

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**NATHALIA LAURIA DO NASCIMENTO**

**RISCOS E BENEFÍCIOS DO TRANSPLANTE DE MICROBIOTA INTESTINAL  
COMO TRATAMENTO CONTRA A INFECÇÃO RECORRENTE POR  
*Clostridium difficile***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no formato de artigo ao UniCEUB como requisito parcial para a conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina

Orientador: Prof. Paulo Roberto Martins Queiroz

**BRASÍLIA  
2018**

# RISCOS E BENEFÍCIOS DO TRANSPLANTE DE MICROBIOTA INTESTINAL COMO TRATAMENTO CONTRA A INFECÇÃO POR *Clostridium difficile* RECORRENTE

Nathalia Lauria do Nascimento<sup>1</sup>  
Paulo Roberto Martins Queiroz<sup>2</sup>

## Resumo

Durante a última década, a severidade e incidência da infecção por *Clostridium difficile* (ICD), também conhecida como colite pseudomembranosa, aumentaram significativamente. O trabalho baseou-se em uma revisão narrativa da literatura e teve como objetivo caracterizar a ICD e apresentar os benefícios e possíveis riscos do transplante da microbiota intestinal como alternativa de tratamento. ICD é uma doença causada por perturbações do microbiota intestinal, relacionadas principalmente ao uso de antimicrobianos. Contraditoriamente, sua principal linha de tratamento é feita a base de antimicrobianos, que pode resultar no desenvolvimento de quadros recorrentes da doença. Atualmente, a opção mais utilizada no tratamento de ICD recorrente é o transplante de microbiota fecal, que consiste na administração da microbiota intestinal completa de um doador saudável diretamente no trato gastrointestinal do paciente, visando à normalização das comunidades bacterianas e inibição do *C. difficile*, para promover a resolução dos sintomas.

Palavras-Chave: Transplante fecal; FMT; antimicrobianos; ICD; ICD recorrente.

## Risks and benefits of fecal microbiota transplant as treatment for recurrent *clostridium difficile* infection

### Abstract

During the last decade, the severity and incidence of *Clostridium difficile* infection (CDI), also known as pseudomembranous colites, have significantly increased. This study was based on a narrative review of the literature and aimed to characterize the *Clostridium difficile* infection and introduce the benefits and possible risks of intestinal microbiota transplantation as an alternative treatment. CDI is a disease caused by alterations on the gut microbiome, mostly related to the use of antibiotics. Paradoxically, antibiotics constitute its main line of treatment, but it can also cause the development of recurrence of the infection. Currently, the most commonly line of treatment used for recurrent CDI is fecal microbiota transplantation, which consists in the administration of the complete gut microbiota of a healthy donor directly into the gastrointestinal tract of the patient to normalize its bacterial communities and suppress *C. difficile* to promote the resolution of symptoms.

Keywords: Fecal transplant; FMT; antibiotics; CDI; Recurrent CDI.

---

<sup>1</sup> Acadêmica de Biomedicina do UniCEUB

<sup>2</sup> Professor do UniCEUB

## 1. INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal humano (TGI) corresponde ao sítio orgânico com a maior população de micro-organismos simbióticos e comensais, conhecidos como microbiota intestinal. O termo microbiota refere-se à população de micro-organismos encontrados nos diferentes tecidos do corpo humano e é determinada por características ambientais e individuais, como modo de nascimento, hábitos alimentares e idade (MORAES *et al.*, 2014).

Estima-se que o intestino humano seja habitado por trilhões de micro-organismos que, segundo Wexler (2007), representa uma pequena, mas significativa porcentagem do peso corporal, podendo ser comparado com o peso do cérebro humano. Em termos de células, o microbiota intestinal excede o número de células humanas por duas ordens de magnitude e inclui até 2000 espécies. Esta diversidade pode elucidar o papel das diferentes espécies de micro-organismos do TGI na manutenção da saúde e desenvolvimento de doenças (ARORA; SINGH; SHARMA, 2013).

De acordo com Serdoura (2017), estudos comprovam que a colonização bacteriana do intestino se inicia antes do nascimento, visto que há relatos de bactérias no tecido placentário, sangue circulante do cordão umbilical, líquido amniótico e membranas fetais. Logo após o nascimento, o intestino humano é rapidamente colonizado por um grande número de micro-organismos, sendo Bacterioides, Firmicutes, Actinobacterias e Proteobacterias os filos de bactérias dominantes (RODRÍGUEZ *et al.*, 2015).

Por mais de 60 anos, antimicrobianos vêm sendo utilizados com o propósito de manter ou promover a melhora do estado de saúde dos indivíduos, porém pouca consideração foi dada aos possíveis efeitos colaterais dos mesmos a respeito das comunidades microbianas que habitam o corpo humano (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

O uso indiscriminado de antimicrobianos em criações de animais, especialmente em sua aplicação nos alimentos a eles oferecidos, pode favorecer a resistência de micro-organismos aos agentes antimicrobianos, visto que as moléculas dessas drogas não são totalmente metabolizadas pelo organismo animal e acabam se depositando em amostras de água, solo e excretas animais (REGITANO; LEAL, 2010). Como as moléculas de antimicrobianos podem permanecer ativas no ambiente, bactérias ambientais não patogênicas podem evoluir resistência por meio da seleção de genes que codifiquem proteínas envolvidas na resistência e acabam servindo de reservatórios de genes resistentes para bactérias patogênicas. O transporte de genes resistentes é feito indiretamente por plasmídeos,

transposons e bacteriófagos, os quais levam as informações de organismos não patogênicos para patogênicos (KEMPER, 2008).

