

急性膀胱炎における尿培養の意義と尿路の microbiome

滝川市立病院泌尿器科¹⁾ 札幌医科大学泌尿器科学講座²⁾ 東邦大学医学部微生物・感染症学講座³⁾

松川 雅 則^{* 1)}・酒 井 康 之¹⁾²⁾・青木弘太郎³⁾・石 井 良 和²⁾

(受付日: 2022 年 7 月 22 日)

抄録:

この総説は、急性膀胱炎様症状を示す尿培養陰性症例について研究する背景となった、尿培養結果の意義、および尿路の microbiome について解説したものである。19 世紀後半に純粋培養法が確立されると、尿培養はすぐに臨床に応用された。尿路の解剖学的特性から、外陰部常在菌の汚染と、真の病原性細菌を区別する必要があり、一定の尿中生菌数を閾値に設定する有意な細菌尿という概念、具体的には 10^5 CFU/ml、が急性腎盂腎炎について導入された。しかし、膀胱炎では 10^2 CFU/ml でも起因菌の場合がありうるものの、実用的な 10^4 CFU/ml 前後が現在用いられている。一方、臨床的には急性膀胱炎と区別がつかないが、尿培養陰性の症例が 20-40% 程度に認められ、定量 PCR で検出される培養不能の大腸菌を主因とする研究もあるが、その実態は不明なままである。さらに、近年の研究手法の進歩、培養法の改良と、次世代シーケンサー (next-generation sequencer, 以下 NGS) を利用した DNA 配列決定により、長らく「無菌」であると信じられてきた健常尿路にも定着する微生物集団, microbiome が存在し、尿路感染症のみならず、切迫性尿失禁や、膀胱疼痛症候群や、尿路性器癌との関連が研究されている。(西日泌尿. 85 : 7-18, 2022)

キーワード: 急性膀胱炎, 尿培養陰性, 有意な細菌尿, 尿路マイクロバイオーーム

序 論

この総説は、第 73 回西日本泌尿器科学会総会で「急性膀胱炎様症状を示す尿培養陰性症例の尿生化学および微生物学的検討」として発表した演題を研究する背景となった、尿培養結果の意義、および通常の尿培養では検出できない尿路に定着する微生物, urinary microbiome (以下, UMB) について解説したものである。

尿培養の歴史と臨床への応用

女性に発症する急性単純性膀胱炎は、日常診療で最も多く遭遇する細菌感染症の一つである¹⁾。その臨床診断は、特徴的な下部尿路症状と、膿尿の存在によって可能²⁾とされる。しかし、尿中起因菌検出法としては、尿培養が今もゴールドスタンダードであり続けている。歴史を振り返ると、1881 年に Robert Koch³⁾ が病原細菌を平板培地上で分離する純粋培養法を発表し、この画期的な病原体分離手段は尿路感染症の診断にも応用されたと

考えられる⁴⁾。Koch は、その 2 年後には希釈系列を用いた定量培養法も開発し、1941 年には Marple⁵⁾ が尿検体に応用している。

有意な細菌尿の概念、汚染菌と起因菌の弁別の問題点

培養の検体として尿を採取する際には、その採取経路に存在する細菌による汚染という問題が付きまとう。特に女性の外陰部にはある程度のバイオマスを有する細菌叢が存在⁶⁾し、中間尿では稀ならず、仮に導尿した場合でも、尿中に混入する可能性はある。恥骨上皮膚から膀胱に直接穿刺針を刺入して尿を採取すると外陰部からの汚染は回避できるが、侵襲的であり、日常的に実行可能なものではない。しかも、厳密に言えば皮膚の細菌叢の影響を受ける可能性もある。この、起因菌と汚染菌の判別問題の現実的解決法として用いられてきたのが、先述した定量的培養、すなわち尿中生菌数によって起因菌と汚染菌を判別する方法である。筆者の知る限り、これは Kass⁷⁾ が 1956 年に発表した論文が最初である。Kass は 74 例の急性腎盂腎炎による入院患者の尿中生菌数を調べ、その 95% が 10^5 CFU/ml 以上であるのに対して、

* 〒073-0022 北海道滝川市大町 2 丁目 2 番 34 号
TEL 0125-22-4311, FAX 0125-24-6010
E-mail : matsuk-uro@med.takikawa.hokkaido.jp

無症候性細菌尿 337 例の外来患者では 6% に過ぎないことを示した。これ以降、 10^5 CFU/ml という閾値、有意な細菌尿という概念が尿路感染症全般を対象に拡大して適応された。しかし、その後、下部尿路感染症では、それ以下の尿中生菌数密度であっても、臨床的な急性膀胱炎である例が多い^{8,9)}ことが報告された。1982 年になって、恥骨上穿刺尿検体と中間尿の比較により 10^2 CFU/ml が症候性膀胱炎の診断には十分であると Stamm ら¹⁰⁾は主張した。Kunin ら¹¹⁾は、症候性膀胱炎患者の 32.5% が 10^5 CFU/ml 以上で 10^2 から 10^4 CFU/ml が 45.8% であるのに対し、無症候の女性では、 10^5 CFU/ml 以上が 3.1%、 10^2 から 10^4 CFU/ml が 10.2% であり、そのオッズ比を検討し、その主張を裏付けた。さらに、Hooton ら¹²⁾は、中間尿で大腸菌が 10^2 から 10^4 CFU/ml のレベルで検出されれば導尿の検体と合致するが、中間尿で腸球菌や B 群連鎖球菌が同レベルで検出されても、導尿検体と一致せず、菌種によって適応される陽性判定基準が異なることを示した。

しかし、抗菌薬の効果を評価する際の尿路感染症患者の組み入れ基準として 10^3 - 10^5 CFU/ml^{13,14)}や 10^5 CFU/ml¹⁵⁾が用いられたことや、 10^2 CFU/ml では汚染した非尿路病原性細菌を検出する可能性が高いこと、また検体採取の厳密性の担保¹⁶⁾や細菌検査室の業務負担の問題などから、 10^2 CFU/ml という培養陽性の判定基準は、日常診療では用いられていない。おそらく、多くの臨床検査室では 10^4 CFU/ml に達しない検体は、「陰性」と判定している¹⁷⁾ものと思われる。このような状況で、尿培養陰性という点以外は同様の臨床像と膿尿を有する例が相当数存在することが報告されている。その頻度は、 10^4 CFU/ml 以上を組み入れ基準としたもので 4264 例中 25.4%¹⁸⁾、 10^5 CFU/ml 以上では 300 例中 37.7%¹⁹⁾、European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases の基準²⁰⁾を用いたものでは 265 例中 20.7%²¹⁾、 10^2 から 10^4 CFU/ml では 220 例中 19.1%²²⁾であり、20-40% 程度である。この病態は、urethral syndrome²³⁾または dysuria-pyuria syndrome²⁴⁾として扱われてきた。その原因として *Chlamydia trachomatis*²³⁾の関与を示唆するものや、通常は尿路非病原性とされる *Gardnerella vaginalis* が原因とする報告²⁵⁾があるが、特定に至っていない⁹⁾。最近、Heytens ら²²⁾は、膀胱炎症状を有する 220 例中 42 例の培養陰性例で、その尿中から大腸菌の遺伝子の一部を 42 例中 38 例に検出し、陰性例の大部分には通常の培養法では検出できない大腸菌が存在すると報告した。しかし、培養陰性で急性膀胱炎症状を有する症例の病態は完

