

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.03.024

· 综述 ·

## 艰难梭菌流行病学国内外研究进展

# Research advances in epidemiology of *Clostridium difficile* at home and abroad

孔懿(KONG Yi), 叶家欣(YE Jia-xin)

(南京鼓楼医院, 江苏 南京 210008)

(Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China)

[关键词] 艰难梭菌; 医院感染; 分子流行病学

[中图分类号] R378.8 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2017)03-0280-07

艰难梭状芽孢杆菌(*Clostridium difficile*, CD)简称艰难梭菌,属于厌氧芽孢梭菌属,革兰染色阳性,粗大形杆菌(长 3.0~16.9  $\mu\text{m}$ ,宽 0.5~1.9  $\mu\text{m}$ ),有鞭毛,能形成芽孢<sup>[1]</sup>。CD 于 1935 年由 Hall 和 O'Toole 第一次从婴儿的粪便中分离得到。1978 年 George 第一次报道 CD 与人类假膜型结肠炎相关,患者在使用抗菌药物后发生由 CD 导致的假膜型结肠炎。二十世纪九十年代起艰难梭菌感染(*Clostridium difficile* infection, CDI)成为重要的医源性感染之一,2003 年北美洲及欧洲曾发生多起严重医院内 CDI 暴发,病死率显著升高。CDI 发生率增加及暴发流行的原因可能与高毒力菌株 NAP1/027/BI(限制性内切酶分型 BI,脉冲场凝胶电泳分型 NAP1,PCR 核糖体分型 027)有关<sup>[2]</sup>。目前,该亚型在世界范围内广泛流行。本文将对 CDI 的发病机制,临床症状及国内外分子流行病学的研究现状进行综述。

### 1 CDI 的发病机制

长期以来 CD 被认为是人类肠道的正常菌群,当肠道内菌群失调后 CD 大量繁殖,最后导致腹泻或假膜性结肠炎等疾病<sup>[2]</sup>。住院患者随着住院时间的延长和抗菌药物使用的增加,携带率可达 16%~

35%<sup>[3]</sup>;CD 在健康人群的携带率仅为 3%,而健康新生儿或儿童的携带率较高,达 80%<sup>[4-6]</sup>。医院内发生的艰难梭菌相关性腹泻(*Clostridium difficile*-associated diarrhea, CDAD)往往与污染的环境表面、医务人员的手相关<sup>[7]</sup>。目前,存在两种较流行的医院内 CDAD 病理学解释,一种认为患者在住院期间获得 CDI,使用抗菌药物后发生腹泻症状;另一种则认为患者虽是在住院期间获得 CD,但直至接受抗菌药物治疗后感染才发生<sup>[8]</sup>。

CD 主要通过产生 A、B 两种毒素引起 CDAD。毒素 A(TcdA)为肠毒素,可与肠道黏膜受体结合,引起黏膜炎症和细胞浸润,产生各种炎症因子,介导炎症渗出,还可诱导紧密连接蛋白重新分配,导致上皮屏障功能改变,通透性增加,从而引发一系列临床症状;毒素 B(TcdB)为细胞毒素,可使肠道黏膜细胞发生凋亡、变性、坏死、脱落。TcdA 和 TcdB 两种毒素的编码基因为 *tcdA* 和 *tcdB*,存在于 CD 染色体上的致病性决定区(pathogenicity locus, PaLoc)。该决定区在 *tcdC* 等调控基因作用下分泌毒素。另一些毒株可由 PaLoc 外的基因 *cdtA* 和 *cdtB* 编码产生二元毒素(binary toxin)。二元毒素的毒性较 TcdA 及 TcdB 强烈,常导致更严重的疾病,且与 CDI 的高复发率有关。二元毒素的致病机制尚不十分明确,目前已知其是一种 ADP-核糖基毒素,能降

[收稿日期] 2016-06-03

[作者简介] 孔懿(1984-),女(汉族),江苏省南京市人,助理研究员,主要从事医院感染管理研究。

[通信作者] 孔懿 E-mail:kaular\_1103@qq.com

解聚肌动蛋白细胞骨架,体外细胞培养实验发现其能导致上皮细胞发生积液,形态变圆并最终凋亡<sup>[8]</sup>。

## 2 CDI 的临床症状

CD 是医院内常见的条件致病菌,常造成住院患者感染性腹泻。医院内获得艰难梭菌感染(hospital-acquired CDI, HA-CDI)是指入院 48 h 后或出院后 4 周内出现的 CDI。然而,最近发现部分患者发生 CDI 时既无住院史也未使用过抗菌药物,此种感染被称为社区获得型艰难梭菌感染(community-acquired CDI, CA-CDI),定义为在社区或住院 48 h 内发生的 CDI,且要求患者在过去的 12 周内无住院史。若患者的感染症状发生在出院后的 4~12 周内,则将其定义为不确定型 CDI<sup>[9]</sup>。

