

Aus der Laboklin GmbH, Bad Kissingen

# Harnwegsinfektionen durch uropathogene *E.coli* bei Hunden

DOROTHEE GEIER-DÖMLING, BIANCA REITH, A. HEUSINGER

Praktischer Tierarzt 85:8, 542-546 (2004); © Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG; ISSN 0032-681 X

## ZUSAMMENFASSUNG:

In dieser Untersuchung sollten humane Virulenzgene harnwegspathogener *E. coli* (UPEC) mit denen von Hunden verglichen werden. Es stellte sich die Frage, ob diese Virulenzgene Verursacher für Harnwegsinfektionen beim Hund sind, so wie es beim Menschen beschrieben ist. Dazu wurden 56 Urinproben von Hunden mit dem Vorbericht Harnwegsinfektion und *E. coli*-Wachstum in der kulturellen Anzucht untersucht. Aus 46 Proben (82 %) konnten *E. coli*-Bakterien in Reinkultur und aus zehn Proben (18 %) in Mischkultur isoliert werden. 46 der untersuchten 56 *E. coli*-Isolate (82 %) wiesen Virulenzgene uropathogener *E. coli* (UPEC) auf. Es konnten die Virulenzgene pap C, pap E/F, sfa, hly, aer und cnf 1 bei den Isolaten nachgewiesen werden, während afa 1 nicht nachweisbar war.

**SCHLÜSSELWÖRTER:** *E. coli*, Virulenz, Harnwegsinfektionen, Hund

## *E. coli* infections of the urinary tract in dogs

### SUMMARY:

Virulence genes of uropathogenic *E. coli* of human origin were compared with isolates from dogs. 56 urine samples from dogs with urinary tract infections were examined bacteriologically. In 46 samples (82%) just *E. coli* could be isolated, in additional 10 samples (18%) *E. coli* was identified together with different bacteria. 46 out of the 56 isolated *E. coli* strains (82%) incorporated virulence genes known from human *E. coli* strains. The genes papC, pap E/F, sfa, hly, aer and cnf 1 could be identified, afa 1 was not detectable in any of the examined strains.

**KEY WORDS:** *E. coli*, virulence, urinary tract infection, dog

## Einleitung

Die diagnostische Harnwegsinfektion beim Hund stützt sich maßgeblich auf die Erhebung des Harnstatus und der Sedimentuntersuchung sowie auf die bakteriologische Harnuntersuchung. Ein positiver Keimnachweis ist in der Regel ursächlich mit der klinischen Symptomatik in Zusammenhang zu bringen, wenn für Harnwegsinfektionen typische Keimarten und Keimzahlen nachgewiesen werden. Für den Menschen ist jedoch beschrieben, dass sich *E. coli*, die Harnwegsinfektionen verursachen, durch typische Virulenzgene auszeichnen (UPEC) und sich dadurch von *E. coli* des Magen-Darm-Traktes unterscheiden lassen. Ziel unserer Untersuchung war, in unserem Untersuchungsgut festzustellen, ob analog zum Menschen auch beim Hund UPEC Verursacher von Harnwegsinfektionen sein können.

### Mikrobielles Keimpektrum

Das kultivierbare Keimpektrum umfasste verschiedene Enterobakteriazenarten sowie Staphylokokken, die für ca. 15 % der Urogenitalinfektionen verantwortlich gemacht werden. Die mit Abstand am häufigsten nachgewiesenen Keime sind jedoch *E. coli*-Bakterien. Sie können aus ca. 60-70 % der caninen Urinproben kultiviert werden. *E. coli*-Bakterien stellen dabei ein besonderes diagnostisches Problem dar, da sie nicht nur als Krankheitserreger sondern auch als harmlose Darm-

kommensalen und Umweltkeime weit verbreitet sind (Beutin 1999, Keskard et al. 1998, starcic et al. 2002, Wilson et al. 1988, und eigene unveröffentlichte Daten).

