

尿中細菌簡易定量法 BACTURCULT の検討

金沢大学医学部泌尿器科学教室（主任：黒田恭一教授）

大	川	光	央
平	野	章	治
中	下	英	之助
宮	崎	公	臣
黒	田	恭	一

A CLINICAL INVESTIGATION ON DIAGNOSTIC
URINE CULTURE TUBE "BACTURCULT"Mitsuo OHKAWA, Shoji HIRANO, Einosuke NAKASHITA,
Kimio Miyazaki and Kyoichi KURODA*From the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University
(Director: Prof. K. Kuroda, M. D.)*

BACTURCULT is a sterile disposable plastic tube coated on the inner surface with a special nutrient indicator-culture medium. It provides a visible bacterial count for detection of clinically significant bacteriuria quantitatively, and a presumptive identification of causative organism by color change.

Studies with BACTURCULT have been carried out in 111 fresh urine specimens from 103 patients of urinary tract infection. Evaluation of urines with BACTURCULT compared to the standard plate technique showed that the correlation for clinically significant counts was 88.3% and 63.9% for presumptive bacterial identification.

は じ め に

尿路感染症は泌尿器科領域における最も重要な疾患の一つである。今日その治療は、まず尿中より起炎菌を分離同定し、さらに薬剤感受性試験を施行して薬剤を選択することが原則とされている。また起炎菌の決定に際して菌数定量は不可欠のものである。しかし分離培養、同定培養さらに薬剤感受性検査などルーチンに実施できるのは、ある程度充実した設備をもつ施設以外では困難なことが多い。そのため現在まで数多くの簡易法が紹介されてきているが、いまだ満足すべき方法がないのが現状である。今回われわれは杏林製薬より Wampole Laboratories 製簡易尿路感染症診断用培地 BACTURCULT を提供され、試用する機会を得たのでその成績を報告する。

試験方法および判定

1) BACTURCULT

本品はプラスチック製の内径 21.0 mm、長さ 58.0 mm の一方の先端が半円形砲弾状で、内面に Table 1 のごとく処方された固形培地が薄く塗布してあり、さらにネジ込みキャップで内部が気密かつ無菌的に保持されている。培地は使用前は pH 7.2 に調整されているのでオレンジ～褐赤色の色調を呈している (Fig. 1, 中央)。

2) 操作法

被検尿（原則として男子は中間尿、女子は導尿による）を清潔な無菌容器に採り、外来検尿室で BACTURCULT tube のキャップをはずし 8～9 分目になるまで被検尿を tube 内に注ぎ込み 5～6 秒揺盪したのち捨てて、直ちにキャップを完全に気密になるよう



Fig. 1

Table 1.

培地の組成

Peptone	20.0
Lactose	10.0
Urea	5.0
Sodium chloride	2.5
Agar (Davis)	20.0
Phenol red (50M/0.2%sol/L of medium)	0.5
P-nitrophenylglycerol (150mM/liter of medium)	q.s.

All quantities are in g/liter

Table 2.

BACTURCULTによる細菌数判定<定量>

BACTURCULT コロニー数	推定細菌数	判 定
4 以下	Negative	10 ⁴ 細菌 (+)
5 ~ 10	10,000	
11 ~ 24	}	
25 ~ 40	50,000	
41 ~ 49	}	
50 ~ 80	100,000	10 ⁵ 細菌 (+)
81 以上	Positive	

にしめる。複数の検体を同様に処理して恒温器に入れる直前にキャップを半回転だけゆるめて tube 内に通気できる状態にしてからキャップを底面に直立させて 37°C で 18~24 時間培養する。また空調のある部屋ま

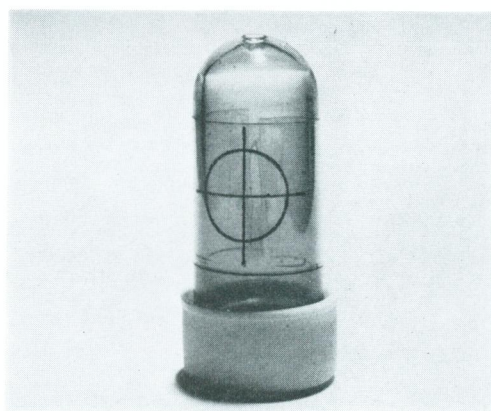


Fig. 2

たは夏期などで、20~25°C を保てるときは、単に清潔な机上に放置し 32~48 時間で培養することも可能である。

3) 判定方法

上記の操作で培養された BACTURCULT tube は用意されているセルロイド製の counting strip (Fig 2) を用いてコロニー数を測定した。測定は無作為に 3 カ所おこない、それを平均してコロニー数を算定した。測定されたサークル内のコロニー数は Table 3 に示す培地の色調の変化から分離菌の推定がある程度可能である。Fig. 1 は色調の変化、すなわち左より黄

Table 3.