全に解明されたとは言えず、尿路病原性細菌や後述するように尿路の microbiota はともに多様であり、網羅的な研究手法で、その病因を検討する必要性がある。

尿路病原性細菌の条件

上述したような有意な細菌尿の概念が抱える、もう一つの厄介な問題として、尿路病原性細菌と非病原性細菌の弁別を数量のみに帰して良いのか、すなわち一定数以上の生菌数を示せば、その細菌は起因菌とみなしてよいかという点がある。実際の臨床検査室では、外陰部の常在細菌叢に属する細菌が分離されれば、汚染菌として報告することが日常的に行われ、それは多くの場合妥当だと思われる。しかし、*Corynebacterium urealyticum*²⁶⁾、嫌気性菌²⁷⁾、*Methylobacterium* 属細菌²⁸⁾、*Actinotignum* 属細菌^{29,30)}などの尿路生殖器定着菌 (microbiome として後述) の一部が尿路感染症起因菌となりうるということが報告されているため、菌種 (特に属のレベル) のみの情報からそれが起因菌ではないとは断言できないことも事実である。従来の標準的培養法では見逃されてきた *Aerococcus urinae*³¹⁾などの存在も考慮に入れる必要がある。さらに、尿路病原性の問題は、菌種による判別の問題にとどまらず、大腸菌という種の中でも違いがみられる。尿路病原性を単一で決定可能な因子は、今のところ同定されておらず、細菌がその病原性因子を発現させるかどうか、発現させたとして宿主の防御機構を凌駕するかどうかは、複合的かつ相対的なものである³²⁾。

生きてはいるが培養できない微生物

また、臨床像や膿尿の存在から膀胱炎を疑って行った尿培養が陰性となる病態は、まず、症状を起こしている原因が培養可能な微生物ではない、あるいは感染症ではない可能性がある。さらに敷衍すると、培養陽性で検出された細菌であっても、実は症状を惹起しておらず、過活動膀胱等が真の原因である場合もありうる。この点については、この総説の主題から外れるためこれ以上議論しないが、尿定量培養の抱える問題点の一つである。

何らかの感染症である場合、起因微生物が尿中には存在しないか、存在はするが培養によっては検出できない状態であることが考えられる。尿中に存在しない場合は、尿を対象とした検査に関する議論の俎上に載せることはできない。しかし、存在はするが培養不能の場合は、本来培養で検出可能な細菌が、検体の取り扱いや尿の物理化学的性状などに原因があり¹⁶⁾、培養不能な状態に陥っている場合と、そもそも培養が困難ないし不可能な細菌または病原体である場合に細分できる。前者を狭義の

viable but nonculturable (VBNC) 状態と呼び³³⁾、大腸菌を含む数多くの病原細菌がとりうるということが知られている。その機序は完全には解明されていないが、低温や水道水殺菌に用いられる塩素への暴露³⁴⁾などのストレスが誘因と考えられている。VBNC 状態は、通常の状態の細菌にとっては致死的な抗菌薬などの環境負荷に抵抗性³⁵⁾を示し、かつ高温刺激によりコロニー形成能を回復させることが知られている。また、後者のそもそも培養が困難ないし不可能な細菌はごく一般に存在する³⁶⁾。環境生態学の分野では、例えば海水中の顕微鏡で観察可能な全細菌のうち、寒天培地で生育可能な微生物は僅か0.1%に過ぎず³⁷⁾、培養可能な細菌はむしろ例外的とされる。この機序として、遅い生育速度や低い生育密度、高い物理化学的生育条件の要求性、他の生物/微生物との共生関係等が考えられている³⁶⁾。人体に定着しないし病原性を示す微生物にそのまま外挿することはできないが、今まで我々が親しんできた大腸菌のような培養が容易な微生物は、実際には少数で特別であると言えることができる。

Microbiome の定義と歴史

細菌を検出する手段が、培養主体であった時代、ヒトの各部位に定着する細菌は normal flora (常在細菌叢)と呼ばれていた。近年、核酸による同定が主体となると、microbiome や microbiota と呼ばれる事が一般的となった印象を受ける。両者の違いには曖昧な部分もあるが、通常 microbiota は、生態系における生きた微生物の種の集合を意味し「微生物叢」と訳されることが多い。一方、microbiome も同様に「微生物叢」と訳されるが、microbiota に属する、すべての遺伝子、あるいは遺伝的情報の集合という意味⁶⁾を持ち、ニュアンスの違いがある。

NGS を始めとする技術革新による遺伝子配列決定に要する時間短縮と費用逓減により、多様な遺伝子を迅速に決定できるようになった。これが2012年の human microbiome project による発表³⁸⁾に繋がった。推測では、人体には500-1000種に分類される 3.8×10^{13} 個の微生物が定着³⁹⁾している。腸管の microbiota だけをとり、その総重量はヒト1個体あたり200g³⁹⁾に達し、それらの微生物が有する遺伝子の総数はヒトゲノムの150倍⁴⁰⁾に及び、食物の消化や病原微生物による感染の回避に重要な役割を果たしている⁴¹⁾。しかし、2012年の報告では、尿路は研究対象に含まれていなかった。おそらく、尿は無菌であるというそれまでの常識⁴⁾が影響したものと思われる。

