بررسی ارتباط توکسین میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل و عود بیماری کولیت اولسروز

وحید محمودی، بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه تهران
دکتر فریده سیاوشی، بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه تهران
دکتر قدرت‌اله منتظری، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، بیمارستان دکتر شریعتی
دکتر ناصر دریانی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، بیمارستان دکتر شریعتی
دکتر رضا ملک‌زاده، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، بیمارستان دکتر شریعتی

Relation of Clostridium Difficile Toxin and Acute Exacerbation of Ulcerative Colitis

ABSTRACT

Clostridium difficile toxin was checked in fecal extract of 62 ulcerative colitis patients and 62 normal controls, by Elisa and cell culture methods.

Clostridium difficile toxin was found in 48.71 percent of ulcerative colitis patients in their acute exacerbations, and in 26.08 percent of cases in their remissions. This toxin was found in the fecal extract of only 3 percent of normal controls. Chi-2 analysis showed that the differences between normal individuals and patients with ulcerative colitis were significant ($P<0.001$), but these differences between two groups of ulcerative colitis patients either with exacerbations or in remissions were not significant ($P> 0.05$).

Key Words: Clostridium Difficile; Toxin; Ulcerative Colitis

چکیده

وجود توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل با روشهای کشت سلولی و الیزا (ELISA) در عصاره مدفوع ۶۲ بیمار کولیت اولسروز و ۶۲ فرد طبیعی مطالعه شد. ۴۸/۷۱٪ بیماران با عود کولیت اولسروز و ۲۶/۰۸٪ بیماران کولیت اولسروز بدون عود، توکسین مثبت بودند. در صورتی که فقط ۳٪ عصاره مدفوع افراد سالم از نظر توکسین مثبت بودند. آزمون χ^2 نشان داد که اختلاف بین بیماران و افراد سالم از نظر توکسین مثبت، معنی‌دار بود ($P< ۰/۰۰۱$)، ولی این اختلاف بین دو گروه بیماران کولیت اولسروز با عود و بدون عود معنی‌دار نبوده است ($P> ۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: کلستریدیوم دیفی‌سل؛ توکسین؛ کولیت اولسروز

مقدمه

میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل، باسیل گرم مثبت و بی‌هوازی است و در شرایطی قادر به تولید اسپور نیز می‌باشد(۱). کشت و توصیف این باکتری برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ توسط هال واتول در مدفوع نوزادان انجام شد(۲). این میکروب در مدفوع ۷۰ درصد نوزادان، سه درصد افراد نرمال و تا صددرصد بیماران اسهالی با زمینه مصرف آنتی‌بیوتیک یافت می‌شود(۳). از سال ۱۹۷۸ که رابطه بین کلستریدیوم دیفی‌سل و کولیت پس از مصرف آنتی‌بیوتیکها (Pseudomembranous colitis) مشخص گردید(۵،۴)، تحقیقات دامنه‌داری در زمینه اپیدمیولوژی، قدرت بیماری‌زائی توکسینهای A و B، مکانیسم اسهال و اهمیت آنها در اسهالهای بدون سابقه مصرف آنتی‌بیوتیکها انجام پذیرفت (۹،۸،۷،۶). یکی از مسائل قابل توجه محققان در مورد نقش این میکروب در ایجاد و یا عود اسهالهای مزمن نظیر کولیت اولسروز بوده است.

اطلاعات در زمینه رابطه توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل با عود بیماری کولیت اولسروز ضد و نقیض است(۱۲،۱۱،۱۰). چون

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]

اثبات رابطه توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل و عود بیماری می‌تواند مراقبت و درمان این بیماران را بهبود بخشد، بنابراین ما علاقمند شدیم رابطه بین وجود توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل و عود کولیت اولسروز را در بیماران خود مطالعه کنیم.

