

# 艰难梭菌耐药性及耐药机制研究进展

高琼, 黄海辉

复旦大学附属华山医院抗生素研究所, 卫生部抗生素临床药理重点实验室, 上海 200040

**摘要:** 艰难梭菌(*Clostridium difficile*)是医疗保健相关性腹泻最主要的病原菌。2002 年起欧美地区艰难梭菌感染发病率和病死率均明显增高, 耐药艰难梭菌的出现和传播更给临床治疗和预防带来了挑战。绝大多数临床分离菌对甲硝唑及万古霉素仍呈高度敏感, 但已有异质性耐药或最低抑菌浓度上升的报道; 对红霉素和莫西沙星等其他抗菌药物的耐药率在不同国家和地区则有较大差异。艰难梭菌对甲硝唑或万古霉素敏感性下降产生的耐药机制尚不明确, 而对红霉素、氟喹诺酮类、四环素和利福霉素形成的耐药机制主要是因为作用靶点发生了改变。文章简述了近年来国际上艰难梭菌耐药性及耐药机制方面的研究进展。

**关键词:** 艰难梭菌; 耐药性; 耐药机制

## Update on antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*

Qiong Gao, Haihui Huang

Institute of Antibiotics, Huashan Hospital, Fudan University, Key Laboratory of Clinical Pharmacology of Antibiotics, Ministry of Health, Shanghai 200040, China

**Abstract:** *Clostridium difficile* is the leading cause of healthcare-associated diarrhea. Since 2002, the morbidity and mortality rates of *C. difficile* infection have increased dramatically in Europe and North America. The emergence of *C. difficile* strains that are resistant to multiple antimicrobial agents can complicate prevention programs and potential treatment. Although most clinical isolates are still susceptible to metronidazole and vancomycin, heteroresistance to metronidazole and increasing vancomycin MICs (minimum inhibitory concentrations) have been reported. The prevalence of resistance to other antimicrobial agents, including erythromycin and moxifloxacin, is highly variable in different countries and regions. The exact mechanism of reduced susceptibility to metronidazole or vancomycin is still not clear. The principal mechanism of erythromycin, fluoroquinolones and rifamycins resistance in *C. difficile* is determined by target alterations. This review will focus primarily on the antimicrobial susceptibility patterns and resistance mechanisms of *C. difficile* in order to provide an up-to-date review on the topic.

**Keywords:** clostridium difficile; antimicrobial resistance; resistance mechanism

收稿日期: 2015-03-26; 修回日期: 2015-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30973594, 81101292)

作者简介: 高琼, 硕士研究生, 研究方向: 艰难梭菌耐药机制。Tel: 021-52888193; E-mail: 14211220003@fudan.edu.cn

通讯作者: 黄海辉, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 感染性疾病的诊治, 厌氧菌耐药性及耐药机制。Tel: 021-52888195; E-mail: huanghai-hui@fudan.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczz.15-131

网络出版时间: 2015-4-29 10:55:15

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150429.1055.001.html>

艰难梭菌(*Clostridium difficile*)为革兰阳性厌氧芽孢杆菌,是医院获得性腹泻最主要的病原菌,约25%~33%的抗生素相关性腹泻以及90%的假膜性肠炎由艰难梭菌所致,统称为艰难梭菌感染(*Clostridium difficile* infection, CDI)。2002年起,欧美地区多次发生艰难梭菌感染的暴发与流行,由此导致的发病率和病死率迅速增高。CDI流行病学的这一新变化部分与高产毒菌株如核糖体型027的出现相关<sup>[1]</sup>。2008年后,在荷兰等欧洲国家又出现另一个检出率较前明显增加的高毒力菌株—核糖体型078<sup>[2]</sup>。同时CDI人群除住院患者及老年人外,蔓延至既往身体健康未曾住院且未用过抗生素的年轻人甚至孕妇中<sup>[3]</sup>。中国近年来对CDI亦越来越重视。黄海辉等<sup>[4]</sup>报道复旦大学附属华山医院住院病人中2008年CDI发病率为17.1例/10000入院病人,与瑞典等国相仿。陈云波等<sup>[5]</sup>报道CDI占医院感染性腹泻30.7%。国内临床分离株以核糖体型017为多见,直至2014年初广州南方医院才报道了第一例也是迄今为止唯一的一例027菌株感染<sup>[6]</sup>。

