

## · 病例报告 ·

## 糖尿病患者索氏梭菌感染致中毒性休克综合征一例

唐芹芳<sup>1</sup> 孙明忠<sup>1</sup> 傅庆萍<sup>1</sup> 肖丽华<sup>1</sup> 颜冬梅<sup>1</sup> 王颖<sup>1</sup> 季宏建<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 探讨以中毒性休克综合征(TSS)为主要临床表现的糖尿病患者索氏梭菌感染诊治方法。**方法** 分析1例以TSS为主要临床表现的糖尿病患者,血液培养样本应用基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)快速鉴定后经基因组比对进一步确认为索氏梭菌,通过基因组学分析其引起的中毒性休克综合征和凝血障碍的致病基因。**结果** 该患者有糖尿病病史4年,临床表现为中毒性休克综合征,白细胞总数和中性粒细胞数显著增高。厌氧血培养3 d报阳,厌氧环境下转种后形成扁平不规则菌落,MALDI-TOF MS联合16S rDNA序列检测确诊为索氏梭菌。通过基因组学分析索氏梭菌含有溶血素、磷脂酶C和神经氨酸酶基因,上述基因编码的产物可导致炎症和溶血反应。给予患者综合抗感染对症处理后疗效欠佳,病情恶化迅速,在确诊后半个月内死亡。**结论** MALDI-TOF MS快速鉴定和基因组学分析对索氏梭菌引起感染的诊断和治疗具有重要意义。厌氧菌分离培养后通过MALDI-TOF MS快速鉴定结合生物信息学分析为索氏梭菌诊治的关键。

**【关键词】** 索氏梭菌;中毒性休克综合征;基质辅助激光解吸飞行时间质谱;基因组学分析;凝血功能障碍

**A diabetic case with toxic shock syndrome caused by *Paeniclostridium sordellii* infection** Tang Qinfang<sup>1</sup>, Sun Mingzhong<sup>1</sup>, Fu Qingping<sup>1</sup>, Xiao Lihua<sup>1</sup>, Yan Dongmei<sup>1</sup>, Wang Ying<sup>1</sup>, Ji Hongjian<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, Yancheng Third People's Hospital, Yancheng 224001, China; <sup>2</sup>School of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng 224005, China

Corresponding author: Ji Hongjian, Email: hongjianji2006@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the diagnosis and treatment of *Paeniclostridium sordellii* (*P. sordellii*) infection in diabetes patients with toxic shock syndrome (TSS). **Methods** A patient with TSS as the primary clinical manifestation was detailed, and the blood culture was confirmed as *P. sordellii* by genomic alignment after being identified by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Toxic shock syndrome and coagulation disorder caused by *P. sordellii* were analyzed based on genomics analysis. **Results** The patient had a 4-year history of diabetes and presented clinically with toxic shock syndrome with a significantly elevated total leukocyte count and neutrophil count. The anaerobic blood culture was reported positive for three days. The microorganism formed irregular colonies after temporary seeding in an anaerobic environment, and MALDI-TOF MS combined with 16S rDNA sequence detection confirmed the diagnosis of *P. sordellii*. Genomic analysis of *P. sordellii* contains hemolysin, phospholipase C and neuraminidase genes, and the products encoded by the genes can lead to inflammatory and hemolytic responses. The treatment was ineffective after the administration of comprehensive anti-infective symptomatic treatment, and the disease deteriorated rapidly and the patient died within half a month after diagnosis. **Conclusions** Rapid identification by MALDI-TOF MS and genomic analysis are essential for diagnosing and treating infection caused by *P. sordellii*. Rapid identification of *P. sordellii* infection by mass spectrometry after isolation and culture of anaerobic bacteria combined with bioinformatics analysis is critical to diagnosing and treating *P. sordellii* infection.