Microbiome の主たる研究手段

確かに、自分が医学生だったか泌尿器科医になった頃、正常な尿は無菌であると教わった記憶がある。実際にそれは古くからある臨床的な dogma (教義)⁴⁾であり、つい10年ほど前までそう信じられてきた。しかし、近年の知見により、尿路は健常な状態でも「無菌」ではないことが明らかにされた⁴²⁻⁴⁴⁾。この事実を証明した研究手法は、2つに大別することができる。培養法の工夫による細菌培養陽性率を高める試みと、尿中に存在する微生物遺伝子の検出である。前者は、Hilt ら⁴³⁾による expanded quantitative urine culture (EQUC) であり、後者は metagenomics sequencing (微生物群集を培養することなく、検査材料から核酸を精製して、塩基配列を決定するもの。以下メタゲノム解析)である。EQUC protocol⁴³⁾は、尿検体量、培養時間、培地、好気/嫌気/高CO₂分圧など、様々な培養条件を組み合わせる尿培養を行うもので、従来の一般的な方法では培養できない尿路病原性細菌を分離⁴⁵⁾することを可能にするものである。一方、メタゲノム解析は、細菌に存在する16S ribosomal RNA (以下16S rRNA) 配列、およそ1500塩基をPCRによって増幅し、その amplicon (単位複製配列)による細菌種の同定を行うもの⁴⁶⁾と、より網羅的な shotgun metagenomic sequencing、すなわち材料中の全遺伝子配列の決定⁴⁷⁾、の二つがある。16S rRNA 配列決定では、PCRによる増幅を行うため個体数の少ない微生物の検出感度が高く、microbiota を決定する分類学的プロファイリングに適した手法である一方で、増幅対象遺伝子以外の情報を得ることができない欠点がある。Shotgun metagenomic sequencing は、網羅的な性格を有する microbiome を分析する際には不可欠の方法⁴⁸⁾だが、宿主由来の遺伝子情報を取り除く作業や、比較的低い検出感度の問題がある^{47,49)}。尿路感染症の核酸同定による診断法は、すでに臨床的に利用可能な段階にあり、16S rRNA や薬剤耐性遺伝子のPCR法による検出と shotgun metagenomic sequencing による検出が行われている⁵⁰⁾。しかし、メタゲノム解析では、細菌の生死の弁別が不可能であること、近縁細菌種の判別が困難な場合があること、耐性遺伝子の有無は分かっても in vitro の薬剤耐性は分からないこと、などの制約がある。EQUC では、メタゲノム解析で検出可能な細菌の72%しか同定⁵¹⁾できないが、継代可能な菌株を入手できる利点がある。目的に合致した手法を用いることにより、より精密な検討が可能となる。

Urinary microbiome の構成細菌

UMB については、既に多数の優れた総説^{6,52-56)}があり、詳細については、それらを参照されることをお勧めする。本総説では、主題と関連する研究を抜粋して紹介する。まず、UMB の biomass を microbial density in relevant units として表すと、尿路感染症がない場合 $10^3/\text{ml}$ から $10^5/\text{ml}$ 程度で、大腸の場合の $10^{11}/\text{ml}$ に比して、尿と糞便との違いもあって、非常に小さい⁶⁾。このため、検体の取り扱いやその分析手法には注意を要する⁵⁷⁾ことに留意されたい。そもそも、UMB の存在についての報告は 2010 から 2012 年の Nelson ら^{44,58)}、および Dong ら⁵⁹⁾ による男性の性感染症患者と健常者との比較に関連したものが最初と思われる。その後、間質性膀胱炎⁶⁰⁾、神経因性膀胱⁶¹⁾、骨盤臓器脱⁶²⁾ および切迫性尿失禁^{43,62,63)} についての報告が続いた。それらと、同様の研究の対照健常者^{61, 63-65)} の profile を総合すると、全ての健常個人に共通する核となる細菌種群の特定はできず、UMB には個体差が大きいことが明らかである^{55,61)}。他の主な研究結果^{42, 43,45,49,51,60,62-73)} を勘案しても、UMB は極めて多様性が高いと結論してよいと思われる。その中でも、最もよくみられる細菌属は *Lactobacillus* 属 と *Streptococcus* 属⁵⁵⁾ であり、ついで *Corynebacterium* 属、*Prevotella* 属、*Staphylococcus* 属が挙げられる⁶⁾。その他、*Gardnerella* 属、*Alloscardovia* 属、*Burkholderia* 属、*Jonquetella* 属、*Mobiluncus* 属、*Rhodanobacter* 属などもある程度の頻度で見られる⁵³⁾。

このような、UMB を構成する細菌の選択に影響する因子として、尿流の存在や尿中酸素分圧⁷⁴⁾などの物理学要因が考えられる。またヒト尿路内腔は glycosaminoglycan からなる層に覆われている⁷⁵⁾が、UMB の構成員である *Lactobacillus* や *Bifidobacterium* 属および *Streptococcus* 属細菌は、glycosaminoglycan を代謝可能な糖に分解できる酵素を発現⁷⁶⁾しており、生存に必要なエネルギー獲得手段なども要因となる。さらに重要な因子として、尿路の解剖学的特殊性、他部位の microbiota から受ける影響が考えられる。UMB には性差^{52,61)}があり、男性では皮膚の microbiome に関連する *Corynebacterium* 属が、女性では膣の microbiome に関連する *Lactobacillus* 属が⁵¹⁾、それぞれ優位とされる。Nelson ら⁵⁸⁾ は、亀頭冠状溝の microbiota と尿のそれとを比較し、*Lactobacillus* 属、*Veillonella* 属、*Aerococcus* 属、*Ureaplasma* 属、*Gardnerella* 属および *Mycoplasma* 属はほぼ尿のみにみられたとしている。Pearce ら⁷²⁾ は、尿路感染症の症状のない 182 例の女性

の経尿道的カテーテル法により採取された尿中の 16S rRNA の配列を検討し、93 例の検討可能症例の microbiota の優占的細菌属をもとに、*Lactobacillus* 属、*Gardnerella* 属、*Gardnerella* 属 / *Prevotella* 属、*Enterobacteriaceae* 属、*Staphylococcus* 属、*Aerococcus* 属および優占種を欠く Diverse からなる、microbiota profile の型を分類した。女性の UMB は、腸管のそれとは一部関連はしているものの全体の profile は異なるが、膣とは似通っており⁵¹⁾、特に *Escherichia coli*、*Streptococcus anginosus*、*Lactobacillus iners*、および *Lactobacillus crispatus* については系統学的近縁株を尿路および膣が共有している。このように、解剖学的に近接する部位の microbiota と UMB は、共通する部分が多い。尿検体の採取方法による違いについては、2012 年に Wolfe ら⁶²⁾ が、無症候女性の恥骨上穿刺と経尿道的カテーテル、中間尿、膣スワブ検体について、16S rRNA 遺伝子配列を用いて比較すると、中間尿では膀胱と膣由来の細菌が混在していたのに対し、経尿道的カテーテルと恥骨上穿刺は類似していることを示した。したがって、中間尿を検体とする研究は、UMB というよりは、より広く urogenital microbiome を対象としている⁵¹⁾と言える。

