

艰难梭菌感染诊断团体标准解读

吴媛¹ 卢金星¹ 闫中强² 刘运喜² 古文鹏³ 伏晓庆³ 徐英春⁴ 吴安华⁵
黄海辉⁶ 宗志勇⁷ 金大智⁸ 赵建宏⁹ 陈烨¹⁰ 刘卫平¹¹ 李卫光¹²

¹中国疾病预防控制中心传染病预防控制所,北京 102206;²中国人民解放军总医院,北京 100853;³云南省疾病预防控制中心,昆明 650022;⁴中国医学科学院北京协和医院,北京 100730;⁵中南大学湘雅医院,长沙 410008;⁶复旦大学附属华山医院,上海 200040;
⁷四川大学华西医院,成都 610041;⁸杭州医学院 310053;⁹河北医科大学第二医院,石家庄 050061;¹⁰南方医科大学南方医院,广州 510515;¹¹内蒙古自治区人民医院,呼和浩特 010017;¹²山东省立医院,济南 250021

通信作者:吴媛, Email: wuyuan@icdc.cn

【摘要】 艰难梭菌是引起抗生素相关性腹泻和医疗机构相关性腹泻的重要病原,在欧美引起暴发流行,造成沉重疾病负担。然而我国艰难梭菌感染调查缺乏统一的诊断原则和检测技术规范,我国艰难梭菌感染率和疾病负担尚不明确。因此中国 CDC 传染病预防控制所联合全国其他 11 家单位撰写《艰难梭菌感染诊断(T/CPMA 008-2020)》中华预防医学会团体标准,以“合法性、科学性、先进性、可行性”为原则,给出了艰难梭菌感染的危险因素、诊断原则、诊断和鉴别诊断。旨在提高临床感染性腹泻中艰难梭菌感染诊断的准确性,指导监测工作开展,明确我国艰难梭菌感染的风险和疾病负担。

【关键词】 艰难梭菌感染; 诊断; 检测; 团体标准
基金项目:国家科技重大专项(2018ZX10733402)

Interpretation of group standard for *Clostridioides difficile* infection diagnosis

Wu Yuan¹, Lu Jinxing¹, Yan Zhongqiang², Liu Yunxi², Gu Wenpeng³, Fu Xiaoqing³, Xu Yingchun⁴,
Wu Anhua⁵, Huang Haihui⁶, Zong Zhiyong⁷, Jin Dazhi⁸, Zhao Jianhong⁹, Chen Ye¹⁰, Liu Weiping¹¹,
Li Weiguang¹²

¹National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; ²Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China; ³Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China; ⁴Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China; ⁵Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China; ⁶Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; ⁷West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; ⁸Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China; ⁹The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050061, China; ¹⁰Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; ¹¹Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010017, China; ¹²Shandong Provincial Hospital, Ji'nan 250021, China

Corresponding author: Wu Yuan, Email: wuyuan@icdc.cn

【Abstract】 *Clostridioides difficile* is a key pathogen of antibiotic related diarrhea and hospital associated infection, causing several outbreaks in Europe and North Americans and resulting in severe disease burden. However, the standardized diagnostic principle and detection specifications in *C. difficile* infection (CDI) survey are limited in China, and the infection rate and

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201026-01272

收稿日期 2020-10-26 本文编辑 万玉立

引用本文:吴媛,卢金星,闫中强,等.艰难梭菌感染诊断团体标准解读[J].中华流行病学杂志,2021,42(1):64-67. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201026-01272.



disease burden of CDI in China are unclear. Therefore, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, together with another 11 institutions, draft the group standard entitled "Diagnosis of *Clostridium difficile* infection (T/CPMA 008-2020)" of Chinese Preventive Medicine Association. Based on the principle of "legality, scientificity, advancement, and feasibility", this standard clarifies risk factors, diagnosis principles, diagnoses and differential diagnoses in order to improve the accuracy of CDI diagnosis in clinical practice, guide the surveillance for CDI, and understand the infection rate and disease burden of CDI in China.