广谱抗菌药物的应用导致肠道菌群失调是CDI最主要的危险因素。艰难梭菌对红霉素、克林霉素和氟喹诺酮类等多种抗菌药物耐药也使其更易在医院内外广泛传播<sup>[7]</sup>,例如欧洲和北美广泛流行的027菌株即对莫西沙星呈高水平耐药<sup>[8,9]</sup>。数十年来甲硝唑和万古霉素一直是治疗CDI的首选药物<sup>[10]</sup>,但近期亦有报道艰难梭菌对这2种药物的敏感性下降<sup>[11]</sup>。

本文将对艰难梭菌对常用抗菌药物的耐药性及耐药机制作一综述。

1 艰难梭菌对常用抗菌药物的耐药性

1.1 不同国家和地区艰难梭菌对抗菌药物的耐药率

调查研究发现艰难梭菌对抗菌药物的耐药率在不同国家和地区的差异较大(表1)。绝大多数的艰难梭菌临床分离株对甲硝唑和万古霉素仍呈敏感,但已有对甲硝唑敏感性下降、异质性耐药甚至高度耐药的报道<sup>[13,21]</sup>,同时对万古霉素敏感性下降的报道亦非少见<sup>[8,16]</sup>。艰难梭菌对红霉素、克林霉素等其他抗菌药物的耐药率则在不同国家地区间有较大差异。Tickler IA等<sup>[8]</sup>报道美国32家医院508株艰难梭菌对克林霉素的耐药率为36.8%,瑞典<sup>[12]</sup>报道艰难梭菌对克林霉素的耐药率高达65%,但同为欧洲国家的波兰的一项研究<sup>[9]</sup>显示克林霉素耐药率则仅为27.7%,亚洲中国台湾<sup>[16]</sup>和韩国<sup>[17]</sup>报道其临床分离株对克林霉素的耐药率分别为73.5%与67.9%。艰难梭菌对莫西沙星耐药率在不同的国家和地区差异更大:新西兰<sup>[14]</sup>的一项研究结果显示其对莫西沙星的耐药率仅为2%,而波兰<sup>[9]</sup>报道的耐药率可高达83.1%。

1.2 流行菌株对常用抗菌药物的耐药率较非流行菌株为高。

Tickler IA等<sup>[8]</sup>报道美国508株艰难梭菌中核糖体型027最为多见,占28.1%(143/508),其对克林

表 1 不同国家/地区艰难梭菌对常见临床抗菌药物的 MICs 和耐药率

国家/地区 (年)	样本量	MIC <sub>90</sub> (mg/L) (耐药率)									
		甲硝唑	万古霉素	克林霉素	红霉素	四环素	莫西沙星	利福平	夫西地酸	亚胺培南	哌拉西林/他唑巴坦
瑞典(2009) <sup>[12]</sup>	80	0.25(0)	1(0)	128(65)	64(13.8)	0.25(7.5)	16(15)	0.06(3.8)	0.5(2.5)	<sup>a</sup> 4(0)	<16/4(0)
中国(2010) <sup>[13]</sup>	110	0.25(0)	1(0)	128(88.1)	128(85.3)	32(62.7)	128(61.8)	>32(29.1)	0.5(8.2)		16/4(0)
新西兰(2011) <sup>[14]</sup>	101	0.5(0)	1(0)	8(61)			2(2)			<sup>a</sup> 2(0)	8(0)
波兰(2012) <sup>[9]</sup>	83	0.75(0)	0.75(0)	256(27.7)	256(85.5)	0.38(2.4)	32(83.1)	32(18.0)		73(87.9)	
北美(2012) <sup>[15]</sup>	316	0.5(0)		>256(41.5)			>32(38)	0.002(7.9)			
中国台湾(2012) <sup>[16]</sup>	403	0.5(0)	1(0)	>256(73.5)			16(17.9)				
韩国(2012) <sup>[17]</sup>	131	1(0)	1(0)	>256(67.9)			16(62.6)	0.015(19.1)			16/4(0)
伊朗(2013) <sup>[18]</sup>	75	2(0)	1(0)	256(89.3)	>32(57.3)						
匈牙利(2014) <sup>[19]</sup>	200	1(0)		256(29.5)	256(31)		32(21.5)	32(11.5)			
中国(2014) <sup>[20]</sup>	64	0.5(0)	1(0)	>128(84.4)	>256(73.4)	32(48.4)	256(42.2)	0.03(7.8)	2(35.9)	8(6.2)	

