

## 高度の血管内溶血を合併した *Clostridium perfringens* の劇症感染に関する検討

土手内 靖\*      福永真紗美      杉原 崇大  
高橋 諭      尾崎 牧子      西山 記子  
谷松 智子      西山 政孝      白石 猛\*\*  
松井 完治\*      横田 英介

### 要 約

*Clostridium perfringens* により激しい血管内溶血を起こし、短時間で死亡した症例を経験したので報告する。症例は41歳男性。胃癌の再発に対し、1ヵ月前まで化学療法を受けていた。今回、腹痛を主訴に来院し、癌性疼痛の増悪と診断され緊急入院となった。入院時に著変を認めなかった検体検査は入院翌日に著明な異常値を示し、患者は吐血、黄疸をはじめ、状態の急激な悪化をきたし、来院から32時間で死亡した。入院翌日に3回提出された採血検体はいずれも強溶血を呈していた。微生物検査にて、CBC検体から *Clostridium perfringens* を、血液培養（好気ボトル）から *Aeromonas hydrophila* group を分離した。分離した *C. perfringens* と *A. hydrophila* group を健常者血液にそれぞれ接種し、培養した結果、*C. perfringens* を接種した検体で溶血を認めた。この結果より本例の激しい血管内溶血は *C. perfringens* によって惹起されたと考えられた。

*C. perfringens* 敗血症は致死率の非常に高い感染症で、短時間で死に至るため、菌の培養同定検査を待ってからの処置では救命し得ない。患者救命のためには患者の検体および結果を最初に目にする我々が血管内溶血と判断し、敗血症所見やプロカルシトニン（PCT）の上昇を認めた場合は *C. perfringens*

敗血症と推定することが重要である。検査情報を的確に判断し、迅速に医師に伝えることで早期診断・治療に貢献し、救命率向上の一役を担いたいものである。

### はじめに

*Clostridium perfringens* は芽胞形成性の偏性嫌気性菌で土壌や河川などの環境中に広く分布するとともに、ヒトや動物などの腸管内で正常細菌叢を構成している<sup>1)</sup>。近年、免疫低下患者における *C. perfringens* 感染で非外傷性ガス壊疽、高度溶血を呈し、短時間で死に至る劇症型の報告が増加している。

今回、我々は *C. perfringens* 敗血症により激しい血管内溶血を起こし、短時間で死亡した症例を経験したので、若干の文献的考察を加え報告する。

### 症 例

患 者：41歳、男性。

主 訴：腹痛

既往歴：パニック障害（内服治療中）。輸血歴なし。

現病歴：2008年8月、当院外科にて進行胃癌に対し幽門側胃切除術を施行。術後、S-1（テガフー

\*松山赤十字病院 検査部

\*\*松山赤十字病院 外科

ル・ギメラシル・オテラシルカリウム)を用いて補助化学療法を行ったが、2010年8月、再発を確認。以後、2012年2月まで、①S-1、②塩酸イリノテカン、シスプラチン、③パクリタキセル、④ドセタキセルの順で化学療法を導入し、治療を継続していた。2012年3月17日の早朝より腹痛を認め、午前10時に当院を受診し、緊急入院となった。

入院時所見：意識清明、体温37.6℃、脈拍86回/分(整)、血圧110/67 mmHg、腹部所見で筋性防御は明らかでなかったが、心窩部に腫瘤を触知し圧痛を認めた。血液検査で軽度の貧血と血小板の減少、CRPの中等度の上昇を認めた以外、検体検査に著変を認めなかった(Table 1)。

Table 1 検査成績(入院時)

WBC	59 × 10 <sup>3</sup> /μl	CK	118 U/l
RBC	412 × 10 <sup>4</sup> /μl	CK-MB	30 U/l
Hb	11.9 g/dl	ALD	4 U/l
Ht	37.1 %	ミオグロビン	24 ng/ml
Plt	13.7 × 10 <sup>4</sup> /μl	BUN	11.2 mg/dl
TP	6.7 g/dl	Cre	0.69 mg/dl
T. Bil	0.4 mg/dl	Na	143 mEq/l
D. Bil	0.1 mg/dl	K	4.1 mEq/l
AST	64 U/l	Cl	105 mEq/l
ALT	29 U/l	CRP	4.13 mg/dl
LDH	258 U/l	PCT	0.16 ng/ml

