

- 12 Fabregat A, Sidiropoulos K, Garapati P, *et al.* The Reactome pathway Knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44 (D1): D481 – D487
- 13 Wang J, Lu M, Qiu C, *et al.* TransmiR: a transcription factor – microRNA regulation database[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38 (Database issue): D119 – D122
- 14 Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, *et al.* Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(3): 431 – 432
- 15 Toss A, Cristofanilli M. Molecular characterization and targeted therapeutic approaches in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res*, 2015, 17: 60
- 16 Stolfi C, Marafini I, De Simone V, *et al.* The dual role of Smad7 in the control of cancer growth and metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(12): 23774 – 23790
- 17 Mouillesseaux KP, Wiley DS, Saunders LM, *et al.* Notch regulates BMP responsiveness and lateral branching in vessel networks via SMAD6[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13247
- 18 谢朝晖,陈兰英. 细胞骨架研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2011, 23(4): 315 – 318
- 19 赵敏,罗晨辉,王瑛,等. TRPM7 与肿瘤[J]. *中南大学学报:医学版*, 2016, 3: 333 – 337
- 20 Yee NS, Kazi AA, Yee RK. Cellular and Developmental Biology of TRPM7 Channel – Kinase: Implicated Roles in Cancer[J]. *Cells*, 2014, 3(3): 751 – 777
- 21 Yang J, Altahan A, Jones DT, *et al.* Estrogen receptor – alpha directly regulates the hypoxia – inducible factor 1 pathway associated with antiestrogen response in breast cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(49): 15172 – 15177
- 22 Sun L, Liu Y, Lin S, *et al.* Early growth response gene – 1 and hypoxia – inducible factor – 1alpha affect tumor metastasis via regulation of tissue factor[J]. *Acta Oncol*, 2013, 52(4): 842 – 851
- 23 Hamurcu Z, Ashour A, Kahraman N, *et al.* FOXM1 regulates expression of eukaryotic elongation factor 2 kinase and promotes proliferation, invasion and tumorigenesis of human triple negative breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13): 16619 – 16635
- 24 Elebro K, Borgquist S, Rosendahl A H, *et al.* High estrogen receptor beta expression Is prognostic among adjuvant chemotherapy – treated patients – results from a population – based breast cancer cohort[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 76(4): P5 – 08 – 27 – P5 – 08 – 27

(收稿日期:2017 – 02 – 10)

(修回日期:2017 – 04 – 03)

艰难梭菌感染 C57BL/6 小鼠模型的建立方法研究

吕 治 彭国丽 王保亚 苏建荣

摘 要 目的 建立 C57BL/6 小鼠抗菌药物诱导艰难梭菌感染模型,为更有效地认识人类艰难梭菌感染性疾病的发病机制及治疗措施提供依据。**方法** C57BL/6 小鼠经抗菌药物混合液预处理 3 天后,进行克林霉素腹腔注射。之后给予高、中、低浓度艰难梭菌 ATCC43255 悬液灌胃,建立艰难梭菌感染诱导肠损伤和结肠炎的 CDI 模型。观察小鼠的病死亡率,平均相对体重、结肠组织病理学评分和粪便艰难梭菌 A&B 毒素变化。**结果** 小鼠经抗菌药物处理和艰难梭菌灌胃后,出现腹泻,体重下降,粪便艰难 AB 毒素检测阳性。结肠病理切片可见炎性细胞浸润和组织坏死等结肠炎表现。随着灌胃菌液浓度的增加,小鼠症状越重,粪便毒素值越高。造模后存活下来的小鼠即使再次给予艰难梭菌灌胃也不再出现症状。**结论** C57BL/6 小鼠艰难梭菌感染模型与人类 CDI 病程变化相似,可进一步用于 CDI 防治措施的研究。

