

## Research Paper

# The Effect of Probiotic Yogurt on the Frequency of *Clostridium Difficile* in Old Hospitalized Patients



Masoomeh Sofian<sup>1</sup> , Elahe Eghbal<sup>1</sup>, Ehsanollah Ghaznavi-Rad<sup>2</sup>, Amitis Ramezani<sup>3</sup>, \*Pegah Mohaghegh<sup>4</sup> 

1. Department of Infectious Diseases, Infectious Diseases Research Center (IDRC), Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
2. Department of Microbiology and Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
3. Department of Clinical Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran.
4. Department of Community Medicine, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.



**Citation:** Sofian M, Eghbal E, Ghaznavi-Rad E, Ramezani A, Mohaghegh P. [The Effect of Probiotic Yogurt on the Frequency of *Clostridium Difficile* in Old Hospitalized Patients (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2019; 22(4):52-65. <https://doi.org/10.32598/JAMS.22.4.50>

 <https://doi.org/10.32598/JAMS.22.4.50>



### Article Info:

Received: 18 Jun 2019

Accepted: 07 Sep 2019

Available Online: 01 Oct 2019

## ABSTRACT

**Background and Aim** *Clostridium difficile* is the main cause of Antibiotic-Associated Diarrhea (AAD) in the hospital setting. Today, the use of probiotics for the prevention and treatment of AAD and colitis is increasing. In this study, we investigated the effect of probiotic yogurt on the frequency of *Clostridium difficile*.

**Methods and Materials** In this randomized clinical trial study, 132 elderly patients admitted to the infectious ward of Vali-e-Asr Hospital in Arak, who were under antibiotic treatment, were randomly divided into two groups, case (yogurt probiotic, 200 mg/d for 8 days) and control group (common yogurt). All patients were trained about the signs of colitis. We evaluated the colitis signs and the presence of *Clostridium difficile* by Polymerase Chain Reaction (PCR) and compared them between the groups. The obtained data were analyzed with appropriate statistical tests in SPSS V. 16.

**Ethical Considerations** The Research Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences approved this study (Code: 10-165-93). Also, it was registered at the Iranian Registry of Clinical Trials (Code: IRCT2016092229915N1).

**Results** *Clostridium difficile* was detected in 4 (6.1%) patients of the case, and 1 (1.5%) patient of the control group, at the beginning of the study. There was no significant difference between the frequency of *Clostridium difficile* and colitis syndrome between two groups at the end of the study ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion** Probiotic yogurt has no significant effect in reducing the frequency of *Clostridium difficile* and colitis syndrome in our study.

### Key words:

*Clostridium difficile*,  
Probiotic yogurt

## Extended Abstract

### 1. Introduction

**C**

*lostridium difficile* is a Gram-positive, spore-forming, toxin-producing anaerobic bacillus and is a component of the intestinal flora in healthy infants. It is also a

known cause of pseudomembranous colitis and diarrhea in patients under antibiotic therapy [1, 2]. The causative agent of *Clostridium Difficile* Infection (CDI) is exotoxins A and B produced by this bacterium [3, 4].

Probiotics are micronutrients (bacteria and yeast) that settle in different parts of the body, especially in the intestine, modify the microbial flora and exert beneficial effects on

### \* Corresponding Author:

Pegah Mohaghegh, MD.

Address: Department of Community Medicine, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Tel: +98 (86) 34173521

E-mail: pmohaghegh@arakmu.ac.ir

the health of the host [6]. A significant percentage of patients admitted to infectious disease wards are older people who need long-term antibiotic therapy, and increased colonization of *Clostridium difficile* in them is associated with a higher risk of CDI [8-12]. The use of probiotic yogurt can prevent the growth of *Clostridium difficile* and reduce morbidity and even mortality in these patients [7]. Of the studies on the effect of probiotics on CDI, few studies have investigated the impact of probiotics on the frequency of *C. difficile* in older people. In this regard, this study investigates the effect of probiotic yogurt use on the rate of *Clostridium difficile* in hospitalized elderly patients.

## 2. Materials and Methods

In this double-blind, randomized clinical trial, 132 patients over 60 years old who were admitted to the infectious Ward of Vali-e-Asr Hospital in Arak, Iran were selected through convenience sampling method. They were diagnosed with acquired pneumonia and under antibiotic therapy using ceftriaxone and azithromycin. After obtaining informed consent from them, they were randomly divided into two groups of intervention (n=66) and control (n=66).

The patients in the intervention group received 200 mL probiotic yogurt from day 1 to day 8 of hospitalization twice per day (lunch and dinner). The control group received 200

mL of regular yogurt for the same period, both at lunch and dinner. In the first and eighth days of the study, all stool samples were taken, and their DNA extracted, and the extract was used in a Polymerase Chain Reaction (PCR) with 16S RNA and srRNA Universal primers. The PCR product was sent for nucleotide sequencing, and the results underwent BCAS analysis. Mean and Standard Deviation (SD) were used to describe the quantitative data and the number and percentage were used to describe the qualitative data.

## 3. Results

At the beginning of the study, the prevalence of *Clostridium difficile* in the intervention and control groups was 4 (6.1%) and 1 (1.5%), respectively. After the intervention, the number of stool samples with CDI and the number of cases with antibiotic-associated colitis symptoms were not significantly different between the intervention and control groups ( $P < 0.05$ ). The comparison of symptoms between the two groups showed that the prevalence of fever ( $P=0.039$ ) and constipation ( $P=0.046$ ) was higher in the intervention group at the beginning of the study, and the difference was statistically significant (Table 1). Furthermore, the study showed that the likelihood of developing CDI in people with a history of cerebrovascular diseases was 1.69 times higher than those with no such history. The

**Table 1.** Frequency of clinical symptoms and *C. difficile* on the first and eighth day of study in the two study groups

Variable	No. (%)		P	
	Intervention	Control		
Day 1 (baseline)	Stomachache	5 (7.6)	1 (1.5)	0.095*
	Fever	26 (4.39)	15 (7.22)	0.039*
	Anorexia	20 (3.30)	13 (7.19)	0.159*
	Constipation	17 (8.25)	8 (1.12)	0.046*
	Diarrhea	0 (0)	0 (0)	-
	Nausea	6 (1.9)	7 (6.10)	0.770*
	Vomiting	1 (5.1)	3 (5.4)	0.310*
	Test positive for <i>C. difficile</i> on the first day	4 (1.6)	1 (5.1)	0.171*
Day 8	Stomachache	0 (0)	0 (0)	-
	Fever	0 (0)	0 (0)	-
	Anorexia	5 (6.7)	7 (6.10)	0.545*
	Constipation	11 (7.16)	11 (7.16)	1*
	Diarrhea	0 (0)	0 (0)	-
	Nausea	0 (0)	0 (0)	-
	Vomiting	0 (0)	0 (0)	-
	Test positive for <i>C. difficile</i> on the eighth day	0 (0)	0 (0)	-

history of antibiotic use in the past 6 months also increased the risk of developing CDI by 1.97 times.

#### 4. Discussion

This randomized clinical trial study was performed to determine the effect of probiotic yogurt on the incidence of *C. difficile* in 132 patients (mean age: 72 y) admitted to the Infectious Disease Ward of Vali-e-Asr Hospital. At the beginning of the study, the prevalence of *C. difficile* was 3.8%. Also, in positive cases, the relative frequency of fever was higher. Based on the results of this study, a history of corticosteroid use, antibiotic use in the past 6 months, proton pump inhibitors, history of contact with a child at home, history of hospitalization, and history of brain injury in patients with positive *C. difficile* were higher. This difference was statistically significant according to the Fisher exact test. By considering positive *C. difficile* as the dependent variable, history of cerebrovascular disease, antibiotic use in the past 2 to 6 months, using proton pump inhibitors, history of contact with child at home, history of hospitalization in the past 6 months, history of corticosteroid use, and fever were risk factors of CDI. In our study, there was a decrease in the incidence of positive *C. difficile* on the 8th day of the study compared to the first day, but it was not statistically significant between the two groups.