2.1 带菌者阶段 带菌者即指个体的粪便中检出 CD 但无腹泻症状,个体可能成为 CD 的储菌库。健康成年人、住院患者、长期住院患者中带菌者的比率分别为 3%、20%~30% 和 50%<sup>[10]</sup>。虽然携带者向环境持续散播 CD 孢子的浓度低于 CDI 患者,但仍是 CD 持续污染医院环境的最好储菌库<sup>[10]</sup>。

2.2 CDAD 约 25%~30% 的抗菌药物相关性腹泻是由 CD 引起的。CDAD 的诊断为在使用抗菌药物 2 h 到 2 个月内发生的不明原因,并伴有腹痛和肠绞痛的腹泻。腹泻即指至少连续 2 d 持续性排出 3 次及 3 次以上的不成形粪便<sup>[9-10]</sup>。除此以外,从患者粪便中检测到 TcdA,则无论是否从粪便中成功分离到 CD 均判定为 CDAD。过去人们认为,CDAD 的发生一定与住院相关,然而最近几年美国疾病控制与预防中心(CDC)研究显示,暴露于被 CD 污染的环境才是 CDAD 发生最重要危险因子<sup>[10]</sup>。

2.3 艰难梭菌相关性肠炎(*C. difficile*-associated colitis, CDAC) 不形成假膜的肠炎是 CDI 最常见的临床症状。CDAC 导致住院费用增加,住院时间延长,其他疾病的发病率增高。CDI 症状包括腹痛、恶心、烦躁、厌食、水样腹泻和血便。另外,低烧、脱水、发热和白细胞增多也时有发生。对于已使用抗菌药物,但白细胞计数仍较高的患者需警惕 CDAC 的发生<sup>[11]</sup>。

2.4 假膜型结肠炎(pseudomembranous colitis, PMC) PMC 最早用于描述实施胃空肠吻合术后的并发症,即阻塞性消化性溃疡<sup>[11]</sup>。近年来,PMC 主要是用于描述使用抗菌药物引起的肠道内正常菌群紊乱而导致的结肠炎。大部分 PMC 案例与克林霉素和

林可霉素使用有关。然而最新文献<sup>[12]</sup>报道,PMC 与其他抗菌药物的使用相关。PMC 的临床症状包括肠绞痛、脱水、血清蛋白减少( $<30$  mg/L)、水样腹泻,以及炎性因子、血清蛋白升高和黏液增多。另外,在结肠黏膜上可见 2~10 mm 微黄色的斑块,在回肠末端进行乙状结肠镜检查是鉴别 PMC 的最佳方法。由于感染引起的潜在毒性效应,选择合适的抗菌药物治疗尤为重要。PMC 的复发率非常高,10%~25% 的治愈患者将再次发生 PMC<sup>[11-13]</sup>。

2.5 暴发性肠炎(fulminant colitis, FC) 约 3% 的 CDI 患者发生 FC,带来一系列严重的并发症,如肠穿孔、巨结肠,甚至死亡。最近几年 FC 发生率明显升高,可能与新出现的高毒力 CD 亚型有关<sup>[14]</sup>。

除此之外,CDI 会引起炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)。IBD 是临床诊治的难题,其症状与 CDI 类似。应对患有严重 IBD 的 CDI 患者进行每日评估,以确定是否适合实施进一步的免疫抑制治疗。CD 可能与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的恶化有关,但是由于 UC 的病因较广,一般不会优先考虑由 CDI 造成<sup>[14-15]</sup>。

