

[短 報]

腎盂腎炎における尿グラム染色フォローによる早期耐性菌予測の検討

阿部昌文¹⁾・吉川聡司¹⁾・三枝万紗²⁾・上田剛士¹⁾

¹⁾ 洛和会丸太町病院救急総合診療科

²⁾ 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ内科

(令和4年1月12日受付, 令和4年5月13日受理)

腎盂腎炎における抗菌薬治療の効果判定はこれまで臨床経過と培養結果を参考にして行われてきた。我々は抗菌薬治療開始後48時間以内に尿グラム染色フォローをすることで、より早期に耐性菌を予測できるかどうかを検討した。当科で最近6.5年間に腎盂腎炎として入院加療を行った271例を集計した結果、フォロー時のグラム染色で菌体が残存していた場合の耐性菌予測における診断特性は感度41%、特異度82%、陽性尤度比2.32、陰性尤度比0.71であった。特に菌体が伸長していた場合には早期耐性菌予測に繋がる可能性があり、今後更なる検討が必要である。

Key words: 尿グラム染色, 腎盂腎炎, フォロー

序 文

尿路感染症は臨床現場で非常によく遭遇する感染症の1つであるが、初期治療に使用する抗菌薬の選択にはしばしば悩まされる。広域抗菌薬を用いれば治療失敗の確率は低下するが、その一方で細菌の耐性化が問題となるため可能な限り狭域抗菌薬での治療開始が望ましい。培養の結果が判明するまでは臨床経過から抗菌薬の効果判定を行うことになるが抗菌薬変更のタイミングに関する具体的な基準はない。数日間の臨床経過から判断するよりも迅速かつ正確に抗菌薬の効果判定ができる方法があれば大変有益である。そこで我々は治療開始後の尿グラム染色をフォローすることで耐性菌を予測できるかどうかを検討した。

対 象

2013年4月1日から2019年10月8日までの期間、洛和会丸太町病院において退院時診断名が『腎盂腎炎』である症例を抽出した。なお、常在菌の混入による影響を最小限にするために初診時尿のグラム染色で陰性桿菌を認める症例のみを解析対象とした。

方 法

抗菌薬開始前と開始後48時間以内の尿グラム染色結果と使用抗菌薬に対する尿培養同定菌の薬剤感受性結果について

解析を行った。グラム染色は全てHuckerの変法で行った¹⁾²⁾。グラム染色で染色性や形態が単一ではない場合においては、抗菌薬の効果判定の評価は陰性桿菌のみを対象に行った。フォローのグラム染色では菌体の変化を残存、膨化、伸長、消失の4通りで記録し、菌体の膨化と伸長については残存として数えた。感受性結果は使用抗菌薬に対して(S): susceptible, (R): resistant, (I): intermediateの3通りで記録し、(I)については臨床現場で抗菌薬変更を行う可能性が高いため、(R)と同様に扱った。また、尿培養でグラム染色性・形態が同一のものが2菌種以上同定された場合(*Escherichia coli*と*Klebsiella pneumoniae*など)は使用抗菌薬がそれら全ての菌種に対して効果があるかどうかを記録した。つまり1菌種でも(R)もしくは(I)ならばその他の菌が(S)でも(R)と記録した。グラム染色フォローまでに抗菌薬を変更した場合や2種類以上の抗菌薬を併用している場合は投与回数に関わらず、投与された全ての抗菌薬に対して(R)もしくは(I)の場合にのみ、耐性菌とみなした。

本研究は洛和会丸太町病院倫理委員会(承認番号2020-15)の承認を得ている。

結 果

合計271人が該当症例となった。年齢の中央値は83歳(11-101歳)で204人(72%)が女性であった。検出された陰性桿菌の種類とその割合を図1に示す。271例中、陰性桿菌が複数検出された症例は24例であった。その他、初期治療に使用された抗菌薬を図2に示す。初診時に尿グラム染色で陰性桿菌のみを認めていた症例は200例であった。グラム染色フォローにおける菌体変化と抗菌薬感受性結果を表1に示す。また、陰性桿菌が伸長していたものは271例中9例認めていた。伸長していた9例の感受性結果は(R)が6例、(S)が3例であった。

以上から、グラム染色フォロー(菌体が残存していた場合)の耐性菌予測における診断特性は感度41%、特異度82%、グ

この論文の査読前原稿が、2020年12月14日、プレプリントサーバー Research Square に、掲載されました。
<https://www.researchsquare.com/article/rs-119706/v1>

著者連絡先: (〒604-8401) 京都府京都市中京区京都市聚楽廻松下町9-7
洛和会丸太町病院救急総合診療科
阿部昌文
TEL: 075-801-0351
E-mail: kyokui080002@gmail.com