【Key words】 *Clostridium difficile* infection; Diagnosis; Detection; Group standard

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10733402)

难辨梭状芽孢杆菌(*Clostridioides/Clostridium difficile*, 艰难梭菌)是一种严格厌氧、产芽孢、革兰阳性杆菌,是引起抗生素相关性腹泻和医疗机构相关性腹泻的重要病原。艰难梭菌感染(CDI)的主要临床表现为腹泻,也可伴有腹痛和发热等。轻-中度感染仅为腹泻或自限性感染,重度感染可致死,会伴有伪膜性肠炎(PMC)、中毒性巨结肠、肠穿孔和脓毒血症等^[1]。美国 CDC 2017 年数据显示,美国每年 CDI 患者近 23 万人,其中死亡人数超 1.2 万,产生超 10 亿美元的疾病负担,被列为抗生素相关的紧迫公共卫生威胁之一(<https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>)。欧美地区已形成一系列成熟的监测、诊断、治疗和干预评价的指南和报告体系^[2-4]。近 10 年来的调查研究显示,我国 CDI 呈快速增长趋势,然而由于缺乏统一的诊断原则和检测技术规范,我国 CDI 率和疾病负担尚不明确。

1. 起草背景:感染性腹泻是丙类法定传染病的重要组成部分,艰难梭菌作为其病原之一,已引起国内学者的重视。已有研究显示,腹泻患者中产毒艰难梭菌的检出比例高达 14%^[5];也有研究显示,社区获得性腹泻患者中产毒艰难梭菌的核酸水平检出率同样为 14%,培养阳性率约为 5%~6%^[6]。但是,这些数据是基于文献回顾,或是在某些特定区域、特定人群开展,且应用的检测方法和流程都各不相同;此外,临床医生对 CDI 的认识不足,这些因素都导致很难得出我国 CDI 的可靠比例和疾病负担。

因此,为了规范 CDI 流行病学调查,提高艰难梭菌诊断的准确性,亟须制定适用于各级医疗机构和疾病预防控制机构的 CDI 诊断标准,对其诊断原则和流程做出科学明确的方法学规定,进一步推动普及感染性腹泻中艰难梭菌的诊断,指导早期治疗,避免并发症,降低疾病负担,以及应对潜在的高毒株(RT027)暴发风险具有重要意义。

2. 前期工作基础:中国 CDC 是国内最早开始艰难梭菌研究的团队之一。率先在国内开展了艰难梭菌系统调查,获得了不同人群(住院人群、社区腹泻人群、健康从业人员、健康体检人群)、不同地域、不同动物宿主(养殖经济动物牛、猪、羊、鸡等)等的艰难梭菌携带情况及菌株分子型别特征^[7-8]、耐药表型和耐药基因^[9];搭建了我国艰难梭菌核糖体分型标准库,并标准化了实验流程^[10],为有效开展 CDI 流行病学调查提供必要技术支撑;同时还深入研究了我国特征种群 Clade4 群及 ST11 组的可移动元件在遗传微进化的作用机制;建立一套全基因组测序的 CDI 暴发溯源和传播分析的标准技术流程。在实践中不断改进和优化 CDI 检测技术和流程,并结合国际上的最新技术进展,逐渐形成一套适用于我国的、可在不同地区、不同机构中施行的标准化实验室检测方法。此外,本研究团队与欧洲 CDC、欧洲艰难梭菌参比实验室、美国 CDC 艰难梭菌研究团队以及澳大利亚艰难梭菌研究团队已有长期良好的交流合作基础,促进了研究结果的国际交流,保证了研究紧跟领域热点和前沿。与此同时,标准编制专家团队都有长期从事艰难梭菌研究的临床经验、工作基础和研究成果,本标准是在专家团队的实际工作中进一步综合讨论制定。

