

ความสำคัญของคลอสตริเดียม ดิฟฟิซายล์ ในทางแพทย์

นราทร ธรรมบุตร*

กวี ภูไพบูลย์*

สร้อยทอง สร้อยกระโทก*

เกิดภูมิ มีนาภินันท์**

Dhamabutra N, Puphaibul K, Soi-Kratog S, Menapinundi K, Clostridium difficile of Medical importance. Chula Med J 1985 Oct; 29(10) : 1139-1152

The Bacteriology of Cl. difficile, including morphologic characters, biological products and important biochemical behaviours are mentioned in detail. The role of this anaerobe in association with various diseases and conditions are reviewed.

Clostridium difficile is the anaerobic microbial flora of human-small intestine.

On some occasions, Cl. difficile multiply and substantial amount of specific toxins are released causing pseudomembranous colitis and diarrhoea. The colitis is sometimes life-threatening if one is ignorant of its etiology and management. In this article, therefore, the topics of pathogenesis, treatment, the incidence and role of the disease in Thailand, the problems of laboratory diagnosis are also discussed.

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คลอสทริเดียม ดิฟฟิซิลิส (*Cl. difficile*) เป็นแอนแอโรบัสแกรมบวก มี oval subterminal spores เป็นบาซิลไลชนิด rods ตัวสั้น active motile โดยใช้ 5-6 peritrichous flagella *Cl. difficile* มีชื่อพ้องคือ *Bacillus difficilis* พบครั้งแรกโดย Hall และ O'Toole ค.ศ. 1938

1. นิเวศวิทยา

Cl. difficile เป็นนอร์มัล ฟลอรา มีจำนวนไม่มากนักในลำไส้คนปกติ แต่พบมากในอุจจาระเด็ก (infant) ปกติระหว่างขวบปีแรก และพบในอุจจาระของสัตว์หลายชนิด เป็นแอนแอโรบัสประจำช่องคลอดของสตรีเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนั้นพบในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน ทราายและหญ้าแห้ง ฉะนั้นแอนแอโรบัสนี้มีอยู่ทั่วไป และอาจทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานถึง 3 ปี ในผู้ใหญ่ที่ปกติ พบแอนแอโรบัสนี้ได้ 4 ใน 137 ราย (ร้อยละ 3) และอีกรายงานหนึ่งไม่พบ *Cl. difficile* เลย ใน 11 ราย ในเด็กแรกเกิดที่ปกติพบแอนแอโรบัสนี้ได้ประมาณร้อยละ 50 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเด็กได้รับแอนแอโรบัสนี้จากช่องคลอดในระหว่างการคลอด ในเด็กปกติอายุ 2 สัปดาห์ ถึง 1 ขวบ พบแอนแอโรบัสนี้ในอุจจาระได้ร้อยละ 15

2. สัณฐานวิทยา

ก. จุดสัณฐาน

แกรมบวก oval subterminal spores บางที่เป็น short, thick rods, peritrichous flagella บางแห่งรายงานว่าพบ spore แบบ terminal non swollen spore

ข. มหสัณฐาน

ใน media พิเศษ (selective media) ที่ผสม cycloserine และ cefoxitin ด้วย หลัง 48

ชั่วโมง จะเห็นโคโลนีมีลักษณะนูน ขอบเรียบ สีสะท้อนแสง

ใน deep agar มีลักษณะ flat discoid colonies ไม่เห็นก๊าซใน deep agar

3. สมบัติทางชีวเคมี

เป็นแอนแอโรบัสประเภท strict anaerobes อุณหภูมิที่ชอบ (optimum temperature) 37°C

ก. สามารถ

- grow ใน glucose broth ให้ก๊าซ
- ใน brain medium ให้สีดำของก๊าซ H₂S
- ferments คาร์โบไฮเดรต glucose, fructose, manitol, salicin และน้ำตาล xylose เกิดกรดและก๊าซ

ข. ไม่สามารถ

- liquify เยลาติน
- digest-milk
- digest coagulated serum

4. Biological characteristics

เป็นแอนแอโรบัสที่ขับสารพิษ cytotoxin และ enterotoxin จำนวน สารพิษที่ขับออกมาเป็นปฏิภาคตรงกับจำนวนแอนแอโรบัสที่มีในอุจจาระ Sullivan (1982) สามารถแยกสารพิษของ *Cl. difficile* ด้วยวิธี ion exchange chromatography โดยใช้ DEAE-Na CL gradients ได้ท็อกซิน A และ B สารพิษทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นโปรตีน สามารถย่อยได้ด้วย trypsin และ chymotrypsin กรดและความร้อนทำลายโปรตีนนี้ได้ ขนาดน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน คือ ท็อกซิน A ขนาด 440,000-500,000 กรัม. ท็อกซิน B น.น. โมเลกุล 360,000-470,000 กรัม

คุณสมบัติทางชีววิทยาต่างกันคือ

สารพิษ A สามารถให้ fluid response ใน rabbit intestinal loops และ infant mice จึงเป็น enterotoxin ส่วนสารพิษ B ไม่ก่อเกิด fluid response แต่ทำให้ infant mice ตายได้ จึงเป็น cytotoxin สารพิษ ทั้ง 2 ชนิดทำให้เกิด erythematous และ hemorrhagic skin reaction และเพิ่ม vascular permeability ใน rabbit skin

มีแอนแอโรบัสอีกสายพันธุ์หนึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *Cl. difficile* แต่เป็นพันธุ์ที่ (natural inhabitat) อยู่ในดิน แอนแอโรบัสนั้น คือ *Cl. sordellii* ซึ่งมี somatic antigens composition พ้องกับ *Cl. difficile* มาก (ตารางที่ 1)

ฉะนั้น แม้ว่าแยก *Cl. difficile* จากอุจจาระผู้ป่วยได้ด้วยความยากลำบาก อาจใช้วิธีการทาง serology เพื่อหาระดับ toxin หรือ antibody ของ *Cl. difficile* แต่ใช้ *Cl. sordellii* เพราะ *Cl. sordellii* เเพาะเลี้ยงและหาได้ง่ายกว่า *Cl. difficile* (ตารางที่ 1)

มีผู้ศึกษาโดยฉีด cell-free supernatant ของน้ำเลี้ยงแอนแอโรบัสนี้เข้าใต้ผิวหนังของหนูตะเภาและกระต่ายทำให้สัตว์ทดลองนั้นตายได้

