

# Medizinische Mikrobiologie I: Bakterielle Harnwegentzündung

VerfasserInnen: C. Lippuner [ca\\_li75@hotmail.com](mailto:ca_li75@hotmail.com), A. Orosz [ariane.orosz@access.unizh.ch](mailto:ariane.orosz@access.unizh.ch), P. Diener [pdiener@access.unizh.ch](mailto:pdiener@access.unizh.ch), B. Schellenberg [barbara.schellenberg@bluemail.ch](mailto:barbara.schellenberg@bluemail.ch), E. Wandeler [ca\\_li75@hotmail.com](mailto:ca_li75@hotmail.com)  
Betreuer: PD Dr. H. Hächler [haechler@immv.unizh.ch](mailto:haechler@immv.unizh.ch)

## I. Einleitung

Normalerweise leben Makro- und Mikroorganismen während ihres ganzen Lebens eng miteinander zusammen, ohne sich negativ zu beeinflussen. Im Falle von Infektionen ist jedoch die natürliche, physiologische Balance zwischen Mikro- und Makroorganismen gestört, indem pathogene Bakterien normalerweise sterile Kompartimente des Körpers besiedeln, sich vervielfachen und einen schädigenden Einfluss ausüben. Hierbei ist das Pathogen, d.h. das Bakterium, in der Lage, Virulenz-Faktoren auszudrücken.

Bei solchen Faktoren handelt es sich beispielsweise um:

- i) Toxine
- ii) Faktoren für das Anheften an Oberflächen (Epithelien)
- iii) Enzyme für die Auflösung von Geweben
- iv) Endocytose fördernde oder Phagozytose verhindernde Faktoren
- v) Faktoren, die den Schutzmechanismus des Wirtes überleben, überwältigen oder gar eine Faktorkombination aus diesen 5 Gruppen.

## Harnwegentzündungen (UTIs= Urinary Tract Infections)

UTIs gehören zu den zahlreichsten Infektionserkrankungen weltweit, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer. Die Harnwege sind normalerweise steril, durch das Auswaschen der Bakterien beim Urinieren. Deshalb sind im Falle einer Infektion entweder die Harnblase oder die Nieren involviert. Interessanterweise agiert häufig *E.coli* als Pathogen, obschon es im menschlichen Darm stets vorkommt.

## Adhäsion

*E.coli* exprimiert im Falle einer Harnwegentzündung Faktoren, die der Adhäsion an das Epithel der Harnwege dienen und dadurch ein Auswaschen verhindern. Bei den Adhäsionsfaktoren handelt es sich um proteinhaltige Filamente, den Pili oder Fimbriae.

Die verschiedenen UTIs werden durch verschiedene Sorten von Pili verursacht, da diese an spezifische Rezeptoren der Epithelien im Harntrakt binden.

## II. Vorgehen

Folgende Schritte wurden vor dem Kurs durch den verantwortlichen Betreuer ausgeführt:

*Ein Tag vor dem Experiment:*

Es wurden T24 Zellen aufgetrennt, mit frischem Medium verdünnt, auf einen Objektträger mit Kammern (Chamber-Slides) zusammen mit 100µl verdünnter Zellsuspension angeimpft, dann bei 37°C inkubiert. Danach wurden die Kolonien zweimal mit 3ml Bouillon und 3-5 Kolonien der bakteriellen Rasse angeimpft und dann bei 37°C inkubiert und wachsen gelassen.

*Am Tage des Experiments:*

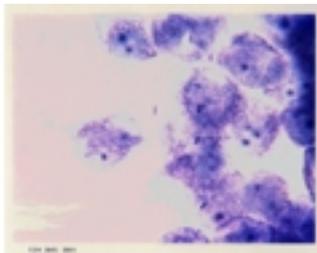
Eine Portion mit 20ml Bouillon 2xYT mit 0.5 ml der o/n Bakterienkultur angeimpft und bei 37°C für ca. 2h wachsen gelassen. Danach wurde eine Kultur mit 10µl der verdünnten Bakteriensuspension infiziert und für 2h bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> inkubiert.

### Vorgehen im Kurs:

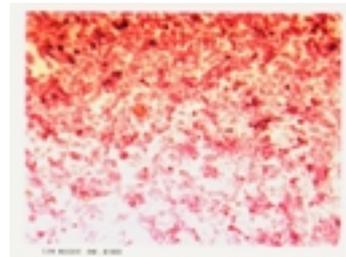
Das Medium wurde aus dem Chamber-Slide entfernt und mit PBS dreimal vorsichtig ausgewaschen. Es wurden 400 µl Methanol in jede Kammer des Chamber-Slides zugegeben und 15min bei RT fixiert. Das Methanol wurde entfernt und das Chamber-Slide 2min getrocknet. Nach 15min Färbung mit Giemsa wurden die Kammern entfernt und der Objektträger kurz und sehr vorsichtig mit Wasser gewaschen. Der Objektträger wurde unter dem Mikroskop bei 400-facher und 1000-facher Vergrößerung betrachtet.

### III. Ergebnisse

Wir haben menschliche Uro-Epithelzellen (T24) je mit *E.coli* DH5alpha oder mit *E.coli* 536 UPEC infiziert. Die Uro-Epithelzellen, die wir mit *E.coli* 536 UPEC infiziert haben, wurden weggeschwemmt, diejenigen mit *E.coli* DH5alpha jedoch nicht. Die Ablösung der Epithelzellen durch den UPEC Stamm nach >1.5h nach Infektion erfolgte aufgrund eines zweiten - neben den Haftpili - durch den UPEC-Stamm exprimierten Virulenzfaktors, des Hämolyins. Dies ist ein Protein, welches animalische Zellmembranen angreift und zur Lyse der Zellen führen kann.



*E.coli* 536 UPEC-Bakterien, die sich an Zellwänden von Uro-Epithelzellen festhalten



Uro-Epithelzellen (keine *E.coli*DH5alpha erkennbar)

### IV. Diskussion

Die *E.coli* 536 UPEC-Bakterien können Pili (Haftungsproteine) ausbilden und sind deshalb, im Gegensatz zu *E.coli* DH5alpha, welche keine solchen Pili ausbilden können, pathogen für den menschlichen Körper. Grund dafür ist, dass sie sich nicht durch Urinieren aus der Harnröhre ausschwemmen lassen und sich daher vermehren können, was zu einer Entzündung z.B. der Harnblase führen kann (Weg zur Harnblase bei den Frauen kleiner, deshalb anfälliger auf diese Erkrankung).

### V. Anhang

Kursanleitung ([http://www.microeco.unizh.ch/uni/kurs/bio3\\_02/start/framepg1.html](http://www.microeco.unizh.ch/uni/kurs/bio3_02/start/framepg1.html))

Kapitel aus Brock - Biology of Microorganisms 9. Ausgabe: 16.20, 19.4, 19.6, 19.8, 19.11

Weiterführende Links sind in der Kursanleitung zu finden

Datum: 9. Februar 2002