

# Mit Enterobacterial Common Antigen (ECA) nachweisbaren Antikörper bei Pyelonephritis im Kindesalter

Von

K. PUMP und Adele VERTÉNYI

Komitats-Kinderkrankenhaus und Mikrobiologisches Institut der Medizinischen Universität Pécs

(Eingegangen am 21. April 1978)

Im Serum von pyelonephritischen Kindern wurden mit der indirekten Hämagglutinationsmethode Antikörper gegen mit Enterobacterial Common Antigen (ECA) sensibilisierten Schaf-Erythrozyten nachgewiesen. Bei 10 gesunden Kindern fiel die Reaktion negativ aus, bei akuter Pyelonephritis war die Reaktion stets positiv. Bei chronischer Pyelonephritis zeigten die Titerwerte wesentliche Streuungen und wurden häufig als negativ qualifiziert. Unter den Bedingungen der angewendeten Methode entspricht der Wert der diagnostischen Titergrenze einer Verdünnung von 1 : 64.

Bei urogenitalen Infektionen ist die Entscheidung der Frage, ob sich die Infektion ausschließlich auf den unteren Abschnitt des Urogenitaltrakts lokalisiert oder ob es sich um eine Pyelonephritis handelt, von grundlegender Bedeutung [12]. Bei Pyelonephritis muß mit der Invasivität des Krankheitserregers und mit der Immunantwort des Organismus rechnen. Theoretisch scheint der Nachweis der spezifischen Antikörper gegen den aus dem Harn gezüchteten Krankheitserreger als die einfachste und effektivste Methode zu sein [2, 3, 5, 15], die jedoch wegen zahlreicher technischer Schwierigkeiten als Routineverfahren nicht empfohlen werden kann.

In vorliegender Arbeit wollen wir über unsere Erfahrungen mit den Antikörpern gegen das Enterobacterial Common Antigen (ECA) berichten.

## MATERIAL UND METHODIK

Unser Krankengut bestand aus 30 Kindern im Alter zwischen 2 und 14 Jahren. 10 Mädchen litten an akuter Pyelonephritis, in die Gruppe der chronischen Pyelonephritis gehörten 10 Kinder; 6 waren Mädchen und 4 Knaben.

**Bakteriologische Untersuchung:** Der Harn der Patienten wurde wiederholt auf Endo-Agar und Blutagar geimpft. In sämtlichen Fällen fand auch eine Keimzahlbestimmung aus frischem Mittelstrahlharn statt. Bei der Beurteilung der Bakteriurie wurden auch die bei niedriger Keimzahl gewonnenen Befunde berücksichtigt, vorausgesetzt, daß konsequent übereinstimmende Werte zu verzeichnen waren.

Der Wert der Sedimentation wurde bei 20 mm/St als negativ betrachtet. Die Osmolarität des Harns wurde nach 12-stündigem Dursten unter einem Wert von 950 mOsm/l und einem spez. Gewicht unter 1020 als pathologisch qualifiziert.

Die Herstellung des ECA erfolgte mit der Methode von MARX und PETCOVICI [10]. Aus dem E. coli 014 »Kunin«-Stamm

wurde in Schüttelkultur (Casein hydrolysatum) Massenzüchtung durchgeführt. Nach Zentrifugieren wurden 200 g feuchte Bakterien mit 2 000 ml 96%iger Ethanol-lösung versetzt, die Suspension bei ständigem Umrühren auf 60 °C erwärmt und Weitere 20 Minuten lang bei dieser Temperatur aufbewahrt. Es folgte ein kräftiges Zentrifugieren (13 000 g) der Suspension und die Konzentrierung des Supernatants in Vakuum bei 40 °C zu einer viskösen Flüssigkeit. Zunächst wurde die Flüssigkeit in 40 ml 85%iger Ethanol-lösung gelöst, zentrifugiert, das Supernatant mit 3 Volumen Azeton ausgefällt, zentrifugiert (6 000 g) und das Sediment in 4 ml destilliertem Wasser aufgenommen. Das auf diese Weise gewonnene Antigen wurde bei -20 °C konserviert und zur Sensibilisierung in einer Verdünnung von 1 : 10 verwendet.