Thus, the use of probiotic yogurt has no significant effect on reducing the prevalence of *C. difficile* and colitis symptoms in comparison with regular yogurt. For more accurate results, it is recommended to conduct studies with a larger sample size in several different health centers.

#### Ethical Considerations

##### Compliance with ethical guidelines

This is a registered clinical trial (Code: IRCT2016092229915N1) approved by the Research Ethics Committee of Arak University of Medical Sciences (Code: 10.165.93).

##### Funding

The present paper was extracted from a PhD. thesis approved by Elahe Eghbal in the Department of Infectious Diseases at Arak University of Medical Sciences.

##### Authors' contributions

Conceptualization by Masoomeh Sofian, Elaheh Eghbal, and Pegah Mohaghegh; investigation by Elaheh Eghbal, Ehsanollah Ghaznavi-Rad, Amitis Ramezani, and Masoomeh

Sofian; editing and final draft preparation by Masoomeh Sofian and Pegah Mohaghegh. All authors met standard writing standards based on the recommendations of the **International Committee of Medical Journal Publishers (ICMJE)**.

##### Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

##### Acknowledgements

The authors would like to thank the authorities of infectious disease ward and the laboratory staff of Vali-e-Asr Hospital for their valuable cooperation.

## تأثیر ماست پروبیوتیک بر فراوانی کلستریدیوم دیفیسیل در بیماران سالمند بستری در بیمارستان

معصومه صوفیان<sup>۱</sup>، الهه اقبال<sup>۱</sup>، احسان‌الله غزنوی‌راد<sup>۲</sup>، آمیتیس رضانی<sup>۳</sup>، \*پگاه محقق<sup>۴</sup>

۱- گروه بیماری‌های عفونی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۳- گروه تحقیقات بالینی، انستیتو پاستور، تهران، ایران.

۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف:** کلستریدیوم دیفیسیل عامل اصلی اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک در بیمارستان‌هاست و امروزه استفاده از پروبیوتیک برای پیشگیری و درمان اسهال و کولیت ناشی از آنتی‌بیوتیک در حال افزایش است. در این مطالعه تأثیر ماست پروبیوتیک در فراوانی کلستریدیوم دیفیسیل بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** در این کارآزمایی بالینی، ۱۳۲ بیمار سالمند بستری در بخش عفونی بیمارستان ولی‌عصر اراک که تحت درمان آنتی‌بیوتیکی بودند، به صورت تصادفی به دو گروه آزمایش (ماست پروبیوتیک، ۲۰۰ میلی‌گرم در روز به مدت هشت روز) و گروه کنترل (ماست معمولی) تقسیم شدند. به همه بیماران اطلاعاتی از علائم کولیت داده شد و علائم کولیت و نتایج تست بررسی کلستریدیوم در مدفوع بیماران با PCR در دو گروه آزمایش و کنترل ثبت و مقایسه شد. بعد از جمع‌آوری داده‌ها، اطلاعات توسط نسخه ۱۶ نرم‌افزار آماری SPSS و با استفاده از آزمون‌های آماری مناسب تجزیه و تحلیل شد.

**ملاحظات اخلاقی:** این پژوهش با کد اخلاق ۹۳-۱۶۵-۱۰ در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک تأیید و با کد IRCT2016092229915N1 در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ثبت شده است.

**یافته‌ها:** در بدو بستری، کلستریدیوم دیفیسیل در گروه آزمایش و کنترل به ترتیب در چهار نفر (۶/۱ درصد) و ۱ نفر (۱/۵ درصد) مثبت بود و بعد از مداخله تعداد نمونه‌های مدفوع آلوده به کلستریدیوم دیفیسیل و تعداد موارد ابتلا به علائم کولیت ناشی از آنتی‌بیوتیک بین دو گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** استفاده از ماست پروبیوتیک در مقایسه با ماست معمولی تأثیر معنی‌داری در کاهش شیوع کلستریدیوم دیفیسیل ندارد.

## اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۲۸ خرداد ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۱۶ شهریور ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۰۹ مهر ۱۳۹۸

## کلیدواژه‌ها:

کلستریدیوم دیفیسیل، پروبیوتیک، ماست

## مقدمه

بیماران با کولیت سودوممبران<sup>۱</sup> (با غشای کاذب) در ارتباط با آنتی‌بیوتیک کشف شد. این ارگانسیم تازه در آن زمان به عنوان عامل کولیت پسودوممبران و اسهال و کولیت در بیمارانی که در معرض آنتی‌بیوتیک بودند شناخته شد [۱، ۲].

کلستریدیوم دیفیسیل با ایجاد دو آگزوتوکسین موجب کولیت و اسهال می‌شود: توکسین A (انترتوکسین) و توکسین B (سایتوتوکسین) [۳]. توکسین A موجب التهاب می‌شود که این التهاب به ترشح مایعات روده‌ای، آسیب مخاطی و التهاب منجر می‌شود. توکسین B تقریباً ۱۰ برابر بیشتر از توکسین نوع A در

کلستریدیوم دیفیسیل یک باسیل غیرهوازی گرم مثبت، اسپوردار، تولیدکننده توکسین است که اولین بار در سال ۱۹۳۵ کشف شد. این باکتری می‌تواند به شکل اسپور و شکل وژتاتیو (رویشی) وجود داشته باشد. اسپورها در مقابل حرارت، اسید و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌اند و در کولون به فرم وژتاتیو تبدیل و به شکل تولیدکننده توکسین در می‌آیند. کلستریدیوم دیفیسیل جزء فلور روده در نوزادان سالم به حساب می‌آیند [۱، ۲]. نقش آسیب‌شناختی کلستریدیوم اولین بار در سال ۱۹۷۰ مشخص شد، هنگامی که توکسین کلستریدیوم دیفیسیل در مدفوع

1. Pseudomembranous Colitis

\* نویسنده مسئول:

دکتر پگاه محقق

نشانی: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه پزشکی اجتماعی.

تلفن: ۳۴۱۷۳۵۲۱ (۸۶) ۰۹۸+

پست الکترونیکی: pmohagheh@arakmu.ac.ir



جذب مواد غذایی و تقویت سیستم ایمنی اشاره کرد [۶، ۷]. پروبیوتیک‌ها، ریززنده‌هایی (باکتری‌ها و مخمرهایی) هستند که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن (اساساً روده به عنوان فلور طبیعی)، از طریق دریافت خوراکی یا کارگذاری موضعی، با عمل زیستی خود، از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده (میان ریززنده‌های سودمند و زیان‌بخش)، سبب ایجاد خواص سلامت‌بخش برای میزبان می‌شوند [۶، ۷]. گوناگونی ریززنده‌های پروبیوتیک همواره در حال افزایش بوده است، بدین معنا که پژوهش‌های نوین به شناخت نژادها، گونه‌ها و جنس‌های جدیدی از ریززنده‌ها که خواص پروبیوتیکی دارند، منجر می‌شود [۶، ۷].

