

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2015.04.020

· 综述 ·

## 艰难梭菌在健康人群中的定植与感染防控策略研究进展

# Advances in prevention and control strategies on colonization and infection of *Clostridium difficile* among healthy populations

田甜甜<sup>1,2</sup>(TIAN Tian-tian), 强翠欣<sup>2</sup>(QIANG Cui-xin), 杨靖<sup>2</sup>(YANG Jing), 王洁<sup>1,2</sup>(WANG Jie) 综述,  
赵建宏<sup>1,2</sup>(ZHAO Jian-hong) 审校

(1 河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000; 2 河北省临床检验中心, 河北 石家庄 050000)

(1 The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China; 2 Clinical Laboratory Center, Shijiazhuang 050000, China)

[关键词] 艰难梭菌; 定植; PCR-核糖体分型; PFGE 分型; 预防

[中图分类号] R378.8 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2015)04-0284-05

艰难梭菌(*Clostridium difficile*)是专性厌氧革兰阳性芽孢杆菌,主要通过粪口途径进行传播,并可导致艰难梭菌感染(*Clostridium difficile* infection CDI)<sup>[1]</sup>。该菌于1935年首次报道,直至1978年被认为是引起假膜性结肠炎的病原菌之一<sup>[2-3]</sup>。其致病机制主要是产生A、B两种毒素(TcdA, TcdB),临床表现可从轻度的自限性腹泻到严重的假膜性结肠炎的腹泻<sup>[4]</sup>。近年,由于艰难梭菌高产毒株(O27/NAP1/BI型)在世界几个地区的暴发流行,且在中国香港和广东省已有O27型散发的个案报道,艰难梭菌已成为医院获得性感染的主要病原菌之一<sup>[5-9]</sup>。我们曾对石家庄地区医院住院患者分离的33株艰难梭菌进行多位点序列分型,发现以ST37和ST54为主,与我国北京的报道<sup>[10]</sup>一致。近年,儿童及成人社区获得性CDI呈上升趋势<sup>[11-14]</sup>,在美国、加拿大和欧洲地区社区获得性CDI占总CDI发病人数的20%~50%<sup>[15]</sup>,其越来越受到人们的关注<sup>[16]</sup>。但是,社区艰难梭菌传播途径,尤其是无症状携带艰难梭菌的健康人群在CDI的流行中所发挥的作用还未知。因此,本文对健康人群艰难梭菌的定植、传播及感染防控做一详细综述。

### 1 健康人群艰难梭菌的定植情况

1.1 婴幼儿艰难梭菌的定植 新生儿刚出生时肠道是无菌的,1 d后肠道菌群开始建立,1周后获得与成人相似的菌群结构。正常成人艰难梭菌的携带率为1%~7%<sup>[17]</sup>,而儿童的携带率可高达75%,但通常并未表现出腹泻相应的临床症状<sup>[18-25]</sup>。其机制可能由以下几点:(1)由于肠道非产毒株艰难梭菌的竞争性抑制,使产毒艰难梭菌生长受到限制。(2)婴儿不成熟的免疫系统,信号通路的表达下降,肠道毒素受体的缺乏,导致艰难梭菌的毒素缺乏作用靶位,从而不能对其致病。(3)婴儿正常的菌群结构对毒素产生的调节作用以及从母体内获得的有关抗体可以中和毒素<sup>[26]</sup>。

截止目前研究推测,在婴幼儿肠道内定植的艰难梭菌主要有两大来源。第一,婴幼儿携带的艰难梭菌可能来源于医院环境。Kim等<sup>[27]</sup>在新生儿病房的地板上检出艰难梭菌,并且发现其能在地面存活5个月之久。第二,母婴传播。Matsuki等<sup>[24]</sup>对40对新生儿和母亲及其出生时的医院环境进行艰难梭菌的检测发现,新生儿及其母亲粪便中分离的

[收稿日期] 2014-10-04

[基金项目] 科技部国家科技基础条件平台工作重点项目(2005DKA21202-6);河北省自然科学基金(2013206450);河北省科技厅基础条件平台建设项目(河北省医学微生物菌种资源标准平台建设10966142D)