尿路感染症における UMB の役割

2014 年に、尿路感染症 23 例の WGS による検討が初めて行われた⁴²⁾。この論文では、優占する原因菌の他に、複数種からなる微生物集団を検出し、あわせて多数の薬剤耐性遺伝子を同定している。また、2018 年に Moustafa ら⁴⁹⁾ が 16S rRNA 配列 (116 検体) と shotgun metagenomics (49 検体) を併用した検討を行った。彼らは、尿路感染症患者由来の尿中には、*Proteobacteria* (細菌の分類群「門」の一つ、*Escherichia* 属、*Klebsiella* 属などの主要な尿路病原性細菌を含む) が優占的に存在することを示したが、尿培養結果との比較から、培養では検出できない場合でも *Escherichia* 属、*Klebsiella* 属、*Actinotignum* 属、*Atopobium* 属、*Gardnerella* 属、*Lactobacillus* 属、*Prevotella* 属などの細菌 DNA が同定されることを報告した。また、6 種類のウイルス (ヒトパピローマウイルス、BK ウイルス、JC ウイルスなど) をも見出しており、それらが UMB の一員として果たす役割について研究が必要であると指摘した。

尿路感染症で頻繁に問題となる再発の起因菌の由来は、主に三つからなるとされている。自身の腸管、尿路上皮、全くの外的要因である⁷⁷⁾。一つ目の、腸管が尿路病原

性大腸菌（以下, UPEC）の reservoir であること⁷⁸⁻⁸⁰⁾は、よく知られた事実である。168 例の腎移植患者の検討⁸¹⁾では、*Escherichia* 属、*Enterococcus* 属を 1% 以上の相対的個体数で腸内に保有する患者では、それぞれの細菌による細菌尿出現の頻度が高いことが示された。また、有熱性尿路感染症小児では健康小児に比べ *Enterobacter* 属細菌がより豊富に腸内に存在する⁸²⁾。二つ目の、膀胱粘膜上皮細胞内には、UPEC が quiescent cell として潜在⁸³⁻⁸⁵⁾し再燃の原因となるが、これは通常の抗菌化学療法では完全に死滅させることはできない⁸⁶⁾とされる。この quiescent cell の存在する尿路上皮に、*Gardnerella piotti* を暴露させることにより、大腸菌が再活性化する⁸⁷⁾。このことは、従来尿路病原性細菌とは考えられていなかった細菌が、尿路上皮の interleukin-1 を介した障害によって、再発性尿路感染症の発症の引き金となることを示唆している⁸⁸⁾。三つ目の外的要因については、再発性 UTI 患者ではその再発期間中特定の UPEC 菌株が糞便中に存在し続けている症例と、異なる菌株に変遷する場合があり⁸⁹⁾、後者の伝播経路を特定することは容易ではない。ただし、UPEC の近縁系統が、地域内発生患者で共有⁹⁰⁾されることが示唆されており、何らかの経路による伝播が考えられる。一方で、尿路感染症患者と対照健康者との UMB を比較した研究では、少数の運動能関連遺伝子をのぞいて尿路病原性因子の内容に著しい差がなかった⁹¹⁾。また、UMB の一員である *Corynebacterium glucuronolyticum*⁹²⁾、*Streptococcus gallolyticus*⁹³⁾、*Aerococcus sanguinicola*⁹⁴⁾ は日和見病原性を有することが知られており、UMB や腸内の microbiome を構成する細菌がどのような機序で尿路感染症を発症させるのか、今後の解明が待たれる分野である。

UMB 構成細菌間の相互作用

細菌検査室によっては、複数菌が分離された際に、尿道や膣の細菌叢による汚染と判断し、細菌の同定や薬剤感受性を手控えることがあると言われている。しかし、Willner ら⁷³⁾や Moustafa ら⁴⁹⁾によるメタゲノム解析では、通常培養で 1 菌種のみが培養された症例でも、複数菌感染症の可能性があると指摘されている。さらに、複数菌種間の病原性の増強⁹⁵⁾、特に UPEC と腸球菌の関係については動物実験レベルではあるが、相乗効果がみられる⁹⁶⁾。Keogh ら⁹⁷⁾は、*Enterococcus faecalis* の L-ornithine 産生を介した UPEC の鉄取り込み刺激による、病原性の相乗効果を報告している。このような相互関係が、培養可能細菌間だけではなく、難培

養ないし培養不能細菌との間でも存在する可能性がある。

抗菌薬の UMB に与える影響と Probiotics

抗菌薬投与により、腸管 microbiome 同様、UMB も影響を受ける。尿路感染症の発症を抑制する⁹⁸⁾若年健康女性の UMB の主要な一員である *Lactobacillus crispatus* が、metronidazole 投与により検出されなくなることが報告されている⁹⁹⁾。同様に、Mulder ら¹⁰⁰⁾は、抗菌薬の使用により、genitourinary microbiome 中で *Lactobacillus* 属や *Finegoldia* 属細菌が有意に減少することを明らかにした。その他、*Gardnerella* 属、*Atopobium* 属や *Sneathia* 属細菌が減少することが知られている^{70,101)}。Price ら⁴⁵⁾は、尿路感染症治療を経験した群と健康対照群を比較し、*Klebsiella pneumoniae*、*Streptococcus agalactiae*、*Aerococcus urinae*、*Enterococcus faecalis*、*Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus* および *Streptococcus anginosus* が UTI 群により豊富に存在することを示した。

再発性 UTI に対する治療戦略は、現在でも抗菌薬が主流であるが、抗菌薬の使用自体が、UMB の変調を通じて再発の危険因子となることに留意する必要がある。上記のように、*L. crispatus* の不在は再発性尿路感染症の危険因子となるが、同細菌が integrin の modulation を介して、*Chlamydia trachomatis* の子宮頸管への感染性を低下させる¹⁰²⁾ことも明らかにされている。このような背景から、probiotics による UMB の modulation が有望視されている。Stapleton ら⁹⁸⁾は、下部尿路感染症に対する抗菌薬投与後に *Lactobacillus crispatus* の probiotics を投与することにより再発頻度が抑制されることを偽薬対照無作為化臨床比較試験によって実証した。その他の probiotics として *Lactocaseibacillus rhamnosus* GR-1、*Limosilactobacillus fermentum* RC-12、および *Limosilactobacillus reuteri* B-54 の尿路感染症を対象とした投与の試みがなされている^{55,103)}。しかし、細菌性膣症の発症予防では、*L. GR-1*、*L. fermentum* RC-14 の臨床比較試験では有効な結果が示されなかった¹⁰⁴⁾。また、ある種の *Lactobacillus* 属細菌 (*Lactobacillus delbrueckii* と *Lactobacillus gasseri*) は、尿路感染症頻度を高め、切迫性尿失禁の症状程度を悪化させる場合があること⁷²⁾が指摘されており、probiotics による予防や治療には、課題があることも事実である。

