

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.01.034

艰难梭菌在儿童肠道定植和感染的研究进展*

苗瑞雪^{1,2},汪志凌^{1,2},周伟^{2,3},朱渝^{1,2},温杨^{1,2},邓建军^{1,2}综述,万朝敏^{1,2△}审校

(四川大学华西第二医院:1. 儿科;2. 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室;3. 检验科,成都 610041)

[摘要] 艰难梭菌(CD)是引起医源性感染常见的病原菌,医疗保健机构是该菌最主要的传播场所。当人类肠道菌群发生紊乱后易受 CD 侵犯,表现为无症状定植和感染两种状态。婴幼儿肠道菌群不稳定、肠道功能发育不完善、肠上皮细胞缺乏毒素结合受体,导致婴幼儿具有较高的定植率。本文从 CD 概况、流行病学、发病机制、危险因素、治疗预防 5 方面对该菌在儿童肠道定植、感染的状况进行综述。

[关键词] 艰难梭菌;定植;感染;影响因素

[中图分类号] R725.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)01-0134-04

艰难梭菌(*Clostridium difficile*, CD)是含芽孢的革兰阳性厌氧杆菌,是抗生素相关性腹泻及医源性感染常见的病原菌之一。人类肠道固有菌群对 CD 有抵抗作用,在抗生素等因素作用下肠道菌群发生紊乱,CD 得以在肠道生长、繁殖、致病。CD 感染的发生与宿主的免疫状态、肠道菌群稳态及细菌的毒力因素密切相关。该菌侵犯机体肠道后,可表现为无症状定植和不同程度的感染。定植在整个人群中的发生率不同,儿童,尤其 2 岁以下的婴幼儿定植率高,这可能与尚不成熟的肠道功能及不稳定的肠道菌群有关。尽管儿童定植率较高,但严重感染如伪膜性肠炎、中毒性巨结肠并不多见。儿童处于生长发育不断完善的阶段,其消化道功能及肠道菌群尚处于不稳定状态,故 CD 感染、定植的流行病学特点及影响因素可能与成人不尽相同。本文对 CD 在儿童肠道的定植、感染进行综述。

1 CD 概况

CD 是一种严格厌氧含有芽孢的革兰阳性杆菌,有孢子及繁殖体两种形式,较多存在医疗卫生机构、托儿所等场所,也可存在于土壤等自然环境。1935 年 CD 首次在新生儿粪便中被检出,但因少有报道其致病性而未引起广泛关注,直到 1977 年发现其能够引起伪膜性肠炎才作为病原菌被重视^[1]。本世纪初,CD 的高毒力菌株 BI/NAP1/027 在北美及欧洲国家的暴发流行导致疾病的复发率及病死率明显增加,从而引起人们高度重视,相关研究亦逐渐增加。

CD 以孢子的形式通过粪-口途径进行传播。孢子具有较强的耐受性,可以抵抗高热、酸性、抗生素等,能够在污染区域内长时间生存,因此给治疗、清除

及预防带来了极大挑战。

CD 侵犯宿主后呈现不同形式,其中无任何临床表现的患者目前国内描述比较模糊,而最常见的两种表述方式是定植和无症状携带,本文采用 CD 定植(*Clostridium difficile* colonization, CDC)描述该部分群体。有临床症状者称为 CD 感染(*Clostridium difficile* infection, CDI),轻者仅表现为轻微腹泻,严重者可以出现重度腹泻、伪膜性肠炎、中毒性巨结肠,部分可伴有发热、血便、脓毒症等表现。定植和感染是 CD 作用于宿主的两种表现形式,目前认为当机体不能产生充分的免疫反应时将导致 CDI,反之,则呈现为 CDC 状态^[2-3]。

2 流行病学

近年来,全球 CD 的感染率及检出率明显升高,主要与以下 3 个方面有关:(1) 抗生素的广泛使用,肠道屏障遭到破坏,CD 侵犯增加;(2) 检测水平的不断提高,检测手段的灵敏度和特异度增加;(3) 高毒力菌株所致 CD 的暴发流行。随着 CD 的暴发流行,成人严重病例的报道相应增多,而儿童 CDI 的发病率虽然有所增高,但疾病的严重程度并没有明显改变^[4],这可能与感染菌株的类型及儿童的肠上皮细胞缺乏相应受体有关。在成人,高毒力菌株的感染率高达 50.0%^[5],而儿童仅为 19.4%^[6]。