[作者简介] 田甜甜(1988-),女(汉族),河北省石家庄市人,检验师,硕士研究生,主要从事临床微生物致病机制和耐药性研究。

[通信作者] 赵建宏 E-mail: zhaojh\_2002@yahoo.com

艰难梭菌聚合酶链反应(PCR)-核糖体分型和脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型相同,而与医院环境中分离的菌株型别存在差异,表明婴幼儿肠道内的艰难梭菌可能通过母婴传播获得。所以母婴传播与环境因素对婴幼儿艰难梭菌的定植均可能起一定的作用。

儿童艰难梭菌的定植可能是一个动态过程,其携带率受年龄、饮食和环境等因素影响。首先,艰难梭菌定植与年龄相关。研究<sup>[28]</sup>表明,婴幼儿出生第 1 个月即携带有艰难梭菌,7~9 个月携带率达最高,而后随年龄的增长呈下降趋势,2 岁后携带率与成人接近。其次,母乳喂养婴儿的携带率比奶粉喂养的低。目前,母乳中是否存在抑制艰难梭菌定植的机制尚无定论,但有以下几种说法可以对其进行初步解释。(1)母乳喂养婴儿的粪便 pH 值比奶粉喂养婴儿低,胃肠道内容物酸性的增加可以使艰难梭菌由营养细胞状态变成芽孢状态,从而抑制其定植<sup>[29]</sup>。(2)母乳中的免疫球蛋白主要是分泌性 IgA 和非免疫球蛋白成分,可以抑制毒素 A 和受体的结合<sup>[30]</sup>。(3)母乳喂养婴儿的粪便低 pH 值有利于肠道中双歧杆菌的生长,从而通过竞争营养物质及产生乳酸、氢过氧化物、挥发性脂肪酸和细菌素等抑制艰难梭菌生长<sup>[31-34]</sup>。再次,环境因素对艰难梭菌的定植也存在一定的影响。研究<sup>[35]</sup>发现,住院时间延长会增加婴儿艰难梭菌的携带率,因此推测可能是暴露于医院环境的原因。

艰难梭菌在恶劣的环境下可以形成芽孢,而芽孢对于消毒剂(如乙醇)、肥皂、高温和干燥均有很强的抵抗力,可以在物体表面存活数月数十年,利于艰难梭菌的传播<sup>[36-37]</sup>。Matsuki 等<sup>[24]</sup>对 2 所托儿所及 1 所幼儿园的儿童及周围环境进行艰难梭菌检测,发现从托儿所地面分离的艰难梭菌与该托儿所儿童分离的菌株型别相同,该结果提示携带艰难梭菌的儿童粪便可能污染其周围环境,通过接触芽孢引发交叉感染并进行传播。Rousseau 等<sup>[38]</sup>对儿童粪便标本进行艰难梭菌培养,并与成人致病菌株进行比较,发现对成人致病的菌株也在儿童体内定植,所以儿童无症状定植的艰难梭菌可能成为病原菌的储存库和传染源。近期,我们对不同地区 3 所幼儿园健康儿童粪便艰难梭菌携带情况进行初步研究,发现 3 所幼儿园携带率类似,但与国外报道尚有不同之处,正在进行深入研究。

1.2 成人艰难梭菌定植及影响因素 目前,在医院内艰难梭菌感染期和恢复期患者,以及被艰难梭菌污

染的医院环境被认为是艰难梭菌潜在的传染源<sup>[39]</sup>。正常成人艰难梭菌的携带率为 1%~7%<sup>[17]</sup>,而其定植的艰难梭菌也可能是传染源。Kato 等<sup>[17]</sup>分别对 7 组 1 234 例健康成人用粪便直接培养法进行艰难梭菌检测,并用 PCR-核糖体及 PEGE 对菌株进行分型,发现总定植率为 7.6%,7 组人群的携带率为 4.2%~15.3%。其中 3 组中发现 PFGE 分型及 PCR-核糖体分型有聚类的现象,提示除医院内,社区正常成人中同样存在交叉感染。说明正常成人携带的艰难梭菌可能是社区获得性 CDI 的传染源。但关于其传播途径及致病机制尚需进一步阐述。