Heat labile toxin เพื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังสัตว์ทดลอง จะทำให้ผิวหนังบวม, มีเนื้อตาย (necrosis) ใน 24-48 ชั่วโมง และสัตว์จะตายในเวลา 3-9 วัน

5. พยาธิสภาพและพยาธิกำเนิด

ตั้งแต่ ค.ศ. 1880 เริ่มมีผู้ใช้คำว่า "Pseudomembranous enterocolitis" ซึ่งมีพยาธิสภาพในทางเดินอาหาร ลักษณะ pseudomembranous ส่วนมากพบใน autopsy เพราะผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพนี้มักจะตายเสมอ มีผู้เรียกโรคนี้ว่า pseu-

domembranous colitis (PMC) เพราะมีพยาธิสภาพ confined อยู่แต่ในลำไส้ใหญ่

ต่อมาเมื่อผู้พยายามค้นหาเหตุ (etiology) และพยาธิกำเนิดของโรคนี้ และพบว่าโรค PMC มีความสัมพันธ์กับ

ก. โรคและสภาวะอื่นๆ (PMC associated with other conditions and diseases) PMC มักพบรวมกับการผ่าตัดลำไส้ และยังมีประวัติรักษาด้วยยาต้านจุลินทรีย์ร่วมด้วยโรคความดันเลือดต่ำ นอกจากนั้นโรค PMC มักเกิดร่วมกับผู้ที่มีภาวะไตวาย โรคพิษจากโลหะหนัก มะเร็งลำไส้ ซึ่งทำให้ลำไส้อุดตันหรือขาดเลือดเลี้ยง โรคระบบหัวใจ และหลอดเลือด และบางครั้งกลับพบโรคนี้ในคนที่ปกติแข็งแรงดีด้วย

ข. แอโรบิก สแตฟีโลค็อกคัส เอาเรียส (*Staphylococcus aureus* associated PMC)

มีผู้พบแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ใน pseudomembrane ผู้ป่วยมักมีอาการอุจจาระร่วง บางรายมีไข้ และหลังผ่าตัดได้รับยาต้านจุลินทรีย์ ส่วน *Staphylococcus aureus* พบอยู่ราวร้อยละ 10.30 อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่เป็น staphylococcus enterocolitis บางรายเท่านั้นที่พบ pseudomembranous ซึ่งโรคนี้ไม่รุนแรงและหายเองได้ ต่างกับโรค PMC ซึ่งรุนแรงและมักตาย

ค. โรค vascular insufficiency (vascular-insufficiency associated PMC)

การขาดเลือดไปเลี้ยงทางเดินอาหารอาจเป็นเหตุ ทำให้เกิดโรค PMC ซึ่งมีผู้พยายามหาปฏิบัติการมาสนับสนุน เช่น

ผู้ป่วยที่ตายด้วยโรค post operative enterocolitis แต่พบมี hyaline thrombi ในหลอดเลือดชั้น submucosa บางรายเท่านั้น

การศึกษาในระยะหลังพบว่ามียาด้านบักเตรียที่เกี่ยวข้องกับโรค PMC เพิ่มขึ้นอีกคือ

Lincomycin, clindamycin, ampicillin tetracycline, penicillin, amoxycillin, co-trimoxazole สาเหตุอาจมาจากพิษของยาด้านจุลินทรีย์ในลำไส้ขาดเลือดไปเลี้ยง การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้ ไวรัสและสารพิษ

อย่างไรก็ตาม ในช่วงเวลาไม่กี่ปีที่ผ่านมา Bartlett และคณะ พิสูจน์ให้เห็นอย่างเด่นชัดว่า

etiologic role ของโรค PMC เกิดจากแอนแอโรบิค *Cl. difficile* (โดยใช้ Syrian hamster model)

ง. **Etiological role** ของ *Cl. difficile* ในหนู hamster model

ในระยะหลังนี้ *Cl. difficile* เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ของ antibiotic associated PMC การศึกษา PMC จาก clindamycin ใน hamster พบหลักฐานที่สนับสนุนหลายประการ เช่น

Table 1 Significant characters of *Cl. sordellii* and *Cl. difficile*

Important items	<i>Cl. sordellii</i> (1927)	<i>Cl. difficile</i> (1938)
Synonym	Bacillus-edematis sporogenes	Bacillus difficile
Habitat	Soil, putrid gangrene, appendix Quite frequent	Intestinal tract of new born Quite frequent
Physiology	Strict anaerobe	Strict anaerobe
Optimum	37° C	37° c
Survival temperature	more than 3 years	3 years
Culture	Gas and putrid odor	Gas produced
-deep colonies	Arborescent colonies	Flat, discoid colonies
-blood agar	Dew drop colonies	Same
Glucose broth	Viscous zoogloea, repulsive odor	Turbid, gas
Gelatin	Liquefaction	NO
Carbohydrates	Glucose +, fructose - Highly pathogenic	Same
Pathogenicity (experimental)	Fatal to rabbit within 24 hrs.	Highly pathogenic to mouse and guinea pig.
Toxin	Thermolabile. Not neutralized by anti-gas gangrene sera	Enterotoxin
Pathogenicity (natural)	gas gangrene, appendicitis icterohemorrhagica in cattle.	PMC or AAC ⁺⁺

+ = acid and gas production

++ PMC = pseudomembranous colitis

AAC = Antibiotic associated colitis

(Prévot 1966)

สามารถถ่ายทอดโรคนี้โดยเอา caecal contents ของ hamster ที่เกิด antibiotic induced typhlitis* ฉีดเข้า caecum hamster ตัวอื่น ส่วนที่ทำให้เกิดโรค สามารถรอดผ่านรูกระดากทรง ขนาด 0.02 ไมโครเมตรได้

จ. กัมพาคันแบ็กทีเรีย (Antibiotic associated PMC)

ระหว่างปี ค.ศ. 1950-1960 น่าสังเกตว่ายาต้านจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับโรค PMC บ่อยที่สุด คือ คลอแรมเฟนิคอลล และเตตราเซอัยคลิน ในระยะนั้น การตรวจชิ้นเนื้อจากศพพบ pseudomembranous ที่ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ (ตารางที่ 2)