BACTURCULT培地による感染菌種の推定<定性>

	推定菌種(種属)	BACTURCULT培地の 変化とPH	培地色調
Group I	E. coli Enterococcus	lactose→lactic acid 酸 性	Orange→yellow
Group II	Klebsiella Staphylococcus Streptococcus	lactose } 非分解 urea } 中性 (PH=7.2)	Orange→rose
Group III	Proteus Pseudomonas	Urea→NH ₃ ↑ アルカリ性	Orange→ purplish red

変, 不変, 赤紫変を, さらに培養されたコロニーを示している。

試験対象および試験成績

1) 試験対象

1974年2月より同5月までの4カ月間に金沢大学医学部泌尿器科外来を受診し, 尿路感染症と診断もしくは疑診を下された103症例(男48例, 女55例)から採取された111検体について試験がおこなわれた。103例中6例は期間を置いて2~3回のBACTURCULT試験を実施し, 残りの97例は1回の試験による成績である(Table 4)。

Table 4.

患者数	♂(48)	♀(55)	(計103名)
検体数	♂(51)	♀(60)	(計111検体)

2回以上の測定症例

診 断	Sex	症 例 NO.		
慢性膀胱炎	♂	11-①	11-②	11-③
水 腎 症	♀	13-①	13-②	13-③
慢性膀胱炎	♂	26-①	26-②	
慢性腎盂腎炎	♂	37-①	37-②	
慢性膀胱炎	♀	46-①	46-②	
慢性膀胱炎	♂	49-①	49-②	

2) 試験方法

前述の方法で採取された被検尿は, 当科外来で一部をBACTURCULT試験に使用し, 残りの一部にて尿外観, 尿蛋白定性試験, 尿糖定性試験および尿沈渣所見が調べられ, さらに残りの被検尿は当病院中央検査部に送られた。中検ではBACTURCULTと対比する目的で標準試験法として細菌の定量培養および同定試験がpour plate法によっておこなわれた。BACTURCULT tubeは37°Cで18~24時間培養された。

3) 試験成績

i) 標準試験(pour plate法)による成績

BACTURCULTのstandardに標準試験法を置く

Table 5.

分離菌種について

	急性腎 盂腎炎	慢性腎 盂腎炎	急性膀胱炎	慢性膀胱炎	急性前立腺炎	慢性前立腺炎	急性尿道炎	慢性尿道炎	水腎症	膀胱炎の疑	計
E. coli	5	5	18	11	1	1				1	42
Klebsiella	1	1		12							14
Enterococcus		1	2	7						1	11
Staphylococcus epid.		1	3	5	1						10
Pseudomonas		2		5							7
Enterobacter				3					3		6
Proteus mirabilis										1	1
Citrobacter		1									1
Alcaligenes					1						1
Neisseria							1				1
Candida	1										1

ことを前提に中検から得られた分離菌種と臨床診断との関係をTable 5に示す。すなわち慢性膀胱炎49例(54検体)中32検体(43菌株), 急性膀胱炎25例(25検体)中20検体(23菌株), 慢性腎盂腎炎13例(14検体)中9検体(11菌株)など, 全検体111中75検体(95菌株)に菌の分離同定がなされた。なお菌種については大腸菌が42株(44.2)と最も多く分離された。

ii) BACTURCULTの成績

標準試験で10⁵/ml以上の細菌数が認められた75検体中59検体は分離菌1種, 16検体は分離菌2種以上の混合感染と考えられた症例であった。この標準試験の結果とBACTURCULTによる成績を比較検討するためTable 2に示すように細菌数が10,000以下をランク1, 10,000をランク2, 10,000~50,000までをランク3, 50,000をランク4, 50,000~100,000までをランク5, 100,000をランク6, 100,000以上をランク7としてFACOM 230-25コンピューターに入力し両者間の単相関係数 r を求めた。111検体全例での検討では $r=0.8002$ ($p=0.05$), 回帰直線方程式 $Y=0.8078X+0.9424$ ($p=0.05$)でいずれも有意な相関が認められた(Fig. 3)。つぎに本試験で111検体中培地の色調変化がTable 3に示すような尺度で正しかっ

