

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Bruna Morete da Paixão Marangoni
Jordana Maria da Silva

**INFECÇÕES POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* E O TRANSPLANTE DE
MICROBIOTA FECAL COMO MELHOR OPÇÃO TERAPÊUTICA**

São Paulo
2017

Bruna Morete da Paixão Marangoni

Jordana Maria da Silva

**INFECÇÕES POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* E O TRANSPLANTE DE
MICROBIOTA FECAL COMO MELHOR OPÇÃO TERAPÊUTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Biomedicina do Centro
Universitário São Camilo, orientado pela Prof^a
MsC. Jeane Bueno Facioli, como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

São Paulo

2017

Bruna Morete da Paixão Marangoni
Jordana Maria da Silva

**INFECÇÕES POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* E O TRANSPLANTE DE
MICROBIOTA FECAL COMO MELHOR OPÇÃO TERAPÊUTICA**

São Paulo, 23 de Abril de 2017

Professor Orientador Jeane Bueno Facioli

Professor Examinador

Dedicamos este trabalho primeiramente a Deus, ao Criador e Dono de todas as coisas.

Com a mesma alegria, dedicamos aos colegas que amam o fantástico e lindo mundo da Microbiologia.

Gostaria de agradecer meu pai, Marcos, por todas as noites mal dormidas e por sua ausência para o bem estar e sustento da nossa família. Você me deu a oportunidade de crescer profissionalmente e me ensinou a ser a mulher que hoje estou me tornando.

Gostaria de agradecer minha mãe, Marisa, por ter colocado em primeiro lugar, seu amor por mim e pela minha irmã antes de qualquer coisa. Por ter me ensinado a ser uma mulher de caráter e que luta para ter aquilo que quer com dignidade, respeito e sabedoria.

Gostaria também de agradecer minha irmã, Beatriz, por ter me incentivado e por ter me feito rir quando tudo a minha volta parecia desabar. Obrigada por ser meu alicerce, companheira e melhor amiga. O que estou me tornando hoje é por você.

Gostaria de agradecer aos meus avós: Maria, Rui, Neuza e Irineu por incentivarem o amor pela minha profissão e por morrerem de orgulho de mim, não importasse o quê.

Aos meus amigos da São Camilo, por terem convivido comigo durante esses anos, enfrentando desafios, compartilhando histórias de vida e aprendizado. Principalmente a minha fiel companheira desde sempre, Miriam (Mimiga), por ter acompanhado minha jornada tão de perto. Você é meu braço direito.

Agradeço também a nossa querida orientadora, Jeane Bueno Facioli por toda dedicação que teve com o nosso trabalho. Obrigada também pelo suporte, incentivo e carinho tanto comigo quanto com a Jordana. Foi uma honra poder compartilhar esse trabalho com as duas.

Por fim, agradeço ao Centro Universitário São Camilo e seu corpo docente pelo comprometimento com seus alunos, proporcionando uma educação de qualidade e formando profissionais da área da saúde diferenciados.

Bruna M. Marangoni

Agradeço primeiramente a Deus pelo Dom da Vida e por permitir que eu chegasse até aqui. Sou grata ao meu Pai não somente pelas suas bênçãos, mas por tudo que Ele é – Obrigada, Paizinho! Obrigada por cumprir em minha vida tuas promessas.

Agradeço a minha família por toda dedicação, paciência e palavras de incentivo que contribuiu diretamente para que pudesse ter uma jornada mais leve e prazerosa durante esses anos.

Agradeço a professora e maravilhosa Orientadora Jeane Bueno Facioli que dedicou muitos dos seus dias, inclusive feriados e madrugadas, para nos auxiliar na elaboração deste trabalho. Obrigada por não medir esforços em nos ajudar, pela paciência demonstrada em cada correção e incentivo em cada detalhe.

Agradeço a professora Dyana por estar sempre disposta em me auxiliar. Estando presente em minha vida em diversos momentos, se mostrando mãe, amiga, mestre e exemplo de ser humano. Obrigada, Dyamonas!

Agradeço ao Centro Universitário São Camilo e aos demais docentes por oferecerem um ensino de qualidade e diferenciado. Além de aprendermos toda a parte técnica, com toda certeza, sairemos da faculdades mais humanos e éticos.

Agradeço a pessoa que demonstrou ser muito mais que uma amiga, Ana Carolina (Aninha). Obrigada por cada palavra dita, por cada oração feita. Obrigada por ouvir e ler repetidas vezes nosso trabalho. Você é uma pessoa incrível que faço questão de levar para a vida inteira. Te amo, amiga!

Quero agradecer ao meu noivo Samuel, por compreender muitas vezes minha ausência, por cada ligação não atendida e mensagens não respondidas. Você foi a paciência e o amor em pessoa, pois sempre me apoiou com palavras encorajadoras ao longo de todos esse lembrando-me sempre das Promessas do Senhor.

Jordana M. Silva

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!
Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu
Deus, estará com você por onde você andar.”*

Josué 1.9

MARANGONI, B. M. P.; SILVA, J. M. **Infecções por *Clostridium difficile* e o transplante de microbiota fecal como melhor opção terapêutica.** 2017. 84f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

Infecções por *Clostridium difficile* (CDI) são uma das principais causas de diarreia infecciosa associada a antibióticos. Atualmente, metronidazol e vancomicina são os medicamentos mais comumente utilizados nesses casos. Embora a maioria dos pacientes apresente resposta clínica às terapias antimicrobianas existentes, a infecção recorrente pode se desenvolver em até 30% dos pacientes. Com o aparecimento recente de cepas hipervirulentas de *Clostridium difficile*, a CDI tornou-se uma doença de grande relevância clínica, apresentando taxas mais elevadas de recorrência, aumentando a gravidade e a mortalidade. O transplante de microbiota fecal (FMT) é um tratamento alternativo para o CDI recorrente. A melhor compreensão da microbiota intestinal e seu papel nesta infecção abriu portas para essa abordagem terapêutica promissora. Acredita-se que o FMT possa regular a disbiose, restaurando a diversidade da microbiota intestinal, rompendo assim, o ciclo de infecções recorrentes. Desde o primeiro relato do uso de FMT para CDI recorrente em 1958, vários estudos têm demonstrado a eficácia deste método, com taxas de cura de aproximadamente 90% em comparação com a antibioticoterapia padrão.

Palavras-chave: Infecção por *Clostridium difficile*. Infecção recorrente por *Clostridium difficile*. Transplante de microbiota fecal.

MARANGONI, B. M. P.; SILVA, J. M. ***Clostridium difficile* infections and fecal microbiota transplantation as the best therapeutic option**. 2017. 84f. Conclusion Work of Course (Graduation in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

Clostridium difficile infections (CDI) are one of the leading causes of infectious diarrhea associated with antibiotics. Currently, metronidazole and vancomycin are the most commonly used medications in these cases. Although most patients present clinical response to existing antimicrobial therapies, recurrent infection can develop in up to 30% of patients. With the recent appearance of hypervirulent *Clostridium difficile* strains, CDI has become a disease of great clinical relevance, presenting rates Increased recurrence, increasing severity and mortality. Fecal microbiota transplantation (FMT) is an alternative treatment for recurrent CDI. A better understanding of the intestinal microbiota and its role in this infection has opened the door to this promising therapeutic approach. It is believed that the FMT can regulate dysbiosis, restoring the diversity of the intestinal microbiota, thus breaking the cycle of recurrent infections. From the first report of the use of FMT for recurrent ICDs in 1958, several studies have demonstrated the efficacy of this method, with cure rates of approximately 90% compared to standard antibiotic therapy.

Keywords: Recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clostridium difficile* infection. Fecal microbiota transplant.

Lista de Figuras

Figura 1 – Grupos bacterianos e sua distribuição dentro do corpo humano	19
Figura 2 – Microbiota do trato gastrointestinal humano.....	20
Figura 3 – <i>Clostridium difficile</i>	24
Figura 4 – Locus de patogenicidade (PaLoc).....	26
Figura 5 – Locus da toxina binária (CdtLoc).....	26
Figura 6 – Fisiopatogenia da CDI.....	29
Figura 7 – Reconstituição da microbiota normal através do transplante de microbiota fecal.....	43
Figura 8 – Critérios de exclusão dos doadores de FMT	48
Figura 9 – Avaliação da amostra fecal e sorologia dos doadores	48
Figura 10 – Procedimento de FMT	51
Figura 11 – Eventuais efeitos adversos do FMT	55

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Fatores de virulência do <i>Clostridium difficile</i>	25
Tabela 2 – Fatores de risco em CDI inicial, recorrente, severa e por cepas BI/NAP1/027	34
Tabela 3 – Métodos laboratoriais para diagnóstico de infecção por <i>Clostridium difficile</i>	39
Tabela 4 – Tratamento antimicrobiano para infecções por <i>Clostridium difficile</i> asseado na gravidade	40
Tabela 5 – Vantagens e desvantagens de métodos de administração de fezes	49

Lista de Siglas

CD	<i>Clostridium difficile</i>
CDI	Infecção por <i>Clostridium difficile</i>
CDT	<i>Clostridium difficile</i> transferase
FMT	Transplante de microbiota fecal
FbpA	Proteína de ligação à fibronectina
GDH	Glutamato desidrogenase
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IBD	Doença inflamatória intestinal
PCR	Reação em cadeia da polimerase
rCDI	Infecção recorrente por <i>Clostridium difficile</i>
SlpA	Proteína de superfície
TcdA	Toxina A
TcdB	Toxina B
TGI	Trato gastrointestinal
UC	Colite ulcerativa

SUMÁRIO

Dedicatória	
Agradecimentos	
Epígrafe	
Resumo	
Abstract	
Lista de Figuras	
Lista de Tabelas	
Lista de Siglas	
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivos gerais	16
2.1 Objetivos específicos	16
3 METODOLOGIA	17
4 DESENVOLVIMENTO	18
4.1 Microbiota do trato gastrointestinal (TGI)	18
4. 2 Funções da microbiota intestinal	21
4.2.1 Função de resistência à colonização ou de proteção	22
5 <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i>	23
5.1 Fatores de virulência	24
5.2 Fisiopatogenia	27
6 RESPOSTA IMUNE AO <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i>	30
7 EPIDEMIOLOGIA	31
8 FATORES DE RISCO PARA CDI	33
9 INFECÇÃO POR <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> (CDI)	35
9.1 Infecção recorrente por <i>Clostridium difficile</i> (rCDI)	35
10 DIAGNÓSTICO	37
10.1 Diagnóstico laboratorial	37

10.1.1 Exames microbiológicos.....	37
10.1.2 Pesquisa de glutamato desidrogenase (GDH) do <i>Clostridium difficile</i>	38
10.1.3 PCR (Reação em cadeia da polimerase)	38
10.1.4 Detecção das toxinas A e B	39
10.1.5 Ensaio de citotoxicidade.....	39
11 TRATAMENTO.....	40
11.1 Transplante de microbiota fecal (FMT).....	43
11.1.1 Objetivos e efeitos do FMT.....	44
11.1.2 Indicações para FMT.....	44
11.1.3 Seleção e rastreio de doadores.....	45
11.1.4 Regulamentos e consentimento do paciente.....	48
11.1.5 Preparação e execução do FMT	49
11.1.6 Ação do FMT na cura da infecção crônica e recorrente por <i>Clostridium difficile</i>	52
11.1.7 Efeitos adversos do FMT.....	54
12 OUTRAS APLICAÇÕES CLÍNICAS DO FMT	56
12.1 Doença inflamatória intestinal (IBD)	56
12.2 FMT para descolonização de patógenos multirresistentes.....	56
13 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXOS	83

1 INTRODUÇÃO

O termo microbiota intestinal refere-se a uma variedade de micro-organismos comensais, em sua maioria bacteriano, que reside no interior do intestino humano. Esta abriga uma comunidade microbiana diversa e complexa que é conhecida por conferir uma série de benefícios para a saúde humana, por exemplo, metabolismo de nutrientes do indivíduo, xenobiose, manutenção da integridade estrutural da mucosa entérica, imunomodulação e proteção contra patógenos (BARBOSA et al., 2010; GUINANE; COTTER, 2013).

Em geral, a microbiota entérica saudável é constituída predominantemente pelos filos Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes e Firmicutes (BIEN; PALAGANI; BOZKO, 2013).

O trato gastrointestinal (TGI) é o mais colonizado dentre estes, pois somente o cólon possui 70% das bactérias de todo o corpo e a maior parte desta microbiota é composta de anaeróbios estritos, tais como *Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Clostridium* (BARBOSA et al., 2010; JANDHYALA, 2015).

Clostridium difficile (CD) é uma bactéria Gram-positiva anaeróbia, em forma de bacilo, pertencente ao filo Firmicutes, formador de esporos e produtor de toxinas, que, em condições normais, é inibida pela microbiota intestinal. No entanto, quando ocorre desequilíbrio da microbiota, normalmente pelo uso de antibióticos, o bacilo encontra condições favoráveis para sua germinação, colonização e secreção de toxinas, podendo ocasionar quadros de inflamação à danos na mucosa do intestino (VENUTO et al., 2010; VIANA, 2013; OFOSU, 2016), que varia de colonização assintomática, diarreia moderada à colite potencialmente fatal (OLLECH et al., 2016).

Na atualidade a infecção causada pela bactéria é uma das principais causas de diarreia infecciosa associada aos cuidados de saúde, responsável por 15% a 25% dos casos de diarreia associada à antibioticoterapia (NAPOLITANO; EDMISTON, 2017). Dados recentes sugerem que houve um aumento na incidência e na gravidade ao longo da última década (FARROW et al., 2013; OFOSU, 2016). Entretanto, existem relatos na literatura reconhecendo casos associados à comunidade (NAPOLITANO; EDMISTON, 2017; PARK et al., 2017).

Nos Estados Unidos, estima-se que ocorram cerca de 500 mil casos de infecção por este micro-organismo por ano, com custos de aproximadamente 3

bilhões de dólares (FARROW et al., 2013). Com tudo, pouco se sabe sobre a epidemiologia da doença em países latino-americanos, logo, a incidência nessas áreas pode ser subestimada (BALASSIANO et al., 2011; PIRES et al., 2014). Surto foram registrados por volta dos anos 2000 nos Estados Unidos, Canadá e Reino Unido com mortalidade elevada de 6,9 a 16,7%. O custo estimado por episódio varia de US\$ 2.470,00 e US\$ 3.669, sendo que no primeiro semestre de 2004, Loo et al. (2011) analisaram 12 hospitais no Quebec, Canadá, e obtiveram incidência de 22,5 casos a cada 100.000 admissões hospitalares (JÚNIOR, 2012).

O método ideal de diagnóstico para CD é a pesquisa das toxinas A e B, uma vez que a cultura não é um exame conclusivo. Essa pesquisa é realizada por meio de *kits* comerciais com leitura visual, porém, sua sensibilidade é menor quando comparado a métodos moleculares (OPLUSTIL et al., 2010).

A terapêutica recomendada para diarreia associada a CD consiste em antibioticoterapia com metronidazol e/ou vancomicina. Entretanto, a resposta ao tratamento com antimicrobianos pode não ser satisfatória, na qual a taxa de diarreia recorrente pode chegar até 30% dos casos (FONSECA, 2013; GANC et al., 2015).

O transplante de microbiota fecal (FMT) surgiu como alternativa para o tratamento da diarreia recorrente por CD, quando a resposta ao tratamento preconizado para esta infecção não é obtida. O objetivo dessa terapia é restaurar a homeostase da microbiota intestinal do indivíduo infectado (PÉREZ et al., 2013).

Devido às elevadas taxas de incidência e recorrências relatadas, além de falha na antibioticoterapia preconizada, somado a isso, a crescente gravidade e frequência da doença, e os correspondentes impactos econômicos, faz com que haja a necessidade de abordagens mais potentes de tratamento obrigando a comunidade médica a tomar medidas rápidas no desenvolvimento de um tratamento eficaz (BADGER et al., 2012).

Nesse contexto surge o FMT, método promissor para indivíduos com infecções recorrentes por CD.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo descrever os aspectos gerais CDI e compreender o impacto e a relevância do transplante de microbiota fecal em infecções causadas por este micro-organismo.

2.2 Objetivos específicos

Descrever dados epidemiológicos, patogênese, diagnóstico laboratorial e opções terapêuticas para CDI.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão de literatura utilizando livros da área de Microbiologia disponíveis na Biblioteca Padre Inocente Radrizzani, situada no Centro Universitário São Camilo, campus Ipiranga. Também foram utilizados artigos científicos pesquisados na revista eletrônica SciELO e na base de dados PubMed, sendo eles nos idiomas português, inglês e espanhol, publicados entre os anos de 2007 a 2017.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Microbiota do trato gastrointestinal (TGI)

O corpo humano apresenta um diversificado número de bactérias, vírus e fungos que coexistem em simbiose com o hospedeiro (SCARPELLINI et al., 2015). Há uma microbiota específica para cada compartimento humano, incluindo a pele, tratos respiratório, genitourinário e gastrointestinal (NEISH, 2009). Dentre estes, o órgão mais fortemente colonizado é o trato gastrointestinal, uma vez que somente o cólon possui 70% das bactérias de todo o corpo e a maior parte desta microbiota é composta de anaeróbios estritos (SEKIROV et al., 2010).

