

فراوانی نسبی کلستریدیوم دیفسیل در مدفوع بیماران مبتلا به اسهال به وسیله روش ELISA

محمد رضا نصری^۱، دکتر فرزین خوروش^۲، دکتر محمدرضا ذوالفقاری^۳، سینا مباشری زاده^۴

چکیده

مقدمه: کلستریدیوم دیفسیل عامل اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک و کولیت با غشای کاذب می‌باشد. در این تحقیق فراوانی نسبی توکسین کلستریدیوم دیفسیل در مدفوع بیماران مبتلا به اسهال بستری در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان به روش ELISA تعیین شد.

روش‌ها: در یک مطالعه‌ی توصیفی تحلیلی که در سال ۱۳۸۸ بر روی ۱۶۲ بیمار بستری مبتلا به اسهال در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان انجام گردید، نمونه‌ی مدفوع بیمارانی که در بیمارستان بستری بودند و به دنبال مصرف آنتی‌بیوتیک دچار اسهال شده بودند، جمع‌آوری شد و با انجام آزمایش ایمونواسی بر پایه‌ی واکنش آنزیمی (Enzyme-linked immunosorbent assay یا ELISA) وجود دو توکسین A و B مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری χ^2 مورد آنالیز قرار گرفت و $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از تعداد ۱۶۲ بیمار مورد بررسی، ۳۶ مورد (۲۲/۲ درصد) توکسین کلستریدیوم دیفسیل فعال شده در مدفوع داشتند. نسبت مردان مبتلا به زنان بیشتر بود ($P < 0/005$). همچنین اطفال زیر ۴ سال، درصد قابل ملاحظه‌ای از بیماران آلوده به کلستریدیوم دیفسیل را تشکیل می‌دادند.

نتیجه‌گیری: مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف، تأثیر بسزایی در افزایش شیوع این ارگانسیم داشته است. بنابراین لزوم تشکیل کمیته‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک در مراکز درمانی به منظور کاهش و بهینه‌سازی مصرف آنتی‌بیوتیک در این مراکز مشهود است.

واژگان کلیدی: کلستریدیوم دیفسیل، اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک، توکسین A و B

مقدمه

بزرگ‌ترین توکسین‌های پلی‌پپتیدی باکتریایی هستند که تاکنون شناخته شده‌اند. گونه‌های پاتوژن هر دو نوع توکسین را به طور یکسان و برابر تولید می‌کنند (۵). توکسین A خاصیت آنروتوکسینی دارد و باعث تخریب سلول‌های اپی‌تلیال روده می‌شود و این عمل را از طریق اتصال به گیرنده‌های کربوهیدراتی در سطح سلول‌های اپی‌تلیال روده انجام می‌دهد. توکسین B به سلول‌های اپی‌تلیال متصل نمی‌شود و فعالیت آنروتوکسینی ندارد بلکه خاصیت سایتوتوکسینی دارد

کلستریدیوم دیفسیل یک باکتری اسپوردار گرم مثبت و بی‌هوازی می‌باشد. این باکتری یکی از عوامل مهم در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی است و عامل اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک و کولیت همراه با غشای کاذب است (۴-۱). این باکتری دو نوع توکسین به نام‌های توکسین A و B تولید می‌کند که عامل بیماری هستند (۵). توکسین A با وزن مولکولی ۳۰۸ کیلودالتون و توکسین B با وزن مولکولی ۲۷۰ کیلودالتون از

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۲۸۸۱۷۷ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم است.

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

^۲ دانشیار، گروه و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۳ استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

^۴ کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مورد شیوع این باکتری در بیمارستان راهی در جهت کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک به دست آوریم.

روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۸۸ در یک دوره ۵ ماهه (از آبان تا اسفند ۱۳۸۸) در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان بر روی تعداد ۱۶۲ بیمار که حداقل ۲ تا ۴ روز در بخش‌های اطفال، داخلی و مراقبت ویژه ICU یا Intensive care (unit) بستری بودند و آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند و مبتلا به اسهال شده بودند، انجام گرفت.