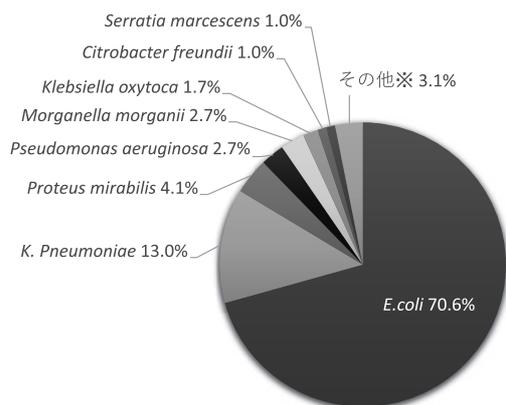


図1. 検出されたグラム陰性桿菌の種類とその割合† (n=292)
注) ※その他には *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Oligella urethralis*, *Providencia stuartii*, *Bacteroides fragilis*, *Proteus vulgaris* が含まれる。
† 割合は小数第2位を四捨五入した値である。

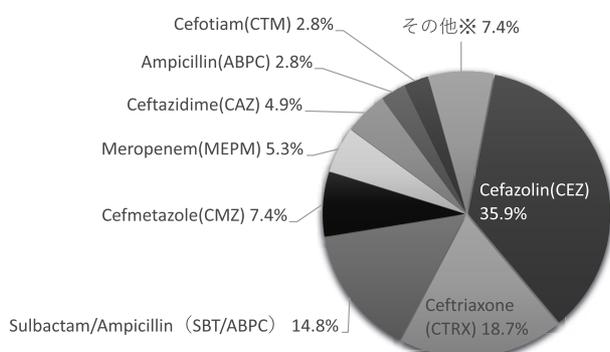


図2. 初期治療に使用した抗菌薬の種類とその割合 (n=284)
注) ※その他には Piperacillin (PIPC), Cefotaxime (CTX), Vancomycin (VCM), Cefepime (CFPM), Ciprofloxacin (CPFX), Tazobactam/Piperacillin (TAZ/PIPC) が含まれる。

グラム陰性桿菌のみの群で感度 37%, 特異度 82% であった(表2)。また、陰性桿菌が伸長していた場合の耐性菌予測における診断特性感度 9.5% (2.3-16.8), 特異度 98.6% (96.9-100) であった(表3)。伸長していた症例は9例中8例が *E. coli* であり、使用された抗菌薬は Cefazolin (CEZ) または Ceftriaxone (CTR) であった。菌体の膨化は2例観察され、どちらも *E. coli* であり、使用された抗菌薬は Piperacillin (PIPC) または CEZ であった。

考 察

これまでに尿路感染症における尿グラム染色の有用性を研究した文献は複数存在する。例えば、小児の尿路感染症における尿グラム染色の診断特性は感度 91% (95% CI: 0.86-0.96), 特異度 96% (95% CI: 0.92-0.98) であり、尿定性・尿沈渣検査より優れていることが報告されている³⁾。また、尿グラム染色が尿路感染症初期治療における適切な抗菌薬選択に繋がるという報告もある⁴⁾。しかし、過去の報告の多くは診断における有用性を研究したものであり、本研究のように抗菌薬の効果判定にグラム染色が有用かどうかを調査した研

表1. グラム染色フォローにおける菌体変化と抗菌薬感受性結果

	菌体変化	(R)	(S)
全例 (n=271)	残存	26	37
	消失	37	171
グラム陰性桿菌のみ* (n=200)	残存	16	29
	消失	27	128

注) (R): resistant, (S): susceptible, *初診時グラム染色の観察結果

究は我々が渉猟し得た限りでは発見できなかった。

腎盂腎炎は適切な治療が行われれば多くの場合で治療開始後3日以内には臨床症状(熱, 悪寒, 嘔気, 側腹部痛など)が改善することがわかっている。一方, 治療2日目には26%, 治療3日目には13%の症例が解熱していない⁵⁾。したがって, 臨床経過だけでは治療開始3日目までは抗菌薬の効果を正確に判断できない。さらに尿培養の同定ならびに細菌の抗菌薬感受性結果は得られるまでに日数がかかるため, 迅速に評価可能なグラム染色フォローの意義は大きい。

本研究の結果からフォローのグラム染色で菌体が残存していた場合, 特に伸長した菌体を認める場合は耐性菌である可能性が高いため, 抗菌薬の広域化を検討してもよいかもしれない。一方でフォローグラム染色において菌体が消失していることを抗菌薬狭域化の唯一の根拠にすべきではなく, 従来どおり培養結果が出るまでは臨床経過を参考にして抗菌薬の効果判定をおこなう必要がある。

グラム染色フォローが耐性菌検出に対して感度が低い原因としては, 観察した視野数やフォローのタイミングの影響があるのかもしれない。本研究では観察にける時間や観察視野数を統一していないため, 臨床経過がよい症例の時は数視野の観察のみで終えてしまった可能性がある。それ故, 耐性菌が残存しているのにも関わらず消失とみなされた症例が生じて感度の低下に繋がった可能性がある。さらにフォローのタイミングを48時間以内としているため, 長時間抗菌薬に細菌が暴露されることで耐性菌であっても消失してしまった可能性もある。より早期にフォローすれば耐性菌の残存を検出できたかもしれない。