Testes laboratoriais revelam que o tratamento com antimicrobianos altera a composição microbiana e seu uso frequente causa seleção de bactérias resistentes, principalmente das componentes da microbiota intestinal, pois apresentam maior susceptibilidade (ANGELAKIS; MERHEJ; RAOULT, 2013). Um dos melhores exemplos de doenças causadas pela alteração no microbiota intestinal pelo uso de antimicrobianos é a colite pseudomembranosa, ou infecção por *Clostridium difficile* (ICD), uma bactéria Gram positiva anaeróbica, formadora de esporos e produtora de toxinas. De acordo com Borody e Khoruts (2012) esta doença geralmente é adquirida após ingestão de esporos ambientais e tratamento com antimicrobianos, e vem se tornando um dos principais problemas de saúde pública das últimas duas décadas.

A infecção ocorre em virtude da supressão da microbiota intestinal nativa, a qual é facilitada pelo uso de antimicrobianos e, ao chegar ao cólon de indivíduos suscetíveis, os esporos do *C. difficile* transformam-se em suas formas vegetativas e produzem enterotoxinas, conhecidas como A e B, que causam inflamação (colite) e geram severos sintomas diarreicos ao final da terapia. Contraditoriamente, o tratamento de ICD também é feito com o uso de antimicrobianos, o que pode causar recorrência da infecção e resistência das estirpes (KHORUTS; SADOWSKY, 2016). As infecções recorrentes, além de provocarem episódios de diarreia, sujeitam o paciente a severas complicações, desde choque séptico até necessidade de intervenção cirúrgica (CAMMAROTA *et al.*, 2015).

Em decorrência dos perigos e da dificuldade de produzir antimicrobianos eficientes para o tratamento de ICD, pesquisadores buscaram tratamentos alternativos e perceberam a possibilidade de transferir os micro-organismos intestinais de indivíduos saudáveis diretamente ao trato intestinal de pacientes portadores da doença, método conhecido como transplante de microbiota fecal, do inglês *fecal microbiota transplant* (FMT) (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011). O FMT em humanos foi descrito pela primeira vez em 1958 para o tratamento de colite pseudomembranosa causada por *C. difficile*. Desde então, passou a ser utilizado com maior frequência devido à sua eficácia em restaurar o microbiota de pacientes e amenizar, ou mesmo promover resolução dos sintomas dessa enfermidade (ANDERSON; EDNEY; WHELAN, 2012).

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a infecção por *Clostridium difficile* e apresentar os benefícios e possíveis riscos do transplante de microbiota fecal (FMT) como alternativa de tratamento.

## **2. METODOLOGIA**

O presente trabalho teve como metodologia a revisão narrativa da literatura. Segundo Rother (2007) os artigos de revisão narrativa são publicações amplas, apropriadas para descrever e discutir o desenvolvimento ou o “estado da arte” de um determinado assunto, sob o ponto de vista teórico ou contextual. Basicamente, constitui-se da análise da literatura publicada em artigos de revistas eletrônicas e/ou impressas e livros na análise crítica e interpretação pessoal do autor (ROTHER, 2007).

A busca da literatura foi realizada nas bases de dados eletrônicas e busca manual de citações em publicações. As bases eletrônicas pesquisadas foram Pubmed, Google Acadêmico e BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). As palavras-chave utilizadas foram: transplante fecal; FMT; antimicrobianos; ICD; ICD recorrente, utilizadas em combinação duas a duas ou três a três, nos idiomas português e inglês. O período de abrangência foi entre 2007 a 2018, priorizando artigos publicados entre 2013 a 2018. Também foram utilizados artigos publicados anteriormente a este período desde que fossem importantes para a fundamentação do tema.

## **3. DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 Microbiota intestinal humano e seu papel na manutenção da saúde**

O termo microbiota refere-se a um complexo ecossistema metabolicamente ativo de micro-organismos que habitam um ambiente específico e dinâmico e buscam uma relação de simbiose com o hospedeiro. Além disso, microbiota também engloba as relações entre as células microbianas com as células e tecidos humanos, através de seus genomas. Somente o TGI humano abriga em média 100 trilhões de micro-organismos, valor 10 vezes superior à quantidade de células presentes no corpo humano. Ou seja, 70% de toda microbiota presente no corpo humano pode ser encontrado no sistema digestivo. Desta forma, pode-se afirmar que o organismo humano em conjunto com o microbiota forma um superorganismo combinado de células humanas e microbianas (ANDRADE, 2015).

Ao longo da vida de um indivíduo são observadas mudanças significativas com bastante frequência na composição do microbiota intestinal e, alguns fatores como tipo de parto, exposição pós-natal, tipo de dieta, genótipo, idade do indivíduo e exposição precoce a

antimicrobianos são relevantes para a modulação desta composição. Não pode-se afirmar com completa certeza quando a colonização do TGI se inicia, visto que, enquanto alguns pesquisadores garantem a existência de colonização microbiana no líquido amniótico e na placenta sem ruptura prévia das membranas, outros sugerem que a colonização do TGI se inicia no momento do parto, principalmente normal, devido a exposição ao ambiente extra-uterino, fluidos vaginais e microbiota fecal materna (ANDRADE, 2015; ZHOU; WERNER; TARR, 2014).

Os primeiros micro-organismos colonizadores do microbiota intestinal de um recém-nascido são bactérias produtoras de ácido láctico, predominantemente provenientes da vagina materna e do leite. Nos casos de cesariana, as bactérias serão semelhantes às de origem cutânea (ANDRADE, 2015). Por volta de dois a três anos de idade, com o desenvolvimento e a diversificação alimentar, o microbiota tende a uma composição mais adulta e anaeróbica, tornando-se relativamente estável (SERDOURA, 2017).

Cerca de 90% da população de bactérias presentes no microbiota de um indivíduo adulto pertencem a apenas dois filos: Bacterioides e Firmicutes. Outros filos presentes em menores proporções são Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria e Verrucomicrobia (PASSOS; MORAES-FILHO, 2017).