بعد از این که نمونه‌ی اسهال بیماران به داخل قوطی انتقال داده شد، درب آن را بسته و تحت شرایط سرد به فریزر در دمای ۱۸- درجه‌ی سانتی‌گراد انتقال و نگهداری کردیم. از این بیماران پرسش‌نامه‌ای شامل جنس، سن، مدت بستری، نوع و طول مدت آنتی‌بیوتیک مصرفی و همچنین بخش بستری تکمیل شد. زمانی که نمونه‌ها جهت انجام آزمایش ELISA به حد نصاب رسید، نمونه‌ها را از فریزر خارج کردیم و در دمای آزمایشگاه قرار دادیم تا دمای نمونه‌ها با دمای آزمایشگاه یکسان شود. سپس نمونه‌ها را شیکر کردیم تا یکنواخت گردید و جهت انجام آزمایش ELISA آماده شد. بعد از انجام آزمایش ELISA (Generic assays آلمان)، OD (Optical density) را در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده، نتیجه را ثبت کردیم.

برای تعیین کیفی آنتی‌ژن کلستریدیوم دیفسیل از روش ELISA استفاده شد که هر دو توکسین A و B را مشخص می‌نماید (۱۰، ۸). در این روش از آنتی‌بادی مونوکلونال و پلی‌کلونال در برابر هر دو توکسین استفاده می‌شود. توکسین‌های کلستریدیوم دیفسیل (به عنوان

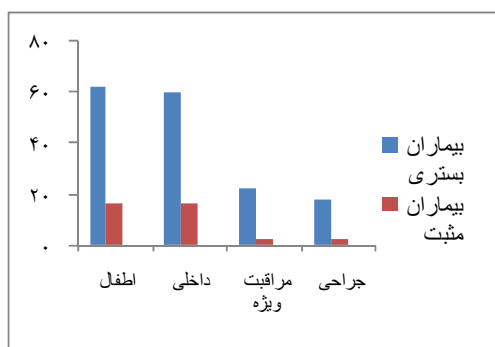
(۵). استفاده از بتا لاکتام‌های وسیع‌الطیف باعث تغییر در فلور طبیعی روده و افزایش رشد کلستریدیوم دیفسیل می‌شود. اولین مرحله‌ی عفونت، اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال روده است. تحت تأثیر برخی عوامل ژن‌هایی در باکتری فعال می‌شود که باعث فعال شدن فاکتورهای چسبندگی می‌شوند. این فاکتورهای چسبندگی همان پروتئین‌های سطح سلولی شامل Cwp 66، Fbp 68 و یک پروتئین به نام Cwp 84 و یکی از دو پروتئین S layer به نام P 47 و همچنین پروتئین فلاژلا به نام FLi D هستند که در اتصال و چسبندگی باکتری به سلول‌های اپی‌تلیال روده نقش دارند (۶).

جهت تشخیص کلستریدیوم دیفسیل و شناسایی توکسین A و B در بیماران بستری که آنتی‌بیوتیک دریافت کرده و مبتلا به اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک و کولیت کاذب شده‌اند، از آزمایش ایمونواسی بر پایه‌ی واکنش آنزیمی (Enzyme-linked immunosorbent assay یا ELISA) استفاده می‌شود. آزمایش ELISA توکسین‌های A و B را به صورت کیفی در نمونه‌های بیماران بستری در بیمارستان شناسایی می‌کند (۸-۷). البته در سال‌های اخیر، یک سویه‌ی جدید به نام NAP1/B1/027 در افزایش بیماری‌زایی مؤثر شناخته شده است که نسبت به داروهای فلوروکوئینولون مقاوم می‌باشد (۹).

نظر به اهمیت این بیماری که سبب افزایش مدت بستری و هزینه‌ی درمان و همچنین احتمال بروز نکروز روده و حتی پریتونیت ثانویه و مرگ می‌شود، در این تحقیق بر آن شدیم تعداد و درصد افراد بستری در بیمارستان که آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند و به دلیل دریافت آنتی‌بیوتیک، کلستریدیوم دیفسیل در آن‌ها فعال و مبتلا به اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک شده بودند را مورد بررسی قرار دهیم تا ضمن تأکید به پرسنل بیمارستان در

