

Literature Review

EPIDEMIOLOGI MOLEKULER *Clostridium difficile* PADA ANAK DENGAN KEGANASAN

Rifah Zafarani Soumena*, Marissa Matinahoru
Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura Ambon
Korespondensi : rifahzafarani@gmail.com

Abstrak

Latar belakang: Epidemiologi molekuler adalah disiplin yang menggunakan alat mikrobiologi molekuler untuk mempelajari distribusi dan penentu penyakit pada populasi manusia dan hewan. Tujuan dari epidemiologi molekuler adalah untuk membantu menjelaskan rute yang ditempuh oleh epidemi dengan melacak unit analisis yang relevan, entitas yang bertanggung jawab atas epidemi. Kejadian infeksi *Clostridium difficile* pada anak dengan keganasan dilaporkan lebih tinggi dibandingkan pada anak tanpa keganasan. Infeksi *C. difficile* adalah beban besar bagi sistem perawatan kesehatan. Karena itu penting untuk mengidentifikasi jenis epidemi secepat mungkin dengan menggunakan epidemiologi molekuler. Strain yang bersirkulasi di Asia, seperti di wilayah lain, memiliki potensi untuk menyebar secara internasional, yang menjamin pemantauan ketat terhadap prevalensi dan epidemiologi molekuler infeksi *C. difficile* di wilayah tersebut. Namun penelitian tentang infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan masih sangat sedikit Tujuan: memaparkan peran epidemiologi molekuler melalui alat diagnostik molekuler dengan teknik PCR terhadap tingkat beratnya gejala klinis infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan. Kesimpulan alat diagnostik molekuler dapat digunakan dalam penelitian epidemiologi untuk mengenali dan mengetahui jenis strain yang tersebar di seluruh dunia. Dari berbagai penelitian yang telah dipaparkan sebelumnya didapatkan strain *C. difficile* yang berbeda dapat memberikan manifestasi yang berbeda.

Kata kunci: Anak, *Clostridium difficile*, Epidemiologi molekuler

Abstract

Background: Molecular epidemiology is a discipline that uses the tools of molecular microbiology to study the distribution and determinants of disease in human and animal populations. The goal of molecular epidemiology is to help explain the route taken by an epidemic by tracking the relevant unit of analysis, the entity responsible for the epidemic. The incidence of Clostridium difficile infection in children with malignancy is reported to be higher than in children without malignancy. C. difficile infection is a huge burden on the health care system. It is therefore important to identify the epidemic type as quickly as possible using molecular epidemiology. Strains circulating in Asia, as in other regions, have the potential to spread internationally, warranting close monitoring of the prevalence and molecular epidemiology of C. difficile infections in the region. However, research on C. difficile infection in children with malignancy is still very limited. Objective: to explain the role of molecular epidemiology through molecular diagnostic tools using PCR techniques on the severity of clinical symptoms of C. difficile infection in children with malignancy. Conclusion: Molecular diagnostic tools can be used in epidemiological research to recognize and determine the types of strains that are distributed throughout the world. From various studies previously described, it was found that different strains of C. difficile can produce different manifestations.

Keywords: Children, *Clostridium difficile*, Molecular epidemiology

Pendahuluan

Clostridium difficile adalah basil anaerobik Gram-positif, pembentuk spora, yang tersebar luas di saluran usus manusia dan hewan serta di lingkungan. Dalam dekade terakhir, frekuensi dan tingkat keparahan infeksi *C. difficile* telah meningkat di seluruh dunia dan menjadi salah satu infeksi yang didapat di rumah sakit yang paling umum.¹

Pasien dengan keganasan dapat sangat rentan terhadap infeksi *C. difficile* karena adanya beberapa faktor risiko diantaranya rawat inap yang berkepanjangan dan paparan beberapa antibiotik dan agen kemoterapi. Agen kemoterapi dapat menyebabkan infeksi *C. difficile* tanpa penggunaan antibiotik secara bersamaan, karena mengubah mukosa usus yang menyebabkan peradangan dan nekrosis.^{2,3}

Epidemiologi molekuler adalah disiplin yang menggunakan alat mikrobiologi molekuler untuk mempelajari distribusi dan penentu penyakit pada populasi manusia dan hewan. Epidemiologi penyakit menular telah berevolusi dengan kemajuan teknologi yang dibuat dalam biologi molekuler yang menyempurnakan identifikasi dan dinamika mikroorganisme. Epidemiologi molekuler memberikan kontribusi dalam memecahkan masalah penyakit menular. Tujuan dari epidemiologi molekuler adalah untuk membantu menjelaskan rute yang ditempuh oleh epidemi dengan melacak unit analisis yang relevan, entitas yang bertanggung jawab atas epidemi.⁴