درصد قابل توجهی از بیماران بستری در بخش‌های عفونی، افراد سالمندی هستند که نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی به صورت طولانی مدت دارند [۸، ۹]. افزایش کلونیزاسیون کلوستریدیوم دیفیسیل در این بیماران و درمان عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل با آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل مترونیدازول و وانکومایسین خود با خطر عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل همراه است [۱۰-۱۲]. مصرف ماست پروبیوتیک با خواص ذکر شده می‌تواند از رشد کلوستریدیوم دیفیسیل که عامل عمده موارد اسهال بیمارستانی، کولیت و کولیت سودوممبرانوس است، جلوگیری کرده و باعث کاهش موربیتی و حتی مورتالیتی این بیماران شود [۷]. در میان مطالعات انجام‌شده در خصوص اثر پروبیوتیک‌ها بر عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل، تعداد مطالعاتی که به بررسی اثر پروبیوتیک بر فراوانی کلوستریدیوم دیفیسیل در گروه سنی سالمندان پرداخته‌اند، ناچیز است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر مصرف ماست پروبیوتیک بر فراوانی کلوستریدیوم دیفیسیل در بیماران سالمند بستری در بخش عفونی بیمارستان ولی عصر اراک انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شده دوسوکور، تعداد ۱۳۲ بیمار بالای ۶۰ سال که با تشخیص پنومونی اکتسابی در بخش عفونی بیمارستان ولی عصر شهر اراک بستری و تحت درمان آنتی‌بیوتیکی با سفتریاکسون و آزیترومایسین بودند، به شیوه در دسترس انتخاب شدند. پروتکل مطالعه برای بیماران توضیح داده شد و بیماران فرم‌های رضایت‌نامه آگاهانه را تکمیل کردند. بیماران به صورت تصادفی به دو گروه ۶۶ نفره آزمایش و کنترل تقسیم شدند.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن بیشتر از ۶۰ سال، درمان با آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون و آزیترومایسین، دریافت نکردن آنتی‌بیوتیک در دو ماه گذشته، کسب رضایت شرکت در مطالعه توسط بیمار، مبتلا نبودن به HIV و نبود اسهال در هنگام بستری شدن بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل تمایل نداشتن بیمار برای شرکت در مطالعه یا ناتوانی در اجرای دستورهای ترخیص بیمار قبل از هفت روز، ابتلا به HIV و نیاز به بستری در ICU بود.

آسیب مخاط کولونی نقش دارد. گونه‌هایی که توکسین نوع A را ندارند، می‌توانند از نظر ویروانس مشابه گونه‌هایی باشند که هر دو نوع توکسین را دارند. تعداد کمی از گونه‌های کلوستریدیوم دیفیسیل توکسین تولید نمی‌کنند. این گونه‌ها می‌توانند در دستگاه گوارش رشد و تکثیر شده و جزء فلور نرمال شوند و بیماری‌زا نیستند [۱، ۴، ۵].

عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل ناشی از باسیل کلوستریدیوم دیفیسیل اسپوردار گرم مثبت و بی‌هوازی است که توکسین‌های A و B و Binary toxin تولید می‌کند و اسپور آن در محیط، به خصوص بیمارستان‌ها و مراکز نگهداری موجود است [۱]. این توکسین‌ها فرایندهایی را ایجاد می‌کنند که موجب اختلال عملکرد اپی‌تلیال، اسهال و تشکیل غشای کاذب می‌شود. مرگ‌ومیر نسبت‌داده‌شده به عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل<sup>۲</sup> قبلاً معادل ۳/۵-۰/۶ بوده و در همه‌گیری‌های اخیر به ۶/۹ رسیده است و با افزایش سن به صورت پیش‌رونده‌ای بیشتر می‌شود [۳]. به طور معمول کمتر از ۵ درصد بزرگسالان با کلوستریدیوم دیفیسیل کلونیزه هستند که این رقم در بیماران پس از بستری در بیمارستان به ۲۰ تا ۳۰ درصد می‌رسد، حتی می‌تواند کولیت فولمینانت بدهد که نیاز به مداخله جراحی دارد و در سال‌های اخیر شیوع و شدت عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل در اروپا و آمریکا افزایش یافته است که در سال‌های اخیر شیوع و شدت عفونت کلوستریدیوم دیفیسیل در اروپا و آمریکا افزایش یافته است که موجب افزایش ناخوشی و مرگ‌ومیر و افزایش ضریب اشغال تخت‌های بیمارستانی شده است [۱].

کلیندامایسین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها اولین آنتی‌بیوتیک‌هایی بودند که با CDI همراهی داشته‌اند. سفالوسپورین‌ها نسل دو و سه به خصوص سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفوروکسیم، سفنازیدیم، داروهایی هستند که بیش از همه مسئول این وضعیت هستند و فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، موکسی‌فلوکساسین) جدیدترین دسته داروهای مسبب این بیماری در همه‌گیری‌های اخیر هستند، با وجود این، تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حتی وانکومایسین و مترونیدازول که برای درمان CDI به کار می‌روند، خطر CDI را در بر دارند [۳].

از طرفی پروبیوتیک‌ها ارگانایسم‌های زنده‌ای هستند که با تعدیل فلور میکروبی روده، اثرات مفیدی بر سلامت میزبان اعمال می‌کنند [۶]. سازوکار اثر پروبیوتیک‌ها کاملاً شناخته‌شده نیست، ولی مکانیسم‌هایی برای توجیه اثرات پیشگیری‌کننده و درمانی آن‌ها در بیماری‌های انسان پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به تولید ترکیبات مهارکننده باکتری‌ها، تعدیل PH روده، بلوک جایگاه‌های اتصال باکتری‌ها، رقابت برای

2. Clostridium Difficile Infection (CDI)

۶۷ نفر (۵۰/۸ درصد) مرد بودند. در بررسی محل سکونت بیماران، ۴۱ نفر (۳۱/۱ درصد) ساکن شهر بودند. از ۱۳۲ بیمار بررسی شده، عفونت کلستریدیوم در پنج بیمار (۳/۸ درصد) مثبت بود. شیوع علائم اولیه و سوابق پزشکی و دارویی در کل نمونه‌ها در جدول شماره ۱ بیان شده است.

بر اساس جدول شماره ۱، از ۱۳۲ بیمار بررسی شده، ۴۳/۲ درصد مبتلا به فشار خون، ۲۸ درصد مبتلا به دیابت و ۲۶/۵ درصد مبتلا به بیماری مزمن تنفسی بودند.

هیچ یک از دو گروه سابقه کلونوسکوپی و بستری در بخش مراقبت ویژه در سه ماه اخیر نداشتند. در بررسی علائم اولیه بیماران، از ۱۳۲ بیمار بررسی شده ۳۱/۱ درصد دارای تب، ۲۵ درصد بی‌اشتهایی و ۱۸/۹ درصد یبوست داشتند. هیچ یک از بیماران مبتلا به اسهال نبودند.

در جدول شماره ۲، توزیع سوابق پزشکی، مشخصات جمعیت‌شناختی و تاریخچه دارویی بیمار به تفکیک دو گروه آزمایش و کنترل ذکر شده است. بر اساس تست‌های آماری ذکر شده در ذیل جدول شماره ۲، سابقه بیماری ایسکمیک قلبی ( $P=0/033$ )، سابقه بستری در بیمارستان در سه ماه تا یک سال قبل ( $P=0/029$ )، سابقه مصرف PPI (مهارکننده‌های پمپ پروتون) ( $P=0/032$ ) و سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته ( $P=0/052$ ) در ابتدای مطالعه در دو گروه، تفاوت معنی‌داری داشت.