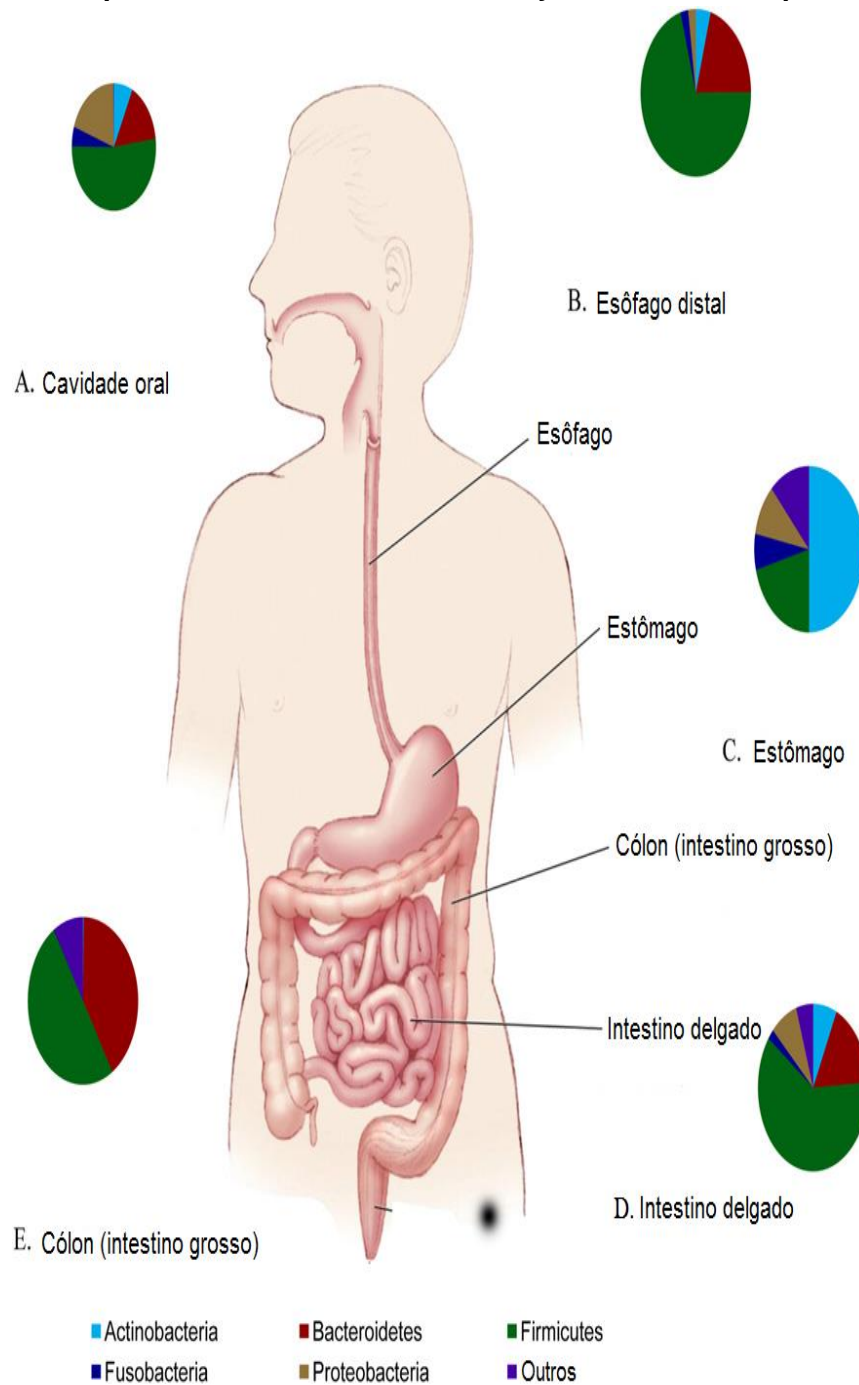
O termo microbiota gastrointestinal refere-se a uma variedade de micro-organismos comensais que colonizam o interior do intestino e que realizam diversas funções benéficas para o hospedeiro. É constituída por microbiota residente e de transição temporária, sendo considerada como um dos ecossistemas mais complexos, com aproximadamente 1.000 espécies de bactérias distintas (JANDHYALA, 2015).

A instalação da microbiota ocorre logo após o nascimento. O intestino dos neonatos é rapidamente colonizado por uma variedade de micro-organismos. Fatores conhecidos podem influenciar na composição e colonização da microbiota entérica do recém-nascido, como a idade gestacional, microbiota materna, tipo de parto escolhido (parto vaginal versus parto cesárea), amamentação (leite materno versus leite industrializado), medidas de higiene, contaminação ambiental, tratamento com antibióticos e características genéticas (RODRÍGUEZ et al., 2015; WALL et al., 2009).

A microbiota intestinal de recém-nascidos é caracterizada por baixa diversidade e uma dominância relativa dos filos Proteobacteria e Actinobacteria. À medida que ocorre o desenvolvimento da criança, a microbiota torna-se mais diversificada com o surgimento e domínio de Firmicutes e Bacteroidetes (RODRÍGUEZ et al., 2015).

A microbiota intestinal adulta é composta por várias espécies, podendo encontrar quatro principais filos no trato gastrointestinal, conhecidos por contribuírem para a saúde humana e doenças, são eles: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Proteobacteria (Figura 1), sendo a maioria das espécies não patogênicas (ANDERMANN; REZVANI; BHATT, 2016; BLANCHI; GORET; MÉGRAUD, 2016; DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015).

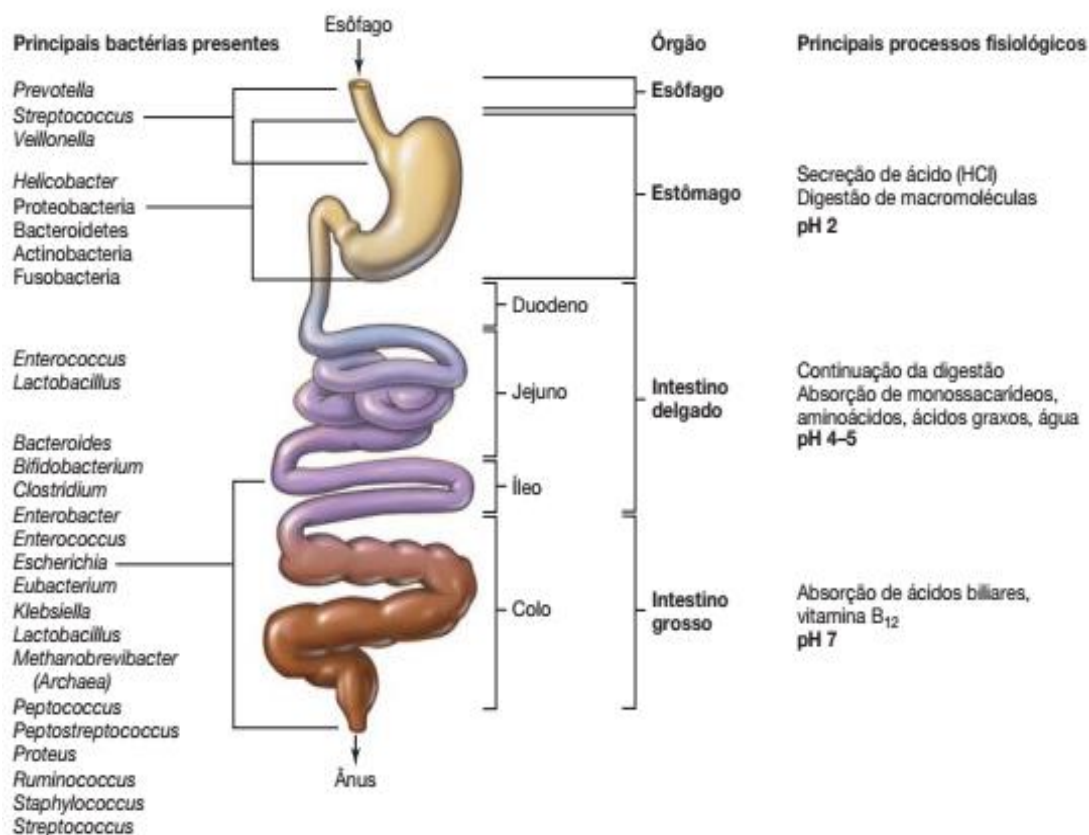
Figura 1- Grupos bacterianos e sua distribuição dentro do corpo humano



Fonte: Modificado de (DAVE et al., 2012)

As bactérias estão distribuídas em todo trato gastrointestinal, variando quanto à concentração e diversidade populacional (Figura 2). Essa diferenciação deve-se ao fato de encontrar uma variedade de condições ambientais nas diferentes áreas do TGI (GERRITSEN et al., 2011).

Figura 2 - Microbiota do trato gastrointestinal humano



Nota: Estes táxons são representativos dos micro-organismos frequentemente encontrados em indivíduos saudáveis. Nem todos os indivíduos abrigam estes micro-organismos.

Fonte: (MADIGAN et al., 2016)

Existe uma relação de benefício entre o hospedeiro e a microbiota intestinal, sendo fundamental o equilíbrio para favorecer ambas as partes. As bactérias que integram o trato gastrointestinal são em sua maioria anaeróbicas estritas (97%), ao passo que apenas 3% são aeróbias (anaeróbia facultativas). Bedani e Rossi (2009) destacaram que os gêneros anaeróbios mais comuns, são os *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* e *Lactobacillus*. Também pode-se encontrar bactérias aeróbias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Salmonella* spp.) e cocos Gram-positivos do gênero *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Algumas espécies de fungos, tais como do gênero *Candida*, também fazem parte da microbiota intestinal normal. Alguns dentre esses gêneros podem contribuir com benefícios ao hospedeiro, tais como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, entretanto, outros podem ser gravemente prejudiciais (BEDANI; ROSSI, 2009).

No estômago e no intestino delgado é encontrado um número limitado de

bactérias, pois poucas conseguem sobreviver às condições ácidas do estômago e alcançar o intestino delgado de forma viável (GUARNER, 2007). O lúmen do intestino delgado é caracterizado por um pH de aproximadamente 7, a presença de sais biliares e secreções pancreáticas que contêm enzimas digestivas são consideradas bactericidas (DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015; WALL et al., 2009).

Os ácidos biliares, secretados através do ducto biliar na extremidade proximal do intestino delgado, é bactericida para determinadas espécies, devido às suas propriedades tensoativas e são conhecidos por moldar amplamente a composição da microbiota, especialmente no intestino delgado. Embora exista competição por meio das bactérias presentes no intestino delgado e seu hospedeiro para obtenção de nutrientes, a presença de ácidos biliares e peptídeos antimicrobianos do sistema imune do hospedeiro limitam o crescimento bacteriano em baixas densidades em regiões proximais. O ceco e cólon cultivam as comunidades mais densas e diversificadas de todos os *habitats* do corpo (DONALDSON; LEE; MAZMANIAN, 2015).

No intestino grosso encontra-se a maior concentração de micro-organismos e atividade metabólica, sendo que a partir do íleo a concentração bacteriana aumenta gradualmente, alcançando 10^{11} a 10^{12} UFC/g no cólon. No íleo, há uma área de transição e o cólon apresenta condições favoráveis para o crescimento bacteriano devido à escassez de secreções intestinais e abrangente fonte de nutrição (BEDANI; ROSSI, 2009).

4.2 Funções da microbiota intestinal

Os micro-organismos comensais da microbiota intestinal residem no interior do intestino e realizam diversas funções benéficas para o hospedeiro (BEDANI; ROSSI, 2009). São responsáveis pela maturação e regulação do sistema imune, degradação de componentes não digeríveis da dieta, síntese de vitaminas, estímulo para liberação de hormônios gastrintestinais e, por fim, resistência à colonização por bactérias patogênicas ou de proteção (ANDERMANN; REZVANI; BHATT, 2016; KRISTENSEN et al., 2016).

Nos últimos anos, observou-se um crescente interesse na compreensão do papel da microbiota intestinal humana para elucidar o potencial terapêutico da sua manipulação (GUPTA; ALLEN-VERCOE; PETROF, 2015). As bactérias que

colonizam o TGI são classificadas como marcadores de saúde ou de doenças, sendo dessa maneira, responsáveis pela homeostase do hospedeiro (BEDANI; ROSSI, 2009). Segundo Wall et al. (2009) algumas destas bactérias são consideradas agentes potencialmente prejudiciais, podendo ser fonte de infecção e inflamação em certas circunstâncias, enquanto que a grande maioria coexistem com o hospedeiro contribuindo com benefícios para a saúde deste.

4.2.1 Função de resistência à colonização ou de proteção

A microbiota intestinal desempenha um papel crucial na resistência do hospedeiro contra patógenos invasores dentro do intestino, pois impede a adesão de micro-organismos não benéficos, formando uma barreira mecânica. Isso ocorre comumente no lúmen e nas superfícies da mucosa, pois patógenos e bactérias comensais, ambos exigem um meio semelhante para colonizar e proliferar no intestino, ocorrendo dessa maneira competição. Por conta disso, as bactérias residentes produzem substâncias antimicrobianas como bacteriocinas e metabólitos tóxicos, como ácidos graxos de cadeia curta, para a eliminar o agente invasor (KAMADA et al., 2013).

Embora a microbiota comensal desempenhe papéis cruciais na resistência contra infecções de patógenos entéricos, certos patógenos podem utilizar a própria microbiota para facilitar a sua infecção. Por exemplo, CD pode utilizar subprodutos derivados de bactérias comensais, tais como sais biliares para promover a germinação de seus esporos (GIEL et al., 2010).

De acordo com Madigan et al. (2016) deve-se salientar que a resistência a colonização não é causada unicamente pela microbiota entérica, outros fatores podem influenciar essas funções como por exemplo, os fatores fisiológicos e anatômicos (incluindo a integridade da mucosa), salivação, secreção de IgA, produção de ácido graxo, descamação da mucosa e motilidade gastrointestinal.

Quando a microbiota é alterada, na maioria das vezes após a administração oral de antibióticos, a resistência à colonização é prejudicada, permitindo que patógenos como CD proliferem e dominem o ecossistema intestinal (BUFFIE; PAMER, 2013; HIRSCH et al., 2015).

5 CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Durante uma pesquisa sobre microbiota intestinal de recém-nascidos no ano de 1935, Hall e O'Toole descreveram um micro-organismo desconhecido e devido a sua morfologia e a dificuldade de isolamento em meios de cultura tradicionais, pois só crescia em meios anaeróbios, este foi nomeado *Bacillus difficilis*, e logo em seguida, foi chamado de *Clostridium difficile* (JÚNIOR, 2012; VENUTO et al., 2010).

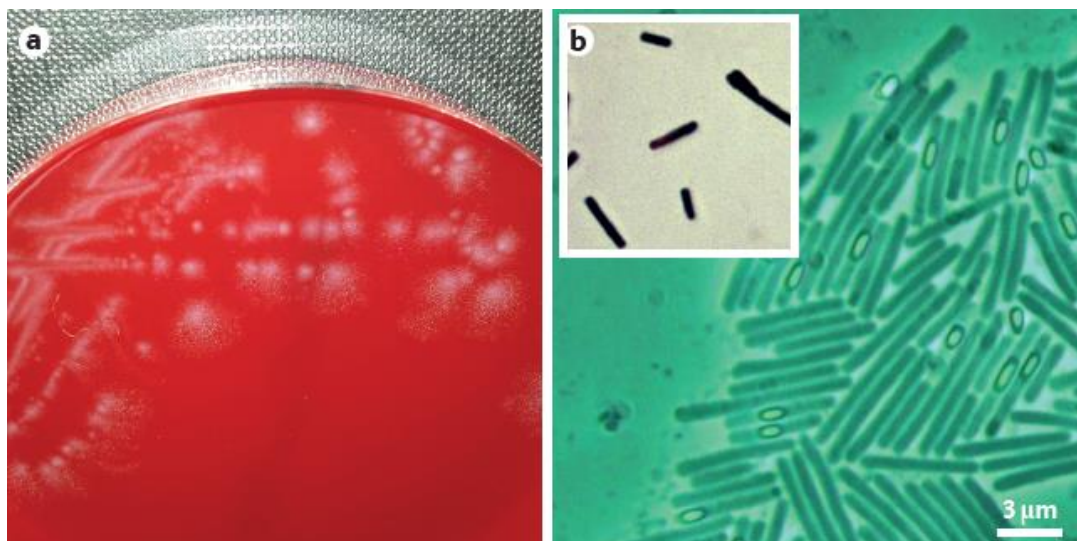
Desde então, achava-se que *Clostridium difficile* era um organismo comensal, porém, no ano de 1978, Bartlett e colaboradores identificaram esta bactéria como sendo produtora de citotoxinas em culturas de fezes dos pacientes com colite pseudomembranosa, induzida por antibióticos e também em 20% dos indivíduos com diarreia associada a antibiótico (KHAN; ELZOUKI, 2014).

Após esse episódio, o CD tem sido relacionado como o principal agente causador de diarreia associada à antibioticoterapia e colite pseudomembranosa quando em uso de antibióticos em seres humanos (COLE; STAHL, 2015).

CD é um bacilo Gram-positivo anaeróbio estrito, pertencente ao filo Firmicutes, formador de esporos e produtor de toxinas (PARK et al., 2017; BADGER et al., 2012; VYAS; AEKKA; VYAS, 2015). Coloniza o intestino grosso de seres humanos, mamíferos domésticos e selvagens. Existem cepas toxigênicas produtoras de toxinas A (enterotoxina) e B (citotoxina) e, as não produtoras (não-toxigênicas), porém somente as toxigênicas desencadeiam doença em humanos (EFRON; MAZUSKI, 2009; BURKE; LAMONT, 2014). As toxinas possuem uma sequência de 2710 e 2366 aminoácidos com pesos moleculares de 308 e 279 kDa, respectivamente (CARROLL; BARTLETT, 2011). Ambas podem causar diarreia e inflamação do cólon em pacientes infectados (OLLECH et al., 2016).

Apresenta colônias não hemolíticas rizóides em placas de ágar sangue (Figura 3), seu odor característico é descrito como de “celeiro de cavalos”. É catalase, indol e urease negativos, sendo também negativo para lipase e lecitinase em ágar gema de ovo (DUBBERKE et al, 2010).

Figura 3 – *Clostridium difficile*



Nota: **a)** Imagem típica de colônias de *Clostridium difficile* em ágar sangue; **b)** microscopia de contraste de fase de uma cultura de *C. difficile* com células vegetativas (estruturas alongadas), na fase-escura pode-se observar os esporos (pontos escuros subterminais) e na fase clara os esporos (elipsóides brilhantes).

Fonte: Modificado de (SMITS et al., 2016)

5.1 Fatores de virulência

A toxina A (TcdA) e a toxina B (TcdB) são os principais fatores de virulência desta bactéria, contribuindo para sua patogenicidade, pois induz inflamação da mucosa intestinal e diarreia (KUEHNE et al., 2010). Além das principais toxinas, o CD pode produzir uma série de outros fatores de virulência (tabela 1), incluindo a toxina binária ou CDT (*Clostridium difficile* transferase), a proteína de ligação à fibronectina (FbpA), fímbrias, proteína de superfície (SlpA), a cisteína protease (Cwp84) e as proteínas de adesão Cwp66 e CwpV (GOUDARZI et al., 2014).