### Virulenzfaktoren uropathogener *E. coli*

Uropathogene *E. coli* unterscheiden sich von apathogenen Vertretern durch Virulenzeigenschaften, die es ihnen ermöglichen, Gewebe und Organe des Harntrakts zu kolonisieren. Aus humanmedizinischen Untersuchungen sind verschiedene Virulenzmerkmale uropathogener *E. coli* bekannt. Nachgewiesen wurden unter anderem Adhärenzfaktoren wie P und S-Fimbrien und das nichtfimbrienassoziierte Oberflächenprotein Afimbrial adhesin I (Afa-I). Afa-I gehört zu einer Gruppe von nichtfimbrienassoziierten Adhäsinen, die an sog. Dr-Blutgruppen-Antigene binden und in vitro mannoseresistente Hämagglutination zeigen. Im Urogenitaltrakt erstreckt sich die Bindungsaffinität dieser Hämagglutinine auf Zellen des renalen Interstitiums, der Bowmannschen Kapseln, Basalzellen der Nierentubuli sowie Übergangsepithelzellen von Urethra und Blase. Betroffen sind vor allem Cystitispatienten.

S- und P-Fimbrien sind ebenfalls durch mannoseresistente Hämagglutination gekennzeichnet. Im Urogenitaltrakt zeigen sie ein ähnliches Bindungspotential wie die nichtfimbrienassoziierten Adhäsine, im Gegensatz zu diesen besitzen sie beim Menschen darüber hinaus eine hohe Bindungsaffinität zu Glomerulum- und Gefäßendothel-

**TABELLE 1:** Nachweishäufigkeit verschiedener Virulenzgene in *E. coli*-Isolaten von Hunden und Menschen mit Harnwegsinfektionen

Virulenz-Gene	56 canine <i>E. coli</i> - Isolate		von Hündinnen (n = 33)		von Rüden (n = 23)		Geschlecht unbekannt	194 humane <i>E. coli</i> -Isolate*	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%		Anzahl	%
pap C	28	50%	16	50%	11	48%	1	120	62%
pap E/F	26	46%	14	44%	11	48%	1	125	64%
sfa	31	55%	18	56%	12	52%	1	71	37%
afa 1	0	0%	0	0%	0	0%	0	17	9%
hly	26	46%	13	41%	12	52%	1	80	41%
aer	14	25%	9	28%	5	22%	0	93	48%
cnf 1	27	48%	14	44%	12	52%	1	61	31%

zellen und scheinen eine wichtige Rolle bei der Kolonisierung und Manifestation von Infektionen im oberen Harntrakt zu spielen.



P-Fimbrien sind die am häufigsten nachgewiesenen Adhärenzfaktoren human-uropathogener *E. coli*-Stämme. Sowohl beim Menschen, wie auch im Mausmodell werden sie häufig im Zusammenhang mit Pyelonephritis und Urosepsis nachgewiesen. Cystitispatienten und asymptomatische Ausscheider sind dagegen seltener betroffen. Neben ihren Bindungseigenschaften wird den P-Fimbrien außerdem eine wichtige Rolle bei der Auslösung entzündlicher Reaktionen zugeschrieben.

Kodierende Gene für S-Fimbrien-Proteine werden als S-Fimbrien adhesin-Gene (sfa) bezeichnet. P-Fimbrien-Proteine werden durch sog. Pilus associated with pyelonephritis-Gene (pap) kodiert. Bekannt sind unter anderem pap C, dessen Genprodukte Poren bilden, in denen die P-Fimbrien verankert sind, sowie pap E und pap F, die für Proteine des Adhäsinkomplexes kodieren. Weitere wichtige Virulenzmerkmale uropathogener *E. coli* sind ein Hämolysin (Hly) und der Nekrosefaktor CNF1 (cytotoxic necrotising factor). Beide Toxine werden auch von darm-pathogenen *E. coli*-Stämmen gebildet. Ihre Rolle in der Pathogenese von Urogenitalinfektionen ist noch unklar.