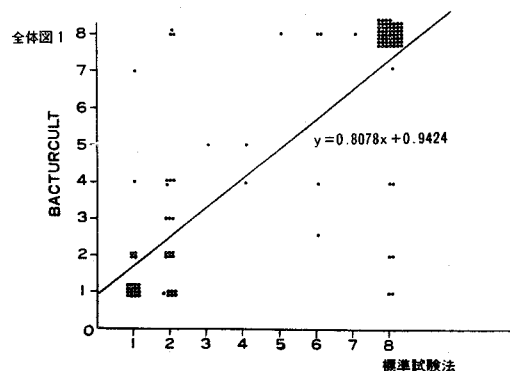


Fig. 3

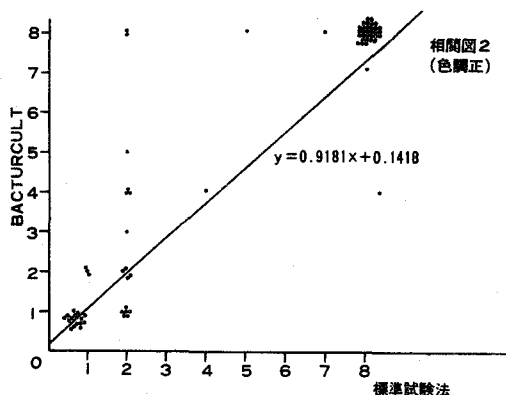


Fig. 4

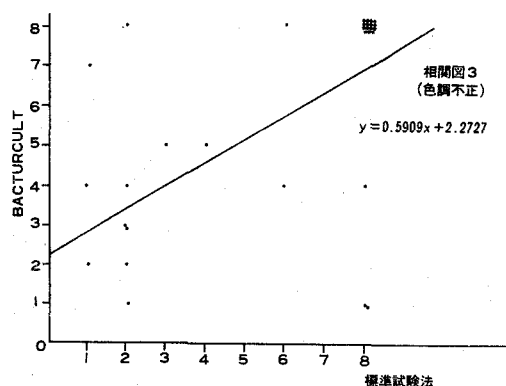


Fig. 5

た 71 検体についての検討でも $r=0.9142$ ($p=0.05$), 回帰直線方程式 $Y=0.9181X+0.1418$ と有意な相関が認められた (Fig. 4). 培地の色調が不正であった 32 検体についても細菌数の二法間の相関係数 $r=0.5393$ ($p=0.05$) で, 有意の関係が認められた (Fig. 5). なお 9 検体は菌株の複雑な組合せの混合感染のためや, 特殊な細菌のため本法にて同定不能例であった.

つぎに BACTURCULT のような簡易法の大きな目的の一つは, 実際の臨床上的判定基準となる $10^5/\text{ml}$ ないしは $10^4/\text{ml}$ などでプラス, マイナスを判定する場合に標準細菌数法とどのような一致度を示すかにある. これを求めるために標準法, BACTURCULT とともに陽性をランク 1, 標準法陰性, BACTURCULT 陽性 (偽陽性) をランク 2, 標準法陽性, BACTURCULT 陰性 (偽陰性) をランク 3, さらに両法がともに陰性の場合をランク 4 として前述のコンピューターに入力し, その一致度を細菌数 $10^5/\text{ml}$ で判定した場合と $10^4/\text{ml}$ で判定した場合について検討した. 結果は Table 6 に示すごとく, $10^5/\text{ml}$, $10^4/\text{ml}$ いずれの

Table 6.

細菌数一致度

検 体	10 ⁵ /ml 判定			10 ⁴ /ml 判定		
	全 例 (111)	単 純 (59)	混 合 (16)	全 例 (111)	単 純 (59)	混 合 (16)
適中率	98/111 (88.3%)	52/59 (88.1%)	12/16 (75%)	98/111 (88.3%)	52/59 (88.1%)	13/16 (81.3%)
偽陽性	7/111 (6.3%)	3/59 (5.1%)	2/16 (12.5%)	9/111 (8.1%)	4/59 (6.8%)	2/16 (12.5%)
偽陰性	6/111 (5.4%)	4/59 (6.8%)	2/16 (12.5%)	4/111 (3.6%)	3/59 (5.1%)	1/16 (6.3%)

Table 7.