**【Key words】** *Paeniclostridium sordellii*; Toxic shock syndrome; matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; Genomic analysis; Coagulation disorder

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.05.011

基金项目: 江苏省卫健委课题 (No. QNRC465)

作者单位: 224001 盐城市, 江苏省盐城市第三人民医院检验科<sup>1</sup>; 224005 盐城市, 江苏医药职业学院药学院<sup>2</sup>

通信作者: 季宏建, Email: hongjianji2006@163.com

索氏梭菌 (*Paenicrostridium sordellii*, *P. sordellii*) 是一种广泛存在于自然界的厌氧性杆菌, 种类繁多, 一般不致病<sup>[1]</sup>; 但少数致病菌种释放的毒素引起的中毒性休克综合征 (toxic shock syndrome, TSS) 具有病情进展迅速、致死率高的特点<sup>[2]</sup>, 因此早期快速诊断和生物信息学分析极为关键。本文报道1例由索氏梭菌感染引起的中毒性休克综合征的病例, 罕见性的引起全身炎症反应和凝血功能障碍, 血培养后通过基质辅助激光解吸质谱 (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 鉴定为索氏梭菌后, 结合生物信息学分析认为释放的毒素是中毒性休克综合征和凝血障碍的主要原因, 现报道如下。

### 一、病例资料

#### (一) 病史与体格检查

患者, 男性、53岁, 2021年5月29日因“骶尾部疼痛伴溃烂10天”入院。查体: 体温: 36.5℃, 心率为94次/min, 呼吸为20次/min, 血压为182/83 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa); 神志清, 精神差; 骶部、骶尾部、背部、腿部多处压疮, 骶尾部为甚, 有明显渗出伴恶臭, 双肺呼吸音粗, 未闻及干湿性啰音, 全腹平软, 无反跳痛, 肠鸣音正常, 右下肢糖尿病足截肢术后。既往有糖尿病病史4年, 4年前因糖尿病足感染行右下肢截肢术, 血糖未规律监测; 有高血压病史2年, 无结核病、肝硬化、获得性免疫缺陷综合征等病史, 无吸烟、酗酒史; 近期无畏寒、发热, 无盗汗、乏力。

#### (二) 辅助检查

1. 白细胞 (white blood cell, WBC) 计数:  $21.53 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞占比: 90.3%; C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP): 120.72 mg/L, 降钙素原 (procalcitonin, PCT) 0.78 ng/ml, 血小板计数:  $246 \times 10^9/L$ , 空腹血糖: 9.8 mmol/L, 乳酸: 1.1 mmol/L, 凝血酶原时间 (prothrombin time, PT): 13.9 s, 纤维蛋白降解产物 (fibrin/fibrinogen degradation products, FDP): 11 mg/L, 活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT): 67.99 s, D-二聚体 (D-Dimer): 2.78 mg/L。结核菌素试验 (tuberculin test, PPD) 及结核分枝杆菌感染T细胞检测 (interferon- $\gamma$  release assay, T-SPORT) 均阴性; 传染病4项检查均为阴性。

2. 胸部CT: 双侧胸腔少量积液; 腹腔积液; 胸背部皮下水肿。

3. 细菌学检查: 5月29日采集双侧双瓶血培养, 3 d后厌氧瓶显示阳性。血培养检出物革兰染色镜检, 见革兰阳性杆菌与芽孢共存, 杆菌长3~5  $\mu\text{m}$ , 宽0.5  $\mu\text{m}$ ; 芽孢位于中间或次极端 (图1)。立即转种2块血平板 (北京赛默飞公司), 其中一块血平板置于厌氧产气袋 (北京赛默飞公司) 于35℃孵箱中培养; 另一块血平板置于5% CO<sub>2</sub>环境下

35℃培养。48 h后观察生长情况, 5% CO<sub>2</sub>环境下未见细菌生长, 厌氧环境下血平板菌落呈扁平不规则、微黄、玻璃裂纹状外观, 有特殊气味 (图2)。进一步通过VITEK-MS (法国生物梅里埃公司) 鉴定, 结果为索氏梭菌, 置信度为99.9%; 所检出的厌氧菌株经16S rDNA测序, 经Blast序列比对后进一步证实为索氏梭菌AM370, 同源率为98%。