ฉ. โรคอุจจาระร่วงเนื่องจากแอนแอโรบิก *Cl.-difficile*

เมื่อเร็ว ๆ นี้มีโรคอุจจาระร่วงระบาด (out break) ในสถานเลี้ยงเด็ก (day care centers) ถึง 3 แห่ง ซึ่งมีหลักฐานทางสถิติยืนยันว่าเกิดจาก enterotoxin ของ *Cl. difficile* (ตารางที่ 3) ยิ่งไปกว่านั้นยังแสดงให้เห็นว่า การระบาดเป็นการติดต่อกันจากผู้ป่วยเด็กคนหนึ่งไปยังเด็กปกติ (person to person spreading)

จนถึงปัจจุบันนี้พอสรุปพยาธิกำเนิดและพยาธิสภาพของโรคได้ดังนี้; เมื่อผู้ป่วยได้รับปฏิชีวนะเข้าไประยะหนึ่ง ยาแอนตี้ไบโอติกนั้นจะไปรบกวน นอร์มัล ฟลอรา ในลำไส้ใหญ่ โดยมีรายงานว่า *Eubacterium spp.*, *Bacteroides spp.* และพวก anaerobic cocci ลดจำนวนลง ในขณะที่ *Clostridium difficile* ซึ่งเป็น indigenous flora ในผู้ป่วยอยู่แล้ว หรือจะมาจากภายนอก (exo-genous flora) ก็ตามจะเพิ่มปริมาณขึ้น คลอสตริเดียม

ดิฟฟิซายล์จะใช้ surface receptor เกาะกับเยื่อเมือกภายในผนังลำไส้ คั่นต่อมา แอนแอโรบิสนี้จะผลิตสารพิษ A และสารพิษ B โดยที่สารพิษ เอ ก่อเกิดอาการท้องร่วง ส่วนสารพิษบี จะทำลายผิวเยื่อเมือก (mucosal surface) เกิดเป็นเยื่อบางสีขาว เป็น pseudomembrane และในที่สุดก่อเกิดลำไส้ใหญ่อักเสบ (colitis) สารพิษจะออกฤทธิ์ต่อเยื่อเมือกภายในลำไส้ได้ หรือไม่ ขึ้นอยู่กับ mucosal surface ของผู้นั้นว่ามี toxin receptors หรือไม่? นอกจากนั้นยังต้องอาศัยแฟกเตอร์อื่นอีกหลายอย่าง เช่น

5.1 pH ในลำไส้ ต้องเหมาะสมต่อการเจริญของแอนแอโรบิสนี้ได้ดี

5.2 Oxidative reduction potential ต่ำ

5.3 Mucin ที่อยู่บน mucosal epithelium ซึ่งจะเป็นสิ่งป้องกันไม่ให้แอนแอโรบิก คลอสตริเดียม ดิฟฟิซายล์ เกาะผนังลำไส้

มีรายงานพบ serologic response ต่อท็อกซิน A และท็อกซิน B ในผู้ป่วย AAC หรือ PMC ได้ในปริมาณเท่า ๆ กัน แสดงว่า ท็อกซินทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะแอนติเจนส์ที่ต่างกัน (heterogenous nature) แต่ แอนตี้บอดี ต่อท็อกซินใดเกิดก่อนนั้นยังไม่ทราบ อย่างไรก็ตาม ท็อกซิน A สำคัญมากกว่า เพราะเป็น enterotoxin ท็อกซินทั้ง 2 ชนิด ก่อเกิด lethal cecitis ได้ในหนูแฮมสเตอร์

ในเด็กแรกคลอดไม่ปรากฏอาการของโรค PMC หรือ AAC แม้ว่าพบ anaerobic colonization ของ toxigenic *Cl. difficile* ได้มากเท่า ๆ กับผู้ใหญ่ที่เป็นโรค PMC สันนิษฐานว่าเนื่องจากเด็กแรกคลอดมี แอนแอโรบิก นอร์มัล

* inflammation ของลำไส้ส่วน cecum.

Table 2 Pseudomembranous colitis associated with antimicrobial agents

Important items	Between 1950-1955	Between 1970-1980
1. The most associated antibiotics	chloramphenicol tetracycline	clindamycin ampicillin
2. anatomical sites	small bowel and colon	colon, "colitis"
3. Laboratory diagnosis	autopsy gram's stain Fecal culture	endoscopy toxin assay
4. Suspected pathogens	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium difficile</i>
5. Treatment	oral vancomycin	oral vancomycin cholestyramine

(George et al 1980)

Table 3 *Cl. difficile* food poisoning diarrhoea from 3 children - day - care - centers.

Diarrhoea	Children Studied	Cl. difficile positive culture		Toxin : positive	
	(n)	(n)	(%)	(n)	(%)
present	21	13	62	12	57
absent	44	7	16	4	9

p < 0.0005

(Kim et al 1983)

พลอว่า สายพันธุ์อื่น ๆ ประปนอยู่ด้วยน้อย จึงทำให้เด็กที่ได้รับ *Cl. difficile* แล้วจะ proliferate ได้ง่ายขึ้น

6. โรค AAD และโรค PMC หรือ AAC

โรคอุจจาระร่วง หมายถึงอาการแสดงของโรคที่มีอุจจาระเหลวและถ่ายบ่อย ซึ่งมีสาเหตุหลายอย่าง เช่น จากจุลชีพหลายชนิด อาหารเป็นพิษ โลหะหนัก ลำไส้ใหญ่อักเสบฯ

โรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากใช้ปฏิชีวนะไประยะหนึ่ง เรียกว่าโรค antibiotic associated diarrhoea (AAD) โดยจะมีอุจจาระร่วงอย่างอ่อน ๆ ถ้ามีท้องร่วงอย่างแรงและเป็นเวลานานจนทำให้ลำไส้ใหญ่อักเสบ และมีเยื่อหุ้มปากคลุม underlying mucosa ของ colon เรียกว่า pseudomembrane ซึ่งปัจจุบันทราบว่าเกิดจาก *Cl. difficile* ซึ่งสามารถสร้างท็อกซินมาทำลายเยื่อลำไส้ โรคที่เกิดขึ้นจึงเรียกว่า pseudomembranous colitis (PMC) หรือ clostridial colitis ปัจจุบันนิยมเรียกว่า antibiotic associated colitis (AAC)

อนึ่ง มีรายงานชี้ให้เห็นว่า ผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านโรคมะเร็ง (cytotoxic cancer chemotherapy) สภาวะไตวายและโรคเบาหวานย่อมเสี่ยง (risk) ต่อโรค AAC นี้