## 3 国内外 CDI 流行病学情况

3.1 北美地区 目前,在美国 CD 已经代替耐甲氧西林金黄色葡萄球菌成为医源性感染最主要致病菌<sup>[16]</sup>。美国 CDC 自 2009 年开始开展全国 CD 流行病学调查,2011 年监测结果显示,美国发生约 50 万例 CDI,造成约 29 000 人死亡,其中 65.8% 为医源性感染,24.2% 为住院期间获得;1 625 例患者的粪便标本中分离 CD 1 364 株,其中最常见三种亚型是 NAP1、NAP4 和 NAP11,分别代表 PCR 核糖型 027、020 和 106<sup>[17]</sup>。加拿大 CDI 情况也急剧恶化,Gilca 等<sup>[18]</sup>利用 Serfling 回归模型分析魁北克市 83 所重症护理型医院的数据,结果显示,1998—2001 年该地区平均 CD 感染率为每千出院患者 5.8,2002—2004 年平均 CD 感染率上升至每千出院患者 20.7。研究<sup>[19]</sup>显示,2012 年加拿大发生 37 932 例 CDI,其中 20 002 例在医院内获得,16 326 例在社区获得,1 604 例感染发生在长期康复中心。与美国相似,加拿大地区的主要流行菌株也是 PCR 核糖体分型 027(约 62.7% 的医院感染 CD 为 027 型<sup>[20]</sup>)。

3.2 欧洲地区 欧洲许多国家相继报道 CD 感染率明显升高,严重程度明显加重,可能与高毒力菌株的出现有关。英国传染性疾病预防中心(The Com-

municable Disease Surveillance Center, CDSC) 数据显示,英格兰和威尔士地区 CDI 发病率逐年升高,1998—2001 年为 10 304 例,2002—2004 年为 40 852 例;2003—2006 年英国发生多起 CDI 暴发事件,经国家厌氧参考实验室(Anaerobe Reference Laboratory)鉴定,75 所医院的 450 株 CD 均为高毒力核糖体分型 027<sup>[21]</sup>。2005 年荷兰一所医院暴发 CDI,其感染率由每千出院患者 4 例上升至每千出院患者 83 例;同年荷兰的另一所教学医院发生 CDI 聚集事件,12 例感染患者均检出高毒力菌株 027 型;2006 年底荷兰全国共计 11 所医院曾发生由核糖体分型 027 造成的恶性感染暴发<sup>[22]</sup>。2005 年比利时 4 例 CDAD 患者分离到 027 型 CD,CD 感染率由原来的每万出院患者 10 例上升至每万出院患者 33 例,且 2005 年共 11 所医院报道 027 型 CDI 暴发事件<sup>[23]</sup>。2006 年初法国一所医院老年科 CDAD 发生率由原来的每万住院日 13 例上升至每万住院日 16 例,其中 50% 病原体检测为 CD 核糖体分型 027<sup>[24]</sup>。2006 年法国发生 15 起 CD 集聚事件,其中 87% (194/222) 的感染患者病原体为 CD 核糖体分型 027<sup>[24]</sup>。奥地利国家参考中心(Austrian National Reference Center)数据<sup>[25]</sup>显示,奥地利 2003—2007 年 CD 感染率上升了 255%。西班牙的研究结果<sup>[26]</sup>显示,1999—2007 年 CDI 发生率由每万住院患者 3.9 例上升至每万住院患者 12.2 例。2007 年欧洲疾病预防控制中心(European Center for Disease Prevention and Control, ECDC)开始非强制性要求会员国开展 CDI 监测,并帮助各国实施有效的感染预防控制措施,2010 年部分欧洲地区 CD 感染率有所下降,如英格兰和威尔士的 CDI 死亡人数由原来的 7 916 例下降至 2 335 例<sup>[20]</sup>。随着核糖体分型 027 感染得到有效控制,欧洲地区 CD 亚型流行趋势也有所变化。欧洲 CD 最常见亚型依次为核糖体分型 014/020(16%)、核糖体分型 001(10%)、核糖体分型 078(8%)、核糖体分型 018(6%)和核糖体分型 106、核糖体分型 027 和核糖体分型 002 (5%)<sup>[22]</sup>。

3.3 亚洲地区 日本文献记载的流行菌株为核糖体分型 smz,其在 2004 年达到顶峰,检出率为 64%<sup>[27]</sup>。核糖体分型 smz 即为国际上的核糖体分型 018,通过 slpA 分型还分为 3 种亚型,其中两种传播较广<sup>[28]</sup>。日本常见的其他亚型包括核糖体分型 014、核糖体分型 002 和核糖体分型 001<sup>[29]</sup>,但欧美流行的核糖体分型 027 却少见报道<sup>[27]</sup>。韩国有