A proporção de bactérias distribuídas ao longo do TGI apresenta uma grande variação. O estômago e duodeno são habitados por um pequeno número de micro-organismos, geralmente menos que 1.000 células bacterianas por grama devido à presença da bile e secreções pancreáticas, as quais suprimem a maioria dos micro-organismos ingeridos e impedem sua colonização. *Lactobacillus* (filo Firmicutes) e *Streptococcus* (filo Firmicutes) são os principais habitantes destes órgãos. O número de bactérias aumenta ao longo do jejuno, íleo e cólon. O cólon abriga aproximadamente bilhões de micro-organismos e pode ser considerado o órgão com a maior população de micro-organismos simbiotes do corpo humano. Nele estão presentes Bacterioides, *Clostridium* (filo Firmicutes), *Bifidobacterium* (filo Actinobacteria) e Enterobacteriaceae (filo Proteobacteria) (HERRERA; GUARNER, 2014).

De acordo com Monalto *et al.* (2009) o microbiota intestinal é de elevada importância para o desenvolvimento do TGI e proteção contra invasores patogênicos. Ele é uma fonte imutável de sinais reguladores negativos e positivos, que produzem efeitos metabólicos e imunológicos indispensáveis à homeostasia do hospedeiro. Dentre as 4 se encontram a fermentação de fibras não digeríveis, recuperação de energia e nutrientes dos alimentos ingeridos pelo hospedeiro, biotransformação de ácidos biliares e síntese de algumas vitaminas, como K e B12.

Para Andrade (2015) a colonização bacteriana também está presente na indução do desenvolvimento do sistema imunitário adquirido e de seus mecanismos reguladores, podendo levar à produção exponencial de linfócitos T e B, principalmente TCD4+ e Treg, nas placas de Peyer e gânglios linfáticos mesentéricos. Estas células irão modular a resposta imunitária adaptativa, suprimindo a ativação em excesso do sistema imunitário e mantendo a tolerância aos autoantígenos. Desta forma, a ativação das células Treg pelo microbiota pode gerar uma redução na inflamação intestinal. Além disso, o microbiota impede a invasão de elementos microbianos exógenos e previne o crescimento de micro-organismos com potencial patogênico, como é o caso do *Clostridium difficile*, bactéria que faz parte da microbiota normal dos hospedeiros, porém, em condições nas quais o indivíduo faz uso de antimicrobianos, esta bactéria pode adquirir uma posição dominante, levando a produção de toxinas e lesões na mucosa do hospedeiro.

Estudos comparativos entre animais criados em ambientes estéreis e animais criados em ambientes em contato com micro-organismos mostram que a ausência de bactérias intestinais comensais está associada a susceptibilidade a infecções, falha no desenvolvimento, necessidade de dietas hipercalóricas e suplementação com vitaminas K e B para o desenvolvimento do peso corporal, redução do peso de alguns órgãos (coração, pulmão e fígado), arquitetura imatura da mucosa intestinal, redução de linfonodos e da motilidade gastrointestinal. Essas evidências corroboram a importância do microbiota nas funções metabólicas e imunológicas no organismo de seu hospedeiro (GUARNER, 2014).

Portanto, alterações permanentes na composição do microbiota ou em sua função (disbiose), podem gerar consequências negativas para a sensibilidade visceral, motilidade intestinal, permeabilidade, resposta imunitária e induzir estados pró-inflamatórios. Essas alterações ocorrem em decorrência de variações na dieta do indivíduo, terapias com antimicrobianos ou imunossupressores e podem gerar uma série de doenças como diabetes, obesidade, doenças gastrointestinais, neurológicas e autoimunes (PASSOS; MORAES-FILHO, 2017).

### **3.2 Uso abusivo de antimicrobianos**

Por mais de 60 anos, antimicrobianos vêm sendo utilizados com o propósito de manter ou promover a melhora do estado de saúde das populações e eficiência alimentícia na produção

de animais. Porém, pouca consideração é dada aos possíveis efeitos colaterais dos mesmos sobre as comunidades microbianas que habitam o corpo humano (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

Na agricultura, o uso de antimicrobianos é feito com o intuito de promover maior eficiência alimentar e crescimento animal. Os mecanismos pelos quais estes fármacos promovem o crescimento dos animais não é completamente compreendido, porém, sabe-se que baixas doses de antimicrobianos são capazes de acelerar o ganho de peso em até 15%. O uso de fármacos em animais representa grandes riscos para a saúde humana visto que as moléculas dos antimicrobianos podem ser liberadas diretamente no ambiente através de excreções ou aplicação de esterco animal no solo, contaminando assim ambientes tanto terrestres quanto aquáticos (REGITANO; LEAL, 2010).

A quantidade de antimicrobianos eliminada depende do tipo de substância utilizada, dosagem, idade, espécie do animal e outros fatores. De acordo com Regitano e Leal (2010), 95% dos componentes ativos administrados aos animais são eliminados sem sofrer metabolização no trato gastrointestinal dos mesmos. Mesmo quando a molécula é metabolizada, alguns de seus produtos de degradação excretados podem permanecer bioativos no ambiente e selecionar as bactérias ali presentes quanto à resistência aos antimicrobianos. Duas hipóteses buscam exemplificar os mecanismos da aquisição de resistência das bactérias às moléculas dos fármacos: a primeira acredita que a disseminação do material fecal contendo moléculas bioativas de antimicrobianos poderia gerar o compartilhamento de plasmídeos extracromossômicos de organismos resistentes para organismos não resistentes. A segunda hipótese seria que os resíduos de antimicrobianos transferidos ao solo beneficiem a seleção de populações resistentes.

Segundo Manichanh (2014), o uso de antimicrobianos na área da saúde da maioria dos países desenvolvidos e em desenvolvimento é realizado de forma errada ou abusiva. Dados do CDC (*Center for Disease Control and Prevention* - Centro de Controle e Prevenção de Doenças) indicam que, nos Estados Unidos, antimicrobianos estão entre os medicamentos mais prescritos durante a infância de um indivíduo, período o qual ocorre a modulação do microbiota intestinal e fatores externos são de extrema importância para que essa modelação seja bem-sucedida. Estatísticas mostram que, apenas nos primeiros dois anos de vida, crianças são submetidas a pelo menos três tratamentos a base de antimicrobianos, a maioria destes relacionados a infecções de ouvido e garganta e os principais antimicrobianos prescritos são penicilina, cefalosporina e fluoroquinolonas.



