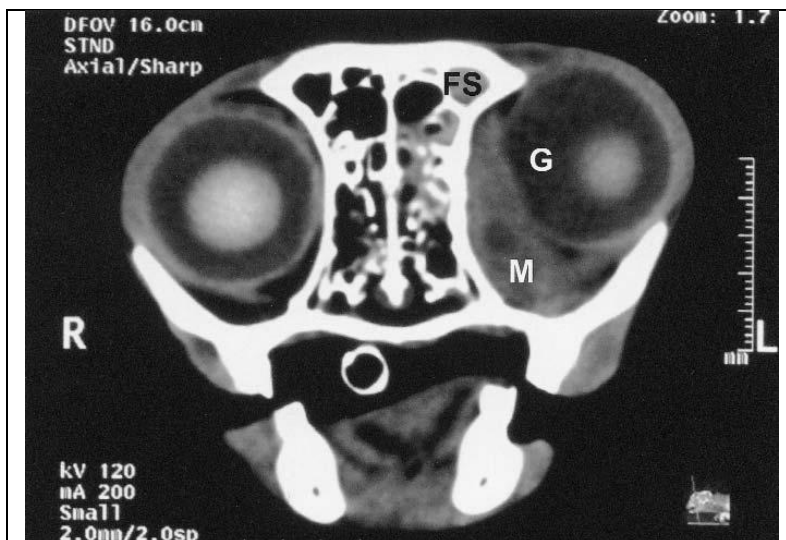


Fig. 9: CT-scan. Een weke delen massa is zichtbaar (M) mediaal in de linker orbita. De massa verplaatst de oogbol naar dorsaal(G). Er is een milde stijging van 'weke delen densiteit' in de linker sinus frontalis(FS). Er is geen osteolyse te zien (R=rechts, L=links) (uit McLellan et al., 2006).

Er kunnen abnormale 'weke delen densiteiten' in de frontale sinussen, neusholten, os palatinum, pharyngeale regio, spenoïdale sinussen of in de neusgangen aanwezig zijn (Barachetti et al., 2009; Furrow en Groman, 2009; Giordano et al., 2010; Halenda en Reed, 1997; Hamilton et al., 2000; McLellan et al., 2006; Tomsa et al., 2003; Whitney et al., 2005).

Osteolyse kan vastgesteld worden in de conchae, de ethmoturbinaria, os lacrimale, os nasale, periorbitale beenderen, os palatinum of het os frontale (Barachetti et al., 2009; Halenda en Reed,

1997; Tomsa et al., 2003; Whitney et al., 2005). In de casus van Tomsa et al. (2003) was er bij de kat een deviatie van het os vomer te zien.

6.2.2. Rhinoscopie

Het is belangrijk om bij een kat met chronische neusvloeit de neus en nasopharynx te inspecteren. Dit kan gebeuren met behulp van rhinoscopie. Rhinoscopie gebeurt enkel onder algemene verdoving. De kat wordt geïntubeerd en de cuff wordt opgeblazen zodat er geen vloeistof in de luchtwegen kan terechtkomen. De kop van de kat wordt op een bakje met een rooster geplaatst en het lichaam wordt hoger gepositioneerd dan de kop (¹Harcourt-Brown, 2006).

Katten hebben smalle neusgangen, hierdoor worden altijd rigide endoscopen gebruikt. De flexibele endoscopen zijn te groot. De endoscoop kan ingebracht worden via de mond, via een pharyngotomie-opening of via de neusopening. De endoscoop wordt omgeven door een speciale manchete. Via deze manchete kan er gespoeld worden met een warme povidone-jood oplossing. Bij de kat kan er een groot deel van de meati en conchae geïnspecteerd worden, maar de sinussen kunnen niet bekeken worden (¹Harcourt-Brown, 2006).



Fig. 10: Rhinoscopische foto van de linker neusholte. De turbinaria zijn erg hyperplastisch en de neusmucosa is hypertrofisch. Wit-roze massa's zijn zichtbaar in de neusgang (pijl) (uit Barachetti et al., 2009).

