

尿路結石症における結石内細菌についての検討

国立大阪病院泌尿器科 (医長: 高羽 津)

岡 聖次, 原 恒男, 三宅 修

細見 昌弘*, 松宮 清美, 高羽 津

国立大阪病院臨床検査科 (部長: 船橋修之)

田 中 美智男, 船 橋 修 之

国立大阪病院臨床研究部 (部長: 池上信子)

豊 増 俊 行, 木 村 通 郎

A STUDY ON BACTERIA WITHIN STONES IN UROLITHIASIS

Toshitsugu OKA, Tsuneo HARA, Osamu MIYAKE,
Masahiro HOSOMI, Kiyomi MATSUMIYA and Minato TAKAHA

From the Department of Urology, Osaka National Hospital

Michio TANAKA and Shuji FUNAHASHI

From the Department of Clinical Laboratory, Osaka National Hospital

Toshiyuki TOYOMASU and Michio KIMURA

From the Institute of Clinical Research, Osaka National Hospital

The bacteria in 37 stones obtained from 37 patients with urinary stone diseases, that is, 11 renal stones (containing 2 staghorn calculi), 21 ureteral stones, 4 bladder stones and 1 urethral stone, were studied, according to the Nemoy & Stamey's method. The stones were collected by partial nephrectomy (1 case), nephrolithotomy (1 case), pyelolithotomy (1 case), percutaneous nephrolithotripsy (PNL) (6 cases), 12 ureterolithotomies, transurethral ureterolithotripsy (2 cases), cystolithotripsies (4 cases) and spontaneous deliveries (10 cases). According to a stone analysis by infrared spectrophotometer revealed 30 were noninfection stones (81.1%) and 7 infection stones (18.9%). Of these 37 stones, 5 stones (13.5% of 37 stones) had bacteria within them. These stones consisted of 4 infection stones (57.1% of all infection stones) and 1 noninfection stone (3.3% of all noninfection stones). Out of 4 patients having bacteria within their stones, urine culture of whom were carried out before stones were collected, only one patient (25%) had the same species of bacterium (*E. coli*) both within the stone and in urine. The *E. coli* within the stone and that in urine, however, showed quite different reactions to some antibiotics.

The fact that all organisms within stones cannot be detected by urine culture before collecting stones of the patients in our present study, suggests that patients undergoing endourological surgery, such as extracorporeal shock wave lithotripsy and PNL, may have a risk of complications, such as severe urinary tract infection and urosepsis, if the possibility of the presence of organisms within stones is not taken into consideration.

(Acta Urol. Jpn. 35: 1469-1474, 1989)

Key words: Urinary stone, Bacterium

緒 言

近年の尿路結石症に対する外科的治療法は急速な進展を遂げ、その変貌の中心は、従来の腎、腎盂、尿管

* 現: 大阪府立病院泌尿器科

切石術といった結石をそのままの形で尿路から除去する切石術から、体外衝撃波による腎尿管結石破碎術 (extracorporeal shock wave lithotripsy: ESWL) や経皮的腎・尿管碎石術 (percutaneous nephrolithotripsy: PNL), 経尿道的尿管碎石術 (transurethral ureterolithotripsy: TUL) といった、結石を尿路内で破碎してから除去する碎石術へと移行し、従来はそれほど問題とならなかった結石内細菌の有無が、術中・術後感染や結石の再発に大きな影響を及ぼすことが予想される。そこでわれわれは、種々の尿路結石症における結石内細菌についての検索を行い、若干の知見をえたのでここに報告する。