尿路感染症以外の尿路疾患に与える影響

UMB の変化は、尿路感染症以外の泌尿器科疾患とも関連している。この総説の主題と関連したものとして、

下部尿路症状をきたす疾患についてまず述べると、培養陰性の慢性骨盤内疼痛症候群女性の microbiota の検討では、急性増悪時に真菌が同定される率が高まることが知られている¹⁰⁵⁾。過活動膀胱では、*Proteus* 属細菌が同定される頻度が高く、逆に健常対照では、*Lactobacillus* の同定頻度が低かったという¹⁰⁶⁾。切迫性尿失禁患者では *Gardnerella* 属の増加と *Lactobacillus* 属の減少^{71,72)}、UMB の多様性の減少¹⁰⁷⁾ がみられるとされる。間質性膀胱炎 / 膀胱疼痛症候群でも同様に、健常女性に対して UMB の多様性が低下し、*Lactobacillus* 属細菌が減少する⁶⁰⁾ ことが知られている。また、神経因性膀胱女性患者では *Lactobacillus* 属細菌の優占度が、同男性患者では *Staphylococcus haemolyticus* の優占度が低下し、男女問わず大腸菌や肺炎桿菌、腸球菌などの尿路病原性細菌の占める割合が増大したという報告¹⁰⁸⁾ がある。このように、特に女性では下部尿路症状の発現と *Lactobacillus* 属優占度と UMB の多様性の減少が関連している可能性が考えられる。

前立腺肥大症については、組織における *Escherichia coli* の存在との関連¹⁰⁹⁾ や、導尿検体中の何らかの細菌検出率と下部尿路症状の重症度との相関¹¹⁰⁾ が指摘されている。また、尿路ではないが腸管の microbiota における *Oxalobacter formingens* と、尿路のシュウ酸カルシウム結石の関係が比較的良好に知られている。この細菌はシュウ酸を基質として利用可能¹¹¹⁾ で、症例対照研究¹¹²⁾ では、その腸内保有は結石再発リスクを 70% 低下させると推測している。

最後に、尿路性器癌との関連についても触れておきたい。生検前の尿中 UMB を前立腺癌患者と非癌患者で比較し、*Aerococcus lactolyticus*, *Varibaculum cambriense*, *Propionimicrobium lymphophilum* が癌患者で多いことが報告⁶⁸⁾ されている。膀胱癌については、微生物ではないもののビルハルツ住血吸虫症 (*Schistosoma haematobium*) に関連する発癌が有名と思われるが、内因性の N-nitrosoamine や酸素ラジカルの産生が誘導されることが知られている¹¹³⁾。膀胱癌患者と健常対照との比較で、前者では *Fusobacterium nucleatum* が多く、後者では *Veillonella* 属、*Streptococcus* 属および *Corynebacterium* 属細菌が多いという報告¹¹⁴⁾ もあれば、逆に膀胱癌患者で *Streptococcus* 属細菌が多かったという研究¹¹⁵⁾ もあり、確定的なことは言えない現状である。また、膀胱癌は男性で頻度が高いものの、女性で死亡率が高い¹¹⁶⁾ ことが知られているが、この性差に UMB が関与している可能性が指摘されている¹¹⁷⁾。BCG 治療への影響としては、*Lactobacillus iners* による BCG の

fibronectin への結合の競合阻害による効果の減弱¹¹⁸⁾、*Streptococcus salivarius* による NF- κ B 経路活性化や、IL-6 や IL-8 の抑制により粘膜免疫反応を減弱¹¹⁹⁾ させることが挙げられる。*Lactobacillus casei* は膀胱癌の再発を減らす¹²⁰⁾ とされているが、実用化には至っていない。

今後の課題

尿培養検査は、核酸同定検査が発達した現在も、おそらく今後も、臨床的に必要な検査と思われる。その意義と限界を理解することは、尿路感染症や下部尿路症状をきたす疾患の診療の質を高められると思われる。また、尿路は無菌ではなく、多様な微生物の集団が定着し、下部尿路の恒常性維持や、疾患の発症に大きな影響を与えている。既に行われた研究も多いが、UMB は個体間の多様性が大きく、横断的な研究に加えて縦断的な研究が求められている。核となる、言い換えれば最大公約数的な微生物群の profile の同定や、得られる膨大な種や個別の遺伝子のデータを、どう解析し解釈するのか、など、課題はまだ多い。この総説が、尿培養および UMB について、読者の理解の一助となれば幸いである。

文 献

- 1) Foxman, B.: The epidemiology of urinary tract infection. *Nat. Rev. Urol.* **7**: 653-660, 2010.
- 2) Bent, S. et al.: Does this woman have an acute uncomplicated urinary tract infection? *JAMA.* **287**: 2701-2710, 2002.
- 3) Koch, R.: Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. *Mitth. a. d. Kaiserl. Gesundheitssampte.* **1**: 1-48, 1881.
- 4) Roberts, W.: On the occurrence of micro-organisms in fresh urine. *Br. Med. J.* **2**: 623-625, 1881.
- 5) Marple, C. D.: The frequency and character of urinary tract infections in an unselected group of women. *Ann Intern Med.* **14**: 2220-2239, 1941.
- 6) Neugent, M. L. et al.: Advances in understanding the human urinary microbiome and its potential role in urinary tract infection. *mBio.* **11**: 2020.
- 7) Kass, E. H.: Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans. Assoc. Am. Physicians.* **69**: 56-64, 1956.
- 8) Stamey, T. A. et al.: Urinary infections: a selective review and some observations. *Calif. Med.* **113**: 16-35, 1970.