Er kunnen vooral wit-gele massa's op de neusmucosa en in de choanae worden gezien. De massa's hebben een vette consistentie, een brede basis en onduidelijke grenzen (Barachetti et al., 2009; Tomsa et al., 2003; Whitney et al., 2005) (Fig. 10). In de studie van Barachetti et al. (2009) waren de ethmoturbinaria hyperplastisch en de neusmucosa hypertrofisch. De ethmoturbinaria waren erg

beschadigd en er was veel osteolyse (Tomsa et al., 2003). De neusmucosa had een rood geïrriteerd uitzicht en was gezwollen.

6.2.3. Magnetic resonance imaging (MRI)

In het geval van Giordano et al. (2010) werd een MRI gedaan. Op de MRI werd een rechtse otitis media en een linkse frontale sinusitis gezien. Er was een agressieve, infiltratieve ziekte van de rechter orbita met uitbreiding naar de hersenen, de rechter m. pterygoideus en de sphenoidale sinus aanwezig. Er werd een defect in het bot gedetecteerd in de schedelbasis ter hoogte van het foramen ovale/ foramen rotundum.

Bij Barachetti et al. (2009) was er een vergroting van het rechter chiasma opticum te zien. Het chiasma opticum was ontstoken.

6.2.4. Radiologie (Rx)

Er moeten verschillende opnames gemaakt worden, waaronder een dorsoventrale, een laterale projectie van de hele schedel, een dorsoventrale (intra-orale) projectie van de neusholten en de maxilla en een rostrocaudale projectie van de frontale sinussen (Saunders en Van Bree, 2003).

In de studie van Saunders en Van Bree (2003) was de sensitiviteit van Rx 84%. Een nadeel van Rx is dat sommige structuren nooit zichtbaar zijn, zoals het neusseptum en de caudale recessussen. De lamina orbita van de maxillaire recessus is soms zichtbaar en het os ethmoidale, het os vomer en de naso-orbitale wand zijn enkel zichtbaar bij erge destructie. Een ander nadeel is dat er bij radiologie altijd superpositie is. Dit bemoeilijkt het interpreteren van de foto. Het verschil tussen mucosa hyperplasie en 'weke delen densiteiten' is moeilijker te maken. Op radiologie is er een unilaterale aantasting van de neus te zien, terwijl er eigenlijk een bilaterale aantasting aanwezig is. Milde destructie van de ethmoturbinaria is niet te detecteren op radiologische beelden.

Op de Rx-foto was er een verdunning van de ethmoturbinaria te zien en de frontale sinus was gevuld (Goodall et al., 1984).

6.2.5. Echografie

In geval van verdenking van retrobulbaire aspergillose wordt de sonde rechtstreeks op de oogbol geplaatst. Er wordt een speciaal, steriel glijmiddel op de cornea aangebracht. De sonde kan ook op de oogleden worden geplaatst. Deze techniek is minder informatief. Het wordt het best gedaan na sedatie en lokale anesthesie. Er wordt een 7,5 mHz-10 mHz mechanische sectoriële transducer gebruikt (Kealy et al., 2011).

Bij Halenda en Reed (1997) werd er een anechogene grote retrobulbaire massa gedetecteerd.

6.3. SEROLOGIE

Veel katten ontwikkelen antistoffen. Toch zijn er katten die geen of heel weinig antistoffen bezitten. Er kunnen ook antistoffen aanwezig zijn zonder dat de kat echt ziek is. De reden hiervoor zou een infectie met een niet-invasieve soort zijn (Hartmann et al., 2013).

Het testen van het serum op antistoffen tegen *Aspergillus* spp. kan gebeuren aan de hand van agar gel immunodiffusie en ELISA. Agar-gel immunodiffusie is een goedkope en eenvoudige test om *Aspergillus* spp. antistoffen aan te tonen. Het geeft echter geen kwantificatie. ELISA is snel en kan hele lage concentraties aan antistoffen aantonen (²Billen et al., 2009).

De specificiteit van de agar-gel immunodiffusie was 100% en de sensitiviteit was 76,5%. Bij de IgG ELISA werd de cut-off waarde op 15 EU/ml gezet. De specificiteit van de ELISA test was 96,8% en de sensitiviteit was 88,2%. Als de resultaten van voorgaande 2 testen werden gecombineerd, werd de specificiteit 96,8% en de sensitiviteit 94,1%. De combinatie van beide is dus een goede test om *Aspergillus* spp. antistoffen aan te tonen (²Billen et al., 2009).