### 二、诊断、治疗和随访

患者入院后经体格检查, 血液培养, 参考既往病史结合感染疾病科会诊, 诊断为“菌血症 (索氏梭菌AM370感染), 高血压, 糖尿病, 压疮”; 体外药敏试验显示: 四环素和克林霉素耐药; 亚胺培南、氨苄西林、头孢西丁、万古霉素和利奈唑胺敏感。予比阿培南 (0.3 g/次、3次/d) 联合利奈唑胺 (0.6 g/次、2次/d) 抗感染治疗, 清洁压疮伤口, 降糖, 纠正电解质和酸碱紊乱等对症支持治疗。6月6日复查

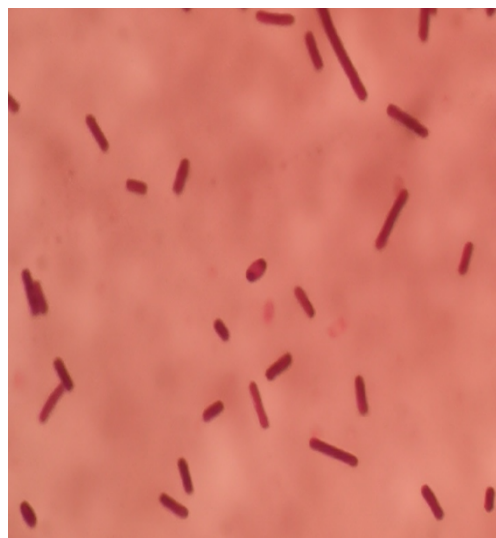


图1 患者血培养结果 (革兰染色, 1 000 ×)

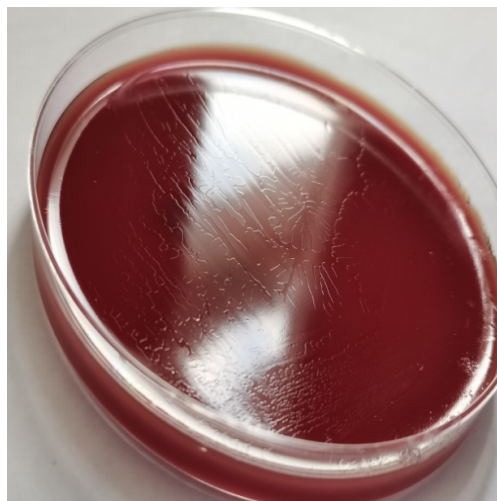
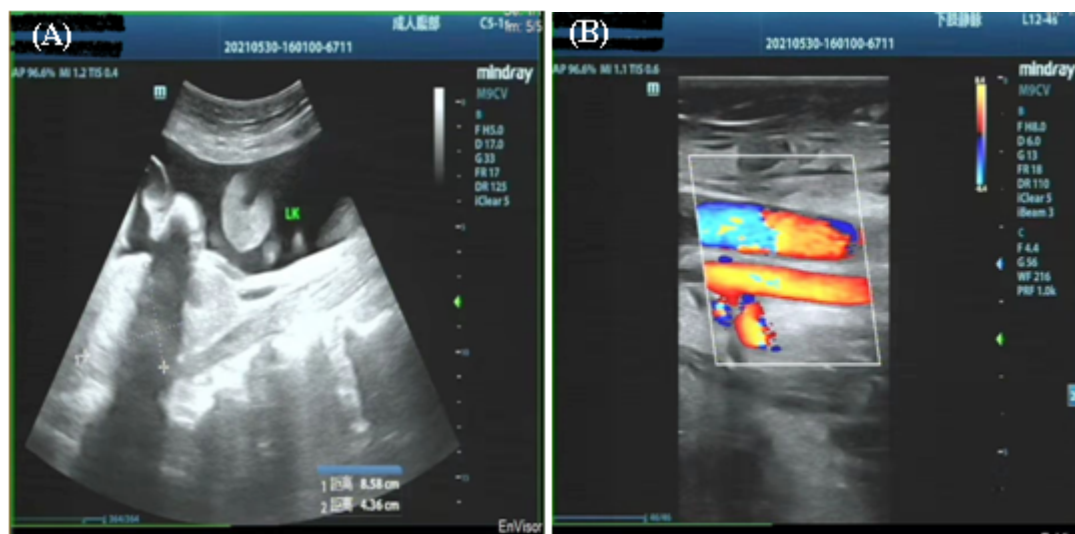