注: MIC(minimum inhibitory concentration)表示最小抑菌浓度; MIC<sub>90</sub>表示在一批实验中能抑制90%受试菌所需MIC; <sup>a</sup>试验药物为美罗培南。

霉素和莫西沙星的耐药率分别为 50.3% 和 92.3% ,且 39.1% 的 027 菌株对万古霉素敏感性降低( $MIC_{90}$  为 4mg/L) ;非流行菌株核糖体型 106 和 002 对克林霉素和莫西沙星的耐药率则较低 , 分别为 3.2% 和 16.7% , 以及 9.7% 和 5.6% 。 Waslawski S 等<sup>[22]</sup>和 Lachowicz D 等<sup>[9]</sup>的研究结果也都证实流行株 027 对克林霉素、莫西沙星、红霉素等临床常用药物的耐药率高于非 027 菌株。在亚洲核糖体型 027 菌株并不多见 ,但 Kim J 等<sup>[17]</sup>报道韩国流行株核糖体型 018 和 017 其对克林霉素和莫西沙星的耐药率亦明显高于非流行菌株。

## 2 艰难梭菌对常用抗菌药物的耐药机制

### 2.1 甲硝唑

当前绝大多数临床分离株体外对甲硝唑仍呈高度敏感。但自 1994 年 Peláez T 等<sup>[23]</sup>首次检测到耐甲硝唑的艰难梭菌后 , 已有越来越多对甲硝唑敏感性下降甚至耐药的报道。2002 年 Peláez T 等<sup>[24]</sup>发现在临床分离的 415 株艰难梭菌中 6.3% 对甲硝唑耐药 , 2008 年<sup>[25]</sup>再次报道 12% 的临床分离株对甲硝唑呈异质性耐药 , 且与临床治疗失败相关。Baines SD 等<sup>[26]</sup>在一项研究中发现 24.4% 的 001 型菌株对甲硝唑敏感性降低( $MIC$  为 4~8 mg/L)。黄海辉等<sup>[13]</sup>报道分离自上海腹泻患者的 188 株艰难梭菌中 18 株对甲硝唑呈异质性耐药。当前大多数国家的微生物体外药敏试验判断标准均参照美国临床和实验室标准协会 (CLSI) 的标准,直至 2015 年该标准中艰难梭菌对甲硝唑的耐药折点仍为 32 mg/L,但是该折点是基于血清治疗浓度而非肠腔内治疗浓度<sup>[27]</sup>。欧洲临床微生物与感染协会 (ESCMID) 按照艰难梭菌感染主要在肠腔 , 甲硝唑主要在肠腔内作用的原则 , 自 2012 年起更改折点为 >2 mg/L 为耐药<sup>[28]</sup>。因此如果按照欧洲抗菌药物敏感性试验委员会 (EUCAST) 标准 , 耐甲硝唑艰难梭菌的检出率将比现在的文献报道明显为高。

甲硝唑的杀菌机制尚未完全阐明 , 可能为被还原后的甲硝唑代谢物非特异性地与细菌 DNA 结合 , 抑制细菌 DNA 合成 , 并使 DNA 链断裂从而导致细菌死亡。同时艰难梭菌等厌氧菌对甲硝唑敏感性下降 / 耐药的机制也不明确。研究者推测可能与甲硝唑进入菌体减少而泵出增加、甲硝唑的还原活化过程被

阻断、细菌 DNA 修复能力增强有关<sup>[29]</sup>。Lynch T 等<sup>[30]</sup>对甲硝唑耐药株进行全基因组测序 , 发现在单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) , SNP 水平有一些参与核心代谢通路的基因 , 如铁利用、电子传递和能量产生的基因发生了变异 ; Chong PM 等<sup>[31]</sup>随后又采用 2D-LC-MS/MS 方法对该耐药株进行蛋白组学分析 , 结果显示艰难梭菌对甲硝唑耐药可能有多种机制参与 , 包括铁代谢和 DNA 修复能力的改变等。但具体哪些基因真正参与了艰难梭菌对甲硝唑耐药及其机制目前尚未见报道。