7. BEHANDELING/PREVENTIE

7.1. MEDICAMENTEUZE BEHANDELING

7.1.1. Lokaal

Als lokale behandeling kan er gebruik gemaakt worden van clotrimazole of enilconazole. Clotrimazole of enilconazole kunnen via een niet-invasieve infusie rechtstreeks in de neus worden toegediend. Deze behandeling moet onder algemene verdoving gebeuren (Hartmann et al., 2013).

De werkwijze van de infusie werd beschreven door Furrow en Groman (2009). Het is heel belangrijk dat de luchtwegen en de oesophagus worden beschermd. Hiervoor worden er in het caudale deel van de pharynx gaasjes gestoken. Er wordt in elke neusholte 8 tot 10 ml clotrimazole ingebracht tot er voldoende weerstand wordt gevoeld. De kat wordt in 4 posities gebracht (ventraal, rechter zijde, dorsaal en linker zijde), elk ongeveer gedurende 15 minuten. Na 1 uur worden de gaasjes en katheders verwijderd. Tijdens de recovery wordt de kop in een hoek naar beneden geplaatst, zodat de overtollige vloeistof kan afvloeien.

De 2 katten in de studie van Furrow en Groman (2009) en de kat in de studie van Tomsa et al. (2003) waren nog altijd gezond na respectievelijk 2 jaar, 4 jaar en 1 jaar.

Deze clotrimazole behandeling heeft wel enkele nadelen. De dieren moeten onder anesthesie gebracht worden en de clotrimazole-oplossing bevat isopropanol en propyleenglycol. Deze producten zijn irriterend en kunnen oedeem van de pharynx en inflammatie veroorzaken. Een alternatief zou een infusie met enilconazole kunnen zijn. Dit product heeft een mindere systemische toxiciteit en is minder lokaal irriterend (Furrow en Groman, 2009).

Volgens Malik et al. (2010) zouden ook bolussen met een antimycoticum ter plaatse gebracht kunnen worden. Dit zijn slow release bolussen die zorgen voor langdurige, hoge concentraties van het antimycoticum.

Een andere lokale behandeling is, tijdens de rhinoscopie, het spoelen van de neusholten met een fysiologische zoutoplossing. Na deze behandeling waren de symptomen bij een kat met SNA verdwenen. De kat was nog altijd gezond na 1 jaar (Tomsa et al., 2003).

7.1.2. Systemisch

De systemische behandeling kan bestaan uit toediening van itraconazole, fluconazole, terbinafine, posaconazole, amphotericine B en voriconazole. Deze behandeling wordt vaak gecombineerd met een chirurgische behandeling (zie verder in de tekst).

De behandeling van katten met SNA had een significant beter resultaat dan de behandeling van katten met SOA. Alle katten met SOA werden geëuthanaseerd door het progressieve karakter van de ziekte (Barrs et al., 2012).

Bij het gebruik van voriconazole is er een groot risico op neurologische neveneffecten. De neurologische effecten kunnen bestaan uit ataxie, paraplegie en craniale zenuw defecten. De

behandeling moet gedurende lange tijd worden volgehouden, anders is de kans op recidieven groot (Hartmann et al., 2013).

In de studie van Barrs et al. (2012) waren bijna alle isolaten, zowel van *A. fumigatus* als *Neosartorya* spp., resistent tegen fluconazole. Toch had de behandeling met fluconazole bij Whitney et al. (2005) een positief resultaat. De kat was genezen 8 maanden na het begin van de therapie. Ze had wel last van miliaire dermatitis op de linker flank en het gezicht. Deze verdwenen na stopzetting van de behandeling.