Simulações em laboratórios revelam que antimicrobianos apresentam a capacidade de alterar a composição do microbiota intestinal e as respostas dos hospedeiros aos estímulos específicos dos micro-organismos residentes em seu organismo. Dias após o tratamento com antimicrobianos, os componentes do microbiota intestinal sofrem uma disbiose, ou seja, ocorre uma redução da riqueza taxonômica, principalmente dos filos Bacterioides e Firmicutes, acompanhada do aumento da família Enterococaceae. A disbiose intestinal apresenta a capacidade de promover transferência horizontal de genes de resistência e favorece a evolução de patógenos resistentes a antimicrobianos e sua dominância sobre as outras comunidades já existentes, como é o caso da bactéria *Clostridium difficile* (LANGE *et al.* 2016).

Diferentemente de casos de tratamentos a curto prazo, onde a alteração da composição do microbiota se soluciona após alguns dias, os tratamentos a longo prazo podem alterar permanentemente o microbiota, fato que pode ser crítico, pois comunidades com composição alterada apresentam a capacidade de promover modificações na estrutura das mucosas do trato gastrointestinal e, conseqüentemente, alteram a sua função de barreira contra invasores externos, podendo favorecer o desenvolvimento de diversas doenças intestinais inflamatórias, como a colite pseudomembranosa, ou infecção por *Clostridium difficile* (ICD), a qual é caracterizada por sintomas diarréicos associados ao uso de antimicrobianos (LANGE *et al.* 2016).

Diarreia associada ao uso de antimicrobianos é definida como a presença de sintomas diarréicos que podem se desenvolver horas após o início do tratamento com antimicrobianos a até 6 a 8 semanas posteriormente à interrupção do uso do medicamento. Estima-se que 10% a 15% dos pacientes que se encontram hospitalizados e em tratamento com antimicrobianos apresentam esta condição. Quase todos os antimicrobianos, especialmente os que atuam em patógenos anaeróbicos, possuem a capacidade de causar diarreia, porém, os riscos aumentam com o uso de cefalosporinas, clindamicinas, penicilina de amplo espectro, ampicilina e amoxicilina. A principal causa de diarreia associada ao uso de antimicrobianos no mundo é a bactéria *Clostridium difficile* (BEAUGERIE; PETIT, 2004).

### **3.3 *Clostridium difficile***

*Clostridium difficile* foi descrita pela primeira vez em 1935 por Hall e O'Tolle a partir de um isolamento em fezes de pacientes recém-nascidos. Foi inicialmente chamado de *Bacillus difficilis* devido a dificuldade que pesquisadores encontravam em realizar seu isolamento em

meio de cultura tradicionais, pois só crescia em meios anaeróbios, sendo por tal motivo chamado de *difficilis* e logo em seguida de *Clostridium difficile*, em consequência de suas características fisiológicas e morfológicas. Em 1978 identificaram sendo essa bactéria o agente etiológico da colite pseudomembranosa e diarreia associada a antimicrobianos. Atualmente as manifestações clínicas relacionadas ao *C. difficile* são referidas como infecção causada por *C. difficile* (ICD), colite pseudomembranosa, doença ou diarreia associada a *C. difficile* (PEREIRA, 2014).

Trata-se de um bacilo Gram-positivo, anaeróbio obrigatório, móvel, formador de esporos e produtor de toxinas. Pertence ao filo Firmicutes, classe Clostridia, ordem Clostridiales, família Clostridiaceae e gênero *Clostridium*. A produção de esporos é uma resposta de defesa desta bactéria aos estresses químicos ou físicos e essas formas podem ser encontradas em diversos tipos de ambientes como na água, em alimentos e como parte do microbiota natural do homem e de vários animais. Além disso, seus esporos sobrevivem a condições ambientais desfavoráveis pois apresentam resistência ao calor, antimicrobianos, desinfetantes e a meios ácidos, permanecendo viáveis por meses. *C. difficile* é comumente encontrado em superfícies em geral, como cadeiras, camas, mesas e em instrumentos e dispositivos médicos (PEREIRA, 2014). A cultura dessa bactéria apresenta características chave como ausência de produção de catalase e indol, além de apresentar fluorescência verde-amarela ao ser exposta a luz ultravioleta (KONEMAN *et al.* 2008).

Sua transmissão é feita via oro-fecal e o único reservatório natural para esta bactéria é o homem. Os principais fatores de risco associados ao *C. difficile* são idade maior que 65 anos, pacientes com insuficiência renal, intubação nasogástrica, ventilação mecânica, permanência hospitalar prolongada, antibioticoterapia prévia, uso de laxativos, inibidores de bomba de prótons ou histamina H2 como protetor gástrico, quimioterápicos e cirurgias gastrointestinais. O uso de inibidores de bomba de prótons aumenta o pH gástrico, favorecendo assim a proliferação e colonização bacteriana na luz intestinal. A maioria desses fatores são encontrados em pacientes de Unidade de Terapia Intensiva (UTI), um ambiente propício para maior incidência e disseminação da bactéria na atmosfera hospitalar (SILVA JÚNIOR, 2012).