Tabela 1 – Fatores de virulência do *Clostridium difficile*

Fator de virulência	Efeito na célula alvo do hospedeiro
Toxina A (<i>PaLoc</i> – gene <i>TcdA</i>)	Perda citotóxica da função de barreira das células gastrointestinais
Toxina B (<i>PaLoc</i> – gene <i>TcdB</i>)	Interação sinérgica com a toxina A
Toxina variante A-/B+	Insuficiência cardiotóxica
Toxina Binária	Aumenta a adesão clostridial à superfícies das células intestinais - resistência fluoroquinolona
Proteína de Superfície	Gene que codifica aderência da superfície celular / estimula a inflamação
Proteína de adesão	Medeia ligação covalente ao peptidoglicano da parede celular
Esporulação / germinação	Proteína de revestimento externo do esporo que induz a inflamação

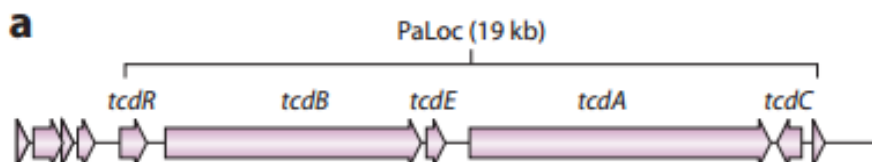
Fonte: Modificado de (BADGER et al., 2012)

Todas as cepas toxigênicas do bacilo possuem o *locus* de patogenicidade, denominado de *PaLoc*, que é um curto segmento cromossômico que mede aproximadamente 19,6 Kb. Este *locus* é constituído pelos genes *tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *tcdE* e *tcdR* (Figura 4). Sendo os dois primeiros responsáveis por codificar a produção das toxinas A (TcdA) e B (TcdB), respectivamente; sendo estas toxinas relacionadas a patogenicidade do CD. O gene *tcdR* é um regulador positivo de expressão dos genes *tcdA* e *tcdB*, enquanto o *tcdC* atua como regulador negativo, evitando a expressão do *PaLoc*. O *tcdE* é responsável pela formação de poros na membrana plasmática que permitem a passagem das toxinas pela parede celular da bactéria (CARROLL; BARTLETT, 2011; DENÈVE et al., 2009).

Algumas cepas hipervirulentas de *C. difficile* são capazes de produzir a toxina binária (CDT - *Clostridium difficile* transferase). Esta é codificada pelo *locus* Cdt (CdtLoc), que está separado do *locus* PaLoc (Figura 5). Produz quadros mais graves e apresenta resistência à fluoroquinolonas. Realizam produção aumentada das toxinas A (16 vezes a mais) e B (23 vezes a mais), pois, ocorre a deleção parcial de *tcdC* o qual é responsável pela down-regulation da transcrição gênica (ZEA; SALAZAR, 2012).

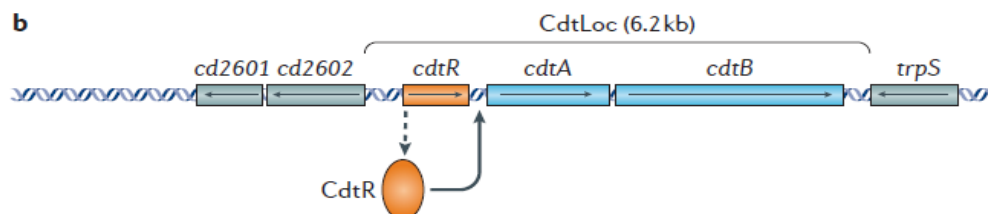
A toxina binária tem a capacidade de alterar o citoesqueleto do enterócito, que leva à perda excessiva de fluídos e eventual morte celular. É composta por duas subunidades independentes: uma subunidade enzimática (CDTa) e outra de transporte (CDTb), que facilita a translocação de CDTa nas células alvo. Cada componente isolado não é citotóxico, contudo, quando juntas provocam citotoxicidade *in vitro* (CARROLL; BARTLETT, 2011; RODRÍGUEZ-PARDO; MIRELIS; NAVARRO, 2013).

Figura 4 - *Locus* de patogenicidade (PaLoc)



Fonte: Modificado de (CARROLL; BARTLETT, 2011)

Figura 5 – *Locus* da toxina binária (CdtLoc)



Nota: Representação esquemática do *locus* da toxina binária (CdtLoc) e regiões flangeadoras com interações regulatórias. Caixas com setas indicam quadros de leitura aberta e as setas mostram a direção da transcrição. Os genes *cdtA* e *cdtB* estão em azul, o gene regulador (*cdtR*) está em laranja e os genes localizados fora do CdtLoc estão em cinza.

Fonte: (SMITS et al., 2016)

Em resposta a limitação de nutrientes encontrado na fase estacionária de crescimento, cepas toxigênicas aumentam a produção e secreção de toxinas (MERRIGAN et al., 2010). Estudos de análise de transcrição têm mostrado que a produção das toxinas A e B são co-reguladas dependentes de crescimento. A fase *Log* ou exponencial de crescimento bacteriano está associada com forte expressão do gene *tcdC*, que é regulador negativo da produção de toxina e fraca transcrição dos genes que codificam para TcdA e TcdB pois nessa fase não há necessidade de competição nutricional. Ao passo que todos os outros genes são expressos durante a fase estacionária (CARROLL; BARTLETT, 2011), pois nesta fase há regulação negativa de *tcdC* e ativação *tcdR* para a expressão das toxinas (SMITS et al., 2016).

Dineen e colaboradores apontam em seu estudo realizado em 2007, que a expressão do gene da toxina do *Clostridium difficile* é reprimida por outro gene regulador chamado CodY. Este gene regulador atua monitorando os fatores nutricionais do ambiente. Os autores demonstraram que na presença de quantidades suficientes de nutrientes, tais como determinados aminoácidos e GTP, CodY liga-se à região promotora de *tcdR* e reprime a expressão do gene da toxina. Entretanto, quando os nutrientes no ambiente estão faltando, a expressão do gene da toxina não é reprimida. Podendo assim, inferir que a toxina possa ser um potencial alvo terapêutico, para o desenvolvimento de novos compostos úteis para o tratamento de CDI (GIRINATHAN et al., 2017).

5.2 Fisiopatogenia

A transmissão de CD é oral-fecal. É adquirido por meio da ingestão de esporos que normalmente são transmitidos a partir de outros pacientes através das mãos de profissionais de saúde ou do próprio ambiente (SHAUGHNESSY et al., 2011), tornando-se um patógeno frequente em infecções nosocomiais (GIL et al., 2017).

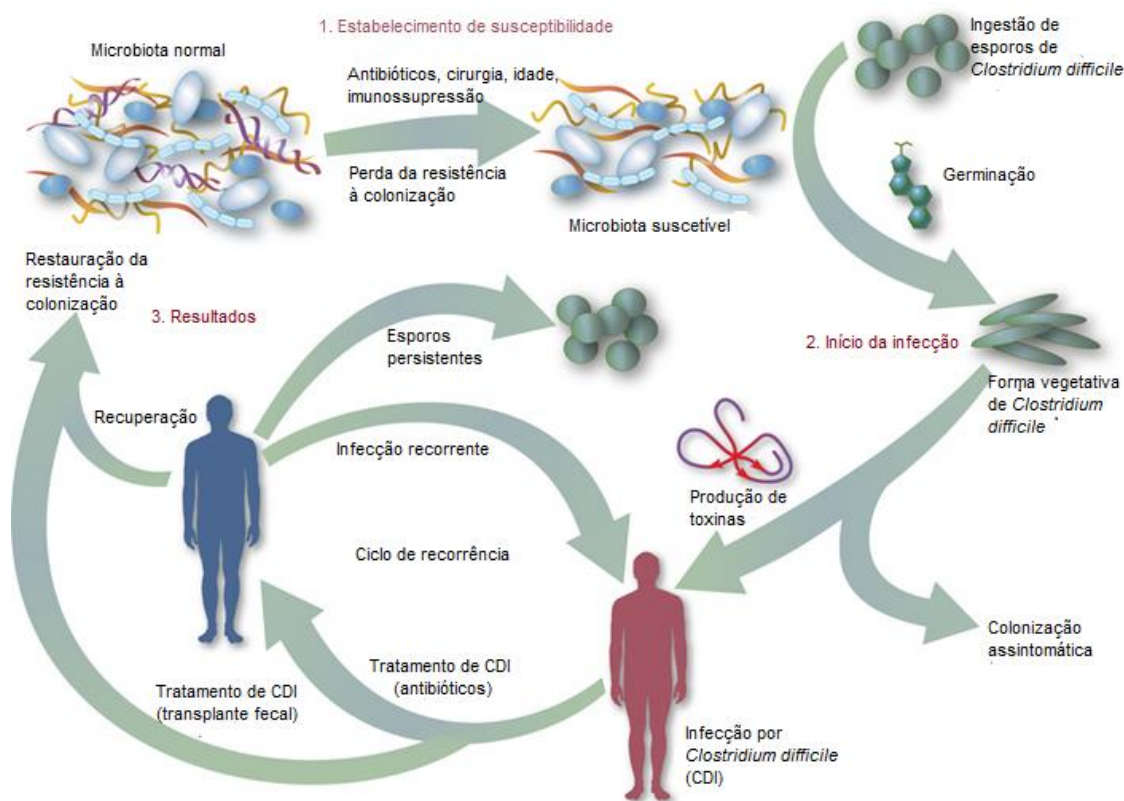
A CDI desenvolve (Figura 6) quando um paciente ingere os esporos de uma cepa toxigênica de *C. difficile* via contato pessoal ou pelo ambiente. Em pessoas saudáveis, o bacilo não causa problemas, devido à microbiota intestinal normal e a resposta imune. Ao passo que em indivíduos suscetíveis, uma vez ingerido, os esporos resistem à acidez do estômago e no intestino delgado, germinam para a forma vegetativa, que é a forma metabolicamente ativa. Quando esta forma atinge o cólon, o ambiente anaeróbio, a suscetibilidade do hospedeiro ao apresentar alteração na

microbiota do TGI, geralmente por exposição a agentes antimicrobianos, favorecem a produção das toxinas A e B (LARENTIS, 2014).

Para produzir efeitos tóxicos, as toxinas geradas associam-se primeiramente aos receptores de membrana dos enterócitos que estão presentes no cólon, para que assim, sejam endocitadas por estas células e em seguida transportadas ao citoplasma (RODRÍGUEZ-PARDO; MIRELIS; NAVARRO, 2013). Dentro dos endossomos, essas toxinas que são consideradas glicosiltransferases, tem a capacidade de inativar GTPases do hospedeiro (proteínas Rho, Roc e Cd42, são exemplos), estas têm como função hidrolisar a guanosina trifosfato, transformando-as em guanosina difosfato, que é essencial na síntese de nucleotídeos para síntese de RNA (LARENTIS, 2014). Essa inativação promove alterações, como o aumento na permeabilidade e da camada epitelial intestinal por inflamação, aumento da secreção de fluídos e eletrólitos e modificações principalmente na integridade do citoesqueleto de actina, resultando em apoptose celular (DUBBERKE et al., 2010).

Após um curto período de exposição das células epiteliais às toxinas liberadas pela bactéria, inúmeras citocinas são secretadas como a interleucina 8 (IL-8) que é responsável pelo recrutamento e ativação de neutrófilos no sítio da infecção. Dessa maneira, ocorrem danos caracterizados por perda celular, epitelial e infiltração neutrofílica que é importante para manifestações clínicas de caráter sistêmico (LARENTIS, 2014).

Figura 6 – Fisiopatogenia da CDI



Nota: Esta figura ilustra que uma microbiota intestinal alterada é um pré-requisito para a infecção sintomática. Após o estabelecimento da susceptibilidade (1) e da exposição a esporos, ocorre germinação, as células vegetativas de *C. difficile* produzem a toxina (2), o que causa lesões no epitélio intestinal e mucosa resultando nos sintomas. Após a recuperação da terapia convencional, a interrupção da microbiota entérica pode continuar e os pacientes permanecem em risco de CDI recorrente (3).

Fonte: Modificado de (RAO; SAFDAR, 2015)

Vale ressaltar que nem todos os indivíduos colonizados por *Clostridium difficile* desenvolvem a doença. Isto porque a patogenicidade desta bactéria está diretamente relacionada com a expressão de fatores de virulência (tais como pili, flagelos, enzimas proteolíticas, proteínas de superfície celular, produção de toxinas A e B), que contribuem para o estabelecimento da doença em diferentes fases, durante o processo de infecção e que estão associados com a competência do sistema imunológico do hospedeiro (BELLA et al., 2016; PÉREZ et al., 2013).

6 RESPOSTA IMUNE AO *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

As diferentes manifestações causadas por *Clostridium difficile* sofrem influência da idade, comorbidades associadas e, do sistema imune. As toxinas produzidas pela bactéria ativam o sistema imunológico inato e adaptativo, uma vez que estas causam efeitos citopáticos que são caracterizados pela ruptura da barreira celular e efeitos enterotóxicos, propagando a resposta inflamatória (MADAN; PETRI JUNIOR, 2012).

A resposta inata contra o micro-organismo envolve a microbiota endógena, células epiteliais intestinais, a barreira e o sistema imunológico da mucosa intestinal (STECHEER; HARDT, 2008; BIBBÒ et al., 2014). A liberação de toxinas produzidas pela bactéria provoca estimulação na secreção de mediadores pró-inflamatórios (citocinas, quimiocinas, peptídeos neuro-imunes), além de recrutamento e ativação de inúmeras células imunes inatas. A produção de algumas citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias como IL-12, IL-18, IFN- γ , IL-1 β , TNF- α , MIP-1 α , MIP-2, IL-8 e leptina, propagam a inflamação e o recrutamento de neutrófilos gera uma intensa infiltração neutrofílica no local, contribuindo assim para a lesão da mucosa (MADAN; PETRI JUNIOR, 2012).

Além dos neutrófilos, mastócitos intestinais também desempenham um papel importante nas respostas inflamatórias mediadas por toxinas, uma vez que ambas as toxinas (A e B) levam à ativação, degranulação e liberação de mediadores inflamatórios de mastócitos (BIBBÒ et al., 2014; MADAN; PETRI JUNIOR, 2012).

Quando se trata de resposta imune adaptativa contra o CD, anticorpos contra as toxinas A e B da bactéria estão presentes em 60% de adultos saudáveis apresentando níveis séricos detectáveis de IgG e IgA contra TcdA e TcdB (SANCHEZ-HURTADO et al., 2008) e crianças mais velhas (MADAN; PETRI JUNIOR, 2012).

Lees e colaboradores (2016) associaram os níveis séricos de anti-toxina A do tipo IgG e o desenvolvimento dos sintomas clínicos e observaram que em adultos com níveis de anticorpos baixos ou ausentes tinham maior probabilidade de desenvolver diarreia ou colite, ao passo que aqueles com títulos mais altos apresentavam-se assintomáticos. Do mesmo modo, CDI recorrentes ocorreu com maior frequência em indivíduos com níveis mais baixos de IgG/IgM contra a toxina A. Demonstrando que a imunidade humoral pode ser importante na prevenção da doença.

7 EPIDEMIOLOGIA

Sabe-se que as taxas de colonização do CD encontra-se presente em 15 a 70% dos recém-nascidos, 3 a 8% dos adultos saudáveis e 20% dos adultos hospitalizados (NORÉN, 2010; KIM; ZHU, 2017).

Nos últimos anos, vários estudos epidemiológicos foram realizados, os quais evidenciaram um aumento alarmante na incidência, na gravidade e nas taxas de recorrência da doença associada ao *Clostridium difficile*, em diversas localidades (LIUBAKKA; VAUGHN, 2016). Este aumento da incidência da doença tem sido explicado pela melhoria significativa dos métodos de detecção do bacilo, pela emergência da cepa hipervirulenta B1/NAP1/027 e pelo aumento de outros fatores de risco associados à infecção, particularmente o uso crescente de antibióticos, de imunossupressores e de inibidores da bomba de prótons (KIM; ZHU, 2017).

Todavia o aumento das infecções pela bactéria não pode ser atribuída somente à cepa hipervirulenta, uma vez que hospitais europeus, dependendo do país, relatam outros ribotipos (001, 053, 106 e 078) que possuem mecanismo semelhante de hiperprodução de toxinas (BAUER et al., 2014; NAPOLITANO; EDMISTON, 2017).

O micro-organismo afeta, frequentemente, paciente com idade superior a 65 anos, com taxas de incidência até 22,8 casos por 10.000 habitantes. Sendo estes internados em hospitais, centros geriátricos, casas de apoio e asilos, pois nestes locais há a existência de comorbidades e um elevado consumo de antibióticos. Há também relatos da ocorrência da doença em pacientes sem os fatores de riscos tradicionais, considerados de baixo risco, como jovens e crianças com idade superior a dois anos (FREEMAN et al., 2010).

Um estudo de vigilância populacional publicado nos Estados Unidos, mostrou que a incidência de infecção por *Clostridium difficile* triplicou nos últimos 15 anos, com uma estimativa de 453.000 casos em 2011 e cerca de 30.000 mortes associadas a esta infecção. A maioria das infecções são nosocomiais e até 40% estão relacionadas a comunidade. É o patógeno nosocomial mais frequentemente relatado em hospitais nos Estados Unidos, quadruplicou o custo das internações hospitalares, aumentando os gastos anuais para aproximadamente 1,5 bilhões de dólares (LESSA et al., 2015; LONGO; LEFFLER; LAMONT, 2015).