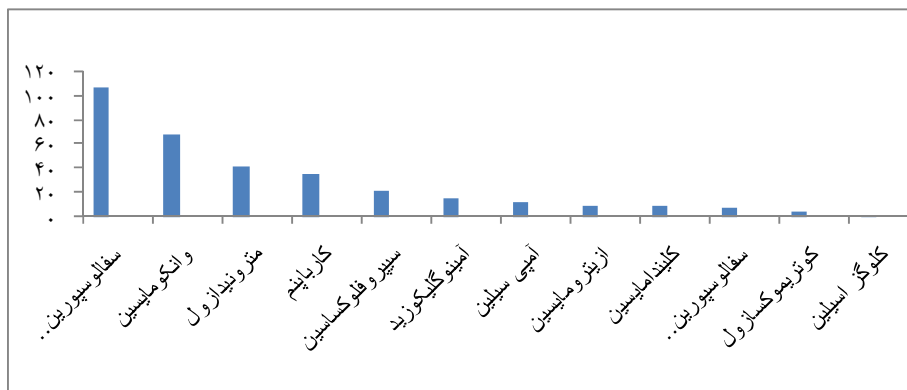
A و B بودند. همچنین ۲۴ نفر (۶۶/۵ درصد) از افرادی که آزمایش آن‌ها مثبت بود مرد و ۱۲ نفر (۳۳/۵ درصد) زن بودند.

تعداد کل بیماران بستری مبتلا به اسهال به تفکیک بخش و تعداد بیمارانی که به آزمایش ELISA جواب مثبت نشان دادند و دارای توکسین کلستریدیوم دیفسیل بودند، به تفکیک بخش در نمودار ۱ آمده است.



نمودار ۱. تعداد کل بیماران بستری مبتلا به اسهال و تعداد بیمارانی که به آزمایش ELISA جواب مثبت نشان دادند و دارای توکسین کلستریدیوم دیفسیل مثبت، به تفکیک بخش بستری در بیمارستان الزهراء (س) اصفهان در سال ۱۳۸۸

تعداد بیماران مبتلا به اسهال و نوع آنتی‌بیوتیک مصرفی در کل بیماران مبتلا به اسهال مورد مطالعه در نمودار ۲ و بر حسب نوع آنتی‌بیوتیک در بیمارانی دارای توکسین مثبت، در نمودار ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۲. تعداد بیماران و نوع آنتی‌بیوتیک مصرفی در کل بیماران مبتلا به اسهال مورد مطالعه

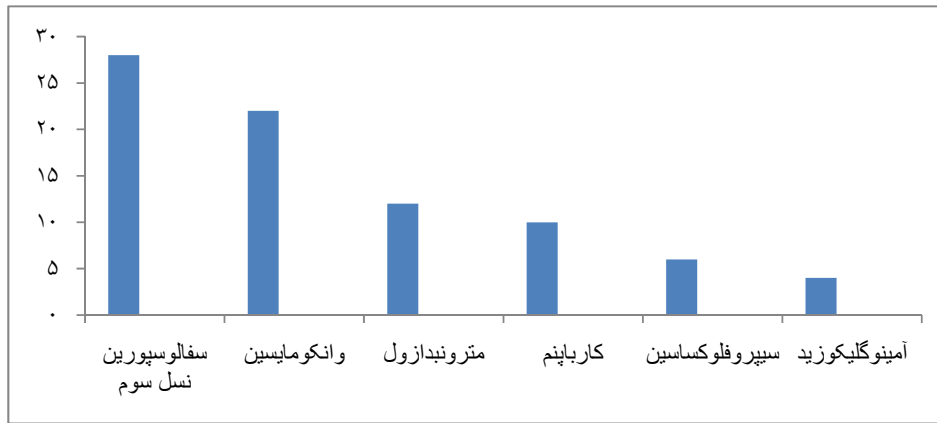
آنتی‌ژن) که در نمونه‌ی مدفوع فرد بیمار وجود دارد و آنتی‌ژن موجود در کنترل مثبت، با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که در کف میکروپلیت در فاز جامد کت شده‌اند، واکنش نشان می‌دهد (۸، ۱۰).

اطلاعات به دست آمده وارد نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) شد و در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

پژوهش حاضر، در یک دوره‌ی ۵ ماهه (از آبان تا اسفند ۱۳۸۸) بر روی بیماران بستری در بخش‌های مختلف بیمارستان الزهراء (س) اصفهان که همگی آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند و سپس به اسهال مبتلا شده بودند، انجام گرفت.