Segundo Pereira (2014), ao encontrarem condições favoráveis no hospedeiro, os esporos dormentes do *C. difficile* transformam-se em suas formas vegetativas, as quais são susceptíveis a alguns tipos de antimicrobianos e produzem duas toxinas, A e B, ambas relacionadas a patogenia da doença causada pela bactéria. De acordo com Lyras *et al.* (2009), as toxinas A e B são codificadas pelos genes *tcdA* e *tcdB*, respectivamente, os quais codificam outros três genes envolvidos na produção de toxinas. A toxina A é uma

enterotoxina responsável pelo recrutamento e ativação de mediadores inflamatórios e a toxina B, mais potentes de todas, é uma citotoxina capaz de promover alterações metabólicas nas células, podendo culminar ou não em morte celular. Ambas toxinas apresentam sinergia em seus efeitos *in vivo* e são capazes de inativar as GTPases da família RHO, pequenas proteínas reguladoras da actina encontradas no citoesqueleto de células eucarióticas. Essa inativação desencadeia a desorganização do citoesqueleto celular e posteriormente morte da mesma.

No início dos anos 2000 houve um surgimento de uma nova estirpe hipervirulenta denominada BI/NAP1/027, detectada inicialmente no Canadá e relatada logo em seguida na Europa, Estados Unidos e Austrália. Esta estirpe é capaz de produzir quadros mais graves de infecções e é também mais resistente a alguns tipos de antimicrobianos, como as quinolonas. Além disso, ao realizar a análise desta estirpe, foi possível descrever uma terceira toxina, conhecida como toxina binária, cuja função na patogenia da doença ainda não pôde ser muito bem determinada (PEREIRA, 2014).

### **3.4 Infecção por *Clostridium difficile***

Acreditava-se que a relação do *C. difficile* com os seres humanos era comensal, porém, com o tempo, esta bactéria tornou-se a principal causa de diarreia em ambientes relacionados à assistência à saúde, especialmente devido à grande resistência de seus esporos. Somente nos Estados Unidos, os gastos que lhes são atribuídos variam entre US\$ 2.470,00 a US\$ 3.669,00 por episódio (SILVA JÚNIOR, 2012).

Embora a diarreia seja uma das causas dominantes de morbidade em países em desenvolvimento, não há quase algum relato relacionado aos casos de ICD ocorridos na América Latina. Especialmente no Brasil, pouca ou nenhuma informação sobre a disseminação e incidência da doença estão disponíveis, fato que provavelmente pode ser explicado pela sub notificação e falta de tecnologias para detecção de bactérias anaeróbias como procedimento de rotina nos laboratórios clínicos brasileiros (BALASSIANO *et al.* 2012).

Existem algumas possíveis explicações para o aumento do número de casos de ICD nas últimas três décadas. A primeira explicação seria o desenvolvimento de métodos de detecção da bactéria; uso de antimicrobianos e quimioterápicos, o que gera condições favoráveis para o desenvolvimento da doença e, por último, em consequência do aumento da frequência da ICD, os hospitais estão constantemente contaminados por esporos desta

bactéria, tornando mais provável a infecção em pacientes suscetíveis (VOTH; BALLARD, 2005).

A patogênese da infecção se inicia com a ingestão de *C. difficile* tanto em sua forma vegetativa quanto em esporos flagelados. As células vegetativas são mortas ao passar pelo estômago, mas os esporos sobrevivem ao ambiente ácido, prosseguindo em direção ao intestino delgado, onde irão germinar devido a ação dos ácidos biliares. Por serem flagelados, os esporos se aderem com facilidade no epitélio do cólon e multiplicam-se, iniciando a colonização da mucosa e a produção das toxinas A e B. Esta colonização e ligação à mucosa é facilitada pelo uso de antimicrobianos e por processos inflamatórios da mucosa, pois nestas condições não há competição entre o microbiota residente e *C. difficile*. Caso o microbiota intestinal estivesse em sua organização normal, os componentes dos filos Bacterioides e Firmicutes iriam inibir o crescimento do *C. difficile* (PEREIRA, 2014).

Uma vez produzida, a toxina A é liberada no lúmen e se liga aos receptores dos enterócitos e estimula a produção de fatores de necrose tumoral alfa, migração e ativação de macrófagos e neutrófilos, interleucinas pró-inflamatórias, promovendo o aumento da permeabilidade vascular, abertura da junção de células epiteliais e apoptose das mesmas. Até hoje não foi demonstrada a existência de receptores para toxina B, mas sabe-se que esta é fundamental na virulência, pois age interrompendo a polimerização das fibras de actina do citoesqueleto dos enterócitos, gerando a destruição do epitélio intestinal. O processo inflamatório gerado pelas toxinas agrava as lesões celulares e gera degradação do tecido conjuntivo, levando a perda de líquidos e má absorção de nutrientes. Em consequência do agravamento das lesões, são observados quadros de diarreia, translocação bacteriana, formação de exsudato pseudomembranoso e ulcerações (SILVA JÚNIOR, 2012).

A exposição do hospedeiro ao *C. difficile* toxigênico estimula uma resposta humoral específica e rápida, com produção de anticorpos do tipo IgG contra as toxinas da bactéria. Muitos pacientes colonizados por *C. difficile* não apresentam sintomas e acabam servindo de reservatórios para a transmissão da bactéria a indivíduos vulneráveis, principalmente os que se encontram em ambientes hospitalares (SILVA JÚNIOR, 2012).

O quadro clínico da ICD pode ser dividido em quadros leves, moderados, graves, complicados e recorrentes. Essa divisão é importante para a escolha do tratamento, o tipo de antimicrobianos que poderá ser utilizado e também define a necessidade ou não de cirurgia para o controle da doença. Quadros leves são caracterizados por episódios de diarreia sem presença de sangue com três ou mais evacuações em um período de 24 horas. Nos quadros moderados, o único sintoma geralmente é diarreia, apresentando até 10 evacuações por dia

podendo apresentar febre e cólicas abdominais, normalmente localizadas nos quadrantes inferiores.