关 CDI 的报道有所增多,2004—2008 年 CD 感染率从每千住院患者 1.7 例升高至每千住院患者 2.7 例<sup>[30]</sup>。另外,CA-CDI 感染率有所上升,釜山一所医院 CA-CDI 占其整体发病例数的 7.1%<sup>[30]</sup>;首尔一所医院急诊中心的 CDI,59.4% 为社区内获得<sup>[31]</sup>。韩国地区主要流行的 CD 亚型较复杂。二十世纪九十年代流行菌株主要为 *tcdA* 阴性 *tcdB* 阳性的变种体,为核糖体分型 017<sup>[31]</sup>;但 Shin 等<sup>[32]</sup>报道 2006—2010 年 72% 的假膜性肠炎是由 018 型 CD 引起。核糖体分型 027 曾在一起医院相关假膜性肠炎案例中检出,但其并未造成广泛流行<sup>[33]</sup>。核糖体分型 078 是韩国范围内最常见的产二元毒素 CD 菌株<sup>[33]</sup>。1990 年在泰国 206 例腹泻患者的粪便标本中,52.5% 检测到细胞毒素<sup>[34]</sup>。抗菌药物相关性腹泻的患者中,18.64% 培养出 CD,44% ~ 46% PCR 检测到 *tcdA* 和 *tcdB*<sup>[34]</sup>。目前,泰国无关于 CD 核糖体分型的相关报道。2006 年新加坡中央医院(Singapore General Hospital)CDI 发病率为每千住院患者 3.2 例,男性且年龄 > 50 岁的患者 CD 感染率更高<sup>[35]</sup>。一所具有 1 200 张床位的综合医院 2001—2006 年 CD 感染率持续上升,由每万住院日 1.49 例升高至每万住院日 6.64 例<sup>[36]</sup>。新加坡也发现产二元毒素的 CD 菌株,如核糖体分型 027,但只造成零散的医院感染<sup>[37]</sup>。

### 3.4 中国地区

3.4.1 香港 香港玛丽医院曾报道 1996—1997 年 3 112 例腹泻患者中有 100 例检出 CD<sup>[38]</sup>;2008 年 9—10 月利用组织培养细胞毒素的方法检测 723 例患者,其中 37 例 CD 阳性<sup>[39]</sup>。2003—2008 年香港地区 CD 感染率保持稳定,2008 年一所医院从 1 例正在使用糖皮质激素且在过去 1.5 年内无旅行记录的患者首次检测出高毒力 CD 核糖体分型 027,自此之后,针对 CDI 的检测不断增加,但未再发现有关 027 型的报道<sup>[39]</sup>。香港 CD 核糖体分型的相关数据并不多,最全面的一篇文献记录了某医疗区域内的 5 所医院,从 307 例患者标本中分离 CD 345 株,其中 70% 的核糖体分型与国际上最常见的 23 种亚型均不相同,11.6% 的菌株核糖体分型结果从未出现过,9.4% 的 CD 为核糖体分型 002,其导致的 CD 感染率从 2004 年每千住院患者 0.53 例上升至 2009 年的每千住院患者 0.95 例,而大陆地区较常见的核糖体分型 017 流行率约为 0.7%<sup>[40]</sup>。

3.4.2 台湾 台湾地区可能由于缺乏 CD 检测技术,掩盖了 CDI 流行的真实情况。Chang 等<sup>[41]</sup>报

道,2003—2007 年 >65 岁患者 CD 感染率已上升 5~6 倍;2002—2009 年 CD 培养阳性率一直保持在 10%左右<sup>[42]</sup>。2010 年一所台北医院报道,全院 CD 感染率为每千住院患者 0.45 例,重症监护病房为每千住院患者 7.9 例<sup>[43]</sup>。Wei 等<sup>[44]</sup>对 142 份 CD 菌株进行分型,发现其中 6%为核糖体分型 017。台湾地区已发现产二元毒素的菌株,但目前尚未发现核糖体分型 027 和 078<sup>[45]</sup>。

3.4.3 中国大陆 我国对 CDAD 的报道最早可追溯到二十世纪八十年代初,陈民钧等<sup>[46]</sup>报道北京协和医院 1982 年 10 月—1983 年 3 月 11 例由抗菌药物诱发的结肠炎,并从患者的粪便中分离到 CD。但直到二十世纪九十年代后 CDI 才逐渐引起公众的关注。1996 年 9 月—1997 年 6 月北京协和医院 36 例腹泻住院患者,PCR 检测 *tcdB* 阳性率为 46.7%,*tcdA* 阳性率为 36.1%<sup>[47]</sup>;1999 年 1 月—2001 年 12 月抗菌药物治疗 1 周以上出现腹泻的 199 例成人患者,其中检出 CD 34 例,阳性率为 17.1%<sup>[48]</sup>。