### 2.2 万古霉素

迄今为止 , 仅波兰于 1991 年曾报道用纸片扩散法检测到 3 株对万古霉素耐药的艰难梭菌<sup>[32]</sup>。但自 1996 年起陆续有琼脂稀释法或 E 试验法检测到万古霉素敏感性下降菌株的报道。2013 年 Dong D 等<sup>[33]</sup>分离到 2 株万古霉素敏感性下降株 ( $MIC$  为 8 mg/L) , Tickler IA 等<sup>[8]</sup>于 2014 年报道 13.2% (40/302) 的菌株对万古霉素敏感性降低 ( $MIC$  范围为 2~4 mg/L)。已知万古霉素的主要作用机制为与细菌肽聚糖前体末端的 D-丙氨酰-D-丙氨酸结合 , 抑制细胞壁肽聚糖的合成。肠球菌对万古霉素的主要耐药机制即为产生一组功能相似的连接酶 , 导致合成 D-丙氨酰-D-乳酸取代正常的细胞壁肽聚糖末端的 D-丙氨酰-D-丙氨酸 , 使万古霉素不能与其靶点结合 (VanA 等) ; 或者合成 D-丙氨酰-D-丝氨酸取代正常细胞壁的结构 (VanE 等)。但是 , 当前艰难梭菌对于万古霉素敏感性降低的机制仍不明确。Leeds 等<sup>[34]</sup>诱导获得 2 株万古霉素耐药株 ( $MIC$  为 16 mg/L) , 测序发现其中一株耐药株中参与肽聚糖合成的 *murG* 基因发生突变 (P108L) , 另一株耐药菌 RNA 聚合酶  $\beta'$  亚基发生突变 (D244Y) , 但这些突变与万古霉素耐药的关系仍需进一步研究。

### 2.3 非达霉素

非达霉素 2011 年在美国上市 , 其作用机制为抑制细菌转录过程中的 RNA 聚合酶。迄今仅从 1 例 CDI 复发患者中分离到 1 株非达霉素耐药株 ( $MIC$  为 16 mg/L) , 该患者之前曾接受过非达霉素治疗并治愈。PCR 扩增测序显示该耐药菌 *rpoC* 基因发生突变<sup>[35]</sup>。Seddon 等<sup>[36]</sup>对实验室诱导的非达霉素敏感性下降菌株 ( $MIC$  为 1~4 mg/L) 测序 , 结果亦显示这些耐药株

的*rpoB* (K1073H, Q1074K, Q1074H, V1143G和/或V1143D)或者*rpoC* (I10R, R89G, Q781R和/或D1127E)出现突变。因*rpoB*与*rpoC*分别为RNA聚合酶 $\beta$ 亚基和 $\beta'$ 亚基的编码基因,因此上述研究结果初步证实RNA聚合酶为艰难梭菌对非达霉素的耐药靶点。除此之外,Leeds等<sup>[34]</sup>发现一株敏感性降低的实验菌株中,与转录调节因子MarR家族同源的一个基因*CD22120*发生了移码突变,但该突变的意义还有待于进一步研究。

## 2.4 红霉素和克林霉素

红霉素和克林霉素是蛋白合成抑制剂大环内酯类-林可霉素类-链阳霉素B类(Macrolide-lincosamide-streptogramin B, MLS<sub>B</sub>)家族的成员,对于这一类药物目前各国报道的耐药率均较高。该类物质作用于细菌核糖体50S亚单位,通过抑制肽链延长而影响细菌蛋白质的合成。现阶段研究发现,临床致病菌对红霉素和克林霉素的耐药主要通过核糖体靶点改变或主动外排,同时灭活酶的产生也可引起细菌对其耐药。由*erm*基因编码的核糖体甲基化酶可对核糖体23S rRNA进行修饰,导致细菌对这类药物呈现高水平耐药<sup>[37]</sup>。*erm*基因根据其序列相似性分为不同的类别,其亚型目前已超20种,其中最常见的是*ermB*基因<sup>[38]</sup>。*ermB*编码核糖体23S rRNA甲基化酶引起的耐药表型为MLS<sub>B</sub>,即对大环内酯类、林可酰胺类和链阳菌素B交叉耐药<sup>[39]</sup>。

艰难梭菌对红霉素耐药主要由位于Tn5398转座子的*ermB*基因所介导<sup>[40]</sup>,也有研究者报道*ermB*基因位于其他位点<sup>[41]</sup>。ErmB决定区具有多态性,在欧洲ErmB决定区基因结构以E4和E15最为常见,而Dong D等<sup>[33]</sup>报道中国临床分离株中Erj2更为重要。*erm*基因阴性的艰难梭菌亦可对红霉素呈高水平耐药,机制不明,其中部分菌株23S rDNA 656位碱基发生突变(C→T)<sup>[42]</sup>。