A ICD grave inclui sintomas de distúrbios eletrolíticos, desidratação, megacólon tóxico, hipoalbuminemia (inferior a 3 g/dL), contagem de glóbulos brancos superior a 15.000 células/mm<sup>3</sup>, perfuração intestinal, insuficiência renal, sepse e morte. Quadros complicados ocorrem em 5% dos pacientes e são caracterizados por um dos seguintes sinais ou sintomas: internações hospitalares, dores severas no abdômen, presença ou não de diarreia com progressão rápida para o desenvolvimento de íleo ou cólon megatóxico, condição a qual o cólon apresenta uma distensão maior que 6 cm e corre o risco de perfuração, febre superior ou igual a 38,5 °C, hipotensão, contagem de glóbulos brancos superior a 35.000 células/mm<sup>3</sup> ou inferior a 2.000 células/mm<sup>3</sup>, níveis séricos de lactato inferiores a 2,2 mmol/l ou evidência de falência de órgãos (BURNHAM; CARROLL, 2013).

Entre 15% a 30% dos pacientes com ICD podem apresentar recorrências da doença, geralmente devido a reinfecções ou recaídas. A infecção recorrente pode ser caracterizada como recaída da infecção com a estirpe causadora do episódio anterior ou uma re-infecção causada por uma nova estirpe de *C. difficile*. A maioria dos sintomas reaparecem entre um a quatro meses após o final do tratamento com antimicrobianos, principalmente em pacientes que fazem terapia concomitante e, após a primeira recorrência, 33% a 60% dos indivíduos apresentam um segundo episódio, principalmente devido a alterações da composição de seu microbiota normal. Os sinais e sintomas da forma recorrente da doença podem ser mais leves ou mais graves que a primeira infecção (PEREIRA, 2014). As chances de relapsos espontâneos da infecção aumentam entre 20-30% a cada rodada de tratamentos com antimicrobianos até que, alguns pacientes desenvolvem ciclos indefinidos de recorrência da ICD que não poderão ser solucionados com nenhum tipo de antimicrobianos (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

#### **3.4.1 Diagnóstico**

Um diagnóstico preciso é essencial para o controle da ICD. Visando tratar a doença com eficiência e eficácia, o diagnóstico deve ser realizado rapidamente e baseado nos aspectos clínicos e laboratoriais da infecção. Exames laboratoriais para ICD devem ser executados somente em pacientes sintomáticos e com diarreia (AVILA; AVILA; DUPONT, 2016).

Atualmente, os cinco principais testes disponíveis para a ICD são: cultura toxinogênica, ensaios de citotoxicidade celular, detecção de glutamato desidrogenase (GDH), imunoenaios enzimáticos (EIA) para detecção de toxinas A e B e testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) (RICHIERI; FEDERIGE, 2016).

A cultura toxinogênica baseia-se no isolamento do *C. difficile* a partir de amostras fecais e busca determinar se a estirpe encontrada é produtora de toxina ou não. A pesquisa do bacilo é feita em fezes diarreicas e as amostras devem ser transportadas sob refrigeração (4 °C) para o laboratório, visto que as toxinas do *C. difficile* se degradam em cerca de duas horas à temperatura ambiente. Caso o transporte não seja realizado da maneira adequada, podem ser esperados resultados falso-negativos. O meio de cultura utilizado é o ágar Cicloserina, Cefoxitina, Frutose (CCFA). Apesar de apresentar alta sensibilidade, este teste acaba não sendo muito utilizado devido a sua baixa especificidade, demora na obtenção dos resultados, podendo levar de 2 a 9 dias e resultados falso-positivos (COHEN *et al.* 2010).

Os níveis de toxina nas amostras de fezes podem ser correlacionados com a gravidade da diarreia e, com isso, pacientes portadores do bacilo podem apresentar resultados por imunoenaios enzimáticos negativos devido aos baixos níveis de toxina presente no trato gastrointestinal (RICHIERI; FEDERIGE, 2016).

Os ensaios imunoenzimáticos (EIAs) utilizam anticorpos monoclonais ou policlonais contra os antígenos das toxinas de *C. difficile*. Recomenda-se que o *kit* detecte as duas toxinas (A e B), pois os *kits* que detectam apenas a toxina A deixam passar certas estirpes que produzem somente a toxina B (SURAWICZ *et al.* 2013; BURNHAM; CARROLL, 2013). Atualmente o consenso geral é que EIAs para toxinas A e B são pouco sensíveis e não são recomendados como testes independentes (AVILA; AVILA; DUPONT, 2016).

Ensaio de citotoxicidade consistem na inoculação de um filtrado de fezes em uma cultura de tecido, geralmente são utilizados fibroblastos, e na observação dos efeitos que as toxinas do bacilo geram nas células depois de 24 a 48 horas. É um método com uma especificidade acima de 97%, entretanto, por ser muito trabalhoso e demorado, é pouco usado nos laboratórios clínicos (PEREIRA, 2014; RICHIERI; FEDERIGE, 2016).

Glutamato desidrogenase (GDH) é uma enzima básica encontrada em todas as estirpes de *C. difficile* e outras espécies do gênero *Clostridium*. Este teste detecta antígenos associados a parede celular do *C. difficile* e apresenta uma sensibilidade de 100%. É um exame rápido, de baixo custo e de fácil execução, representando um ótimo teste de triagem para a infecção por *C. difficile*. Recomenda-se que os resultados positivos deste teste sejam seguidos por um exame confirmatório, em geral um ensaio imunoenzimático ou um teste molecular (PCR) para

detecção dos genes responsáveis pela codificação das toxinas A e B, já que a GDH se encontra elevada em todos os isolados do bacilo, incluindo estirpes toxigênicas e não toxigênicas (PEREIRA, 2014; AVILA; AVILA; DUPONT, 2016).