21 世纪后我国 CDI 呈上升趋势,但相关文献并不多,所以很难判断感染率的上升是因为流行病学发生改变,还是由于 CD 检测技术的提高。在中国知网上搜索 2000—2015 年发表的所有相关中文文献,共找到论著 6 篇。广州市第一人民医院 2008 年 4—11 月 202 例诊断为抗菌药物相关性腹泻的患者,使用酶链荧光免疫检测其标本 CD 毒素,*tcdA/B* 阳性率为 21.8%<sup>[49]</sup>。南方医院 2009 年 12 月—2012 年 5 月检测 3 660 例腹泻住院患者的粪便,其中 572 份标本 *tcdB* 基因阳性,阳性率为 15.6%<sup>[8]</sup>。武汉大学人民医院 2010 年 6 月—2012 年 6 月对怀疑 CDAD 患者的 54 份标本进行 PCR 毒素检测,其中 19 份检测到 CD,阳性率为 35.2%<sup>[50]</sup>。高燕婷等<sup>[51]</sup>研究显示,上海交通大学医学院附属瑞金医院 2013 年 11 月—2014 年 2 月住院腹泻患者 706 份不成形粪便,其中 CD 阳性 34 份,阳性率为 4.82%。国内尚未有 CD 发病率和致死率报道,仅有部分医院内高危科室住院患者 CD 检出率。2014 年杭州市某医院 28 例 ICU 住院患者肛拭子标本中 9 例 CD 阳性,阳性率为 32.14%,均携带 *tcdA/B* 基因<sup>[52]</sup>。2014 年 9 月采集郑州大学第一附属医院高危科室 128 例患者的肛拭子标本,其中 22 例 CD 阳性,阳性率为 17.19%<sup>[53]</sup>。我国 HA-CDI 仍尚不明确,高危科室患者的携带率非常高,大量的 CDI 未被发现,可能与我国抗菌药物使用混乱,CD 的认识

不足,以及 CD 检测方法不普及等因素相关。

国内关于 CD 分子流行病学的调查相关文献较少,中国疾病预防控制中心 2014 年对来自三个城市(北京、广州和济南)的 64 株 CD 进行 PCR-核糖体分型,共获得 9 种分型,其中以 017 型(21 株,32.8%)为主<sup>[54]</sup>。2011 年对石家庄 32 株 CD 进行研究,共发现 12 种不同的 PCR 核糖体分型,其中以 SI 型为主(28%)<sup>[55]</sup>。2014 年中南大学李春辉对其附属医院的 32 株 CD 进行 MLST 分析,共获得 9 种序列型,主要的三种分别为 ST45(9 株)、ST39(7 株)和 ST26(6 株)<sup>[56]</sup>。部分英文文献对中国国内目前 CD 分子流行病学情况进行了探讨,但结论存在争议。在 PubMed 上共搜索到 9 篇相关文献,其中 Huang 等<sup>[57]</sup>报道 2007—2008 年上海华山医院 CD 感染率为每万出院患者 13.04 例,并对 56 株菌株进行核糖体分型,以 SH II 特殊克隆子为主。另外,Huang 在 2009 年发表的文章中指出,来自上海的 75 株 CD,18.7%为核糖体分型 017<sup>[58]</sup>。Chen 等<sup>[59]</sup>对 2009—2011 年浙江大学医学院附属第一医院的 161 株 CD 进行毒素分析和多位点序列分型,结果显示 83.2%的 CD 为 TcdA 阳性 TcdB 阳性,主要的三种序列型是 ST54(RT012)、ST35(RT002)和 ST37(RT017)。2012—2013 年四川华西医院 ICU CD 感染率为每万住院日 25.2 例,共分离 CD 28 株,其中两株为二元毒素菌株;多位点序列分析显示,共 11 种型,其中 5 株 ST3(RT001)、4 株 ST35(RT046)、4 株 ST54(RT012)和 3 株 ST37(RT017)<sup>[60]</sup>。同年上海华山医院发生抗菌药物相关性腹泻的 206 例患者,其中 63 例(30.6%)为 CDI。对 65 株 CD 菌株进行核糖体分型,分为 18 种核糖体型,其中 18.8%为 RT H(ST-81)、14.1%为 RT012(ST54)和 12.5%为 RT017(ST37)<sup>[61]</sup>。2010—2013 年上海瑞金医院 94 例 CDI,其中 31 例(33%)为 TcdA 阴性 TcdB 阳性的 ST37 型,研究人员认为 ST37 毒力较弱,产生的孢子也较少,但对抗菌药物的耐药性较强<sup>[62]</sup>。与中国 CDC 2014 年发表的文章观点不同,后者认为 ST37 的 *tcdA* 和 *tcdB* 基因与已知的高毒力菌株有相似性,应表现出更强的毒性<sup>[54]</sup>。中国国内一直未发现高毒力的 027 型和 078 型,直至 2015 年 1 月 Wang 等<sup>[63]</sup>报道中国大陆首例 CD 核糖体分型 027,该菌株分离自一例 44 岁患大肠克罗恩病的女性,2011—2013 该患者就诊于广州南方医院,因长期使用抗菌药物,在 2012 年 10 月发生抗菌药物相关性腹泻,后在其粪便中检