图2 患者血培养48 h菌落

结果：血压135/71 mmHg（1 mmHg = 0.133 kPa），WBC： $5.31 \times 10^9/L$ ，中性粒细胞占比：77.4%，CRP：170.74 mg/L，乳酸：3.3 mmol/L。

患者诉全身疼痛，复查超声报告少量心包积液，腹腔积液，直肠积便扩张，骨盆周围软组织肿胀到腹部明显膨隆，阴囊肿胀，左下肢肿胀（图3）；血液分析：6月1日行血栓弹力图检测，R值：3.7 min，K值：0.9， $\alpha$ 角为76.6

（图4）；5月29日血小板从最初入院的 $246 \times 10^9/L$ 下降至 $143 \times 10^9/L$ （6月7日），而D-二聚体由2.78 mg/L上升至6月7日的4.55 mg/L，提示患者出现凝血功能障碍（图5）；患者经抗感染，清洁压疮伤口，降糖等对症处理后多处压疮未见好转，出现明显渗出伴恶臭，存在中毒性休克综合征导致的病情不稳定，家属商量后决定放弃治疗，半个月后随访告知患者去世。



注：A：腹部超声；B：下肢静脉超声

图3 患者腹部与下肢静脉超声

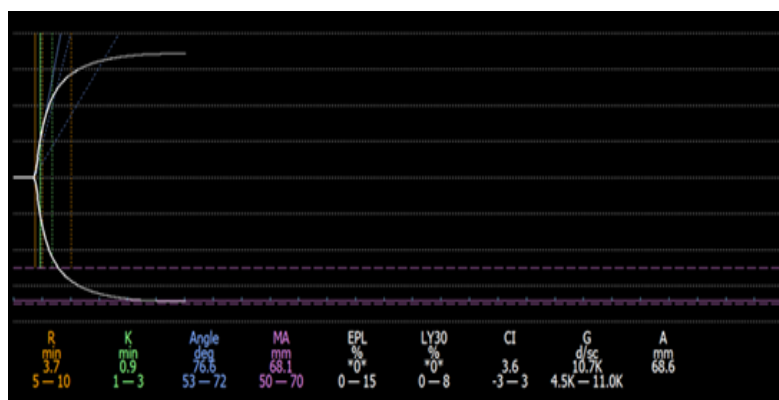


图4 患者血栓弹力图

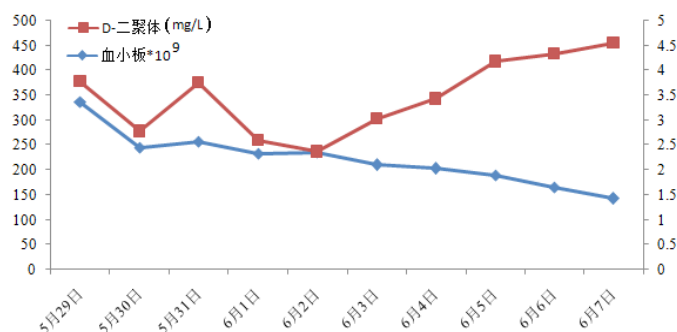


图5 患者入院后血小板和D-二聚体监测的曲线图

**讨论** 中毒性休克综合征是一种病情进展迅速和高致死率的少见疾病，常见于葡萄球菌感染<sup>[1]</sup>。由索氏梭菌引起的中毒性休克综合征感染极为罕见，该菌作为革兰阳性厌氧型杆菌，可定植在人体多个部位，如皮肤、口腔、肠道、女性生殖道等；当机体微环境发生改变或免疫力低下时通过局部感染和（或）血流感染可引起中毒性休克综合征<sup>[2]</sup>。鉴于厌氧菌检出率仅为5%<sup>[3]</sup>，由该菌引起的中毒性休克综合征病情进展迅速、致死率高。Aldape等<sup>[4]</sup>对1927年至2006年报告的45例索氏梭菌感染病例临床特点进行分析，发现患中毒性休克综合征的19例患者中10例死亡；索氏梭菌释放的毒素可引起患者皮下组织坏死，导致广泛的外周性水肿与渗出，引起顽固性低血压，伴有显著的白细胞增多，但基本无发热和排脓现象，感染后患者病死率可达70%<sup>[4-5]</sup>。