Das bei uropathogenen *E. coli* ebenfalls häufig anzutreffende Siderophorenprotein Aerobactin (Aer) ermöglicht den Bakterien, ihren Eisenbedarf zu sichern. Beim Menschen wird Aerobactin häufig im Zusammenhang mit Septikämien nachgewiesen (Johnson 1991, Svanborg u. Godaly 1992). Die genannten Virulenzgene konnten bei humanen UPEC-Stämmen mit folgender Häufigkeit nachgewiesen werden (Yamamoto 1995): afa 1 bei ca. 10 %, pap C, pap E/F

und sfa bei 62%, 64% bzw. 37% und hly, cnf 1 und aer bei 41 %, 31 % bzw. 48 % von 194 untersuchten *E. coli*-Stämmen.

Bei *E. coli*-Isolaten aus Harnproben von Tieren konnten diese Virulenzgene ebenfalls nachgewiesen werden. Yuri et al. (1998) wiesen pap und sfa bei jeweils 54 %, afa 1 bei 4 %, hly bei 54%, cnf 1 bei 52 % und aer bei 4% von 50 untersuchten *E. coli*-Stämmen von Hunden mit Harnwegsinfektion nach. Bei 30 *E. coli*-Stämmen von Katzen lag die Nachweishäufigkeit von pap, sfa und hly bei jeweils 60 % und von afa 1, cnf 1 und aer bei 8 %, 64 % bzw. 20 %. 31 aus Harnproben von Schweinen mit Urogenitalinfektion isolierte *E. coli*-Stämme waren zu 55 % pap-, zu 26 % hly - und zu 45 % aer-positiv (Debrito et al. 1999).

## Material und Methoden

Die untersuchten Proben stammten aus täglichen Einsendungen zur Routinediagnostik. Ausgewählt wurden 56 Urinproben von Hunden mit dem Vorbericht Harnwegsinfektion und *E. coli*-Wachstum in der kulturellen Anzucht.

Die Erregerisolierung erfolgte durch Kultivierung auf Endo-Agar (BioMerieux, Nürtingen).

Bebrütet wurde für 24 Stunden bei  $\pm 36$  °C. Zur Differenzierung der gewachsenen Keime wurden käufliche Differenzierungssysteme (API-BioMerieux, Nürtingen) verwendet. Der Nachweis von ausgewählten Virulenzgenen uropathogener *E. coli* erfolgte mittels PCR und Visi-Gel-Elektrophorese (Stratagene). Als Probenmaterial wurde die auf MacConcey-Agar subkultivierte und in Wasser für die HPLC (Sigma-Aldrich) suspendierte *E. coli*-Flora eingesetzt. Getestet wurde auf die Virulenzgene pap, afa und sfa mit den Primerpaaren pap 1-pap 2, pap 3-pap 4, afa 1-afa 2 und sfa-sfa 2, sowie auf die Virulenzgene hly, cnf und aer mit den Primerpaaren hly 1-hly 2, cnf 1-cnfn 2 und aer 1-aer 2 unter PCR-Bedingungen wie bei Le Bouguenec et al. (1992), Falbo et al. (1993), Felmler et al. (1985 a, b) und Herrero et al. (1988) beschrieben.

## Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung

Aus 56 Proben konnten 28 (50 %) *E. coli*-Bakterien mit hämolysierenden Eigenschaften isoliert werden. Bei zehn untersuchten Proben (18 %) wurden neben *E. coli* noch andere Bakterienspezies isoliert.

Virulenzgene uropathogener *E. coli* wurden insgesamt bei 46 der 56 untersuchten *E. coli*-Isolate nachgewiesen (82 %). Im Einzelnen waren die Virulenzgene mit folgender Prävalenz nachzuweisen (s. Tab. 1): Afa I konnte nicht, Pap C, pap E/F und sfa konnten bei 28,26 bzw. 31 *E. coli*-Isolaten nachgewiesen werden (50 %, 46 % bzw. 55 %). 14 Isolate waren positiv für aer (25 %), 27 für cnf 1 (48 %) und 26 für hly (46 %). 25 der 26 hly-positiven Isolate zeigten auch phänotypisch hämolysierende Eigenschaften.

