

• 论 著 •

住院患者艰难梭菌无症状感染的危险因素分析

马开慧, 周妍妍, 吕 治

首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100053

摘要:目的 分析住院患者无症状感染艰难梭菌的毒力特征及危险因素, 为艰难梭菌感染(CDI)性腹泻的防治提供理论依据。方法 收集住院患者的粪便标本。将其中的 CDI 患者分为 CDI 有腹泻组和 CDI 无腹泻组, 将无腹泻症状且艰难梭菌培养阴性患者设为对照组。收集患者临床资料, 将粪便标本进行艰难梭菌分离培养并进行艰难梭菌毒素检测, 对临床资料及检测结果进行统计学分析。结果 CDI 有腹泻组毒素蛋白阳性率高于 CDI 无腹泻组($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示: 使用抑酸剂、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物、住院时间 > 2 周是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 艰难梭菌产毒素量是导致临床是否出现腹泻症状的重要因素; 住院时间 > 2 周、使用抑酸剂、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物均是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素。

关键词: 艰难梭菌; 无症状感染; 危险因素

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.015

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2023)03-0331-05

文献标志码: A

Risk factors of asymptomatic carriers of *Clostridium difficile* among inpatients

MA Kaihui, ZHOU Yanyan, LYU Zhi

Clinical Laboratory Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical

University, Beijing 100053, China

Abstract: **Objective** To analyze the virulence characteristics and risk factors of *Clostridium difficile* (C. difficile) in asymptomatic carriage of inpatients, and provide theoretical basis for the prevention and treatment of C. difficile infection (CDI) diarrhea. **Methods** The fecal samples of inpatients were collected. The CDI patients were divided into diarrhea CDI group and non-diarrhea CDI group. The patients without neither diarrhea nor CDI were set as the control group. The clinical data of patients were collected, and the stool samples were isolated and cultured for C. difficile and tested for C. difficile toxin. The clinical data and test results were statistically analyzed. **Results** The expression of toxin proteins in the diarrhea CDI group was significantly higher than that in the non-diarrhea CDI group ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed the use of acid inhibitors, the use of cephalosporins within 2 months, and the length of hospital stay > 2 weeks were independent risk factors for asymptomatic CDI ($P < 0.05$). **Conclusion** The amount of toxin produced by *Clostridium difficile* is an important factor leading to clinical diarrhea; hospitalization time > 2 weeks, the use of acid inhibitors and cephalosporins within 2 months are independent risk factors for asymptomatic infection of C. difficile.

Key words: *Clostridium difficile*; asymptomatic carriage; risk factors

随着现代医学的快速发展, 有创操作以及器官移植等的广泛开展, 免疫抑制剂、激素、广谱抗菌药物以及抗菌药物联合使用的情况增多, 临床难治性感染和耐药菌感染病例增多。抗菌药物相关性腹泻(AAD)成为一个较为严重的问题。住院患者的 AAD 多数是由艰难梭菌感染(CDI)引起。CDI 患者的临床表现多

种多样, 可无症状, 也可出现不同程度的腹泻, 严重者可出现伪膜性肠炎(PMC)、肠穿孔、脓毒症, 甚至死亡^[1]。2017 年美国疾病预防控制中心的数据显示: 美国每年 CDI 患者近 23 万人, 产生超过 10 亿美元的疾病负担^[2]。研究显示: 亚洲的艰难梭菌流行率呈明显上升趋势^[3]。艰难梭菌是一种能形成芽孢的革兰阳

作者简介: 马开慧, 女, 主管技师, 主要从事临床检验的研究。

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1176.R.20230118.1728.001.html\(2023-01-19\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1176.R.20230118.1728.001.html(2023-01-19))

