尿路感染症に対する化学療法剤の臨床効果判定と 尿沈渣検査法について

河 田 幸 道
東大分院泌尿器科 田 原 達 雄
(主任: 西浦常雄助教授) 西 村 洋 司
西 浦 常 雄*

CRITERIA FOR EVALUATION OF CLINICAL EFFECT OF CHEMOTHERAPEUTICS ON URINARY TRACT INFECTIONS

I. METHOD FOR THE EXAMINATION OF URINARY SEDIMENT

Yukimichi Kawada, Michio Tahara, Yoji Nishimura, & Tsuneo Nishiura

From the Department of Urology, University Branch Hospital, the University of Tokyo,
Tokyo, Japan

(Chief: Associate Prof., T. Nishiura)

Pyuria is one of the most important signs in evaluating the clinical effect of chemotherapeutics for urinary tract infections. We, therefore, investigated several experimental conditions in making wet spun film of urinary sediment.

Results are summarized as follows:

1) Since leucocyte detecting rate is highest in 1,500 r.p.m., 10 min., the decanting method, using a 1 cc. Komagome pipette for mixing, we think this condition is most suitable for making wet spun film of urinary sediment. 2) Coefficient of variation in this experimental condition is 42%. 3) By using this method, when bacterial count is over 10^5 /ml., one or more bacteria per HPF is always detectable in a simple stained film. 4) Normal range of leucocyte number is assigned to be determined hereafter.

I. 緒 言

近年化学療法剤の開発は目覚ましく、日常臨床上使用される化学療法剤の種類もきわめて多数にのぼっているが、これらの化学療法剤の臨床効果は各人各様の方法で判定され、全く統一を欠いていると云つても過言ではないような状態である。

これに対し、化学療法学会を中心に、化学療法剤の臨床効果判定法を基準化する試みがなされ、既に何回かシンポジウムの主題としてとりあげられ討議されている^{1)~4)}。

泌尿器科領域においても尿路感染症、特に急性単純性膀胱炎を中心に化学療法剤の効果判定法基準化の問題がとりあげられ討議されているが⁵⁾⁶⁾、未だ必ずしも意見の

一致を見たとは云い難い。

尿路感染症に対する臨床効果の判定は、自覚症状、膿尿、尿中細菌培養成績の3者を目標として行なわれるのが一般的であるが、自覚症状について見ると、化学療法剤の投与を行なわなくとも自覚症状が軽快ないし消失することは日常臨床上しばしば遭遇するところであり、また自覚症状を考慮せずに行なつたわれわれの急性単純性膀胱炎20例に対する3日間の自然経過観察では⁷⁾、25%に尿所見、細菌培養成績の改善が見られたことより、自然治癒の問題もきわめて重要と考えられる。

さて膿尿は、感染に対する尿路の反応を示すものとして、臨床効果判定の際の最も重要な目標と考えられるが、この際、尿沈渣標本作製条件により膿尿の程度が変化することは容易に想像される。尿沈渣標本の作製条件は既に検討しつくされ、完成されたものごとく考え

* 現岐阜大学医学部泌尿器科教授

られているが、実際には各大学、各病院等によつて多少の条件の違いが見られ、また一定の条件下でどの程度の膿尿があれば感染の存在を意味するかについての定説は未だないとも云える。

今回われわれは尿路感染症に対する化学療法剤の臨床効果判定法を基準化するにあつて、まず尿沈渣標本作製上の各種条件について検討し、尿路感染症の指標として最も適切な検査法を見出すべく実験を行なつたので、その結果を報告する。

II. 実験方法

尿沈渣標本作製上に考えられる条件の中から、回転数、回転時間、上清の捨て方、攪拌方法について第1表のごとき条件を選び、これらの条件の組合わせ24種類についてそれぞれ3～5枚の標本作製し、一標本につき

第1表 実験条件

1) 遠沈回転数：1,000 1,500 3,000 r.p.m.
2) 遠沈回転時間：5分, 10分
3) 上清の捨て方：デカント法, 濃縮法 (20倍)
4) 攪拌方法：白金耳使用, 駒込ピペット使用