成人艰难梭菌的定植与肠道菌群之间存在一定的关系。以下因素可以抑制艰难梭菌的定植:肠道中氨基酸的缺乏、pH 值的降低和挥发性脂肪酸的增加等。Ozaki 等<sup>[40]</sup>对艰难梭菌阳性与阴性的人群进行肠球菌含量的分析,得出艰难梭菌阳性人群粪便中肠球菌的含量高于阴性人群。Hopkins 等<sup>[41]</sup>指出,CDI 患者粪便中的肠球菌同样高于正常人。值得注意的是,儿童也存在这种现象,艰难梭菌通常定植在粪便中含肠球菌多的儿童体内<sup>[42]</sup>。所以,肠道中肠球菌的含量和艰难梭菌的定植存在相关性。可以通过培养粪便中肠球菌估测艰难梭菌的数量。

1.3 医务工作者艰难梭菌的定植 关于医务工作者艰难梭菌携带率的研究一直存在争议。Carmelli 等<sup>[43]</sup>对 55 份医务人员的粪便标本进行分析,发现无 1 人携带艰难梭菌。奥地利学者<sup>[44]</sup>收集 112 份医务人员的粪便标本,同样未发现有携带艰难梭菌的情况。相反,来自日本<sup>[17]</sup>和荷兰<sup>[45]</sup>的报道,医务人员的定植率分别为 4.3%和 13%。对河北某地区医务人员的粪便研究发现,其艰难梭菌携带率介于以上报道数据之间(待发表资料)。这些数据表明,医务人员艰难梭菌的定植率和正常成人相似。Arfons 等<sup>[46]</sup>还指出免疫低下、慢性疾病或接受抗菌药物治疗的人群,一半为医务人员,说明艰难梭菌可能是医务人员的一个职业暴露因素。目前,认为医务人员手可能是艰难梭菌在医院环境传播的一个重要原因。医务人员接触 CDI 患者时,其手部可能会被艰难梭菌芽孢污染,并通过接触其他物体/患者进行传播。McFarland 等<sup>[47]</sup>对医务人员手进行艰难梭菌检测,59%的医务人员在未带手套的情况下接触患者,导致手上携带艰难梭菌;同时,指出通过洗手和戴手套的方式可以将艰难梭菌手部携带率降为 0。因此,医务人员在接触不同患者时应用肥皂和水洗手,及时更换手套,这是防止艰难梭菌芽孢经手传播

的有效方法。

## 2 艰难梭菌感染控制及预防措施

2.1 严格控制抗菌药物的应用 对于有危险因素(近期应用抗菌药物、应用抗肿瘤药物、年龄偏高、近期住院史、既往患过 CDI)的患者,医务人员应高度重视可能的艰难梭菌感染,并且应使用灵敏度高、特异性好及检测周期短的方法对其进行检测,以利于进一步对艰难梭菌感染进行有效的治疗。

目前,认为 CDI 的发生与肠道菌群的紊乱有关。大量抗菌药物的使用可以使肠道正常菌群定植减少,破坏肠道菌群平衡,是 CDI 最主要的危险因素。任何抗菌药物的使用均可以诱发 CDI,而克林霉素、头孢菌素或喹诺酮类药物的使用可以更大程度地增加 CDI 的发生率。刘元元等<sup>[48]</sup>对 2009 年 2—12 月和 2011 年 4—7 月住院腹泻患者进行粪便艰难梭菌培养,期间由于 2011 年卫生部对抗菌药物使用进行整治,医院抗菌药物实行临床应用分级管理制度,临床医生对抗菌药物的应用更加合理、规范,2011 年 4—7 月的标本艰难梭菌检出率低于 2009 年 2—12 月。说明限制常见抗菌药物的应用对预防 CDI 是很有效的。Valiquette 等<sup>[49]</sup>也发现合理应用抗菌药物可以使 CDI 的发生率降低 60%。