Em 2009, avanços na detecção de *C. difficile* ocorreram quando testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) se tornaram comercialmente disponíveis para diagnóstico de ICD. O princípio do NAT é a detecção de estirpes toxigenicas baseada na extração de DNA do material fecal do paciente. Em geral, este teste tem como alvo o gene responsável pela codificação da toxina B (gene *tcdB*). Atualmente, 6 dos 9 NATs aprovados pela *US Food and Drug Administration* (FDA) para detecção de *C. difficile* são ensaios baseados na reação de cadeia da polimerase (PCR). Entretanto, a PCR não apresenta a capacidade de diferenciar os portadores do bacilo dos doentes, por isso se faz necessária a correlação clínica para fechar o diagnóstico. Apresenta uma sensibilidade de 90% a 95% e especificidade superior a 97% e os resultados podem estar disponíveis em até duas horas (AVILA; AVILA; DUPONT, 2016).

A escolha do melhor teste que será usado para o diagnostico vem sendo constantemente debatida. O uso de testes mais sensíveis pode reduzir o risco de transmissão do patógeno, mas poderá levar a tratamentos desnecessários. Já testes mais específicos, como NAT, podem levar ao aumento do número de casos diagnosticados pois também detectar pacientes que apresentam sintomas diarreicos, porém causados por motivos diferentes de CDI (GERDING *et al.*, 2016).

Atualmente não há um consenso a respeito do teste considerado como padrão ouro para o diagnóstico de ICD, no entanto, *guidelines* recentes foram publicadas pela *European Society of Clinical Microbiology and Infectious diseases* sugerindo a melhor conduta diagnóstica (figura 1) (MARTÍNEZ-MELÉNDEZ *et al.*, 2017).

**Figura 1:** Fluxograma para o diagnóstico laboratorial de CDI baseada nas recomendações da *European Society of Clinical Microbiology and Infectious diseases*.



Legenda: GDH - Glutamato desidrogenase; NAT - testes de amplificação de ácidos nucleicos; EIA - ensaios imunoenzimáticos.

Fonte: Adaptado de Martínez-Meléndez *et al.*, 2017.

### 3.4.2 Tratamento

Logo após o diagnóstico do paciente com ICD, medidas imediatas para o controle da infecção devem ser implementadas visando a prevenção de novas contaminações. Dentre as medidas se encontram: diagnóstico precoce da infecção, hidratação adequada e reposição de eletrólitos e evitar o uso de fármacos inibidores do peristaltismo intestinal e de bomba de prótons. Ao serem adotadas, essas medidas promovem, geralmente, melhorias clínicas entre 48 a 72 horas (COHEN *et al.* 2010).

Os dois medicamentos mais utilizados desde 1970 são metronidazol e vancomicina oral (LEFFLER; LAMONT, 2015). O metronidazol é um derivado 5-nitroimidazólico muito ativo em protozoários e bactérias anaeróbias, incluindo o *C. difficile*. Seu principal mecanismo de ação é bactericida, pois ao penetrar nas bactérias esta droga forma produtos intermediários que irão se ligar ao DNA e produzir complexos que irão inibir a replicação e síntese enzimática, resultando em lise celular. A vancomicina é um antimicrobiano



glicopeptídico, ativo contra bacilos e cocos Gram-positivos anaeróbios e aeróbios, incluindo *C. difficile*. Esta droga age pela inibição da síntese da parede celular bacteriana, levando a sua lise osmótica (PEREIRA, 2014). Em 2011, a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o uso de fidaxomicina para o tratamento da ICD. Trata-se de um antimicrobiano macrocíclico, rotulado como potente agente bactericida contra *C. difficile* pois atua inibindo a DNA polimerase bacteriana e também diminui a esporulação da bactéria. Um dos pontos positivos desta droga é que não há alteração da composição do microbiota intestinal, diferente da vancomicina e metronidazol. Consequentemente, o risco de recorrências da infecção em pacientes que fazem uso desta droga é menor quando comparados a indivíduos que recebem metronidazol e vancomicina (LEFFLER; LAMONT, 2015).

As recomendações de escolha do tipo de antimicrobianos e tratamento são baseadas na gravidade da doença e critérios clínicos, descritos na Tabela 1.

**Quadro 1:** Caracterização dos quadros clínicos da ICD e recomendações para o seu tratamento.

<b>Severidade</b>	<b>Critérios</b>	<b>Tratamento recomendado</b>	<b>Comentários</b>
Doença leve a moderada	Diarreia juntamente com sinais e sintomas adicionais que não se encaixam no critério de doença complicada.	Metronidazol oral, 500 mg, 3 vezes ao dia durante 10 dias.	Caso não haja melhora, considerar mudança para vancomicina oral, 125 mg, 4 vezes ao dia durante 10 dias.
Doença grave	Albumina sérica < 3 g/dl associada a um dos seguintes parâmetros: glóbulos brancos $\geq$ 15.000 células/mm <sup>3</sup> ou sensibilidade abdominal.	Vancomicina oral, 125 mg, 4 vezes ao dia durante 10 dias.	
Doença grave e complicada	Um dos seguintes: Hipotensão com ou sem o uso de vasopressina; Febre $\geq$ 38,5 °C; Distensão	Vancomicina oral ou por sonda nasogástrica 500 mg, 4 vezes por dia	Sugestão de consulta cirúrgica.

	abdominal ou ileal significante; Mudança do status mental; Glóbulos brancos $\geq 35.000$ células/mm <sup>3</sup> ou < 2.000 células/mm <sup>3</sup> ; Lactato sérico > 2,2 mmol/l; Falência de órgãos.	juntamente com metronidazol via intravenosa, 500 mg a cada 8 horas.	
Infecção por <i>C. difficile</i> recorrente	Recorrência da infecção dentro de 8 semanas após o término da terapia com antimicrobianos.	Repetir o uso de vancomicina e metronidazol.	Considerar o transplante de microbiota fecal após 3 recorrências.

Fonte: Adaptado de Surawicz *et al.* (2013).

