

猫下部尿路疾患の診断における尿の細菌培養法の重要性  
—普通培養法とカルチャーボトルを使用した増菌培養法の比較—

池上 裕<sup>1)</sup> 佐藤 晃一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> あい動物病院 (兵庫県尼崎市南武庫之荘 2-2 2-7 〒661-0033)

<sup>2)</sup> 山口大学農学部獣医学科 (山口県山口市吉田 1 6 7 7 - 1 〒753-8515)

Diagnostic Importance of the Choice of Bacterial Culture Methods in Feline Lower Urinary Tract Disease.

# Efficient Isolation of Bacteria from the Lower Urinary Tract by the Culture Bottle Method.

Hiroshi IKEGAMI<sup>1)</sup>, Koichi SATO<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Ai Animal Hospital, 2-22-7 Minamimukonosou, Amagasaki-shi, Hyogo 661-0033, Japan

<sup>2)</sup> Laboratory of Veterinary Pharmacology, Department of Veterinary Basic Science, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi-shi, Yamaguchi 753-8515, Japan

## SUMMARY

Because of its diversity of pathogenesis, feline lower urinary tract disease (FLUTD) is one of the most recurrent and difficult to treat diseases. In FLUTD, however, bacterial infection is not easily detected, since urinary samples are often contaminated, and the isolation of bacteria is difficult. In the present report, we adopted an enhanced culture method using blood culture bottles to isolate bacteria from the cat urine, and compared the detection rates and species of bacteria with an ordinary isolation method. From 20 cats suffering from FLUTD, the same urine samples were tested for bacteria, and 80% turned out to be positive by our method, whereas only 20% showed positive by the control method. Actually, although microorganisms were isolated in 75 % of FLUTD cats (21/28) by our method, only 26.3 % (10/38) were isolated by the control method. We recommend this enhanced culture method instead of the ordinary method because the latter may possibly lead to an underestimation of the number of FLUTDs, resulting in overlooking them and failure to treat the patients properly.

KEY WORDS: blood culture bottle, enhanced culture method, feline lower urinary tract disease, feline urinary tract infection

## 要約

猫の下部尿路疾患(FLUTD)は、発症原因が多岐にわたるなどの問題点から、治療方針の確立が難しく、完治が困難な疾病の一つと考えられている。また、細菌感染の有無の判定も難しく、培養検査法の確実性が求められている。そこで、本研究では、FLUTDの症状を呈し来院した猫の尿について、普通培養法と、血液培養用のカルチャーボトルを用いた増菌培養法を行い、細菌の検出率を比較することで、普通培養法で見逃されている細菌性尿路感染症の症例の存在について検討した。その結果、普通培養法では細菌の検出率は26.3%であったが、増菌培養法では75.0%の高い検出率を示した。また、同一尿を用いて同様の検査を行った結果でも、普通培養法の検出率は20.0%であったが、増菌培養法は80.0%であった。以上の結果より、普通培養法は高率に偽陰性の結果をもたらし、治療指針に大きな障害をもたらす可能性が示唆された。

キーワード：カルチャーボトル、増菌培養、猫下部尿路疾患、猫尿路感染症

## はじめに

猫下部尿路疾患(FLUTD)は、慢性化しやすく再発する症例も多く見られる。発症原因は多岐にわたり、また、最近では特発性膀胱炎が報告されるなど混迷の度を深めていることから、食事療法が最良の治療方法と考えられている[1,2,3,4,5]。しかし、本疾病の管理は難しく、食事療法を用いても悪化するケースが報告されている。これまで、FLUTD の発症原因の一部とされている細菌性尿路感染症は、尿の細菌培養検査で陰性結果が出ると、感染の可能性が否定されてきた[6,7,8]。しかし、陰性結果が得られた症例においても、抗生物質を用いた治療が効果を発揮する症例が多数報告されている。今回、我々は、培養検査結果と症例の治療結果が乖離する原因を明らかにすることを目的とし、二種類の異なる培養方法で細菌検査を行い、その検出率を比較することで尿路感染症の検査における偽陰性ならびに偽陽性の存在について検討した。