性厌氧杆菌^[4]。传染源包括 CDI 患者、污染的环境等。无症状感染者是一个重要的潜在传染源^[5], 由于其没有腹泻症状, 容易被人们忽视, 其后续临床疾病的风险有可能会增加^[6]。目前, 我国对于艰难梭菌无症状感染情况的研究资料较少, 并且当前的感控措施均集中在有症状患者的检测和隔离上, CDI 的风险仍然较大。因此, 本课题组拟开展一项病例对照研究, 纳入有腹泻和无腹泻的患者, 对艰难梭菌的毒力特征及无症状感染的危险因素进行分析, 以期提高对该疾病的诊断、治疗与防控能力, 进而改善患者预后, 减少经济负担。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2019 年 3—5 月于本院进行粪便标本艰难梭菌培养的 369 例住院患者纳入研究, 纳入研究的患者临床信息完整。根据患者有无腹泻, 将纳入研究的患者分为有腹泻组和无腹泻组, 然后根据是否感染艰难梭菌将患者分为以下几个亚组。CDI 有腹泻组: 患者年龄 ≥ 18 岁, 艰难梭菌培养阳性且腹泻症状是发生在入院 4 h 后; CDI 无腹泻组: 患者年龄 ≥ 18 岁, 艰难梭菌培养阳性且住院时间 > 48 h, 收集标本时未发生腹泻; 对照组: 无腹泻症状且艰难梭菌培养阴性的患者。排除标准: 标本不合格者; 妊娠或哺乳者; 其他原因导致腹泻的患者, 例如脂肪性腹泻、志贺、沙门菌等引起的腹泻。腹泻的判断标准^[7]: 24 h 内出现过 ≥ 3 次腹泻, 包括稀便、糊状便、水样便、脓血便、胶冻状便等。

1.2 仪器与试剂 直热式 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 光学显微镜(日本 Olympus 公司), VIDAS 全自动免疫分析仪(法国生物梅里埃公司), 生物安全柜(新加坡艺思高科技有限公司), 哥伦比亚血琼脂平板(英国 Oxoid 公司), 厌氧产气袋(法国生物梅里埃公司)。

1.3 方法

1.3.1 艰难梭菌分离培养 收集新鲜粪便标本厌氧培养 48 h^[8]。将可疑菌落进行质谱鉴定, 确定为艰难梭菌后保存菌种。

1.3.2 艰难梭菌毒素测定 VIDAS 酶联免疫荧光法测定粪便艰难梭菌毒素 A 和毒素 B。

1.3.3 资料和数据收集 通过本院电子病历系统收集患者临床资料及实验室检查数据。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析与处理。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。危险因素则采用 Logistic 回归模型进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 艰难梭菌检出情况 共收集患者粪便标本 369 例(无重复标本), 包括 178 例腹泻患者标本和 191 例无腹泻患者标本。艰难梭菌培养阳性共 54 例, 总阳性率为 14.63%(54/369)。有腹泻组中 29 例阳性, 无腹泻组中 25 例阳性。无腹泻组标本中艰难梭菌培养阴性 166 例作为对照组。有腹泻组艰难梭菌培养阳性率和无腹泻组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 两组艰难梭菌培养的检出情况比较[n(%)]			
组别	n	阳性	阴性
有腹泻组	178	29(16.29)	149(83.71)
无腹泻组	191	25(13.09)	166(86.91)
χ^2		0.757	
P		0.384	

2.2 艰难梭菌毒素测定结果 对艰难梭菌培养阳性患者的艰难梭菌毒素检测结果进行分析: CDI 有腹泻组的艰难梭菌毒素阳性率与 CDI 无腹泻组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 艰难梭菌毒素检测结果分析[n(%)]			
组别	n	阳性	阴性或灰区
CDI 有腹泻组	29	25(86.21)	4(13.79)
CDI 无腹泻组	25	15(60.00)	10(40.00)
χ^2		4.801	
P		0.028	

2.3 CDI 无腹泻的单因素分析 CDI 无腹泻组与对照组的临床资料比较显示: 无腹泻组患者中使用抑酸剂、2 个月内使用喹诺酮类抗菌药物、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物、有 3 个月内住院史、住院时间 > 2 周的占比高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 CDI 无腹泻组与对照组临床资料比较[n(%)]				
因素	CDI 无腹泻组 (n=25)	对照组 (n=166)	χ^2	P
性别			2.811	0.094
男	6	69		
女	19	97		
年龄			0.302	0.583
> 60 岁	12	70		
≤ 60 岁	13	96		
居住地			—	0.794
城市	19	131		

续表 3 CDI 无腹泻组与对照组临床资料比较[n(%)]				
因素	CDI 无腹泻组 (n=25)	对照组 (n=166)	χ^2	P
乡村	6	35		
2 个月内抗菌药物使用情况				
喹诺酮类	14	49	6.893	0.009
碳青霉烯类	8	32	2.124	0.145
头孢菌素类	20	68	13.330	<0.001
使用抑酸剂			7.140	0.008
有	13	43		
无	12	123		
既往长期使用糖皮质激素			0.014	0.907
是	4	32		
否	21	134		
6 个月内外科手术史			0.335	0.563
有	11	63		
无	14	103		
放化疗史			0.607	0.436
有	8	41		
无	17	125		
3 个月内住院史			8.235	0.004
有	15	51		
无	10	115		
是否发热($\geq 38\text{ }^{\circ}\text{C}$)			0.099	0.754
是	10	61		
否	15	105		
入院时白细胞计数			0.242	0.623
$\geq 10^9/\text{L}$	13	95		
$< 10^9/\text{L}$	12	71		
降钙素原			0.169	0.681
$\geq 0.1\text{ ng/mL}$	12	87		
$< 0.1\text{ ng/mL}$	13	79		