7. อุบัติการณ์ของโรค AAD และ AAC

โรค AAC เดิมเรียกว่า clindamycin colitis เพราะพบครั้งแรก ค.ศ. 1977 โดยคลินด้ามัยคิน เป็นเหตุ ซึ่งในปีนั้น บริษัทผู้ผลิตยาแถลงว่ายานี้ก่อโรคลำไส้อักเสบเพียง 1 ในแสนราย

7.1 ในอเมริกา การสำรวจอุบัติการณ์ของโรคในอเมริกา มีรายงานในผู้ป่วยที่รักษาด้วย คลินด้ามัยคิน 200 ราย พบโรค AAC ร้อยละ 10 และโรค AAD ร้อยละ 21 (Tedesco 1974). การสำรวจผู้ป่วยที่ได้รับ ลินโคมัยซิล หรือ คลินด้ามัยคิลเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ได้รับ แอมปีซิลลิน 100 ราย พบโรค AAD ในกลุ่มลินโคมัยคิล-คลินด้ามัยคิล ร้อยละ 11 และในกลุ่มแอมปีซิลลินร้อยละ 5

การสำรวจโรค AAC ตั้งแต่ปี 1977 ถึง 1980 ในผู้ป่วย 280,000 คนที่ Puget Sound* นั้น ประมาณร้อยละ 98 ได้รับปฏิชีวนะตามใบสั่งแพทย์ด้วยโรคต่าง ๆ

ในผู้ป่วย 344 รายที่เป็นโรคลำไส้ใหญ่อักเสบนั้น พบโรค AAC 4 ราย ซึ่งอุบัติการณ์โรคนี้มาจากการกินปฏิชีวนะทั้งนั้น และพบ 1.6-2.6 รายต่อผู้ป่วยที่กินปฏิชีวนะ 100,000 ราย ยิ่งไปกว่านั้น *Cl. difficile* ยังเป็นแอนแอโรบัสที่พบได้เสมอในโรงพยาบาล (hospital environment) ฉะนั้นผู้ป่วยที่ได้รับปฏิชีวนะทางหลอดเลือด (parenteral therapy) จะมีโอกาสเป็นโรคนี้ได้ง่ายขึ้น เพราะสายพันธุ์ที่มีในโรงพยาบาลนั้น มี infective dose ต่ำ

7.2 ในประเทศไทย มีรายงานการเกิดโรคนี้ประปราย เช่นที่ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ได้ผู้ป่วยโรค AAC 5 ราย ได้ positive culture และ toxin ของ *Cl. difficile* ถึง 2 ราย ที่คณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี มีประมาณ 5 ราย หลาย ๆ รายพบในการตรวจศพด้วย ในคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีอยู่โดยเฉลี่ยประมาณปีละ 1-2 ราย

* อ่าวใหญ่ส่วนหนึ่งของมหาสมุทรแปซิฟิก ในรัฐวอชิงตันอเมริกา ในบริเวณอ่าว เป็นที่ตั้งเมือง Seattle และ Tacoma เป็นแหล่งที่เทียบเรือประมงที่สำคัญ

8. ลักษณะทางคลินิก

อาการของโรค PMC มักจะเริ่มหลังจากได้ยาต้านจุลินทรีย์ประมาณ 4-10 วัน มี 1 รายกินโค-โทรม็อกซาโซล 4 ชั่วโมงก็เริ่มมีอาการ ส่วนอีก 1 รายมีอาการเมื่อหยุดยาแอนด์ไบโอติก ที่เป็นเหตุของโรคแล้ว

ก. ผู้ป่วยต้องเดินทุกราย อาการมักจะเกิดขึ้นทันที โดยอุจจาระเป็นน้ำจำนวนมาก บางรายมีมูก แต่เลือดพบได้น้อยมาก ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการเพียงท้องเดินเท่านั้น

ข. อุจจาระพบ polymorphonuclear cells และไม่พบแบคทีเรียที่มีรูปร่างผิดไปจากปกติ

ค. ผู้ป่วยส่วนมากมีตะคริวที่ท้อง กดเจ็บที่ท้อง อาการนี้ไม่จำเป็นต้องพบทุกราย

ง. มีไข้และเม็ดเลือดขาวในเลือดเพิ่ม (leukocytosis)

จ. ในระยะรุนแรงผู้ป่วยจะมีอาการคล้าย Acute abdomen จนแพทย์ต้องรับตัวไว้ผ่าตัดในโรงพยาบาล

ฉ. ผลแทรกซ้อนที่พบบ่อยมี albumin ในเลือดต่ำและความไม่สมดุลย์ในเกลือแร่ในเลือด ผลแทรกซ้อนที่ไม่พบบ่อยคือ toxic megacolon และลำไส้ทะลุ

9. การวินิจฉัยโรค

9.1 วิธีการทางคลินิก นอกจากประวัติและอาการแสดงของโรคแล้ว อาจใช้วิธีวินิจฉัยโรคทางอื่น เช่น การทำ barium* endoscopy, sigmoidoscopy, colonoscopy เพื่อดู lesion โดยตรง และอาจจะ scraping นำมาทำ culture และ biopsy ได้

ลักษณะของ pseudomembranous ที่เห็นมีลักษณะเฉพาะที่เยื่อบุลำไส้ใหญ่ ซึ่งเยื่อบุลำไส้

แดงมีหนองและบวมเป็นหย่อม ๆ ในระยะท้าย ๆ บริเวณที่มีเยื่อคล้ายหนองคลุมจะใหญ่ขึ้นและรวมกัน

9.2 การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

9.2.1 การแยกหาตัวแอนแอโรบิก *Cl. difficile*

ก. ใช้ selective medium ที่มี cycloserine และ cefoxitin เพื่อหาตัวแอนแอโรบิก *Cl. difficile*

ในอุจจาระผู้ป่วย แต่ก็พิสูจน์ไม่ได้ *Cl. difficile* ที่แยกได้จะเป็นเหตุของโรค AAC เพราะในคนปกติ *Cl. difficile* ก็ออกมากับอุจจาระด้วยแล้ว ยิ่งไปกว่านั้นยังแยกได้ในคนปกติที่อุจจาระร่วง โดยที่ไม่ได้เป็นโรค AAC วิธีนี้ควรทำร่วมกับวิธีอื่น