尽管儿童 CDI 的严重程度及高毒力菌株的感染率不及成人,但该群体有其自身特点。儿童,尤其是 2 岁以下的婴幼儿具有较高的定植率,随着年龄的增长定植率逐渐下降^[7]。HUNG 等^[8]总结 1984—2014 年病例数大于 200 例的相关研究,结果显示:成年住院患者的定植率为 2.1%~23.2%,而新生儿及婴幼儿的

* 基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助(2012017yjsj196);四川省科技厅应用基础研究项目(2017JY0275);儿童结核病及耐药结核防治平台建设(2016SZ0019)。 作者简介:苗瑞雪(1990—),在读博士,主要从事儿童消化系统疾病研究。 △ 通信作者,E-mail:wcm0220@126.com。

定植率可高达 44.0%^[8]。儿童较高的定植率可能与肠上皮细胞缺乏相应受体有关。目前我国儿童 CDC、CDI 的流行病学资料较少,其现状需要全国范围的流行病学的监测资料来总结。

3 CDC、CDI 机制

当人们接触到被污染的环境,孢子能够抵抗胃酸的作用进入肠道并停留在回肠,如肠道菌群在抗生素使用、辅食添加等因素的影响下出现紊乱,CD 得以定植。正常的肠道菌群对 CD 有定植抵抗^[11],宿主肠道微生态环境的破坏是 CDC、CDI 的首要条件,肠道正常微生态环境被破坏后,主要通过以下两个方面影响 CD 的定植、感染:(1)改变胆汁酸的代谢来影响孢子的萌发及繁殖体的生长^[9]。初级胆汁酸在回肠及结肠细菌的作用下转变为次级胆汁酸,次级胆汁酸对 CD 有毒性作用,所以在肠道菌群及屏障功能完好的情况下 CD 不能顺利地定植。如宿主暴露于抗生素使用等危险因素时,肠道菌群的多样性及数量均有所下降,对初级胆汁酸的代谢能力减弱,导致肠道内蓄积大量的初级胆汁酸,进而促进了孢子的萌发;同时,次级胆汁酸生成的减少使得其对 CD 的毒性作用减弱,有利于 CD 的孢子萌发和生长繁殖。(2)竞争营养物质。正常的肠道菌群能够和外来致病菌竞争肠道提供的营养物质,肠道微生态遭到破坏有利于 CD 获取营养及生长。毒力菌株及非毒力菌株均能够在肠道内定植^[10],见图 1。

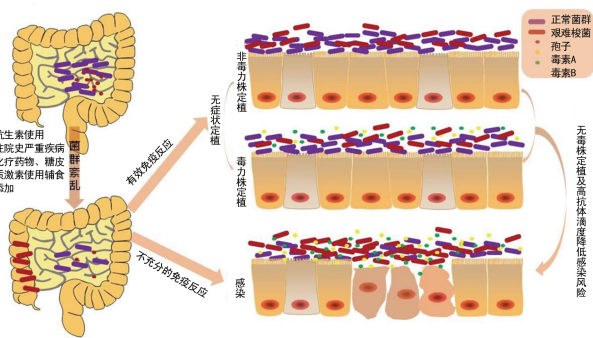


图 1 CDC、CDI 过程

CD 主要产生毒素 A(TcdA)和毒素 B(TcdB),均为葡萄糖基转移酶,分别由位于致病决定区域(PaLoc)内的 TcdA 和 TcdB 基因编码。因其毒力基因有较高的相似度^[11-12],两毒素生物化学活动相似,均有肠毒性及细胞毒性,在致病机制中具有协同作用。目前认为 TcdB 是主要的致病因素。Rho 家族是真核细

胞肌动蛋白骨架的调节子^[13],当产毒菌株定植在肠道后,毒素与肠上皮细胞上的相应受体结合通过内吞作用进入细胞质,作用于肠黏膜上皮细胞 RhoGTPase (Rho 家族鸟苷三磷酸酶),糖基化修饰 RhoA、Rac、Cdc42 等蛋白使其失活,细胞内信号通路发生改变^[14]。导致肠上皮细胞肌动蛋白骨架及细胞间的紧密连接遭到破坏而引起细胞凋亡。另外,毒素通过抑制 Rho 蛋白改变肠上皮层的通透性引起分泌性腹泻并刺激肠上皮细胞和大量炎性细胞表达趋化因子及细胞炎性因子产生炎性反应^[15-16],肠道内中性粒细胞浸润,加重肠道组织损伤,这是形成伪膜性肠炎的重要环节^[17]。除上述固有免疫反应外,毒素还能刺激机体发生特异性免疫反应,产生持久免疫记忆的抗毒素抗体,强大的抗体反应对 CD 相关疾病的发生有保护作用^[18]。有研究表明低抗体浓度患者更易表现为活动性感染且有较高复发率^[19]。