対象と方法

1987年8月から1988年6月までの11ヵ月間に国立大阪病院泌尿器科において、手術あるいは自然排石でえられた尿路結石症患者37名37個の尿路結石について、結石成分の分析を赤外分光分析で行うとともに、結石内細菌の有無の検索を行った。結石内細菌の有無は Nemoy and Stamey¹⁾の方法に準じて検索した。すなわち、採取した結石を無菌の生理的食塩水で3回洗浄し、各洗浄液を培養後結石を crush し、crush 後の洗浄液の培養が、crush 直前(3回目)の洗浄液の培養より細菌の濃度が増加している場合を、結石内細菌陽性とした。なお Nemoy and Stamey らは4回洗浄としているが、今回の検討では3回目の洗浄液がほとんど無菌となっていたため3回のみとした。その結果、細菌ありと判定した結石については、細菌の同定や抗生剤の感受性テストの他、走査電子顕微鏡 (scanning electron microscopy: SEM; 日本電子社製 SJM. T200) により、結石内における細菌の形態や存在部位の検索を行った。

37名の内訳は男子24名、女子13名で、年齢は22歳から87歳、平均年齢は48.5歳であった。37個の結石の存

在部位は腎内11例(珊瑚状結石2例)、尿管内21例、膀胱内4例、尿道内1例であり、結石の採取方法は腎部分切除術1例、腎切石術1例、腎盂切石術1例、PNL 6例、尿管切石術12例、TUL 2例、膀胱碎石術4例(尿道結石の1例を含む)および自然排石10例であった。なお PNL や TUL, 膀胱碎石術により採取された結石については、砂状のものは捨て、破碎を行うことなく摘出できたものか、あるいは破碎しても元の形状をある程度有したまま一塊として摘出できたものについてのみ検索した。

結 果

赤外分光分析による37例37個の結石成分の内訳は、尿酸カルシウム (CaOX) 7例、磷酸カルシウム (CaP) 2例、CaOX と CaP の混合結石が18例、磷酸マグネシウムアンモニウム (MAP) や carbonate apatite を含むいわゆる感染結石 (infection stones) が6例、尿酸2例、シスチン1例および感染結石と考えられる脂肪酸カルシウムの軟結石が1例であった (Table 1)。すなわち、urea-splitting organism により形成されると考えられている、いわゆる感染結石は7例 (18.9%)、非感染結石は30例 (81.1%) であった。このうち結石内細菌は5例 (全症例の13.5%) で6株認められた。その内訳は Table 2 のごとくで、症例5の脂肪酸カルシウムからなる膀胱結

Table 1. Composition of 37 urinary stones

Noninfection Stones	30 cases
Calcium oxalate	7
Calcium oxalate + Calcium phosphate	18
Calcium phosphate	2
Uric acid	2
Cystine	1
Infection Stones	7 cases
MAP and/or Carbonate apatite	6
Calcium-fatty acid	1

Table 2. Organisms within stones and in urine before collecting stones

Case	Site	Stone Component	Organisms	
			Stone Culture	Urine Culture
5	bladder	Calcium-fatty acid	Enterococcus faecalis	not done
8	ureter	MAP	Proteus mirabilis	negative
14	ureter	CaP + Carbonate apatite	Klebsiella pneumoniae	Enterococcus faecalis
16	kidney	MAP + Carbonate apatite	Proteus mirabilis, E. coli	E. coli
19	bladder	Uric acid	Acinetobacter calcoaceticus	negative

石で *Enterococcus faecalis* が, 症例 8 の MAP からなる尿管結石で *Proteus mirabilis* が, 症例 14 の CaP と carbonate apatite からなる尿管結石で *Klebsiella pneumoniae* が, 症例 16 の MAP と carbonate apatite からなる珊瑚状結石で *Proteus mirabilis* と *Escherichia coli* (*E. coli*) が, 症例 19 の尿酸からなる膀胱結石で *Acinetobacter calcoaceticus* が認められた. これら 5 例中 4 例で結石採取前の尿細菌培養検査がなされており, そのうち陽性は 2 例 (50%) 2 株のみで, かつ結石内細菌と同一菌種が陽性を示したのは症例 16 の *E. coli* の 1 例 (25%) のみであった. さらに, この同一菌種陽性症例では, 同じ *E. coli* であっても, 尿中と結石内とでは, 一部のセフェム系抗生剤 (CEZ および CMZ) に対し, お互い全く相反する感受性テストの結果を示した (Table 3).