Zowel bij Giordano et al. (2010), Kano et al. (2008), Hamilton et al. (2000) en Mclellan et al. (2006) had de therapie met itraconazole geen positief resultaat. De symptomen werden erger. Een nadeel van itraconazole therapie is dat sommige katten een itraconazole intoxicatie krijgen. Dit werd gezien bij Whitney et al. (2005) en bij Tomsa et al. (2003). De katten werden anorectisch en hadden icterus en gewichtsverlies. Bij bloedonderzoek werden er gestegen waarden van alanine-aminotransferase, aspartaat-aminotransferase, een milde lymfopenie en een azotemie vastgesteld. De therapie werd gestopt en de kat werd ondersteunend behandeld tegen deze itraconazole intoxicatie. Er was één kat bij Whitney et al. (2005) waarbij de itraconazole therapie wel een positief resultaat gaf. De kat was nog altijd asymptomatisch 8 maanden na stopzetting van de therapie.

Posaconazole had zowel bij Giordano et al. (2010) en Mclellan et al. (2006) een gunstig resultaat. Het enige nadeel was dat de kat bij Mclellan et al. (2006) last kreeg van erythema en jeuk aan de oorschelpen. Door schuren waren er ook oppervlakkige huidlesies. Bij Giordano et al. (2010) kreeg de kat na 5 maanden zenuwsymptomen en werd ze geëuthanaseerd. De zenuwsymptomen werden niet veroorzaakt door de behandeling. Er was een otitis media en een defect in de schedelbasis in de regio van het foramen ovale/ foramen rotundum aanwezig.

De behandeling met amphotericine B had geen goed resultaat bij Kano et al. (2008) en bij Mclellan et al. (2006). Uit de antimycotische resistentie test bleek dat de op cultuur geïdentificeerde *Aspergillus fumigatus* resistent was tegen itraconazole en weinig gevoelig was voor amphotericine B (Mclellan et al., 2006). Ook bij Kano et al. (2008) was *A. udagawae* resistent tegen amphotericine B.

7.2. CHIRURGISCHE BEHANDELING

Chirurgisch debrideren van de geïnfecteerde regio's is vereist om de letsels goed te kunnen bereiken met de therapie (Hartmann et al., 2013; Malik et al., 2010).

Voor het debrideren van de frontale sinussen, kunnen deze geopend worden met een sinus trepanatie. Hierbij wordt een klein stukje bot weggenomen van het os frontale. Het stukje bot kan dan nadien terug op zijn plaats worden gefixeerd (Goodall et al., 1984; Hamilton et al., 2000). Na de debridatie werd er bij Hamilton et al. (2000) clotrimazole via een tube in de sinus gespoten en dit bleef ter plaatse gedurende 45 minuten. Daarna moeten de sinussen gespoeld worden met een verdunde povidone-jood oplossing en een fysiologische zoutoplossing.

Er werd bij Barachetti et al. (2009) en bij Giordano et al. (2010) besloten tot een orbitale exenteratie. De kat werd onder anesthesie gebracht door midazolam en buprenorphine als premedicatie. Als inductie werd propofol gebruikt en als onderhoudsanestheticum isofluraan. De operatie houdt in dat de orbita volledig leeggemaakt wordt. Het oog en de granulomateuze massa's worden verwijderd.

Een andere mogelijkheid om de retrobulbaire massa te verwijderen is om deze te draineren achter de laatste maxillaire molaar. Deze techniek werd bij Hamilton et al. (2000) toegepast.

Bij Hamilton et al. (2000) werden de oogleden partieel gesloten. Dit werd gedaan om de cornea te beschermen tegen verdere letsels.

BESPREKING

Aspergillose bij de kat is een zeldzame ziekte, waar nog niet veel over beschreven is. In de literatuur zijn er bijna enkel casussen te vinden. Specifieke onderzoeken naar incidentie, besmettingsmogelijkheden, diagnostiek en medicamenteuze behandeling bij katten ontbreken. Om dit gebrek te compenseren werd er in deze literatuurstudie gebruik gemaakt van een aantal studies bij mens en hond. De tekst kan dus onjuistheden bevatten met betrekking tot de kat.

Via de macro- en microscopische beoordeling van cultuur zijn de patiënten meestal besmet met *A. fumigatus*. Toch is dit niet altijd het geval (Barrs et al., 2013; Kano et al., 2008). Een meer accurate manier om de kiem te identificeren is deze op genetisch vlak aan de hand van PCR.