## 材料および方法

### **症例**

1998年9月から2005年5月にFLUTDの症状により来院し、抗生物質などの治療を行う前に病院内で尿を採取することができた46例について検査を行った。

### **材料採取**

尿の採取は、表1に示すとおり、自然排出、カテーテルによる採尿、膀胱穿刺による採尿の異なる3つの手法により行った。

### **培養検査**

普通培養検査、カルチャーボトルによる増菌培養検査は、共に人医用検査センター（杏和総合医学研究所）を利用した。

### **普通培養検査**

採取尿は、検査センター指定の滅菌試験管に入れ、ただちに検査センターへ移送した。検査センターでは、尿の遠心分離により得られる沈渣を用い、平板培地にて培養を行った。その後、分離された全てのコロニーについて菌を同定し、抗生物質感受性テストを行った。

### **増菌培養検査**

カルチャーボトル（バクテック：日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）は、検査センター指定の血液培養用の好気性ボトル(92F好気用レンズボトル)および嫌気性ボトル(93F嫌気用レンズボトル)を使用した。各カルチャーボトルには、FLUTDの猫より採取した1mlの尿を注入し

た。細菌培養の陽性・陰性の判定は、常法に従い、全自動血液培養検査装置（バクテック 9120：日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）を使用して行った。また、陽性検体については、細菌を分離同定し、感受性検査を行った。

#### 普通培養検査法とカルチャーボトルによる増菌培養検査法の直接比較

46 症例中 20 症例については、同一検体を普通培養と増菌培養へ供することによって、細菌検出率の直接比較を行った。

#### 統計処置

検査結果の比較は、標準正規分布表を用いての両側検定を行った。

### 結果

#### 普通培養検査法による検出率

38 症例について普通培養検査を行った結果、10 例で細菌が検出され、検出率は 26.3%であった。材料採取法による分類では、自然排出尿で 25.0% (n=16)、カテーテル尿で 25.0% (n=4)、膀胱穿刺尿で 27.7% (n=18) の検出率であった。検出率に関しては図 1 に表わしたように、材料採取法による検出率の差は見られなかった。

#### カルチャーボトルによる増菌培養検査法による検出率

28 症例について、血液培養用カルチャーボトルによる増菌培養検査を行った結果、21 症例で菌が検出され検出率は 75.0%であった。材料採取による分類では、自然排出尿で 85.7% (n=14)、カテーテル尿で 75.0% (n=4)、膀胱穿刺尿で 60.0% (n=10) の検出率であった。(図 1)

#### 普通培養検査法と増菌培養検査法による検出率

20 症例について同一尿で普通培養検査と増菌培養検査を行った。普通培養検査では検出率が 20.0%であったが、増菌培養検査では 80.0%の検出率を示した(図 2)。次に、各培養方法により検出された細菌を同定し、菌の種類を比較した(表 2)。普通培養法と増菌培養法の両方で陽性結果が得られた 4 例中 1 例で、増菌培養法においてのみ、2 菌種が検出された。また、普通培養法で陰性を示した症例においても、増菌培養法では、7 症例で 2 菌種以上を検出した。嫌気性培養の結果は、普通培養あるいは増菌培養のいずれでも細菌は検出されなかった。

#### 培養検査後の抗生物質感受性検査

感受性検査の結果、ニューキノロン系抗生物質のスパルフロキサシンが 94.9%と、一番高い感受

性を示した。ついでクロラムフェニコールが 87.5%、ドキシサイクリン 84.8%、セファレキシン 82.5%、セファゾリン 79.8%、アモキシシリン 79.8%、アンピシリン 77.3%であった。

## 考察

### 普通培養検査法と増菌培養検査法の統計学的比較

今回の結果では、普通培養検査法での検出率が 26.3%を示した。これまでに報告された FLUTD における細菌培養検査の検出率は、2.8-43%であり[4,6]、統計的に我々の結果とほぼ一致した。van Duijkeren [9]らは、材料採取の方法によって偽陽性が出現し細菌の検出率が大きく変化すると報告しているが、今回の結果では異なる採尿方法によっても菌の検出率が変わらなかった事から、採尿手技の違いが偽陽性をもたらす可能性は少ない事が示唆され、過去の報告とは一致しなかった。

一方、カルチャーボトルによる増菌培養法を行った結果、細菌の検出率は 75.0%であり、過去に報告された検出率との間で有意な差が認められた ( $\alpha = 0.05$ )。