Mengingat epidemiologi morbiditas dan mortalitas *C. difficile* yang terus berkembang, tantangan global terkait penatagunaan antibiotik dan terbatasnya pilihan pencegahan alternatif untuk CDI (*Clostridium difficile Infection*), maka penting untuk menilai beban penyakit ini sebagai masukan bagi tindakan kesehatan masyarakat. Munculnya strain PCR ribotipe 027/NAP1 yang sangat virulen, peningkatan signifikan dalam kejadian rawat inap yang terkait dengan *C. difficile* pada pertengahan tahun 2000-an dan wabah CDI di rumah sakit secara global adalah contoh dampak besar *C. difficile* terhadap layanan kesehatan. Melalui penerapan definisi kasus surveilans standar, sebagian besar kasus CDI yang terjadi di luar rumah sakit juga telah teridentifikasi. Peningkatan kesadaran akan peran *C. difficile* sebagai masalah kesehatan global diperlukan untuk mengurangi angka morbiditas dan mengendalikan angka CDI.⁵

Epidemi ini telah menunjukkan perlunya pengawasan terhadap gerakan internasional dari strain *C. difficile*. Strain yang bersirkulasi di Asia, seperti di wilayah lain, memiliki potensi untuk menyebar secara internasional, yang menjamin pemantauan ketat terhadap prevalensi dan epidemiologi molekuler infeksi *C. difficile* di wilayah tersebut. Namun penelitian tentang infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan masih sangat sedikit.

Tujuan

Tujuan dari kajian pustaka ini adalah untuk memaparkan peran epidemiologi molekuler melalui alat diagnostik molekuler dengan teknik PCR terhadap tingkat beratnya gejala klinis infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan.

Pembahasan

Epidemiologi molekuler

Molekular epidemiologi dibutuhkan untuk menginformasikan peran penyebab dan kandidat patogen yang menyebabkan sebuah penyakit infeksi. Studi ini menggunakan teknik molekular yang memberikan kesempatan untuk mendeteksi jumlah jejak material genetik dari patogen pada berbagai spesimen dengan sensitifitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan metode berbasis kultur. Contoh dari epidemiologi molekular adalah membandingkan sekuensi genome dari beberapa patogen pada kasus resistensi obat fatal dan tidak fatal.⁶ Alat diagnostik molekular terdapat berbagai alat yang dapat digunakan sebagai dalam diagnostik molekular antara lain *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*, *Real time Polymerase Chain Reaction (PCR qPCR)*, *Multiplex Polymerase Chain Reaction*, *Restriction Fragment Polymorphism (RFLP)*, *Northen Blotting*, *Flow Cytometri*, *Flourescence in situ Hybridation (FISH)*, *Agarose Gel Electrm ophoresis*.⁶

Clostridium difficile

Clostridium difficile adalah bakteri Gram positif, batang berspora serta termasuk bakteri oportunistik yang pertama kali dideskripsikan pada tahun 1935 sebagai *Bacillus difficilis* di antara flora feses bayi sehat. Organisme ini diakui sebagai penyebab dari colitis pada tahun 1977. *C. difficile* dinamakan demikian oleh Hall dan O'Toole untuk mencerminkan kesulitan dalam mengisolasi, karena sebagian besar pertumbuhannya yang relatif lambat yaitu 40-70 menit waktu penggandaan dibandingkan dengan sebagian besar anggota genus *Clostridium*. *C. difficile* sangat *aerointolerant* selama fase pertumbuhan logaritmik ketika sel-sel vegetatif mendominasi, sehingga sulit untuk laboratorium mikrobiologi klinis yang tidak dilengkapi dengan ruang anaerob untuk menembus organisme sebelum sporulasi. Namun, pemeriksaan kultur tidak menjadi pilihan karena ada berbagai pemeriksaan yang telah dikembangkan untuk membantu dalam identifikasi organisme dari spesimen tinja.^{7,8,9}