本例患者也观察到腹部以及下肢软组织肿胀，类似于产气荚膜梭菌感染导致的气性坏疽；患者CRP水平一直居高不下；PCT从0.78 ng/ml升至5.21 ng/ml，细胞因子检测中IL-6促炎因子迅速升高，提示炎症因子风暴加重了全身炎症反应。

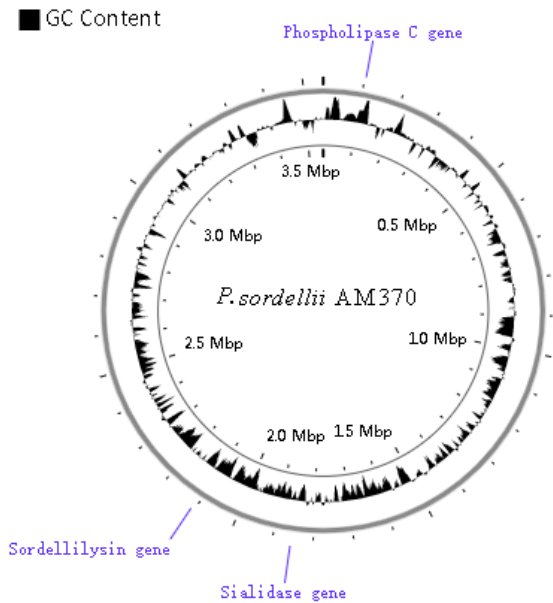
文献报道致病性的梭菌属基因序列为G-C含量偏低<sup>[6-7]</sup>，本研究将索氏梭菌AM370菌株全基因组序列通过PUBMED查询后发现该种菌株基因中G-C含量为0.28，提示该菌株可能为致病菌株，与文献报道致病索氏梭菌G-C含量低特点一致<sup>[8]</sup>。

索氏梭菌主要通过释放致命毒素（lethal toxin，TcsL）、出血毒素（haemorrhagic toxin，TcsH）、溶血素、磷脂酶C和神经氨酸酶等毒素引起患者全身炎症反应和凝血功能障碍<sup>[9-11]</sup>；但流行病学显示，医院分离的索氏菌属通

常缺少致命毒素和出血毒素等关键致病基因<sup>[5]</sup>。本研究通过Prokka基因注释软件对索氏梭菌AM370进行全基因组分析后发现该菌株缺少致命毒素和出血毒素等关键致病基因，但含有编码溶血素、磷脂酶C和神经氨酸酶基因序列（见图6）；上述基因产生的溶血素可破坏红细胞、血管内皮细胞，继发性引起炎症反应；磷脂酶C产生的 $\alpha$ -毒素可导致溶血和组织坏死，神经氨酸酶产生的毒力因子可能是导致该患者产生类白血病反应的原因<sup>[12]</sup>。该患者血栓弹力图R值3.7 min，K值为0.9 min， $\alpha$ 角为76.6说明凝血因子活性强，纤维蛋白异常，提示患者体内血液处于高凝状态；D-二聚体的持续性增高进一步验证了患者的血管内凝血状态<sup>[13]</sup>；血压由入院前的182/83 mmHg降低至135/71 mmHg，乳酸由1.1 mmol/L升高至3.3 mmol/L，CRP、PCT和IL-6水平平均居高不下，提示该患者存在细菌感染导致的中毒性休克综合征<sup>[14]</sup>。