Table 3. 尿中細菌と結石内細菌に対する抗生剤感受性テスト (Case 16. 34y.o. F.)

	テ ス ト 薬 剤											
	ABPC	CCL	CEZ	CMZ	AMK	CMX	TOB	MINO	FOM	PPA	AZT	
採取前尿培養 <i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	—	S	S	I	R	S	
結石内細菌 <i>E. coli</i>	R	—	S	S	S	S	S	S	I	I	—	
<i>Proteus mirabilis</i>	S	—	S	S	S	S	S	I	I	S	—	

S: susceptible, I: intermediate, R: resistant

今回の検討対象では, 細菌ありと判定された結石内の細菌数は, 全例 10^4 CFU/ml 未満と比較的低濃度であったため, SEM では同定された菌は Fig. 1 A のごとくに, 孤立した像として認められるのがほとんどであったが, 一部には Fig. 1B のごとくに, 桿菌の小さな集落が鋳型として認められるものも存在していた.

考 察

1970 年代から 1980 年代始めにかけての PNL や ESWL の導入は, 尿路結石症に対する外科的治療において革命的な変革をもたらしたが, 一方では, これらの新しい治療法の基本が, 結石を尿路内で破砕してから尿路外に除去するという碎石術にあることにより, 尿路結石症の手術適応や合併症で, 従来行われてきた, 結石をそのままの形で取り出す切石術とは異なる新たな問題点が発生し, とくに感染結石に対する治療が大きな問題として捕らえられるようになってきた. PNL での熱発や敗血症が比較的高頻度に見られることや²⁻⁴⁾, ESWL 治療開始時は感染結石は禁忌と

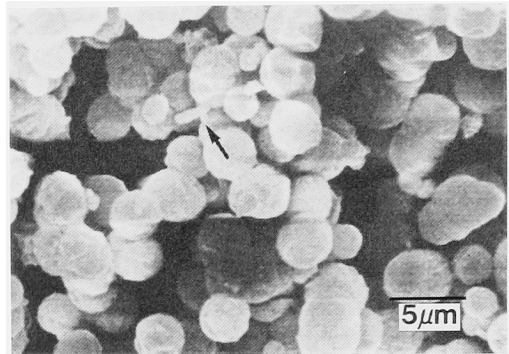


Fig. 1A. Scanning electron micrograph of case 16: a solitary bacillus in apatite crystals was observed.

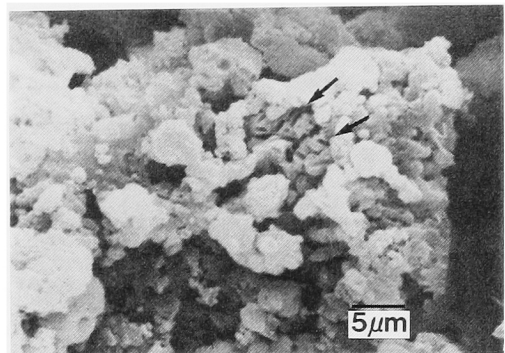


Fig. 1B. Scanning electron micrograph of case 8: some bacterial foot-prints, seemed to be *Proteus mirabilis*, were observed.

されていたこと⁵⁾などはこのことを物語っている. しかし最近では, 各症例に応じて PNL や ESWL などの endourological な方法を組み合わせ, かつ, とくに術前の尿細菌培養検査の結果を参考とした抗菌剤の予防投与などを旨く行えば, それ程の危険なく, 感染結石に対しても endourological な方法のみで治療可能であるとする報告が増加し^{2,6-10)}, 今日では感染結石に対しても積極的にこれらの治療法が行われるようになってきた. しかしながら, 諸家の報告^{4,11-14)}と同様, 今回のわれわれの検討でも, 術前の尿細菌培養検査の結果が必ずしも結石内細菌を反映しておらず, かつ症例 16 においては, 尿中と結石内とで同一菌種 (*E. coli*) が同定されたが, 一部の抗生剤 (CEZ および CMZ) に対する感受性テストの結果がお互いまったく相反していたことは, 術前の尿細菌培養検査のみに頼ることは危険であることを示している. この同一菌種陽性症例 (症例 16) は, 3 年来急性腎盂腎炎を繰り返し, 膿尿が持続していたため, 他院で長期にわたり抗菌剤投与がなされ, *E. coli* → *Proteus mirabilis* → *Klebsiella pneumoniae* へと菌交代を起こした