关键词 C57BL/6 小鼠 艰难梭菌 动物模型

中图分类号 R1 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.01.012

Established *Clostridium Difficile* Infected C57BL/6 Mouse Model. Lv Zhi, Peng Guoli, Wang Baoya, *et al.* Clinical Laboratory Center, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract Objective To established a CDI C57BL/6 mouse model for realize the mechanisms and treatments of CDI. **Methods** C57BL/6 mice were challenged with *C. difficile* strain VPI 10463 after treatment with an antibiotic cocktail. Disease activity index, mean relative weight, pathological scores and toxins A&B in stool samples were measured. **Results** After Intragastric administration with antibiotics and *C. difficile*, mice had signs of CDI, such as diarrhea, weight loss, positive test for feces AB toxins. Colon pathological visible inflammatory cells infiltration and tissue necrosis colitis. Disease severity varied from fulminant to minimal in accordance with the challenge

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30972819)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院检验科

通讯作者:100050 苏建荣,教授,博士生导师,电子邮箱:friendshiplab@sina.com

dose. Survived mice from an initial episode of CDAD showed no evidence of diarrhea or colitis after subsequent rechallenge with *C. difficile*. **Conclusion** C57BL/6 CDI mouse model is similar with human progression and can be further used to study the prevention and control of CDI.

Key words C57BL/6 mouse; *Clostridium difficile*; Animal model

目前, CDI 模型已在多种动物中造模成功, 包括仓鼠、豚鼠、兔、无菌小鼠和大鼠。现阶段最广泛使用的是仓鼠模型, 可由各种抗菌药物和艰难梭菌通过灌胃或只是暴露在艰难梭菌环境中引发。但有其缺陷, 比如 CDI 主要侵犯仓鼠的回肠和盲肠, 实验动物接触产毒菌株后发生腹泻症状并在 1~3 天内全部死于严重的急性结肠炎。这在人类的临床病程中是很少见的, 人类 CDI 是逐渐的发病而且几乎不发生死亡^[1]。而 C57BL/6 小鼠是使用最广泛的用作人类疾病模型的转基因近交系小鼠。本研究旨在建立类似人类 CDI 病程的艰难梭菌感染模型的方法, 用于 CDI 治疗及初次和二次疾病防治措施的研究^[2]。故本实验旨在探究 C57BL/6 小鼠做为难辨梭菌感染模型的可行性。

材料与方法

1. 材料: (1) 抗菌药物: 万古霉素 (vancomycin hydrochloride) 分析标准品, 纯度 99%, 分子式: $C_{66}H_{76}Cl_3N_9O_{24}$, 相对分子质量: 1485.7145, 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。卡那霉素 (kanamycin) 分析标准品, 纯度 98%, 分子式: $C_{18}H_{38}N_4O_{15}S$, 相对分子质量 582.58; 庆大霉素 (gentamicin), 分子式: $C_{21}H_{45}N_5O_{11}S$, 相对分子质量 547.6207; 多黏菌素 E (polymyxin E), 分子式: $C_{52}H_{100}N_{16}O_{17}S$, 相对分子质量: 1253.51; 甲硝唑 (metronidazole), 分子式: $C_6H_9N_3O_3$, 相对分子质量 171; 克林霉素 (Clindamycin), 分子式: $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, 相对分子质量: 424.98; 购自中国药品生物制品检定所。(2) 艰难梭菌 ATCC43255 - VPI10463 购自北京中原公司代理美国标准生物制品收藏中心 (ATCC)。(3) 粪便细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (QIAamp DNA Stool Mini Kit), 购自 QIAGEN 中国 (上海) 有限公司。(4) C57BL/6 小鼠, 无病原体立特 (Little) 艾比拉特洛坡小鼠株, 雄性, 黑色, 毛色基因为 aBCD。5~6 周龄, 符合无特定病原体 (SPF) 动物标准。小鼠购自北京中河实验动物技术有限公司, 小鼠在开始实验前先在常规饲养条件下稳定 1 周。(5) BD BACTEC FX 全自动培养系统, 美国 BD 公司产品。艰难梭菌 A&B 毒素检测设备: VIDAS 免疫分析系统, 法国生物梅里埃公司产品。