索氏梭菌感染的早期诊断通常比较困难，原因有如下几个方面：①肠道外感染率低，且患者症状具有非特异性和多样性，仅凭临床表现难以确诊感染；②整个病程无发热现象，医生可能不会重点监护，易漏诊；③基层医院缺乏厌氧培养及必要的快速鉴定手段<sup>[15]</sup>。

由于该菌引起感染继发死亡的发生率高，尽管国外推荐采用多西环素预防性给药，但是仍然存在一定几率的耐药<sup>[16]</sup>，文献报道克林霉素、青霉素对该菌属耐药率分别低于8.5%和6.8%<sup>[17]</sup>，对头孢类抗菌药物均敏感仅对头孢噻吩耐药、对红霉素以及甲硝唑均显示敏感<sup>[18-19]</sup>，也有文献报道推荐万古霉素治疗<sup>[20]</sup>。该患者体外药敏试验显示，对四环素和克林霉素耐药，对比阿培南、万古霉素和利奈唑胺均敏感，



注：内圈为*P. sordellii* AM370菌株全基因组序列环状图以及外圈为溶血素、磷脂酶C、神经氨酸酶基因编码序列位点；中间圈层为G-C含量示意图

图6 *P. sordellii* AM370全基因组序列环状图

与已有文献报道一致<sup>[21]</sup>, 但该患者使用了比阿培南联合利奈唑胺治疗效果并不显著, 可能缺少细菌释放特异性毒素的拮抗物有关<sup>[9, 22]</sup>, 另外该患者存在糖尿病和高乳酸血症等内环境改变也影响了抗菌药物疗效<sup>[23]</sup>。

综上, 通过对患者病史、症状和检验结果分析, 该患者存在高龄、糖尿病、压疮等导致索氏梭菌感染的高危因素, 上述因素导致免疫持续抑制可能是引起该患者机会性感染的主要原因<sup>[24-25]</sup>。虽然目前国内尚未见由该菌种引起相关感染的报道, 但由该菌引起的中毒性休克综合征病程进展迅猛, 病死率高, 临床医生需要提高对本病的警惕性, 积极主动地与检验医师沟通, 通过革兰染色、血液厌氧培养及质谱的快速鉴定可准确鉴定培养结果, 及早给予规范正确的治疗, 以期降低本病病死率。通过对这种潜在致命病原体的临床阐述以及生物信息学分析, 对临床医生遇到类似情况时进行快速准确的处理具有重要的参考意义。