CD 还可以表达另一种更强的毒素-二元毒素 (clostridium difficile binary toxin, CDT),可以增加 TcdA 和 TcdB 的毒性作用^[20],但该毒素具体的发病机制目前尚不清楚。

4 CDC、CDI 的危险因素

疾病的发生及其严重程度主要取决于宿主的免疫状态和病原体的毒力因素。下面主要对 CDC 的影响因素进行阐述。

目前 CDC 公认的危险因素是抗生素使用。所有抗生素均与 CD 相关性疾病的发生有关,其中克林霉素、头孢菌素及喹诺酮类药物被认为具有更高的风险^[21]。抗生素使用可能破坏肠道的微生态屏障,促使 CD 在肠道内定植。在不同的研究中,设定的抗生素使用距发病的观察时间不尽相同,最早可追溯至发病前 6 个月。令人感兴趣的一项关于新生儿及婴幼儿定植研究中发现,母亲孕期使用抗生素是婴幼儿 CDC 的独立危险因素,推测可能是由于母体内的抗生素通过脐血进入胎儿体内,从而影响胎儿甚至出生后婴幼儿期的肠道功能及菌群形成发挥作用。该研究提示:在研究儿童尤其是婴幼儿高定植率的机制时,应紧密联结母婴状态。近期住院史也被认为是 CDC 的危险因素^[22]。CDI 患者住院期间排泄的孢子能够广泛污染周围的环境,不易被酒精消毒剂及清洁剂类的洗手液所清除而长期存在^[23],所以医疗机构是传播 CD 的重要场所,长期接触医疗机构可增加与病原菌的接触,增加了定植的概率。

儿童辅食的添加是影响 CDC 的危险因素。新生儿出生前肠道是无菌的,在生产过程、进食等因素的影响下新生儿肠道逐渐出现菌群,随着肠道功能、饮食及营养不断变化,菌群的数量及成分也不断发生变

化,2岁基本趋于稳定^[24]。辅食添加阶段是婴幼儿食物成分过渡时期,也是影响肠道菌群变化的重要时期,肠道菌群成分及数量的改变可能对 CDC 产生影响。母乳喂养与婴幼儿 CDC 的关系目前存在争议,有研究显示,母乳喂养较非母乳喂养 CDC 率更低^[4],但另一些研究认为断乳以后婴幼儿肠道菌群多样性增加,同时 CD 检出率也增加^[25]。

此外,高龄、化疗药物使用、糖皮质激素使用、肾功能不全及严重疾病也被认为是 CDC、CDI 的重要危险因素,这些因素可能通过影响机体的免疫状态而起作用^[5,26]。

5 治疗和预防

CD 相关性疾病的治疗措施根据 CD 在体内的状态及感染的严重程度而定。停用抗生素是首要且关键的措施^[27]。对于 CDC 群体,目前比较统一的认识是不需要介入治疗也无需预防性用药;在儿童,对于轻-中度腹泻患者,一般给予口服甲硝唑;对于重症如严重腹泻、伪膜性肠炎、中毒性巨结肠等患者及甲硝唑治疗无效的轻-中度患者,万古霉素为首选药物;对于首次复发的患者建议按照初次治疗的方案进行治疗,而再次复发的患者,则需要改变用药模式,应该以“倒金字塔”的模式给予万古霉素治疗^[28]。即使采用规范化治疗,仍有约 20% 的患者存在多次复发或出现难治性感染,这部分患者给整个疾病的控制带来较大的难题,针对这部分患者,目前推荐的治疗方案是粪便菌群移植(fecal microbiota transplantation, FMT),它是将健康人群粪便中的功能菌群通过胃管或灌肠的方法移植到患者的胃肠道内,从而重建新的肠道菌群,恢复肠道功能^[29]。研究表明,FMT 的治愈率高达 95%,是一项有发展前途的治疗方式,推荐用于多次复发或难治性病例中^[30]。我国目前开展儿童 FMT 的医疗机构还比较少,需要逐步努力建立菌群库、进行临床试验及方法推广,以达到与国际接轨。