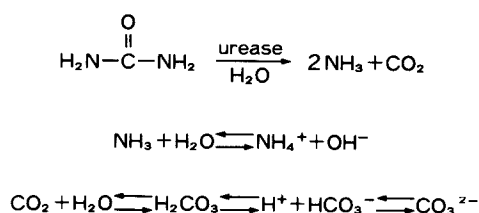


Fig. 2. Hydrolysis of urea in urine under the influence of bacterial urease

既往が知られており、結石内の *E. coli* は初期の感染菌が結石内に隠れ住んだものであり、尿中の *E. coli* は一部の抗菌剤に対する耐性を有して新たな感染をきたしたものであると推測される。このように結石内に細菌が一旦入り込むと抗菌剤治療が無効となることや、膿尿を有する尿路結石症患者に長期の抗菌剤投与を行うと、尿中細菌が耐性を保持し易くなることは諸家の述べているところである^{1,7,13-17)}。

細菌が結石形成を引き起こす機序としては、従来より、細菌の urease activity により尿中の urea が Fig. 2 のごとき反応にしたがって加水分解され、尿がアルカリ化されることが最も重要なことであるとされている。すなわち、正常の尿中では溶解度以下の状態にある MAP が、尿のアルカリ化により過飽和の状態となって晶質化されることが、無菌尿では hydroxyapatite が形成されるが、urease activity を有する細菌の存在下では、高濃度の carbonate イオンと高 pH のため CaP の溶解度が変化し、carbonate apatite の晶質化が起こることなどが考えられている^{18,19)}。さらに最近では、urease によるアンモニアの局所的な濃度の増加が、細菌周囲のアルカリ性や浸透圧を高めることにより、正常では防御されている urothelial mucopolysaccharide 層を傷害し、この傷害された urothelium に、尿中の glycosaminoglycans や mucoprotein が沈澱し、これらが接着剤となって細菌を urothelium に接合させ、さらに、この urothelium と接合した細菌が分泌する exopolysaccharide により作り出されると考えられている glyco-calyx や matrix が陰イオンに charge していることも手伝って、陽イオンであるマグネシウムやカルシウムを引き寄せ、MAP や apatite crystal を沈着させることにより結石形成が引き起こされると考えられている^{16,17,20,21)}。結石内細菌が抗菌剤からの攻撃を逃れる機序としては、Nickel¹⁶⁾ らが電子顕微鏡的観察により述べている、感染結石の表面に認められる厚い bacterial biofilm の働きが重要視されているが、これは前述の細菌が分泌する exopolysaccharide によ

り作り出される glyco-calyx や matrix などから成ると考えられている。この bacterial biofilm が、抗菌剤の攻撃に対し、防波堤のごとくに細菌の身を守る役を果たしながら、細菌を結石の interstice 内に封じ込め存続させる働きをしていると考えられているが²²⁾、この bacterial biofilm を破壊したり、透過したりする抗菌剤は現在までのところ製造されておらず、その開発が望まれるところである。

大きな結石に対する PNL や ESWL 施行時に尿路感染や発熱の合併頻度が高いことや^{3,4)}、ESWL 施行時に尿路内圧の上昇の他、破碎された微小結石が urothelium の粘膜に突き刺さることなどにより肉眼的血尿が普通にみられることなどは、これらの操作時に urothelium の傷害が広範囲に起こっていることを物語っており、前述の感染結石の形成機序より、これらの操作が結石の再発を引き起こし易い条件を整えている危険性もあり、endourological な新しい治療法による感染結石の再発率などについても、今後注意深い観察が必要と思われる。