## 2.5 四环素

四环素类为快速抑菌剂,其与细菌核糖体30S亚单位A位特异性结合,阻止氨基酰-tRNA与核糖体联结,从而抑制肽链延长和蛋白质合成。临床致病菌对四环素的耐药机制主要为核糖体靶点的保护(*tetM*)和主动外排系统(*tetA*、*B*、*C*、*D*等)。艰难梭

菌主要通过产生核糖体保护蛋白(TetM)而对四环素耐药。研究发现,核糖型012和046四环素耐药株*tetM*基因多由Tn5397转座子携带,而在核糖型017和078中*tetM*基因多位于Tn916样转座子上<sup>[43,44]</sup>。此外,Spigaglia P<sup>[45]</sup>等在一株*tetM*阴性的耐药株中检测到另一个核糖体保护蛋白编码基因*tetW*。主动外排介导的四环素耐药在艰难梭菌中目前尚无相关报道。

## 2.6 氟喹诺酮类

除新西兰、瑞典和中国台湾以外,大多数国家和地区艰难梭菌对莫西沙星的耐药率均已超过20%,部分耐药率甚至超过80%。高产毒株027的广泛流行即可能与其对莫西沙星耐药相关。氟喹诺酮类作用于细菌DNA旋转酶和(或)拓扑异构酶 $\square$ ,导致酶-DNA复合物的断裂,抑制细菌DNA合成而杀菌。细菌对氟喹诺酮类药物的耐药机制主要分为3类:(1)药物靶点改变;(2)靶点保护蛋白的产生;(3)主动外排作用<sup>[46]</sup>。前期研究发现艰难梭菌对喹诺酮类耐药机制主要为第一种,即DNA旋转酶亚单位GyrA和/或GyrB发生改变。突变位点多发生于喹诺酮耐药决定区(Quinolone-resistance determining region, QRDR)<sup>[47]</sup>,其中GyrA变异以T82I最为常见,此外还检测到T82V、D71V、D81N、A83V、A118T以及A118V, GyrB最常见的变异位点为426,包括D426N、D426V,以及R447K、R447L、E466K、S416A、S366A、D501E、A503S<sup>[33,48,49]</sup>。

## 2.7 利福霉素类

临床用于治疗CDI的利福霉素类药物主要为利福平和利福昔明。Tenover FC等报道北美316株艰难梭菌对利福平耐药率为7.9%<sup>[15]</sup>。黄海辉等报道分离的188株艰难梭菌对利福平的耐药率为19.8%,且对利福平高度耐药者(MIC 32 mg/L)同时也对利福昔明呈耐药<sup>[13]</sup>。利福平作用机制为特异地与依赖于DNA的RNA聚合酶 $\beta$ 亚单位(RpoB)结合,形成稳定的复合物,从而抑制多聚酶活性,抑制DNA转录。艰难梭菌等革兰阳性菌对利福平耐药亦主要与RNA多聚酶的改变有关。到目前为止,在艰难梭菌中已报道八种RpoB变异,所有这些变异都发生在第488位和第548位氨基酸之间。R505K最为常见,通常导致高水平耐药(MIC 32 mg/L);H502N引起利福



平MIC轻度上升(MIC为<32 mg/L)。双重变异亦有报道,如R505K合并H502N、R505K合并I548M等<sup>[50,51]</sup>。

### 3 结 语

不同国家和地区艰难梭菌对常用抗菌药物的耐药率有很大差异,但绝大多数菌株对甲硝唑、万古霉素以及非达霉素仍呈敏感。通常流行株对红霉素、克林霉素和莫西沙星的耐药率较非流行菌株更高。艰难梭菌对甲硝唑和万古霉素的耐药机制仍不明确,对其他常用抗菌药物耐药主要为作用靶点改变所致。预期对艰难梭菌对甲硝唑等药物耐药机制的进一步研究将会为抗菌药物的研发提供新靶点和新思路。同时在临床上加强对艰难梭菌耐药性的监测,避免盲目使用广谱抗菌药物对于降低耐药艰难梭菌感染的发生和传播也极为重要。