2.2 隔离 CDI 患者 对 CDI 患者和非 CDI 患者居住房间的物体表面进行分析,发现前者艰难梭菌分离率明显高于后者<sup>[50]</sup>。艰难梭菌无症状携带者居住房间的物体表面也分离出艰难梭菌,但分离率较 CDI 患者低。另外,一项队列研究<sup>[50]</sup>对双人间和单人间的患者进行艰难梭菌检测,双人间患者 CDI 发生率明显增高,且双人间患者一旦暴露于艰难梭菌阳性的室友,其患 CDI 的风险进一步增大。因此,对确诊或疑似 CDI 患者应采用单人房间进行隔离治疗,防止交叉感染,且进入其房间的人员都应佩戴口罩和隔离衣,注意手卫生和防护。

2.3 应用含氯消毒剂消毒 由于艰难梭菌可以产生芽孢,污染医院环境,使用合适的消毒剂进行环境消毒至关重要。艰难梭菌芽孢对乙醇的杀菌作用有抵抗力,所以使用乙醇产品并不能减少手上携带的艰难梭菌芽孢,其仍可以通过手传播给其他人。指南<sup>[51]</sup>建议,用含有效氯 5 000 mg/L 的消毒剂进行环境消毒的效果最佳。某项研究<sup>[52]</sup>将使用的消毒液由非含氯消毒剂更换为 10% 次氯酸钠溶液,对 4 252 例患者居住房间进行消毒,骨髓移植患者艰

难梭菌相关性腹泻(CDAD)的发病率从 8.60% 降至 3.30%,所以使用含氯消毒剂在 CDI 发生率高的地区可以有效降低患者发生 CDI 风险。

2.4 使用益生菌预防 益生菌是指摄入对健康有益的活菌制剂,其作用在于调节肠道菌群,保护肠道屏障。服用益生菌(鼠李糖乳酸杆菌 GG 和布拉酵母菌)可以降低抗菌药物相关性腹泻,但仅有限的研究指出可以降低 CDI 的发生率<sup>[51]</sup>。一项随机对照试验<sup>[53]</sup>显示,服用含干酪乳杆菌,保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌的酸奶可以降低住院患者发生 CDI 的风险。Seki 等<sup>[54]</sup>研究表明,醋酸梭菌 MIYAIRI (CBM)有利于肠道菌群的恢复,还可以有效预防和治疗儿童 CDI。虽然应用益生菌预防和治疗 CDI 取得了初步的成果,但也存在一些不足。Miller 等<sup>[55]</sup>指出存在使用布拉酵母菌引起真菌血症的个别病例。

2.5 注射疫苗 自 2000 年以来,随着艰难梭菌感染率及复发率的逐渐升高,以及高产毒株 027 型的出现,开发新的防治方法引起了人们的重视。目前 CD 疫苗主要是针对 TcdA 和 TcdB 两种毒素的特异性疫苗。已有研究<sup>[56]</sup>显示,毒素特异的宿主抗体可以影响艰难梭菌在体内的感染和定植。Kyne 等<sup>[57]</sup>对 271 例患者血清和粪便中针对 TcdA 和 TcdB 抗体水平进行检测,指出无症状携带者血清中 IgG 比腹泻患者高。Sougioultzis 等<sup>[58]</sup>对 3 例反复发作的 CDI 患者使用两种毒素疫苗,在接种疫苗 4 次后,所有患者停用万古霉素且半年内未复发,其中 2 例患者血清中抗 TcdA 与 TcdB 的 IgG 抗体明显升高。