2. 抗菌药物混合液的配制: 用灭菌蒸馏水制备抗菌药物混合液: 卡那霉素 (0.4mg/ml)、庆大霉素 (0.035mg/ml)、多黏菌素 (850U/ml)、甲硝唑 (0.215mg/ml) 和万古霉素 (0.045mg/ml) 的混合液。

3. 艰难梭菌菌悬液制备: 艰难梭菌 ATCC43255, 接种于 BD 厌氧培养瓶中, 放入 BD BACTEC FX 全自动培养仪 37℃ 培养 24~48h, 配置不同浓度菌悬液, 0.5 麦氏浊度接种物相当于 $(1 \sim 4) \times 10^7$ CFU/ml 难辨梭菌。

4. 实验分组: 35 只 C57BL/6 小鼠进行实验分组: 5 只作为正常对照组: 正常饲料和饮水, 正常饲养条件, 不进行任何干预。30 只小鼠随机分成 3 组进行不同浓度 (高浓度 10^9 CFU/ml, 中浓度 10^8 CFU/ml, 低浓度 10^6 CFU/ml) 艰难梭菌菌悬液灌胃。小鼠灌胃后分成 2 试验组, 每组 5 只, 一组观察病死率, 检测毒素水平变化; 另一组处死取材结肠组织进行病理切片和病理分析。

5. CDI 造模流程: 将小鼠饮用水换成抗菌药物混合液连续 3 天给药, 之后恢复正常饮用水 2 天。在接受艰难梭菌菌液灌胃前 1 天, 给予单剂量克林霉素 (10mg/kg) 腹腔内注射^[3]。艰难梭菌菌悬液灌胃当日定为实验第 0 天, 小鼠灌胃剂量为 $10^6 \sim 10^9$ CFU/ml, 每只小鼠灌胃量 200μl/10g (图 1)。

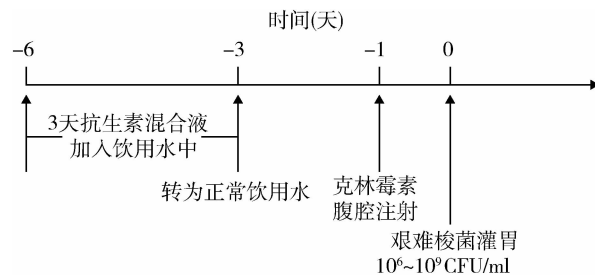


图 1 CDI 造模流程

6. 观察指标: 艰难梭菌菌悬液灌胃当日起, 连续 20 天监测小鼠状态, 每天观察小鼠疾病体征 (腹泻、蜷缩、立毛), 观察记录各项实验指标: (1) 病死率: 每日记录各组小鼠存活情况, CDI 小鼠病死率 (%) = 实验期间因 CDI 死亡的小鼠数量 / 同期发生 CDI 小鼠数 $\times 100\%$ 。(2) 平均相对体重 (MW): 平均相对体重

(%) = 各组存活小鼠每天平均体重/第 0 天灌胃前平均体重 $\times 100\%$ 。(3)粪便艰难梭菌毒素 A&B 检测:自实验第 0 天开始,每只小鼠每天采集 200mg 粪便标本进行艰难梭菌毒素 A&B 检测。使用 ELFA 技术(酶联荧光分析法)对粪便标本中的艰难梭菌毒素 A&B 采用 VIDAS 分析仪进行自动化的检测。如下所示公式计算:测试值 = 患者 RFV/标准 RFV(相对荧光值)。根据测试值对检测结果的解释如下: <0.13 为阴性; ≥ 0.13 且 <0.37 为可疑; ≥ 0.37 为阳性。(4)疾病活动指数:采用结肠炎评分系统,评分系统采用 0~4 分值见表 1。①体重下降:0 为无体重下降,1 为下降 1%~5%,2 为下降 5%~10%,3 为下降 10%~20%,4 为下降 $>20\%$;②粪便性状:0 为正常粪便,2 为稀便,4 为脱水状态;③粪便潜血试验:0 为阴性,2 为潜血阳性,4 为出血。(5)组织病理分析:①取材分 4 个试验阶段:第 1 阶段:在抗菌药物预