بر اساس آزمون آماری خی دو طبق جدول شماره ۳، شیوع تب ( $P=0/039$ ) و یبوست ( $P=0/046$ ) در ابتدای مطالعه در گروه آزمایش بیشتر بوده است و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است. بر اساس آزمون آماری فیشر، بین بروز کلستریدیوم دیفیسیل مثبت و سن، جنس، محل سکونت، سابقه جراحی، سابقه اندوسکوپی، زخم پوستی و مصرف مسهل تفاوت آماری معنی‌دار دیده نشد ( $P \geq 0/05$ ). در مقایسه موارد کلستریدیوم دیفیسیل مثبت و منفی در شروع مطالعه بر اساس آزمون دقیق فیشر، علائمی نظیر درد شکم، یبوست، استفراغ و بی‌اشتهایی در دو گروه تفاوت معنی‌دار نداشتند، ولی در موارد مثبت، فراوانی نسبی تب بیشتر بود و بر اساس آزمون دقیق فیشر این تفاوت شیوع از نظر آماری معنی‌دار است ( $P=0/002$ ).

در بررسی سوابق پزشکی و دارویی بیمار، سابقه مصرف کورتون ( $P=0/001$ )، مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته ( $P=0/006$ )، مهارکننده پمپ پروتون ( $P=0/002$ )، سابقه تماس با کودک ( $P=0/004$ )، سابقه بستری در بیمارستان ( $P=0/001$ ) و سابقه حوادث مغزی ( $P=0/001$ ) در بیماران کلستریدیوم دیفیسیل مثبت بیشتر است و بر اساس آزمون دقیق فیشر، این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است (جدول شماره ۴).

بر اساس رگرسیون لجستیک دوحالتی مطابق جدول شماره ۵

بیماران گروه آزمایش از روز اول بستری ۲۰۰ سی‌سی ماست پروبیوتیک در دو نوبت نهار و شام دریافت کرده و بیماران گروه کنترل نیز از روز اول بستری ۲۰۰ سی‌سی ماست معمولی در دو نوبت نهار و شام دریافت می‌کردند. با هماهنگی کارشناس تغذیه بیمارستان، ماست پروبیوتیک کاله کم‌چرب با حفظ زنجیره سرما و توضیح چگونگی سرو ماست در پیاله‌های ماست‌خوری معمول بیمارستان که از لحاظ ظاهری، تفاوتی با سرو ماست معمولی نداشت و فقط با نام ماست یک و ماست دو تهیه و توزیع شد و تا تکمیل حجم نمونه ادامه یافت. با هماهنگی با واحد آزمایشگاه در روز اول و هشتم بستری، نمونه مدفوع یا سوآپ رکتال توسط دستیار اخذ و با حفظ شرایط به آزمایشگاه منتقل می‌شد. از نمونه مدفوع تمامی افرادی که وارد طرح می‌شدند، به میزان دو گرم به طور مستقیم در محیط PBS برای استخراج DNA برده شده و در فریزر  $20^{\circ}C$  نگهداری می‌شدند. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز<sup>۳</sup> برای ژن‌های مطالعه‌شده در ابتدا DNA توسط کیت یکتا تجهیز مستقیماً از نمونه مدفوع استخراج شد. محصولات PCR برای تعیین توالی نوکلئوتیدی به شرکت ژن فناوری ارسال شد و نتایج تحلیل BCAST حاکی از ناحیه توکسین‌های A و B کلستریدیوم دیفیسیل بود. برای اینکه ثابت کنیم اسید نوکلئیک باکتری در نمونه استخراج شده ما هست، یک PCR برای 16SRNA انجام دادیم. برای اطمینان از استخراج DNA، از نانودراپ مؤسسه واکنس و سرم‌سازی رازی اراک و پرایمرهای 16srRNA Universal باکتریایی استفاده شد.

پس از جمع‌آوری داده‌ها و ورود به محیط نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) با استفاده از تست‌های آماری مناسب کای اسکوپر، تست دقیق فیشر و تی تست مستقل داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌های کمی از میانگین و انحراف معیار و برای توصیف داده‌های کیفی از تعداد و درصد استفاده شد. سطح خطای نوع اول ۰/۰۵ لحاظ شد.

### یافته‌ها

در این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شده که با هدف تعیین تاثیر ماست پروبیوتیک بر فراوانی کلستریدیوم دیفیسیل در بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان ولی عصر انجام شد، دو گروه ۶۶ نفره از بیماران واجد شرایط ورود به مطالعه، به مدت ۸ روز متوالی، ۲۰۰ گرم ماست پروبیوتیک (گروه آزمایش) یا ماست معمولی (گروه کنترل) در دو نوبت دریافت کردند. هر دو گروه به شکل ۱۰۰ درصد تحت درمان با سفتریاکسون و آزیترومایسین بودند و هیچ یک وانکومایسین یا مروپنم یا سیپروفلوکساسین دریافت نمی‌کردند.

در کل نمونه‌ها، میانگین و انحراف معیار سن در افراد مورد بررسی شده  $72/43 \pm 6/30$  سال بود. از کل بیماران مورد مطالعه

3. Polymerase Chain Reaction (PCR)

## جدول ۱. توزیع فراوانی خصوصیات جمعیت‌شناختی و تاریخچه در کل نمونه‌ها

متغیر	شاخص	تعداد (درصد)
متغیر جمعیت‌شناختی	جنس (مرد)	۶۷ (۵۰/۸)
	محل سکونت (شهر)	۴۱ (۳۱/۱)
بیماری زمینه‌ای	دیابت	۳۷ (۲۸)
	فشار خون	۵۷ (۴۳/۲)
	حوادث مغزی عروقی	۲ (۱/۵)
	بیماری ایسکمیک قلبی	۱۶ (۱۲/۱)
	بیماری مزمن تنفسی	۳۵ (۲۶/۵)
تاریخچه پزشکی	سابقه زخم پوستی	۶ (۴/۵)
	سابقه سابقه جراحی	۲ (۱/۵)
	سابقه اندوسکوپی	۵ (۳/۸)
	سابقه کولونوسکوپی	۰ (۰)
	بستری در بیمارستان در سه ماه تا یک سال قبل	۸ (۶/۱)
	بستری در بخش مراقبت ویژه در سه ماه تا یک سال قبل	۰ (۰)
	تماس با کودک در منزل	۱۱ (۸/۳)
مصرف دارو در دو ماه اخیر	آنتی‌بیوتیک (دو تا شش ماه گذشته)	۲۷ (۲۰/۵)
	کورتون	۷ (۵/۳)
	مصرف مسهل	۱۵ (۱۱/۴)
	مهار کننده پمپ پورتون (PPI)	۲۱ (۱۵/۹)
علائم اولیه	درد شکم	۶ (۴/۵)
	یبوست	۲۵ (۱۸/۹)
	تهوع	۱۳ (۹/۸)
	استفراغ	۴ (۳)
	بی‌اشتهایی	۳۳ (۲۵)
	تب	۴۱ (۳۱/۱)
	اسهال	۰ (۰)



برابر افزایش می‌دهد. نسبت شانس بروز عفونت کلستریدیوم دیفیسیل در افراد با سابقه بستری در بیمارستان، سابقه تماس با کودکان در منزل، مصرف دارو در جدول شماره ۵ ذکر شده است. شانس بروز تب در افراد مبتلا به عفونت کلستریدیوم دیفیسیل ۱/۷۸ برابر افراد غیرمبتلا به عفونت بود.