### 増菌培養法と普通培養法の直接比較

同一尿を用いて増菌培養法と普通培養法で検出率を比較すると、増菌培養法で 80.0%、普通培養法で 20.0%と大きな違いが認められた。また、表 2 に示したとおり、20 例中 14 例では異なる結果が得られた。なお、検出された菌は、*Bacillus* sp.を除くすべての菌が過去に猫の細菌性尿路感染症の病因菌として報告されたものであった[6,10]。

雑菌の混入の可能性が低いと考えられるカテーテル尿および膀胱穿刺尿に限っても、11 例中 6 例で異なる結果が得られた。これまで細菌性尿路感染症において複数の菌が検出される症例は 15%程度と報告されているが[6]、今回の増菌培養検査の結果では、陽性 16 症例中 8 症例において複数の菌が検出された。これらの結果より、普通培養検査においては、高率に偽陰性が出る可能性が示唆された。

普通培養検査と増菌培養検査による検出率に違いが出た理由として、下記の可能性が考えられる。(1)採取した尿中の細菌数が少なく、細菌の保存状態も普通培養法には適さなかった。(2)猫の尿は浸透圧が高く、pH も酸性に偏っているなど、細菌に対する発育阻害因子が存在するが、増菌培養法では、採取尿を液体培地で希釈することにより、これらの影響が減弱した。(3)カルチャーボトル内には、抗生物質などを吸着するための吸着剤が入っており、この吸着剤によって発育阻害因子が除去された。しかし、これらの詳細については、さらに検討を進めていかなければならない。

### 培養検査結果の評価方法について

これまで、細菌性尿路感染症の評価においては、培養尿中の細菌数が、ある一定数以上に達すると陽性とされてきた [6,7,8,11,12]。通常、自然排出尿で  $1 \times 10^5/\text{ml}$ 、カテーテル尿で  $1 \times 10^3/\text{ml}$ 、膀胱穿刺尿で  $1 \times 10^3/\text{ml}$  以上の菌数で陽性とし、それ以下については雑菌の混入によるものとし陰性と判断されている [6]。雑菌の混入による過大評価を避けるこの基準は、現在「Gold standard」と考えられている。しかし、この評価方法では、 $1 \times 10^4/\text{ml}$  個の菌数が確認された場合、膀胱穿刺尿では陽性と判定されるが、同一尿が自然排出尿として採取されると陰性と判定される [9]。そのため、多くの感染性膀胱炎が誤って陰性と評価されている可能性が否定できない。このような可能性を避けるために、細菌培養検査に用いる尿の採取には膀胱穿刺を用いるべきであると報告されている [9,13]。

しかし、膀胱穿刺尿においても、普通培養では増菌培養のおよそ半分の検出率しか得られなかったことから、普通培養法では細菌性尿路感染症が過少評価されている可能性が高いと考えられる。

また、FLUTD では、尿道栓子や尿道閉塞を起こしている症例が多く、尿道の感染は無視できない。尿道感染があった場合、膀胱穿刺尿では尿道の評価は不可能であり、自然排出尿の培養検査だけが尿道感染症の手掛かりと考えられるが、押し出す尿によって細菌が稀釈されるため、従来の定量培養では陰性と判定されるおそれがある。今回の増菌培養検査法の結果において、自然排出尿での検出率が高い傾向が得られたが、その原因の一部に、このような尿道感染が関与する可能性が考えられる。

### FLUTD の治療計画について

本研究より、FLUTD の診断において普通培養検査法を用いると、高率に偽陰性の結果をもたらす事が明らかとなった。従って、その結果を基に治療計画を立てると、細菌感染を見逃す事により尿路感染症の慢性化や再発を繰り返す可能性がある。また、ウレアーゼ産生菌の感染がストラバイト結石の生成に関与している事から [14]、同菌の感染を見のがすと治療困難なストラバイト結石症となり、オス猫の場合は尿路変更術を余儀なくされる。さらに、感染拡大時には、腎炎、腎盂炎、敗血症などをもたらし、最終的には腎不全から死の転帰をとる可能性がある。本研究では、自然排出尿に対して増菌培養検査法を行った場合について、偽陽性が出現する可能性を否定できない。しかし、感染症を見逃す事による症例のリスクを考慮に入れると、現状では FLUTD の原因究明には、材料採取の方法の如何を問わず増菌培養検査法を用いるのが最良であろう。