臨床経過：疼痛が強く、入院後フェンタニルクエン酸による鎮痛処置を行った。翌日には午前10時頃、全身の黄疸を認め、約100 mlの吐血(黒色からこげ茶色)を来し、同時に末梢の冷感を認めた。体温は36.8℃、脈拍は90回/分、血圧は80/55 mmHgと低下していたが、意識清明で会話や自立歩行も可能であった。正午頃、セファゾリン(CEZ) 1gが投与されたが、18時以降、急激な意識レベルの低下を認め、来院から約32時間後、吐血から約10時間後に永眠された。

入院翌日検査成績(Table 2)：入院翌日3回採血を実施したが、いずれも強溶血を呈していた。白血球数310×10<sup>4</sup>/μl、Hb 9.8 g/dl、Ht 31.5%と、入院時に比べ貧血の進行を認め、鏡検では中央のくぼみがない、大小不同の球状赤血球を多数認めた。また、T.Bil 13.5 mg/dl、D.Bil 7.3 mg/dl、AST 197 U/l、ALT 41 U/l、LDH 2,298 U/l、ALD 31 U/l、K 6.1 mEq/lの増加を認めた。直接抗グロブリン試

Table 2 検査成績(入院翌日)

WBC	129.4 × 10 <sup>3</sup> /μl	CK	348 U/l	Fib	296 mg/dl
RBC	310 × 10 <sup>4</sup> /μl	CK-MB	55 U/l	AT	16 %
Hb	9.8 g/dl	ALD	31 U/l	FDP	54.4 μg/ml
Ht	31.5 %	ミオグロビン	975 ng/ml	Dダイマー	30.6 μg/ml
Plt	20.8 × 10 <sup>4</sup> /μl	BUN	45.0 mg/dl	pH	7.301
T. Bil	13.5 mg/dl	Cre	2.28 mg/dl	PCO <sub>2</sub>	32.4 mmHg
D. Bil	7.3 mg/dl	K	6.1 mEq/l	PO <sub>2</sub>	91.3 mmHg
AST	197 U/l	CRP	14.75 mg/dl	HCO <sub>3</sub>	15.5 mmol/l
ALT	41 U/l	PCT	61.58 ng/ml	直接抗グロブリン試験	陰性
LDH	2298 U/l	PT	45.4 %	間接抗グロブリン試験	陰性
CK	348 U/l	APTT	37.8 秒		

験、間接抗グロブリン試験はともに陰性であった。白血球数129.4×10<sup>3</sup>/μlおよびCRP 14.75 mg/dlと入院時に比べ炎症所見が急激に上昇し、PCTも61.58 ng/mlと著明高値であった。PT 45.4%、AT 16%、FDP 54.4 μg/mlと凝固異常を認め、DICを併発していた(急性期DICスコア5点)。CK 348 U/lおよびミオグロビン975 ng/ml、CK-MB 55 U/lと骨格筋・心筋逸脱酵素の増加、BUN 45.0 mg/dl、Cre 2.28 mg/dlと腎機能の低下を認め、血液ガス検査では、pH 7.301、重炭酸15.5 mmol/lと代謝性アシドーシスであった。Fig. 1に、溶血関連項目(T. Bil, D. Bil, LDH, Hb)の入院時および入院翌日の推移を示す。

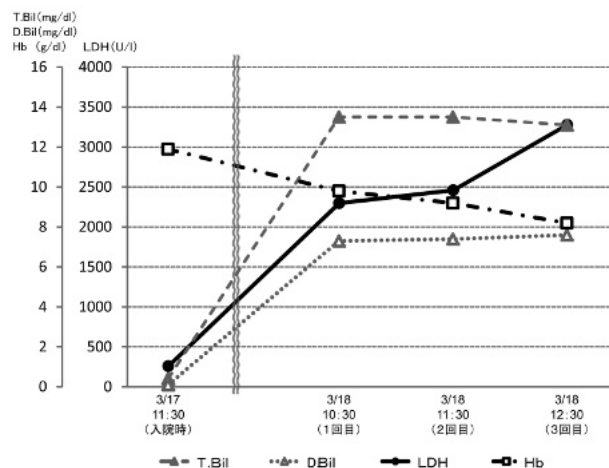


Fig. 1 溶血関連項目検査成績経過

微生物検査所見：入院翌日のCBC3検体の直接塗抹染色と好気、嫌気培養を実施した。また、3回目の採血と同時に、FA(好気用)・FN(嫌気用)ボトル(シスメックス・バイオメリユウ社)による血液培養(2セット)を採取し実施した。CBC3検体