各3～5視野の白血球数を算定した。

遠沈管に入れる尿の量は10mlとし、20倍濃縮の場合は予め0.5mlの部位にしるしをつけた遠沈管を用い駒込ピペットで上清9.5mlを静かに捨てることとした。なおデカント法で行なわれた場合、残存する尿沈渣量は膿尿の程度によつて異なるが約0.2mlであつた。

攪拌方法とは、上清を捨てた後の沈澱と残存上清との攪拌の方法を云い、白金耳では1回以上、ピペットでは20回以上吸出を繰返して攪拌した。これに用いた白金耳またはピペットは尿沈渣をプレパラートにのせる際にもそのまま利用した。プレパラートにのせる尿沈渣の量は、カバーガラスの全面をおおい、かつカバーガラスが浮かない程度としたが、これは内径1mmの白金耳では5白金耳、1cc容量駒込ピペットでは1/2滴が適当であつた。

顕微鏡は、予め Thoma-Zeiss 型計算板により視野の大きさが同一であることを確認したもの3台を使用し、視野は400倍で観察した。なお作製した標本は合計150枚、観察した視野は600視野である。

III. 結 果

1) 攪拌方法の検討

まず攪拌の際に使用する白金耳と1cc容量駒込ピペットとの比較検討を予備的に行なつた。

第2表 各種回転数における攪拌方法の比較 (変動係数 %)

回 転 数	1,000 r.p.m	1,500	3,000
	5 分	5 分	5 分
白金耳使用群	39.8	45.0	39.1
駒込ピペット使用群	32.9	38.6	30.1

回転時間は5分、上清の捨て方はデカント法とし、回転速度を1,000, 1,500, 3,000rpmの3種類として、それぞれについて白金耳法と駒込ピペット法の比較を行ない、一視野に見られる白血球数のばらつきを変動係数より求めた。作製した標本は一条件につき3～5枚、観察した視野は一標本につき3～5視野で、合計48標本、204視野について検討した。

その結果は第2表に示すごとく、いずれの回転数においても白金耳使用群の方が変動係数は大きく、したがつてばらつきは大きいと考えられ、このことより以後の実験では、攪拌はすべて1cc容量駒込ピペットにより行なうこととした。

2) 各種条件における白血球数

攪拌方法を1cc容量駒込ピペット使用に統一し、残る回転数3種類 (1,000, 1,500, 3,000rpm), 回転時間2種類 (5分, 10分), 上清の捨て方2種類 (20倍濃縮法, デカント法) の条件の組合わせ12種について一視野中に見られる白血球数を検討した結果を第1図に示す。なおこれに用いた標本は72、観察した視野216視野である。

第1図 各種条件による平均白血球数の変化

まず20倍濃縮法とデカント法では、一般にデカント法の方が白血球数は多く、また回転時間の比較では、1,000回転デカント法を除く全ての条件で、平均白血球数は5分より10分の方が多くなっている。

回転数では、20倍濃縮法においては回転数の増加に伴

第2図 標本標準偏差の変化

第3図 標本変動係数の変化

第4図 視野間変動の区間推定 ($1-\alpha=0.95$)
Anderson-Bancroft 法による回転時間: 5分

い平均白血球数も多くなる傾向が見られるが、デカント法では1,500回転で最も多く、3,000回転になると幾分減少する傾向を見せている。

ここで検討した各種条件の組合わせ12種類の中では、1,500回転、10分、デカント法の場合に平均白血球数は最高値を示している。

次に各種条件における標本標準偏差を見ると第2図のごとく一定の傾向は見られないが、1,000回転、5分、濃縮法で標準偏差は最低値、1,000回転、5分、デカント法で最高値を示しており、これを第3図のごとく標本変動係数として検討すると、1,500回転で変動係数は0.4附近に集中する傾向が見られ、白血球検出率の最も高い1,500回転、10分、デカント法でも0.42と他条件に比し特に高い値ではなく、充分満足出来る値を示している。

第5図 視野間変動の区間推定 ($1-\alpha=0.95$)
Anderson-Bancroft 法による回転時間: 10分

第6図 尿沈渣中の白血球数
尿稀釈の影響 (1500回転, 10分)