Embora a incidência CDI na América do Norte e na Europa esteja bem documentada, pouco se sabe sobre a propagação desta doença na América Latina e

no Brasil (BALASSIANO et al., 2011). Alguns relatos publicados descreveram, pela primeira vez, o isolamento da cepa epidêmica B1/NAP1/027 na América Latina, com casos confirmados na Costa Rica (QUESADA-GOMEZ et al., 2010), no Panamá (LOPEZ-URENA et al., 2013) e no Chile (HERNÁNDEZ-ROCHA et al., 2012). A detecção desta cepa em países latino-americanos destaca o problema da sua disseminação em todo o mundo. Os autores acreditam ser apenas uma questão de tempo até que essa cepa hipervirulenta seja detectada em outros países da América Latina.

Estes resultados demonstram que as cepas B1/NAP1/027 estão presentes na América do Sul, destacando a necessidade de maior rastreio para este ribotipo em outras regiões do continente (BALASSIANO et al., 2011).

8 FATORES DE RISCO PARA CDI

O reconhecimento de populações de alto risco é útil para o imediato diagnóstico e tratamento dos pacientes (GOUDARZI et al., 2014).

O principal fator de risco identificado para a CDI inicial e recorrente é o uso prévio de antibióticos (JÚNIOR, 2012). Embora todos os antibióticos estejam associados a doença, historicamente clindamicina, cefalosporinas, fluoroquinolonas (moxifloxacina, gatifloxacina e levofloxacina), ampicilina/amoxicilina, macrolídeos, cotrimoxazol e tetraciclina podem desencadear essa infecção. Até mesmo uma única dose de medicamentos na forma de profilaxia cirúrgica, terapia antimicrobiana empírica antes de estabelecer um diagnóstico infeccioso, podem levar a CDI (LO VECCHIO; ZACUR, 2012; NAPOLITANO; EDMISTON, 2017).

A própria exposição ao metronidazol e à vancomicina, que são fármacos utilizados como de primeira escolha para a CDI, também podem resultar neste quadro clínico (LO VECCHIO; ZACUR, 2012).

Outros fatores de risco bem estabelecidos são a idade avançada (> 65 anos), exposição aos cuidados de saúde (incluindo internação e residência em centros de cuidados de longa permanência), quimioterápicos, insuficiência renal, cirurgia gastrointestinal, sonda nasogástrica, uso de inibidores da bomba de prótons ou histamina H2 como protetores gástrico (DESHPANDE et al., 2015; JANARTHANAN et al., 2012; PHATHARACHARUKUL et al., 2015).

Uma lista completa de fatores de risco para CDI pode ser encontrada na tabela 2.

Tabela 2 – Fatores de risco em CDI inicial, recorrente, severa e por cepas BI/NAP1/027

CDI por cepas BI/NAP1/027	CDI severa	CDI recorrente	CDI inicial
Idade maior que 65 anos	Contagem de glóbulos brancos > 15.000/ μ L	Qualquer episódio anterior de CDI	Exposição à antibióticos
Exposição à fluoroquinolonas	Nível de creatinina sérica basal maior de 1,5 vezes	Uso adicional de antibiótico	Idade do paciente
	Aumento do nível de proteína C-reativa	Idade avançada	Hospitalização prévia
	Infecção com cepas de <i>C. difficile</i> NAP7-8-9/BK/78 e NAP1/BI/027	Permanência prolongada ou recente de um ambiente de saúde	Severidade/gravidade e doença subjacente
		Uso de inibidores da bomba de prótons	Uso de inibidores de bomba de prótons e de bloqueadores de H ₂
		Infecção por cepas NAP1/BI/027	Operação abdominal
		Alta gravidade para doença subjacente	Tubo nasogástrico
		Ausência de anticorpos anti-toxina A	Longa duração de hospitalização
		Ausência de anticorpos anti-toxina B	Residência de cuidados de longa duração
			Transplante de órgãos
			Quimioterapia
			Doença renal crônica
			Imunodeficiência

9 INFECÇÃO POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* (CDI)

Doença associada ao *Clostridium difficile* ou infecção por *Clostridium difficile* é a causa mais comum de diarreia infecciosa, ocorre frequentemente após a exposição aos fatores de risco descritos anteriormente. Esta infecção é reconhecida por ser a maior causa de diarreia de origem nosocomial, pois o risco de contrair a bactéria nessas condições está diretamente relacionado com o tempo de hospitalização (ALMEIDA; GERBABA; PETROF, 2015).

De modo geral, o paciente apresenta menos de 10 evacuações diárias, as fezes podem ser encontradas na forma aquosa e, às vezes, com presença de muco, normalmente não sanguinolentas (PEREIRA, 2014).

Casos leves e moderados são responsáveis pela maioria dos casos sintomáticos. Contudo, é possível que esta apresentação clínica seja confundida com diarreias infecciosas comuns. Para tanto, seria necessário detectar a presença das toxinas produzidas pelo bacilo para confirmar o diagnóstico (PEREIRA, 2014).

A doença em seu estágio mais grave abrange de 8% a 10% dos pacientes e seus sintomas característicos incluem cólicas abdominais, dor e sinais de inflamação sistêmica como febre acima de 38,5°C, leucocitose, aumento da proteína C-reativa (PCR), hipoalbuminemia, hipotensão, colite pseudomembranosa (EFRON; MAZUSKI, 2009), além de diarreia com mau cheiro, com aspecto mucoso mais de dez vezes ao dia (KONTUREK et al., 2016).

Aproximadamente 20-30% dos pacientes experimentam recorrência da doença após o tratamento da infecção inicial com antibiótico. O risco de recorrência (Figura 6) continua a aumentar a cada recaída, e alguns pacientes, em última análise desenvolvem uma síndrome recorrente, onde o ciclo de infecção torna-se indefinido. (WEINGARDEN et al., 2014).

9.1 Infecção recorrente por *Clostridium difficile* (rCDI)

Infecção recorrente por *Clostridium difficile* é um dos maiores desafios das infecções por CD, pois a recorrência pode ocorrer tanto por recidiva (recaída da cepa infectante inicial) como por reinfecção com uma nova cepa (OLLECH et al., 2016). Atualmente, cerca de 30% dos pacientes com um primeiro episódio de CDI terão um segundo episódio de CDI, e as probabilidades de exibirem um terceiro e quarto

episódios de CDI aumentam para 40% e 60%, respectivamente (BOUZA, 2012; EVANS; SAFDAR, 2015).

A taxa de mortalidade da CDI varia entre 0,5% a 2%, entretanto, em pacientes com episódios de recorrência múltipla, a mortalidade pode atingir até 30% (EVANS; SAFDAR, 2015). Destaca-se a importância do papel dos esporos do *Clostridium difficile* na persistência da doença. As evidências clínicas demonstraram que os eventos de recorrência podem ser classificados em: eventos recidivantes causados pela mesma cepa que causou a infecção inicial ou reinfecção, que é causada por outra linhagem. A incidência de recidiva e reinfecção podem variar entre 50-97% e 3-50%, respectivamente (FIGUEROA et al., 2012; OKA et al., 2012; SIM et al., 2017).

Aproximadamente 25% dos pacientes tratados com metronidazol ou vancomicina, em um período de 4 semanas após completarem a terapia com antibióticos, comumente apresentam sintomas recorrentes (GOUDARZI et al., 2014).

O principal motivo para ocorrência de infecções recorrentes por CD não foi totalmente esclarecido, no entanto, dois fatores prováveis aumentam o risco de infecções recorrentes que são: alteração na microbiota intestinal normal e uma resposta imune inadequada contra a bactéria e/ou suas toxinas (JOHNSON, 2009).

A alta frequência de rCDI é um problema grave, uma vez que, o tratamento antibiótico para esta infecção pode eliminar muitas bactérias comensais protetoras e, assim, facilitar a reinfecção por CD. A estratégia de usar antibióticos para tratar uma condição originalmente causada por antibióticos é, no mínimo, conceitualmente insatisfatória, conseguindo explicar dessa forma, o porquê das taxas de recorrência (TAUR; PAMER, 2014).

CDI, especialmente a doença recorrente, é associada com morbidade significativa, podendo levar a complicações graves e até mesmo fatais, tais como colite pseudomembranosa, perfuração intestinal e sepse (COHEN et al., 2010).

10 DIAGNÓSTICO

De acordo com os critérios clínicos, o diagnóstico de *Clostridium difficile* é baseado no contexto clínico apropriado, histórico de administração recente de antibióticos e diarreia. Outros sinais como febre, dor abdominal, leucocitose e pirexia em combinação com testes laboratoriais são sugestivos para o diagnóstico (GOUDARZI et al., 2014).

10.1 Diagnóstico laboratorial

Os exames laboratoriais para a doença associada ao *Clostridium difficile* devem ser interpretados juntamente com o quadro clínico do paciente. Normalmente os exames são solicitados em casos de diarreia associada ao uso de antibióticos. Segundo Simor (2010) não há necessidade de testar fezes de pacientes assintomáticos, ao menos em casos de surtos e estudos epidemiológicos.

Para um bom diagnóstico laboratorial, geralmente são utilizadas apenas fezes diarreicas, exceto nos casos de vigilância epidemiológica (LIUBAKKA; VAUGHN, 2016). Apenas amostras recém-colhidas podem ser processadas, pois as toxinas do bacilo degradam-se em cerca de duas horas em temperatura ambiente; o material deve ser armazenado e transportado sob-refrigeração em temperaturas $\leq 4^{\circ}\text{C}$ ao laboratório, nos casos em que o exame não será realizado rapidamente. Esse fato pode explicar os resultados falso-negativos que são encontrados. Devendo a amostra ser analisada dentro de 24 horas a partir do momento da coleta (SIMOR, 2010).

10.1.1 Exames microbiológicos

Em casos de suspeita de infecção por *Clostridium difficile*, um dos exames propostos é a coprocultura para anaeróbios, em meio de cultura seletivo em ágar cicloserina cefoxitina frutose (CCFA) ou no ágar gema de ovo cicloserina cefoxitina (CCEY). No entanto, a cultura de fezes muitas vezes torna-se inviável na prática clínica por causa do tempo de crescimento. A cultura é um método sensível, porém não é muito específico (Tabela 3), pois não consegue diferenciar cepas produtoras de toxinas das não toxigênicas, podendo apresentar teste positivo para estas cepas. (EFRON, MAZUSKI, 2009). Os testes com cultura de fezes são mais úteis em estudos

epidemiológicos para identificação de isolados bacterianos (COHEN et al., 2010).

10.1.2 Pesquisa de glutamato desidrogenase (GDH) do *Clostridium difficile*

Comumente é utilizada a técnica de ensaio imunoenzimático para detectar em amostras de fezes a glutamato desidrogenase ou GDH. É uma enzima produzida pelo CD em quantidades relativamente maiores quando comparada com as toxinas A e B, podendo também ser encontrada em outras espécies do gênero *Clostridium*. Embora o teste seja sensível, é pouco específico para a CDI (Tabela 3), pois esta enzima é produzida tanto por cepas toxigênicas como não toxigênicas (GIRINATHAN; BRAUN; GOVIND, 2013).

Apesar de o exame apresentar boa sensibilidade e um valor preditivo negativo alto, entre 95% e 100%, permitindo descartar o diagnóstico de infecção por CD, em caso de resultado negativo. Para a maioria dos autores, a pesquisa de GDH deveria ser usada apenas como triagem. E quando houver resultado positivo, recomendam confirmar o resultado por um segundo teste, em geral por PCR ou pesquisa de toxinas TcdA e TcdB, pois são métodos com elevada especificidade (GERDING; FILE; MCDONALD, 2016; SURAWICZ et al., 2013).

10.1.3 PCR (Reação em cadeia da polimerase)

Normalmente a PCR é uma técnica usada para detectar o gene *tcdB* a partir de amostras de fezes. As vantagens deste método é que apresenta sensibilidade e especificidade superiores a 90% e 97% (Tabela 3), respectivamente. Sendo também possível identificar cepas hipervirulentas, como a NAP1/BI/027, por meio de kits comerciais (VAISHNAVI, 2010).

Apesar de ser um método rápido, apresenta como desvantagens a necessidade de um laboratório com infraestruturas sofisticadas e profissionais com conhecimento em Biologia Molecular. O material fecal pode conter compostos que inibem a reação, podendo dessa maneira, dificultar a execução do ensaio. Além disso, a PCR não distingue o portador do indivíduo doente, sendo indispensável a correlação clínica. (BARBUT et al., 2009; VAISHNAVI, 2010).

10.1.4 Detecção das toxinas A e B

Normalmente utiliza a técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) que está disponível comercialmente para detectar a toxina A e B ou ambas as toxinas. Alguns testes são apresentados individualmente ou em microplacas de 96 poços. Os resultados são obtidos em aproximadamente 20 minutos, sendo uma das maiores vantagens do método (BURNHAM; CARROLL, 2013).

A sensibilidade do teste oscila entre 70% a 85% e a especificidade de aproximadamente 95% (Tabela 3). Contudo, pode haver variações nos resultados encontrados, pois exames falso-negativos podem ocorrer, em casos nos quais o armazenamento do material foi inadequado, uma vez que, a toxina pode ser degradada após duas horas em temperatura ambiente (EFRON; MAZUSKI, 2009). Recomenda-se não utilizar essa técnica como controle de cura, pois o teste pode ser positivo até seis semanas após o tratamento (DUPONT, 2013; VAISHNAVI, 2010).

10.1.5 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade consiste em inocular o filtrado de fezes na suspensão em cultura celular, comumente são utilizadas as linhagens celulares Vero, Hela, MRC-5, fibroblastos com objetivo de observar os efeitos da toxina nas células (VAISHNAVI, 2010). É pouco usado no laboratório de rotina, pois exige um laboratório especializado e demora no mínimo de dois a três dias para observar os efeitos citotóxicos (Tabela 4). A especificidade do método é confirmada pela adição de um anticorpo específico contra CD (DUPONT, 2013).

Tabela 3 - Métodos laboratoriais para diagnóstico de infecção por *Clostridium difficile*

Observações	Tempo	Especificidade (%)	Sensibilidade (%)	Método
Demorado	2-3d	80-90	> 90	Coprocultura
Para triagem	Horas	85-95	60-85	GDH
Demorado	2-3d	>97	75-85	Citotoxicidade
Rápido	Horas	>97%	> 90	PCR
Rápido e simples	Horas	90-95	50-85	Imunoenzimático

Notas: d = dias

Fonte: Modificado de (JÚNIOR, 2012; VAISHNAVI, 2010)

11 TRATAMENTO

A abordagem terapêutica inicial para um caso diagnosticado de CDI é interromper o antibiótico que precipitou a infecção (COHEN et al., 2010; LIUBAKKA; VAUGHN, 2016). O tratamento padrão (Tabela 4) é a administração de metronidazol e/ou vancomicina (LONGO; LEFFLER; LAMONT, 2015). O amplo espectro antibacteriano destes antibióticos, no entanto, danifica ainda mais a microbiota, levando a taxas elevadas de recorrência da infecção (PAMER, 2014).

Tabela 4 - Tratamento antimicrobiano para infecções por *Clostridium difficile* baseado na gravidade

Classificação por gravidade	Tratamento
Diarreia leve ou moderada, leucocitose < 15.000/ μ l	Metronidazol 500 mg via oral 3 vezes por dia, por 10 a 14 dias
Grave (febre, diarreia intensa, dor abdominal, leucocitose > 15.000/ μ l, creatinina aumentada)	Vancomicina 125 a 250 mg via oral 4 vezes por dia, por 10 a 14 dias
Hipotensão, choque, megacólon tóxico íleo paralítico	Vancomicina 500 mg por via nasoenteral e/ou por enema 4 vezes por dia, com ou sem metronidazol, 500 mg endovenoso a cada 8 horas.

Fonte: Modificado de (JÚNIOR, 2012)

O metronidazol pertence à classe dos nitroimidazólicos. É absorvido eficientemente no intestino delgado, de modo que os níveis no lúmen do cólon são extremamente baixos e são em algumas vezes não detectáveis (BARTLETT, 2008), sendo uma desvantagem farmacodinâmica, principalmente em uma infecção da mucosa ou luminal. Além disso, ele tem efeitos secundários sistêmicos, tais como náuseas, dor de cabeça, alteração do paladar e neuropatia periférica. Alguns estudos têm demonstrado que a terapia com metronidazol, em comparação com a terapia de vancomicina, é associada com mais falhas e maiores taxas de recorrência, especialmente entre pacientes gravemente doentes (KIM; ZHU, 2017; ZAR et al., 2007).

A vancomicina é um glicopeptídeo e para CDI é o medicamento de segunda escolha. Pode ser utilizada como terapia inicial para pacientes com contra-indicações ou intolerância ao metronidazol ou para aqueles com CDI grave ou que vivem em áreas com prevalência local de NAP1/BI/027. A droga tem sido principalmente

reservada para casos graves ou refratários, devido ao custo e à preocupação com o uso excessivo de vancomicina, levando a seleção de enterococos resistentes à vancomicina. A resposta terapêutica geralmente envolve a resolução da febre e da diarreia no quarto ou quinto dia (PAMER, 2014).

Além da terapia convencional, a administração de fidaxomicina, rifaximina, nitazoxanida também pode ser indicada, assim como a imunoterapia, probióticos e transplante fecal (PETROF et al., 2013).

A fidaxomicina é membro de uma nova classe de antibacterianos (macrocíclicos) mais ativo que a vancomicina *in vitro*, inclusive para cepas hipervirulentas como a NAP1/BI/027, apresentando pouca absorção intestinal e alta concentração fecal (JÚNIOR, 2012; LOUIE et al., 2011). É uma droga relativamente nova, foi aprovada em 2011 pelo FDA (Food & Drug Administration) e tem mostrado melhor efeito na prevenção de recorrências quando comparada à vancomicina (MATTILA et al., 2013; MULLANE et al., 2011).

A rifaximina é um fármaco da classe da rifamicina, não possui absorção intestinal, porém apresenta alta concentração no cólon e menor índice de recidiva. Tem atividade contra Gram-negativo, Gram-positivo e anaeróbios, possuindo também alta atividade contra CD (JÚNIOR, 2012; NAPOLITANO; EDMISTON, 2017).

No entanto, o uso desses medicamentos pode alterar ainda mais a microbiota intestinal. Justificando dessa maneira, as elevadas taxas de recorrência da infecção. A recorrência da infecção também pode ocorrer, caso haja interrupção do medicamento (KELLY; LAMONT, 2008; RUPNIK; WILCOX; GERDING, 2009; PAMER, 2014).