今回の検討では結石内細菌ありと判定された5例中4例は urease 産生菌によると考えられる、いわゆる感染結石であり（全感染結石の57.1%）、結石形成後の二次感染によると考えられるのは、尿酸を成分とした膀胱結石（症例19）の1例のみ（全非感染結石の3.3%）であった。これは Thompson & Stamey²³⁾ が感染結石の77%で結石内細菌陽性であったとする報告や、Lewi ら¹¹⁾ の MAP 結石の82.5%、CaOX 結石の22%、西村ら⁴⁾ が MAP 結石の80%、CaOX 結石の28.6%、CaP 結石の66.7%で結石内細菌陽性であったとする報告などに比べ低頻度であるが、今回の検討症例には PNL や TUL 症例も多く含まれ、かつ結石内細菌検査に供した結石試料が摘出結石の一部でしかなかったことなどが原因と考えられる。

今回のわれわれの検討対象症例では、結石内細菌陽性症例の細菌濃度は比較的良かったことより、これらの菌はたとえ尿路に放出されても直ちに排泄されれば、その菌が尿路感染を引き起こすとは考え難く、事実われわれは、今回の対象症例では、術後感染による重篤な合併症を経験しなかった。Madsen ら¹⁰⁾ の言を引用するまでもなく、PNL や ESWL などで結石を除去するときに、尿路内で結石を crush すれば、結石内細菌が尿路に放出されるために術中・術後の尿路感染や敗血症などの合併頻度は増すと考えられるが、今日までのところ幸いにも、これらの合併症について、それ程高頻度の報告はなされていない^{2,6,8,10)}。しかし、富永ら⁸⁾ の報告でも示されているごとく、尿

路の通過障害や ESWL 時の, いわゆる Stein StraÙe による尿管閉塞などにより, 結石破砕後も放出菌が長期滞在すれば, 尿路感染や敗血症, あるいは新たな結石形成の起炎菌となりえるものと考えられる。

今日では PNL に加え ESWL もわが国において保険医療化されることにより, 今後はわが国のほとんどの基幹病院で ESWL の治療装置が導入され, 感染結石に対してもその適応症例が拡大されることが予想されるが, 今回われわれの検討結果は, これらの新しい治療法の施行に際しては, 術前の尿細菌培養検査のみに頼ることなく, 術中, 術後も適時尿細菌培養検査を行い, 結石内細菌に対する処置についても考慮しなければ, 結石内細菌による重篤な合併症を引き起こす危険性があることを示唆しているものと思われる。

結 語

1) 1987年8月から1988年6月までの11ヵ月間に37名の患者から手術あるいは自然排石で得られた37個の尿路結石について, 結石内細菌の有無を検索した。

2) 結石内細菌陽性は5例(全症例の13.5%)で認められたが, うち4例は感染結石(感染結石の57.1%)であり, 非感染結石は1例(非感染結石の3.3%)のみであった。

3) 結石採取前の尿細菌培養検査で, 結石内細菌と同一菌種が同定されたのは1例のみであり, かつこの症例(症例16)では, その同一菌種(*E. coli*)に対し, 一部の抗生剤(CEZ および CMZ)の感受性テストの結果が, 尿中と結石内とではまったく相反していた。これらの事実は, とくに ESWL や PNL などにおける, 術中・術後の尿路感染や敗血症に対する予防や治療を考える際には, 術前の尿細菌培養検査の結果のみに頼ることなく, 結石破砕後も適時尿細菌培養検査を行い, 結石内細菌に対する処置についても考慮する必要があることを示唆しているものと思われる。