续表 3 CDI 无腹泻组与对照组临床资料比较[n(%)]				
因素	CDI 无腹泻组 (n=25)	对照组 (n=166)	χ^2	P
C 反应蛋白			0.070	0.792
$\geq 10\text{ mg/L}$	13	91		
$< 10\text{ mg/L}$	12	75		
红细胞沉降率			0.050	0.824
$\geq 20\text{ mm/h}$	14	89		
$< 20\text{ mm/h}$	11	77		
血浆清蛋白			0.302	0.583
$< 35\text{ g/L}$	12	70		
$\geq 35\text{ g/L}$	13	96		
大便球菌、杆菌比例失调			0.432	0.511
是	9	49		
否	16	117		
粪便潜血			0.065	0.799
阳性	10	62		
阴性	15	104		
住院时间 > 2 周			6.256	0.012
是	18	75		
否	7	91		
恶性肿瘤			0.281	0.596
有	9	51		
无	16	115		

2.4 艰难梭菌无症状感染的危险因素分析 将单因素分析中,差异有统计学意义的因素认为可能是艰难梭菌无症状感染的危险因素,将这些因素作为自变量(X),艰难梭菌是否定植为因变量(Y)。采用逐步分析法,以 $\alpha=0.05$ 为纳入剔除标准,进行 Logistic 多因素回归分析。结果显示:住院时间 > 2 周、使用抑酸剂、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素($P<0.05$)。见表 4。

表 4 艰难梭菌无症状感染的危险因素

自变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
住院时间(> 2 周 vs. ≤ 2 周)	1.073	0.534	4.073	0.045	2.923	1.027~8.324
使用抑酸剂(是 vs. 否)	0.996	0.501	3.958	0.047	2.707	1.015~7.219
2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物(是 vs. 否)	2.098	0.591	12.592	0.000	8.151	2.558~25.973

3 讨 论

一般健康成年人群中,艰难梭菌定植率为 1~7%^[9-12]。医疗机构中接受长期护理的人群中,产毒艰难梭菌定植率为 14.8%^[13],而且随着住院时间的增加,艰难梭菌的定植率也会逐渐增加^[14],这些数据来自欧美国家。2016 年我国西部某医院的 ICU 患者入

院时产毒艰难梭菌的感染率为 1.7%,出院时感染率为 4.3%^[15]。2020 年祁琪等^[16]研究发现,神经外科患者入院时 CDI 率为 16.5%。本研究结果中,住院患者无腹泻组艰难梭菌阳性率为 13.09%,高于文献^[17]中健康成年人的阳性率。

艰难梭菌主要通过毒素致病,包括毒素 A 和毒素

B. 本课题组对两组患者的粪便进行毒素的检测发现, CDI 有腹泻组的阳性率明显高于 CDI 无腹泻组 ($P < 0.05$)。毒素蛋白的表达受菌株自身的某些基因调控, 还和宿主的免疫状态、肠道菌群结构等有关^[18]。所以, 同样是艰难梭菌培养阳性, 但无腹泻组的毒素阳性率较低可能是由于有些菌株毒素基因并未表达或表达量较低。毒素蛋白的表达究竟受哪些方面的影响还有待深入研究。由此可见宿主是否发生腹泻很大程度上取决于体内的毒素蛋白表达情况。

近年来, 我国人口老龄化加剧, 老年患者住院时间增加。研究显示, CDI 腹泻发生的危险因素包括高龄、长期住院、有严重基础疾病, 长期使用广谱抗菌药物、质子泵抑制剂或其他抑酸剂, 机体存在免疫抑制等^[19]。以上多种危险因素往往密切相关、相互影响, 又常常集中出现在同一患者身上。现有的研究探讨了有症状 CDI 的危险因素, 而这些危险因素是否会导致艰难梭菌无症状感染还不太清楚, 本研究对此进行了探讨。

本研究的单因素分析显示: CDI 无腹泻组患者中使用抑酸剂、2 个月内使用喹诺酮类抗菌药物、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物、有 3 个月内住院史、住院时间 > 2 周的占比高于对照组。Logistic 回归分析显示: 住院时间 > 2 周、使用抑酸剂、2 个月内使用头孢菌素类抗菌药物是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素。未发现 CDI 的保护因素。