の直接塗抹標本ではいずれも細菌を確認できなかったが、はじめの2検体から嫌気培養においてβ溶血を示す大型のグラム陽性桿菌を分離し、Api20A (シスメックス・ビオメリユウ社) を用いて *C. perfringens* と同定した。ディスク法による薬剤感受性検査は全て感受性を示した (Table 3)。好気培養は陰性であった。血液ボトルでの培養検査は2セットともFAボトルからオキシダーゼ陽性、乳糖非分解、β溶血を示すグラム陰性桿菌を分離し、Negコンポパネル6.11J (SIEMENS社) を用いて *Aeromonas hydrophila* group と同定した。微量液体希釈法による薬剤感受性試験ではアンピシリン以外には全て感受性であった (Table 3)。FNボトルは陰性で、*C. perfringens* は分離されなかった。

昇した。一方、*A. hydrophila* group ではほとんど上昇は見られなかった (Fig. 2)。

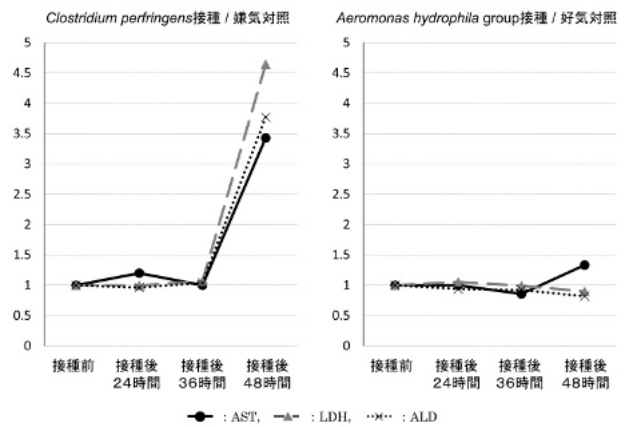


Fig. 2 細菌接種実験結果

Table 3 薬剤感受性結果

<i>Clostridium perfringens</i>			<i>Aeromonas hydrophila</i> group		
薬剤名	阻止円径 (mm)	判定	薬剤名	MIC	判定
PIPC	34	S	ABPC	>16	NA
CMZ	32	S	PIPC	<8	NA
FMOX	21	S	CEZ	<4	S
IPM	31	S	CTX	<8	S
EM	33	S	CAZ	<1	S
CLDM	15	S	CPR	<8	NA
LVFX	22	S	CMZ	<4	NA
CTRX	21	S	IPM	2	S
A/S	32	S	A/C	16	I
MINO	26	S	AMK	8	S
			GM	<1	S
			LVFX	<1	S

考 察

*C. perfringens* はA型からE型に分類され、このうちA型がヒトの消化管や泌尿生殖器に常在し、食中毒、外傷性ガス壊疽、深部組織感染症を引き起こすことが知られている<sup>2)3)</sup>。近年、bacterial translocationにより敗血症に至り、高度の血管内溶血、ガス産生肝膿瘍などを呈する症例報告が散見される。*C. perfringens* が産生する毒素は少なくとも12種類あり、特にα毒素はホスホリパーゼC活性とスフィンゴミエリナーゼ活性を持ち、溶血、致死、壊死作用、心筋収縮力の低下、血管透過性亢進および血小板凝集作用を有するとされている<sup>3)4)5)</sup>。

細菌接種による溶血惹起試験：患者血液から分離した *C. perfringens* と *A. hydrophila* group を用いて、いずれの菌が今回の激しい溶血を引き起こしたかを調べた。方法は1日培養装置に入れた健常者へパリン加血液6mlに、McFarland濁度0.5に調整した菌液を200μl加え、*C. perfringens* は嫌気培養、*A. hydrophila* group は好気培養を行い、AST, LDH, ALDの3項目を接種前、接種24, 36, 48時間後に測定した。生食水を接種したものをそれぞれ陰性対照とし、*C. perfringens* は嫌気対照と、*A. hydrophila* group は好気対照と比較検討した。その結果、*C. perfringens* は陰性対照と比べ、接種後48時間でAST 3.4倍、LDH 4.6倍、ALD 3.8倍に上