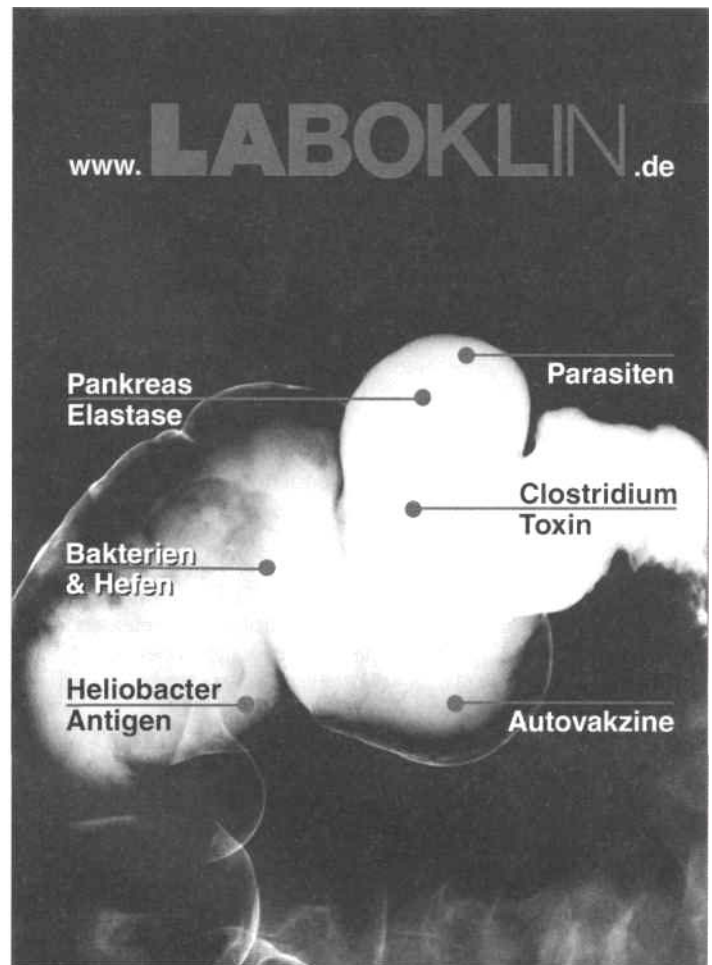
Bei 30 Isolaten (54%) konnte mehr als ein Virulenzgen nachgewiesen werden. Davon waren ein Isolat positiv für 5, 22 Isolate für 4, 4 Isolate für 3 und 3 Isolate für 2 verschiedene Virulenzgene. Signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede in der Verteilung der Virulenzgene wurden nicht beobachtet.

## Diskussion

*E. coli*-Bakterien gelten als wichtigste Erreger von Harnwegsinfektionen bei Hund und Mensch. Aus humanmedizinischen Untersuchungen sind verschiedene Virulenzgene uropathogener *E. coli* bekannt, die auch bei *E. coli*-Isolaten aus Urin und Kot von Hunden, Katzen und zum Teil auch von Schweinen nachgewiesen wurden (De Brito et al. 1999, Johnson et al. 2001, Johnson et al. 2003, Starcic et al. 2002, Yamamoto et al. 1995, Yuri et al. 1998). Nach unseren Untersuchungen kommen diese Virulenzgene bei *E. coli*-Isolaten aus Harnproben von Hunden mit Harnwegsinfektion ähnlich häufig vor, wie bei humanuropathogenen *E. coli*-Stämmen. Möglicherweise haben diese Virulenzmerkmale für den Hund ebenfalls pathogene Bedeutung. Da sie jedoch auch bei *E. coli*-Isolaten aus Kotproben von gesunden Hunden häufig vorkommen (Yamamoto et al. 1995), kann eine klinische Relevanz für den Hund zwar vermutet, aber aus den vorliegenden Ergebnissen nicht zuverlässig abgeleitet werden. Dafür spricht, dass Johnson et al. (Johnson et al. 2001) pathotypische und phylogenetische Ähnlichkeiten zwischen *E. coli*-Isolaten von harnwegsinfizierten Hunden und Menschen mit Extraintestinal-Infektionen nachweisen konnte.