De kennis van virulentiefactoren is vooral gebaseerd op studies die werden uitgevoerd op *A. fumigatus* bij de mens (Tekaia en Latgé, 2005; Tomée en Kauffman, 2000). Er kan van uitgegaan worden dat deze dezelfde zijn bij de kat. Het gaat tenslotte om hetzelfde organisme en er werd vooral op genetisch vlak onderzoek verricht.

De ziekte neemt in incidentie toe volgens Barrs (2012), Barrs et al. (2013) en Malik et al. (2010). Of dit echt zo is, is natuurlijk de vraag. Het zou kunnen dat aspergillose in de loop van de jaren meer aandacht krijgt en er daardoor meer naar wordt gezocht. Het kan ook dat door de technologische vooruitgang van de medische beeldvorming, er meer gevallen worden gedetecteerd en geïdentificeerd. De opkomst van de CT, MRI en de overgang van conventionele radiologie naar de digitale radiologie zorgen hiervoor.

Volgens de meeste studies komt aspergillose voor bij immuungesupprimeerde dieren. In de casussen van deze studie was er maar één kat positief voor FeLV (Goodall et al., 1984). Al de andere katten waren negatief voor FIV en FeLV. Volgens Barrs (2012) waren er 40% van alle, met aspergillose besmette, katten brachycephaal. Deze brachycephale katten kunnen misschien een rasgebonden gebrekkige mucosale immuniteit hebben en/of een verminderde drainage van secreet uit de bovenste luchtwegen (Barrs, 2012; Hartmann et al., 2013).

De symptomen zijn eenduidig. Het zijn katten met een verhaal van chronische mucuze tot mucopurulente neusvloeï. Er was volgens Barrs et al. (2012) bij alle katten een geschiedenis van niezen en neusuitvloeï in de 6 maand voorafgaand aan de ontwikkeling van andere symptomen. Naast de sino-nasale vorm werd er in 63% van de gevallen de sino-orbitale vorm beschreven (Barrs, 2012). Sino-orbitale aspergillose wordt specifiek gekenmerkt door exophtalmie. Bij katten met chronische neusvloeï en/of exophtalmie moet in de differentiaal diagnose zeker aspergillose worden opgenomen.

De diagnose van aspergillose is niet gemakkelijk te stellen. Er zijn meestal meerdere diagnostische testen nodig voor een definitieve diagnose. Een blinde swab is absoluut niet diagnostisch (¹Billen et al., 2009; De Lorenzi et al., 2006). In de neus is er altijd een bacteriële flora aanwezig. De schimmelplaques kunnen gemist worden. De beste techniek om sino-nasale aspergillose aan te tonen is een biopt genomen via rhinoscopie (¹Billen et al., 2009; De Lorenzi et al., 2006). Natuurlijk is dit in

de praktijk niet altijd mogelijk. Niet elke dierenarts heeft een endoscoop ter beschikking. Er kan eventueel wel een flush van de neusgangen worden uitgevoerd, dit kan ervoor zorgen dat schimmelplaques loskomen (Furrow en Groman, 2009). Voor de diagnose van sino-orbitale aspergillose kan er een echo, Rx, CT of MRI worden uitgevoerd. De CT valt te verkiezen, maar is in de praktijk uitgesloten. Een goed alternatief met een sensitiviteit van 84%, is de Rx (Saunders en Van Bree, 2003). Voor een definitieve diagnose is het aantonen van de schimmel op histologie noodzakelijk samen met de klinische symptomen.

Studies over de werkzaamheid, distributie, biologische beschikbaarheid van en resistentie-ontwikkeling ten opzichte van antimycotica bij de kat ontbreken. De dosissen worden bepaald aan de hand van informatie in reeds gepubliceerde casussen (Declercq et al., 2012). De behandelingsduur is lang, gemiddeld 4 maanden (Hamilton et al., 2000; McLellan et al., 2006; Whitney et al., 2005). De medicamenteuze behandeling wordt in de meeste gevallen gecombineerd met een chirurgische behandeling. Door uitgebreid chirurgisch te debrideren kan de medicatie beter inwerken. Het necrotisch materiaal verhindert het contact van systemische antimycotica met de schimmel. Zeker bij sino-orbitale aspergillose moet de retrobulbair massa verwijderd worden. Dit doet men het best via een laterale orbitotomie en/of orbitale exenteratie (Barachetti et al., 2009; Giordano et al., 2010).