据统计,美国每年用于治疗 CDI 的费用超过 30 亿美元<sup>[59-60]</sup>。艰难梭菌已引起人们的重视,了解艰难梭菌的传播与感染方式,做好防控工作是有有效防止艰难梭菌暴发流行的前提。随着社区获得性 CDI 发生率的逐渐升高,健康人群携带的艰难梭菌被认为可能是传染源。正常婴幼儿艰难梭菌携带率高,通过芽孢污染环境,其可能是艰难梭菌的储存库。合理应用抗菌药物是控制艰难梭菌感染较好的措施之一。CDI 患者必须做好隔离措施,防止艰难梭菌芽孢的传播;医务工作者要勤洗手,检查不同患者时要及时更换手套,切断艰难梭菌的传播途径;同时,应用疫苗对患者进行免疫接种亦具有积极作用。因此,阐明艰难梭菌无症状携带者在疾病流行病学中的作用,了解艰难梭菌传播及流行趋势,探讨其防治方法和策略,对于有效预防艰难梭菌的暴发流行

有很大帮助。

## [参 考 文 献]

- [1] Moudgal V, Sobel J D. *Clostridium difficile* colitis: a review [J]. 2012, 40(1): 139 - 148.
- [2] Hall I C, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis* [J]. Am J Dis Child, 1935, 49(2): 390 - 402.
- [3] Bartlett J G, Chang T W, Gurwith M, et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia [J]. N Engl J Med, 1978, 298(10): 531 - 534.
- [4] Rupnik M, Wilcox M H, Gerding D N. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis [J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(7): 526 - 536.
- [5] McDonald L C, Owings M, Jernigan D B. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003 [J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(3): 409 - 415.
- [6] Kelly C P, LaMont J T. *Clostridium difficile*-more difficult than ever [J]. N Engl J Med, 2008, 359(18): 1932 - 1940.
- [7] Loo V G, Poirier L, Miller M A, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality [J]. N Engl J Med, 2005, 353(23): 2442 - 2449.
- [8] 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, 2014, 35(1): 95 - 98.
- [9] Cheng V C, Yam W C, Chan J F, et al. *Clostridium difficile* ribotype 027 arrives in Hong Kong [J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(5): 492 - 493.
- [10] 杨靖, 李志荣, 赵建宏, 等. 33 株艰难梭菌临床分离株的多位点序列分型 [J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(10): 920 - 925.
- [11] Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for community-associated *Clostridium difficile*-Connecticut, 2006 [J]. Morb Mortal Wkly Rep, 2008, 57(13): 340 - 343.
- [12] Kim J, Smathers S A, Prasad P, et al. Epidemiological features of *Clostridium difficile*-associated disease among inpatients at children's hospitals in the United States, 2001 - 2006 [J]. Pediatrics, 2008, 122(6): 1266 - 1270.
- [13] Zilberberg M D, Tillotson G S, McDonald C. *Clostridium difficile* infections among hospitalized children, United States, 1997 - 2006 [J]. Emerg Infect Dis, 2010, 16(4): 604 - 609.
- [14] Wilcox M H, Mooney L, Bendall R, et al. A case-control study of community-associated *Clostridium difficile* infection [J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 62(2): 388 - 396.
- [15] Wiegand P N, Nathwani D, Wilcox M H, 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.
- [16] Riley T V, Cooper M, Bell B, et al. Community-acquired *Clostridium difficile*-associated diarrhea [J]. Clin Infect Dis, 1995, 20 (Suppl 2): S263 - S265.