ข. การนับจำนวน (quantitative recovery) แอนแอโรบิก *Cl. difficile* ถ้านับจำนวนได้มากเป็นต้นว่าได้ราว ๆ 10^5 - 10^6 โคโลนี/กรัม ใช้เป็นหลักในการส่งเสริม (confirm) การพบ toxin ใดเตอร์สูงในอุจจาระได้

ค. Specific spore selection method วิธีที่มีผู้ recommended ให้ใช้คือวิธี alcohol spore selection method ซึ่งผลที่ได้ ดีพอใช้ แต่พิสูจน์ไม่ได้ว่า *Cl. difficile* ที่แยกได้จะก่อโรค AAC เช่นกัน ฉะนั้น ควรใช้ร่วมกับวิธีอื่น อาการแสดงของผู้ป่วย เช่น

อุจจาระเป็นน้ำวันละ 5 ครั้งขึ้นไป และมีประวัติกินยาปฏิชีวนะมานาน น่าจะสงสัยไว้ก่อนว่า อาจเป็นโรค AAC ในระยะแรก

9.2.2 การหา toxin ของ *Cl. difficile*

ในอุจจาระผู้ป่วยที่มีประวัติกินยาปฏิชีวนะมานาน

ก. Cytopathic effect โดยนำอุจจาระมาทำ cell free fecal extracts ต่อ tissue cultures systems เดิมนิยมทำ cytotoxicity assay โดย

* Barium enema x-ray study

ใช้เซลล์จากหนู Wistar เป็น tissue cells target (WI-38 cell monolayer)

ข. Neutralization test ทดสอบ toxin สกัดได้กับ polyvalent gas gangrene antitoxin* ซึ่งผลลัพธ์ไม่แน่นอน ไม่จำเพาะต่อ *Cl. difficile* ที่เดียว แต่พอจะใช้เป็น interpreting data ได้ เช่น fecal toxin ได้ไตเตอร์ 1 : 1000 ย่อมมีความสำคัญมากกว่าไตเตอร์ 1 : 2 เป็นต้น

วิธีที่กล่าวมาเชื่อถือได้ยาก ไม่ practical ไม่มี standardized ในการทดสอบ in vitro ขณะนี้จึงไม่นับว่าเป็น routine laboratory ปกติ

10. การรักษาโรคติดเชื้อโดยทั่วไป

10.1 ปฏิชีวนะทางปาก ที่ใช้กันบ่อย ๆ คือ ไคลลอกซาซิลลิน โซเดียม, เตตระซัยคลิน และแอมปีซิลลิน ในบางโอกาสผู้ป่วยจะมีอาการอุจจาระร่วง หลังจากได้รับยา 2-3 วัน แต่อาการจะค่อยๆ ทุเลาหลังจากหยุดปฏิชีวนะ 6 สัปดาห์ได้

10.2 ปฏิชีวนะทางอื่นๆ การรักษาสิ่วที่นิยมกันในปัจจุบัน (popular regimen) คือวิธีทาด้วย antibiotic-cream** ปฏิชีวนะจะซึม (absorb) ผ่านผิวหนังมีจำนวนไม่พอที่จะก่อการเปลี่ยนแปลงในลำไส้ย่อมไม่เกิดโรค AAC อย่างไรก็ตามก็ดี ขณะนี้มีรายงานแสดงให้เห็นว่าการใช้ topical antibiotic cream ก่อโรคลำไส้อักเสบจนได้

11. การรักษาโรค AAC ในปัจจุบัน

11.1 การรักษาทั่วไป (non specific therapy)

11.1.1 หยุดยาปฏิชีวนะทุกชนิดที่กำลังรักษา

โรคติดเชื้อใด ๆ ก็ตาม (prescribing antibiotics).

11.1.2 ให้เกลือแร่ทางหลอดเลือด (hydrate patient)

11.1.3 หลีกเลี่ยงการใช้ยาที่ทำให้ ลำไส้หยุดเคลื่อนไหว เช่น atropine โคดีอีน และเบลลาดอนน่า

11.1.4 ป้องกันการปนเปื้อนในผู้ป่วยที่สงสัยหรือแน่ใจว่ามีโรค AAC แพทย์ควรสวมกาวน์และถุงมือสะอาดทุกครั้งสัมผัสผู้ป่วยประเภทนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การตรวจอุจจาระผู้ป่วย เนื่องจากมีรายงานเบื้องต้นบ่งชี้ให้เห็นว่า *Cl. difficile* จากผู้ป่วย AAC สามารถปนเปื้อนสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ในโรงพยาบาล โดยเฉพาะบุคลากรที่สัมผัสและพยาบาลผู้ป่วย

11.2 การรักษาโดยตรง (Specific therapy)

11.2.1 Cholestyramine*** 4-6 กรัมทางปากทุก 6-8 ชั่วโมง ในกรณีที่อุจจาระร่วงไม่มาก

11.2.2 Vancomycin (มีจำหน่ายในประเทศไทยแล้ว)

ทางปาก ขนาด 500 ม.ก. ให้วันละ 4 เวลารานาน 7-10 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารผู้ป่วย อุจจาระร่วงจะค่อย ๆ ลดจำนวนและดีขึ้นใน 5-7 วัน

ทาง colostomy ให้แวนโคมัซิน ขนาด 100 ไมโครกรัม/ม.ล. อาจให้ทาง colostomy หรือทางสายยาง nasogastric ในกรณีที่ผู้ป่วยกลืนไม่ลงและมี abdominal ileus

11.2.3 Bacitracin ใช้ขนาด 25,000 ยูนิต

* ได้จากสารพิษของ *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*, *Cl. novyi*

** Clindamycin cream

*** Questran 4 ม.ก./ซอง. ยามีขายในประเทศไทยแล้ว

ทางปากวันละ 4 ครั้ง นาน 7-10 วัน

11.2.4 Corticosteroids ให้เข้าหลอดเลือดหรือทางทวารหนัก*

11.2.5 Metronidazole ขนาด 1,000 ม.ก. ต่อวัน ยานี้มีผู้ทดสอบประสิทธิภาพแล้ว ได้ผลดี ไม่แพ้แวนโคมัยซิน และยังมีราคาถูกกว่าด้วย

11.2.6 Colostomy, Ileostomy หรือ Colectomy พิจารณาส่งผ่าตัดในรายที่ผู้ป่วยมี ileus และเป็น toxic megacolon

11.3 การรักษาโรคที่กลับเป็นซ้ำ (relapse)