روش و مواد

۶۲ بیمار مبتلا به کولیت اولسروز که تشخیص آنها با تاریخچه، عکسبرداری، کولونوسکوپی و بیوپسی قبلاً به اثبات رسیده بود مورد مطالعه قرار گرفتند. ۳۹ نفر آنها با عود بیماری و ۲۳ نفر با بیماری زمینه‌ای کولیت اولسروز مراجعه نموده بودند. توکسین شاهد از محلول صاف شده کشت کلستریدیوم دیفی‌سل بدست آمد. سوش استاندارد بصورت لئوفلیزه توسط سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی در اختیار ما قرار گرفت. پس از کشت در محیط آبگوشت، محلول صاف شده آن را بعنوان توکسین استاندارد استفاده نمودیم. آنتی‌توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل لیوفلیزه شده از شرکت TECK LAB (آمریکا) خریداری شد. از سلولهای دودمان جنینی گاو (Bovine kidney cell line) در کشت سلولی برای ردیابی وجود توکسین استفاده شد. کشت میکروب در محیط بی‌هوازی CCFA (Cycloserine-cefoxintie-fructose-agar) انجام شد و سپس برای تولید توکسین به کشت آبگوشت منتقل گردید. مدفوع بیماران و افراد سالم جمع‌آوری شد. پس از سانتریفوژ با ۱۰۰۰۰ دور به مدت ده دقیقه بعنوان عصاره مدفوع برای مطالعه توکسین استفاده شد. وجود توکسین در مدفوع بیماران و افراد سالم به دو روش کشت سلولی و الیزا مورد استفاده قرار گرفت :

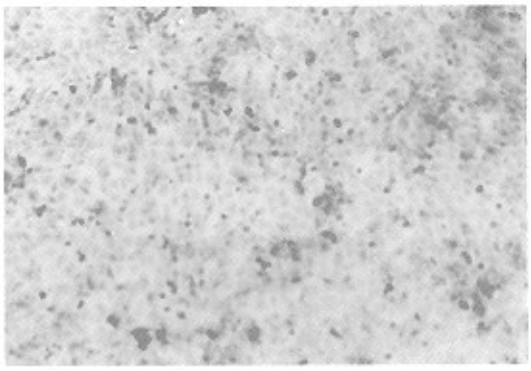
۱ـ روش کشت سلولی : سلولهای دودمان جنینی گاو (شکل ۱) با ۰/۱ سی‌سی عصاره مدفوع به مدت ۱۸ ساعت مجاورت داده شده و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه نگهداری گردید. به علت تأثیر مخرب توکسین، سلولها چروکیده و گرد می‌شوند و باصطلاح حالت Actinomorphic پیدا می‌کنند که با رنگ‌آمیزی فوشین و بلودومتیلن کاملاً قابل تشخیص هستند. کنترل مثبت و کنترل منفی برای هر یک از نمونه‌ها بشرح زیر انجام پذیرفت :

سری اول : توکسین حاصل از کشت باکتری استاندارد به سلولها اضافه شد. این سری نماینده کنترل مثبت است.

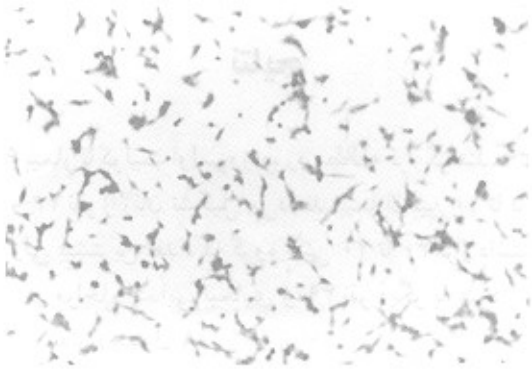
سری دوم : توکسین حاصل از کشت باکتری استاندارد همراه با رقت $\frac{۱}{۲۵}$ آنتی‌توکسین استاندارد به سلولها اضافه شد. این سری نماینده کنترل منفی هستند.

سری سوم : عصاره مدفوع بیماران و یا افراد سالم به سلولها اضافه شد. این سری نشانگر آثار مخرب توکسین بر روی سلولها است (شکل ۲).

شکل ۱ـ نمای سلولها (Bovine kidney cell lines) بدون توکسین : نمای طبیعی سلولها قابل رؤیت است.



شکل ۲ـ نمای سلولها (Bovine kidney cell lines) با توکسین : گرد شدن سلول و حالت Actinonomophic کاملاً نمایان است.