### بحث

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شده با هدف تعیین تأثیر ماست پروبیوتیک بر فراوانی کلستریدیوم دیفیسیل بر ۱۳۲ نفر بیمار با میانگین سنی ۷۲ سال بستری در بخش عفونی بیمارستان

با (سطح معنی‌داری: ۰/۰۵)، سابقه حوادث مغزی عروقی، سابقه بستری قبلی در بیمارستان در دو ماه گذشته، تماس با کودکان در منزل، مصرف آنتی‌بیوتیک در دو ماه گذشته، سابقه مصرف کورتون و مهارکننده‌های پمپ پورتون و وجود تب، ریسک‌عامل مساعدکننده ابتلا به عفونت کلستریدیوم دیفیسیل بود. نسبت شانس<sup>۴</sup> ابتلا به کلستریدیوم دیفیسیل در افراد با سابقه حوادث عروق مغزی ۱/۶۹ برابر افراد بدون سابقه ابتلا به حوادث قلبی عروقی است. همچنین سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته، شانس ابتلا به عفونت کلستریدیوم دیفیسیل را ۱/۹۷

4. Odd Ratio

جدول ۲. توزیع متغیرهای جمعیت‌شناختی و سوابق پزشکی و عوامل خطر در دو گروه آزمایش و کنترل

P	ماست معمولی	ماست پروبیوتیک	متغیر
۰/۷۸۴*	۷۲/۲۸±۶/۶۲	۷۲/۵۹±۶/۰۱	سن (میانگین ± انحراف معیار)
۰/۳۸۴*	۳۶ (۵۴/۵)	۳۱ (۴۷)	جنسیت (مرد) تعداد (درصد)
۰/۵۷۳*	۲۲ (۳۳/۳)	۱۹ (۲۸/۸)	محل سکونت (شهر) تعداد (درصد)
۰/۰۸۱*	۱۴ (۲۱/۲)	۲۳ (۳۴/۸)	دیابت
۰/۲۱۹*	۲۵ (۳۷/۹)	۳۲ (۴۸/۵)	فشارخون
۰/۴۹۶**	۰ (۰)	۲ (۳)	حوادث عروق مغزی
۰/۰۳۳*	۴ (۶/۱)	۱۲ (۱۸/۲)	بیماری ایسکمیک قلبی
۰/۸۴۴*	۱۸ (۲۷/۳)	۱۷ (۲۵/۸)	بیماری مزمن تنفسی
۱*	۳ (۴/۵)	۳ (۴/۵)	سابقه زخم پوستی
۰/۴۹۶**	۰ (۰)	۲ (۳)	سابقه جراحی
۰/۶۴۸*	۲ (۳)	۳ (۴/۵)	سابقه اندوسکوپی
۰/۰۲۹*	۱ (۱/۵)	۷ (۱۰/۶)	سابقه بستری در بیمارستان در سه ماه تا یک سال قبل
۰/۳۴۵*	۴ (۶/۱)	۷ (۱۰/۶)	تماس با کودک در منزل
۰/۶۹۸*	۳ (۴/۵)	۴ (۶/۱)	سابقه مصرف کورتون
۰/۴۱۱*	۶ (۹/۱)	۹ (۱۳/۶)	سابقه مصرف مسهل
۰/۰۳۳*	۶ (۹/۱)	۱۵ (۲۲/۷)	سابقه مصرف PPI (مهارکننده‌های پمپ پروتون)
۰/۰۵۲*	۹ (۱۳/۶)	۱۸ (۲۷/۳)	سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته



+ Fisher's Exact test: \*; Chi-Square: \*\*؛ سطح معنی‌داری: ۰/۰۵

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، سابقه مصرف کورتون، مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته، مهارکننده پمپ پروتون، سابقه تماس با کودک، سابقه بستری در بیمارستان و سابقه حوادث مغزی در بیماران کلستریدیوم دیفیسیل مثبت بیشتر است و بر اساس تست دقیق فیشر این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است. همچنین بر اساس آزمون آماری رگرسیون لجستیک دو متغیره، با احتساب کلستریدیوم دیفیسیل مثبت به عنوان متغیر وابسته، سابقه حوادث مغزی عروقی، بستری در بیمارستان در شش ماه گذشته، تماس با کودکان در منزل، سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در دو تا شش ماه گذشته، مصرف کورتون، مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتون و وجود تب، ریسک‌عامل بیماری بودند. اما سن، جنس، محل سکونت، سابقه جراحی، سابقه اندوسکوپی، زخم پوستی و نوع مصرف آنتی‌بیوتیک، مصرف مسهل شانس ابتلا به بیماری را افزایش نداد.

در مطالعه ویلکاکس و همکاران، شیوع کلستریدیوم دیفیسیل در بیماران بالای ۷۰ سال بستری در بیمارستان ۲/۱ درصد ذکر شده است و مصرف آنتی‌بیوتیک در چهار هفته گذشته، به‌ویژه استفاده همزمان از چند دارو، مصرف سفالوسپورین‌ها و بستری در بیمارستان در شش ماه گذشته ریسک‌عامل بیماری معرفی

ولی عصر انجام شد. در کل نمونه‌ها، سه بیماری شایع به ترتیب فشار خون بالا، دیابت و بیماری مزمن تنفسی بود. حدود ۲۰/۵ درصد بیماران سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته را داشتند.

شیوع کلستریدیوم دیفیسیل در این مطالعه ۳/۸ درصد بود و علائمی نظیر درد شکم، یبوست، تهوع و استفراغ و بی‌اشتهایی همراهی با عفونت مثبت نداشت. ولی در موارد مثبت، فراوانی نسبی تب بیشتر بود. در مطالعات مختلف شیوع توکسین کلستریدیوم دیفیسیل و اسهال ناشی از کلستریدیوم در بیماران بستری در بیمارستان در طیف گسترده‌ای از ۰/۱ درصد تا ۲ درصد گزارش شده است [۱۷-۱۳]. در مطالعه کوهورت اولسن و همکاران نیز در یک پی‌گیری ده‌ساله، میزان بروز سالانه ۱ تا ۴ درصد به دست آمد [۱۵]. در مطالعه زرین‌فر و همکاران در همین بیمارستان بر ۱۹۵ نفر بیمار بررسی شده ۱۴/۴ درصد توکسین کلستریدیوم مثبت بودند و تنها ۴/۱ درصد اسهال ناشی از کلستریدیوم داشتند [۱۴]. در مطالعه پین و همکاران در فاصله سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۳ شیوع کلستریدیوم دیفیسیل کاهش چشمگیری پیدا کرده است و عموماً جمعیت سالمندی در معرض خطر بیشتر همراه با مرگ‌ومیر بیشتر قرار گرفته است [۱۸].



جدول ۳. توزیع تظاهرات بالینی و موارد کلستریدیوم دیفیسیل در روز اول و هشتم مطالعه در دو گروه

P	تعداد (درصد)		متغیر	تظاهرات بالینی
	ماست معمولی	ماست پروبیوتیک		
۰/۰۹۵*	۱ (۱/۵)	۵ (۷/۶)	درد شکم	
۰/۰۳۹*	۱۵ (۲۲/۷)	۲۶ (۳۹/۴)	تب	
۰/۱۵۹*	۱۳ (۱۹/۷)	۲۰ (۳۰/۳)	بی‌اشتهایی	
۰/۰۴۶*	۸ (۱۲/۱)	۱۷ (۲۵/۸)	یبوست	توزیع تظاهرات بالینی در زمان ورود بیمار به بیمارستان (شروع مطالعه) در دو گروه
-	۰ (۰)	۰ (۰)	اسهال	
۰/۷۷۰*	۷ (۱۰/۶)	۶ (۹/۱)	تهوع	
۰/۳۱۰*	۳ (۴/۵)	۱ (۱/۵)	استفراغ	
۰/۱۷۱*	۱ (۱/۵)	۴ (۶/۱)	مثبت‌بودن کلستریدیوم دیفیسیل در شروع مطالعه	
-	۰ (۰)	۰ (۰)	درد شکم	
-	۰ (۰)	۰ (۰)	تب	
۰/۵۴۵*	۷ (۱۰/۶)	۵ (۷/۶)	بی‌اشتهایی	
۱*	۱۱ (۱۶/۷)	۱۱ (۱۶/۷)	یبوست	توزیع تظاهرات بالینی در روز هشتم بستری در دو گروه
-	۰ (۰)	۰ (۰)	اسهال	
-	۰ (۰)	۰ (۰)	تهوع	
-	۰ (۰)	۰ (۰)	استفراغ	
-	۰ (۰)	۰ (۰)	مثبت‌بودن کلستریدیوم دیفیسیل در روز هشتم	