处理前,取小鼠正常结肠组织制做切片,其积分结果作为基础值。第 2 阶段:灌胃前阶段,在艰难梭菌悬液灌胃前取材,病理改变反映抗菌药物使用对小鼠结肠黏膜的影响。第 3 阶段:艰难梭菌灌胃 1~5 天后,病理改变反映艰难梭菌 A&B 毒素对结肠黏膜的损伤情况。第 4 阶段:存活小鼠在实验结束阶段,病理改变反映存活小鼠结肠黏膜的恢复情况;②制片结肠组织样本经甲醛溶液处理,石蜡包埋固定,制成 $6\mu\text{m}$ 厚切片,进行苏木精-伊红(HE)染色。病理切片由病理科医师进行读片和评估肠黏膜损伤和炎性反应;③读片 CDI 小鼠组织病理学评分标准分 13 个水平从 0~12,总积分为中性粒细胞的迁移和组织浸润;失血性充血、水肿;黏膜损伤状况;上皮细胞的损伤状况这 4 个指标的和。每个指标从 0~3 进行打分,0 分为无病变,1 分为轻度病变,2 分为中度病变和 3 分为严重病变^[9]。

表 1 小鼠结肠炎疾病活动指数评分表(分)

观察指标	0	1	2	3	4
体重下降	未下降	1%~5%	5%~10%	10%~20%	$>20\%$
粪便性状	正常	稀便	腹泻	严重腹泻	脱水
粪便潜血	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	出血
总分	1,2,3 项积分之和				
疾病活动指数 DAI	积分之和/3				

7. 治疗剂量与时间选择:(1)万古霉素治疗:根据 Warren 的文献报道,以万古霉素 $50\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 连续 5 天作为治疗方案,可对小鼠肠道菌群施加足够的干扰,造成艰难梭菌相关性腹泻的复发。(2)黄连素治疗。本研究选择黄连素溶液 $10\text{mg}/\text{ml}$ 灌胃,每只小鼠(按平均体重 20g 计算)用药量为 $100\text{mg}/\text{kg} \times 20\text{g} = 2\text{mg}$,则每只小鼠灌胃量为 $200\mu\text{l}$ 。

8. 统计学方法:采用 Kaplan - Meier 生存分析法对各组小鼠的生存率进行统计学比较。使用 Log - rank 检验对造模组、对照组进行统计学比较。疾病严重程度采用 Box - and - whisker plots 进行比较分析。非参数数据采用单因素方差分析(ANOVA),以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。标准差为至少 3 次独立测量获得。非配对 t - 检验用于确定平均值之间的差异是否具有统计学意义。

结 果

1. 平均相对体重变化(MW):(1)正常对照组小鼠体重逐日上升,至实验结束日(第 20 天)该组小鼠平均相对体重为 129%。(2)造模组小鼠在艰难梭菌

悬液灌胃后出现体重下降,平均相对体重在第 3 天达到最低水平为 76.8%。小鼠死亡或呈濒死状态,存活小鼠体重逐渐恢复。第 13 天,造模组小鼠平均相对体重回复到基线水平 100.1%。接受不同浓度菌悬液灌胃的小鼠体重变化差异无统计学意义,考虑与高浓度菌($10^9\text{CFU}/\text{ml}$)液灌胃小鼠死亡后不再计入本组小鼠体重变化有关^[5]。