色調一致度と色調細菌数一致度

検 体	10 ⁵ /ml 判定			10 ⁴ /ml 判定		
	全 例 (111)	単 純 (59)	混 合 (16)	全 例 (111)	単 純 (59)	混 合 (16)
色調一致度	71/111 (63.9%)	33/59 (55.9%)	8/16 (50.0%)	71/111 (63.9%)	33/59 (55.9%)	8/16 (50.0%)
色調 菌数一致度	67/111 (60.4%)	32/59 (54.2%)	6/16 (37.5%)	66/111 (59.5%)	30/59 (50.8%)	7/16 (43.8%)

Table 8.

菌種別一致度

	<10 ⁵ /ml で判定> 全症例中			
	E.coli	Enterococcus	Pseudomonas	Klebsiella
色調一致度①	37/42 (88.1%)	6/11 (54.5%)	3/7 (42.9%)	2/14 (14.3%)
菌数一致度②	38/42 (90.5%)	7/11 (63.6%)	7/7 (100%)	14/14 (100%)
①+②の精度	34/42 (81.0%)	4/11 (36.4%)	3/7 (42.9%)	2/14 (14.3%)
	黄 変 (酸生成)		赤紫変 (アルカリ生成)	不 変

場合も 88.3% (98/111) の一致度が得られた. しかし色調一致度を求めると 63.9% (71/111) と細菌数一致度に比し低い結果であった (Table 7). これを標準法で一種の細菌のみが分離された場合の細菌数一致度は 88.1% (52/59) であり, 色調一致度は 55.9% (33/59) であった. また標準法で二種以上の細菌が分離された場合の細菌数一致度は 75.0% (12/16), 色調一致度は 50.0% (8/16) であった.

最後に菌種別にみた場合をに Table 8 示すと, 大腸菌では菌数一致度 90.5% (38/42), 色調一致度 88.1% (37/42) と両者とも高い一致度が得られた. しかし緑膿菌, 腸球菌などについては菌数一致度は高かったが, 色調一致度は低い成績しか得られなかった.

考 察

尿路感染症の診断および治療に尿中細菌の定量および同定が重要であることはいまさらいうまでもないことである。しかしながら現在一般におこなわれている pour plate 法などはある程度の設備を必要とし、かつ手技も煩雑ですべての診療所に適しているとはいえない。そのため簡易な方法として TTC test, catalase test, Griess nitrite test などの報告がみられ、最近でも尿中に微量に存在するブドウ糖が細菌感染により減少することに着目した Uriglos¹⁾ による簡易法が報告されている。しかしこれらの方法はあまり簡易にすぎ、菌種の同定はむろんのこと菌数定量に関しても精度には問題が多い。そのためさらに精度の高い簡易法として dip slide 法²⁾ や, disposable bacteriological plate³⁾ を使用し、菌数定量、菌種の同定とともに薬剤感受性もあわせて知ろうとする試みなどが報告されている。しかしそれぞれに一長一短があるのは否定できない。

今回われわれはプラスチック製の容器の内面に固形培地を薄く塗布した BACTURCULT tube を用いた簡易法について検討してみた。簡易法に求められる条件としては、

- 1) 操作が簡単で、特別の手技を必要としないこと、
- 2) 特別の設備を必要としないこと、
- 3) ある程度正確な菌数定量、さらには菌種の同定

が可能であること、

などがあげられよう。1) の条件について、本法は尿を容器内に注ぎ込むだけの操作であり、きわめて簡単に分別ある患者の場合はじゅうぶんに説明すれば患者自らが中間尿を採取し本操作をおこなうことも可能である。容器内尿貯留時間に関してわれわれは4検体について、5秒、10秒、30秒、60秒および5分間についてコロニー数、色調の変化などを検討してみた。コロニー数については60秒まで有意の変化は認められなかったが、色調の変化は30秒以上経過したものについて、5～10秒のものに比して若干の差異が認められた。以上より少数例での判定ではあるが、患者に直接本操作をおこなわせる際には30秒以内に被検尿を捨ててことをじゅうぶんに指示し、条件を一定にする必要があるものと考えられる。