\* Chi-Square ؛ سطح معنی‌داری: ۰/۰۵



را برای مخفی شدن کلستریدیوم دیفیسیل و ایجاد توکسین‌های آن فراهم می‌کنند، ثانیاً به نظر می‌رسد افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلستریدیوم دیفیسیل به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها کلیندامایسین و فلوروکینولون‌ها نقش مهمی در افزایش ویرولانس آن داشته باشد [۵]. آنتی‌بیوتیک‌هایی که نقش عمده‌ای در مستعد کردن میزبان به اسهال مرتبط به کلستریدیوم دیفیسیل دارند، شامل فلوروکینولون‌ها، کلیندامایسین، طیف وسیعی از پنی‌سلین‌ها و سفالوسپورین‌ها هستند. هر آنتی‌بیوتیکی حتی مترونیدازول و وانکومایسین که در درمان کلستریدیوم دیفیسیل نقش دارند می‌توانند کولیت وابسته به آنتی‌بیوتیک ایجاد کنند. استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از چندین آنتی‌بیوتیک و افزایش دوره درمان با آنتی‌بیوتیک، از عواملی هستند که شیوع اسهال ناشی از کلستریدیوم دیفیسیل را افزایش می‌دهند [۲۱، ۵].

طبق نتایج مطالعه فریمن و همکاران در بررسی اپیدمیولوژیک عفونت کلستریدیوم به این نتیجه رسیدند که استفاده روزافزون از تکنیک تشخیصی ریبوتایپ PCR منجر به افزایش آمار تشخیصی شده و هم‌زمان تغییرات شگرفی در درمان، عوارض و پیامدهای بیماری شده است [۲۲].

در این مطالعه گروه سنی سالمندان بررسی شده بود. بر اساس

شده است، در حالی که تماس با کودکان کوچک‌تر از دو سال، مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتون یا مصرف داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی شانس ابتلا را افزایش نداده است [۱۹].

بر اساس مطالعه دیال و همکاران اسهال ناشی از کلستریدیوم در ۶/۸ درصد بیماران بستری گزارش شد و بر اساس رگرسیون چندمتغیره، مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتون، نارسایی کلیوی، جنس زن و سابقه بستری در بیمارستان در سه ماه گذشته از عوامل بیماری بودند [۲۰].

بر اساس یافته‌های مطالعه مک‌دونالد و همکاران در ۲۰۰۵، شیوع کلستریدیوم دیفیسیل هفت درصد بیان شده است و استفاده از آنتی‌بیوتیک عمده‌ترین عامل خطر شناخته شده برای اسهال مرتبط با کلستریدیوم دیفیسیل در نظر گرفته شد. سایر عوامل خطر مطرح شده شامل بستری شدن در بیمارستان، سن بالا و بیماری شدید بود. عوامل خطر احتمالی مطرح شده در مطالعه شامل مهار کردن اسید معده، تغذیه روده‌ای، جراحی گوارشی، شیمی درمانی و پیوند سلول‌های بنیادی بود [۵]. در مطالعه مک‌دونالد و همکاران آمده است که دو نقش عمده برای آنتی‌بیوتیک‌ها در پاتوژنز کلستریدیوم دیفیسیل مطرح است اول اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها فلور نرمال روده را از بین می‌برند و شرایط

جدول ۴. ارتباط تظاهرات بالینی و سوابق پزشکی با مثبت بودن کلستریدیوم دیفیسیل در ابتدای مطالعه

P	تعداد (درصد)		تظاهرات بالینی و سوابق پزشکی
	کلستریدیوم منفی در شروع مطالعه	کلستریدیوم مثبت در شروع مطالعه	
۰/۰۰۳*	۳۶ (۲۸/۳)	۵ (۱۰۰)	تب
۱°	۶ (۴/۷)	۰ (۰)	درد شکم
۰/۴۳۷**	۱۲ (۹/۴)	۱ (۲۰)	حالت تهوع
۱°	۴ (۳/۱)	۰ (۰)	استفراغ
-	۰ (۰)	۰ (۰)	اسهال
۱°	۲۴ (۱۸/۹)	۱ (۲۰)	یبوست
۰/۰۹۹*	۳۰ (۲۳/۶)	۳ (۶۰)	بی‌اشتهایی
۰/۰۰۳*	۱۷ (۱۳/۴)	۴ (۸۰)	سابقه مصرف PPI
۰/۰۰۱*	۴ (۳/۱)	۳ (۶۰)	سابقه مصرف کورتون
۰/۰۰۶*	۲۳ (۱۸/۱)	۴ (۸۰)	سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته
۰/۰۰۴*	۸ (۶/۳)	۳ (۶۰)	سابقه تماس با کودک در منزل
۰/۶۱۹*	۳۵ (۲۷/۶)	۲ (۴۰)	دیابت
۰/۰۰۱*	۵ (۳/۹)	۳ (۶۰)	سابقه بستری در بیمارستان در سه ماه تا یک سال گذشته
۰/۱۱۱*	۱۴ (۱۱)	۲ (۴۰)	سابقه بیماری ایسکمیک قلبی
۰/۰۰۱*	۱ (۰/۸)	۱ (۲۰)	سابقه حوادث مغزی



\*Fisher's Exact test; \*\*Chi-Square; سطح معنی‌داری: ۰/۰۵

نقش نوع آنتی‌بیوتیک بر بروز کلستریدیوم دیفیسیل نبود. بر اساس مطالعه آرونسون و همکاران، سفالوسپورین‌ها قوی‌ترین عامل آنتی‌میکروبیال همراه با کلستریدیوم دیفیسیل معرفی شده‌اند [۲۴]. نتایج مطالعه هاوول و همکاران نشان داد مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتون خطر ابتلا به عفونت کلستریدیوم دیفیسیل را ۰/۹ درصد تا ۱/۴ درصد افزایش می‌دهد. در حالی که مصرف آنتی‌اسید این خطر را به میزان ۰/۶ درصد بالا می‌برد

مطالعه ریگ و همکاران در سال ۲۰۰۷، سن بالا با افزایش شدت اسهال مرتبط با کلستریدیوم دیفیسیل رابطه داشت [۲۳]. علت این ارتباط نامشخص و شاید چندعاملی باشد. عوامل مربوط به میزبان شامل پاسخ ایمنی به عفونت کلستریدیوم دیفیسیل و بیماری‌های همراه سالمندی از جمله این علل است [۸، ۱۷، ۲۳].