艰难梭菌感染通常在医院内获得, 并随着住院时间的增加, 艰难梭菌的定植率也不断增加。在 CLABOTS 等^[20]的一项研究中, 艰难梭菌定植率入院时为 2.1% (11/517), 一个多月后随访时, 定植率增长到 50% (64/128)。本研究中住院时间 > 2 周是 CDI 的独立危险因素, 并且住院时间 > 2 周的人比住院时间 ≤ 2 周的人 CDI 风险增加。

本研究发现抑酸剂的使用是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素, 然而使用胃酸抑制药物 (包括质子泵抑制剂类药物和 H₂ 受体阻滞剂等) 是否是 CDI 的危险因素目前是存在争议的。HOWELL 等^[21]的研究认为抑酸治疗的增加与医院内 CDI 的增加有关, 在调整了合并症、年龄、抗菌药物治疗等因素后, 该关联持续存在。也有研究认为艰难梭菌的芽孢具有抗酸性, 在胃中的艰难梭菌芽孢在酸度较低的环境中仍能存活下来, 并有机会到达小肠^[22]。

抗菌药物暴露作为 CDI 的独立危险因素已经成为广泛共识, 其同样可能增加艰难梭菌无症状感染的风险^[23]。ZIAKAS 等^[13]的研究显示, 3 个月内使用过抗菌药物可增加 CDI 的风险 ($OR = 3.68, 95\% CI:$

2.04~6.62)。头孢菌素类抗菌药物对 CDI 的影响是多种多样的, 如头孢克肟 (第四代头孢) 与产毒 CDI 有关, 而头孢呋辛 (第二代头孢) 与非产毒 CDI 有关。本研究结果中 2 个月内使用过头孢菌素是艰难梭菌无症状感染的独立危险因素。

有研究指出, 既往住院史是 CDI 的一个危险因素, 本研究中 CDI 无腹泻组在 3 个月内有住院史的患者占比要明显高于对照组, 但是多因素回归分析发现其不是艰难梭菌无症状感染的危险因素, 分析原因可能由于样本量较小、研究代表性不强, 还需扩大样本量进行更进一步的研究。既往 CDI 也可能是 CDI 的重要危险因素, 本次研究由于患者病历资料中对此方面没有详细记录, 因而没有纳入研究。本研究的局限性是样本仅来自一家医院, 且样本量偏小, 无法代表不同地区的患者情况, 因此还需要更大规模的多中心研究来弥补这一不足。

综上所述, 本研究在一定程度上补充了我国住院患者艰难梭菌无症状感染的研究资料。对于全面了解 CDI、减少艰难梭菌的传播具有一定价值。

参考文献

- [1] ALLEGRETTI J R, ALLEGRETTI A S, PHELPS E, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* carriage rate post-fecal microbiota transplant is low: a prospective clinical and stool assessment[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24 (7): 780. e1-780. e3.
- [2] 陈熔, 吕晓菊. 艰难梭菌毒素的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(4): 316-320.
- [3] 吴媛, 李文革, 贾筱溪, 等. 我国艰难梭菌流行特征和研究进展[J]. 疾病监测, 2021, 36(4): 319-323.
- [4] 中华预防医学会医院感染控制分会. 中国艰难梭菌医院感染预防与控制指南[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28 (23): 3674-3680.
- [5] GILBOA M, HOURI-LEVI E, COHEN C, et al. Environmental shedding of toxigenic *Clostridioides difficile* by asymptomatic carriers: a prospective observational study[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(8): 1052-1057.
- [6] TERVEER E M, CROBACH M J, SANDERS I M, et al. Detection of *Clostridium difficile* in feces of asymptomatic patients admitted to the hospital[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(2): 403-411.
- [7] TUKE C, DEAN K, VIRGINCAR N, et al. Improvement in the management of patients with *Clostridium difficile* associated diarrhoea following changes to the wording of laboratory reports[J]. J Hosp Infect, 2017, 96(2): 205-206.
- [8] 中华预防医学会. 艰难梭菌感染诊断 (T/CPMA 008-2020)[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(2): 315-320.