Borody e Khoruts (2012) explicam que o risco de recaída da CDI, após o tratamento inicial é de cerca de 20-25%. Este risco aumenta ainda mais pela utilização de antibióticos adicionais para o tratamento de outras infecções. Assim, uma parte dos pacientes podem desenvolver um padrão crônico de CDI recorrente, que pode durar indefinidamente (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011).

Embora outros fatores também possam explicar porque os pacientes têm recorrência, como a baixa resposta de anticorpos séricos às toxinas do bacilo, o uso de medicamentos como inibidores da bomba de prótons, a cepa específica de *C. difficile* que está causando a infecção, esporos persistentes do bacilo ou a introdução de uma nova cepa pode levar à recorrência da doença, o que é mais provável quando há recuperação incompleta da microbiota intestinal (CORNELLY et al., 2012).

O manejo da rCDI é um importante desafio clínico. Os pacientes que não respondem à terapia antimicrobiana necessitam de opções de tratamentos alternativos (LAPOINTE-SHAW et al., 2016).

Por exemplo, utilizar probióticos na prevenção e no tratamento da infecção. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) define probióticos como sendo micro-organismos vivos, não patogênicos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios a saúde do hospedeiro (BERMUDEZ-BRITO et al., 2012; RINGEL; QUIGLEY; LIN, 2012).

As bactérias mais comumente utilizadas como probióticos pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (WALL et al., 2009). Há também certas espécies de leveduras, tais como *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae*. São consumidos em grandes quantidades, como parte de alimentos tradicionais em todo o mundo. Exemplos incluem natto e miso (de soja), chucrute (repolho), e kombucha (chá fermentado), entre outros (RINGEL; QUIGLEY; LIN, 2012).

Embora atuem inibindo a adesão bacteriana na mucosa intestinal, a eficácia deste agente para evitar CDI é controversa, pois os resultados dos estudos são heterogêneos. Não conseguiram concluir se os probióticos teriam efeito na prevenção ou poderiam ser utilizados como terapia adjuvante na infecção ou nos episódios de recidiva (PARKES; SANDERSON; WHELAN, 2009).

Uma vez que, ter uma microbiota intestinal saudável é essencial na prevenção e no tratamento da infecção, vários estudos recentes têm demonstrado taxas de cura de grande sucesso para os pacientes tratados por meio do transplante fecal (ALMEIDA; GERBABA; PETROF, 2015; KAMADA et al., 2013).

A restauração da microbiota intestinal através do transplante de microbiota fecal representa a estratégia de tratamento que já recebeu a maior atenção e tem ganhado aceitação entre os profissionais no tratamento de rCDI quando os tratamentos convencionais falham (BAKKEN et al., 2013).

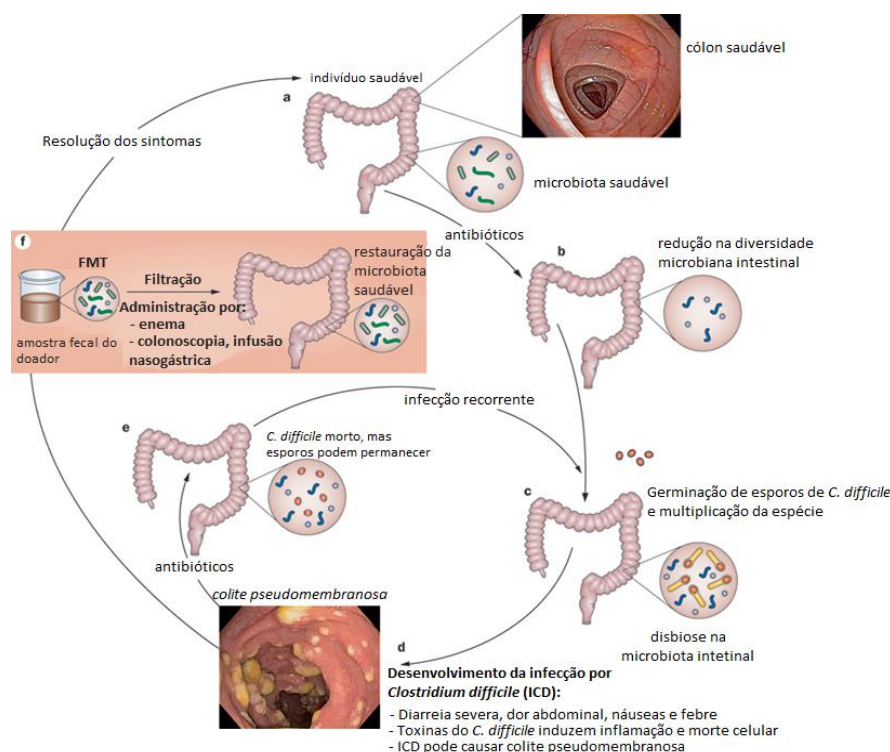
11. 1 Transplante de Microbiota Fecal (FMT)

A primeira descrição conhecida do uso de fezes como terapia, foi realizada pelo médico chinês Ge Hong, durante a dinastia Dong-jin no século IV na China, o qual usou suspensão fecal humana por via oral para pacientes que tiveram intoxicação alimentar ou diarreia grave. Na época, isto produziu resultados satisfatórios e foi considerado um milagre médico que impediu a morte de pacientes (ZHANG et al., 2012).

Segundo Young e Hayden (2016) em 1958, Eiseman e colaboradores descreveram a utilização de enemas de fezes como um tratamento para colite pseudomembranosa, a qual foi o marco da introdução do FMT na medicina tradicional.

Transplante de microbiota fecal, muitas vezes referida como transplante de fezes, transplante fecal, reconstituição da microbiota fecal ou bacterioterapia fecal, consiste na administração de uma suspensão de material fecal derivada de um doador saudável para o trato gastrointestinal de um receptor doente (Figura 7), a fim de alterar diretamente a composição microbiana do intestino deste, com o intuito de contribuir para a melhora do seu quadro clínico (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017).

Figura 7: Reconstituição da microbiota normal através do transplante de microbiota feca



Fonte: Modificado de (BORODY; KHORUTS, 2011)

FMT tornou-se notório, pois se trata de uma estratégia terapêutica eficaz para a rCDI que não respondeu à terapia padrão. Existe interesse em usar FMT para outras doenças gastrointestinais e não-GI, e vários estudos estão em andamento para determinar possíveis indicações alternativas (BORODY; PARAMSOTHY; AGRAWAL, 2013; GUPTA; ALLEN-VERCOE; PETROF, 2016).

Embora não seja um novo conceito terapêutico, houve um aumento significativo ao longo dos últimos anos de indicações clínicas devido a dois principais fatores. Primeiro devido à epidemia global de CDI, e segundo por causa da crescente valorização do entendimento da microbiota intestinal referente ao seu papel na saúde e no desenvolvimento de doenças (BORODY; PARAMSOTHY; AGRAWAL, 2013).

11.1.1 Objetivo e efeitos do FMT

O objetivo principal do FMT é restaurar a população bacteriana normal no intestino. Estudos examinaram a microbiota intestinal de pacientes com CDI antes e depois do transplante. Observaram que há clara mudança nas populações bacterianas dentro do intestino após o FMT, assemelhando-se com as fezes do doador. Estudos de sequenciamento gênico de amostras fecais têm mostrado aumentos na quantidade de Firmicutes e Bacteroidetes e diminuições de Proteobactérias e Actinobactérias após o procedimento, sugerindo rápido enxerto do doador (HAMILTON et al., 2013; KHORUTS et al., 2010).

11.1.2 Indicações para FMT

A infecção recorrente por *C. difficile* é a única infecção atualmente com evidências de ensaios clínicos randomizados que documentam a eficácia do transplante fecal. As infecções recorrentes por CD podem ser altamente debilitantes e o transplante de microbiota fecal é frequentemente eficaz, favorecendo assim, esta intervenção quando os riscos e os benefícios são considerados (HAJRA; BANDYOPADHYAY, 2016; PARK et al., 2017; RUPNIK; WILCOX; GERDING, 2009). Os riscos incluem exposição a patógenos desconhecidos e / ou transferência de uma microbiota que pode predispor o receptor a obesidade, doença inflamatória do intestino ou síndrome metabólica (PAMER, 2014; VINDIGNI; SURAWICZ, 2017).

Para que o FMT seja a terapia de escolha, alguns critérios são avaliados. A

recorrência da CDI é uma delas, uma vez que ao menos três episódios desta infecção tenha se manifestado em sua forma leve a moderada, ou se manifestado ao menos duas vezes em sua forma grave, resultando em hospitalização com morbidades associadas. Falha na farmacoterapia de vancomicina no período de 6 à 8 semanas, ou sem nenhum tipo de antibiótico alternativo como a rifamixina ou nitazoxanida, e colite severa ou fulminante sem nenhuma resposta à terapia após um período de 48 horas (BAKKEN et al., 2011; TAUXE et al., 2015).

Essas manifestações podem ser entendidas como gravidades e a evolução da infecção por CD do paciente decidirá o encaminhamento ao transplante fecal (BAKKEN et al., 2011).

11.1.3 Seleção e rastreio de doadores

O doador pode ser qualquer pessoa com idade superior a 18 anos, conhecida ou não pelo paciente, que esteja disposta a ser doador (KELLY et al., 2015; LIUBAKKA; VAUGHN, 2016).

Gough, Shaikh e Manges (2011) realizaram uma revisão sistemática comparando a eficácia do FMT entre doadores relacionados ou não ao receptor. Doadores relacionados (n = 19 estudos) apresentaram resolução da infecção em 93,3% dos estudos e os doadores não relacionados (n = 4 estudos) resolutiva de 84% dos estudos. Do mesmo modo, Kassam et al. (2013), avaliaram a significância do tipo de doador e não encontraram diferença independentemente se o doador era anônimo ou selecionado pelo paciente. Ainda acrescentaram no seu trabalho que muitos pacientes preferem um doador anônimo para evitar um pedido constrangedor aos conhecidos.

Os candidatos ao FMT são indivíduos com três ou mais recorrências em que houve falha do tratamento convencional. É um método simples onde os doadores podem ser anônimos, mas os pacientes podem escolher, geralmente familiares ou amigos (FONSECA, 2013; GANC et al., 2015). O doador escolhido deve ser saudável e deverá ser avaliado para descartar a presença de *Clostridium difficile* e outras bactérias patogênicas intestinais ou parasitas, além de doenças transmissíveis onde se inclui sífilis, hepatites e HIV.

Antes da doação, os doadores devem ser submetidos a uma avaliação médica minuciosa e rastreio laboratorial para minimizar riscos de transmissão de doenças. As

diretrizes atuais recomendam a utilização de um questionário de doador semelhante aos protocolos para rastreio de doadores de sangue, critérios de exclusão (figura 8) são aplicados para os doadores, seguidos de avaliação sorológica e de fezes (figura 9) (BORODY et al., 2013; KELLY et al., 2015).

Uma abordagem para limitar os riscos do transplante fecal é rastrear e avaliar os doadores fecais para doenças transmissíveis e distúrbios inflamatórios que podem ser conduzidos pela microbiota intestinal. As fezes dos doadores podem ser congeladas e descongeladas sem perder a eficácia, permitindo a utilização a longo prazo, armazenadas em um banco de doadores (HAMILTON et al., 2012). Para contornar as preocupações clínicas com o FMT, uma série de laboratórios e grupos estão isolando espécies bacterianas específicas da microbiota entérica e testando a sua capacidade de oferecer resistência à infecção ao *Clostridium difficile*.

A inclusão de um protocolo de rastreio é importante para prevenir a transmissão de organismos infecciosos que podem estar presentes nas fezes doadas. Além disso, pouco se sabe sobre a transmissão de doenças auto-imunes e outras condições não infecciosas que podem ser influenciadas por alterações na microbiota. Embora tenha havido relato de casos do uso doméstico de enemas para realizar FMT sem avaliação médica, isso é fortemente contra-indicado pelas razões discutidas anteriormente (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017).

Alguns protocolos indicam o uso de laxante para auxiliar na coleta de fezes (ROHLKE; STOLLMAN, 2012). Vindigni e Surawicz (2017) também recomendam que o doador evite quaisquer alimentos que possam causar alergia alimentar, como por exemplo, nozes, amendoim entre outros.

Figura 8 – Critérios de exclusão dos doadores para FMT

Histórico do doador
• Infecção ativa • Exposição a antibióticos durante os 3 meses anteriores à doação • Viagem recente com exposição a doenças diarreicas epidêmicas • Histórico de doença gastrointestinal significativa, incluindo doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, diarreia crônica/constipação, malignidade gastrointestinal • Histórico de doenças auto-imunes ou terapia imunomoduladora em andamento • Histórico de alergia significativa • Outras considerações: diabetes, obesidade, síndrome metabólica, exposição a medicamentos que podem alterar a microbiota intestinal • Considerações de risco social: comportamentos sexuais de alto risco, uso de drogas, permanência em uma instituição de cuidados de longa duração, perfuração corporal ou tatuagem em 6 meses anteriores à doação

Fonte: Modificado de (LIUBAKKA; VAUGHN, 2016)

Figura 9 – Avaliação da amostra fecal e sorologia dos doadores

Análise sorológica	Análise das fezes
<u>Bactéria</u> • Sífilis <u>Vírus</u> • Hepatites A, B e C • HIV-1 e HIV-2 (vírus da imunodeficiência humana)	<u>Bactérias</u> • <i>Clostridium difficile</i> • <i>Campylobacter</i> • <i>Helicobacter pylori</i> (se o FMT for administrado via oral) • <i>Salmonella</i> • <i>Escherichia coli</i> produtora da toxina de Shiga • <i>Shigela</i> • <i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina • <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilicina • Outras considerações:

	<i>Aeromonas, Plesiomonas,</i> <i>Listeria monocytogenes,</i> <i>Yersinia, Vibrio cholerae e</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	<u>Vírus</u>
	• Rotavirus • Norovirus
	<u>Parasitas</u>
	• <i>Cryptosporidium</i> • <i>Cyclospora</i> • <i>Giardia</i> • <i>Isospora</i> • <i>Schistosoma</i> • <i>Strongyloides stercoralis</i>

Fonte: Modificado de (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017)

11.1.4 Regulamentos e Consentimento do Paciente

Os pacientes que necessitarem do procedimento devem estar cientes dos benefícios e riscos, além de ser necessário assinar um termo de consentimento (anexo A), os quais deverão ser devidamente esclarecidos pelo profissional responsável. Os riscos variam de acordo com a via de administração escolhida. Por exemplo, a colonoscopia pode ter o risco de reação ao agente anestésico, desconforto durante o procedimento, sangramento gastrointestinal e perfuração. No que se refere à FMT, observa-se também o risco de transmissão de agentes infecciosos, doenças ou até mesmo condições para as quais o doador não foi pré-rastreado (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017).

11.1.5 Preparação e execução do FMT

O preparo para FMT varia de acordo com a instituição que realizará o procedimento. O receptor deverá receber tratamento prévio com vancomicina e preparação intestinal com polietilenoglicol. Os pacientes devem parar o uso com vancomicina (ou qualquer outro antibiótico) pelo menos 1 ou 2 dias antes do FMT (FONSECA, 2013; GANC et al., 2015; SILVERMAN, 2010).

As fezes podem ser administradas por vários mecanismos, cada um com seus próprios riscos, conforme descrito na Tabela 5.

Tabela 5 - Vantagens e desvantagens de métodos de administração de fezes

Desvantagem	Vantagem	Método
• Desconforto na colocação do tubo • Risco de vômito e aspiração • Incapacidade de avaliar a mucosa e realizar biópsia	• Evita sedação • Baixo custo	Oral/ Nasogástrico / Nasoduodenal / Nasojejunal
• Invasivo • Geralmente requer sedação • Riscos padrão de colonoscopia (por exemplo, desconforto, perfuração, sangramento) • Caro	• Capacidade de avaliar a mucosa e realizar biópsias • Via mais eficaz para o tratamento de rCDI	Colonoscopia
• Fezes do doador não atinge toda a extensão do cólon • Menos eficaz do que outras vias de administração para rCDI	• Menos invasivo • Pode ser administrado no consultório ou em casa • Nenhum risco de sedação • Baixo custo • Pode ser mais facilmente repetido	Enema

- | | | |
|--|---|----------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Caro, porém elimina o custo da endoscopia • Menos eficaz do que a colonoscopia para rCDI • Riscos de vômitos e aspiração | <ul style="list-style-type: none"> • Menos invasivo • Pode ser administrado no consultório • Nenhum risco de sedação | Cápsulas |
|--|---|----------|
-

Fonte: Modificado de (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017).

As fezes são pré-rastreadas como descrito anteriormente, no laboratório ou em um banco de fezes antes do envio. Este último fornece um código identificador único que pode ser usado para rastrear o doador, se necessário. Além disso, bancos de fezes podem armazenar amostras de fezes do doador congeladas para estudos futuros ou se o receptor desenvolver uma infecção rara após FMT (CHOI; CHO, 2016).

O material fecal colhido deve ser misturado com soro fisiológico (embora a mistura com leite também tenha sido descrita) é então homogeneizado por agitação manual ou misturador mecânico para assegurar uma boa homogeneização. As fezes misturadas são passadas através de um filtro ou gaze para remover resíduos alimentares que possam obstruir o canal do colonoscópio. O material então é transferido para tubos a fim de serem centrifugados e após, serão inseridos em seringas de 50-60 mL (figura 10), isto então é encaminhado rapidamente para o médico para que seja introduzido ao receptor (BRANDT; ARONIADIS, 2013; CHOI; CHO, 2016).

Figura 10 – Procedimento de FMT



Nota: (A) Fezes frescas do doador e solução salina triturada em um misturador; (B) Suspensão fecal em seringas de 50 ml; (C) Infusão utilizando colonoscopia.

Fonte: (CHOI; CHO, 2016)

A administração das fezes pode ser realizada através do trato gastrointestinal superior que inclui sonda nasoduodenal/nasojunal e cápsulas ou pelo trato gastrointestinal inferior incluindo colonoscopia, sigmoidoscopia flexível e enema de retenção. Não há nenhuma evidência definitiva para escolher qualquer modalidade sobre a outra. A metodologia pode ser executada de acordo com a avaliação do clínico, para escolher a via mais apropriada, considerando as condições do paciente, habilidades de médico, a equipe disponível e acessibilidade do equipamento no local que será realizado o transplante (ROHLKE; STOLLMAN, 2012).