در مطالعه ما همه بیماران آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون و آزیترومایسین مصرف می‌کردند و بنابراین امکان بررسی

جدول ۵. نسبت شانس ابتلا به کلستریدیوم دیفیسیل

متغیر	B <sup>1</sup>	SE <sup>2</sup>	Wald <sup>3</sup>	Df <sup>4</sup>	Sig. <sup>5</sup>	Exp (B)=odd ratio <sup>6</sup>
حوادث مغزی عروقی	۰/۶۶۶	۰/۰۲۷	۶۰۳/۲۳	۱	۰/۰۰۰	۱/۶۹
سابقه بستری در بیمارستان	۰/۳۴۸	۰/۰۱۲	۴۵۰/۵۵	۱	۰/۰۰۰	۱/۴۵
تماس با کودکان در منزل	۰/۶۷۸	۰/۰۳۴	۷۰۱/۳۴	۱	۰/۰۰۰	۱/۸۹
مصرف آنتی‌بیوتیک در شش ماه گذشته	۰/۳۴۸	۰/۰۴۱	۳۴۷/۹۸	۱	۰/۰۰۰	۱/۹۷
مصرف داروهای استروئیدی	۰/۴۵۸	۰/۰۳۳	۵۶۷/۰۳	۱	۰/۰۰۰	۱/۵۳
مصرف داروهای مهارکننده پمپ پروتون	۰/۳۸۸	۰/۰۴۱	۴۵۷/۹۰	۱	۰/۰۰۰	۱/۳۹
تب	۰/۴۵۸	۰/۰۳۴	۳۴۶/۷۸	۱	۰/۰۰۰	۱/۷۸

۱. ضریب ثابت رگرسیون؛ ۲. خطای معیار؛ ۳. آماره والد؛ ۴. درجه آزادی؛ ۵. مقدار P value؛ ۶. نسبت شانس



شده بود که کولیت و اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها کاهش یافت [۲۹، ۳۰]. بنابراین به نظر می‌رسد نوع پروبیوتیک به کاررفته در این موضوع تأثیر داشته باشد.

### نتیجه‌گیری

طبق نتایج مطالعه حاضر استفاده از ماست پروبیوتیک در مقایسه با ماست معمولی تأثیر معنی‌داری در کاهش شیوع کلاستریدیوم دیفیسیل و علائم کولیت بیماران ندارد. مطالعات چندمرکزی با حجم نمونه بیشتر برای بررسی بیشتر در این خصوص لازم است.

در مجموع مطالعات اندکی با نتایج متناقض در خصوص پروبیوتیک‌ها و کلاستریدیوم دیفیسیل وجود دارد که همین موضوع منجر به دشواری مقایسه شد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر، تعداد کم بیماران کلاستریدیوم دیفیسیل مثبت در طول مطالعه بود که امکان بررسی اثر پروبیوتیک را محدود می‌کرد. بنابراین مطالعات با حجم نمونه بیشتر توصیه می‌شود. همچنین تهیه ماست پروبیوتیک با توجه به امکانات و شرایط موجود در بیمارستان مقدور نبود که پس از بررسی بین ماست‌های تولیدی از ماست پروبیوتیک کم‌چرب کاله با حفظ زنجیره سرما استفاده شد. مدت نسبتاً کوتاه بستری بیماران در بیمارستان، به نوعی بررسی اثر درازمدت ماست پروبیوتیک و اثر آنتی‌بیوتیک بر کلاستریدیوم دیفیسیل را محدود می‌کرد. وجود تنها یک بیمارستان مرجع در شهر اراک امکان بررسی و نمونه‌گیری چندمرکزی را محدود می‌کرد. از این رو پیشنهاد می‌شود مطالعات وسیع‌تر با حجم نمونه بیشتر و مدت زمان پی‌گیری طولانی‌تر در زمینه تأثیرات پروبیوتیک‌ها بر پیشگیری و کنترل عفونت‌های گوارشی ناشی از کلاستریدیوم دیفیسیل انجام شود.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش با کد اخلاق ۱۰-۱۶۵-۹۳ در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اراک تأیید و با کد IRCTID IRCT2016092229915N1 در مرکز ثبت مطالعات کارآزمایی بالینی ثبت شده است.

#### حامی مالی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکترای تخصصی عفونی دستیار دانشگاه علوم پزشکی اراک، الهه اقبال، است. همچنین معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اراک، تأمین مالی این پژوهش را بر عهده داشتند.

#### مشارکت‌نویسندگان

[۲۵]. در مطالعه حاضر هم، مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتون از ریسک‌عوامل بیماری بود، ولی مصرف منیزیم هیدروکساید، شانس ابتلا را افزایش نداد. ساندر و همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند اسیدپتیه معده مهم‌ترین سازوکار دفاعی بدن در برابر کلونیزاسیون پاتوژن‌های بلع‌شده است و مصرف ساپرس‌کننده‌های اسید معده نظیر مهارکننده‌های پمپ پروتون با افزایش PH معده و تأثیر بر عملکرد لوکوسیت‌ها هم‌زمان با افزایش شانس ابتلا به عفونت‌های تنفسی، باعث افزایش شانس عفونت‌های رودهای نیز می‌شوند [۲۰]. کانینگهام و همکاران نیز، استفاده وسیع از آنتی‌بیوتیک‌ها و مصرف بیش از هشت هفته‌ای مهارکننده‌های پمپ پروتون را عامل خطر کلاستریدیوم دیفیسیل بیان کرده‌اند [۲۶].

در مطالعه ما هیچ‌یک از بیماران کولونوسکوپی نشده بودند و آندوسکوپی نیز ریسک‌عامل بیماری نبود. در مطالعه رودمان و همکاران شیوع اسهال ناشی از کلاستریدیوم در بیماران مبتلا به بیماری‌های التهابی روده بیش از دو برابر افراد سالم بود و به همین نسبت، شانس بستری در بیمارستان و انجام مداخلات تشخیصی و درمانی، نظیر آندوسکوپی و کولونوسکوپی بیشتر بود [۲۷]. در مطالعه لویس و همکاران با عنوان تأثیر پری‌بیوتیک اولیگوفروکتوز بر عود اسهال ناشی از کلاستریدیوم، کاهش چشمگیر عود اسهال و مدت بستری کمتر در بیمارستان گزارش شده است [۲۸]. عوامل خطری نظیر سن بیشتر از ۶۵ سال، بیماری وخیم زمینه‌ای نظیر حوادث قلبی‌عروقی یا مزمن تنفسی، اقدامات تهاجمی دستگاه گوارش نظیر آندوسکوپی و لوله معده‌ای، مسهل‌ها و دارودرمانی زخم معده، سابقه بستری در بیمارستان و یا بخش مراقبت‌های ویژه و تنقیه باریم عموماً با تهاجم به مخاط دفاعی دستگاه گوارشی و تغییر در فلور طبیعی آن به افزایش خطر ابتلا به عفونت کلاستریدیوم منجر شده و شانس مواجهه با عامل بیماری را افزایش می‌دهد [۴].

در مطالعه ما نسبت کاهش بروز کلاستریدیوم دیفیسیل مثبت در روز هشتم مطالعه به نسبت زمان ورود به مطالعه وجود داشت، ولی از نظر آماری این کاهش بین دو گروه معنی‌دار نبود. همچنین ماست پروبیوتیک نتوانسته بود بر علائم و عوارض مصرف آنتی‌بیوتیک نسبت به گروه شاهد تغییری ایجاد کند. طبق نتایج مطالعه زرین‌فر و همکاران نیز استفاده از پروبیوتیک لاکتوباسیلوس تأثیر معنی‌داری بر کاهش اسهال ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها نداشت، اگرچه علائم را تخفیف داده بود. کارآزمایی‌های بالینی محدودی در خصوص بررسی تأثیر پروبیوتیک‌ها بر کلاستریدیوم دیفیسیل وجود دارد و این موضوع همچنان نیاز به تحقیق گسترده دارد [۱۳]. در مطالعه سانگ و همکاران که از پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس در بیماران تحت‌درمان با آنتی‌بیوتیک استفاده کردند، نتایج مشابه مطالعه حاضر به دست آمد. در مطالعه کارآزمایی بالینی که توماس و همکاران انجام دادند، از لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و ساکارومایسیز تر موفیلوس استفاده

مفهوم‌سازی: معصومه صوفیان، الهه اقبال، پگاه محقق؛ تحقیق و بررسی: الهه اقبال، احسان الله غزنوی راد، آمیتیس رضائی، معصومه صوفیان؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: معصومه صوفیان، پگاه محقق. همچنین نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی را بر اساس پیشنهادهای کمیته بین‌المللی ناشران مجلات پزشکی (ICMJE) داشتند.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از کارکنان بخش عفونی و آزمایشگاه بیمارستان ولی‌عصر تشکر و قدردانی کنند که در انجام این پژوهش همکاری کردند.