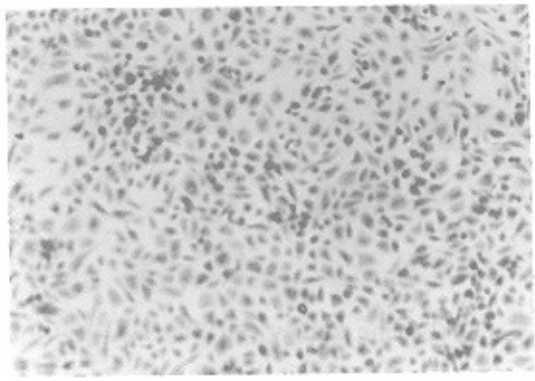
سری چهارم : عصاره مدفوع بیماران و یا افراد سالم با آنتی‌توکسین به سلولها اضافه شده قاعدتاً در این سری نباید سلول آسیب ببیند (شکل ۳). در صورت تخریب علت آن آنتی‌توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل نبوده بنابراین باید از مطالعه حذف شود.

۲ـ روش الیزا (ELISA) : در این روش ابتدا سطح میکروپلیت‌ها را با توکسین استاندارد شاهد coat می‌کنیم سپس همزمان محلول آنتی‌توکسین استاندارد را (با دیاستاز HRP) همراه عصاره مدفوع به چاهکها اضافه می‌کنیم. پس از شستشوی کافی سوبسترای مورد نظر (2,2-Azino Diethyl - Bezothiazoline sulphonate) را اضافه می‌کنیم. اگر در عصاره مدفوع بیمار توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل وجود نداشته باشد، آنتی‌توکسین به توکسین

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]

میکروپلیت چسبیده و با سوبسترا محلول رنگی بوجود می‌آورد که با روش کالری متریک قابل سنجش است. برای هر یک از نمونه‌ها با روش فوق چهار سری شاهد اعم از کنترل مثبت و کنترل منفی تهیه نمودیم. از مدفوع ۶۲ نفر نرمال، بعنوان کنترل استفاده شد و سعی گردید از نظر سن، موقعیت اجتماعی و اقتصادی با بیماران هم تراز باشند.

شکل ۳ـ نمای سلولها (Bovine kidney cell lines) با استفاده از توکسین و آنتی‌توکسین: آنتی‌توکسین، اثر مخرب توکسین را خنثی می‌کند بنابراین توکسین نمی‌تواند حالت Actinomorphic را بوجود آورد.



نتایج

۶۲ بیمار با کولیت اولسروز مورد مطالعه قرار گرفتند. ۳۹ نفر را مردان و ۲۳ نفر را زنان تشکیل می‌دادند. بیماران بین ۱۰ تا ۶۵ سال بودند ولی بیشترین تعداد در گروه سنی ۲۰ تا ۳۰ قرار داشتند. ۲۳ نفر آنها در مراحل ابتدایی بیماری و ۳۹ نفر دیگر با عود بیماری مراجعه نمودند (جدول ۱).

جدول ۱ـ گروههای سنی

گروههای سنی	تعداد	مرد	زن
زیر ده سال	—	—	—
۱۰ تا ۲۰ سال	۴ نفر	۴ نفر	—
۲۱ تا ۳۰ سال	۳۱ نفر	۱۸ نفر	۱۳ نفر
۳۱ تا ۴۰ سال	۱۵ نفر	۱۰ نفر	۵ نفر
۴۱ تا ۵۰ سال	۸ نفر	۵ نفر	۳ نفر
۵۱ تا ۶۰ سال	۳ نفر	۱ نفر	۲ نفر
< ۶۱ سال	۱ نفر	۱ نفر	—

طی بررسی کشت سلولی و بکارگیری توکسین و آنتی‌توکسین شاهد مشخص شد که ۱۹ نفر از ۳۹ بیمار با عود بیماری، توکسین مثبت بودند (۴۸/۷۱٪) و وجود توکسین در مدفوع آنها بالیات رسید و از ۲۳ مورد که در مرحله زمینه‌ای (بدون عود) بیماری بودند، فقط ۶ نفر توکسین مثبت شدند (۲۶/۰۸٪). آزمون χ^2 نشان داد که اختلاف بین گروه الف (با عود بیماری) و گروه ب (بیماری زمینه‌ای ـ بدون عود) از نظر توکسین مثبت معنی‌دار نبوده است ($P> ۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۲ـ وجود توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل در عصاره مدفوع بیماران کولیت اولسروز بیماران به دو گروه الف (با عود بیماری) و گروه ب (بدون عود ـ بیماری زمینه‌ای) تقسیم شدند