มีรายงานว่า ผู้ป่วย AAC เมื่อรักษาด้วยแวนโคมัยซิน จะเกิด relapse ได้ร้อยละ 12 ทั้ง ๆ ที่ *Cl. difficile* ที่แยกได้จากผู้ป่วยไวต่อแวนโคมัยซิน วิธีป้องกันมิให้เกิดการเป็นโรคนี้ซ้ำนั้น ควรให้แวนโคมัยซินกินให้นาน 14 วันเป็นอย่างน้อย ยาอื่นที่ใช้รักษา เช่น cholestyramine หรือ bacitracin มีรายงานว่า เกิดโรคกลับซ้ำได้เช่นเดียวกัน

12. วิจารณ์

ลำไส้ใหญ่เป็นอวัยวะสำคัญที่มีจุลินทรีย์ชนิดไม่พึ่งออกซิเจนสถิต และชุมนุมอยู่เป็นจำนวนมาก (anaerobic niche) จุลินทรีย์ครึ่งหนึ่งที่พบบริเวณนี้มีอยู่ราว 200-400 สปีชีส์ อีกครึ่งหนึ่งเป็นแอนแอโรบส์ที่ยังไม่ได้ตั้งชื่อ และยังไม่ทราบถึงความสำคัญและวิถีชีวิต

จุลินทรีย์เหล่านี้ มีความสำคัญในทางทำลาย (degradation) สิ่งต่าง ๆ ที่เกิดในลำไส้ (succus entericus) เช่น พวกเอ็นไซม์ ฮอร์โมน ยาและปฏิชีวนะที่กินทางปาก ตลอดจนกระบวนการเมตาบอลิซึม bile acids และการผลิตวิตามิน เค ผลผลิตอันมหาศาลของจุลินทรีย์แอนแอโรบส์ (fer-

mentative factory) ร่วมกับแบคทีเรียจำนวนมาก สารละลายต่าง ๆ และอาหารที่ค้างไม่ได้ย่อย (undigested food) ในลำไส้ใหญ่ คือ อุจจาระนั้นเอง* * อย่างไรก็ตาม ผู้ที่กินปฏิชีวนะนาน ในอุจจาระที่ขับถ่ายออกมาย่อมมีปฏิชีวนะนั้นมากบ้าง น้อยบ้างปะปนออกมา ถ้ามีจำนวนมากและนานจะมีปัญหาที่ต้องระวัง

12.1 การก้าวน้ำทางห้องปฏิบัติการ

12.1.1 การตรวจทางจุลทรรศน์โดยย้อมสีแกรมเพื่อดู fecal leukocytes ก็ดี หรือดูจำนวนจุลินทรีย์แกรมบวกทรงแท่งในอุจจาระนั้นว่า มีจำนวนมากน้อยเพียงใดนั้น มักจะไม่ได้ผลดี การวินิจฉัยโรคนี้ทางห้องแล็บที่ได้ผลจริง ๆ มี 2-3 วิธีเท่านั้น

12.1.2 การแยกวิเคราะห์ทางมหัศจรรย์ การแยกวิเคราะห์ทางคุณลักษณะโคโลนีในอาหารปรุงจำเพาะ ต้องใช้เวลา 2-3 วัน ซึ่งแม้ว่าพบ *Cl. difficile* เป็นจำนวนมากในอุจจาระก็อาจแปลผลผิด เพราะแอนแอโรบส์เหล่านี้อาจไม่ผลิต "สารพิษ" ก็ได้

12.1.3 การทำวิธี toxin assay ใช้อุจจาระผู้ป่วยที่เป็น bacteria free filtrates กับ fibroblastic-tissue-culture นั้น สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิ (cytopathic effect) ต่อ monolayer tissue cells ภายใน 6-24 ชั่วโมง

อย่างไรก็ตาม การหา *Cl. difficile* toxin ในอุจจาระ บางทีก็พลาดได้ กล่าวคือ cell lines ไม่ sensitive ต่อ specific toxin cytotoxic effect จึงไม่เกิด ฉะนั้นการใช้ rat mammary carcinoma cell culture (Walker line) ช่วยแก้ปัญหาเรื่องนี้ได้

* มีรายงานแสดงให้เห็นว่ายานี้ไม่ได้ผลในการรักษาใน สัตว์ทดลอง hamster ที่ชักนำให้เป็นโรค AAC

* * feces และ flatus

การใช้วิธี tissue culture assay นี้ ชี้ให้เห็นชัดเจนว่า โรค AAC มีความสัมพันธ์หรือเกิดจาก *Cl. difficile* cytotoxin ที่ปะปนมากับอุจจาระของผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับปฏิชีวนะมานานพอสมควร

ผู้ป่วยโรค AAC และอุจจาระร่วงเนื่องจาก toxigenic *Staphylococcus aureus* นั้น มีรายงานชี้ให้เห็นว่า มี cytopathogenicity ในอุจจาระคล้ายคลึงกันมาก การทำ tissue culture assay ช่วยแยกปฐมเหตุของโรคทั้งสองได้เป็นอย่างดี

ในโรงพยาบาลหรือสถาบันที่ยังไม่มีการทำ tissue culture assays นั้น การทำ proctosigmoidoscopy และหรือ colonoscopy เพื่อการดูลักษณะภายใน colon โดยผู้ชำนาญย่อมวินิจฉัยโรค AAC ได้ การวินิจฉัยผู้ป่วยว่าเป็นโรค AAC นั้น มีความสำคัญมากเท่ากับช่วยชีวิตผู้ป่วย เพราะการรักษาผิดไปจากโรคอื่น หนึ่ง สำหรับประเทศไทย เท่าที่ทราบ ในขณะนี้วิธี cytotoxin assay นี้มีทำที่ห้องปฏิบัติการ สถาบันวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ยศเส ซึ่งมี Japan International Cooperation Agency ให้การสนับสนุนและได้รายงาน *Cl. difficile* toxin ได้จากอุจจาระเด็กแรกคลอดหลายราย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมี Goodner Foundation Fund ฟิลาเดลเฟีย อเมริกา ให้การสนับสนุนและรายงานการพบ *Cl. difficile* antitoxin จากผู้ป่วยเด็กในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

12.1.4 วิธีใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในขณะนี้ คือ ;

- Polycrylamide gel electrophoresis protein ของ *Cl. difficile* โดยอาจนำ fecal extract

มาทดสอบหา cellular protein ได้ และนับว่าเป็นวิธีที่ไว (sensitive) และเชื่อถือได้มาก