- [17] Kato H, Kita H, Karasawa T, et al. Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis [J]. J Med Microbiol, 2001, 50(8): 720 - 727.
- [18] Rexach C E, Tang-Feldman Y J, Cantrell M C, et al. Epidemiologic surveillance of *Clostridium difficile* diarrhea in a free standing pediatric hospital and a pediatric hospital at a university medical center [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2006, 56(2): 109 - 114.
- [19] Larson H E, Barclay F E, Honour P, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* in infants [J]. J Infect Dis, 1982, 146(6): 727 - 733.
- [20] Sandora T J, Fung M, Flaherty K, et al. Epidemiology and risk factor for *Clostridium difficile* infection in children [J]. Pediatr Infect Dis J, 2011, 30(7): 580 - 584.
- [21] Collignon A, Ticchi L, Depitre C, et al. Heterogeneity of *Clostridium difficile* isolates from infants [J]. Eur J Pediatr, 1993, 152(4): 319 - 322.
- [22] Holst E, Helin I, Mårdh P A. Recovery of *Clostridium difficile* from children [J]. Scand J Infect Dis, 1980, 13(1): 41 - 45.
- [23] Penders J, Stobberingh E E, van den Brandt P A, et al. Toxigenic and on-toxigenic *Clostridium difficile*: determinants of intestinal colonisation and role in childhood atopic manifestations [J]. Gut, 2008, 57(7): 1025 - 1026.
- [24] Matsuki S, Ozaki E, Shozu M, et al. Colonization by *Clostridium difficile* of neonates in a hospital, and infants and children in three day-care facilities of Kanazawa, Japan [J]. Int Microbiol, 2005, 8(1): 43 - 48.
- [25] Yamamoto-Osaki T, Kamiya S, Sawamura, et al. Growth inhibition of *Clostridium difficile* by intestinal flora of infant faeces in continuous flow culture [J]. J Med Microbiol, 1994, 40(3): 179 - 187.
- [26] McFarland L V, Brandmarker S A, Guandalini S. Pediatric *Clostridium difficile*: a phantom menace or clinical reality? [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2000, 31(3): 220 - 231.
- [27] Kim K H, Fekety R, Batts D H, 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.
- [28] Rousseau C, Poilane I, De Pontual L, et al. *Clostridium difficile* carriage in healthy infants in the community: a potential reservoir for pathogenic strains [J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(9): 1209 - 1215.
- [29] Miyazaki S, Matsunaga T, Kawasaki K, et al. Separate isolation of *Clostridium difficile* spores and vegetative cells from the feces of newborn infants [J]. Microbiol Immunol, 1992, 36(2): 131 - 138.
- [30] Rolfe R D, Song W. Immunoglobulin and non-immunoglobulin components of human milk inhibit toxin A-receptor binding [J]. J Med Microbiol, 1995, 42(1): 10 - 19.
- [31] Rolfe R D. Role of volatile fatty acids in colonization resistance