### 参 考 文 献

- [1] Taki Y, Watanabe S, Sato'o Y, et al. The association between onset of Staphylococcal non-menstrual toxic shock syndrome with inducibility of toxic shock syndrome toxin-1 production[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 765317.
- [2] Finegold SM. Anaerobic infections in humans: an overview[J]. Anaerobe, 1995, 1(1): 3-9.
- [3] Angrup A, Sood A, Ray P, et al. Clinical anaerobic infections in an Indian tertiary care hospital: A two-year retrospective study[J]. Anaerobe, 2022, 73: 102482.
- [4] Aldape MJ, Bryant AE, Stevens DL. *Clostridium sordellii* infection: epidemiology, clinical findings, and current perspectives on diagnosis and treatment[J]. Clin Infect Dis, 2006, 43(11): 1436-1446.
- [5] Zerrouki H, Rebiahi SA, Elhabiri Y, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *PaeniClostridium sordellii* in hospital settings[J]. Antibiotics, 2021, 11(1): 38.
- [6] Sirigi Reddy AR, Girinathan BP, Zapotocny R, et al. Identification and characterization of *Clostridium sordellii* toxin gene regulator[J]. J
- [7] Vidor CJ, Hamiot A, Wisniewski J, et al. A highly specific holin-mediated mechanism facilitates the secretion of lethal toxin TcsL in *PaeniClostridium sordellii*[J]. Toxins, 2022, 14(2): 124.
- [8] Stothard P, Wishart DS. Circular genome visualization and exploration using CGView[J]. Bioinformatics, 2005, 21(4): 537-539.
- [9] Tian S, Liu Y, Wu H, et al. Genome-Wide CRISPR screen identifies semaphorin 6A and 6B as receptors for *PaeniClostridium sordellii* toxin TcsL[J]. Cell Host Microbe, 2020, 27(5): 782-792. e7.
- [10] Vidor C, Awad M, Lyras D. Antibiotic resistance, virulence factors and genetics of *Clostridium sordellii*[J]. Res Microbiol, 2015, 166(4): 368-374.
- [11] Jank T, Aktories K. Structure and mode of action of *Clostridial* glucosylating toxins: the ABCD model[J]. Trends Microbiol, 2008, 16(5): 222-229.
- [12] Awad MM, Singleton J, Lyras D. The sialidase NanS enhances non-TcsL mediated cytotoxicity of *Clostridium sordellii*[J]. Toxins, 2016, 8(189): 1-15.
- [13] Orrell KE, Melnyk RA. Large *Clostridial* toxins: mechanisms and roles in disease[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2021, 85(3): e0006421.
- [14] 中国医师协会急诊医师分会. 中国“脓毒症早期预防与阻断”急诊专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(5): 518-530.
- [15] 曹敬荣, 王岩, 谢威, 等. 质谱技术快速鉴定临床分离丝状真菌的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(5): 374-379.
- [16] Vidor CJ, Bulach D, Awad M, et al. *PaeniClostridium sordellii* and *Clostridioides difficile* encode similar and clinically relevant tetracycline resistance loci in diverse genomic locations[J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1): 53-65.
- [17] Sárvári KP, Schoblocher D. The antibiotic susceptibility pattern of gas gangrene-forming *Clostridium spp.* clinical isolates from South-Eastern Hungary[J]. Infect Dis (Lond), 2020, 52(3): 196-201.
- [18] Nakamura S, Yamakawa K, Nishida S. Antibacterial susceptibility of *Clostridium sordellii* strains[J]. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A, 1986, 261(3): 345-349.
- [19] Brazier JS, Levett PN, Stannard AJ. Antibiotic susceptibility of clinical isolates of *Clostridia*[J]. J Antimicrob Chemother, 1985, 15(2): 181-185.
- [20] Silva J, Henry R, Strickland M, et al. Rapidly fatal necrotizing soft tissue infection due to *Clostridium sordellii* in an injection drug user[J]. Am J Emerg Med, 2021, 44: 480. e1-480. e3.
- [21] 王燕, 张会英, 吴俊, 等. 48例厌氧菌血流感染的临床特点及耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017, 11(6): 573-577.
- [22] Guzzetta M, Williamson A, Duong S. *Clostridium sordellii* as an uncommon cause of fatal toxic shock syndrome in a postpartum 33-year-old Asian woman, and the need for antepartum screening for this *Clostridia* species in the general female population[J]. Lab Med, 2016, 47(3): 251-254.
- [23] Ji HJ, Zhang Y. The role of pharmacist in scientific antimicrobial management strategy in the ICU[J]. Critical Care Medicine, 2019, 47(8): e718-e719.
- [24] Couchman EC, Browne HP, Dunn M, et al. *Clostridium sordellii* genome analysis reveals plasmid localized toxin genes encoded within pathogenicity loci[J]. BMC Genomics, 2015, 16(1): 392.
- [25] Bonnez AK, Stephens SE, Miller PJ. Non-lethal *Clostridium sordellii* bacteraemia in an immunocompromised patient with pleomorphic sarcoma [J]. BMJ Case Rep, 2016, 2016(1): 1-3.

(收稿日期: 2021-10-27)

(本文编辑: 孙荣华)

唐芹芳, 孙明忠, 傅庆萍, 等. 糖尿病患者索氏梭菌感染致中毒性休克综合征一例[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022, 16(5): 354-358.