โรค AAC* นี้ แต่เดิมเป็นโรคที่ไม่มีหนทางจะรักษาให้หายได้ และกว่าจะทราบว่าเป็นโรคที่สัมพันธ์กับการใช้ปฏิชีวนะ ผู้ป่วยก็มีอาการรุนแรงมาก (moribund) ฉะนั้น โรค AAC นี้จึงพบแต่ใน ออทอปัสซี เท่านั้น

สำหรับในประเทศไทย ในปัจจุบันโรค AAC มีแนวโน้มที่จะพบได้มากขึ้น และแพทย์ระบบทางเดินอาหารมีความชำนาญและสามารถที่จะช่วยชีวิตผู้ป่วยได้มากขึ้น

ปัญหาที่สำคัญที่ควรนึกถึง คือ;

ก. การควบคุมร้านขายยา การควบคุมร้านขายยา ยังไม่รัดกุมทั้ง ๆ ที่ภาครัฐบาลมีกองควบคุมอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ภาคเอกชนมีสมาคมร้านขายยา เกสัชกรรมสมาคมแห่งประเทศไทย, สมาคมผู้ค้ายา สมาคมไทยอุตสาหกรรมผลิตยาแผนปัจจุบัน ก็ยังมีปัญหาอื่น ๆ ลึกซึ้งมากยิ่งขึ้นอีกไม่ได้ ทำให้ประชากรสามารถซื้อยาอันตรายได้โดยเสรี โดยเฉพาะอย่างยิ่งปฏิชีวนะทุกชนิด โทษที่เห็นได้ชัดคือการใช้ยาไม่ครบ ไม่เต็มขนาดและใช้นานเกินความจำเป็น เนื่องจากไม่ทราบความจริงเกี่ยวกับปฏิชีวนะนั้น ๆ ย่อมก่อให้เกิดโรค AAC ที่มีอันตรายได้ในภายหลัง

ข. Iatrogenic disease โรค AAC นี้อาจนับว่าเป็น Iatrogenic* * * ได้ในกรณีที่แพทย์ให้ปฏิชีวนะนานเกินควร เพื่อรักษาโรคติดเชื้อบางโรค ฉะนั้น เพื่อความไม่ประมาท* * * แพทย์ควรย่ำและอธิบายให้ผู้ป่วยทราบถึงอาการ (complication) บางประการที่เกิดขึ้น เป็นต้นว่า ถ้ามีอาการอุจจาระ

* เดิมเรียกว่าโรค pseudomembranous colitis.

** Generated by the physician.

*** key point for all physicians.

เหลว (loose stool) เกิน 5 ครั้งต่อวัน หรือมี อุจจาระที่มีมูกปนเลือดในขณะที่จำเป็นต้องบริหาร ด้วยปฏิชีวนะนาน เพื่อให้ผู้ป่วยได้สังเกตอาการ แพทรกซ้อนดังกล่าว และจะได้หยุดการใช้ปฏิชีวนะ นั้นได้ทันทั่วทั้งที่ ก่อนที่จะเป็นโรค AAC ซ้อนขึ้นมา

เมื่อเร็ว ๆ นี้มีรายงานทางแพทย์น่าสนใจอยู่ 2 ประการคือ การรักษาสิวโดยใช้ทาด้วยปฏิชีวนะ ก่อโรค AAC ได้ นั้น น่าจะเน้นให้เห็นว่า โรคนี้ มิได้เกิดจากการกินปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว

รายงานการใช้สัตว์ทดลองที่ได้รับปฏิชีวนะ ก่อน (pretreatment) กิน *Cl. difficile* ทางปาก

เพียง 2-3 ตัว ย่อมก่อโรค AAC ในสัตว์ทดลองได้ กับพบปนเปื้อนในที่ต่าง ๆ ในโรงพยาบาล แสดง ให้เห็นว่า ถ้าแอนแอโรบิค *Cl. difficile* ซึ่งมีที่อยู่ แห่งเดียวคือ ในลำไส้มนุษย์และถ้าปนเปื้อนใน สิ่งแวดล้อม ย่อมเสี่ยงต่อโรคนี้เป็นอย่างยิ่ง แม้ว่า ยังไม่มีผู้พิสูจน์ให้เห็นจริงว่า ในประเทศไทยมี แอนแอโรบัสปนเปื้อนในโรงพยาบาลก็ตาม

การป้องกัน มิให้มีโรคนี้ในประชากรนั้น นับ ว่าเป็นมาตรการที่ทุกฝ่ายเกี่ยวข้องย่อมจะมีผลดีต่อ ประชากรที่จำเป็นต้องได้รับปฏิชีวนะ

อ้างอิง

1. Bartlett JG. Antibiotic-associated pseudo-membranous colitis. Clin Gastroenterol 1979 Feb ; 8 : 738-801
2. Bartlett JG, Gorbach SL. Pseudomembranous enterocolitis. Adv Intern Med 1977
3. Bartlett JG. Antibiotic-associated colitis. Clin Gastroenterol 1979 Sep ; 8 (3) : 783-801
4. Dowell VR (Jr). Antibiotic-associated colitis. Hosp Pract 1979 Apr ; 14 (4) : 75-80
5. Fekety R, Kim KH, Batts DH, Browne RA, Cudmore MA, Silva J, Toshnival R, Wilson KH. Studies on the epidemiology of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis. Am J Clin Nutr 1980 Nov; 33 (11) Suppl : 2527-2532
6. Fedety R, Kim KH, Brown D. Epidemiology of antibiotic-associated colitis; isolation of *Clostridium difficile* from the hospital environment. Am J Med 1981 Apr : 70 (4) : 906-908
7. Finegold SM. Antibiotics for Anerobic bacteria. Post Grad Med 1975 Sep; 58 (3) : 72-76
8. Finegold SM. Epidemiological aspects of *Clostridium difficile* induced diarrhea and colitis. Am J Clin Nutr 1980 Nov ; 33 (11) : 2533-2538
9. George WL, Finegole SM. Treatment and prevention of antimicrobial agent-induced colitis and diarrhea. Gastroenterology 1980 Aug; 79 (2) : 366-372
10. George WL, Sutter VL, Finegold SM. Toxigenicity and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile*, a cause of antimicrobial agent-associated colitis Curr Microbiol 1978 Jan ; 1 (1) : 55-58
11. George WL, Sutter VL, Citron D, Finegole SM. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 1979 Feb ; 9 (2) : 114-219