さらに、Anderson, Bancroft 法⁸⁾により視野間の変動を見ると、まず回転時間5分では第4図のごとく、デカント法の場合には回転数の増加とともに分散成分は小さくなり、これに反し、濃縮法では回転数の増加とともに分散成分は大となる。また、両者は回転数 2,300回転附近で交叉している。

回転時間10分では第5図のごとく、濃縮法とデカント法は回転数との間にほぼ平行関係を示している。

以上の結果より、1,500回転、10分、デカント法は白血球検出率が最も高く、しかもその際の標本変動係数は他条件のそれに比して、さして高くないことから、尿沈渣標本作製の条件として最も適当なものであろうかと考えられる。

3) 膿尿の程度とその検出率

これまでの実験に用いた被験尿は、一人の患者から得られた同一尿であり、これに含まれる白血球数は常に一定していた。しかし、尿中に含まれる白血球の多寡により、その検出率が異なることは容易に想像される。そこで、次に尿中に含まれる白血球数とその検出率との関係を検討した。

まず、多数の白血球を含む原尿を4倍稀釈系列で256倍まで稀釈し、それぞれを1,500回転で10分間遠心し、20倍濃縮法とデカント法により標本を作製した。この実

験のために作製した標本は30枚観察した視野は 180視野である。

その結果は第6図に示す通りである。ただしそれぞれの稀釈尿における白血球数は、実際に各視野で算定した白血球数にそれぞれの稀釈倍数を乗じた値を示した。また、unspun filmの原尿中の白血球数は、実際に算定した白血球数を20倍した数値で示した。

濃縮法とデカント法とはほぼ平行関係を示し、ともに白血球数が少なくなるにつれその検出率は幾分低下する傾向を見せている。また遠心沈澱を行なつて標本を作製すると、然らざる場合に比してやはり検出率は悪くなるように思われる。

4) 細菌に対する影響

これまでの実験の結果から、尿中白血球の検出に関しては 1,500回転、10分、デカント法は白血球検出率が最も高く、しかもその場合の変動係数がさして大きくないことから、最も優れた方法であると考えられる。しかし、白血球とともに尿中に含まれる細菌に関しては全く検討がなされていない。そこで、最後にこの条件で標本を作製した場合の尿中細菌の検出率を検討した。

供試菌としては E. coli K-12 株と Staphylococcus 209 P 株を用い、これの overnight broth culture (菌数約 10^8 /ml) を原液として用いた。菌数の算定は10倍稀釈系列による平板塗抹法で行ない、培地は E. coli では Desoxycholate 培地、Staphylococcus では Staphylococcus 培地110番を用いた。なお稀釈および細菌の浮遊にはすべて生理的食塩水を使用した。

まず、E. coli K. 12株および Staphylococcus 209 P 株の overnight broth culture を生理的食塩水で 10^{-1} 、 10^{-4} 、 10^{-6} に稀釈することにより、それぞれ約 10^8 、 10^5 、

10^3 /ml の細菌を含む菌液10ml を作製した。稀釈系列はそれぞれの細菌について2系列ずつ作り、これを 1,500回転、10分間遠心し、デカント法により上清を捨てた後、一系列はそのままメチレンブルー単染色標本作製に用い、他の一系列は再び生食を加え総量を10mlとして、菌数を算定するために用いた。

細菌塗抹標本の所見は第3表に示すごとくで、まず E. coli について見ると、 10^{-1} 菌液 (菌数約 10^8 /ml) では視野一面に多数の桿菌が見られ、 10^{-4} 菌液 (菌数約 10^5 /ml) では毎視野少なくとも10コ以上の桿菌が認められる。また、 10^{-6} 菌液 (菌数約 10^3 /ml) では10視野に1コ以上の桿菌が認められている。

一方、Staphylococcus について見ると、 10^{-1} 菌液では視野一面に多数の球菌を認め、 10^{-4} 菌液では 毎視野 1 ～ 2 コ以上の球菌を認めるが、 10^{-6} 菌液では全く細菌を認めない。

通常、尿路感染症を有する患者の尿中細菌数は 10^5 /ml 以上であるので、1,500回転、10分、デカント法で細菌塗抹標本を作れば起炎菌が球菌、桿菌のいずれであつても毎視野 1 コ以上の細菌が認められるわけである。