2) の条件については、ごく簡単な恒温器があればじゅうぶんである。われわれは5検体について室温下48時間培養を施行し、37°C 24時間培養したものと対比し室温下でも使用可能と推定される成績を得た。しかし当科外来は冬期でも午前9時～午後5時までは

20°C 以上に室温は保たれておりそれ以下の温度条件下での検討はおこなっていない。その意味からも、また培養条件を一定に保つためにもごく小容量の恒温器はあるほうが望ましいものと考ええる。

3) の条件、すなわち本試験法の精度の問題がある。まず本試験法の主目的である菌数定量について考察してみる。菌数定量の重要性は、尿中より分離された細菌を起炎菌と決定する条件として $10^5/\text{ml}$ 以上の菌数が必要であるとする Kass ら⁴⁾ の考え方に由来しており、この考え方は現在ことに内科領域で定着しつつある。この菌数定量について、標準法による成績と BACTURCULT のそれとを比較検討したところ有意の相関関係が認められたことは、本法の有用性が裏づけられたものといえよう。これを臨床上重要とされている菌数 $10^4/\text{ml}$ ないしは $10^5/\text{ml}$ などで判定する場合の標準法との一致度であるが、いずれも88.3%(98/111)と高い成績が得られた。これを単一菌種のみが分離された単純感染と複数の菌種が分離された混合感染の場合とを比較検討してみると、単純感染における一致度は混合感染のそれに比し若干高い結果が得られた。これを菌種別に検討してみると大腸菌、緑膿菌、クレブシエラはいずれも90%以上とその一致度はきわめて高かった。しかし腸球菌は63.6%と低く、これは分離株数が少なかったことも関係していることが予想され、今後症例を追加してさらに検討する必要がある。

一方色調一致度、すなわち細菌の同定がどの程度まで可能かについての検討では、大腸菌以外の菌種の一致度は必ずしも高くなく、全例での成績は63.9%(71/111)と低値にとどまった。ただし大腸菌についての高い一致度は尿路感染症における分離菌中に占める大腸菌の頻度の高さ⁵⁾ から考えて意義があろう。

結 語

われわれは当科外来患者を対象として尿中細菌簡易定量法—BACTURCULT—を使用し、

- 1) 操作が簡単で、特別の設備を必要としない、
- 2) かなり正確に菌数定量が可能である、
- 3) ある程度の菌種推定が可能である、

との結果を得た。本法は多少の欠点、ことに菌種同定における問題は残るが、簡易法の特徴をかなり備えた尿中細菌簡易定量法と考えられる。

稿を終るにあたり、ご助言をいただいた金沢大学医療技術短期大学部山岸高由助教授ならびに標準法による菌数定量、同定にご協力いただいた中央検査部の諸氏に謝意を表する。なお本論文の要旨は第273回日本泌尿器科学会北陸地方会にて発表した。

文 献

- 1) Cosgrove, M. D., Shpall, R. A. and Morrow, J. W.: J. Urol., **109**: 868, 1973.
- 2) 三橋慎一・小林章男：臨泌, **27**: 859, 1973.
- 3) Edwards, P. D., Burke, E. A. and Wear, J. B., Jr.: J. Urol., **109**: 689, 1973.
- 4) Narins, D. J. and Whitehead, E. D.: J. Urol., **108**: 780, 1972.
- 5) Kass, E. H.: Arch. int. Med., **100**: 709, 1957.
- 6) 大川光央・島村正喜・平野章治・神田静人：泌尿紀要, **20**: 425, 1974.

(1975年1月17日迅速掲載受付)

トリイのセファロスポリン系抗生物質

*Bactericidal &
Broad spectrum
Antibiotics*

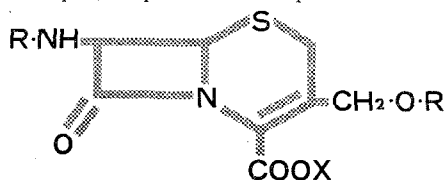
内服用

セポール®

筋注・静注用

セポラン®注

Cepol, Ceporan & Ceporacin



日抗基セファレキシシ
250mg, 500mg 各100カプセル
ドライシロップ 100mg / g 100 g

日抗基セファロリジン
250mg, 500mg, 1 g 各バイアル

本剤は使用上の注意をよく読んで正しくお使い下さい



グラクソ不二薬品



鳥居薬品