- 9) Maskell, R. et al.: The puzzle of "urethral syndrome": a possible answer?. *Lancet*. **1**: 1058-1059, 1979.
- 10) Stamm, W. E. et al.: Diagnosis of coliform infection in acutely dysuric women. *N. Engl. J. Med.* **307**: 463-468, 1982.
- 11) Kunin, C. M. et al.: A reassessment of the importance of "low-count" bacteriuria in young women with acute urinary symptoms. *Ann. Intern. Med.* **119**: 454-460, 1993.
- 12) Hooton, T. M. et al.: Voided midstream urine culture and acute cystitis in premenopausal women. *N. Engl. J. Med.* **369**: 1883-1891, 2013.
- 13) 日本化学療法学会臨床評価法制定委員会. UTI 薬効評価基準 (第4版暫定案). 日本化学療法学会雑誌. **45**: 203-246, 1997.
- 14) Kawada, Y.: Inclusion criteria for acute uncomplicated cystitis. *Infection* 20 Suppl. **3**: S143-144, 1992.
- 15) Food and Drug Administration. Uncomplicated Urinary Tract Infections: Developing Drugs for Treatment Guidance for Industry. 2019.
- 16) Washington, J. A.: Bacterial cultures for cystitis. *Ann. Intern. Med.* **112**: 387-388, 1990.
- 17) Hooton, T. M.: Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *N. Engl. J. Med.* **366**: 1028-1037, 2012.
- 18) Naber, K. G. et al.: Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and Antimicrobial Resistance Epidemiology in Females with Cystitis (ARESC): implications for empiric therapy. *Eur. Urol.* **54**: 1164-1175, 2008.
- 19) De Backer, D. et al.: Evolution of bacterial susceptibility pattern of *Escherichia coli* in uncomplicated urinary tract infections in a country with high antibiotic consumption: a comparison of two surveys with a 10 year interval. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**: 364-368, 2008.
- 20) Aspevall, O. et al.: European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. *Clin. Microbiol. Infect.* **7**: 173-178, 2001.
- 21) Heytens, S. et al.: Uropathogen distribution and antimicrobial susceptibility in uncomplicated cystitis in Belgium, a high antibiotics prescribing country: 20-year surveillance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **36**: 105-113, 2017.
- 22) Heytens, S. et al.: Women with symptoms of a urinary tract infection but a negative urine culture: PCR-based quantification of *Escherichia coli* suggests infection in most cases. *Clin. Microbiol. Infect.* **23**: 647-652, 2017.
- 23) Stamm, W. E. et al.: Causes of the acute urethral syndrome in women. *N. Engl. J. Med.* **303**: 409-415, 1980.
- 24) Komaroff, A. L. et al.: The dysuria-pyuria syndrome. *N. Engl. J. Med.* **303**: 452-454, 1980.
- 25) Fairley, K. F. et al.: Unconventional bacteria in urinary tract disease: *Gardnerella vaginalis*. *Kidney Int.* **23**: 862-865, 1983.
- 26) Salem, N. et al.: *Corynebacterium urealyticum*: a comprehensive review of an understated organism. *Infect. Drug Resist.* **8**: 129-145, 2015.
- 27) Brook, I.: Urinary tract and genito-urinary suppurative infections due to anaerobic bacteria. *Int. J. Urol.* **11**: 133-141, 2004.
- 28) Lee, C. H. et al.: Underdiagnosis of urinary tract infection caused by *Methylobacterium* species with current standard processing of urine culture and its clinical implications. *J. Med. Microbiol.* **53**: 755-759, 2004.
- 29) Lotte, R. et al.: *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen-review of the literature. *Clin. Microbiol. Infect.* **22**: 28-36, 2016.
- 30) Gomez, E. et al.: *Actinobaculum* bacteremia: a report of 12 cases. *J. Clin. Microbiol.* **49**: 4311-4313, 2011.
- 31) Domann, E. et al.: Culture-independent identification of pathogenic bacteria and polymicrobial infections in the genitourinary tract of renal transplant recipients. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 5500-5510, 2003.
- 32) Schreiber, H. L. et al.: Bacterial virulence phenotypes of *Escherichia coli* and host susceptibility determine risk for urinary tract infections. *Sci. Transl. Med.* **9**: 2017.
- 33) 木暮一啓: 病原細菌叢の Viable but Nonculturable (VBNC) State について. *Microbes. Environ.*

- 12: 135–145, 1997.
- 34) Ye, C. et al.: Characterization and potential mechanisms of highly antibiotic tolerant VBNC *Escherichia coli* induced by low level chlorination. *Sci. Rep.* **10**: 1957, 2020.
 - 35) Orman, M. A. et al.: Establishment of a method to rapidly assay bacterial persister metabolism. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**: 4398–4409, 2013.
 - 36) 鎌形洋一: 難培養微生物とは何か?. *Journal of Environmental Biotechnology.* **7**: 69–73, 2007.
 - 37) Amann, R. I. et al.: Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **59**: 143–169, 1995.
 - 38) Curtis, H. et al.: The Human Microbiome Project (HMP) Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* **486**: 207–214, 2012.
 - 39) Sender, R. et al.: Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *Plos Biol.* **14**: e1002533, 2016.
 - 40) Qin, J. et al.: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* **464**: 59–65, 2010.
 - 41) Ley, R. E. et al.: Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell.* **124**: 837–848, 2006.
 - 42) Hasman, H. et al.: Rapid whole-genome sequencing for detection and characterization of microorganisms directly from clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* **52**: 139–146, 2014.
 - 43) Hilt, E. E. et al.: Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *J. Clin. Microbiol.* **52**: 871–876, 2014.
 - 44) Nelson, D. E. et al.: Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *Plos One.* **5**: e14116, 2010.
 - 45) Price, T. K. et al.: The clinical urine culture: enhanced techniques improve detection of clinically relevant microorganisms. *J. Clin. Microbiol.* **54**: 1216–1222, 2016.
 - 46) Woese, C. R. et al.: Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **87**: 4576–4579, 1990.
 - 47) Quince, C. et al.: Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat. Biotechnol.* **35**: 833–844, 2017.
 - 48) Ranjan, R. et al.: Analysis of the microbiome: Advantages of whole genome shotgun versus 16S amplicon sequencing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **469**: 967–977, 2016.
 - 49) Moustafa, A. et al.: Microbial metagenome of urinary tract infection. *Sci. Rep.* **8**: 4333, 2018.
 - 50) Mouraviev, V. et al.: An implementation of next generation sequencing for prevention and diagnosis of urinary tract infection in urology. *Can. J. Urol.* **25**: 9349–9356, 2018.
 - 51) Thomas-White, K. et al.: Culturing of female bladder bacteria reveals an interconnected urogenital microbiota. *Nat. Commun.* **9**: 1557, 2018.
 - 52) Whiteside, S. A. et al.: The microbiome of the urinary tract—a role beyond infection. *Nat. Rev. Urol.* **12**: 81–90, 2015.
 - 53) Shoemaker, R. et al.: Urobiome: An outlook on the metagenome of urological diseases. *Investig. Clin. Urol.* **62**: 611–622, 2021.
 - 54) Perez-Carrasco, V. et al.: Urinary Microbiome: Yin and Yang of the Urinary Tract. *Front Cell Infect. Microbiol.* **11**: 617002, 2021.
 - 55) Aragon, I. M. et al.: The urinary tract microbiome in health and disease. *Eur. Urol. Focus.* **4**: 128–138, 2018.
 - 56) Jones-Freeman, B. et al.: The microbiome and host mucosal interactions in urinary tract diseases. *Mucosal. Immunol.* **14**: 779–792, 2021.
 - 57) Karstens, L. et al.: Community profiling of the urinary microbiota: considerations for low-biomass samples. *Nat. Rev. Urol.* **15**: 735–749, 2018.
 - 58) Nelson, D. E. et al.: Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. *Plos One.* **7**: e36298, 2012.
 - 59) Dong, Q. et al.: The microbial communities in male first catch urine are highly similar to those in paired urethral swab specimens. *Plos One.* **6**: e19709, 2011.
 - 60) Siddiqui, H. et al.: Alterations of microbiota in urine from women with interstitial cystitis. *BMC*