### 参考文献

- [1] Collins DA, Hawkey PM, Riley TV. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Asia. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2013, 2(1): 21. [\[DOI\]](#)
- [2] Goorhuis A, Bakker D, Corver J, Debast SB, Harmanus C, Notermans DW, Bergwerff AA, Dekker FW, Kuijper EJ. Emergence of *Clostridium difficile* infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(9): 1162–1170. [\[DOI\]](#)
- [3] Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*-more difficult than ever. *N Engl J Med*, 2008, 359(18): 1932–1940. [\[DOI\]](#)
- [4] Huang HH, Wu S, Wang MG, Zhang YY, Fang H, Palmgren AC, Weintraub A, Nord CE. Molecular and clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in a University Hospital in Shanghai, China. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(12): 1606–1608. [\[DOI\]](#)
- [5] 陈云波, 吴微珍, 鲁海峰, 杨介钻, 王保红, 孔海深, 李兰娟. 艰难梭菌相关性腹泻患者 50 例临床特征及其病原菌耐药性分析. *浙江医学*, 2010, 32(11): 1632–1634, 1640. [\[DOI\]](#)
- [6] Wang P, Zhou YL, Wang ZQ, Xie S, Chen Y, Jiang B, Zhang T, Lin MY, Li RH, Tan JS. Identification of *Clostridium difficile* ribotype 027 for the first time in Mainland China. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2014, 35(1): 95–98. [\[DOI\]](#)
- [7] Owens RJ, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG, Muto CA. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(Suppl 1): S19–S31. [\[DOI\]](#)
- [8] Tickler IA, Goering RV, Whitmore JD, Lynn ANW, Persing DH, Tenover FC. Strain types and antimicrobial resistance patterns of *Clostridium difficile* isolates from the United States, 2011 to 2013. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(7): 4214–4218. [\[DOI\]](#)
- [9] Lachowicz D, Pituch H, Obuch-Woszczatynski P. Antimicrobial susceptibility patterns of *Clostridium difficile* strains belonging to different polymerase chain reaction ribotypes isolated in Poland in 2012. *Anaerobe*, 2014, 31: 37–41. [\[DOI\]](#)
- [10] Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, McFarland LV, Mellow M, Zuckerbraun BS. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(4): 478–498, 499. [\[DOI\]](#)
- [11] Peláez T, Alcalá L, Alonso R, Martín-López A, García-Arias V, Marín M, Bouza E. In vitro activity of ramoplanin against *Clostridium difficile*, including strains with reduced susceptibility to vancomycin or with resistance to metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(3): 1157–1159. [\[DOI\]](#)
- [12] Huang H, Fang H, Weintraub A, Nord CE. Distinct ribotypes and rates of antimicrobial drug resistance in *Clostridium difficile* from Shanghai and Stockholm. *Clin Microbiol Infect*, 2009, 15(12): 1170–1173. [\[DOI\]](#)
- [13] Huang HH, Weintraub A, Fang H, Wu S, Zhang YY, Nord CE. Antimicrobial susceptibility and heteroresistance in Chinese *Clostridium difficile* strains. *Anaerobe*, 2010, 16(6): 633–635. [\[DOI\]](#)
- [14] Roberts S, Heffernan H, Al Anbuky N, Pope C, Paviour S, Camp T, Swager T. Molecular epidemiology and susceptibility profiles of *Clostridium difficile* in New Zealand, 2009. *N Z Med J*, 2011, 124(1332): 45–51. [\[DOI\]](#)
- [15] Tenover FC, Tickler IA, Persing DH. Antimicrobial-resistant strains of *Clostridium difficile* from North America. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(6): 2929–2932. [\[DOI\]](#)
- [16] Liao CH, Ko WC, Lu JJ, Hsueh PR. Characterizations of clinical isolates of *Clostridium difficile* by toxin genotypes and by susceptibility to 12 antimicrobial agents, including fidaxomicin (OPT-80) and rifaximin: a multicenter study in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(7): 3943–3949. [\[DOI\]](#)
- [17] Kim J, Kang JO, Pai H, Choi TY. Association between PCR ribotypes and antimicrobial susceptibility among *Clostridium difficile* isolates from healthcare-associated infections in South Korea. *Int J Antimicrob Agents*, 2012, 40(1): 24–29. [\[DOI\]](#)
- [18] Goudarzi M, Goudarzi H, Alebouyeh M, Azimi Rad M, Shayegan Mehr FS, Zali MR, Aslani MM. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* clinical isolates in