测出 CD 核糖体分型 027。

#### 4 总结

CD 已被美国 CDC 认定为医院内获得的最主要致病菌,在美国每年造成约 50 万例感染,3 万例死亡和近 5.9 亿美元的医疗开销。CD 感染率和复发率的持续升高与一种高毒力的菌株 PCR 核糖体分型 027 密切相关。2003—2006 年美国、加拿大、英国、法国和比利时等西方发达国家均发生过严重的 027 型菌株感染暴发,造成严重后果。我国 CD 感染率也正在不断上升,但对其感染率上升原因的研究却很少。根据目前国内研究情况,我国对于 CD 的监测和认识还存在不足,尚无确切的地区性感染率和分子流行病学信息。大部分研究仅局限于某医院短时间内的 CD 感染情况。另一方面,由于基因分型方法不统一,不便于横向比较。所以,建议医院开展 CD 常规检测,以了解住院患者感染/定植的真实情况,同时采用统一的分子流行病学方法进行分析,希望尽早在全国范围内建立 CD 分子流行病学监测网络。

#### [参考文献]

[1] 贾文祥. 医学微生物学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2010.

[2] Hunt JJ, Ballard JD. Variations in virulence and molecular biology among emerging strains of *Clostridium difficile* [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2013, 77(4): 567–581.

[3] Aslam S, Hamill RJ, Musher DM. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: old therapies and new strategies [J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5(9): 549–557.

[4] Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea[J]. N Engl J Med, 2002, 364(5): 334–339.

[5] Viscidi R, Willey S, Bartlett JG. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations[J]. Gastroenterology, 1981, 81(1): 5–9.

[6] McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RY, et al. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection [J]. N Engl J Med, 1989, 320(4): 204–210.

[7] Kim KH, Fekety R, Batts DH, et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the environment and contacts of patients with antibiotic-associated colitis[J]. J Infect Dis, 1981, 143(1): 42–50.

[8] 王浦. 华南地区艰难梭菌流行病学研究与新型分子生物学检测技术评估[D]. 广州:南方医科大学, 2014.

[9] Wenisch JM, Schmid D, Kuo HW, et al. Hospital-acquired *Clostridium difficile* infection: determinants for severe

disease[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(8): 1923–1930.

[10] Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, et al. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents[J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(8): 992–998.

[11] Elliott B, Chang BJ, Golledge CL, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhoea [J]. Intern Med J, 2007, 37(8): 561–568.

[12] Kazanowski M, Smolarek S, Kinnarney F, et al. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities—a systematic review[J]. Tech Coloproctol, 2014, 18(3): 223–232.

[13] Thomas C, Stevenson M, Riley T. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a systematic review[J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 51(6): 1339–1350.

[14] Adams SD, Mercer DW. Fulminant *Clostridium difficile* colitis[J]. Curr Opin Crit Care, 2007, 13(4): 450–455.

[15] Dallal RM, Harbrecht BG, Boujoukas AJ, et al. Fulminant *Clostridium difficile*: an underappreciated and increasing cause of death and complications[J]. Ann Surg, 2002, 235(3): 363–372.

[16] Miller BA, Chen LF, Sexton DJ, et al. Comparison of the burdens of hospital-onset, healthcare facility-associated *Clostridium difficile* infection and of healthcare associated infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community hospitals[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2011, 32(4): 387–390.

[17] Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States[J]. N Engl J Med, 2015, 372(9): 825–834.

[18] Gilca R, Hubert B, Fortin E, et al. Epidemiological patterns and hospital characteristics associated with increased incidence of *Clostridium difficile* infection in Quebec, Canada, 1998–2006[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010, 31(9): 939–947.