- Microbiol. **12**: 205, 2012.
- 61) Fouts, D. E. et al.: Integrated next-generation sequencing of 16S rDNA and metaproteomics differentiate the healthy urine microbiome from asymptomatic bacteriuria in neuropathic bladder associated with spinal cord injury. *J. Transl. Med.* **10**: 174, 2012.
 - 62) Wolfe, A. J. et al.: Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. *J. Clin. Microbiol.* **50**: 1376–1383, 2012.
 - 63) Pearce, M. M. et al.: The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. *mBio.* **5**: e01283–01214, 2014.
 - 64) Siddiqui, H. et al.: Assessing diversity of the female urine microbiota by high throughput sequencing of 16S rDNA amplicons. *BMC Microbiol.* **11**: 244, 2011.
 - 65) Lewis, D. A. et al.: The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Front Cell Infect. Microbiol.* **3**: 41, 2013.
 - 66) Barraud, O. et al.: Shotgun metagenomics for microbiome and resistome detection in septic patients with urinary tract infection. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **54**: 803–808, 2019.
 - 67) Price, T. K. et al.: The urobiome of continent adult women: a cross-sectional study. *BJOG.* **127**: 193–201, 2020.
 - 68) Shrestha, E. et al.: Profiling the urinary microbiome in men with positive versus negative biopsies for prostate cancer. *J. Urol.* **199**: 161–171, 2018.
 - 69) Thomas-White, K. J. et al.: Evaluation of the urinary microbiota of women with uncomplicated stress urinary incontinence. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **216**: 55. e51–55. e16, 2017.
 - 70) Gottschick, C. et al.: The urinary microbiota of men and women and its changes in women during bacterial vaginosis and antibiotic treatment. *Microbiome.* **5**: 99, 2017.
 - 71) Thomas-White, K. J. et al.: Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. *Int. Urogynecol. J.* **27**: 723–733, 2016.
 - 72) Pearce, M. M. et al.: The female urinary microbiome in urgency urinary incontinence. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **213**: 347. e341–311, 2015.
 - 73) Willner, D. et al.: Single clinical isolates from acute uncomplicated urinary tract infections are representative of dominant in situ populations. *mBio.* **5**: e01064–01013, 2014.
 - 74) Shannon, M. B. et al.: Bladder urinary oxygen tension is correlated with urinary microbiota composition. *Int. Urogynecol. J.* **30**: 1261–1267, 2019.
 - 75) Nickel, J. C. et al.: The bladder mucus (glycosaminoglycan) layer in interstitial cystitis. *J. Urol.* **149**: 716–718, 1993.
 - 76) Zuniga, M. et al.: Utilization of Host-Derived Glycans by Intestinal *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Species. *Front. Microbiol.* **9**: 1917, 2018.
 - 77) Thanert, R. et al.: Comparative Genomics of Antibiotic-Resistant Uropathogens Implicates Three Routes for Recurrence of Urinary Tract Infections. *mBio.* **10**: 2019.
 - 78) Yamamoto, S. et al.: Genetic evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by *Escherichia coli*. *J. Urol.* **157**: 1127–1129, 1997.
 - 79) Nielsen, K. L. et al.: Faecal *Escherichia coli* from patients with *E. coli* urinary tract infection and healthy controls who have never had a urinary tract infection. *J. Med. Microbiol.* **63**: 582–589, 2014.
 - 80) Hooton, T. M.: Recurrent urinary tract infection in women. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **17**: 259–268, 2001.
 - 81) Magruder, M. et al.: Gut uropathogen abundance is a risk factor for development of bacteriuria and urinary tract infection. *Nat. Commun.* **10**: 5521, 2019.
 - 82) Paalanne, N. et al.: Intestinal microbiome as a risk factor for urinary tract infections in children. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **37**: 1881–1891, 2018.
 - 83) Mysorekar, I. U. et al.: Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103**: 14170–14175, 2006.
 - 84) Rosen, D. A. et al.: Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract in-

- fection. *Plos Med.* **4**: e329, 2007.
- 85) Robino, L. et al.: Detection of intracellular bacterial communities in a child with *Escherichia coli* recurrent urinary tract infections. *Pathog. Dis.* **68**: 78–81, 2013.
 - 86) Schilling, J. D. et al.: Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on recurrent bacteriuria and bacterial persistence in mice infected with uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* **70**: 7042–7049, 2002.
 - 87) O'Brien, V. P. et al.: Bladder exposure to *gardnerella* activates host pathways necessary for *escherichia coli* recurrent UTI. *Front Cell Infect. Microbiol.* **11**: 788229, 2021.
 - 88) Gilbert, N. M. et al.: Transient microbiota exposures activate dormant *Escherichia coli* infection in the bladder and drive severe outcomes of recurrent disease. *Plos Pathog.* **13**: e1006238, 2017.
 - 89) Chen, S. L. et al.: Genomic diversity and fitness of *E. coli* strains recovered from the intestinal and urinary tracts of women with recurrent urinary tract infection. *Sci. Transl. Med.* **5**: 184ra160, 2013.
 - 90) Matsukawa, M. et al.: Epidemiology and genotypic characterisation of dissemination patterns of uropathogenic *Escherichia coli* in a community. *Epidemiol. Infect.* **147**: e148, 2019.
 - 91) Garretto, A. et al.: Genomic survey of *E. coli* from the Bladders of Women with and without lower urinary tract symptoms. *front microbiol.* **11**: 2094, 2020.
 - 92) Ruiz-Pino, M. et al.: Male genitourinary infections by *Corynebacterium glucuronolyticum*. A review and clinical experience. *Rev. Esp. Quimioter.* **32**: 479–484, 2019.
 - 93) Matesanz, M. et al.: Is *Streptococcus bovis* a urinary pathogen?. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **34**: 719–725, 2015.
 - 94) Rasmussen, M.: *Aerococcus*: an increasingly acknowledged human pathogen. *Clin. Microbiol. Infect.* **22**: 22–27, 2016.
 - 95) Croxall, G. et al.: Increased human pathogenic potential of *Escherichia coli* from polymicrobial urinary tract infections in comparison to isolates from monomicrobial culture samples. *J. Med. Microbiol.* **60**: 102–109, 2011.
 - 96) Lavigne, J. P. et al.: Virulent synergistic effect between *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* assayed by using the *Caenorhabditis elegans* model. *Plos One.* **3**: e3370, 2008.
 - 97) Keogh, D. et al.: Enterococcal metabolite cues facilitate interspecies Niche modulation and polymicrobial infection. *Cell Host Microbe.* **20**: 493–503, 2016.
 - 98) Stapleton, A. E. et al.: Randomized, placebo-controlled phase 2 trial of a *Lactobacillus crispatus* probiotic given intravaginally for prevention of recurrent urinary tract infection. *Clin. Infect. Dis.* **52**: 1212–1217, 2011.
 - 99) Bhide, A. et al.: Interstitial cystitis/bladder pain syndrome and recurrent urinary tract infection and the potential role of the urinary microbiome. *Post Reprod. Health.* **26**: 87–90, 2020.
 - 100) Mulder, M. et al.: The effect of antimicrobial drug use on the composition of the genitourinary microbiota in an elderly population. *BMC Microbiol.* **19**: 9, 2019.
 - 101) Ackerman, A. L. et al.: The bladder is not sterile: an update on the urinary microbiome. *Curr. Bladder. Dysfunct. Rep.* **14**: 331–341, 2019.
 - 102) Parolin, C. et al.: *Lactobacillus crispatus* BC5 Interferes with *chlamydia trachomatis* infectivity through integrin modulation in cervical cells. *Front. Microbiol.* **9**: 2630, 2018.
 - 103) Markowski, M. C. et al.: The microbiome and genitourinary cancer: A Collaborative Review. *Eur. Urol.* **75**: 637–646, 2019.
 - 104) Zhang, Y. et al.: Probiotic *lactocaseibacillus rhamnosus* GR-1 and *limosilactobacillus reuteri* RC-14 as an adjunctive treatment for bacterial vaginosis do not increase the cure rate in a Chinese cohort: A prospective, Parallel-Group, Randomized, controlled study. *Front Cell Infect. Microbiol.* **11**: 669901, 2021.
 - 105) Nickel, J. C. et al.: Assessment of the lower urinary tract microbiota during symptom flare in women with urologic chronic pelvic pain syndrome: A MAPP Network Study. *J. Urol.* **195**: 356–362, 2016.
 - 106) Curtiss, N. et al.: A case controlled study examining the bladder microbiome in women with