- Iran. *Iran Red Crescent Med J*, 2013, 15(8): 704–711. [DOI]
- [19] Terhes G, Maruyama A, Latkóczy K, Szikra L, Konkoly-Thege M, Princz G, Nagy E, Urbán E. *In vitro* antibiotic susceptibility profile of *Clostridium difficile* excluding PCR ribotype 027 outbreak strain in Hungary. *Anaerobe*, 2014, 30: 41–44. [DOI]
- [20] 周芬芬, 吴滢, 徐少华, 黄海辉. 艰难梭菌临床分离株 5 年前后耐药性变化. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(2): 116–120. [DOI]
- [21] Reigadas E, Alcalá L, Marín M, Pelaéz T, Martín A, Iglesias C, Bouza E. In vitro activity of surotomycin against contemporary clinical isolates of toxigenic *Clostridium difficile* strains obtained in Spain. *J Antimicrob Chemother*, 2015. [DOI]
- [22] Waslawski S, Lo ES, Ewing SA, Young VB, Aronoff DM, Sharp SE, Novak-Weekley SM, Crist AE Jr, Dunne WM, Hoppe-Bauer J, Johnson M, Brecher SM, Newton DW, Walk ST. *Clostridium difficile* ribotype diversity at six health care institutions in the United States. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(6): 1938–1941. [DOI]
- [23] Peláez T, Sanchez R, Blazquez R, Catalan P, Munoz P, Bouza E. Metronidazole resistance in *Clostridium difficile*: a new emerging problem? In: Program and Abstracts of the 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Orlando, FL, 1994, Abstract E-34: 50. [DOI]
- [24] Peláez T, Alcalá L, Alonso R, Rodríguez-Crèixems M, García-Lechuz JM, Bouza E. Reassessment of *Clostridium difficile* susceptibility to metronidazole and vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46(6): 1647–1650. [DOI]
- [25] Peláez T, Cercenado E, Alcalá L, Marín M, Martín-López A, Martínez-Alarcón J, Catalán P, Sánchez-Somolinos M, Bouza E. Metronidazole resistance in *Clostridium difficile* is heterogeneous. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(9): 3028–3032. [DOI]
- [26] Baines S D, O'Connor R, Freeman J, Fawley WN, Harmanus C, Mastrantonio P, Kuijper EJ, Wilcox MH. Emergence of reduced susceptibility to metronidazole in *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 62(5): 1046–1052. [DOI]
- [27] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. 8th ed: Approved Standard. *CLSI document M11-A8*, Wayne, PA, USA, 2015. [DOI]
- [28] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoint tables, version 2.0. London: United Kingdom, 2012. [DOI]
- [29] Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(Suppl. 1): S16–S23. [DOI]
- [30] Lynch T, Chong P, Zhang J, Hizon R, Du T, Graham MR, Beniac DR, Booth TF, Kibsey P, Miller M, Gravel D, Mulvey MR; Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP). Characterization of a stable, metronidazole-resistant *Clostridium difficile* clinical isolate. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53757. [DOI]
- [31] Chong PM, Lynch T, McCorrister S, Kibsey P, Miller M, Gravel D, Westmacott GR, Mulvey MR; Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP). Proteomic analysis of a NAP1 *Clostridium difficile* clinical isolate resistant to metronidazole. *PLoS One*, 2014, 9(1): e82622. [DOI]
- [32] Dworzynski A, Sokół B, Meisel-Mikolajczyk F. Antibiotic resistance of *Clostridium difficile* isolates. *Cytobios*, 1991, 65(262–263): 149–153. [DOI]
- [33] Dong DF, Zhang LH, Chen X, Jiang C, Yu BQ, Wang XF, Peng YB. Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of clinical *Clostridium difficile* from a Chinese tertiary hospital. *Int J Antimicrob Agents*, 2013, 41(1): 80–84. [DOI]
- [34] Leeds J A, Sachdeva M, Mullin S, Barnes SW, Ruzin A. *In vitro* selection, via serial passage, of *Clostridium difficile* mutants with reduced susceptibility to fidaxomicin or vancomycin. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(1): 41–44. [DOI]
- [35] Goldstein EJC, Citron DM, Sears P, Babakhani F, Sambol SP, Gerding DN. Comparative susceptibilities to fidaxomicin (OPT-80) of isolates collected at baseline, recurrence, and failure from patients in two phase III trials of fidaxomicin against *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011, 55(11): 5194–5199. [DOI]
- [36] Seddon J, Sears P. Mutant prevention concentration of fidaxomicin for *Clostridium difficile*. In: Abstracts of the Fifty-second Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, USA, 2012. Abstract C1-1274. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA. [DOI]
- [37] Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis*, 2002, 34(4): 482–492. [DOI]
- [38] Huang HH, Weintraub A, Fang H, Nord CE. Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*. *Int J Antimicrob Agents*, 2009, 34(6): 516–522. [DOI]
- [39] 张泓, 吴文娟, 李万华, 倪语星. 肺炎链球菌对大环内酯类抗生素耐药机制研究. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(1): 15–19. [DOI]