Indirekte Hämagglutination: Sensibilisierung der gewaschenen Schaf-Erythrozyten bei 37 °C 2 Stunden lang, Entfernen des Antigenüberschusses durch dreimaliges Waschen mit Salzwasser; vor der Untersuchung wurden die zu untersuchenden Sera bei 56 °C 30 Minuten lang inaktiviert.

Die technische Ausführung der Hämagglutination erfolgte mit der Methode nach TAKÁTSY [14]. Kontrollhalber kam *E. coli* 014-Kaninchenserum zur Anwendung.

### ERGEBNISSE

Bei akuter Pyelonephritis ergab die mit ECA durchgeführte passive Hämagglutination in allen 10 Fällen ein positives Ergebnis, außerdem ließ sich in allen Fällen auch eine signifikante oder konsequente Bakteriurie verzeichnen; in 8 Fällen meldete sich Pyurie. Die Sedimentation ergab in sämtlichen Fällen hohe Werte, in 9 Fällen war die Konzentrationsfähigkeit eingengt. Das Ergebnis der Pyelographie viel in 5 Fällen positiv

aus. Die mit ECA durchgeführte passive Hämagglutination war bei 4 chronischen Pyelonephritisfällen positiv; signifikante oder konsequente Bakteriurie meldete sich in 6 Fällen und Pyurie ebenfalls in 6 Fällen. Eine positive Sedimentation ließ sich in 4 Fällen registrieren. Die Konzentrationsfähigkeit war in sämtlichen Fällen eingengt. Das Ergebnis der Pyelographie fiel in sämtlichen Fällen positiv aus. Für die akute Pyelonephritis war in 9 Fällen *E. coli* verantwortlich. *E. coli*-Keimzahl: 10<sup>4</sup>/ml Harn: 4 Fälle; 10<sup>3</sup>/ml Harn: 2 Fälle; 10<sup>1</sup>/ml Harn, 1 Fall. In einem Fall handelte es sich um eine doppelte Infektion: Keimzahl: *E. coli* 10<sup>3</sup> bzw. *Proteus* 10<sup>4</sup>. In 4 Fällen gesellte sich zur chronischen Pyelonephritis eine *E. coli*-Bakteriurie, Keimzahl: 10<sup>2</sup>/ml Harn 2 Fälle, 10<sup>3</sup>/ml Harn 2 Fälle, 10<sup>5</sup>/ml Harn 1 Fall. In einem Fall lag eine *Proteus*-Bakteriurie vor [Keimzahl: 10<sup>4</sup>/ml Harn]. Bei der in einem weiteren Fall beobachteten doppelten Infektion zeigten die Keimzahlwerte folgendes: 10<sup>1</sup>/ml Harn *E. coli* und *Proteus*. In 4 Fällen war die Harnkultur steril. Bei akuter Pyelonephritis waren in sämtlichen Fällen Titerwerte von 1 : 64 bis 1 : 1 : 1024 zu beobachten. Bei chronischer Pyelonephritis zeigten die Titerwerte bedeutende Streuungen, von 1 : 2 bis 1 : 512.

### BESPRECHUNG

Die Erfahrungen sprechen dafür, daß das Erscheinen der Antikörper ein sicheres und brauchbares Zeichen

der Mikrobeninvasion ist. In unseren früheren Beobachtungen erwies sich der Nachweis der spezifischen Antikörper gegen den Krankheitserreger als ein brauchbares Mittel [15]. Über ähnliche Erfahrungen berichteten mehrere Verfasser [1, 4, 5, 9, 11, 17]. Bei gemischten Infektionen müssen sämtliche Mikrobenspezies bzw. Klons als Antigene verwendet werden.

Individuell kann jedes Serum nur mit einem homologen Antigen getestet werden. Bei chronischer Pyelonephritis ist die Untersuchung der Antigenstruktur unerlässlich, da bei einer Exazerbation die Bestimmung des Krankheitserregers unbedingt erforderlich ist [15].