A quantidade ideal de material fecal e diluente a ser usada para o FMT não foi padronizada. Não existem muitas orientações na literatura, embora alguns concordem que sejam pelo menos 50 g de fezes frescas para 250 mL de diluente (BRANDT; ARONIADIS, 2013; CHOI; CHO, 2016).

FMT por colonoscopia é normalmente segura, bem tolerada, facilmente realizada e tem a vantagem de permitir o procedimento em todo o cólon, no entanto, deve ser cuidadosamente escolhido para pacientes com colite grave e distensão significativa do cólon devido a um maior risco de perfuração (WANG et al., 2014). Nesses casos, o enema de retenção e a sigmoidoscopia flexível podem ser opções alternativas, mas podem ser difíceis para alguns pacientes reter as fezes transplantadas e podem ser necessárias infusões repetidas de pequeno volume ao longo de 2 a 3 dias. O transplante fecal através do TGI superior é fácil de executar e tem um baixo risco. No entanto, pode ser desconfortável e ter o risco de gerar vômitos e aspiração (KELLY et al., 2015). Além do mais, tem o problema que o material fecal não consegue ser bem distribuído durante todo o cólon.

Apesar das três maneiras convencionalmente descritas e utilizadas, Ganc et al. (2015) realizaram no Brasil um procedimento inédito na América do Sul: o tratamento com transplante de microbiota fecal por meio de enteroscopia, por via oral, sob sedação, onde a infusão da microbiota se deu através do canal de trabalho no jejuno proximal. Ganc et al. (2015) explicam que até o presente momento não há relatos na literatura científica de transplante fecal por infusão da microbiota por via endoscópica. Acreditam que seja uma boa opção para tal tratamento, pois os pacientes não precisarão submeter-se a colonoscopia e nem ao desconforto físico, psicológico e moral gerado pela via nasoentérica para a infusão do material fecal.

Estudos adicionais ainda são necessários para melhor avaliar e padronizar a melhor via para este procedimento de acordo com as diferentes situações clínicas do paciente (KELLY et al., 2015).

11.1.6 Ação do FMT na cura da infecção crônica e recorrente por *Clostridium difficile*

O sucesso da transferência de uma microbiota complexa, derivada de doadores saudáveis é responsável por um resultado que é apoiado por análises da microbiota receptora pós-transplante. Alguns estudos, no entanto, sugerem que a administração de bactérias dos doadores também promove a re-expansão das espécies bacterianas do receptor, normalizando assim, a diversidade da microbiota. Um mecanismo pelo qual a microbiota intestinal se re-estabelece é ocupando espaço, suprimindo dessa forma a CDI e eliminando-o fisicamente. Alguns estudos experimentais, entretanto,

não suportam essa justificativa conceitualmente simples. Acreditam que o mais provável é que a microbiota recém-criada e estabelecida inibadiretamente o micro-organismo ou esgote substratos que promovem a germinação do patógeno, crescimento ou produção de toxinas e mudanças nos ácidos biliares que prejudicam o ciclo de vida do bacilo (CHOI; CHO, 2016; BUFFIE; PAMER, 2013).

A competição por nutrientes pode inibir o crescimento de espécies bacterianas concorrentes. A supressão de bactérias patogênicas por *Bifidobacterium* comensal demonstrou ser resultante da produção de acetato (FUKUDA et al., 2011). Outro mecanismo adicional envolve o papel das bactérias comensais no metabolismo de sais biliares. Os sais biliares primários podem induzir a germinação dos endósporos, o qual é um passo importante na patogênese da CDI. Por outro lado, os sais biliares secundários são gerados pela modificação bacteriana de sais biliares primários e podem inibir o crescimento vegetativo do bacilo (SORG; SONENSHEIN, 2010). O tratamento com antibiótico pode eliminar as populações bacterianas que geram os sais biliares secundários, levando a um crescimento vegetativo melhorado.

A eficácia do transplante fecal, portanto, pode ser direta, pela inibição do CD, ou indireta, aumentando fatores do hospedeiro, tais como sais biliares ou defesas imunes inatas. Serão necessários mais estudos para determinar as contribuições relativas destes mecanismos para a defesa contra a CDI (TAUXE et al., 2015).

O FMT foi examinado em pacientes jovens e idosos com comorbidades limitadas, bem como aqueles considerados imunocomprometidos (KELLY et al., 2014), e o procedimento mostrou-se seguro, bem tolerado e eficaz. O papel do transplante no tratamento do CDI em situações específicas (por exemplo, megacólon tóxico) ainda não está claro; contudo, dos mais de 500 casos relatados na literatura, o FMT mostrou uma resposta rápida e uma taxa de cura de quase 90%, com uma taxa de eventos adversos significativamente insignificantes, independente da via de administração escolhida (KELLY et al., 2015).

A eficácia do FMT para esta indicação é impressionante, numerosos estudos demonstram taxas de cura superiores a 90%. O primeiro ensaio clínico randomizado de FMT para infecção recorrente por *Clostridium difficile* foi realizado por Van Nood et al. (2013) através da via nasoduodenal. Dos doentes com rCDI que receberam uma infusão fecal, 81% tiveram a cura da doença, ao passo que os pacientes que receberam apenas vancomicina somente 31% tiveram resolução.

Com base no sucesso do FMT para rCDI, as diretrizes do Colégio Americano

de Gastroenterologia e a Sociedade Europeia de Microbiologia Clínica e Infecciosa recomendam esta opção terapêutica para esta infecção (DEBAST; BAUER; KUIJPER, 2014; SURAWICZ et al., 2013).

Conforme citado anteriormente, recentemente tem sido relatado e utilizado cápsulas com fezes congeladas por via oral para rCDI. Em um estudo analisaram a viabilidade deste método em 20 pacientes com infecção recorrente que houve falha na terapia com vancomicina, 14 (70%) dos pacientes tiveram resolução da diarreia após a administração da cápsula (15 cápsulas em 2 dias consecutivos), 6 pacientes não responderam e 4 apresentaram resolução da diarreia após segunda administração de cápsulas de material fecal. Não foram observados efeitos adversos graves (YOUNGSTER et al., 2014).

11.1.7 Efeitos adversos do FMT

FMT fornece ao paciente uma mistura com vários micro-organismos. Visto que é utilizado como opção terapêutica, como qualquer outra droga, deve-se considerar possíveis eventos adversos que podem resultar desta introdução, particularmente quando o uso do transplante aumentar (LAFFIN; MILLAN; MADSEN, 2017).

Geralmente, os efeitos observados são leves e transitórios (Figura 11), tais como, desconforto abdominal, náuseas, vômitos, inchaço ou flatulência. Muitas vezes é difícil saber se os sintomas estão relacionados com a doença subjacente que desencadeou a necessidade do FMT (por exemplo, síndrome do intestino irritável) ou os medicamentos sedativos recebidos durante a endoscopia. O desenvolvimento de uma nova infecção é raro. A maioria dos estudos de eficácia de FMT examinou eventos adversos como um resultado secundário com achados mínimos global (BRANDT et al., 2012; LAFFIN; MILLAN; MADSEN, 2017).

Com base nas evidências, o transplante fecal é uma terapia segura com mínimos efeitos adversos. Apesar disso, recomenda-se cautela no uso de material fecal em pacientes imunocomprometidos graves, pois existem relatos isolados de sepse, possivelmente relacionados à translocação bacteriana no contexto de comprometimento da integridade da mucosa intestinal e inflamação. No entanto, para os pacientes com rCDI que não tenham respondido a outras terapias convencionais, esta pode ser a melhor opção (KELLY et al., 2015).

Figura 11 – Eventuais efeitos adversos do FMT

Menor (e comum):

- Náuseas/vômitos (particularmente se o FMT for por via oral)
- Desconforto ou dor abdominal
- Inchaço
- Flatulência
- Diarreia/constipação
- Febre baixa

Grave:

- Aspiração (relacionada a sedação)
- Sangramento e perfuração (relacionada a endoscopia)
- Infecção / Seps (infecção pode ser uma seqüela ao longo prazo)
- Doença inflamatória intestinal
- Síndrome do intestino irritável pós-infecciosa

Potencial:

Risco de desenvolvimento de doença crônica relacionado a alterações no microbiota intestinal

Outros fatores desconhecidos

Fonte: (VINDIGNI; SURAWICZ, 2017)

12 OUTRAS APLICAÇÕES CLÍNICAS DO FMT

12.1 Doença inflamatória intestinal (IBD)

Existe um grande interesse no papel potencial do transplante fecal para uma ampla gama de doenças, particularmente doenças inflamatórias intestinais (PAMER, 2014).

Doença inflamatória intestinal inclui a doença de Crohn e colite ulcerativa (UC). Semelhante ao CDI, estudos têm mostrado disbiose com redução da diversidade bacteriana (diminuição de *Bacteroidetes* e *Firmicutes* com aumento de Proteobactérias e Actinobactérias) nestes pacientes (VINCENT et al., 2013).

A doença de Crohn é um distúrbio intestinal inflamatório idiopático crônico associado à disbiose da microbiota entérica. O transplante fecal é uma opção terapêutica potencial para os indivíduos com esta doença, com base na hipótese de que a regularização da microbiota poderia promover menos inflamação intestinal. Suskind et al. (2015) realizaram um estudo e demonstraram que FMT para esta doença pode ser uma possível opção terapêutica. Embora haja relatos de sucesso clínico para doença inflamatória intestinal, por meio desta metodologia, os autores acrescentam que outros estudos são necessários para avaliar completamente a segurança e a eficácia da FMT em pacientes com doença de Crohn.

Estudos clínicos controlados de transplante fecal estão sendo realizados para doença inflamatória intestinal, obesidade e outras doenças inflamatórias (CHATELIER et al., 2013).

12.2 FMT para descolonização de patógenos multirresistentes

Uma vez que, a terapia com fezes transplantadas envolve a substituição da microbiota disfuncional existente de um doente, que contém agentes patogênicos oportunistas multirresistentes, por uma microbiota saudável, a qual é caracterizada com níveis elevados de micro-organismos benéficos, torna o FMT como uma terapia promissora para descolonização de bactérias intestinais multirresistentes. Um total de oito relatos de casos foi publicado demonstrando que o FMT resultou na descolonização intestinal de *Enterococcus* resistentes à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), enterobactérias produtoras de β -lactamase (ESBL) e de carbapenemase (CRUM-CIANFLONE; SULLIVAN; BALLON-LANDA,

2015; DUBBERKE et al., 2016; FREEDMAN; EPPES, 2014; KHANNA et al., 2016; LAGIER et al., 2015; SINGH et al., 2014; STRIPLING et al., 2015; WEI et al., 2015).

As opções de tratamento para infecções causadas por patógenos multirresistentes tem se tornado cada vez mais limitadas, são menos eficazes e pode incluir o uso de antibióticos que são tóxicos para o indivíduo (MANGES; STEINER; WRIGHT, 2016). O transplante fecal para essa finalidade é uma maneira completamente nova e alternativa, pois a descolonização é direcionada para reduzir a propagação de organismos resistentes (CHO et al., 2016; MANGES; STEINER; WRIGHT, 2016).

13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A CDI é a causa mais comum de diarreia infecciosa, sendo responsável por mais de 500.000 infecções entéricas e representa um relevante problema para os cuidados de saúde em todo o mundo. Estudos epidemiológicos mostraram um aumento exacerbado na incidência, assim como, na gravidade e nas taxas de recorrências em doenças associadas a este patógeno. Essa proporção aumenta durante o tempo de permanência de hospitalização, mas é extremamente variável entre instituições, regiões e países.

O uso prévio de antibióticos pode levar à disbiose intestinal, diminuindo a diversidade de micro-organismos residentes da microbiota entérica, favorecendo o crescimento e a infecção por CD.

As manifestações clínicas variam desde uma colonização assintomática até uma doença grave, podendo levar à colite pseudomembranosa, megacólon tóxico, perfuração intestinal e morte.

O tratamento recomendado para essa infecção é a administração de metronidazol e/ou vancomicina, porém a maioria dos pacientes possuem respostas clínicas distintas às terapias antimicrobianas. Somado a isso, diferentes cepas existentes do bacilo, o estado imunológico e a idade do indivíduo, favorecem o desenvolvimento da infecção recorrente em até 30% dos pacientes.

Embora os impactos positivos relacionados aos pacientes com rCDI do tratamento sejam visíveis, muitos estudos ainda serão necessários para avaliar as contraindicações e eventuais efeitos adversos a longo prazo. Além de ser fundamental a padronização do rastreio das fezes doadas e um protocolo bem estabelecido para o monitoramento dos pacientes transplantados.

Sendo assim, quando há falhas na antibioticoterapia preconizada o FMT, embora não seja um método terapêutico novo, surge como um dos tratamentos mais promissores para refratários de rCDI com a finalidade de corrigir a disbiose gerada, proporcionando ao paciente uma microbiota saudável, e, promovendo assim, sua homeostase estrutural e funcional.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Rowena; GERBABA, Teklu; PETROF, Elaine O.. Recurrent *Clostridium difficile* infection and the microbiome. **Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 51, n. 1, p.1-10, 8 jul. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00535-015-1099-3>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

ANDERMANN, Tessa M.; REZVANI, Andrew; BHATT, Ami S.. Microbiota Manipulation With Prebiotics and Probiotics in Patients Undergoing Stem Cell Transplantation. **Curr Hematol Malig Rep**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.19-28, 16 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4996265/>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

BADGER, Victor O. et al. *Clostridium difficile*. **Journal Of Parenteral And Enteral Nutrition**, [s.l.], v. 36, n. 6, p.645-662, nov. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22577120>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

BAKKEN, Johan S. et al. Treatment approaches including fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection (RCDI) among infectious disease physicians. **Anaerobe**, [s.l.], v. 24, p.20-24, dez. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24012687>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

BAKKEN, Johan S. et al. Treating *Clostridium difficile* Infection With Fecal Microbiota Transplantation. **Clinical Gastroenterology And Hepatology**. [s.l.], p. 1044-1049. dez. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21871249>>. Acesso em: 26 jan. 2017.

BALASSIANO, I.T. et al. *Clostridium difficile*: a problem of concern in developed countries and still a mystery in Latin America. **Journal of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 61, n.2, p-169-179, 24 nov. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22116982>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

BARBOSA, Flávio Henrique Ferreira et al. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 10, n. 1, p.78-93, jun. 2010.

Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=50016930008>>. Acesso em: 28 abr. 2017.

BARBUT, Frédéric et al. Rapid Detection of Toxigenic Strains of *Clostridium difficile* in Diarrheal Stools by Real-Time PCR. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 47, n. 4, p.1276-1277, 25 fev. 2009. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/content/47/4/1276.full>>. Acesso em: 07 fev. 2017.

BARTLETT, John G.. The Case for Vancomycin as the Preferred Drug for Treatment of *Clostridium difficile* Infection. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 46, n. 10, p.1489-1492, 15 maio 2008. Disponível em: <<http://cid.oxfordjournals.org/content/46/10/1489.long>>. Acesso em: 23 out. 2016.

BEDANI, R.; ROSSI, E.a.. Microbiota intestinal e probióticos: Implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreenterologia**, Lisboa, v. 16, n. 1, p.19-28, fev. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.mec.pt/pdf/ge/v16n1/v16n1a03.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2016.

BELLA, Stefano di et al. *Clostridium difficile* Toxins A and B: Insights into Pathogenic Properties and Extraintestinal Effects. **Toxins**, [s.l.], v. 8, n. 5, p.1-25, 3 maio 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4885049/>>. Acesso em: 13 mar. 2017.

BERMUDEZ-BRITO, Miriam et al. Probiotic Mechanisms of Action. **Annals Of Nutrition And Metabolism**, [s.l.], v. 61, n. 2, p.160-174, out. 2012. Disponível em: <<http://www.karger.com/Article/FullText/342079>>. Acesso em: 13 out. 2016.

BIBBÒ, Stefano et al. Role of Microbiota and Innate Immunity in Recurrent *Clostridium difficile* Infection. **Journal Of Immunology Research**. [s.i.], p. 1-8. jun. 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jir/2014/462740/>>. Acesso em: 21 abr. 2017.

BIEN, Justyna; PALAGANI, Vindhya; BOZKO, Przemyslaw. The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory

bowel disease?. **Therapeutic Advances In Gastroenterology**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.53-68, jan. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3539291/>>. Acesso em: 25 fev. 2017.

BLANCHI, Julie; GORET, Julien; MÉGRAUD, Francis. Clostridium difficile Infection: A Model for Disruption of the Gut Microbiota Equilibrium. **Digestive Diseases**, [s.l.], v. 34, n. 3, p.217-220, 30 mar. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27028327>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

BORODY, Thomas J.; KHORUTS, Alexander. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. **Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology**, [s.l.], v. 9, n. 2, p.88-96, fev. 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrgastro/journal/v9/n2/full/nrgastro.2011.244.html>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

BORODY, Thomas J.; PARAMSOTHY, Sudarshan; AGRAWAL, Gaurav. Fecal Microbiota Transplantation: Indications, Methods, Evidence, and Future Directions. **Current Gastroenterology Reports**, [s.l.], v. 15, n. 8, p.1-7, 14 jul. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3742951/>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

BOUZA, E. Consequences of Clostridium difficile infection: understanding the healthcare burden. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 18, p.5-12, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23121549>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

BRANDT, Lawrence J et al. Long-Term Follow-Up of Colonoscopic Fecal Microbiota Transplant for Recurrent Clostridium difficile Infection. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 107, n. 7, p.1079-1087, 27 mar. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22450732>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

BRANDT, Lawrence J.; ARONIADIS, Olga C.. An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes. **Gastrointestinal Endoscopy**, [s.l.], v. 78, n. 2, p.240-249, ago. 2013. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23642791>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

BUFFIE, Charlie G.; PAMER, Eric G.. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 13, n. 11, p.790-801, 7 out. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24096337>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

BURNHAM, Carey-ann; CARROLL, Karen C.. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection: an Ongoing Conundrum for Clinicians and for Clinical Laboratories. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington Dc, p. 604-630. jul. 2013. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=23824374>>. Acesso em: 17 jun. 2016.