また、これまでの報告では、FLUTD において培養検査が陰性の場合、抗生物質の使用を否定する傾向にあった [6]。しかし今回の研究で、普通培養検査の結果から細菌性尿路感染症ではないと診断した症例に、感染症を見逃している症例が数多く含まれている可能性が示唆された。さらに、前述のとおり、増菌培養検査法で陰性結果が得られた症例においても、尿道感染症などの細菌感染の可能性は完全には否定できない。従って、現状では FLUTD の治療には必ず抗生物質を使用すべきであると考えている。

## 引用文献

- 1) Kruger J.M., Osborne C.A.: Recurrent, nonobstructive, idiopathic feline lower urinary tract disease: an illustrative case report. *J Am Anim Hosp Assoc*, 31(4), 312-316 (1995)
- 2) Kruger J.M., Osborne C.A., Lulich J.P.: Management of nonobstructive idiopathic feline lower urinary tract disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 26(3), 571-588 (1996)
- 3) Markwell P.J., Buffington C.A., Chew D.J., Kendall M.S., Harte J.G., DiBartola S.P.: Clinical evaluation of commercially available urinary acidification diets in the management of idiopathic cystitis in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 214(3), 361-365 (1999)
- 4) Kruger J.M., Osborne C.A., Goyal S.M., Wickstrom S.L., Johnston G.R., Fletcher T.F., et al: Clinical evaluation of cats with lower urinary tract disease. *J Am Vet Med Assoc*, 199(2), 211-216 (1991)
- 5) Kruger J.M., Osborne C.A.: The role of uropathogens in feline lower urinary tract disease. Clinical implications. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 23(1), 101-123 (1993)
- 6) Lees G.E.: 細菌性尿路感染. 獣医臨床シリーズ「猫の下部尿路疾患 I -診断と治療-」 (*Vet Clin North Am Small Anim Pract 日本語翻訳版*) 26(2), 105-114 (1998)
- 7) Bartges J.W.: Diagnosis of urinary tract infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 34(4), 923-933 (2004)
- 8) Lulich J.P., Osborne C.A.: Urine culture as a test for cure: why, when, and how? *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 34(4), 1027-1041 (2004)
- 9) van Duijkeren E., van Laar P., Houwers D.J.: Cystocentesis is essential for reliable diagnosis of urinary tract infections in cats. *Tijdschr Diergeneeskd.* 129(12), 394-396 (2004)
- 10) 小西和世 血尿：尿路感染症の起因菌 *Medicine* 15, 3(5), 25-33 (2001)
- 11) Wooley R.E., Blue J.L.: Quantitative and bacteriological studies of urine specimens from canine and feline urinary tract infections. *J Clin Microbiol*, 4(4), 326-329 (1976)
- 12) Barsanti J.A., Finco D.R.: Laboratory findings in urinary tract infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 9(4), 729-748 (1980)
- 13) Kruger J.M., Osborne C.A., Ulrich L.K.: Cystocentesis. Diagnostic and therapeutic considerations. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 26(2), 353-361 (1996)
- 14) 吉田仁夫 ストルバイト結石の生成機序 *Surgeon* 19, 4(1), 20-25 (2000)

手法	詳細
自然排出尿	膀胱を圧迫して、自力での排尿を促し、その尿を採取した。 採取は消毒した濃盆に受けてから滅菌シリンジで吸引した。
カテーテル尿	尿路閉塞を起こし、導尿が必要になった症例では、カテーテル挿入後に、カテーテルから直接、尿を採取した。 カテーテル挿入は定法に従い、包皮の洗浄・消毒の後に実施した。
膀胱穿刺尿	膀胱穿刺によって、直接膀胱から尿を採取した。 膀胱穿刺は定法に従い、手術時に準じた消毒を行い実施した。