本論文の要旨は, 第38回日本泌尿器科学会中部連合総会(和歌山市)において発表した。

文 献

- 1) Nemoy NJ and Stamey TA: Surgical, bacteriological and biochemical management of infection stones. *JAMA* 215: 1470-1476, 1971
- 2) Krieger JN, Rudd TG and Mayo ME: Current treatment of infection stones in high risk patients. *J Urol* 132: 874-877, 1984
- 3) 竹内秀雄, 上田 眞, 野々村光生, 飛田収一, 大

石賢二, 東 義人, 岡田裕作, 川村寿一, 吉田修: 経皮的腎砕石術(PNL)および経尿道的尿管砕石術(TUL)にみられる発熱について. *泌尿紀要* 33: 1357-1363, 1987

- 4) 西村泰司, 川村直樹, 坪井成美, 原 眞, 阿部裕行, 秋元成太: 経皮的腎切石術における結石内細菌と術後の尿路感染との関係について. *日泌尿会誌* 79: 283-286, 1988
- 5) Schmiedt E and Chaussy C: Extracorporeal shock-wave lithotripsy of kidney and ureteric stones. *Urol Int* 39: 193-198, 1984
- 6) Rassweiler J, Gumpinger R, Miller K, Holzermann F and Eisenberger F: Multimodal treatment (extracorporeal shock wave lithotripsy and endourology) of complicated renal stone disease. *Eur Urol* 12: 294-304, 1986
- 7) Shortliffe LMD and Spigelman SS: Infection stones; evaluation and management. *Urol Clin North Am* 13: 717-726, 1986
- 8) 富永登志, 富田京一, 柴本賢秀, 木村 明, 原徹, 東原英二, 岸 洋一, 梅田 隆, 岩動孝一郎, 新島端夫: 体外衝撃波腎砕石術の術後尿路感染症についての検討. *日泌尿会誌* 78: 1240-1245, 1987
- 9) Krieger JN, Rudd TG and Mayo ME: Infection stones in patients with myelomeningocele and ileal conduit urinary tract diversion. *Arch Phys Med Rehabil* 66: 360-364, 1985
- 10) Madsen PO, Larsen EH and Dorflinger T: Infectious complications after instrumentation of urinary tract. *Urology* 24: Suppl 15-17, 1985
- 11) Lewi HJE, White A, Hutchinson AG and Scott R: The bacteriology of the urine and renal calculi. *Urol Res* 12: 107-109, 1984
- 12) Fowler JE: Bacteriology of branched renal calculi and accompanying urinary tract infection. *J Urol* 131: 213-215, 1984
- 13) Shortliffe LMD, McNeal JE, Wehner N and Stamey TA: Persistent urinary infections in a young woman with bilateral renal stones. *J Urol* 131: 1147-1151, 1984
- 14) Hirano S, Ohkawa M and Hisazumi H: Scanning electron microscopic examinations of renal stones associated with urinary infections. *Jpn J Nephrol* 29: 293-300, 1987
- 15) Takeuchi H, Takayama H, Konishi T and Tomoyasu T: Scanning electron microscopy detects bacteria within infection stones. *J Urol* 132: 67-69, 1984
- 16) Nickel JC, Reid G, Bruce AW and Costerton JW: Ultrastructural microbiology of infected urinary stone. *Urology* 28: 512-515, 1986
- 17) Griffith DP and Osborne CA: Infection

- (urease) stones. *Mineral Elestrolyte Metab* 133: 278-285, 1987
- 18) Griffith DP: Struvite stones. *Kidney Int* 13: 372-382, 1978
- 19) Holmgren K: Urinary calculi and urinary tract infection; a clinical and microbiological study. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 98: 1-71, 1986
- 20) Stagmayr B and Stegmayr B: Crystal formation induced by uropathologic bacteria. *Scand J Urol Nephrol* 17: 197-203, 1983
- 21) Mclean RJC, Nickel C, Noakes VC and Costerton JW: An in vitro ultrastructural study of infectious kidney stone genesis. *Infect Immun* 49: 805-811, 1985
- 22) Thompson RG and Stamey TA: Bacteriology of infected stone. *Urology* 1: 627-631, 1973

(1988年12月20日受付)