	توکسین مثبت	توکسین منفی	جمع
گروه الف	۱۹ نفر(۴۸/۷۱٪)	۲۰ نفر	۳۹ نفر
گروه ب	۶ نفر (۲۶/۰۸٪)	۱۷ نفر	۲۳ نفر
جمع	۲۵ نفر	۳۷ نفر	۶۲ نفر

چهار نفر از بیماران در محدوده زمانی درمانشان آنتی‌بیوتیک مصرف نمودند که یک نفر از آنها در عود بیماری بوده و سه نفر دیگر در مراحل زمینه‌ای (بدون عود) بیماری بودند. توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل در عصاره مدفوع هر چهار نفر وجود داشت جهت بررسی ارتباط بین وجود توکسین وبیماری کولیت اولسروز از ۶۲ نفر افراد سالم استفاده شد. سعی گردید تا افراد سالم از نظر سن، وضعیت اجتماعی و اقتصادی با بیماران هماهنگی داشته باشند. فقط در عصاره مدفوع دو نفر از آنها، باکشت سلولی وجود توکسین نشان داده شد. آزمون χ^2 نشان داد که بین بیماران و افراد سالم از لحاظ توکسین مثبت اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P< ۰/۰۰۱$) (جدول ۳).

کشت میکروبی فقط در ۴ مورد و روش الیزا نیز فقط در ۴ مورد از بیماران مثبت گردید.

جدول ۳ـ وجود توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل در عصاره مدفوع بیماران کولیت اولسروز و افراد نرمال

	توکسین مثبت	توکسین منفی	جمع
بیماران	۲۵ نفر	۳۷ نفر	۶۲ نفر
افراد سالم	۲ نفر	۶۰ نفر	۶۲ نفر
جمع	۲۷ نفر	۹۷ نفر	۱۲۴ نفر

بحث

میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل توکسین A و B تولید می‌کند(۱). قدرت کشندگی آنها حدود یکصد برابر سم Botulinium در موشهای آزمایشگاهی است. توکسین A پروتئینی است با وزن مولکولی KD ۳۰۸ که در مقابل حرارت، حاصیت خود را از دست می‌دهد. در مدلهای حیوانی مثل موش، خرگوش و خوکچه هندی التهاب بسیار شدید مخاط روده را بوجود می‌آورد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]

(۱۵،۱۴،۱۳) و میانجی شیمیایی زیادی نظیر پروستاگلاندین E2 و لکوترایین‌ها (Leurotriens) توسط سلولهای التهابی در محیط ترشح می‌شود(۱۶). حاصل آن یک اسهال آبکی همراه با خون خواهد بود. توکسین B پروتئینی است با وزن مولکولی ۲۷۰-۲۷۹KD که با خاصیت خود را از دست می‌دهد. در حد ۰/۲ پیکوگرم قادر است آکتین ساختمان سلولها را در هم بشکند و حالت کلاسیک و قابل رؤیت Actinomorphic را بوجود می‌آورد(۱۷،۱۸،۱۹).

فقط توکسین A در مدلهای حیوانی تخریب سلولهای روده را سبب می‌شود و توکسین B حداقل با این روش هیچ نوع تخریب سلولی را به همراه ندارد. در عوض قدرت تخریب توکسین B در کشت سلولی تا ده هزار برابر توکسین A گزارش شده است. به همین دلیل توکسین B را به عنوان یک سایتوتوکسین و توکسین A را به عنوان یک انتروتوکسین (Enterotoxin) می‌شناختند. بنابراین تصور بر این بوده است که توکسین A موجب بیماری در انسان می‌شود و توکسین B فقط در تشخیص بیماری کمک می‌کند. ولی اطلاعات جدید با استفاده از سلولهای روده انسان (T84) نشان داده است که توکسین B حدود ده برابر توکسین A موجب تغییرات ظاهری سلول و نفوذپذیری آن می‌شود (۲۰). بدین ترتیب به نظر می‌رسد که هر دو توکسین A و B در تخریب سلولهای روده و ایجاد اسهال در انسان دخالت داشته باشند.