Faktor Risiko

Faktor risiko penyebab terjadinya infeksi *C. difficile* terutama yang mengganggu keseimbangan dari mikrobiota usus. Pada dasarnya, mikrobiota usus berkompetensi dengan *C. difficile* untuk berkoloni pada permukaan lumen usus, sehingga saat terjadi penurunan jumlah maupun ketidakseimbangan dari mikrobiota usus, kesempatan dari *C. difficile* untuk membentuk koloni menjadi lebih besar. Berbagai penelitian dilakukan untuk menganalisa faktor risiko yang memiliki peran dalam terjadinya infeksi *C. difficile*, salah satunya adalah sebuah ulasan sistematik yang dilakukan oleh Eze dkk, dimana mereka menemukan bahwa penggunaan beberapa jenis obat-obatan khususnya antibiotik dan supresan asam lambung dapat mempengaruhi terjadinya infeksi *C. difficile*. Selain itu faktor inang berupa usia, komorbiditas tertentu, karakteristik klinis dan intervensi yang diterima selama perawatan dapat mempengaruhi kejadian infeksi *C. difficile*. Berikut adalah beberapa faktor yang dipertimbangkan dapat mempengaruhi terjadinya infeksi *C. difficile* oleh berbagai literatur terdahulu:

1. Pasien dengan Keganasan

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mendapatkan hasil bahwa keganasan adalah faktor risiko independen untuk infeksi *C. Difficile* termasuk infeksi berulang. Infeksi ini ditemukan 2,5 kali lebih banyak ditemukan pada pasien dengan keganasan hematologis dibandingkan dengan tumor solid, khususnya leukemia dan limfoma.¹⁰

2. Penggunaan Antibiotik

Beberapa literatur menemukan bahwa risiko terjadinya infeksi *C. difficile* 6 kali lebih besar pada pasien yang sedang dalam terapi antibiotik dibandingkan yang tidak. Beberapa antibiotik seperti klindamisin, sepalosporin, fluorokuinolon merupakan jenis yang memiliki risiko tertinggi. Studi lain yang dilakukan oleh Chalmers dkk menunjukkan bahwa bukan hanya tipe antibiotik yang dapat meningkatkan kejadian infeksi *C. difficile*, akan tetapi, jumlah varian antibiotik yang diterima dan durasi penggunaan juga dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi *C. difficile*. Semakin banyak jumlah kelas antibiotik yang digunakan pada pasien misalnya pada pasien dengan terapi antibiotik kombinasi akan meningkatkan risiko terinfeksi *C. difficile* sebesar 3,1 kali lebih tinggi per kelas antibiotik, sedangkan semakin panjang durasi penggunaan antibiotik akan meningkatkan risiko penyakit sebesar 1,09 kali per harinya.¹¹

3. Penggunaan Obat Supresan Asam Lambung

Agen supresan asam lambung seperti *Proton Pump Inhibitor* (PPI) dan antihistamin reseptor H2 ternyata dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi dari *C. difficile*. Hal ini diperkirakan karena supresi asam lambung memudahkan *C. difficile* untuk menginfeksi usus.¹⁰

4. Usia

Usia yang melebihi 65 tahun dapat meningkatkan risiko untuk terinfeksi *C. difficile* sebesar 2 kali lipat dibandingkan dengan pasien anak dan dewasa muda. Penggunaan obat-obatan yang telah disebutkan pada pasien berusia ≥ 65 tahun juga memiliki risiko yang lebih tinggi untuk terjadinya infeksi *C. difficile* dibandingkan dengan penggunaan obat tersebut pada kelompok umur yang berbeda. Anak-anak kelompok usia 2 tahun juga diketahui menderita infeksi *C. difficile*. Neonatus dan bayi di bawah 2 tahun sering menjadi pembawa tanpa tetapi jarang mengalami gejala.¹⁰

5. Komorbiditas

Beberapa komorbiditas disebutkan dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi *C. difficile* diantaranya *Inflammatory bowel disease* (IBD), diabetes, keganasan hematologi, limfoma, gagal ginjal dan keganasan solid.¹⁰

6. Karakteristik Klinis dan Intervensi

Faktor perawatan selama dirumah sakit juga memberikan pengaruh terhadap risiko terjadinya infeksi *C. difficile*. Hal yang serupa juga terjadi pada pasien yang menjalani prosedur infasif seperti pembedahan abdominal, pemasangan *Naso Gastric Tube* (NGT), ventilasi mekanik dan alat lainnya yang berkorelasi dengan pemanjangan waktu perawatan di rumah sakit.¹⁰ Sebuah studi menunjukkan bahwa perawatan di rumah sakit yang melebihi 30 hari memberikan peningkatan risiko yang signifikan terhadap terjadinya infeksi *C. difficile*.¹¹