از تعداد ۱۶۲ بیمار بستری در بخش‌های اطفال و داخلی و ICU و جراحی در بیمارستان الزهراء (س)، ۳۶ بیمار (۲۲/۲ درصد) به آزمایش ELISA جواب مثبت دادند؛ یعنی کلستریدیوم دیفسیل در آن‌ها فعال شده، تولید توکسین A و B کرده و باعث اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک شده بود. در ۱۲۶ بیمار (۷۷/۸ درصد) آزمایش EIISA منفی نشان داده شد، یعنی فاقد توکسین



نمودار ۳. تعداد بیماران و نوع آنتی‌بیوتیک مصرفی در موارد مثبت به توکسین کلستریدیوم دیفسیل در بیماران مورد مطالعه

بحث

استفاده و درمان با این نوع آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف باید به وسیله‌ی پزشک و در نهایت دقت انجام گیرد. علاوه بر این قبل از تجویز، نوع باکتری ایجاد کننده‌ی عفونت اولیه و آزمایش آنتی‌بیوگرام جهت تعیین مؤثرترین آنتی‌بیوتیک باید انجام پذیرد.

در این تحقیق بیشترین درصد ابتلا به اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک در اطفال مشاهده گردید. بررسی‌های پیشین در مورد رژیم دارویی برای درمان اطفال، استفاده‌ی بی‌رویه و فراوان از آنتی‌بیوتیک را نشان داده است؛ بر اساس تحقیقات در کشورهای پیشرفته بالاترین آمار ابتلا به اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک در افراد بالای ۶۵ سال می‌باشد (۱۷-۱۵)؛ در صورتی که در این تحقیق، بالاترین آمار مربوط به مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک در بخش‌های اطفال بود. در این تحقیق نشان داده شد که درصد مردان مبتلا به اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک بیشتر از زنان بود؛ در صورتی که بر اساس تحقیقات در کشورهای پیشرفته درصد زنان از مردان بیشتر می‌باشد (۱۷-۱۵).

این گونه استنباط می‌شود که بدون انجام کشت و آزمایش آنتی‌بیوگرام جهت نابودی هر گونه میکروبی که باعث ایجاد عفونت اولیه شده است، به طور همزمان

عفونت روده یکی از موارد شایع از انواع عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف باعث پیدایش سویه‌های مقاوم بیمارستانی شده است. این سویه‌ها به راحتی در بخش‌های مختلف مراکز درمانی منتشر می‌شوند و باعث ایجاد عفونت‌های بیمارستانی در میان بیماران می‌شود. از آن جا که آنتی‌بیوتیک‌ها در بیشتر بخش‌های بیمارستان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک در بخش‌های مختلف مراکز درمانی مشاهده می‌شود، ولی بیشترین شیوع آن، طبق تحقیق فوق در بخش‌های اطفال، داخلی، مراقبت ویژه و جراحی بود. در مطالعه‌ی حاضر در ۲۲/۲ درصد موارد، آزمایش ELISA مثبت بود. این بیماران بیمارانی بودند که حداقل ۲ الی ۴ روز در بخش بستری بودند و آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند. در سایر مطالعات یکی از مهم‌ترین داروهای ایجاد کننده‌ی عفونت کلستریدیوم دیفسیل، کلیندامایسین بود (۱۴-۱۱)، ولی در این تحقیق مشخص شد که مهم‌ترین دارویی که باعث ایجاد عفونت کلستریدیوم دیفسیل شد، سفالوسپورین نسل ۳ بود. بنابراین

چندین نوع آنتی‌بیوتیک تجویز می‌شود که یکی از عوارض آن، ایجاد اسهال همراه با آنتی‌بیوتیک بود.

از مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات مرتبط (۱۷-۱۰) چنین استنباط می‌شود که مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف نظیر سفالوسپورین نسل ۳ تأثیر بسزایی در افزایش شیوع این ارگانیزم داشته است، بنابراین لزوم تشکیل کمیته‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک در مراکز درمانی به منظور بهینه‌سازی مصرف آنتی‌بیوتیک مشهود می‌باشد. انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب رابطه‌ی زیادی به نوع پاتوژن، الگوهای حساسیت آنتی‌بیوتیکی، مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیک، مدل فارماکو کینتیک دارو، میزان تحمل دارو و ایمنی آن دارد. درمان تجربی عفونت‌های مقاوم به دارو تنها باعث افزایش هزینه‌ها، عوارض جانبی برای بیمار و به خطر افتادن جان بیمار می‌شود. درمان موفقیت‌آمیز عفونت‌ها با داروهای مناسب در دوزهای کافی باعث کاهش سمیت وابسته به آنتی‌بیوتیک نیز در بیماران می‌شود. اهمیت شروع درمان مناسب با عوامل ضد میکروبی و چگونگی درمان مناسب توسط عوامل ضد میکروبی صحیح با دوزهای مناسب در پنجمین کنگره‌ی بین‌المللی انجمن عفونت‌های بیمارستانی در Edinburgh مورد بحث و بررسی قرار گرفت. در این کنگره تعریف درمان مناسب به درمانی گفته شد که کارایی مناسبی بر روی عامل ایجاد کننده‌ی عفونت بیمارستانی داشته باشد و در مقابل درمان نامناسب درمانی است که باعث مقاومت میکروارگانیزم و عدم کارایی آنتی‌بیوتیک مورد استفاده گردد. با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات انجام گرفته در ایران و کشورهای دیگر، تشابهات و اختلافات به نسبت زیادی در مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌های ایجاد کننده‌ی عفونت مشاهده گردیده است. این مسأله بیشتر

به شرایط منطقه‌ای، جغرافیایی مکان مورد مطالعه و همچنین سلاقی انتخاب دارو و مصرف بی‌رویه‌ی داروهای وسیع‌الطیف ارتباط داشته است. به همین دلیل کلیه‌ی مراکز درمانی باید دارای سیاست‌های مدون و برنامه‌های مناسب جهت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها باشند. هدف از این کار اطمینان از تجویز مناسب، مؤثر و اقتصادی آنتی‌بیوتیک‌ها جهت پیش‌گیری از ایجاد میکروارگانیزم‌های مقاوم و کاهش انتشار آن‌ها می‌باشد. بنابراین این سیاست‌ها به صورت پیشنهاد باید در کمیته‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در هر بیمارستان ارایه شود: هر نوع مصرف آنتی‌بیوتیک باید بر اساس تشخیص کلینیکی عفونت باکتریال و نوع میکروارگانیزم جدا شده باشد، انتخاب نوع آنتی‌بیوتیک باید بر اساس نوع بیماری و عوامل عفونی و الگوی حساسیت آن‌ها، مقاومت بیمار و هزینه‌ی درمان انجام گیرد، پزشکان باید اطلاعات مناسبی درباره‌ی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دسترس داشته باشند، آنتی‌بیوتیک انتخابی باید حتی‌المقدور دارای طیف محدود باشد، تا حد امکان از ترکیب دو یا چند آنتی‌بیوتیک استفاده نشود، آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی باید زمان مصرف محدود داشته باشند، دوز مناسب آنتی‌بیوتیک باید تجویز شود و به طور کلی یک دوره‌ی تجویز آنتی‌بیوتیک باید دارای زمان محدود ۵ تا ۱۴ روز بر اساس نوع عفونت باشد. به عنوان یک قانون کلی اگر یک آنتی‌بیوتیک ۳ روز پس از شروع درمان مؤثر نباشد باید مصرف آن قطع گردد و شرایط کلینیکی بیمار دوباره ارزیابی شود.

همچنین آزمایشگاه باید کلیه‌ی مراحل جداسازی، تشخیص، آنتی‌بیوگرام و گزارش‌ها را بر اساس استانداردهای موجود انجام دهد تا گروه‌های بالینی بتوانند از نتایج حاصل استفاده‌ی علمی و کاربردی ببرند.