针对 CDI 在中国缺乏有效、规范诊断的现实,由中华预防医学会组织、中国 CDC 传染病预防控制所牵头,联合我国多家顶级医疗机构、大学和艰难梭菌监测研究工作的省/市 CDC 代表单位,共同编制了《艰难梭菌感染诊断(T/CPMA 008-2020)》团体标准^[11],既保障该标准中的实验室检测方法、临床诊断方法达到国际先进技术水平,同时也保障在我国各地不同层级的临床医院与 CDC 中都可有效施行。

3. 标准编制原则:本标准遵循“合法性、科学性、先进性、可行性”原则,按照 GB/T 1.1-2009 和

华预防医学会团体标准制订规范要求,在我国专业艰难梭菌实验室的大量实验数据和学术论文的基础上,结合国际相关团队的研究报道,建立标准操作规程(SOP),并在全国 CDI 调查和监测中进行验证和评价,获得有代表性的应用数据。标准制订过程中,广泛征集专家(临床医生以及科研院校和 CDC 研究人员)意见,并接轨国际同类指南。

标准制定过程中参考了国际艰难梭菌研究领域的权威论著、国内艰难梭菌调查研究数据和结果。在重要的病例定义、诊断原则和临床表现分级等参考了欧洲 CDC、欧洲微生物学会(ESCMID)、美国 CDC、美国感染病学会(IDSA)和美国健康流行病学学会发布的相关指南,并结合标准编制专家在实际工作中常用的方法等综合讨论而制定,兼顾了国际的统一性和国内的适用性。

4. 标准主要内容:包括目次、前言、引言、范围、术语和定义、缩略语、诊断依据(危险因素、临床表现、内镜检查和实验室检查)、诊断原则、诊断(临床诊断病例和确诊病例)、鉴别诊断、附录 A、B、C 和参考文献。将诊断分为两级,明确确诊的标准,并与其他常见病原感染腹泻进行鉴别诊断。附录 A 是资料性附录,阐述样本核酸检测的详细实验流程。附录 B 是规范性附录,明确艰难梭菌分离培养和鉴定的详细实验流程。附录 C 用于鉴定高毒株 RT027 和 RT078。

(1) 诊断依据:包括危险因素、临床表现、内镜检查和实验室检查。艰难梭菌是抗生素相关性腹泻的主要病原,目前公认 CDI 的危险因素主要有抗生素使用、老年(>65 岁)、住院等。危险因素的提出有助于引导临床医生在腹泻患者中意识到 CDI 的可能性,从而提高 CDI 的诊断率。对临床表现的严重程度进行了分级,参照了 IDSA 的指南,有助于临床治疗策略的选择。同时,对标欧美 CDC 的相关指南,并结合我国临床实际工作,将内镜检查列为诊断依据之一。在实验室检查中详细阐述了样本采集保存、快速检测以及分离培养鉴定的技术方法,包括新的鉴定技术,如质谱等。

(2) 诊断原则和诊断:根据危险因素、临床表现、内镜检查和实验室检查进行诊断。结合国内外现行的诊断指南,将诊断病例分为“临床诊断病例”和“确诊病例”两级。临床诊断病例是指在排除其他原因的腹泻后,如果出现上述危险因素和临床表现,高度提示 CDI,需进行进一步检查。确诊病例是指在临床诊断病例的基础上结合内镜检查发现

PMC 或者实验室检查产毒艰难梭菌阳性,确诊病例的诊断标准与国际通用指南保持一致,符合 CDI 感染的病例定义。

(3) 鉴别诊断:CDI 引起的腹泻,属于感染性腹泻的范畴,因此与细菌性痢疾、肠侵袭性大肠埃希菌腹泻、沙门菌腹泻、轮状病毒腹泻和诺如病毒腹泻等相鉴别。同时,还应排除有腹泻症状的其他肠道疾病,如肠易激综合征和炎症性肠病等。

5. 标准使用注意事项:

(1) 实验室检测中可采用无须培养针对样本的直接检测。为提高临床检测效率,可应用免疫学快速检测和核酸检测粪便样本中有无产毒艰难梭菌。免疫学快速检测直接采用商品化的试剂盒对样本中的谷氨酸脱氢酶(GDH)抗原和毒素 A/B 同时进行检测,在结果判读时需注意,如果 GDH 和毒素 A/B 同阳,有产毒艰难梭菌;同阴,无产毒艰难梭菌;一阴一阳则需要结合 PCR 检测 *tcdB* 基因,*tcdB*⁺则样本中存在产毒艰难梭菌,*tcdB*⁻则样本中无产毒艰难梭菌。样本的核酸检测是指对疑似 CDI 的腹泻样本,无须培养,提取样本 DNA 进行艰难梭菌特异的细胞毒素基因 *tcdB* 核酸片段检测,如果阳性,说明样本中存在产毒艰难梭菌,可采用附录 A 中的方法或者商品化的试剂盒。

(2) 分离培养是接种在不同的选择性培养基上厌氧培养获得可疑克隆后,完成后续产毒鉴定来确定的。推荐先进行样本的前处理,再涂板培养,可有效提高分离效率。常用的前处理方法有等体积无水乙醇室温孵育 30 min,或者 80 °C 加热 10 min。

(3) 注意鉴别高毒株 RT027 和 RT078 型。RT027 已引起欧洲和北美地区的暴发流行,我国也有 RT027 检出的报道,需引起高度重视。RT078 与动物源艰难梭菌和社区获得艰难梭菌高度相关,随着 CDI 流行病学的变迁,其公共卫生学意义日益重要。我们前期的研究和国际相关报道都指出仅凭多位点序列分型、毒素谱鉴定和 *tcdC* 基因上的碱基缺失,不能准确判断 RT027 和 RT078 型,应开展核糖体分型来有效识别高毒株。

(4) 诊断和鉴别诊断。本标准根据国际儿科协会的相关文献报道^[12],明确 <2 岁婴幼儿出现腹泻,不推荐进行 CDI 的相关检查。IDSA 的指南中指出,<1 岁婴幼儿出现腹泻,不推荐进行 CDI 的相关检查,<2 岁婴幼儿出现腹泻,除非有暴发的风险或其他高度提示的危险因素,否则不推荐进行 CDI 的相关检查。ESCMID 则规定为 <3 岁婴幼儿出现腹

泻,不推荐进行 CDI 的相关检查,除非高度怀疑暴发相关。轻-中度 CDI 的临床表现不具有特异性,需引起临床医生的足够重视,同时注意与其他病原的感染性腹泻和以腹泻为主要症状的其他肠道疾病相鉴别。

(5)实验室检测的质量控制。实验室检测用的试剂和操作流程都应有严格的质量控制体系。尤其是样本快速检测中的胶体金法、普通 PCR 和荧光 PCR 的核酸检测,都应建立标准品,定期对实验试剂和流程进行评估,同时还应进行必要的室间评价,保证实验结果的可重复性和稳定性。