本例の場合、入院時の採血検体では溶血を認めなかったものの、翌日の検体では強溶血となったことから、物理的溶血を疑い再採血を依頼した。しかし、再提出された検体も同様に強溶血を呈しており、ビリルビン値の急激な上昇を認めたことから、物理的溶血は否定的で血管内溶血と判断した。血管内溶血の原因として急性溶血性輸血副作用、薬剤性溶血性貧血、敗血症を考え、原因究明のために直接塗抹染色および培養検査、血液形態、直接抗グロブリン試験、間接抗グロブリン試験を追加で実施した。患者に輸血歴はなく、直接抗グロブリン試験、間接抗グロブリン試験ともに陰性であったことから、急性溶血性輸血副作用、薬剤性溶血性貧血は否定的となっ

た。一方、CBC 検体の直接塗抹染色では菌体を確認できなかったが、PCT が 61.58 ng/ml と高値を示したことから、*C. perfringens* 敗血症が最も疑われることを主治医に連絡した。直ちに CEZ 1 g が投与されたが、急激に症状が悪化し来院より約 32 時間で死亡した。死亡後、CBC 検体の培養から *C. perfringens* が、血液培養ボトルからは *A. hydrophila* group が分離された。

本例の溶血の原因を明らかにするため、細菌接種による溶血惹起試験を行った。Fig. 2 に示したように *C. perfringens* を接種した検体では接種 48 時間後 AST, LDH, ALD で対照に比べ 3 倍以上の高値を示し、溶血を認めた。一方、*A. hydrophila* group では溶血は認められなかった。本例の強溶血および、骨格筋・心筋マーカーの上昇は *C. perfringens* が産生する  $\alpha$  毒素の関与が示唆される。

我々が行った非外傷性 *C. perfringens* 敗血症の文献検索では本邦において 59 例の報告が確認された (Table 4)。死亡率は 81.4% (48 例) と極めて高く、来院から死亡までの時間は 6 時間以内が 48 例中 23 例 (47.9%)、24 時間以内は 39 例 (81.3%) であった。本例も来院後約 32 時間、吐血後約 10 時間で死に至っている。また、報告された 59 例中 47 例 (79.7%) が基礎疾患を保有しており、悪性腫瘍が 19 例 (32.2%)、糖尿病が 15 例 (25.4%)、高血圧が 10 例 (16.9%)、血液疾患が 9 例 (15.3%) で

あった。悪性腫瘍や血液疾患患者が多い理由は、免疫機能の低下のほか、化学療法や腸管の悪性腫瘍によって消化管粘膜が障害され<sup>5)</sup>、腸管の常在菌である嫌気性菌が門脈を介し血中へ侵入し易いためと考えられる。また、糖尿病や高血圧患者は感染防御能の低下、細小血管障害による組織血行障害を引き起こすため<sup>6)7)</sup>、嫌気性菌が増殖し易い環境といえる。本例も胃癌再発により、1 カ月まで化学療法を施行していたことより、腸管より *C. perfringens* が血中へ侵入しやすい状態であったと推測される。臨床症状については腹腔内 Free air は 59 例中 43 例 (72.9%)、黄疸は 18 例 (30.5%)、血尿は 23 例 (39.0%) で認められており、本例も臨床所見として黄疸を認めていた。このことから、短時間での腹腔内の Free air の出現、黄疸、血尿の発現および進行は *C. perfringens* 感染症を疑う重要因子であるといえる。また、血管内溶血は 59 例中 44 例 (74.6%) で認めるものの、直接塗抹標本で細菌を確認できたのは 11 例 (18.6%) と低く、本例も直接塗抹標本では菌を確認することができなかったことから、PCT 値の上昇を参考に敗血症を推定することも重要であると考えられた。

*C. perfringens* 敗血症は致死率の非常に高い感染症で、患者は短時間で死に至ることから、菌の培養同定検査を待ってからの処置では救命し得ない。患者救命のためには患者の検体および結果を最初に目にする我々検査技師が 1) 血管内溶血と判断し、2) 敗血症所見や PCT の上昇を認めた場合は *C. perfringens* 敗血症と推定することが重要であるといえる。*C. perfringens* の第一選択薬であるペニシリンの大量投与により救命できた報告もあるため<sup>8)9)</sup>、今後は検査情報を正確に判断し、迅速に医師に伝えることで、早期診断・治療に貢献し、本症の救命率向上の一役を担いたいものである。