Pengaruh Epidemiologi Molekuler *Clostridium difficile* pada Anak dengan Keganasan

Pasien dengan infeksi *C. difficile* apabila pasien mengalami onset baru diare dengan ≥ 3 kali tidak terbentuknya feses padat dalam 24 jam. Maka akan dilakukan pemeriksaan. Standard baku diagnosis dari infeksi *C. difficile* adalah kultur feses akan tetapi metode ini jarang digunakan karena memakan waktu sedangkan terapi agresif dibutuhkan pada pasien keganasan yang menderita *C. difficile*. Metode lain yang menjadi pilihan adalah PCR yang memiliki sensitivitas tinggi (87-98%) dan juga spesifisitas yang tinggi (mendekati 100%). Pada pusat yang tidak memiliki PCR untuk mengidentifikasi DNA dari bakteri, maka metode lain seperti *Enzim Immunoassay* (EIA) untuk antigen glutamat dehidrogenasi, EIA untuk toksin A dan B, serta reaksi metralisasi sitoksisitas sel dapat digunakan dalam membantu diagnosis infeksi *C. difficile*. Identifikasi bakteri *C. difficile* dengan PCR lebih diutamakan dalam diagnosis infeksi *C. difficile* dibandingkan pemeriksaan *culture cytotoxin neutralization assay* (CCNA). Pada penelitian lainnya PCR memiliki nilai sensitifitas sebesar 87,2% dalam mendeteksi *C. difficile* dibandingkan dengan toksin assay (48,7%) dan kultur (65%). Waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil lebih singkat dengan menggunakan PCR, hasil identifikasi sudah dapat diterima dalam waktu 2,27 jam, sedangkan untuk toksin assay membutuhkan rerata waktu 83,67 jam dan kultur membutuhkan rerata waktu 105,79 jam. PCR juga mampu mendeteksi adanya strain *C. difficile* hipervirulent sedangkan metode lainnya tidak. Untuk melakukan pengujian PCR pada pasien dengan infeksi *C. difficile*, dapat dilakukan menggunakan sampel yang berasal dari feses yang dilakukan dengan ekstraksi DNA dari sampel, pembersihan, pembuatan konsentrat dan diagnosis molekular. Untuk mengambil DNA dari sampel feses, feses perlu dilarutkan dengan buffer, kemudian disaring untuk memindahkan bakteri dan padatan, kemudian di tempatkan pada selapis fibroblast yang telah terkultur.¹²

Keganasan merupakan salah satu faktor risiko dari terjadinya infeksi *C. difficile*. Berdasarkan ulasan sistematis, keganasan baik berupa keganasan hematologi maupun keganasan solid memiliki risiko untuk meningkatkan kemungkinan terjadinya infeksi *C. difficile*.¹⁰ Pada mulanya, hubungan antara infeksi *C. difficile* dengan keganasan diketahui setelah adanya laporan serial kasus kecil yang menunjukkan infeksi *C. difficile* pada pasien keganasan hematologi seperti limfoma maligna dan myeloma multiple. Setelah dilakukan penelitian lebih lanjut, didapatkan pasien dengan keganasan padat seperti kanker payudara, kanker kepala leher, dan kanker paru juga mengalami peningkatan risiko untuk mengalami infeksi *C. difficile*. Berbagai sumber berspekulasi bahwa pada pasien kanker yang menerima kemoterapi 30 hari sebelum terjadinya diare memiliki risiko lebih tinggi bahwa diare tersebut disebabkan oleh adanya infeksi *C. difficile*. Agen kemoterapi yang bersifat sitotoksik menyebabkan kerusakan langsung pada mukosa usus yang dihubungkan dengan apoptosis kriptas usus dan kelainan protein pada usus. Perubahan ini menyebabkan diare post kemoterapi. Selain itu, regimen kemoterapi juga diketahui dapat menimbulkan disbiosis mikrobiota usus yang mempermudah *C. difficile* untuk mengambil alih.¹³

Infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan

Studi global terbaru menunjukkan bahwa perkiraan insidensi infeksi *C. difficile* adalah 1-2% pada populasi pasien rawat inap secara umum dan 7-14% pada pasien dewasa dengan keganasan. Salah satu insiden infeksi *C. difficile* pada pasien yang menjalani kemoterapi adalah 7%. Sedangkan pada pasien pediatri dengan keganasan, kejadian infeksi *C. difficile* 15 kali lebih sering dibandingkan dengan populasi pediatrik secara umum. Data pada tahun 2001 hingga 2010 menunjukkan prevalensi infeksi *C. difficile* pada pasien kanker adalah 1,09% sedangkan pada pasien non kanker adalah 0,77%. Studi yang dilakukan di Poland menjelaskan insidensi infeksi *C. difficile* lebih tinggi pada pasien dengan keganasan hematologis dibandingkan dengan tumor padat. Pasien dengan leukemia mieloblastik akut memiliki waktu lebih singkat mengalami infeksi *C. difficile* dibandingkan leukemia limfoblastik akut. Mekanisme untuk resistensi bayi terhadap infeksi *C. difficile* dianggap terkait dengan fraksi imunoglobulin ASI yang menghambat pengikatan toksin A ke reseptor usus, dan tidak ada dalam usus bayi yang baru lahir dari reseptor usus yang mengikat *C. difficile* toksin.¹⁴

Patogenesis infeksi *C.difficile* pada anak dengan keganasan

Peningkatan intensitas kemoterapi telah meningkatkan hasil onkologi pediatrik bersamaan dengan pengakuan dan augmentasi praktik perawatan suportif. Profilaksis dan pengobatan infeksi tetap menjadi landasan perawatan suportif. Pertimbangan tambahan termasuk pengakuan dan manajemen mual dan muntah, mucositis dan nyeri, status gizi pasien onkologi.¹⁵

Pengobatan yang diterima oleh pasien dengan demam neutropenia juga diperkirakan dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi *C. difficile*. Sebuah studi menunjukkan bahwa penggunaan monoterapi metronidazole sebagai pengobatan demam neutropenia dapat meningkatkan risiko untuk terinfeksi sebesar 3,5 kali ($p=0,002$), sedangkan apabila menggunakan kombinasi metronidazole dan vankomisin risiko akan meningkat sebesar 3,71 kali ($p=0,001$). Normalnya kedua obat tersebut merupakan pilihan utama dari terapi demam neutropenia dimana metronidazole oral 250 mg dengan konsumsi 4 dosis sehari maupun vankomisin oral 125 mg dengan konsumsi 4 dosis dapat digunakan sebagai terapi inisiasi demam neutropenia. Meskipun efektifitas pengobatan demam neutropenia menggunakan regimen tersebut dapat mencapai 94%-95%, pasien tetap memiliki risiko untuk mengalami infeksi *C. difficile* usia pengobatan.¹⁶

Selain infeksi *C. difficile* yang bermanifestasi sebagai demam neutropenia, sebuah studi juga menemukan bahwa pengobatan antibiotik kombinasi yang digunakan sebagai tatalaksana demam neutropenia pada pasien dengan keganasan meningkatkan risiko pasien keganasan untuk menderita diare akibat infeksi *C. difficile*. Risiko penggunaan antibiotik ini secara signifikan ditemukan pada pasien dengan keganasan hematologi dimana terdapat peningkatan risiko sebesar 2,26 kali dibandingkan dengan pasien keganasan non-hematologi.¹³ Pasien yang alergi terhadap penisilin dapat diberikan golongan sefalosporin. Pasien demam neutropenia dengan risiko rendah terhadap komplikasi dapat diberikan terapi empiris awal yang diberikan secara oral atau intravena di rumah sakit. Rekomendasi pengobatan pada pasien dengan risiko rendah adalah kombinasi antara siprofloksasin dan amoksisilin klavulanat. Terapi monoterapi yang

dapat diberikan adalah levofloksasin atau siprofloksasin dan kombinasi dengan siprofloksasin dan klindamisin.¹⁷

Sebuah studi menunjukkan bahwa regimen kemoterapi yang dapat menyebabkan disbiosis mikrobiota usus serta penurunan kapasitas reparasi selular dari usus yang menyebabkan penghentian mitosis sel epitel usus dan deskuamasi memiliki peran penting dalam terjadinya infeksi *C. difficile*. Beberapa regimen kemoterapi yang dijadikan perhatian khusus diantaranya adalah antimetabolit, penghambat DNA topoisomerase, agen berbasis platinum, taxane, agen alkaliting.¹⁴

Kesimpulan

Kejadian infeksi *C. difficile* pada anak dengan keganasan dilaporkan lebih tinggi dibandingkan pada anak tanpa keganasan, dimana dilaporkan hal tersebut dapat berhubungan dengan kemoterapi maupun antibiotik yang diterima oleh anak dengan keganasan, serta kejadian demam neutropeni yang sering dialami pada anak dengan keganasan. Infeksi *C. difficile* memberikan manifestasi berupa diare dengan derajat yang berbeda, dimana toxin yang dihasilkan berhubungan dengan virulensi *C. difficile*.