- to *Clostridium difficile*[J]. Infect Immun, 1984, 45(1):185 - 191.
- [32] Naaber P, Smidt I, Stsepetova J, et al. Inhibition of *Clostridium difficile* strains by intestinal *Lactobacillus* species[J]. J Med Microbiol, 2004, 53(6):551 - 554.
- [33] Bartoloni A, Mantella A, Goldstein B P, et al. In-vitro activity of nisin against clinical isolates of *Clostridium difficile*[J]. J Chemother, 2004, 16(2):119 - 121.
- [34] Kleessen B, Bunke H, Tovar K, et al. Influence of two infant formula and human milk on the development of the faecal flora in newborn infants[J]. Acta Paediatr, 1995, 84(12): 1347 - 1356.
- [35] Tina L G, Proto N, Sciacca A. Asymptomatic intestinal colonization by *Clostridium difficile* in preterm neonates[J]. Pediatr Infect Dis J, 1994, 13(12): 1158 - 1159.
- [36] Merrigan M, Venugopal A, Mallozzi M, et al. Human hyper-virulent *Clostridium difficile* trains exhibit increased sporulation as well as robust toxin production[J]. J Bacteriol, 2010, 192(19):4904 - 4911.
- [37] Sirard S, Valiquette L, Fortier L C. Lack of association between clinical outcome of *Clostridium difficile* infections, strain type, and virulence-associated phenotypes[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12):4040 - 4046.
- [38] Rousseau C, Lemeé L, Le Monnier A, et al. Prevalence and diversity of *Clostridium difficile* strains in infants[J]. J Med Microbiol, 2011, 60(8):1112 - 1118.
- [39] Gerding D N, Olson M M, Peterson L R, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis in adults. A prospective case-controlled epidemiologic study[J]. Arch Intern Med, 1986, 146(1):95 - 100.
- [40] Ozaki E, Kato H, Kita H, et al. *Clostridium difficile* colonization in healthy adults; transient colonization and correlation with enterococcal colonization[J]. J Med Microbiol, 2004, 53(2): 167 - 172.
- [41] Hopkins M J, Macfarlane G T. Changes in predominant bacterial populations in human faeces with age and with *Clostridium difficile* infection[J]. J Med Microbiol, 2002, 51(5):448 - 454.
- [42] Mitsuoka T, Hayakawa K, Kimura N. The faecal flora of man. II. The composition of bifidobacterial flora of different age groups [J]. Zentralbl Bakteriolog Orig A, 1974, 226(4):469 - 478.
- [43] Carmelli Y, Venkataraman L, DeGiroiamii P C, et al. Stool colonization of healthcare workers with selected resistant bacteria[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 1998, 19(1):38 - 40.
- [44] Hell M, Sickau K, Chmelizek G, et al. Absence of *Clostridium difficile* in asymptomatic hospital staff[J]. Am J Infect Control, 2012, 40(10):1023 - 1024.
- [45] van Nood E, van Dijk K, Hegeman Z, et al. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* among HCWs: do we disregard the doctor? [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2009, 30(9): 924 - 925.
- [46] Arfons L, Ray A J, Donskey C J. *Clostridium difficile* infection among health care workers receiving antibiotic therapy [J]. Clin Infect Dis, 2005, 40(9):1384 - 1385.
- [47] McFarland L V, Mulligan M E, Kwok R Y, et al. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection[J]. N Engl J Med, 1989, 320(4):204 - 210.
- [48] 刘元元, 刘文恩, 简子娟, 等. 住院腹泻患者艰难梭菌检测与分析[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(4):293 - 299.
- [49] Valiquette L, Cossette B, Garant M P, et al. Impact of a reduction in the use of high-risk antibiotics on the course of an epidemic of *Clostridium difficile*-associated disease caused by the hypervirulent NAP1/027 strain[J]. Clin Infect Dis, 2007, 45 (Suppl 2) : S112 - S121.
- [50] Kundrapu S, Sunkesula V C, Jury L A, et al. Utility of perirectal swab specimens for diagnosis of *Clostridium difficile* infection[J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(11) : 1527 - 1530.
- [51] Surawicz C M, Brandt L J, Binion D G, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of infections[J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(4):478 - 498.
- [52] Mayfield J L, Leet T, Miller J, et al. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile* [J]. Clin Infect Dis, 2000, 31(4):995 - 1000.
- [53] Hickson M, D' Souza A H, Muth N, et al. Use of probiotic lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics; randomized double blind placebo controlled trial [J]. BMJ, 2007, 335(7610): 80.
- [54] Seki H, Shiohara M, Matsumura T, et al. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI [J]. Pediatr Int, 2003, 45(1):86 - 90.
- [55] Miller M. The fascination with probiotics for *Clostridium difficile* infection; lack of evidence for prophylactic or therapeutic efficacy[J]. Anaerobe, 2009, 15(6): 281 - 284.
- [56] Giannasca P J, Warny M. Active and passive immunization against *Clostridium difficile* diarrhea and colitis[J]. Vaccine, 2004, 22(7):848 - 856.
- [57] Kyne L, Warny M, Qamar A, et al. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A [J]. N Engl J Med, 2000, 342(6): 390 - 397.
- [58] Sougioultzis S, Kyne L, Drudy D, et al. *Clostridium difficile* toxoid vaccine in recurrent *C. difficile*-associated diarrhea[J]. Gastroenterology, 2005, 128(3): 764 - 770.
- [59] McFarland L V. Emerging therapies for infections[J]. Expert Opin Emerg Drugs, 2011, 16(3): 425 - 439.
- [60] O' Brien J A, Lahue B J, Caro J J, et al. The emerging infectious challenge of *Clostridium difficile*-associated disease in Massachusetts hospitals: clinical and economic consequences [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2007, 28(11):1219 - 1227.