- Overactive Bladder (OAB) and healthy controls. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **214**: 31–35, 2017.
- 107) Karstens, L. et al.: Does the urinary microbiome play a role in urgency urinary incontinence and its severity?. *Front Cell Infect. Microbiol.* **6**: 78, 2016.
- 108) Groah, S. L. et al.: Redefining Healthy Urine: A cross-sectional exploratory metagenomic study of people with and without bladder dysfunction. *J. Urol.* **196**: 579–587, 2016.
- 109) Jain, S. et al.: *Escherichia coli*, a common constituent of benign prostate hyperplasia-associated microbiota induces inflammation and DNA damage in prostate epithelial cells. *Prostate.* **80**: 1341–1352, 2020.
- 110) Bajic, P. et al.: Male bladder microbiome relates to lower urinary tract symptoms. *Eur. Urol. Focus.* **6**: 376–382, 2020.
- 111) Cornick, N.A. et al.: Anabolic incorporation of oxalate by *oxalobacter formigenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 3011–3013, 1996.
- 112) Kaufman, D. W. et al.: *Oxalobacter formigenes* may reduce the risk of calcium oxalate kidney stones. *J. Am. Soc. Nephrol.* **19**: 1197–1203, 2008.
- 113) Mostafa, M. H. et al.: Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**: 97–111, 1999.
- 114) Bucevic, P. V. et al.: The urinary microbiome associated with bladder cancer. *Sci. Rep.* **8**: 12157, 2018.
- 115) Xu, W. et al.: Mini-review: perspective of the microbiome in the pathogenesis of urothelial carcinoma. *Am. J. Clin. Exp. Urol.* **2**: 57–61, 2014.
- 116) Aoe, J. et al.: Long-term trends in sex difference in bladder cancer survival 1975–2009: A population-based study in Osaka, Japan. *Cancer Med.* **9**: 7330–7340, 2020.
- 117) Bilski, K. et al.: Urobiome in Gender-Related Diversities of Bladder Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **21**: 2020.
- 118) McMillan, A. et al.: Adhesion of *Lactobacillus iners* AB-1 to human fibronectin: a key mediator for persistence in the vagina?. *Reprod. Sci.* **20**: 791–796, 2013.
- 119) Cosseau, C. et al.: The commensal *Streptococcus salivarius* K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis. *Infect. Immun.* **76**: 4163–4175, 2008.
- 120) Takahashi, T. et al.: Antitumor effects of the intravesical instillation of heat killed cells of the *Lactobacillus casei* strain Shirota on the murine orthotopic bladder tumor MBT-2. *J. Urol.* **166**: 2506–2511, 2001.

THE SIGNIFICANCE OF BACTERIAL CULTURE FOR URINE IN ACUTE CYSTITIS AND THE URINARY MICROBIOME

MASANORI MATSUKAWA AND YASUYUKI SAKAI

Department of Urology, Takikawa Municipal Hospital, Takikawa, Japan

YASUYUKI SAKAI

Department of Urology, School of Medicine, Sapporo Medical University, Sapporo, Japan

KOTARO AOKI AND YOSHIKAZU ISHII

Department of Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Toho University, Tokyo, Japan

Abstract :

In this review we present the background of a study of cases with negative cultures, where the patients had symptoms of lower urinary tract infections, by overviewing the significance of urine culture results and the urinary microbiome. In the late 19th century, once a pure culture technique had been es-

tablished, the method was applied to the diagnosis of urinary tract infections. The concept of significant bacteriuria, with 10^5 CFU/ml as the diagnostic threshold for acute pyelonephritis, was then introduced to provide a means of differentiating between contamination from the microbial community at the external genitalia in the urine specimen and true infection. Later, 10^2 CFU/ml was considered to be diagnostic for lower urinary tract infections, but around 10^4 CFU/ml was generally utilized as the threshold because of practical applicability. On the other hand, 20–40% of the patients with typical acute-cystitis symptoms and pyuria have been reported to have negative cultures. Although previous studies suggested that the phenomenon was mainly due to unculturable *Escherichia coli* detected by quantitative PCR, the true etiology remains unclear. The application of enhanced urine culture and next-generation sequencing techniques has identified a resident microbial community within the urinary tract, known as the urinary microbiome, and has led to rejection of the dogma that “urine is normally sterile.” The contribution of the urinary microbiome not only to urinary tract infections but also to urgent urinary incontinence, painful bladder syndrome and genitourinary cancer has been investigated.

(Nishinoh J. Urol. **85** : 7–18, 2022)

key words : Acute cystitis, culture negative, significant bacteriuria, urinary microbiome