表 1. 採尿方法      採尿は異なる 3 つの手法により行った。



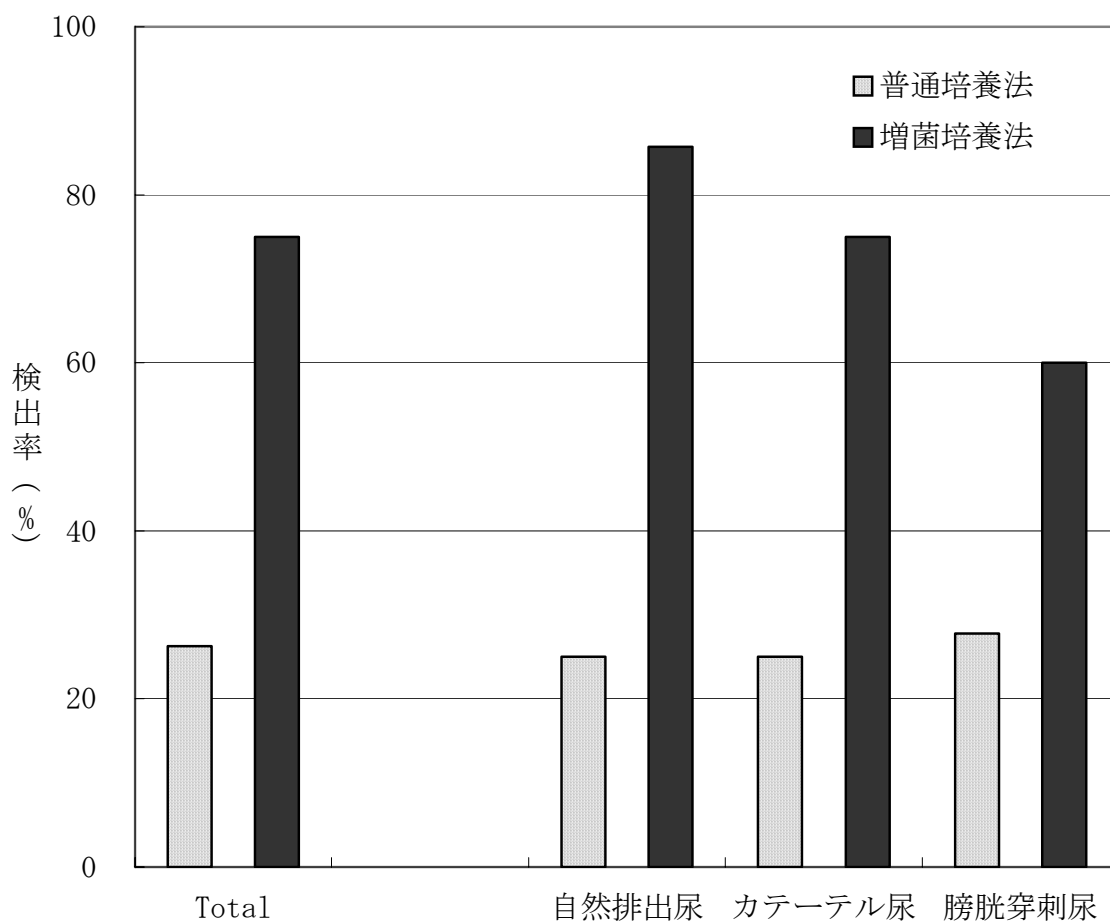


図1. FLUTDの猫から採取した尿を普通培養法と増菌培養法で検査した場合の細菌の検出率の比較

FLUTDの猫より異なる手法により採取した尿を用い、普通培養法と増菌培養法を行い、検出率を比較した。普通培養法；Total (n=38)、自然排出尿 (n=16)、カテーテル尿 (n=4)、膀胱穿刺尿 (n=18)。増菌培養法；Total (n=28)、自然排出尿 (n=14)、カテーテル尿 (n=4)、膀胱穿刺尿 (n=10)。明らかに、増菌培養法でより高率に細菌を検出した。