次に、1,500回転、10分間の遠心沈澱、およびデカント法により上清を捨てることが実際の菌数におよぼす影響を第4表および第7図に示す。なお図表中の百分比は、稀釈菌液の菌数に稀釈倍数を乗じてから原液の菌数に対する百分比として求めている。

E. coli, Staphylococcus とともに稀釈倍数が大きくなる程菌数は減少する傾向を示し、この傾向は Staphylococcus において著しい。この菌数減少の原因としては、デカント法により上清を捨てる際に細菌が流出するためか、あるいは遠心沈澱により細菌が一部死滅するた

第3表 菌数と細菌塗抹標本所見 1,500回転 10分 デカント法

供 試 菌 株	被 験 液	細菌塗抹標本所見			被験液の菌数
		標 本 1	標 本 2	標 本 3	
E. coli K-12株	10^{-1} 菌液	視野一面に多数の桿菌を認める	視野一面に多数の桿菌を認める	視野一面に多数の桿菌を認める	112.7×10^6
	10^{-4} 菌液	毎視野20～30コの桿菌を認める	毎視野約10コの桿菌を認める	毎視野約10コの桿菌を認める	112.7×10^3
	10^{-6} 菌液	約10視野に1コの桿菌を認める	4～5視野に1コの桿菌を認める	3～4視野に1コの桿菌を認める	112.7×10
Staphylococcus 209 P 株	10^{-1} 菌液	視野一面に多数の球菌を認める	視野一面に多数の球菌を認める	視野一面に多数の球菌を認める	108.3×10^6
	10^{-4} 菌液	毎視野5～6コの球菌を認める	毎視野7～8コの球菌を認める	毎視野1～2コの球菌を認める	108.3×10^3
	10^{-6} 菌液	全く細菌を認めない	全く細菌を認めない	全く細菌を認めない	108.3×10

表4 細菌に対する遠沈の影響〔1〕 1,500回転 10分 デカント→生食浮遊

供 試 菌 株	被 験 液	菌 数			菌 数 平 均	稀 釈 倍 数	原液の菌数に 対する百分比
		1	2	3			
E. coli K-12株	原 液	106	90	142	112.7×10^7	$\times 1$	100%
	10^{-1} 菌液	116	74	104	98.0×10^6	$\times 10$	87.0
	10^{-4} 菌液	46	27	32	35.0×10^3	$\times 10^4$	31.1
	10^{-6} 菌液	21	16	17	18.0×10	$\times 10^6$	16.0
Staphylococcus 209 P 株	原 液	104	118	103	108.3×10^7	$\times 1$	100%
	10^{-1} 菌液	54	38	42	44.7×10^6	$\times 10$	41.2
	10^{-4} 菌液	27	16	17	20.0×10^3	$\times 10^4$	18.5
	10^{-6} 菌液	1	3	2	2.0×10	$\times 10^6$	1.9

第5表 細菌に対する遠沈の影響〔2〕 1,500回転 10分 上清捨てず

供 試 菌 株	被 験 液	菌 数			菌 数 平 均	稀 釈 倍 数	原液の菌数に 対する百分比
		1	2	3			
E. coli K-12株	原 液	106	90	142	112.7×10^7	$\times 1$	100%
	10^{-1} 菌液	112	82	98	97.3×10^6	$\times 10$	86.4
	10^{-4} 菌液	106	94	82	94.0×10^3	$\times 10^4$	83.4
	10^{-6} 菌液	114	100	74	96.0×10	$\times 10^6$	85.2
Staphylococcus 209 P 株	原 液	104	118	103	108.3×10^7	$\times 1$	100%
	10^{-1} 菌液	122	1	111	114.0×10^6	$\times 10$	105.2
	10^{-4} 菌液	98	107	136	113.7×10^3	$\times 10^4$	104.9
	10^{-6} 菌液	108	76	96	93.3×10	$\times 10^6$	86.2