## References

- [1] Efron PA, Mazuski JE. *Clostridium difficile* colitis. *Surg Clin North Am*. 2009; 89(2):483-500. [DOI:10.1016/j.suc.2008.09.014] [PMID]
- [2] Alcantara CS, Guarrant RL. Update on *Clostridium difficile* infection. *Curr Gastroenterol Rep*. 2000; 2(4):310-4. [DOI:10.1007/s11894-000-0024-x]
- [3] Bujanda L, Cosme A. [Clostridium-difficile-associated diarrhea (Spanish)]. *Gastroenterol Hepatol*. 2009; 32(1):48-56. [DOI:10.1016/j.gastrohep.2008.02.003] [PMID]
- [4] Brown E, Talbot GH, Axelrod P, Provencher M, Hoegg C. Risk factors for *Clostridium difficile* toxin-associated diarrhea. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1990; 11(6):283-90. [DOI:10.2307/30145487] [PMID]
- [5] McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2005; 353(23):2433-41. [DOI:10.1056/NEJMoa051590] [PMID]
- [6] Liu Y, Tran DQ, Rhoads JM. Probiotics in disease prevention and treatment. *J Clin Pharmacol*. 2018; 58 (Suppl. 10):S164-79. [DOI:10.1002/jcph.1121] [PMID] [PMCID]
- [7] Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *clostridium difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol*. 2011; 4(3):185-97. [DOI:10.1177/1756283X11399115] [PMID] [PMCID]
- [8] Marley C, El Hahi Y, Ferreira G, Woods L, Ramirez Villaescusa A. Evaluation of a risk score to predict future *Clostridium difficile* disease using UK primary care and hospital data in clinical practice research datalink. *Hum Vaccin Immunother*. 2019; 4:1-7. [DOI:10.1080/21645515.2019.1589288] [PMID]
- [9] Pareja Sierra T, Hornillos Calvo M. [*Clostridium difficile* associated diarrhea in the elderly patient (Spanish)]. *Rev Clin Esp*. 2007; 207(2):86-90. [DOI:10.1157/13100203] [PMID]
- Kazakova SV, Baggs J, McDonald LC, Yi SH, Hatfield KM, Guh A, et al. Association between antibiotic use and hospital-onset clostridioides difficile infection in US acute care hospitals, 2006-2012: An ecologic analysis. *Clin Infect Dis*. 2019; pii:ciz169 [DOI:10.1093/cid/ciz169] [PMID]
- [10] Sachu A, Dinesh K, Siyad I, Kumar A, Vasudevan A, Karim S. A prospective cross sectional study of detection of *Clostridium difficile* toxin in patients with antibiotic associated diarrhoea. *Iran J Microbiol*. 2018; 10(1):1-6. [PMID] [PMCID]
- [11] Kim G, Zhu NA. Community-acquired *Clostridium difficile* infection. *Can Fam Physician*. 2017;63(2):131-2. [PMID] [PMCID]
- [12] Miller M. The fascination with probiotics for *Clostridium difficile* infection: lack of evidence for prophylactic or therapeutic efficacy. *Anaerobe*. 2009; 15(6):281-4. [DOI:10.1016/j.anaerobe.2009.08.005] [PMID]
- [13] Zarinfar N, Sarmadian H, Esmaili A. [Effect of probiotic preparation in preventing antibiotic associated diarrhea and colitis: A clinical trial (Persian)]. *Iran South Med J*. 2014; 17(3):368-76.
- [14] Olson MM, Shanholtzer CJ, Lee JT, Jr., Gerding DN. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1994; 15(6):371-81. [DOI:10.2307/30145589] [PMID]
- [15] Tabaqchali S, Wilks M. Epidemiological aspects of infections caused by bacteroides fragilis and clostridium difficile. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1992; 11(11):1049-57. [DOI:10.1007/BF01967798] [PMID]
- [16] Moens A, Verstockt B, Machiels K, Bossuyt P, Verdonck A, Lagrou K, et al. *Clostridium difficile* infection in inflammatory bowel disease: Epidemiology over two decades. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2019; 31(6):668-73. [DOI:10.1097/MEG.0000000000001394] [PMID]
- [17] Pepin J, Valiquette L, Alary ME, Villemure P, Pelletier A, Forget K, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: A changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2004; 171(5):466-72. [DOI:10.1503/cmaj.1041104] [PMID] [PMCID]
- [18] Wilcox MH, Mooney L, Bendall R, Settle CD, Fawley WN. A case-control study of community-associated clostridium difficile infection. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62(2):388-96. [DOI:10.1093/jac/dkn163] [PMID]
- [19] Dial S, Alrasadi K, Manoukian C, Huang A, Menzies D. Risk of clostridium difficile diarrhea among hospital inpatients prescribed proton pump inhibitors: Cohort and case-control studies. *CMAJ*. 2004; 171(1):33-8. [DOI:10.1503/cmaj.1040876] [PMID] [PMCID]
- [20] Giannella RA. Antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* colitis: An update. *Rev Esp Enferm Dig*. 2001; 93(8):535-43. [PMID]
- [21] 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. [DOI:10.1128/CMR.00082-09] [PMID] [PMCID]
- [22] Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, Eckstein EC, Jump RL, Donskey CJ. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clin Infect Dis*. 2007; 45(8):992-8. [DOI:10.1086/521854] [PMID]
- [23] Aronsson B, Mollby R, Nord CE. Antimicrobial agents and *Clostridium difficile* in acute enteric disease: Epidemiological data from Sweden, 1980-1982. *J Infect Dis*. 1985; 151(3):476-81. [DOI:10.1093/infdis/151.3.476] [PMID]
- [24] Howell MD, Novack V, Grgurich P, Soulliard D, Novack L, Pencina M, et al. Iatrogenic gastric acid suppression and the risk of nosocomial clostridium difficile infection. *Arch Intern Med*. 2010; 170(9):784-90. [DOI:10.1001/archinternmed.2010.89] [PMID]
- [25] Cunningham R, Dale B, Undy B, Gaunt N. Proton pump inhibitors as a risk factor for clostridium difficile diarrhoea. *J Hosp Infect*. 2003; 54(3):243-5. [DOI:10.1016/S0195-6701(03)00088-4]
- [26] Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo DH, Stone CD. Incidence of clostridium difficile infection in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5(3):339-44. [DOI:10.1016/j.cgh.2006.12.027] [PMID]
- [27] Lewis S, Burmeister S, Brazier J. Effect of the prebiotic oligofructose on relapse of clostridium difficile-associated diarrhea: A randomized, controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; 3(5):442-8. [DOI:10.1016/S1542-3565(04)00677-9]
- [28] Song HJ, Kim JY, Jung SA, Kim SE, Park HS, Jeong Y, et al. Effect of probiotic lactobacillus (Lacidofil® cap) for the prevention of antibiotic-associated diarrhea: A prospective, randomized, double-blind, multicenter study. *J Korean Med Sci*. 2010; 25(12):1784-91. [DOI:10.3346/jkms.2010.25.12.1784] [PMID] [PMCID]
- [29] Thomas MR, Litin SC, Osmon DR, Corr AP, Weaver AL, Lohse CM. Lack of effect of lactobacillus GG on antibiotic-associated diarrhea: A randomized, placebo-controlled trial. *Mayo Clin Proc*. 2001; 76(9):883-9. [DOI:10.4065/76.9.883]

---

This Page Intentionally Left Blank

---