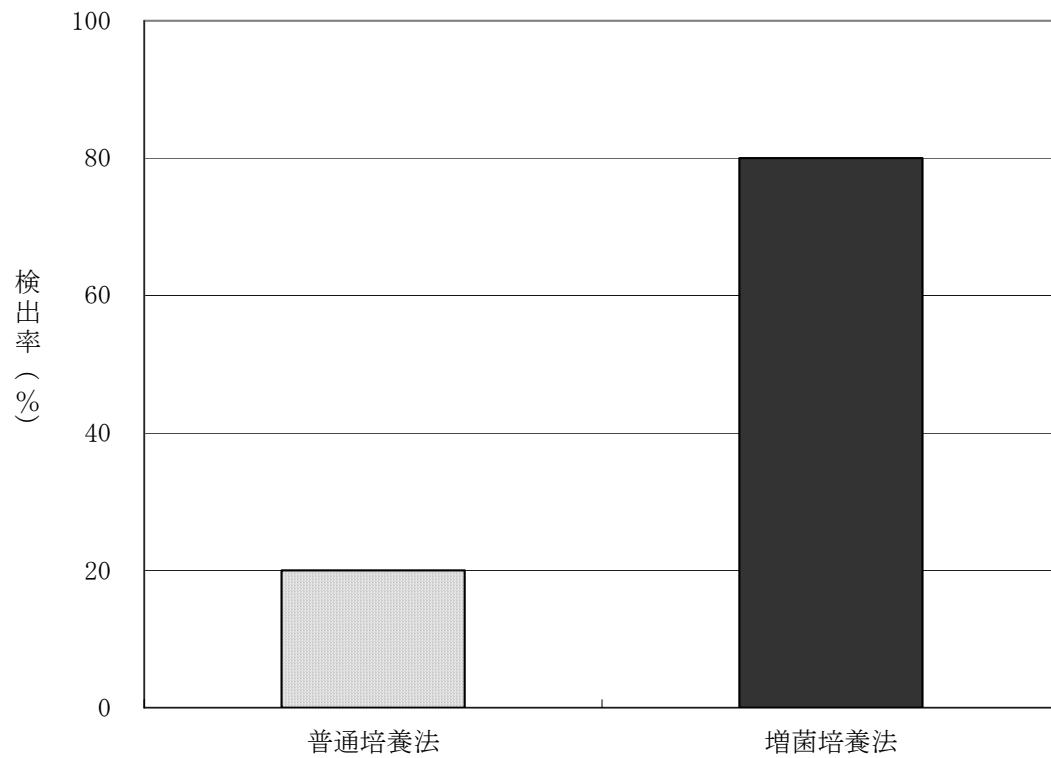


図2. FLUTDの猫から採取した同一尿を用いた場合の菌の検出率の比較

FLUTDの症状を呈した猫から採取した同一の尿を用いて普通培養法と増菌培養法を行い、細菌の検出率を直接比較した(n=20)。普通培養法では20%の検出率であったが、増菌培養法では80%と高い検出率であった。

症例	普通培養	増菌培養	
1	陰性	アルファ <i>Streptococcus</i> コアグラールゼ陰性 <i>Staphylococcus</i>	自
2	陰性	コアグラールゼ陰性 <i>Staphylococcus</i> <i>Enterococcus. sp</i>	自
3	陰性	<i>Staphylococcus aureus</i>	自
4	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	自
5	陰性	<i>Pasturella multocida (GNR)</i> <i>Bacillus sp.</i>	自
6	陰性	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus milleri</i> <i>Bacillus. sp</i>	自
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	自
8	陰性	<i>Streptococcus (G群)</i>	自
9	陰性	<i>Streptococcus (G群)</i>	自
10	陰性	陰性	カ
11	陰性	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus (G群)</i>	カ
12	陰性	コアグラールゼ陰性 <i>Staphylococcus</i>	カ
13	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	カ
14	陰性	陰性	穿
15	陰性	陰性	穿
16	陰性	陰性	穿
17	陰性	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus (G群)</i>	穿
18	陰性	<i>Corynebacterium. sp</i>	穿
19	陰性	コアグラールゼ陰性 <i>Staphylococcus</i> <i>Corynebacterium. sp</i>	穿
20	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	穿

自：自然排出尿      カ：カテーテル尿      穿：膀胱穿刺尿

表2 尿の培養検査結果の比較

同一尿を用いて増菌培養法と普通培養法を行った結果、20例中14例では異なる結果が得られた。普通培養法と増菌培養法の両方で陽性結果が得られた4例中1例で、普通培養法で陰性を示した16例中7例で増菌培養法において2菌株以上を検出した。