- [40] Farrow KA, Lyras D, Rood JJ. Genomic analysis of the erythromycin resistance element Tn5398 from *Clostridium difficile*. *Microbiology*, 2001, 147(10): 2717–2728. [\[DOI\]](#)
- [41] Spigaglia P, Barbanti F, Mastrantonio P. Detection of a genetic linkage between genes coding for resistance to tetracycline and erythromycin in *Clostridium difficile*. *Microb Drug Resist*, 2007, 13(2): 90–95. [\[DOI\]](#)
- [42] Schmidt C, Löffler B, Ackermann G. Antimicrobial phenotypes and molecular basis in clinical strains of *Clostridium difficile*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, 59(1): 1–5. [\[DOI\]](#)
- [43] Sebaihia M, Wren BW, Mullany P, Fairweather NF, Minton N, Stabler R, Thomson NR, Roberts AP, Cerdeño-Tárraga AM, Wang HM, Holden MTG, Wright A, Churcher C, Quail MA, Baker S, Bason N, Brooks K, Chillingworth T, Cronin A, Davis P, Dowd L, Fraser A, Feltwell T, Hance Z, Holroyd S, Jagels K, Moule S, Mungall K, Price C, Rabinowitsch E, Sharp S, Simmonds M, Stevens K, Unwin L, Whithead S, Dupuy B, Dougan G, Barrell B, Parkhill J. The multidrug-resistant human pathogen *Clostridium difficile* has a highly mobile, mosaic genome. *Nat Genet*, 2006, 38(7): 779–786. [\[DOI\]](#)
- [44] Dong DF, Chen X, Jiang C, Zhang LH, Cai G, Han LZ, Wang XF, Mao EQ, Peng YB. Genetic analysis of Tn916-like elements conferring tetracycline resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile*. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 43(1): 73–77. [\[DOI\]](#)
- [45] Spigaglia P, Barbanti F, Mastrantonio P. Tetracycline resistance gene *tet(W)* in the pathogenic bacterium *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(2): 770–773. [\[DOI\]](#)
- [46] 王明贵. 喹诺酮类抗菌药的耐药性及质粒介导耐药机制. *中华医学杂志*, 2006, 86(9): 645–647. [\[DOI\]](#)
- [47] Oh H, Edlund C. Mechanism of quinolone resistance in anaerobic bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 2003, 9(6): 512–517. [\[DOI\]](#)
- [48] Ackermann G, Tang Y J, Kueper R, Heisig P, Rodloff AC, Silva J Jr, Cohen SH. Resistance to moxifloxacin in toxigenic *Clostridium difficile* isolates is associated with mutations in *gyrA*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(8): 2348–2353. [\[DOI\]](#)
- [49] Drudy D, Quinn T, O'Mahony R, Kyne L, O'Gaora P, Fanning S. High-level resistance to moxifloxacin and gatifloxacin associated with a novel mutation in *gyrB* in toxin-A-negative, toxin-B-positive *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 58(6): 1264–1267. [\[DOI\]](#)
- [50] Curry SR, Marsh JW, Shutt KA, Muto CA, O'Leary MM, Saul MI, William PA, Harrison LH. High frequency of rifampin resistance identified in an epidemic *Clostridium difficile* clone from a large teaching hospital. *Clin Infect Dis*, 2009, 48(4): 425–429. [\[DOI\]](#)
- [51] O'Connor JR, Galang MA, Sambol SP, Hecht DW, Vedantam G, Gerding DN, Johnson S. Rifampin and rifaximin resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(8): 2813–2187. [\[DOI\]](#)

(责任编辑: 谢建平)