BURKE, Kristin E.; LAMONT, J. Thomas. Clostridium difficile Infection: A Worldwide Disease. **Gut And Liver**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-6, 15 jan. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24516694>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

CARROLL, Karen C.; BARTLETT, John G.. Biology of Clostridium difficile: Implications for Epidemiology and Diagnosis. **Annual Review Of Microbiology**, [s.l.], v. 65, n. 1, p.501-521, 13 out. 2011. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-micro-090110-102824?url_ver=Z39.88-2003&rfr_dat=cr_pub=pubmed&rfr_id=ori:rid:crossref.org&journalCode=micro>. Acesso em: 25 jan. 2017.

CHATELIER, Emmanuelle Le et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. **Nature**, [s.l.], v. 500, n. 7464, p.541-546, 28 ago. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23985870?dopt=Abstract&holding=npg>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

CHO, Oh-hyun et al. The effect of targeted decolonization on methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization or infection in a surgical intensive care unit. **American Journal Of Infection Control**, [s.l.], v. 44, n. 5, p.533-538, maio 2016. Disponível em: <[http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(15\)01237-7/abstract](http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(15)01237-7/abstract)>.

Acesso em: 03 abr. 2017.

CHOI, Hyun Ho; CHO, Young-seok. Fecal Microbiota Transplantation: Current Applications, Effectiveness, and Future Perspectives. **Clinical Endoscopy**, [s.l.], v. 49, n. 3, p.257-265, 30 maio 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4895930/>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

COHEN, Stuart h. et al. Clinical Practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). **Infection Control And Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.431-455, maio 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20307191>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

CORNELY, O. A. et al. Treatment of First Recurrence of Clostridium difficile Infection: Fidaxomicin Versus Vancomycin. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 55, n. 2, p.154-161, 2 jul. 2012. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3388030/>>. Acesso em: 18 fev. 2017.

CRUM-CIANFLONE, Nancy F.; SULLIVAN, Eva; BALLON-LANDA, Gonzalo. Fecal Microbiota Transplantation and Successful Resolution of Multidrug-Resistant-Organism Colonization. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 53, n. 6, p.1986-1989, 15 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25878340>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

DAVE, Maneesh et al. The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions. **Translational Research**, [s.l.], v. 160, n. 4, p.246-257, out. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22683238>>. Acesso em: 05 out. 2016.

DEBAST, S.b.; BAUER, M.p.; KUIJPER, E.j.. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for Clostridium difficile Infection. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, p.1-26, mar. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24118601>>. Acesso em: 02 mar. 2017.

DENÈVE, C. et al. New trends in *Clostridium difficile* virulence and pathogenesis. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 33, p.24-28, mar. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19303565>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DESHPANDE, Abhishek et al. Risk Factors for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, [s.l.], v. 36, n. 04, p.452-460, 28 jan. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25626326>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

DINEEN, Sean S. et al. Repression of *Clostridium difficile* toxin gene expression by CodY. **Molecular Microbiology**, [s.l.], v. 66, n. 1, p.206-219, out. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17725558>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

DONALDSON, Gregory P.; LEE, S. Melanie; MAZMANIAN, Sarkis K.. Gut biogeography of the bacterial microbiota. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.20-32, 26 out. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrmicro/journal/v14/n1/full/nrmicro3552.html>>. Acesso em: 22 ago. 2016.

DUBBERKE, Erik R. et al. Clearance of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Concomitant With Administration of a Microbiota-Based Drug Targeted at Recurrent *Clostridium difficile* Infection. **Open Forum Infectious Diseases**, [s.l.], v. 3, n. 3, p.1-6, 19 jun. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27703995>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

DUBBERKE, E. R. et al. The Ecology and Pathobiology of *Clostridium difficile* Infections: An Interdisciplinary Challenge. **Zoonoses And Public Health**, [s.l.], v. 58, n. 1, p.4-20, 24 set. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3668351/>>. Acesso em: 18 set. 2016.

DUPONT, Herbert L.. Diagnosis and Management of *Clostridium difficile* Infection. **Clinical Gastroenterology And Hepatology**, [s.l.], v. 11, n. 10, p.1216-1223, out.

2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23542332>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

EFRON, Philip A.; MAZUSKI, John E.. Clostridium difficile Colitis **Surgical Clinics Of North America**. Saint Louis, p. 483-500. set. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19281896>>. Acesso em: 04 fev. 2017.

EVANS, C. T.; SAFDAR, N.. Current Trends in the Epidemiology and Outcomes of Clostridium difficile Infection. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 60, n. 2, p.66-71, 28 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25922403>>. Acesso em: 14 mar. 2017.

FARROW, Melissa A. et al. Clostridium difficile toxin B-induced necrosis is mediated by the host epithelial cell NADPH oxidase complex. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 110, n. 46, p.18674-18679, 28 out. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24167244>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

FONSECA, Jorge. Transplante fecal na infecção por *Clostridium difficile*. **Associação Portuguesa de Nutrição Entérica e Parentérica**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.46, abr. 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261699463_Transplante_fecal_na_infecao_por_Clostridium_difficile>. Acesso em: 16 jun. 2016.

FIGUEROA, I. et al. Relapse Versus Reinfection: Recurrent Clostridium difficile Infection Following Treatment With Fidaxomicin or Vancomycin. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 55, n. 2, p.104-109, 2 jul. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22752857>>. Acesso em: 17 mar. 2017.

FUKUDA, Shinji et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. **Nature**, [s.l.], v. 469, n. 7331, p.543-547, 27 jan. 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v469/n7331/full/nature09646.html>>. Acesso em: 03 fev. 2017.

FREEDMAN, Abigail; EPPES, Stephen. Use of stool transplant to clear fecal colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE):: proof of concept. **Open Forum Infectious Diseases**, [s.l.], p.1-1, dez. 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/313284741_1805Use_of_Stool_Transplant_to_Clear_Fecal_Colonization_with_Carbapenem-Resistant_Enterobacteriaceae_CRE_Proof_of_Concept>. Acesso em: 01 abr. 2017.

FREEMAN, J. et al. The Changing Epidemiology of Clostridium difficile Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.529-549, 1 jul. 2010. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/content/23/3/529>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

GANÇ, Arnaldo José et al. Transplante de microbiota fecal por enteroscopia alta para o tratamento da diarreia causada por *Clostridium difficile*. **Einstein**, São Paulo, v. 13, n. 2, p.338-339, jun. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S167945082015000200031&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 16 jun. 2016.

GERDING, Dale N.; FILE, Thomas M.; MCDONALD, L. Clifford. Diagnosis and Treatment of Clostridium difficile Infection. **Infectious Diseases In Clinical Practice**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.3-10, jan. 2016. Disponível em: <http://journals.lww.com/infectdis/Fulltext/2016/01000/Diagnosis_and_Treatment_of_Clostridium_difficile.2.aspx>. Acesso em: 07 fev. 2017.

GERRITSEN, Jacoline et al. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. **Genes & Nutrition**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.209-240, 27 maio 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3145058/>>. Acesso em: 18 mar. 2017.

GIEL, Jennifer L. et al. Metabolism of Bile Salts in Mice Influences Spore Germination in Clostridium difficile. **Plos One**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-7, 15 jan. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2806926/>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

GIRINATHAN, Brintha Prasumman; BRAUN, Sterling E.; GOVIND, Revathi.

Clostridium difficile glutamate dehydrogenase is a secreted enzyme that confers resistance to H₂O₂. **Microbiology**, [s.l.], v. 160, n. 1, p.47-55, 21 out. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3917229/>>. Acesso em: 07 fev. 2017.

GIRINATHAN, Brintha P. et al. Effect of tcdR Mutation on Sporulation in the Epidemic *Clostridium difficile* Strain R20291. **Mosphere**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.1-14, 15 fev. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5311115/>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

GIL, Fernando et al. Updates on *Clostridium difficile* spore biology. **Anaerobe**, [s.l.], p.1-31, fev. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28254263>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

GOUDARZI, Mehdi et al. *Clostridium difficile* Infection: Epidemiology, Pathogenesis, Risk Factors, and Therapeutic Options. **Scientifica**, [s.l.], v. 2014, p.1-9, 2014. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/scientifica/2014/916826/>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

GOUGH, Ethan; SHAIKH, Henna; MANGES, Ameer R.. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 53, n. 10, p.994-1002, 15 nov. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002980>>. Acesso em: 15 mar. 2017.

GUINANE, Caitriona M.; COTTER, Paul D.. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. **Therapeutic Advances In Gastroenterology**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.295-308, 26 mar. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3667473/>>. Acesso em: 28 jun. 2016.

GUPTA, Shaan; ALLEN-VERCOE, Emma; PETROF, Elaine O.. Fecal microbiota transplantation: in perspective. **Therapeutic Advances In Gastroenterology**, [s.l.], v. 9, n. 2, p.229-239, mar. 2016. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4749851/pdf/10.1177_1756283X15607414.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2016.

HAJRA, Adrija; BANDYOPADHYAY, Dhruvajyoti. FMT in Clostridium Difficile: Frozen or Fresh?. Oncology, **Gastroenterology And Hepatology Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.43-43, 20 nov. 2016. Disponível em: <<http://www.oghreports.org/sites/default/files/10.5530ogh.2017.6.1.13.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

HAMILTON, Matthew J. et al. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. **Gut Microbes**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.125-135, jan. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23333862>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

HAMILTON, Matthew J et al. Standardized Frozen Preparation for Transplantation of Fecal Microbiota for Recurrent Clostridium difficile Infection. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 107, n. 5, p.761-767, 31 jan. 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/ajg/journal/v107/n5/full/ajg2011482a.html>>. Acesso em: 02 mar. 2017.

HERNÁNDEZ-ROCHA, Cristian et al. Epidemic Clostridium difficile Ribotype 027 in Chile. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 18, n. 8, p.1370-1372, ago. 2012. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22840230>>. Acesso em: 13 mar. 2017.

HIRSCH, Bruce e et al. Effectiveness of fecal-derived microbiota transfer using orally administered capsules for recurrent Clostridium difficile infection. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.1-9, 17 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4506624/>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. **Consent for Fecal Microbiota Transplantation (FMT)**. Disponível em: <[https://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Topics_of_Interest/Emerging_Clinical_Issues/FMT/FMT Consent Form.pdf](https://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Topics_of_Interest/Emerging_Clinical_Issues/FMT/FMT%20Consent%20Form.pdf)>. Acesso em: 15 fev. 2017.

JANDHYALA, Sai Manasa et al. Role of the normal gut microbiota. **World Journal Of Gastroenterology**, Hyderabad, v. 21, n. 29, p.8787-8803, ago. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4528021/>>. Acesso em: 28 jun. 2016.

JANARTHANAN, Sailajah et al. Clostridium difficile-Associated Diarrhea and Proton Pump Inhibitor Therapy: A Meta-Analysis. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 107, n. 7, p.1001-1010, 19 jun. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22710578>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

JOHNSON, Stuart. Recurrent Clostridium difficile infection: A review of risk factors, treatments, and outcomes. **Journal Of Infection**, [s.l.], v. 58, n. 6, p.403-410, jun. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016344530900111X>>. Acesso em: 09 nov. 2016.

KAMADA, Nobuhiko et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. **Nature Immunology**, [s.l.], v. 14, n. 7, p.685-690, 18 jun. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083503/>>. Acesso em: 08 mar. 2017.

KASSAM, Zain et al. Fecal Microbiota Transplantation for Clostridium difficile Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 108, n. 4, p.500-508, 19 mar. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23511459>>. Acesso em: 16 mar. 2017.

KELLY, Colleen R et al. Fecal Microbiota Transplant for Treatment of Clostridium difficile Infection in Immunocompromised Patients. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 109, n. 7, p.1065-1071, 3 jun. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24890442?dopt=Abstract>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

KELLY, Ciarán P.; LAMONT, J. Thomas. Clostridium difficile— More Difficult Than

Ever. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 359, n. 18, p.1932-1940, 30 out. 2008. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra0707500>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

KELLY, Colleen R. et al. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015:: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. **Gastroenterology**, [s.i.], v. 149, n. 1, p.223-237, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25982290>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

KHAN, Fahmi Yousef; ELZOUKI, Abdul-naser. Clostridium difficile infection: a review of the literature. **Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 7, p.6-13, set. 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764514601978>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

KHANNA, Sahil et al. A Novel Microbiome Therapeutic Increases Gut Microbial Diversity and Prevents Recurrent Clostridium difficile Infection. **Journal Of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 214, n. 2, p.173-181, 8 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26908752>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

KHORUTS, Alexander et al. Changes in the Composition of the Human Fecal Microbiome After Bacteriotherapy for Recurrent Clostridium Difficile-associated Diarrhea. **Journal Of Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 44, n. 5, p.1-24, dez. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20048681>>. Acesso em: 15 mar. 2017.

KIM, George; ZHU, Nemin Adam. Community-acquired Clostridium difficile infection. **Canadian Family Physician**, [s.i.], v. 63, n. 2, p.131-132, fev. 2017. Disponível em: <<http://www.cfp.ca/content/63/2/131.long>>. Acesso em: 02 mar. 2017.

KONTUREK, P.C. et al. Successful therapy of Clostridium difficile infection with fecal microbiota transplantation. **Journal Of Physiology And Pharmacology**, [s.i.], v. 67, n. 6, p.856-866, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28195066>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

KRISTENSEN, Nadja B. et al. Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials. **Genome Medicine**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-11, 10 maio 2016. Disponível em: <<https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-016-0300-5>>. Acesso em: 18 ago. 2016.

KUEHNE, Sarah A. et al. The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. **Nature**, [s.l.], v. 467, n. 7316, p.711-713, 15 set. 2010. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v467/n7316/abs/nature09397.html>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

LAFFIN, Michael; MILLAN, Braden; MADSEN, Karen L.. Fecal microbial transplantation as a therapeutic option in patients colonized with antibiotic resistant organisms. **Gut Microbes**, [s.l.], p.1-4, 6 jan. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/28059612/>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

LAGIER, J-c. et al. Faecal microbiota transplantation for stool decolonization of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Journal Of Hospital Infection**, [s.l.], v. 90, n. 2, p.173-174, jun. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25913649>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

LAPOINTE-SHAW, Lauren et al. Cost-Effectiveness Analysis of Six Strategies to Treat Recurrent *Clostridium difficile* Infection. **Plos One**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.1-18, 22 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26901316>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

LARENTIS, Daniela Zilio. **Fatores de risco e prognóstico associados à diarreia por *Clostridium difficile* em pacientes adultos hospitalizados**. 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

LEFFLER, Daniel A.; LAMONT, J. Thomas. *Clostridium difficile* Infection. **The New England Journal Of Medicine**. Massachusetts, p. 1539-1548. 16 abr. 2015.

LESSA, Fernanda C. et al. Burden of Clostridium difficile Infection in the United States. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 372, n. 9, p.825-834, 26 fev. 2015. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1408913#t=article>>. Acesso em: 23 out. 2016.

LIUBAKKA, A.; VAUGHN, B. P.. Clostridium difficile Infection and Fecal Microbiota Transplant. **Aacn Advanced Critical Care**, [s.l.], v. 27, n. 3, p.324-337, 1 jul. 2016. Disponível em: <<http://acc.aacnjournals.org/content/27/3/324.full>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

LONGO, Dan L.; LEFFLER, Daniel A.; LAMONT, J. Thomas. Clostridium difficile Infection. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 372, n. 16, p.1539-1548, 16 abr. 2015. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1403772>>. Acesso em: 23 out. 2016.

LOO, Vivian G. et al. Host and Pathogen Factors for Clostridium difficile Infection and Colonization. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 365, n. 18, p.1693-1703, 3 nov. 2011. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1012413#t=article>>. Acesso em: 02 out. 2016.

LOPEZ-URENA, D. et al. Spread of epidemic Clostridium difficile NAP1/027 in Latin America: case reports in Panama. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 63, n. 2, p.322-324, 28 nov. 2013. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.066399-0>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24287669>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

LOUIE, Thomas J. et al. Fidaxomicin versus Vancomycin for Clostridium difficile Infection. **New England Journal /Of Medicine**, [s.l.], v. 364, n. 5, p.422-431, 3 fev. 2011. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0910812#t=article>>. Acesso em: 23 out. 2016.

LO VECCHIO, Andrea; ZACUR, George M.. Clostridium difficile infection. **Current Opinion In Gastroenterology**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.1-9, jan. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22134217>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

MADAN, Rajat; PETRI JUNIOR, William A.. Immune responses to Clostridium difficile infection. **Trends In Molecular Medicine**, Virginia, v. 18, n. 11, p.658-666, 658 nov. 2012. Disponível em: <[http://www.cell.com/trends/molecular-medicine/fulltext/S1471-4914\(12\)00179-7](http://www.cell.com/trends/molecular-medicine/fulltext/S1471-4914(12)00179-7)>. Acesso em: 21 abr. 2017.

MADIGAN, Michael T. et al. Interações dos microrganismos com o homem. In: MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 23. p. 709-710.

MANGES, Amee R.; STEINER, Theodore S.; WRIGHT, Alissa J.. Fecal microbiota transplantation for the intestinal decolonization of extensively antimicrobial-resistant opportunistic pathogens: a review. **Infectious Diseases**, [s.l.], v. 48, n. 8, p.587-592, 19 maio 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/23744235.2016.1177199>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27194400>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

MATTILA, Eero et al. Extraintestinal Clostridium difficile Infections. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 57, n. 6, p.148-153, 13 jun. 2013. Disponível em: <<http://cid.oxfordjournals.org/content/early/2013/07/03/cid.cit392.full>>. Acesso em: 09 nov. 2016..

MERRIGAN, Michelle et al. Human Hypervirulent Clostridium difficile Strains Exhibit Increased Sporulation as Well as Robust Toxin Production. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 192, n. 19, p.4904-4911, 30 jul. 2010. Disponível em: <<http://jb.asm.org/content/192/19/4904.full>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

MULLANE, K. M. et al. Efficacy of Fidaxomicin Versus Vancomycin as Therapy for Clostridium difficile Infection in Individuals Taking Concomitant Antibiotics for Other Concurrent Infections. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 53, n. 5, p.440-447, 15 ago. 2011. Oxford University Press (OUP). Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21844027>>. Acesso em: 25 nov. 2016.