Das sog. Common-Antigen der enteralen Bakterien bietet neue und

TABELLE I

Mit ECA-Antigen sensibilisierten Erythrozyten durchgeführter Hämagglutinationstest bei akuter und chronischer Pyelonephritis und bei gesunden Kontrollpersonen

Gruppe	Reziproke Titerwerte									
	nicht als positiv bewertbar					Positive Werte				
	2	4	8	12	32	64	128	256	512	1024
Akute Pyelonephritis	—	—	—	—	—	2	6	—	—	2
Chronische Pyelonephritis	1	—	3	—	2	1	2	—	1	—
Normale Kontrollpersonen	1	1	1	4	3	—	—	—	—	—

TABELLE II

Vergleich der Werte der ECA-Hämagglutination sowie der sich auf Bakteriurie und klinische Laboratoriumsdaten beziehenden Ergebnisse

Untersuchung	Akute Pyelonephritis	Chronische Pyelonephritis
Reziproke ECA-Hämagglutinationswerte	64—1024 ( $\bar{x}$ = 294.4)	2—512 ( $\bar{x}$ = 208.0) <sup>1</sup>
Bakteriurie <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup> —10 <sup>4</sup> [10/10]	10 <sup>1</sup> —10 <sup>5</sup> [6/10]
Pyurie <sup>3</sup>	8/10	6/10
Sedimentation <sup>4</sup>	10/10	4/10
Konzentrierung <sup>5</sup>	9/10	10/10
Pyelographie <sup>6</sup>	5/10	10/10

1 = Durchschnittswert anhand der in das positive Bereich fallenden Titerwerte; 2 = die Bakteriurie wurde auch bei niedriger Keimzahl (10<sup>1</sup>) als positiv betrachtet, vorausgesetzt, daß sich diese Befunde konsequent meldeten; 3 = Zahl der Fälle mit über 5 Leukozyten pro Sichtfeld im ganzen Material; 4 = Zahl der Fälle mit über 20 mm/St. BKS im ganzen Material; 5 = Zahl der Fälle mit einem spez. Gewicht unter 1020 bzw. einem mOsm Wert unter 950 im ganzen Material; 6 = Zahl der pyelographisch positiven Fälle im ganzen Material.

wesentlich einfachere Möglichkeiten. Es ist seit langem bekannt, daß dieses Antigen in sämtlichen zu den Enterobacteriaceae gehörenden Mikroben vorgefunden [8] und durch Ethanolfraktionierung getrennt werden kann [13]. Die ECA-Antikörper lassen sich auch im normalen Humanserum nachweisen — allerdings ergeben sie nur niedrige Titerwerte [8]. Der Nachweis der Anti-ECA-Antikörper gelang nicht nur bei urogenitalen Infektionen, sondern auch bei Darminfektionen. WHANG und NETTER [16] fanden, daß die Anti-ECA-Titerwerte in Normalseren maximal 1 : 40 ausmachten; in 5 der 6 Fälle von chronischer urogenitaler Infektion registrierten sie Titerwerte zwischen 1 : 80 und 1 : 320. Nach ANDERSON [1] ließen sich bei akuten Harnwegsinfektionen bedeutende Streuungen, d. h. Titerwerte zwischen 1 : 8 und 1 : 512 verzeichnen.

Im Laufe der vorliegenden Untersuchungen fanden wir bei gesunden Probanden verhältnismäßig niedrige Titerwerte, indem der Maximalwert 1 : 32 ausmachte. Bei akuter Pyelonephritis konnten indessen stets positiv bewertbare hohe Titer demonstriert werden. Für das zuverlässigste und konsequenteste Zeichen der akuten Pyelonephritis erwies sich in unseren Fällen der Anti-ECA-Wert. Die bei chronischer Pyelonephritis häufig vorkommenden Remissionen und Exazerbationen sind mit Bakteriurie und erhöhtem Anti-ECA-Titer verbunden. Mit der indirekten Hämagglutinationstechnik konnten wir ausschließlich in die IgM-Gruppe gehö-

rende, d. h. über eine kurze Halbwertszeit verfügende Antikörper nachweisen. Bei chronischer Pyelonephritis werden durch den Mangel an Antikörpern keine diagnostischen Probleme verursacht, zumal in Kenntnis der wesentlichen Schädigung der Nierenfunktion und der röntgenmorphologischen Daten die Diagnose eindeutig ist. Unseres Erachtens bietet der Nachweis der ECA-Antikörper mit der indirekten Hämagglutinationstechnik zur Diagnostizierung der akuten Pyelonephritis eine nicht zu unterschätzende Hilfe.