[19] Levy AR, Szabo SM, Lozano-Ortega G, et al. Incidence and costs of *Clostridium difficile* infection in Canada[J]. Open Forum Infect Dis, 2015, 2(3): ofv076.

[20] MacConnell DR, Louie TJ, Gregson DB, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(6): 2147–2152.

[21] Wiegand PN, Nathwani D, Wilcox MH, et al. Clinical and economic burden of *Clostridium difficile* infection in Europe: a systematic review of healthcare-facility-acquired infection [J]. J Hosp Infect, 2012, 81(1): 1–14.

[22] Vicente MR, Pariente M, Riquelme E, et al. *Clostridium difficile*-associated diseases: a 2-year study[C]. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2008, 19e22.

- [23] Eckmanns T. Mortality burden of *Clostridium difficile*-associated disease in adults; an under-recognized crisis[J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(1): 123 - 130.
- [24] Goorhuis A, Debast SB, Dutilh JC, et al. A case control study during an outbreak of *Clostridium difficile* infections due to PCR ribotypes 027 and 017 occurring simultaneously in one hospital in the Netherlands[C]. 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2009, 16e19.
- [25] Goorhuis A. Outbreak with *Clostridium difficile* PCR-ribotypes 027 and 017 simultaneously in a Dutch hospital[C]. 49th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, 2009, 12e15.
- [26] Asensio A, Vaque-Rafart J, Calbo-Torrecillas F, et al. Increasing rates in *Clostridium difficile* infection (CDI) among hospitalised patients, Spain 1999 - 2007[J]. Euro Surveill, 2008, 13(31), pii: 18943.
- [27] Kato H, Kato N, Watanabe K, et al. Analysis of *Clostridium difficile* isolates from nosocomial outbreaks at three hospitals in diverse areas of Japan[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(4): 1391 - 1395.
- [28] Sawabe E, Kato H, Osawa K, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* at a university teaching hospital in Japan; a shift in the predominant type over a five-year period [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(10): 695 - 703.
- [29] Iwashima Y, Nakamura A, Kato H, et al. A retrospective study of the epidemiology of *Clostridium difficile* infection at a university hospital in Japan: genotypic features of the isolates and clinical characteristics of the patients[J]. J Infect Chemother, 2010, 16(5): 329 - 333.
- [30] Choi HK, Kim KH, Lee SH, et al. Risk factors for recurrence of *Clostridium difficile* infection; effect of vancomycin-resistant *Enterococci* colonization [J]. J Korean Med Sci, 2011, 26(7): 859 - 864.
- [31] Kim H, Riley TV, Kim M, et al. Increasing prevalence of toxin A-negative, toxin B-positive isolates of *Clostridium difficile* in Korea; impact on laboratory diagnosis[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(3): 1116 - 1117.
- [32] Shin BM, Kuak EY, Yoo SJ, et al. Emerging toxin A - B + variant strain of *Clostridium difficile* responsible for pseudomembranous colitis at a tertiary care hospital in Korea [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008, 60(4): 333 - 337.
- [33] Kim H, Jeong SH, Roh KH, et al. Investigation of toxin gene diversity, molecular epidemiology, and antimicrobial resistance of *Clostridium difficile* isolated from 12 hospitals in South Korea[J]. Korean J Lab Med, 2010, 30(5): 491 - 497.
- [34] Wongwanich S, Ramsiri S, Vanasin B, et al. *Clostridium difficile* associated disease in Thailand[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 1990, 21(3): 367 - 372.
- [35] Koh TH, Tan AL, Tan ML, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in a large teaching hospital in Singapore [J]. Pathology, 2007, 39(4): 438 - 442.
- [36] Lim PL, Barkham TM, Ling LM, et al. Increasing incidence of *Clostridium difficile*-associated disease, Singapore [J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(9): 1487 - 1489.
- [37] Lim PL, Ling ML, Lee HY, et al. Isolation of the first three cases of *Clostridium difficile* polymerase chain reaction ribotype 027 in Singapore[J]. Singapore Med J, 2011, 52(5): 361 - 364.
- [38] Wong SS, Ho PL, Woo PC, et al. Bacteremia caused by *Staphylococci* with inducible vancomycin heteroresistance[J]. Clin Infect Dis, 1999, 29(4): 760 - 767.
- [39] Cheng VC, Yam WC, Chan JF, et al. *Clostridium difficile* ribotype 027 arrives in Hong Kong [J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(5): 492 - 493.
- [40] Cheng V, Yam W, Lam O, et al. *Clostridium difficile* isolates with increased sporulation: emergence of PCR ribotype 002 in Hong Kong[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(11): 1371 - 1381.
- [41] Chang SC, Su CH, Chou WH, et al. Epidemiology of nosocomial *Clostridium difficile* disease in Taiwan[J]. Taiwan Epidemiol Bulletin, 2009, 25(3): 163 - 177.
- [42] Chan YY, Lin TY, Huang CT, et al. Implementation and outcomes of a hospital-wide computerized antimicrobial stewardship programme in a large medical centre in Taiwan[J]. Int J Antimicrob Agents, 2011, 38(6): 486 - 492.
- [43] Lee YC, Wang JT, Chen AC, et al. Changing incidence and clinical manifestations of *Clostridium difficile*-associated diarrhea detected by combination of glutamate dehydrogenase and toxin assay in Northern Taiwan[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2012, 45(4): 287 - 295.
- [44] Wei HL, Kao CW, Wei SH, et al. Comparison of PCR ribotyping and multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) for improved detection of *Clostridium difficile*[J]. BMC Microbiol, 2011, 11: 217.
- [45] Lin YC, Huang YT, Tsai PJ, et al. Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of clinical isolates of *Clostridium difficile* in Taiwan [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(4): 1701 - 1705.
- [46] 陈民钧, 陈德昌, 马遂, 等. 抗生素诱发性结肠炎及难辨梭状芽胞杆菌[J]. 中国医学科学院学报, 1985, 7(4): 316 - 318.
- [47] 关宏, 钱家鸣, 陆星华, 等. 用 PCR 方法检测粪便难辨梭状芽胞杆菌[J]. 临床消化病学杂志, 2001, 13(4): 147 - 148.
- [48] 胡云建, 胡继红, 陶凤蓉, 等. 难辨梭状芽胞杆菌检测与临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(3): 167 - 168.
- [49] 黄怡, 聂玉强. 难辨梭状芽胞杆菌与抗生素相关性腹泻的临床流行病学比较[J]. 广东医学院学报, 2009, 27(4): 373 - 375.
- [50] 徐亚青, 邓敏. 难辨梭状芽胞杆菌医院感染的流行病学特征及感染控制现状分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(30): 5073 - 5075.
- [51] 高燕婷, 章黎华, 王粟, 等. 住院腹泻患者艰难梭菌感染的临床特点分析[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2014, 34(10): 1481 - 1484.
- [52] 金慧, 吴建浓, 韦凌娅, 等. 艰难梭菌分离培养与病原学分子特