Aspergillose is een moeilijke ziekte om te diagnosticeren en een dure ziekte om te behandelen (medicatie plus chirurgie). Het is belangrijk om de diagnose bij de kat zo vlug mogelijk te stellen, anders is er een grote kans tot uitbreiding naar retrobulbair. De prognose van de sino-orbitale aspergillose is pover. Door het progressieve karakter van de ziekte, worden de meeste katten geëuthanaseerd (Barrs et al., 2012). Katten met sino-nasale aspergillose hebben een betere prognose.

REFERENTIELIJST

- Barachetti L., Mortellaro C.M., Di Giancamillo M., Giudice C., Martino P., Travetti O., Miller P.E.(2009). Bilateral orbital and nasal aspergillosis in a cat. *Veterinary ophthalmology* 12(3), p. 176-182.
- Barrs V.R.(2012). Feline Upper Respiratory Aspergillosis: How Different Is It From Canine Sinonasal Aspergillosis?. *Upper Respiratory Aspergillosis-ECVIM*.
- Barrs V.R., Doorn T.M., Houbraken J., Kidd S.E., Martin P., Pinheiro M.D., Richardson M., Varga J., Samson R.A.(2013). *Aspergillus felis* sp. nov., an Emerging Agent of Invasive Aspergillosis in Humans, Cats and Dogs. *PLOS one* 8(6), p. 1-11.
- Barrs V.R., Halliday C., Martin P., Wilson B., Krockenberger M., Gunew M., Bennett S., Koehlmeyer E., Thompson A., Hocking A., Sleiman S., O'Brien C., Beatty J.A.(2012). Sinonasal and sino-orbital aspergillosis in 23 cats: Aetiology, clinicopathological features and treatment outcomes. *The Veterinary Journal* 191, p. 58-64.
- ⁻¹Billen F., Clercx C., Le Garérrès A., Massart L., Mignon B., Peeters D.(2009). Effect of sampling method and incubation temperature on fungal culture in canine sinonasal aspergillosis. *Journal of Small Animal Practice* 50, p. 67-72.
- ⁻²Billen F., Peeters D., Peters I.R., Helps C.R., Huynen P., De Mol P., Massart L., Day M.J., Clercx C. (2009). Comparison of the value of measurement of serum galactomannan and *Aspergillus*-specific antibodies in the diagnosis of canine sino-nasal aspergillosis. *Veterinary Microbiology* 133, p. 358-365.
- Berbee M.L. (2001). The phylogeny of plant and animal pathogens in the Ascomycota. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59, p. 165-187.
- Declercq J., Declercq L., Fincioen S.(2012). Unilaterale sino-orbitale en subcutane aspergillose bij een kat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 81(6), p. 357-362.
- De Lorenzi D., Bonfanti U., Masserdottiy C., Caldin M., Furlanello T.(2006). Diagnosis of canine nasal aspergillosis by cytological examination: a comparison of four different collection techniques. *Journal of Small Animal Practice* 47, p. 316-319.
- Furrow E., Groman R.P.(2009). Intranasal infusion of clotrimazole for the treatment of nasal aspergillosis in two cats. *JAVMA* 235(10), p. 1188-1193.
- Giordano C., Gianella P., Bo S., Giudice C., Santa D.D., Tortorano A.M., Peruccio C., Peano A.(2010). Invasive mould infections of the naso-orbital region of cats: a case involving *Aspergillus fumigatus* and an aetiological review. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12, p. 714-723.
- Goodall S.A., Lane J.G., Warnock D.W.(1984). The diagnosis and treatment of a case of nasal aspergillosis in a cat. *Journal of small Animal Practice* 25, p. 627-633.