Für die Routinediagnostik der Harnwegsinfektionen beim Hund bietet der Nachweis der getesteten Virulenzgene, auch unter der Prämisse klinischer Relevanz, gegenüber der kulturellen Anzucht der Keime aus folgenden Gründen keine Vorteile: Die PCR ermöglicht keine schnellere Diagnosestellung, da neben *E. coli* auch andere für eine Harnwegsinfektion ätiologisch in Frage kommende Keimarten berücksichtigt werden müssen und somit auf die Kultivierung nicht verzichtet werden kann. Hinsichtlich der Diagnosesicherheit ist die PCR der kulturellen Anzucht unterlegen, da kulturell auch *E. coli*-Stämme erfasst werden können, die keine der bekannten Virulenzmerkmale besitzen. Außerdem bietet die PCR keine Möglichkeit zwischen Infektion und Kontamination zu unterscheiden, da faecale *E. coli*-Stämme nicht selten ebenfalls Virulenzmerkmale uropathogener *E. coli* besitzen (Starcic et al. 2002).

Als Ansteckungsquelle für den Menschen haben Hunde wahrscheinlich keine große Bedeutung, da UPEC auch bei gesunden Menschen nicht selten im Stuhl nachgewiesen werden können und das Angehen einer Harnwegsinfektion wohl entscheidend von prädisponierenden Wirtsfaktoren wie Rezeptoren für Adhärenzfaktoren, Immunitätslage, Harn-pH, anatomischen Verhältnissen, Grunderkrankungen wie Harnsteinen usw. abhängig ist (14). Für Hunde gilt ähnliches (Osborne 1992), so dass beim Nachweis uropathogener *E. coli* im Kot nicht automatisch mit einer Harnwegsinfektion zu rechnen ist. Da aber zumindest die oberen ableitenden Harnwege bei gesunden Individuen normalerweise frei von bakterieller Besiedlung sind, kann beim Nachweis von *E. coli* im Harn bei Harnwegsinfektion davon ausgegangen werden, dass diese Keime klinische Relevanz besitzen, auch wenn die vom Menschen bekannten Virulenzfaktoren uropathogener *E. coli* nicht nachgewiesen werden können (Johnson et al. 2001, Johnson et al. 2003, Yuri et al. 2000).



WO ANDERE  
**AUFHÖREN,**  
 MACHT  
 LABOKLIN  
**WEITER**

**Mikrobiologie vom Feinsten.** Gründlich, schnell, zuverlässig. Mehr Parameter, mehr Kompetenz, mehr Service. Höchst ergiebige Befunde zu attraktiven Preisen.

Neugierig? Die Spezial-Info zur Darmdiagnostik gibt's per Internet oder per Post. Einfach kostenlos bestellen. Anruf oder Fax genügt.

Stellen Sie uns auf die Probe.

Prinzregentenstraße 3 · 97688 Bad Kissingen  
 Tel. 0971/72020 · Fax 0971/68546  
 E-Mail: info@laboklin.de · www.laboklin.de