大腸菌に感受性のある抗生剤を暴露させた時, 菌体は徐々に伸長していき70分程度で溶解することが知られている⁶⁾。そうであれば, 伸長している菌体の存在は抗菌薬が効いていることを示しているようにも思えるが, Cefotaxime (CTX) 耐性大腸菌にCTXを暴露させた時にも同様の伸長変化がみられることが報告されている⁷⁾。したがって, 伸長変化自体は感性菌や耐性菌の予測に利用できないが, 長い時間抗菌薬に暴露されているのにも関わらず菌が溶解せずに伸長したまま残存していることは耐性菌の存在を示唆する可能性がある。本研究では多くの症例が入院翌日にフォローされているため長い時間の抗菌薬暴露を受けている例が多い。その結果, 伸長している細菌をフォローで認めた時には耐性菌の確率が高かったと考えた。

本研究の限界としては以下の4点があげられる。1つ目は前述の通りグラム染色の観察視野数・観察時間を統一していないことである。臨床経過の良し悪しによって観察時間や観

表2. グラム染色フォローで菌体が残存していた場合の耐性菌予測

	感度	特異度	LR+	LR-
全例 (n=271)	41% (29-53)	82% (77-87)	2.32 (1.53-3.51)	0.71 (0.58-0.89)
グラム陰性桿菌のみ* (n=200)	37% (23-52)	82% (75-88)	2.01 (1.21-3.35)	0.77 (0.60-0.98)

注) () 内は95%信頼区間を表す, *初診時グラム染色の観察結果

表3. グラム染色フォローで菌体が伸長していた場合の耐性菌予測

感度	特異度	LR+	LR-
9.5% (2.3-16.8)	98.6% (96.9-100)	6.60 (1.70-25.7)	0.92 (0.85-1.00)

注) () 内は95%信頼区間を表す。診断特性は全例 (n=271) データから算出。

察視野数が異なった可能性がある。2つ目は症例の抽出を退院サマリ最終診断名で行ったため、閉塞性腎盂腎炎や腎膿瘍なども含まれていることである。また、患者背景を調査していないため尿閉やバルーン留置中の症例も含まれており、症例間で菌体や尿のドレナージの程度に差が生じた可能性がある。最後はグラム染色フォローのタイミングを統一していないことだ。本研究の多くの症例 (271 例中 263 例) が入院翌日にフォローされているが入院した時間によってフォローまでの時間にばらつきが生じている。適切なフォローのタイミングを設定できれば、診断特性はより高い可能性がある。

結論として、腎盂腎炎において治療開始48時間以内の尿グラム染色フォローで菌体の残存や伸長を認めれば、耐性菌の存在を考慮する必要がある。今後、更に正確な診断特性を知るためには観察時間やフォローするタイミングの統一などを行った上での調査が必要だろう。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) Hucker, GJ. 1921. A new modification and application of the Gram stain. *J Bacteriol* 6: 395-397.
- 2) Bartholomew, JW. 1962. Variables influencing results, and

the precise definition of steps in Gram staining as a means of standardizing the results obtained. *Stain Technol* 37: 139-155.

- 3) Williams, GJ, P Macaskill, SF Chan, et al. 2010. Absolute and relative accuracy of rapid urine tests for urinary tract infection in children. a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 10 (4): 240-250.
- 4) Kuijper, EJ, J van der Meer, MD de Jong, et al. 2003. Usefulness of Gram Stain for Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infection or Urinary Tract Infection and as an Aid in Guiding Treatment. *Infect Dis* 22 (4): 228-234.
- 5) Johnson, JR, MF Lyons, W Pearce, et al. 1991. Women Hospitalized with Acute Pyelonephritis: A Randomized Trial of Ampicillin versus Trimethoprim-Sulfamethoxazole for 14 Days. *Infect Dis* 163 (2): 325-330.
- 6) Yao, Z, D Kahne, R Kishony. 2012. Distinct single-cell morphological dynamics under beta-lactam antibiotics. *Mol Cell* 48 (5): 705-712.
- 7) Kjeldsen, TSB, MOA Sommer, JE Olsen. 2015. Extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* forms filaments as an initial response to cefotaxime treatment. *BMC Microbiol* 15: 63.

Prediction of antimicrobial resistance by follow-up urinary gram-stain for pyelonephritis

Masafumi Abe¹⁾, Satoshi Yoshikawa¹⁾, Kazusa Saegusa²⁾, Takeshi Ueda¹⁾

¹⁾ Department of Emergency and General Internal Medicine, Rakuwakai Marutamachi Hospital

²⁾ Department of Allergy and Rheumatology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

The effectiveness of antibiotic therapy for the treatment of pyelonephritis is typically evaluated by the clinical course and results of urine culture. The purpose of this study was to evaluate the usefulness of follow-up urinary gram-stain. We analyzed the results of hospitalized pyelonephritis patients treated in our department. We investigated whether follow-up urinary gram-stain within 48 hours after initiating antibiotic treatment can help predict resistance to antibiotics at an early stage. 271 patients were enrolled in the study. The diagnostic accuracy of using follow-up gram-stain to predict the presence of antibiotic-resistant bacteria was as follows: sensitivity: 41%, specificity: 82%, positive likelihood ratio: 2.32, and negative likelihood ratio: 0.71. In particular, elongated cells may lead to early prediction of resistant bacteria, and further studies are needed.