2. 疾病活动指数(DAI):(1)正常对照组小鼠未见 CDI 症状,DAI 平均值为 0。(2)造模组小鼠经艰难梭菌灌胃后出现蜷缩、立毛、抽搐、腹泻等 CDI 症状。严重者呈现脱水状态,肛门周边沾有垫料,粪便不成形,有黏液自肛门流出。第 1 周末,高浓度菌液($10^9\text{CFU}/\text{ml}$)造模组小鼠 DAI 为 2.90 ± 0.15 ,80% 小鼠死亡或呈濒死状态。与此对应低浓度组小鼠除粪便毒素检测阳性和粪便不成型外,未见明显症状,DAI 为 1.70 ± 0.32 。

3. 小鼠病死率分析(CFR):(1)正常对照组未见异常,全部小鼠存活至实验结束日。(2)造模组小鼠经抗菌药物混合液和不同浓度艰难梭菌悬液灌胃后,

于实验第 1 天出现 CDI 症状,表现为蜷缩,腹泻等 CDI 症状。至第 3 天,高浓度菌液(10^9 CFU/ml)造模组 80% 的小鼠死亡或呈濒死状态。第 4 天,存活小鼠症状逐渐恢复,至第 20 天实验结束,存活小鼠均未再出现 CDI 症状。中浓度菌液(10^8 CFU/ml)造模组,小鼠病死率 30%,部分小鼠出现 CDI 症状。低浓度组(10^8 CFU/ml)未发生死亡,全部小鼠存活至实验结束。

4. 艰难梭菌毒素 A&B 检测(CDAB):(1)正常对照组小鼠,实验期间每日粪便艰难梭菌毒素 A&B 检测均为阴性,测定值 0.02 ~ 0.09,均 < 0.13 。(2)造模组小鼠,实验第 1 天,所有接受艰难梭菌菌液灌胃的小鼠粪便中均检测到艰难梭菌毒素 A&B。采用不同浓度菌液灌胃后,小鼠粪便的毒素水平存在较大差异:粪便毒素 A&B 测定值在第 1 天达到峰值(8.30 ± 0.15),此后连续 3 天未见明显下降,小鼠出现蜷缩,立毛,抽搐等体征并陆续死亡。至第 3 天,高浓度菌液造模组小鼠病死率为 80%。存活小鼠粪便毒素

A&B 水平均值在 14 天后逐渐降至 0.37 以下,至第 18 天降至 0.13 以下。

5. 结肠组织病理分析:(1)正常对照组小鼠结肠病理组织未见异常,病理积分 0。(2)艰难梭菌感染小鼠结肠组织的病理切片显示广泛的增生性溃疡性肠炎,黏膜表面上皮细胞坏死、炎性渗出液和坏死细胞物质进入到小肠腔内。广泛的黏膜下水肿而无黏膜炎症表现,这也见于人类艰难梭菌相关性结肠炎的病理变化^[6]。此外,镜下可见片状上皮坏死、黏膜增殖和炎性细胞、中性粒细胞浸润。小肠中可见到一致的轻度炎性病理变化。对各组小鼠不同浓度灌胃小鼠的病理组织切片积分进行比较显示,第 1 周末,造模组小鼠中高浓度菌液组小鼠组织病理积分最高(8.70 ± 0.60),其次为中浓度菌液组小鼠(6.20 ± 1.00),低浓度菌液组病理改变轻微,仅有少量炎性细胞浸润(3.20 ± 0.80)。

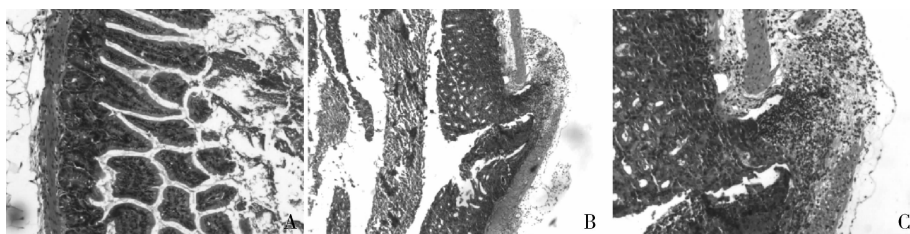


图 2 小鼠肠道组织病理学切片(HE, $\times 100$)