Herrn Prof. Dr. K. JOBST wollen wir für seine Hilfe bei der Bestimmung der Harnosmolarität unseren herzlichen Dank zukommen lassen.

#### LITERATUR

1. ANDERSEN, H. J., HANSON, L. A., LINKOLN, K., ØRSKOV, I., ØRSKOV, F., WINBERG, J.: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. IV. Relationship of the coli antibody titre to clinical picture and to serological type of the infecting *Escherichia coli* in acute uncomplicated urinary tract infection. *Acta paediat. scand.* **54**, 247 (1965).
2. ANDERSEN, H. J.: Studies of urinary tract infection in infancy and childhood. VII. The relation of *E. coli* antibodies in pyelonephritis as measured by homologous and common (Kunitz) antigens. *J. Pediat.* **68**, 542 (1966).
3. ANDERSEN, H. J.: Clinical studies on the antibody response to *E. coli* O-antigens in infants and children with urinary infection, using a passive haemagglutination technique. *Acta paediat. scand. Suppl.* **180** (1968).
4. HANSON, L. A., HOLMGREN, J., JODAL, U., WINBERG, J.: Precipitating antibodies to *E. coli* antigens: A suggested difference in the antibody response of children with first and recurrent at-

- tacks of pyelonephritis. *Acta paediat. scand.* **58**, 506 (1969).
5. HAND, W. L., SMITH, J. W., MILLER, T. E., BARNETT, J. A., SANFORD, J. P.: Immunoglobulin synthesis in lower urinary tract infection. *J. Lab. clin. Med.* **75**, 19 (1970).
  6. HOLMGREN, J., SMITH, J. W.: Immunological aspects of urinary tract infections. *Progr. Allergy.* **18**, 289 (1975).
  7. JONES, S., JOHNSON, J.: Further evaluation of the test for detection of antibody-coated bacteria in urine sediment. *J. clin. Microbiol.* **5**, 510 (1977).
  8. KUNIN, C. M., BEARD, M. V.: Serological studies of O antigens of *Escherichia coli* by means of the hemagglutination test. *J. Bact.* **85**, 541 (1963).
  9. MÄKELÄ, P. H., MAYER, H.: Enterobacterial Common Antigen. *Bact. Rev.* **40**, 591 (1976).
  10. MARX, A., PETCOVICI, M.: Immunochemical Studies on purified Enterobacterial Antigen (Kunin). *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.* **233**, 486 (1975).
  11. NEEDEL, M. H., NETER, E., STAUBITZ, W. J., BINGHAM, W. A.: The antibody (hemagglutinin) response of patients with infection of the urinary tract. *J. Urol. (Baltimore)* **74**, 674 (1955).
  12. KEITH, N. DRUMMOND: Infection of the Urinary Tract. In: *Nelson Textbook of Pediatrics* 10th ed. Eds V. C. Vaughan R. J. McKay. W. B. Saunders Company. Philadelphia 1975. p. 1238.
  13. SUZUKI, T. T., GORZYNSKI, E. A., NETER, E.: Separation by ethanol by the common and somatic antigens of Enterobacteriaceae. *J. Bact.* **88**, 1240 (1964).
  14. TAKÁTSY, GY.: The use of spiral loops in serological and virological micro-methods. *Acta microbiol. Acad. Sci. hung.* **3**, 191 (1956).
  15. VÖRÖS, S., PUMP, K.: Bacteriological diagnosis of urinary infections in children. Importance of the antigenic analysis of strains. *Ann. immunol. hung.* **7**, 325 (1966).
  16. WHANG, H. Y., NETER, E.: Study of heterogenetic (Kunin) antibodies in serum of healthy subjects and children with enteric and urinary tract infections. *J. Pediat.* **63**, 412 (1963).
  17. WINBERG, J., ANDERSEN, H. J., HANSON, L. A., LINKOLN, K.: Studies of urinary tract infection in infancy and childhood. 1. Antibody response in different types of urinary tract infections caused by coliform bacteria. *Brit. med. J.* **2**, 524 (1963).

Dr. K. PUMP  
Gyermekkorház  
H-7601 Pécs  
Nyár u. 8. Hungary