## Literatur

1. AUCOIN, D. R.: Rational approaches to the treatment of first time, relapsing, and recurrent urinary tract infections. *Prob. Vet. Med.* 2,290-297 (1990).
2. BEUTIN, L.: *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet. Res.* 30,285-298 (1999).
3. DE BRITO, B. G., D. D. LEITE, R. E. C. LINHARES und M. C. VIDOTTO: Virulence-associated factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from pigs. *Vet. Microbiol.* 65,123-132 (1999).
4. FELMLEE, T., S. PELLETT und R. A. WELCH: Nucleotide sequence of an *Escherichia coli* chromosomal hemolysin. *J. Bacteriol.* 163 (1), 94-105 (1985a).
5. FELMLEE, T., S. PELETT, E. Y. LEE und R. A. WELCH: *Escherichia coli* hemolysin is released extracellularly without cleavage of a signal peptide. *J. Bacteriol.* 163 (1), 88-93 (1985b).
6. HERRERO, M., V. DE LORENZO und J. B. NEILANDS: Nucleotide sequence of the *iucD* gene of the *pcoll-K30* aerobactin operon and topology of its product studied with *phoA* and *lacZ* gene fusions. *J. Bacteriol.* 170(1), 56-64 (1988).
7. FALBO V, T. PACE, L. PICCI, E. PICCI und A. CAPPRIOLI: Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding cytotoxic necrotizing factor of *Escherichia Escherichiacoli*. *Infect. Immun.* 61 (11), 4909-14(1993).
8. JOHNSON, J. R.: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 4(1), 80-128 (1991).
9. JOHNSON, J. R., A.L. STELL, P. DELAVARI, A. C. MURRAY, M. KUSKOWSKI und W. GAASTRA: Phylogenetic and pathogenetic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infection in humans. *J. Inf. Dis.* 183,897-906 (2001).
10. JOHNSON, J. R., N. KASTER, M. A. KUSKOWSKI, und G. V. LING: Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.*, 41 (1), 337-450 (2003).
11. KESKAR D. V., V. K. PATIL, S. JAG ADISH, D. P. BHALLERAO und L. K.SHARMA: Therapeutic management of urinary tract infections in canines. *Indian. Vet. J.* 75,713-714 (1998).
12. LE BOUGUENEC, C, M. ARCHAMBAUD und A. LABIGNE: Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 30 (5), 1189-93 (1992).
13. OSBORNE, C. A.: Recurrent bacterial urinary tract infections in dogs: cause, eure, control. *Ir. Vet. News* 14, 17-22 (1992).
14. SVANBORG, C. und G. GODALY: Bacterial virulence in urinary tract infection. *Inf. Dis. Clin. N. Am.* 11 (3), 513-525 (1992).
15. STARCIC, M., J. R. JOHNSON, A. L. STELL, J. v. d. GOOT, G. HENNO, C. J. M. HENDRIKS, C. v. VORSTENBOSCH, L. v. DIJK und W. GAASTRA: Haemolytic *Escherichia coli* isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxicogenic strains: *Vet. Micr.*, 85, (4), 361-377 (2002).
16. WILSON, R. A., T. J. KEEFE, M. A. DAVIS, M. T. BROWNING und K. ONDRUSEK: Strains of *Escherichia coli* associated with urogenital disease in dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.* 49 (6), 743-746 (1988).
17. YAMAMOTO, S., A. TERAJ, K. YURI, H. KURAZONO, Y. TAKEDA und O. YOSHIDA: Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 12,85-90 (1995).
18. Yuri, K., K. NAKATA, H. KATAE, S. YAMAMOTO und A. HASEGAWA: Distribution of uropathogenic virulence factors among *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats. *J. Vet. Med. Sei.* 60 (3), 287-290 (1998).
19. YURI, K., K. NAKATA, H. KATAE, T. TSUKAMOTO und A. HASEGAWA: Serotypes and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats. *J. Vet. Med. Sei.* 61(1), 37-40 (1999).
20. YURI, K., K. NAKATA, H. KATAE und A. HASEGAWA: Pathogenicity of *Escherichia coli* from dogs with UTI in relation to urovirulence factors. *J. Vet. Med. Sei.* 62 (11), 1197-1200 (2000).

**Anschrift der Verfasser:** LABOKLIN, Labor für klinische Diagnostik GmbH & Co. KG, Prinzregentenstr.3, 97688 Bad Kissingen, E-Mail: info@laboklin.de.