ردیابی توکسین با روش کشت سلولی از حساسیت بالایی برخوردار است و قادر است تا ۰/۲ پیکوگرم توکسین B را تشخیص دهد(۲۱). حساسیت الیزا (ELISA) نسبت به کشت سلولی حدود ۸۰ درصد است (۲۳،۲۲). فقط ۴ مورد توکسین مثبت با روش الیزا در بیماران خود داشتیم که نسبت به گزارشات، رقم کمی است. این موضوع می‌تواند به علت ایده‌آل نبودن شرایط اندازه‌گیری در الیزا باشد. ولی به هر حال در تفسیر کشت سلولی ما نمی‌تواند خللی وارد آورد. در هر صورت اغلب قریب به اتفاق آزمایشگاههای تحقیقاتی به علت حساسیت بالای روش کشت سلولی از الیزا اصلاً استفاده نمی‌کنند. ما نیز روش کشت سلولی را ملاک قرار داده‌ایم. آنتی‌بادی استفاده شده معمولاً بر علیه هر دو توکسین است(۲۴). چون درجه سیتوتوکسی‌سیتی (تخریب سلولی) با شدت علائم بیماری رابطه دارد، بنابراین اندازه‌گیری توکسین A و B به تفکیک کمکی نمی‌کند. ما نیز از آنتی‌بادی پلی‌کلونال استفاده کرده و توکسین A و B را بصورت جدا اندازه‌گیری نکردیم.

گرچه تحقیقات هنوز عامل کولیت اولسروز را شناسایی نکرده است ولی هم اکنون اکثریت قریب به اتفاق دانشمندان بر این باورند که در پاتوژنز بیماری کولیت‌اولسروز، علاوه بر عوامل زمینه‌ای ژنتیکی و پاسخ ایمنی، ویژگی عامل بیرون و به احتمال زیاد از فلور میکروبی روده در شروع بیماری و یا عود آن نقش دارد. در این رابطه تحقیقات زیادی بعمل آمده است (۳۱،۳۰،۲۹،۲۸،۲۷،۲۶،۲۵).

میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل یکی از آنها است و اطلاعات حاصله در این مورد کاملاً ضد و نقیض است (۳۲،۱۲،۱۱،۱۰). ارتباط توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل با عود بیماری کولیت اولسروز توسط Trnika Lamont پیشنهاد شد(۱۰). آنها توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل را در مدفوع ۶ بیمار مبتلا به کولیت اولسروز با عودبیماری یافتند و در هر ۶ مورد با حذف توکسین، بیماران بهبود یافتند، ولی گزارشات بعدی دیگر محققان باین صراحت موضوع را تأیید ننمودند(۱۱). در گزارشات بعدی با تعداد بیشتر بیماران و گرفتن تاریخچه دقیق تا حدی مشخص شد که اغلب قریب به اتفاق بیماران یک ماه قبل از عود بیماری نوعی آنتی‌بیوتیک مصرف نموده بودند. ضمناً با وجود کشت مثبت مدفوع و توکسین، وقتی بیماران بدون درمان کلستریدیوم دیفی‌سل پی‌گیری شدند، مشاهده گردید که میکروب بخودی خود در مدفوع بیماران ناپدید گردید، گرچه درصد بالایی از بیماران در زمان عود این میکروب را در مدفوع خود داشتند، ولی بنظر می‌رسد علت آن مصرف آنتی‌بیوتیک بوده و بدون تردید بدون هیچ درمانی این میکروب در مدفوع آنها از بین رفت. بنابراین ارتباط عود بیماری و وجود توکسین تأیید نگردید(۱۲). بنظر می‌رسد علت ابتلاء به این میکروب بستری شدن آنان در بیمارستان و انتقال میکروب در محیط بیمارستان به بیماران باشد، چون این میکروب بخصوص در بین بیماران بستری شده در بیمارستان، بصورت ناقلان بدون علامت شایع است و می‌توانند آنرا براحتی به بیماران کولیت اولسروز منتقل نمایند و بدین ترتیب روده آسیب دیده آنها، مورد تهاجم این میکروب قرار می‌گیرد.

بیماران کولیت اولسروز از داروهای Sulfasalazine به عنوان درمان نگهدارنده استفاده می‌کنند. این دارو در روده تبدیل به Sulfaryridine و S-Aminosalicylic می‌شود، ترکیب اول یک داروی ضدالتهاب است و ترکیب دوم نوعی آنتی‌بیوتیک است که می‌تواند فلور نرمال روده را از حالت طبیعی خارج کرده و زمینه را برای رشد میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل آماده نماید(۳۳،۳۴،۳۵). شاید به همین دلیل است که استفاده از وانکومایسین نتیجه مطلوب در معالجه عود این بیماری دارد(۱۰،۳۶،۳۷).