A. 正常对照组,正常结肠组织和腺体排列;B. 造模组,增生性溃疡性肠炎,表面上皮坏死和炎性渗出和坏死细胞碎片扩散至肠腔内;C. 濒死小鼠结肠组织,炎性细胞入侵肠壁全层并达到浆膜层,肠壁肌层断裂

讨 论

研究显示,几个因素影响小鼠 CDI 模型能否成功建立:首先,正常的肠道菌群可形成屏障对抗艰难梭菌的定植,因此需要足够的抗菌药物削弱正常菌群的保护作用^[7]。其次,CDI 小鼠的患病的严重程度与菌悬液的浓度及细菌产毒素的能力有关, $< 10^6$ CFU/ml 的细菌悬液灌胃不能引起引起显著腹泻症状和病理改变,毒素检测可在 3 ~ 5 天恢复正常。 $10^6 \sim 10^8$ CFU/ml 的细菌悬液灌胃,部分小鼠出现脱水、反应迟缓等严重症状和病理改变。 $> 10^8$ CFU/ml 高浓度菌悬液灌胃,所有小鼠出现症状,80% 小鼠呈现濒死状态。

本研究采用抗菌药物预处理和艰难梭菌灌胃的方法建立 CDI 小鼠模型。首先,用抗菌药物混合液破坏肠道菌群,导致小鼠肠道菌群失调,由于菌群失调造成对艰难梭菌入侵的定植耐受性下降,之后以不同浓度艰难梭菌菌悬液灌胃。通过病死率、平

均相对体重(MW)、疾病活动指数(DAI)、艰难梭菌毒素 A&B 水平、结肠病理积分等指标,评估该动物模型与人类 CDI 疾病的匹配性。艰难梭菌毒素 A&B 是该菌的主要致病物质,也是 CDI 诊断的重要依据。

本研究显示所有接受艰难梭菌菌液灌胃的小鼠粪便中均检测到毒素 A&B,结合小鼠结肠病理损伤和症状体征变化显示,C57BL/6 小鼠的 CDI 模型符合人类 CDI 疾病的病程变化^[8]。合适的 CDI 动物模型为进一步研究人类 CDI 疾病的防治提供了有效的途径^[9]。

参考文献

- 1 Phillips JA, Hammond S. Clostridium difficile Infection[J]. Workplace Health Saf, 2017, 65(4):180
- 2 Cecil JA. Clostridium difficile: changing epidemiology, treatment and infection prevention measures[J]. Curr Infect Dis Rep, 2012, 14: 612 - 619

(下转第 52 页)

的增高并不利于 BMI 正常值的维持,可能与干果多为高脂肪食物,热量较多有关。

无论在发达国家还是在发展中国家,超重和肥胖都是必须面对的健康问题,超过正常体重越多,各类慢性病的发生率和病死率也愈高^[13]。本研究仅对湖北地区老年居民体重指数与饮食习惯之间的差异进行分析,尚未考虑不同生活习惯和运动方式对老年人体重指数的影响,在今后的研究中应更加完善,但本研究的结果发现,湖北省老年居民的超重和肥胖的发生率较高,应当予以高度警惕,通过对体重指数与饮食习惯的相关性分析,公共卫生与健康相关工作者应大力宣传适宜湖北省老年居民的营养膳食,鼓励老年人进行运动和锻炼,保持饮食和能力摄入平衡,养成良好的生活方式,对老年居民超重和肥胖予以控制,以降低发生罹患疾病的风险。