- 征研究[J]. 浙江预防医学, 2014, 26(6): 602 - 603.
- [53] 高姗, 金慧, 李福琴, 等. 艰难梭菌在高风险科室医院感染流行趋势研究[J]. 中华医院感染学研究, 2015, 25(11): 2423 - 2425.
- [54] Du P, Cao B, Wang J, et al. Sequence variation in *tcdA* and *tcdB* of *Clostridium difficile*: ST37 with truncated *tcdA* is a potential epidemic strain in China[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(9): 3264 - 3270.
- [55] 杨靖, 李雅静, 温海楠, 等. 艰难梭菌感染实验室诊断方法的研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(8): 692 - 695.
- [56] 李春辉. 艰难梭菌多位点序列分型及感染危险因素流行病学[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [57] Huang H, Wu S, Wang M, et al. Molecular and clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in a university hospital in Shanghai, China[J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(12): 1606 - 1608.
- [58] Huang H, Fang H, Weintraub A, et al. Distinct ribotypes and rates of antimicrobial drug resistance in *Clostridium difficile* from Shanghai and Stockholm[J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(12): 1170 - 1173.
- [59] Chen Y, Gu S, Wei Z, et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* in a tertiary hospital of China[J]. J Med Microbiol, 2014, 63(Pt4): 562 - 569.
- [60] Wang X, Cai L, Yu R, et al. ICU-onset *Clostridium difficile* infection in a university hospital in China: a prospective cohort study[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111735.
- [61] Zhou FF, Wu S, Klena JD, et al. Clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital in China [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014, 33(10): 1773 - 1779.
- [62] Dong D, Peng Y, Zhang L, et al. Clinical and microbiological characterization of *Clostridium difficile* infection in a tertiary care hospital in Shanghai, China [J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(9): 1601 - 1607.
- [63] Wang P, Zhou Y, Wang Z, et al. Identification of *Clostridium difficile* ribotype 027 for the first time in Mainland China [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2015, 35(1): 95 - 98.

(本文编辑: 曾翠)