12. Gorbach SL, Bartlett JG. Pseudomembranous enterocolitis: a review of its diverse forms. *J Infect Dis* 1977 Mar 135 Suppl : S89-S94
13. Hafiz S, Oakley CL. *Clostridium difficile*: isolation and characteristics. *J Med Microbiol* 1976 May ; 9 (2) : 129-136
14. Howard JM, Sullivan SN, Troster M. Spontaneous pseudomembranous colitis. *Br Med J* 1980 Aug 2 ; 281 (6236) : 356
15. Kim K, Dupont HL, Pickering LK. Outbreaks of diarrhea associated with *Clostridium difficile* and its toxin in day-care centers: evidence of person-to-person spread. *J Pediatr* 1983 Mar; 102 (3) : 376-382
16. Koransky JR, Allen SD, Donell VR. Use of ethanol for selective isolation of sporeforming microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 1978 Apr; 35 (4) : 762-865
17. Krupp MA, Chatton MJ. Current Medical Diagnosis and Treatment. California : Lange Medical Publication, 1979. 817
18. Lyerly DM, Lockwood DE, Richardson SH, Wilkins TD. Biological activities of toxins A and B of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1982 Mar ; 35 (3) : 1147-1150
19. Mogg GAG, Keighley MRB, Burdon D.W. Antibiotic-associated colitis a review of 66 cases. *Br J Surg* 1979; 66 : 738-742
20. Peikin SR, Galdibini J, Bartl JG. Role of *Clostridium difficile* in case of nonantibiotic associated Pseudomembranous colitis. *Gastroenterology* 1980 Nov; 79 (5) : 948-951
21. Prevot AR. Manual for the Classification and Determination of the Anaerobic bacteria. Philadelphia : Lea and Febiger, 1966. 289
22. Robertson HB, Breen KJ, Desmond PV, Madhford ML, Mcttugh AM. Incidence of antibiotic-related diarrhoea and pseudomembranous colitis: a prospective study of lincomycin, clindamycin and ampicillin. *Med J Aust* 1977 Feb 19 ; 1 (8) : 243-246
23. Rolfe RD, Finegold SM. Purification and characterization of *Clostridium* toxin. *Infect. Immun* 1979 Jul ; 25 (1) : 191-201
24. Silva J Jr. Antibiotic-associated colitis (Editorial). *West J Med* 1984 Feb ; 140 (2) : 275-276
25. Silva J Jr. Tissue Culture Assay for *Clostridium Difficile* Cytotoxin. Kalamazoo, Michigan : UpJohn Publication, 1981.
26. Silva J Jr, Batts DH, Fekety R, Ploufle JF, Rifkin GD, Baird I. Treatment of *Clostridium difficile* colitis and diarrhea with vancomycin. *Am J Med* 1981 Nov ; 71 (5) : 815-822
27. Silva J Jr, Fekety R. Clostridia and antimicrobial enterocolitis. *Annu Rev Med* 1981 ; 32 : 327-333
28. Smith CJ, Markawitz SM, Macrina FL. Transferable tetracycline resistance in *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 1981 Jun ; 19 (6) : 997-1003
29. Suripan W, Boon V, Noparatana M, Hikaru T, Ratanasuda P. Epidemiology of *Clostridium difficile* in Bangkok. Promotion of Provincial Health. Services Interim Report, (Thailand) 1984; 5 : 60-67
30. Sutphen JL, Grand RJ, Flores A, Chang TW, Bartlett JG. Chronic diarrhea associated with *Clostridium difficile* in Children. *Am J Dis Child* 1983 Mar ; 137 (3) : 275-278
31. Taylor NS, Thorne GM, Bartlett JG. Comparison of two toxins produced by *Clostridium difficile*. *Inect Immun* 1981 Dec ; 34 (3) : 1036-1043
32. Teasley DG, Gerding DN, Olson M, Peterson IR, Gebhard RI, Schwartz

- MJ. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium-difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet* 1983 Nov 5 ; 2 (8358) : 1043-1046
33. Tedesco FJ. Pseudomembranous colitis : pathogenesis and therapy. *Med Clin North Am* 1982 May ; 66 (3) : 655-664
34. Viscidi R, Laughon BE, Yolken R, Bo-Linn P, Moench T, Ryder RW, Bartlett JG. Serum antibody response to toxin A and toxin B of *Clostridium difficile*. *J Infect Dis* 1983 Jul; 148 (1) : 93-100.
35. Wold A, Mendelow H, Bartlett JG. Non-antibiotic-associated Pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *Ann Intern Med* 1980 Jun ; 92 (6) : 798-799
36. บุญ วนาสิน หน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์; สุชา ตูระทอง หน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และวิรัช บริรักษ์จรยาวัตร หน่วยทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (ติดต่อบุคคล)
37. บุษบา เหลืองอรุณ, ภานุวัฒน์ วิรัตน์ภานุ และนราทร ธรรมบุตร. Pseudomembranous colitis and *Clostridium difficile*. การประชุมวิชาการของสมาคมกุมารแพทย์ แห่งประเทศไทย, ดิโกบรรมวิชาการ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 27 ก.ค. 2527.
38. นราทร ธรรมบุตร. แอนแอโรบัส และ Intestinal microbial flora. *จุลสารชมรมแพทย์โรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย* 2523 มี.ค.-เม.ย. ; 3 (2) : 393-399
39. นราทร ธรรมบุตร. แอนแอโรบัสที่สำคัญทางแพทย์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ ยูนิตีโปรดักส์, 2527. 89-104.
40. นราทร ธรรมบุตร. ประวัติและความสำคัญทางแพทย์ของจุลชีพก่อโรคแอนแอโรบัส. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ประเสริฐศิริ, 2523.
41. นราทร ธรรมบุตร. Protocol for tissue culture-assay สำหรับ *Clostridium difficile* ตามแบบฉบับของ CDC, Atlanta, USA เพื่อ Laboratory diagnosis โรค antibiotic associated colitis หน่วยแอนแอโรบัส, ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
42. นราทร ธรรมบุตร. การประเมินผลไฟโพรบรัสทิสซู คัลเจอร์ เพื่อหา "สารพิษ" ของ แอนแอโรบิค คลอสทริเดียม ดิฟฟิซายด์ ในอุจจาระ. *Chulalongkorn Med J* 1985; 29 ฉบับพิเศษ : S-19

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 1 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2528.