参考文献

- 1 陈国良,郑庆虎,孙静,等. 老年人肥胖与慢性肾脏病的相关性[J]. 中华高血压杂志, 2016, 24(1):44-49
- 2 李芳,李长风,郭燕,等. 武汉市老年人超重肥胖流行特征与常见慢性疾病的关系[J]. 中华疾病控制杂志, 2016, 20(11):1092-1094
- 3 Guthle M, Dollinger MM. Epidemiology and risk factors of hepatocellular carcinoma [J]. Der Radiol, 2014, 54(7):654-659
- 4 王體湘,樊萌语,余灿清,等. 中国成年人体质指数与主要慢性病死亡风险的前瞻性研究[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(2):205-211
- 5 郭跃辉,张文颖. 体质量指数和肿瘤关系的临床研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(22):3416-3418
- 6 刘娟,张琰,刘炜,等. 湖北地区城乡生活方式对心血管病的影响[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(1):58-61

- 7 联合国国际人口学会. 人口学词典[M]. 北京:商务印书馆, 1992: 10
- 8 陈蕾,杨凤翔,冯晓敏,等. 老年社区护理服务模式研究进展[J]. 护理研究, 2014, 28(8):899-902
- 9 梁惠,葛声,马爱国,等. 不同老年人群营养状况调查[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(11):1370
- 10 王学屏,陈瑞鹏,邢朝云,等. 农村老年人日常饮食营养调查[J]. 中国老年学, 2016, 36(16):4077-4078
- 11 Wormser D, Kaptoge S, Di AE, *et al.* Separate and combined associations of body - mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies[J]. Lancet, 2011, 377(9771):1085-1095
- 12 李晓燕,姜勇,胡楠,等. 2010 年我国成年人超重及肥胖流行特征[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(8):683-686
- 13 宋毅,龚晨睿,李骏,等. 湖北省中老年人居民体质指数的动态变化研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 20(2):31-33
- 14 Sikorski C, Lupp M, Weyerer S, *et al.* Obesity and associated lifestyle in a large sample of multi - morbid German primary care attendees [J]. PLoS One, 2012, 9(7):e102587
- 15 赵楠,杨倩,汤旭磊,等. 兰州市社区中老年人超重和肥胖的现况调查[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2016, 10(13):1951-1956
- 16 Juonala M, Magnussen CG, Raitakari OT. Parental smoking produces long - term damage to vascular function in their children[J]. Curr Opin Cardiol, 2013, 28(5):569-574
- 17 孙佩伟,李运田,宋成运,等. 运动康复对老年稳定性冠心病患者危险因素의长期随访研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(5):491-495
- 18 孙建,王方明,朱笑夏,等. 河南漯河地区中老年人人群类风湿关节炎危险因素调查[J]. 中华老年医学杂志, 2017, 36(1):93-96
(收稿日期:2017-04-28)
(修回日期:2017-05-03)

(上接第 47 页)

- 3 Lawley TD, Young VB. Murine models to study Clostridium difficile, infection and transmission[J]. Anaerobe, 2013, 24(12):94-97
- 4 Howerton A, Patra M, Abel - Santos E. A new strategy for the prevention of clostridium difficile infection[J]. Infect Dis, 2013, 207:1498-1504
- 5 Sun X, Wang H, Zhang Y, *et al.* Mouse relapse model of Clostridium difficile infection[J]. Infect Immunity, 2011, 79:2856-2864
- 6 Tao Wang, MD, Larissa Matukas, *et al.* Histologic findings and clinical characteristics in acutely symptomatic ulcerative colitis patients with superimposed clostridium difficile infection [J]. Am J Clin Pathol, 2013, 140(6):831-837

- 7 Reeves AE, Theriot CM, Bergin IL, *et al.* The interplay between microbiome dynamics and pathogen dynamics in a murine model of clostridium difficile infection[J]. Gut microbes, 2011, 2:145-158
- 8 Bricker E, Garg R, Nelson R, *et al.* Antibiotic treatment for clostridium difficile - associated diarrhea in adults[J]. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2017, 14(9):CD004610
- 9 Lübbert C, John E, von Müller L. Clostridium difficile infection: guideline - based diagnosis and treatment [J]. Deutsches Ärzteblatt Int, 2014, 111(43):723-731
(收稿日期:2017-06-28)
(修回日期:2017-07-13)