- [9] ARVAND M, MOSER V, SCHWEHN C, et al. High prevalence of *Clostridium difficile* colonization among nursing home residents in Hesse, Germany [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30183.
- [10] GALDYS A L, NELSON J S, SHUTT K A, et al. Prevalence and duration of asymptomatic *Clostridium difficile* carriage among healthy subjects in Pittsburgh, Pennsylvania [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(7): 2406-2409.
- [11] MANZOOR S E, MCNULTY C A M, NAKIBONEKA-SSENABULYA D, et al. Investigation of community carriage rates of *Clostridium difficile* and *Hungatella* hathe-wayi in healthy volunteers from four regions of England [J]. *J Hosp Infect*, 2017, 97(2): 153-155.
- [12] MIYAJIMA F, ROBERTS P, SWALE A, et al. Characterisation and carriage ratio of *Clostridium difficile* strains isolated from a community-dwelling elderly population in the United Kingdom [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e22804.
- [13] ZIAKAS P D, ZACHARIOUDAKIS I M, ZERVOU F N, et al. Asymptomatic carriers of toxigenic *C. difficile* in long-term care facilities: a meta-analysis of prevalence and risk factors [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117195.
- [14] TRUONG C, SCHROEDER L F, GAUR R, et al. *Clostridium difficile* rates in asymptomatic and symptomatic hospitalized patients using nucleic acid testing [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017, 87(4): 365-370.
- [15] ZHANG X, WANG X, YANG J, et al. Colonization of toxigenic *Clostridium difficile* among ICU patients: a prospective study [J]. *BMC Infect Dis*, 2016, 16: 397.
- [16] 祁琪, 高洁, 石荃, 等. 神经外科患者入院时产毒性艰难梭菌定植率及其危险因素研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(6): 872-877.
- [17] 田甜甜. 健康人群携带艰难梭菌的分子流行病学及其耐药性研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- [18] HALSTEAD F D, RAVI A, THOMSON N, et al. Whole genome sequencing of toxigenic *Clostridium difficile* in asymptomatic carriers: insights into possible role in transmission [J]. *J Hosp Infect*, 2019, 102(2): 125-134.
- [19] SONG J H, KIM Y S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: risk factors, treatment, and prevention [J]. *Gut Liver*, 2019, 13(1): 16-24.
- [20] CLABOTS C R, JOHNSON S, OLSON M M, et al. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection [J]. *J Infect Dis*, 1992, 166(3): 561-567.
- [21] HOWELL M D, NOVACK V, GRGURICH P, et al. Iatrogenic gastric acid suppression and the risk of nosocomial *Clostridium difficile* infection [J]. *Arch Intern Med*, 2010, 170(9): 784-790.
- [22] HENRICH T J, KRAKOWER D, BITTON A, et al. Clinical risk factors for severe *Clostridium difficile*-associated disease [J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(3): 415-422.
- [23] HUANG H, WU S, CHEN R, et al. Risk factors of *Clostridium difficile* infections among patients in a university hospital in Shanghai, China [J]. *Anaerobe*, 2014, 30: 65-69.
- (收稿日期: 2022-09-11 修回日期: 2022-12-28)
-
- (上接第 330 页)
- associated macrophage induces malignancy progression [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 174.
- [12] WU W, ZHOU S, LIU T, et al. Mitochondrial transcription factor B2 overexpression increases M2 macrophage infiltration via cytosolic mitochondrial DNA-stimulated Interleukin-6 secretion in ovarian cancer [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 12211-12223.
- [13] LI S, LAN X, GAO H, et al. Systemic Inflammation Response Index (SIRI), cancer stem cells and survival of localised gastric adenocarcinoma after curative resection [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(12): 2455-2468.
- [14] DZIKOWSKI L, MIRZAEI R, SARKAR S, et al. Fibrinogen in the glioblastoma microenvironment contributes to the invasiveness of brain tumor-initiating cells [J]. *Brain Pathol*, 31(5): e12947.
- [15] ZHENG S, SHEN J, JIAO Y, et al. Platelets and fibrinogen facilitate each other in protecting tumor cells from natural killer cytotoxicity [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(5): 859-865.
- [16] IEDA S, MIYAMOTO T, HOSOMI K, et al. Identification of remaining life expectancy less than two weeks by C-reactive protein/albumin ratio, prognostic nutritional index, fibrosis-4 index, and albumin-bilirubin score in terminal cancer patients [J]. *J Palliat Med*, 2022, 25(4): 570-576.
- [17] MAI R Y, BAI T, LUO X L, et al. Preoperative fibrinogen-to-albumin ratio predicts the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma subjected to hepatectomy [J]. *BMC gastroenterol*, 2022, 22(1): 261.
- [18] 何永梅, 金海红, 陈思思, 等. 外周血纤维蛋白原与白蛋白比值对卵巢癌预后的评估 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2021, 22(4): 413-415.
- (收稿日期: 2022-08-23 修回日期: 2022-12-22)