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق مشخص گردید که تعدادی از بیماران کولیت اولسروز در مدفوع، توکسین کلستریدیوم دیفی‌سل داشتند. وجود توکسین با عود بیماری مرتبط نبود ($P>0/05$)، ولی وجود آن با بیماری کولیت اولسروز مرتبط است و این ارتباط از لحاظ آماری حائز اهمیت می‌باشد ($P<0/001$). مطالعات بیشتری نیاز است تا رابطه علت و معلولی آن روشن گردد. بخصوص بیماران بصورت Randomized Trial در دو گروه مورد مطالعه قرار گیرند که یک گروه برای میکروب کلستریدیوم دیفی‌سل درمان شوند و گروه دیگر بدون درمان پی‌گیری شوند تا نتیجه آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]

منابع

1- Hafiz S. Clostridium difficile and its toxin. PHD dissertation Leads. U.K. university of Leads 1974.

2- Hall. I.C. and Ottole. E. "Intestinal flora in newborn infants with discription of a new pathogenic anaerobe. bacillus difficillis". Am. J. Dis. Child 49: 390, 1935.

3- Sbyder M.I.. "Normal fecal flora of infants between two weaks and one year of age". Serial studies J. infect. Dis 66: 1, 1940.

4- Bartelett. T.G. cang. T.W., Gurwith. M. et al. "Antibiotic associated pseudomembranous colitis due to toxin producing clostridia" new England journal of medicine. 198: 531-534, 1978.

5- Bartelett. T.G., Onder donk. A.B., Cibneros A.B. and kasper. D.L.. "Clidamycin associated colitis due to toxin producing species of clostridium in hamsters". journal of infectious disease 136: 701-705, 1977.

6- Noki Kato. Chin-Yih Ov. Haru Rato. Su zette L. Bartley Vicki K. Brown. Vulus R. Bowell JR. and Kazue veneoldentification of Toxigenic Clostridium difficile by the polymerase Chain Reaction. Journal of clinical microbiology 29: 33-37, 1991.

7- C.H. Dove. S.Z. Wang. S.B. Price. C.J. Phelps. D.M. Lyerly T.D. Wilkins. and J.L. Johnson. "Molecular characterization of clostridium difficille toxin A gene". Infection and immunity 58: 480-488, 1990.

8- Hannah Rosly devlin Mai Av. Lubu Toux and wayne claude Bradbury. "Restriction endonuclease analysis of nosocomial isolates of clostridium difficile". Journal of clinical Microbiology 25: 2168-7172. 1987.

9- Maurice J. H. M. Wolfhagen. rund forensma. AD C. Huit. and Jan Verhoef. "Toxin A and B of clostridium difficile" FEMS microbiology reviews. 13: 59-64, 1994.

10- J. Thomas Lamont. Yvonda Trnka. "Therapeutic implications of clostridium difficile Toxine during relapse of chronic inflammatory bowel disease". The lancet 1: 381-3, 1980.

11- John G. Bartlett. "Clostridium difficille and inflammatory bowel disease" gasteroentrerology 80: 863-865, 1981.

12- M.R.B. Kieghley. Denise Younge. Margaret Johnson R.N. Allan. And D.W. Burdon. "Clostridium difficile toxin in acute diarrhoea complicating inflammatory bowel disease". Gut 23: 410-414, 1982.

13- Kenneth D. Tucker. Pauline E. Carrig and Tracyd. Wilkins. "Toxin A of Clostridium difficile is A potent cytotoxin". Journal of clinical microbiology 28: 869-871, 1990.

14- Sullivan. N.M., Pettett. S., and Wilkins. T.D. Purification and Characterization of Toxin A and B of Clostridium difficile. Infect immun. 35: 1032, 1982.

15- Lima. A.A.M. Lyerly D.M., Wilkins. T.D. Effect of Toxin A and B in rabit small and large intestine in vivo and cultures cells in vitro Infect Immun. 56: 582, 1988.

16- Burakoff. R. Zhao. L. Cehlarcv. A.J. et al. Effect of purified clostridium difficile Toxin A on rabit distal colon. Gasteroenterology 190(2): 348, 1995.