Table 4 本邦における *Clostridium perfringens* 敗血症報告の解析 (59 例)

死亡率	81.4 %
来院から死亡まで	
6時間以内	47.9 %
24時間以内	81.3 %
基礎疾患保有率	79.7 %
悪性腫瘍	32.2 %
糖尿病	25.4 %
高血圧	16.9 %
血液疾患	15.3 %
臨床所見	
Free air	72.9 %
黄疸	30.5 %
血尿	39.0 %
検査所見	
血管内溶血	74.6 %
直接塗抹による菌体確認	18.6 %

## 文 献

- 1) 石村勝之：ウェルシュ菌。診断と治療 91：1175-1179, 2003.
- 2) 岡田 淳ほか：臨床検査学講座微生物学／臨床微生物学。医歯薬出版株式会社、東京、1：201-235, 2005.

- 3) 上野一恵：病原体の種類嫌気性菌. 日本臨床, 43 卷春季増刊: 29-39, 1985.
- 4) 櫻井 純：ウエルシュ菌主要毒素の構造と機能及び活性発現機構に関する研究. 日本細菌学雑誌 **61**: 367-379, 2006.
- 5) 樫村 晋ほか：肝動脈化学塞栓療法後に *Clostridium perfringens* による敗血症から急性溶血を合併して突然死した肝細胞癌の1剖検例. 肝臓 **53**: 175-182, 2012.
- 6) 川上和義：糖尿病と易感染性の機序（総論）. Diabetes Frontier **21**: 284-287, 2010.
- 7) 佐倉 宏：高血圧は糖尿病性細小血管症をどう進展させるか. プラクティス **19**: 401-405, 2002.
- 8) 高起 良ほか：寛解導入療法施行中に *Clostridium perfringens* による敗血症を合併した急性骨髄性白血病の一例. 臨床血液 **38**: 1056, 1997.
- 9) 下山丈人ほか：急性骨髄単球性白血病治療中に溶血性貧血, 血小板減少をきたした *Clostridium perfringens* 菌血症の1例. 日本血液学会雑誌 **52**: 925, 1989.

## A Study of *Clostridium Perfringens* Fulminant Infection Complicated by Severely Intravascular Hemolysis

Yasushi DOTEUCHI\*, Masami FUKUNAGA, Takahiro SUGIHARA, Satoshi TAKAHASHI,  
Makiko OZAKI, Noriko NISHIYAMA, Satoko TANIMATSU, Masataka NISHIYAMA,  
Takeshi SHIRAIISHI\*\*, Kanzi MATSUI\* and Eisuke YOKOTA

\*Department of Clinical Laboratory, Matsuyama Red Cross Hospital

\*\*Department of Surgery, Matsuyama Red Cross Hospital

It is an emergency clinical case of death demonstrated with *Clostridium perfringens* induced intravascular hemolysis. A 41-year-old male, who had received chemotherapy for his gastric cancer recurrence until a month before. He was seen in the Matsuyama Red Cross Hospital (MRCH) because of a stomachache, and receive a diagnosis of cancer pain progression and was immediately hospitalized in MRCH. Laboratory test was normal level on admission, but it was abnormal level the next day. He had severe cases such as hematemesis, jaundice, worsened rapidly and he died about 32 hours since he has arrived at MRCH. Three successive blood sample tests all showed severe hemolysis. With the bacteriological testing made on the patient, the *C. perfringens* was isolated from the CBC sample, and the *Aeromonas hydrophila* group from the blood culture, or aerophile bottle. Both *C. perfringens* and *A. hydrophila* group isolated were separately inoculated and cultivated in the blood sample of healthy persons. We therefore concluded that the acute intravascular hemolysis in this patient case was mostly induced by the *C. perfringens*.

*C. perfringens* sepsis is infection very high fatality rate, and progress to death in a short time. Therefore, we have no time waiting bacterial identification to saving life. It is important for saving life that medical technologist figures out if intravascular hemolysis, and we estimate *C. perfringens* sepsis, if procalcitonin (PCT) rose. We should make a contribution by describe laboratory results accurately and rapidly to the doctor which leads to earlier diagnosis and early treatment.