第7図 細菌に対する遠沈の影響〔1〕
1500回転10分 デカント→生食浮遊

めと考えられるので、次に遠沈のみを行ない上清は捨てず、遠沈後沈渣と上清とをよく混和した菌液について菌数算定を行なった。

その結果は第5表および第8図に示すごとく、E. coli, Staphylococcus とともに菌数の変化はほとんど認められない。したがって、先の実験で見られた菌数の減少は上清を捨てる際に細菌の一部が流出するために起つたもので、その際、菌液の菌数が少ない程流出する細菌の

第8図 細菌に対する遠沈の影響〔2〕
1500回転10分 上清捨てず

比率は大きいものと考えられる。

5) 尿沈渣所見の意義と表現方法

上述のごとく、このような方法で尿沈渣標本を作成した場合、塗抹標本で少なくとも毎視野10以上の細菌が認められれば 10^5 /ml以上の有意の細菌尿と判定してよいわけであるが、新鮮標本における血球数の意義についての精確な実験は今回は行なっていない。われわれはすでにこの方法を routine work として臨床治験や日常診療に

表 6 尿沈渣所見の表現方法

赤血球及び (対物40×)	
全視野が血球で埋まっている	卅
血球の占める面積が視野の 2/3	卅
血球の占める面積が視野の 1/3 まで	+
30個/視野以下は数を記載	( )/( ) S F
細菌 (対物90×油浸)	
視野全体に無数	卅
集塊状に散在	卅
各視野にみられる	+
よく探さないとみつからない	±

応用しているが、臨床診療上の経験では、赤血球、白血球ともに、少くとも毎視野1コ以上認められた場合には異常と判定しうるようである。この方法による尿中血球数の正常限界の決定と、膿尿の程度の変化の臨床的意義の解明は今後の問題であるが、その一階段として尿沈渣所見の表現方法の統一が必要である。われわれが現在用いている方法は第6表に示した。

IV. 結 語

尿路感染症に対する化学療法剤の臨床効果を判定する際に最も重要と考えられる尿沈渣の検査法に関し、尿沈渣標本作製上の各種条件について検討した結果次の結論を得た。

- 1) 1,500回転、10分間の遠心沈澱後、デカント法により上清を捨て、1 cc容量駒込ピペットで少くとも20回以上吸出混和し、そのまま同じピペットでその約1/2滴をのせガラスにのせる。この方法が白血球の検出率は最も高い。
- 2) この場合の標本変動係数は42%で、他の条件のそれに比し高い値ではない。

3) この条件で細菌塗抹標本作製した場合、菌数が10⁵/ml 以上あれば確実に毎視野1コ以上の細菌が観察出来る。

4) 今後この条件における正常限界の決定、および膿尿の程度の変化の臨床的意義の解明が必要であるが、同時に沈渣所見の表現方法の統一も大切である。その為現在われわれの用いている表現方法を明かにした。

稿を終るに臨み、推計学的処理に協力いただいた塩之義製薬解析センター町原英氏に心から感謝します。

(本論文の要旨は昭和43年11月、第17回日本化学療法学会東日本支部総会において報告した。)

文 献

- 1) 石山俊次 (司会) : 抗生物質感受性測定 of 臨床的意義、特に臨床効果判定の基準化、第13回日本化学療法学会総会、パネルディスカッション、昭和40年6月。
- 2) 上田泰 (司会) : 菌感受性と臨床効果(その2)、第12回日本化学療法学会東日本支部総会、シンポジウム、昭和40年9月。
- 3) 塩田憲三 (司会) : 化学療法の臨床効果判定基準、第14回日本化学療法学会総会、シンポジウム、昭和41年5月。
- 4) 上田泰 (司会) : 化学療法剤の効果判定基準、第15回日本化学療法学会総会、シンポジウム、昭和42年6月。
- 5) 高安久雄他 : 化学療法剤の効果判定基準について、日泌尿会誌、57 : 491~495, 1966。
- 6) 大越正秋 (司会) : 尿路感染症治療の判定基準、第34回日本泌尿器科学会東部連合地方会、パネルディスカッション、昭和44年10月。
- 7) 西浦常雄他 : 尿路感染症における薬剤の感受性とその臨床効果 (その1)、治療、47 : 1309~1316, 昭和40。
- 8) 北川敏男 : 実験計画法講義 I、基礎編(1)、pp. 125, 培風館、東京、1955。

(昭和45年3月13日受付、特別掲載)