CDC 患者无临床症状,但因其携带 CD 并排泄孢子,是一个庞大的不可忽视的潜在传染源。预防 CD 水平传播的防控措施包括:对 CDI 患者进行隔离医护人员在接触不同的患者应该佩戴手套避免作为中间人员进行传播;严格遵从手卫生管理制度;常规酒精消毒液并不能有效清除病原菌,宜采用皂液和流动水洗手。

目前,CDC 如何进展为感染的机制还不是很清楚,儿童期的定植、感染如何影响日后成人的发病情况及严重程度仍是个值得探索的领域。CDC 虽然不呈现临床症状,但作为庞大的细菌储存源应当引起重视。

参考文献

- [1] RODRIGUEZ C, BROECK J V, TAMINIAU B, et al. Clostridium difficile, infection: early history, diagnosis and molecular strain typing methods[J]. Microb Pathog, 2016, 97: 59-78.
- [2] FEUERSTADT P. Clostridium difficile Infection[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2015, 25(6): e92.
- [3] HUNG Y P, LEE J C, LIN H J, et al. Clinical impact of clostridium difficile colonization[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2015, 48(3): 241-248.
- [4] CLAYTON J A, TOLTZIS P. Recent issues in pediatric clostridium difficile infection[J]. Curr Infect Dis Rep, 2017, 19(12): 49.
- [5] FURUYAKANAMORI L, MARQUESS J, YAKOB L, et al. Asymptomatic clostridium difficile colonization: epidemiology and clinical implications [J]. BMC Infect Dis, 2015, 15(1): 1-11.
- [6] TOLTZIS P, KIM J, DUL M, et al. Presence of the epidemic north American pulsed field type 1 clostridium difficile, strain in hospitalized children[J]. J Pediatr, 2009, 154(4): 607-608.
- [7] ALLEN U D. Clostridium difficile in paediatric populations[J]. Paediatr Child Health, 2014, 19(1): 43-54.
- [8] STOESSER N, EYRE D W, QUAN T P, et al. Epidemiology of clostridium difficile in infants in Oxfordshire, UK: risk factors for colonization and carriage, and genetic overlap with regional C. difficile infection strains[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182307.
- [9] FABBIANO S, SUÁREZ-ZAMORANO N, TRAJKOVSKI M. Host-microbiota mutualism in metabolic diseases [J]. Front Endocrinol, 2017, 8: 267.
- [10] 陈焯, 林倩云. 艰难梭菌感染: 临床表型与细菌毒素相关吗? [J]. 胃肠病学, 2017, 22(7): 385-389.
- [11] BRITTON R A, YOUNG V B. Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by clostridium difficile[J]. Gastroenterology, 2014, 146(6): 1547-1553.
- [12] MONOT M, ECKERT C, LEMIRE A, et al. Clostridium difficile: new insights into the evolution of the pathogenicity locus[J]. Sci Rep, 2015, 5: 15023.
- [13] CHEN S, SUN C, WANG H, et al. The role of Rho GTPases in toxicity of clostridium difficile toxins[J]. Toxins, 2015, 7(12): 5254-5267.
- [14] VEDANTAM G, CLARK A, CHU M, et al. Clostridium difficile infection: toxins and non-toxin virulence factors, and their contributions to disease establishment and host response[J]. Gut Microbes, 2012, 3(2): 121-134.
- [15] AKTORIES K, SCHWAN C, JANK T. Clostridium difficile toxin biology[J]. Annu Rev Microbiol, 2017, 71(1): 281-307.
- [16] DI B S, PAOLO A, STEVEN S, et al. Clostridium difficile