References

1. Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC. *Diagnostic Microbiology*. 8th ed. Washington: The C.V Mosby Company; 1990.
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997.
3. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1986.
4. Joklik WK. *Zinsser microbiology*. 20th ed. Norwalk, Conn.: Appleton & Lange; 1995.
5. Mani N, Lyras D, Barroso L, Howarth P, Wilkins T, Rood JI, et al. Environmental response and autoregulation of *Clostridium difficile* TxeR, a sigma factor for toxin gene expression. *J Bacteriol* 2002; 184(21): 5971-8.
6. Deneve C, Delomenie C, Barc MC, Collignon A, Janoir C. Antibiotics involved in *Clostridium difficile*-associated disease increase colonization factor gene expression. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 6): 732-8.
7. Novak-Weekley SM, Hollingsworth MH. Comparison of the premier toxin A and B assay and the TOX A/B II assay for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15(3): 575-8.
8. Nguyen VK, Rihn B, Heckel C, Bissere F, Girardot R, Monteil H. Enzyme immunoassay (ELISA) for detection of *Clostridium difficile* toxin B in specimens of faeces. *J Med Microbiol* 1990; 31(4): 251-7.
9. Hookman P, Barkin JS. *Clostridium difficile* associated infection, diarrhea and colitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15(13): 1554-80.
10. Alcalá L, Sánchez-Cambronero L, Catalan MP, Sánchez-Somolinos M, Peláez MT, Marin M, et al. Comparison of three commercial methods for rapid detection of *Clostridium difficile* toxins A and B from fecal specimens. *J Clin Microbiol* 2008; 46(11): 3833-5.
11. Manabe YC, Vinetz JM, Moore RD, Merz C, Charache P, Bartlett JG. *Clostridium difficile* colitis: an efficient clinical approach to diagnosis. *Ann Intern Med* 1995; 123(11): 835-40.
12. Bacci S, St-Martin G, Olesen B, Bruun B, Olsen KE, Nielsen EM, et al. Outbreak of *Clostridium difficile* 027 in North Zealand, Denmark, 2008-2009. *Euro Surveill* 2009; 14(16).
13. Trudel JL. *Clostridium difficile* Colitis. *Clin Colon Rectal Surg* 2007; 20(1): 13-7.
14. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46(Suppl 1): S12-S18.
15. Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, et al. The Changing Epidemiology of *Clostridium difficile* Infections. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(3): 529-49.
16. Taslim H. *Clostridium difficile* infection in the elderly. *Acta Med Indones* 2009; 41(3): 148-51.
17. Ananthakrishnan AN, Issa M, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am* 2010; 94(1): 135-53.

The Relative Frequency of Clostridium Difficile in Fecal Samples of Hospitalized Patients with Diarrhea by ELISA Method

Mohammad Reza Nasri¹, Farzin Khorvash MD², Mohammad Reza Zolfaghari MD³,
Sina Mobasherizadeh MSc⁴

Abstract

Background: The present study was conducted to evaluate the relative frequency of Clostridium difficile (C. difficile) in patients at a university hospital, Isfahan, Iran.

Methods: This descriptive, analytic study was conducted on 162 patients hospitalized in various wards of Alzahra Hospital (an 800-bed teaching hospital) of Isfahan during October 2009 to March 2010. Fecal samples of patients who suffered from diarrhea after receiving antibiotics were collected. Microbial analysis was performed to determine the existence of C. difficile. C. difficile toxins (A and B) were detected by ELISA method. The obtained data was statistically analyzed using chi-square test in SPSS at a significance level of $P < 0.05$.

Findings: C. difficile toxins were detected in 36 (22.2%) patients. The frequency of toxins occurrence was significantly higher in men ($P \leq 0.005$). In addition, a large number of individuals infected by C. difficile toxins were children under 4 years of age. Ceftriaxone caused many cases of diarrhea in our studied population.

Conclusion: In general, based on our results, wrong prescription and antibiotics abuse can cause infection with C. difficile in patients receiving antibiotics. Therefore, the physicians must pay more attention to the recovery of patients with antibiotics.

Keywords: Clostridium difficile, Antibiotic-associated diarrhea, Toxin A and B.

* This paper is derived from a MSc thesis No. 288177 in Islamic Azad University Qom Branch.

¹ MSc Student, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

² Associate Professor, Department of Infectious Diseases and Infectious Diseases Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

⁴ Department of Microbiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Farzin Khorvash MD, Email: khorvash@med.mui.ac.ir