- Halenda R.M., Reed A.L.(1997). ULTRASOUND/COMPUTED TOMOGRAPHY DIAGNOSIS-FUNGAL SINUSITIS AND RETROBULBAR MYOFASCITIS IN A CAT. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 38(3), p. 208-210.
- Hamilton H.L., Whitley R.D., Mclaughlin S.A.(2000). Exophthalmos Secondary to Aspergillosis in a Cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 36, p. 343-347.
- ¹Harcourt-Brown N. (2006). Rhinoscopy in the cat. *In Practice* 28, p. 462-469.
- ²Harcourt-Brown N. (2006). Rhinoscopy in the dog, 1. Anatomy and techniques. *In practice* 28, p. 170-175.
- Hartmann K., Lloret A., Pennisi M.G., Ferrer L., Addie D., Belak D., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Frymus T., Gruffydd-Jones T., Hosie M.J., Lutz H., Marsilio F., Möstl K., Radford A.D., Thiry E., Truyen U., Horzinek M.C.(2013). Aspergillosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15, p. 605-610.
- Kano R., Itamoto K., Okuda M., Inokuma H., Hasegawa A., Balajee S.A. (2008). Isolation of *Aspergillus udagawae* from a fatal case of feline orbital aspergillosis. *Mycosis* 51, p. 360-361.
- Kealy J.K., McAllister H., Graham J.P. (2011). *Diagnostic Radiology and Ultrasonography of the Dog and Cat*, Fifth edition. Elsevier/Saunders, United States of America, p. 478.
- Malik R., O'Brien C., Whitehead M.(2010). The fight against some formidable fungal foes. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12, p. 669-671.
- Mclellan G.J., Aquino S.M., Mason D.R., Kinyon J.M., Myers R.K.(2006). Use of Posaconazole in the Management of Invasive Orbital Aspergillosis in a cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 42, p. 302-307.
- O'Gorman C.M. (2011). Airborne *Aspergillus fumigatus* conidia: a risk factor for aspergillosis. *Fungal biology reviews* 25, p. 151-157.
- Ossent P.(1987). Systemic aspergillosis and mucormycosis in 23 cats. *The Veterinary Record* 120, p. 330-333.
- Pfaller M.A., Woosley L.N., Messer S.A., Jones R.N., Castanheira M.(2012). Significance of Molecular Identification and Antifungal Susceptibility of Clinically Significant Yeasts and Moulds in a Global Antifungal Surveillance Programme. *Mycopathologia* 174, p. 259-271.
- Samson R.A., Hong S., Peterson S.W., Frisvad J.C., Varga J. (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph Neosartorya. *Studies in Mycology* 59, p. 147-203.
- Saunders J.H., Van Bree H. (2003). COMPARISON OF RADIOGRAPHY AND COMPUTED TOMOGRAPHY FOR THE DIAGNOSIS OF CANINE NASAL ASPERGILLOSIS. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 44(4), p. 414-419.

- Stajich J.E., Berbee M.L., Blackwell M., Hibbett D.S., James T.Y., Spatafora J.W., Taylor J.W. (2009). The fungi. *Current biology*, 19(18), p. R840-R845.
- Tekaia F., Latgé J-P. (2005). *Aspergillus fumigatus*: saprophyte or pathogen?. *Current opinion in Microbiology* 8, p. 385-392.
- Tomee J.F.CH., Kauffman H.F. (2000). Putative virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. *Clinical and Experimental Allergy* 30, p. 476-484.
- Tomsa K., Glaus T.M., Zimmer C., Green C.E.(2003). Fungal rhinitis and sinusitis in three cats. *JAVMA* 222(10), p. 1380-1384.
- Van Cutsem J., Rochette F. (1991). MYCOSEN bij huisdieren. Janssen research foundation, Beerse, p.11,18, 37-43, 105, 168-169.
- Whitney B.L., Broussard J., Stefanacci J.D.(2005). Case report: Four cats with fungal rhinitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 7, p.53-58.
- Whitney J.,Beatty J.A., Martin P., Dhand N.K., Briscoe K., Barrs V.R.(2013). Evaluation of serum galactomannan detection for diagnosis of feline upper respiratory tract aspergillosis. *Veterinary Microbiology* 162, p. 180-185.
- Wilkinson G.T., Sutton R.H., Grono L.R.(1982). *Aspergillus* spp. infection associated with orbital cellulitis and sinusitis in a cat. *Journal of small Animal Practice* 23, p. 127-131.