- toxins A and B; insights into pathogenic properties and extraintestinal effects[J]. *Toxins*, 2016, 8(5):134.
- [17] MATSUURA H. Pseudomembranous colitis[J]. *QJM*, 2017, 110(11):761-761.
- [18] GRIBENKO A, SEVERINA E, SIDHU M K, et al. Development of a subunit vaccine for prevention of clostridium difficile associated diseases; biophysical characterization of toxoids A and B[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2017, 9:193-202.
- [19] LOWY I, MOLRINE D C, LEAV B A, et al. Treatment with monoclonal antibodies against clostridium difficile toxins[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(3):1444-1446.
- [20] CHANDRASEKARAN R, LACY D B. The role of toxins in clostridium difficile infection[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2017, 41(6):723-750.
- [21] 居阳, 李燕明. 艰难梭菌感染预防与控制进展[J]. *中国临床医生杂志*, 2016, 44(4):21-25.
- [22] KONG L Y, DENDUKURI N, SCHILLER I, et al. Predictors of asymptomatic clostridium difficile colonization on hospital admission[J]. *Am J Infect Control*, 2015, 43(3):248-253.
- [23] NAPOLITANO L M, JR C E. Clostridium difficile, disease: diagnosis, pathogenesis, and treatment update[J]. *Surgery*, 2017, 162(2):325-348.
- [24] TAMBURINI S, SHEN N, WU H C, et al. The microbiome in early life; implications for health outcomes[J]. *Nat Med*, 2016, 22(7):713-722.
- [25] DAVIS M Y, ZHANG H, BRANNAN L E, et al. Rapid change of fecal microbiome and disappearance of clostridium difficile, in a colonized infant after transition from breast milk to cow milk[J]. *Microbiome*, 2016, 4(1):53.
- [26] GIRON D. Asymptomatic clostridium difficile colonisation and onward transmission[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e78445.
- [27] DEBAST S B, BAUER M P, KUIJPER E J. European society of clinical microbiology and infectious diseases; update of the treatment guidance document for clostridium difficile infection[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(s2):1-26.
- [28] KOCIOLEK L K, GERDING D N. Breakthroughs in the treatment and prevention of clostridium difficile infection [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 78(3):445-451.
- [29] OTT S J, WAETZIG G H, REHMAN A, et al. Efficacy of sterile fecal filtrate transfer for treating patients with clostridium difficile infection[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(4):799-811.
- [30] MOAYYEDI P, YUAN Y, BAHARITH H, et al. Faecal microbiota transplantation for clostridium difficile-associated diarrhoea: a systematic review of randomised controlled trials[J]. *Med J Aust*, 2017, 207(4):166-172.

(收稿日期:2018-05-18 修回日期:2018-08-21)

(上接第 133 页)

- FDG-PET/CT in malignant lymphoma[J]. *Rinsho Ket-sueki*, 2016, 57(10):2008-2012.
- [24] ALHEJAILY A, DAY A G, FEILLOTTER H E, et al. Inactivation of the CDKN2A tumor-suppressor gene by deletion or methylation is common at diagnosis in follicular lymphoma and associated with poor clinical outcome[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6):1676-1686.
- [25] DE-TULLIO G, DE-FAZIO V, SGHERZA N A, et al. Challenges and opportunities of microRNAs in lymphomas[J]. *Molecules*, 2014, 19(9):14723-14781.
- [26] FILATOVA L V, PLOTNIKOVA A A, GERSHANOV-ICH M L, et al. Effectiveness and toxicity of MOPP, ABVD, BEACOPP chemotherapy in first-diagnosed Hodgkin lymphoma with a poor prognosis[J]. *Vopr Onkol*, 2013, 59(2):59-65.
- [27] 李元善, 张亭栋, 李成文, 等. 中西医结合治疗恶性淋巴瘤 27 例 [J]. *中华肿瘤杂志*, 1988, 10(1):61-62.
- [28] REMER M, AL SHAMKHANI A, GLENNIE M, et al. Mogamulizumab and the treatment of CCR4-positive T-cell lymphomas[J]. *Immunotherapy*, 2014, 6(11):1187-1206.
- [29] GLASS B, HASENKAMP J, WULF G, et al. Rituximab after lymphoma-directed conditioning and allogeneic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma (DSHNHL R3): an open-label, randomised, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(7):757-766.
- [30] BACHEGOWDA L S, BARTA S K. Genetic and molecular targets in lymphoma; implications for prognosis and treatment[J]. *Future Oncol*, 2014, 10(15):2509-2528.
- [31] ATHAR S, SIDDIQUI N, HAMEED A, et al. Impact of the follicular lymphoma international prognostic index risk categorization on survival of patients with follicular lymphoma in Pakistani population; a single centre experience[J]. *J Pak Med Assoc*, 2014, 64(5):563-566.
- [32] ZHOU D, XIE W Z, HU K Y, et al. Prognostic values of various clinical factors and genetic subtypes for diffuse large B-cell lymphoma patients: a retrospective analysis of 227 cases[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(2):929-934.

(收稿日期:2018-07-20 修回日期:2018-09-23)