6. 展望:CDI 在美国 CDC 的 2019 抗生素相关威胁的年度报告中,被列为紧迫公共卫生威胁(urgent threat)的第三位病原,仅次于不动杆菌和耳念珠菌(<https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>)。因此,欧美地区已将艰难梭菌纳入相应监测网络体系,发布从监测、诊断、治疗和干预预防等一系列指南和年度报告。虽然目前我国 CDI 的报道没有欧美地区严重,但潜在风险依然存在。例如,我们通过已建立的艰难梭菌标准分型库准确识别了一起 RT078 的聚集事件^[13]。国内的流行病学调查数据已显示 Clade4 群 ST37 型菌株的分离率要高于国外,且该克隆群的多耐药比率显著高于其他亚群^[14-16]。我们旨在通过本标准的提出和实施,强调感染性腹泻中“CDI”的概念和风险,增强临床医生对 CDI 的认识,提高 CDI 的诊断准确性,为精准用药治疗提供依据,从而进一步明确我国 CDI 的感染风险和疾病负担,为防控策略和监测方案的制定奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection[J]. N Engl J Med, 2015, 372(16): 1539-1548. DOI: 10.1056/NEJMra1403772.
- [2] McDonal LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults and children: 2017 update by the infectious diseases society of America (IDSA) and society for healthcare epidemiology of America (SHEA) [J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(7): e1-48. DOI:10.1093/cid/cix1085.
- [3] Crobach MJT, Planche T, Eckert C, et al. European society of clinical microbiology and infectious diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22 Suppl 4: S63-81. DOI:10.1016/j.cmi.2016.03.010.
- [4] Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 313(4): 398-408. DOI: 10.1001/jama.2014.17103.
- [5] Tang CJ, Cui LB, Xu YQ, et al. The incidence and drug resistance of *Clostridium difficile* infection in Mainland China: a systematic review and meta-analysis[J]. Sci Rep, 2016, 6: 37865. DOI:10.1038/srep37865.
- [6] Liao F, Li WG, Gu WP, et al. A retrospective study of community-acquired *Clostridium difficile* infection in southwest China[J]. Sci Rep, 2018, 8: 3992. DOI:10.1038/s41598-018-21762-7.
- [7] Liu XS, Li WG, Zhang WZ, et al. Molecular characterization of *Clostridium difficile* isolates in China from 2010 to 2015[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 845. DOI:10.3389/fmicb.2018.00845.
- [8] Zhang WZ, Li WG, Liu YQ, et al. The molecular characters and antibiotic resistance of *Clostridioides difficile* from economic animals in China[J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 70. DOI:10.1186/s12866-020-01757-z.
- [9] Li H, Li WG, Zhang WZ, et al. Antibiotic resistance of clinical isolates of *Clostridioides difficile* in China and its association with geographical regions and patient age[J]. Anaerobe, 2019, 60: 102094. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2019.102094.
- [10] 张鑫, 张文竹, 李文革, 等. 我国艰难梭菌核糖体分型库的标准化及应用[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(12): 132-136. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.12.022.
- [11] Zhang X, Zhang WZ, Li WG, et al. Standardization and application on ribotyping library of *Clostridioides difficile* in China[J]. Chin J Epidemiol, 2019, 40(12): 132-136. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.12.022.
- [12] 中华预防医学会. 艰难梭菌感染诊断(T/CPMA 008-2020) [J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 58-63. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201026-01273.
- [13] Chinese Preventive Medicine Association. Diagnosis of *Clostridioides difficile* infection (T/CPMA 008-2020) [J]. Chin J Epidemiol, 2021, 42(1): 58-63. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201026-01273.
- [14] Rogers A, ElKadri A. Clinical guideline highlights for the hospitalist: *Clostridium difficile* infections in children[J]. J Hosp Med, 2020, 15(2): 98-100. DOI:10.12788/jhm.3312.
- [15] Suo JJ, Yan ZQ, Wu Y, et al. *Clostridium difficile* RT078/ST11: a threat to community population and pigs identified in elder hospitalized patients in Beijing, China [J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2017, 38(11): 1383-1385. DOI:10.1017/ice.2017.206.
- [16] Gao Q, Wu S, Huang HH, et al. Toxin profiles, PCR ribotypes and resistance patterns of *Clostridium difficile*: a multicentre study in China, 2012-2013[J]. Int J Antimicrob Agents, 2016, 48(6): 736-739. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.009.
- [17] Cheng JW, Xiao M, Kudinha T, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolates from a university teaching hospital in China[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 1621. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01621.
- [18] Jin DZ, Luo Y, Huang C, et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients in eastern China[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(3): 801-810. DOI:10.1128/JCM.01898-16.