NAPOLITANO, Lena M.; EDMISTON, Charles E.. Clostridium difficile disease: Diagnosis, pathogenesis, and treatment update. **Surgery**, [s.l.], p.1-24, mar. 2017. Disponível em: <[http://www.surgjournal.com/article/S0039-6060\(17\)30079-X/abstract](http://www.surgjournal.com/article/S0039-6060(17)30079-X/abstract)>. Acesso em: 22 fev. 2017.

NEISH, Andrew S.. Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 136, n. 1, p.65-80, jan. 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19026645?access_num=19026645&link_type=MED&dopt=Abstract>. Acesso em: 04 abr. 2017.

OFOSU, Andrew. Clostridium difficile infection: a review of current and emerging therapies. **Annals Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.147-156, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4805733/>>. Acesso em: 11 jan. 2017.

OLLECH, Jacob E. et al. Use of probiotics in prevention and treatment of patients with Clostridium difficile infection. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.111-118, fev. 2016. Disponível em: <[http://www.bpgastro.com/article/S1521-6918\(16\)00003-2/fulltext](http://www.bpgastro.com/article/S1521-6918(16)00003-2/fulltext)>. Acesso em: 23 out. 2016.

OPLUSTIL, Carmen Paz et al. **Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2010. 530 p.

OKA, K. et al. Molecular and Microbiological Characterization of Clostridium difficile Isolates from Single, Relapse, and Reinfection Cases. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.915-921, 28 dez. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22205786>>. Acesso em: 14 mar. 2017.

PAMER, e G. Fecal microbiota transplantation: effectiveness, complexities, and lingering concerns. **Mucosal Immunology**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.210-214, 8 jan. 2014. Disponível em:

<<http://www.nature.com/mi/journal/v7/n2/full/mi2013117a.html#bib35>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

PARKES, Gareth C; SANDERSON, Jeremy D; WHELAN, Kevin. The mechanisms and efficacy of probiotics in the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 4, p.237-244, abr. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19324296>>. Acesso em: 26 mar. 2017.

PARK, Leslie et al. Perceptions of fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: factors that predict acceptance. **Annals Of Gastroenterology**, [s.l.], p.83-88, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5198252/>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

PEREIRA, Nelson Gonçalves. Infecção pelo *Clostridium difficile*. **Jornal Brasileiro de Medicina**. [s.i.], p. 27-49, set, 2014. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0047-2077/2014/v102n5/a4506.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2016.

PÉREZ, Marta et al. Abordaje multidisciplinario de la infección por *Clostridium difficile*. **Revista Chilena de Infectología**, [s.l.], v. 30, n. 2, p.165-185, abr. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000200008>. Acesso em: 11 jan. 2017.

PÉREZ, Ángela Blanco et al. *Clostridium difficile* infections in elderly patients. **Revista Colombiana de Gastroenterología**, Bogotá, v. 28, n. 1, p.50-59, mar. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-99572013000100007&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em: 18 jun. 2016.

PETROF, Elaine O et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. **Microbiome**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-12, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3869191/>>. Acesso em: 18 set. 2016.

PHATHARACHARUKUL, Parkpoom et al. The Risks of Incident and Recurrent

Clostridium difficile-Associated Diarrhea in Chronic Kidney Disease and End-Stage Kidney Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Digestive Diseases And Sciences**, [s.l.], v. 60, n. 10, p.2913-2922, 19 maio 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25986528>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

PIRES, Renata N. et al. Clostridium difficile infection in Brazil: A neglected problem?. **American Journal Of Infection Control**, [s.l.], v. 42, n. 4, p.459-460, abr. 2014. Disponível em: <[http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(13\)01328-X/abstract](http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(13)01328-X/abstract)>. Acesso em: 28 jun. 2016.

QUESADA-GOMEZ, C. et al. Emergence of Clostridium difficile NAP1 in Latin America. **Journal Of Clinical Microbiology**, [s.l.], v. 48, n. 2, p.669-670, 25 nov. 2010. American Society for Microbiology. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19940046>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

RAO, Krishna; SAFDAR, Nasia. Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection. **Journal Of Hospital Medicine**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.56-61, 7 set. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4908581/>>. Acesso em: 04 mar. 2017.

ROHLKE, Faith; STOLLMAN, Neil. Fecal microbiota transplantation in relapsing Clostridium difficile infection. **Therapeutic Advances In Gastroenterology**, [s.l.], v. 5, n. 6, p.403-420, nov. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3491681/>>. Acesso em: 26 mar. 2017.

RINGEL, Yehuda; QUIGLEY, Eamonn Mm; LIN, Henry C. Using Probiotics in Gastrointestinal Disorders. **American Journal Gastroenterology Supplements**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.34-40, jul. 2012. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.nature.com/ajgsup/journal/v1/n1/full/ajgsup20127a.html>>. Acesso em: 18 set. 2016.

RODRÍGUEZ, Juan Miguel et al. The composition of the gut microbiota throughout life,

with an emphasis on early life. **Microbial Ecology In Health & Disease**, [s.l.], v. 26, p.1-17, 2 fev. 2015. Co-Action Publishing. <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.26050>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25651996>>. Acesso em: 21 abr. 2017.

RODRÍGUEZ-PARDO, Dolores; MIRELIS, Beatriz; NAVARRO, Ferran. Infecciones producidas por Clostridium difficile. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.254-263, abr. 2013. Disponível em: <<http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-producidas-por-clostridium-difficile-S0213005X1200451X?redirectNew=true>>. Acesso em: 25 jan. 2017.

RUPNIK, Maja; WILCOX, Mark H.; GERDING, Dale N. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, [s.l.], v. 7, n. 7, p.526-536, jul. 2009. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrmicro/journal/v7/n7/full/nrmicro2164.html>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

SANCHEZ-HURTADO, K. et al. Systemic antibody response to Clostridium difficile in colonized patients with and without symptoms and matched controls. **Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 57, n. 6, p.717-724, 1 jun. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18480328>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

SORG, J. A.; SONENSHEIN, A. L.. Inhibiting the Initiation of Clostridium difficile Spore Germination using Analogs of Chenodeoxycholic Acid, a Bile Acid. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 192, n. 19, p.4983-4990, 30 jul. 2010. Disponível em: <<http://jb.asm.org/content/192/19/4983>>. Acesso em: 05 fev. 2017.

SMITS, Wiep Klaas et al. Clostridium difficile infection. **Nature Reviews Disease Primers**, [s.l.], v. 2, p.1-20, 7 abr. 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrdp201620>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

SCARPELLINI, Emidio et al. The human gut microbiota and virome: Potential therapeutic implications. **Digestive And Liver Disease**, [s.l.], v. 47, n. 12, p.1007-

1012, dez. 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1590865815004144>>. Acesso em: 13 out. 2016.

SEKIROV, I. et al. Gut Microbiota in Health and Disease. **Physiological Reviews**, [s.l.], v. 90, n. 3, p.859-904, 1 jul. 2010. American Physiological Society. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

SHAUGHNESSY, Megan K. et al. Evaluation of Hospital Room Assignment and Acquisition of *Clostridium difficile* Infection. **Infect Control Hosp Epidemiol**, [s.l.], v. 32, n. 03, p.201-206, mar. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21460503>>. Acesso em: 02 nov. 2016.

SHIN, Jae Hyun; HIGH, Kevin P.; WARREN, Cirle A.. Older Is Not Wiser, Immunologically Speaking: Effect of Aging on Host Response to *Clostridium difficile* Infections. **The Journals Of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, [s.l.], v. 71, n. 7, p.916-922, 25 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26809495>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

SILVA JÚNIOR, Moacyr. Recentes mudanças da infecção por *Clostridium difficile*. **Einstein**, São Paulo, v. 10, n. 1, p.105-109, mar. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167945082012000100023&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 16 jun. 2016.

SILVERMAN, Michael S., DAVIS, IAN; PILLAI, Dylan R. Success of Self-Administered Home Fecal Transplantation for Chronic *Clostridium difficile* Infection. **Clinical Gastroenterology And Hepatology**, [s.l.], v. 8, n. 5, p. 471-473, mai. 2010. Disponível em: < [http://www.cghjournal.org/article/S1542-3565\(10\)00069-8/abstract](http://www.cghjournal.org/article/S1542-3565(10)00069-8/abstract)>. Acesso em: 17 jun. 2016.

SIMOR, Andrew E.. Diagnosis, Management, and Prevention of *Clostridium difficile* Infection in Long-Term Care Facilities: A Review. **Journal Of The American Geriatrics Society**, [s.l.], v. 58, n. 8, p.1556-1564, 14 jul. 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.15325415.2010.02958.x/abstract;jsessionid=>

nid=29E03EC62C72A5983452617422EE98A5.f03t01>. Acesso em: 02 fev. 2017.

SINGH, R. et al. Donor feces infusion for eradication of Extended Spectrum beta-Lactamase producing *Escherichia coli* in a patient with end stage renal disease. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, n. 11, p.0977-978, nov. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24845223>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

STECHEER, Ba'rbel; HARDT, Wolf-dietrich. The role of microbiota in infectious disease. **Trends In Microbiology**, Zürich, v. 16, n. 3, p.107-114, 14 fev. 2008. Disponível em: <[http://www.cell.com/trends/microbiology/pdf/S0966-842X\(08\)00035-8.pdf](http://www.cell.com/trends/microbiology/pdf/S0966-842X(08)00035-8.pdf)>. Acesso em: 21 abr. 2017.

STRIPLING, J. et al. Loss of Vancomycin-Resistant *Enterococcus Fecal* Dominance in an Organ Transplant Patient With *Clostridium difficile* Colitis After Fecal Microbiota Transplant. **Open Forum Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2, n. 2, p.1-4, 3 jun. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofv078/2914035/Loss-of-Vancomycin-Resistant-Enterococcus-Fecal>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

SUSKIND, David L. et al. Fecal Microbial Transplant Effect on Clinical Outcomes and Fecal Microbiome in Active Crohn's Disease. **Inflammatory Bowel Diseases**, [s.l.], v. 21, n. 3, p.556-563, mar. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4329080/>>. Acesso em: 22 fev. 2017

SURAWICZ, Christina M et al. Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 108, n. 4, p.478-498, abr. 2013. Disponível em: <<http://www.nature.com/ajg/journal/v108/n4/full/ajg20134a.html>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

TAUR, Ying; PAMER, Eric G. Harnessing Microbiota to Kill a Pathogen: Fixing the microbiota to treat *Clostridium difficile* infections. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 20, n. 3, p.246-247, 4 mar. 2014. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542075/>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

TAUXE, William M. et al. Fecal Microbiota Transplant Protocol for *Clostridium Difficile* Infection. **Laboratory Medicine**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.1-8, fev. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1309/lmci95m0twpdzkod>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4795811/>>. Acesso em: 04 fev. 2017.

VAISHNAVI, Chetana. Clinical spectrum & pathogenesis of *Clostridium difficile* associated diseases. **Indian Journal Of Medical Research**, [s.i.], v. 131, p.487-489, abr. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20424299>>. Acesso em: 06 nov. 2016.

VAN NOOD, Els et al. Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 368, n. 5, p.407-415, 31 jan. 2013. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1205037#t=article>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

VENUTO, Charles et al. Alternative Therapies for *Clostridium difficile* Infections. **Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 30, n. 12, p.1266-1278, dez. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21114394>>. Acesso em: 16 jun. 2016.

VIANA, Helena Lomba. *Clostridium difficile*: infecção e ribotipos. **Jornal Português de Gastrenterologia**, Porto, v. 20, n. 6, p.240-242, dez. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0872817813001057>> Acesso em: 17 jun. 2016.

VINDIGNI, Stephen M.; SURAWICZ, Christina M.. Fecal Microbiota Transplantation. **Gastroenterology Clinics Of North America**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.171-185, mar. 2017. Disponível em: <[http://www.gastro.theclinics.com/article/S0889-8553\(16\)30090-5/abstract](http://www.gastro.theclinics.com/article/S0889-8553(16)30090-5/abstract)>. Acesso em: 23 fev. 2017.

VINCENT, Caroline et al. Reductions in intestinal Clostridiales precede the

development of nosocomial *Clostridium difficile* infection. **Microbiome**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-18, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24450844>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

VYAS, Dinesh; AEKKA, Apoorva; VYAS, Arpita. Fecal transplant policy and legislation. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.6-11, jan. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4284361/>>. Acesso em: 18 set. 2016.

WALL, R et al. Role of Gut Microbiota in Early Infant Development. **Clinical Medicine: Pediatrics**, [s.l.], v. 3, p.45-54, 4 mar. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3676293/>>. Acesso em: 02 out. 2016.

WANG, Zi-kai et al. Intestinal microbiota pathogenesis and fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease. **World Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 20, n. 40, p.14805-14820, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4209544/>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

WEI, Yao et al. Fecal microbiota transplantation restores dysbiosis in patients with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* enterocolitis. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.1-8, 11 jul. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26159166>>. Acesso em: 01 abr. 2017.

WEINGARDEN, Alexa R. et al. Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent *Clostridium difficile* infection. **American Journal Of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s.l.], v. 306, n. 4, p.310-319, 15 fev. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3920123/>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

YOUNGSTER, I. et al. Fecal Microbiota Transplant for Relapsing *Clostridium difficile* Infection Using a Frozen Inoculum From Unrelated Donors: A Randomized, Open-Label, Controlled Pilot Study. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 58, n. 11, p.1515-1522, 23 abr. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4017893/>>. Acesso em: 03 mar.

2017.

YOUNG, Vincent B.; HAYDEN, Mary K.. Environmental management in the gut: fecal transplantation to restore the intestinal ecosystem. **Infectious Diseases**, [s.l.], v. 48, n. 8, p.593-595, 4 maio 2016. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/23744235.2016.1177200>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

ZAR, Fred A. et al. A Comparison of Vancomycin and Metronidazole for the Treatment of Clostridium difficile-Associated Diarrhea, Stratified by Disease Severity. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 45, n. 3, p.302-307, 1 ago. 2007. Disponível em: <<http://cid.oxfordjournals.org/content/45/3/302.long>>. Acesso em: 23 out. 2016.

ZEA, Jhon Walter; SALAZAR, Clara Lina. Enfermedad asociada a Clostridium difficile: prevalencia y diagnóstico por laboratorio. **Infectio Asociación Colombiana de Infectología**, Medellín, v. 16, n. 4, p.211-222, abr. 2012. Disponível em: <<http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/541/516>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

ZHANG, Faming et al. Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation? **Am J Gastroenterol**, [s.l.], v. 107, n. 11, p.1755-1755, nov. 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/ajg/journal/v107/n11/full/ajg2012251a.html>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de consentimento para transplante de microbiota fecal

Consent for Fecal Microbiota Transplantation (FMT)

1. I _____ or _____ for
(Patient name) (Legal guardian)

_____ authorize the performance of FMT to be administered by
(Patient name)

Dr. _____ and/or his assistants or designees.

2. I understand that FMT may be performed through a nasoduodenal tube inserted via the nose into the first part of the small intestine. FMT is administered to treat chronic (recurrent) or severe *Clostridium difficile* infection (CDI), an inflammatory condition of the large intestine (colon). FMT consists of introducing normal bacterial flora contained in stool collected from a healthy donor into the diseased colon where the flora is missing.

3. The nature, purpose, risks and benefits of this procedure has been discussed with me. I understand that the donor will be screened for a possible history of exposure to a communicable infectious agents through a detailed health questionnaire, and also undergo blood and feces testing for occult infectious pathogens as some infectious diseases may be silent or clinically undetectable.

I have discussed all alternative treatments for recurrent CDI with my physician, including various antibiotic options, surgery, or no treatment at all, and understand the risk and benefits of the alternative treatments. I understand that my condition could improve, worsen or stay the same with each of the alternative treatment options, including FMT. I understand that individuals who are severely ill with FMT have a high risk of dying from their illness, regardless of what treatment is used. I understand that at the current time the cumulative experience with FMT is limited and that FMT is therefore considered investigational.

In choosing to proceed with FMT I understand that a solution of donor stool will be infused into the beginning of my small intestinal tract via a hollow tube inserted through the nose OR into my colon through a tube with an inflatable balloon at the tip.

4. The risks of FMT procedure has been discussed in detail with me. I understand that complications may arise as a result of FMT. Complications may include but are not limited to:

- Transmission of infectious organisms contained in stool (bacteria, viruses, fungi, parasites)
- Allergic reactions to constituents (antigens) contained in the donor stool
- Mechanical complication related to the insertion and presence of the tube, such as potential perforation of the lining of the esophagus, stomach, or duodenum, or aspiration of stool into the lungs (for the nasoduodenal tube), or trauma to the rectum and perforation of the colon (for the enema).

I understand that the outline above is not a complete list of potential complications, and that unforeseen risks that have not been discussed with me may exist.

5. I understand that the above risks, as well as other complications, may require additional procedures or operations and that these issues have been discussed with me. I give my consent to undergo additional procedures which my physician deems necessary.

6. I am aware that the practice of medicine is not an exact science. I acknowledge that no guarantee or promise can be made by my physician as to the outcome of my treatment.

7. I acknowledge that the entire content of this form has been explained to me, and that I understand the contents. I have had the opportunity to ask questions, and all of my questions have been answered to my satisfaction.

Signature: _____ Date _____ Time _____
(Patient or legal guardian)

Signature: _____ Date _____ Time _____
(Stool donor)

Provider's Acknowledgement:

I confirm that I have fully explained to the above patient or legal representative the nature and purpose of Fecal Microbiota Transplantation and the possible risks and benefits of FMT and treatment alternatives.

Printed name: _____ Signature: _____
(Provider) (Provider)

Date: _____ Time: _____

Interpreter's Acknowledgement (when applicable):

I confirm that consent to proceed with FMT, as explained above, has been given by this patient or legal guardian.

Printed name: _____ Signature: _____
(Interpreter) (Interpreter)

Date: _____ Time: _____

Fonte: (INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA, 2017)