17- Fiorentini. C., Maforni. W., Paradisi. S., et al. Interaction of clostridium difficile Toxin A with culture cells: cytoskeletal changes and nuclear polarization Infect Immun. 58: 2329, 1990.

18- Ott Linger. M.D. and Lin. S. Clostridium difficile Toxin B induces reorganization of actin vinculin and tolin in cultured cells Exp cell Res. 174: 215, 1988.

19- Just. I., Selzer. J., Wilm. M. et al. "Glucosylation of RHO protein by clostridium Toxin B" nature 375: 500, 1995.

20- Rie Gler M. Sedavy. R., Pothoulakins. C. et al. Clostridium difficile Toxin B is more potent than Toxin A in damaging human colonic epithelium. In vitro. J. Clin Ivest. 95: 2004, 1995.

21- "Te-wen chang. Michael Laver Mann, and John G. Bartelt. "Cytotoxicity assay in antibiotic associated colitis" The Journal of infectious diseases 140: 765-770, 1979.

22- Barbara E. Lauehon, Raphael P. Viscidi, Sosan L. Grovin Robert H. Yolken, and John G. Bartlett. "Enzyme immunoassay for detection of clostridium difficile toxin A and B in fecal specimen". The journal of Infections disease 149: 781-788, 1984.

23- David M. Lyerly. Nadine M. Sulivan and T. Wilkins. "enzyme linked immunosormant assay for clostridium difficile Toxin A. Journal of clinical microbiology 17: 72-78, 1983.

24- Mariolu EH Rich, Roger L. Van tassell, Jerey M. Libby and Tracyd. Wilkins "Production of clostridium difficile antitoxine" Infection and Immunology 28: 104-1013, 1980.

25- Cooke. E.M. Ewins. S.P., and Shooter. R.A. Changing fecal population of E-coli and hospital Medical patients. BMJ 4: 5593, 1964.

26- Cooke. E.M., Ewins. S.P., Hywell-Jones. J. and Leonard-Jones J.E. "Properties of strains of E-coli carried in different patient of ulcerative colitis". Gut 15: 143, 1974.

27- Burke. D.A and Axon. A.T.R. "Ulcerative colitis and escherichia coli with adhesive properties". J. Clin. Path. 40: 782, 1987.

28- Burke. D.A., Axon. A.T.R., Clayden. S.A., et al. "The efficacy of Tobramycin in Treatment of Ulcerative colitis". Aliment. Pharm. Ther. 4: 1234, 1990.

29- Swarbrick. E.T. Kingham. J.G.C., price. H.E., Black shaw. A.J. Griffiths. P.D. Darongar. S. Buchell. N.A. "Chlamydia. Cytomegalovirus and Yersinia in inflammatory bowel disease". Lancet 2: 11, 1979.

30- Cave. D., Michell. D., and Brooke. B. Evidence of an agent transmissable from ulcerative colitis. Lancet 1: 311, 1976.

31- Gitnick. G.L., Rosen. U.L. Arthur. M.H., and herlweck. S.A. Evidence for the isolation of A new virus from ulcerative colitis patients. DIG. DIS. SG. 24: 609, 1979.

32- Mayers. S., Mayer. L., Botton. E. Desmond. E. and Janowitz. H.D. The "Occurance of clostridium toxin during the course of inflammatory bowel disease" Gasteroenterology 80: 697, 1981.

33- John G. Bartlett. "The Pseudomembranous colitis. Nicrosurget.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]

Gasterointestinal disease. 1998 Saunders Chapter 96 pp 1633-1647, 1998.

34- "Bacterial toxin in internal fluid and electrolyte transport Sleisinger gasterointestinal and liver disease" 1998. Saunders. Chapter 96 pp: 1464-1465. 1998.

35- Bolton RP, Sherriff TJ, Read AC. "Clostridium difficile associated diarrhoea. A role in inflammatory Bowel disease". The lancet 1: 383-4.

36- Taylor, N.S., and Bartlett, J.G. Binding of clostridium difficile cytotoxin and vancomycin by anion exchang resins J. Infect dis. 141: 92, 1980.

37- Dichinson, R.J. O., Cooner, H.J. Pinder, L. Hamilton, I. Johnson, D. Double blind control trial of oral vancomycin ... diuvent treatment in acute exacerbation of ideopathic colitis ... 1380, 1985.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-11]