Epidemiologi molekuler hingga saat ini dapat meningkatkan klasifikasi taksonomi patogen. Alat diagnostik molekuler dapat digunakan dalam penelitian epidemiologi untuk mengenali dan mengetahui jenis strain yang tersebar di seluruh dunia. Dari berbagai penelitian yang telah dipaparkan sebelumnya didapatkan strain *C. difficile* yang berbeda dapat memberikan manifestasi yang berbeda.

Daftar Pustaka

1. Czepiel J, Drozd M, Pituch H, Kuijper, Perucki W, Mielimonka A, et al. *Clostridium difficile* infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019;38(7):1211-21.
2. Costa CL, Barreto C, Carvalho M De, González RH, Andret M, Gifoni C, et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in a Brazilian cancer hospital. J Glob. 2017; 1-19.
3. Luo R, Greenberg A, Stone CD. Outcomes of *Clostridium difficile* infection in hospitalized leukemia patients: A nationwide analysis. Inf Contr Hosp Epid. 2015;36:794-801. -->2
4. Eybpoosh S, Haghdoost AA, Mostafavi E, Bahrampour A, Azadmanesh K, Zolala F. Molecular epidemiology of infectious diseases. Electr Physi. 2017 Aug 1;9(8):5149-58.
5. Balsells E, Shi T, Leese C, Luell I, Burrouws J, Nair H et al., Global burden of *Clostridium difficile* infections: a systematic review and meta-analysis. J Glob Health. 2019;9(1):010407.
6. Adane M, Gebreyohannes M, Gebreyohannes G. A brief review on molecular diagnostic tools: principles, application and limitations. Adv Biol Res (Rennes). 2016;10:388-97.
7. Isidro J, Mendes AL, Serrano M, Henriques AO, Oleastro M. Overview of *Clostridium difficile* Infection : life cycle, epidemiology, antimicrobial resistance and treatment. InTech. 2017;2:8-13
8. Endres B, Bassères E, Rashid T, Chang L, Alam MJ, Garey KW. A protocol to characterize the morphological changes of *Clostridium difficile* in response to antibiotic treatment. J Vis Exp. 2017 May 25:(123):55383.
9. Jin D, Luo Y, Huang C, Cai J, Ye J, Zheng Y, et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients in eastern china. J Clin Micr. 2017;55:801-10.
10. Eze P, Balsells E, Kyaw MH, Nair H. Risk factors for *Clostridium difficile* infections: an overview of the evidence base and challenges in data synthesis. J Glob Health. 2017;7:1-9.
11. Chalmers JD, Akram AR, Singanayagam A, Wilcox MH, Hill AT. Risk factors for *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with community-acquired pneumonia. J Infect. 2016;2-10.
12. Song PH, Min JH, Kim YS, Jo SY, Kim EJ, Lee KJ, et al. Rapid and accurate diagnosis of *Clostridium difficile* infection by real-time polymerase chain reaction. Intest Res 2018;16(1):109-15.
13. Fuereder T, Koni D, Gleiss A, Kundi M, Makristathis A, Zielinski C, et al. Risk factors for *Clostridium difficile* infection in hemato-oncological patients : A case control study in 144 patients. Nat Publ Gr. 2016;1-8.
14. Ociepa T, Fr J, Matysiak M, Czy K. Incidence, course, and outcome of *Clostridium difficile* infection in children with hematological malignancies or undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Sep;37(9):1805-12.
15. Lanzkowsky P, Lipton JM, Fish JD. Lanzkowsky's manual of pediatric hematology and oncology. 6th ed. Lanzkowsky P, Lipton JM, Fish JD, editors. New York: Elsevier; 2016. p. 376-2.
16. Tieu JD, Schmidt SA, Miller JL, Kupiec KE, Skrepnek GH, Liu C, et al. *Clostridium difficile* treatment in neutropenic patients : Clinical outcomes of metronidazole, vancomycin, combinations, and switch therapy. J Oncol Pharm Pract. 2019 Apr;25(3):520-8.
17. Klastersky J, Naurois JD, Rolston K, Rapoport B, Maschmeyer G, Aapro M et. al. Management of febrile neutropaenia: ESMO Clinical Practice Guidelines. 2016 Sep;27(5):111-8.a