Os principais desafios da ICD são os casos de recorrência. Estes casos são difíceis de serem curados, especialmente devido à persistência dos esporos no ambiente intestinal e pela dificuldade do paciente desenvolver uma resposta imune efetiva contra as toxinas da bactéria. Outras opções de tratamentos são limitadas nos casos de tratamento ineficaz com vancomicina e fixomicina e recorrência da infecção, visto que os outros fármacos disponíveis (rifaximina, nitadoxozanida, ramoplanina, teicoplanina e tigeciclina) causam uma série de efeitos adversos e não são eficazes contra *C. difficile*, pois o mesmo apresenta resistência a estes fármacos (LEFFLER; LAMONT, 2015).

Desde que pesquisadores associaram as alterações no microbiota intestinal como uma das causas que predis põem a ICD e a diarreia associada ao uso de antimicrobianos, o FMT vem sendo utilizado como alternativa à terapia com antimicrobianos para tratar os casos de ICD recorrentes. Essa estratégia se baseia na transferência da microbiota fecal de um doador saudável diretamente no trato gastrointestinal do paciente afetado, visando a reconstrução do microbiota normal e resolução dos sintomas (HIRSCH *et al.* 2015).

### 3.5 Transplante de microbiota fecal (FMT)

Coprofagia, ou prática de ingestão de fezes, é muito comum no reino animal. Este ato provavelmente contribui para o desenvolvimento do trato gastrointestinal, aumenta a

resistência do hospedeiro à colonização de patógenos e melhora a digestão de nutrientes. O conceito de transferir conteúdos do trato gastrointestinal tem sido praticado há séculos na medicina veterinária. Entre as indicações para este procedimento se encontram: diarreia crônica em cavalos e acidose ruminal em gados e ovelhas (PETROF; KHORUTS, 2014).

Apesar de uma aversão instintiva ao material fecal, há relatos que o transplante da microbiota fecal (FMT) vem sendo usado em humanos como agente terapêutico por vários séculos. Os primeiros relatos de FMT em humanos foram descritos pela medicina chinesa, onde são referidas várias formas de preparações fecais, incluindo amostras frescas, secas e derivadas de bebês, que foram utilizadas para tratar múltiplas doenças gastrointestinais. Os primeiros relatos de FMT na medicina clínica moderna foram fornecidos pela equipe de Ben Eiseman em 1958, onde descreveram um tratamento com sucesso utilizando enemas fecais em 4 pacientes que apresentavam colite pseudomembranosa, sem saber que estava tratando uma infecção por *C. difficile*, visto que nesta época *C. difficile* não era uma causa reconhecida de colite pseudomembranosa. A justificativa dada por Eiseman e sua equipe para o uso de FMT foi para restabelecer o balanço da natureza intestinal (PETROF; KHORUTS, 2014).

FMT é um tratamento que envolve a administração de comunidades microbianas minimamente manipuladas, provenientes das fezes de um doador saudável diretamente no trato intestinal do receptor. Clinicamente, FMT é realizado com o intuito de promover a restauração das funções normais do microbiota intestinal. Muitas agências reguladoras mundiais consideram essa forma de tratamento como uma droga. Entretanto, o microbiota intestinal também pode ser vista como um órgão ou um tecido composto por comunidades microbianas complexas que co-evoluíram com o seu hospedeiro. Devido a essa complexidade, muitos pesquisadores consideram o FMT como uma forma de transplante tecidual (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

Para a realização do FMT, primeiramente deve-se selecionar um doador sem histórico familiar de doenças autoimunes ou metabólicas. Assim que o indivíduo é selecionado, lhe é aplicado um questionário, semelhante aos questionários aplicados aos doadores de sangue, e alguns exames são realizados para identificação de patógenos transmissíveis. Após os exames, o material fecal é coletado, aproximadamente 50 a 60 g, e misturados com 300 mL de água, solução salina ou leite. A mistura pode ser feita manualmente ou com o auxílio de um liquidificador comercial. Após esta etapa, o material passará por um processo de filtragem para remoção de qualquer matéria particulada e separação do sobrenadante rico em comunidades microbianas que irão ser utilizadas para buscar a resolução dos sintomas do paciente. Aproximadamente 60 mL do sobrenadante é removido com o auxílio de uma seringa

e armazenado sob refrigeração para uso futuro ou podem ser administrados logo após o preparo através de endoscopia, tubos nasogástricos, sigmoidoscopia, colonoscopia, enemas ou cápsulas (GUPTA; ALLEN-VERCOE; PETROF, 2016).

FMT tem sido relatado com um alto percentual de cura no tratamento de pacientes com ICD severa ou recorrente. Em mais de 500 casos mundialmente, sua eficácia foi de aproximadamente 90% com pouco ou nenhum evento adverso (PETROF; KHORUTS, 2014).

Nenhum evento adverso preocupante está atribuído ao FMT. Porém, os pacientes devem ser informados de algumas reações leves relacionadas ao transplante, como diarreia, desconforto e dores abdominais, náusea, febre, vômitos, constipação e flatulência em excesso (ALLEGRETTI *et al.*, 2018).

No Brasil, o FMT é pouco conhecido. Seu primeiro procedimento foi realizado em 2013 por Arnaldo Ganc e sua equipe do Hospital Albert Einstein, em São Paulo, para o tratamento de um paciente de 82 anos com insuficiência renal crônica e diarreia causada por *C. difficile* por mais de 4 meses. O procedimento foi realizado via endoscópica e transcorreu sem intercorrências, com a resolução dos sintomas 24 horas após o tratamento (GANC *et al.* 2015).

Em 2017, o Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais criou o primeiro banco de fezes do país (CIPRIANI, 2017).

### **3.5.1 Indicações para o FMT**

As principais indicações para o FMT são:

(1) ICD recorrente, caracterizada por 3 ou mais episódios de quadros leves a moderados e tratamento sem resposta a vancomicina por 6 a 8 semanas ou 2 episódios de ICD com necessidade de hospitalização associada a morbidade significativa;

(2) ICD moderada sem resposta a terapia padrão por pelo menos uma semana e;

(3) ICD grave sem resposta a terapia padrão durante 48 horas (ALLEGRETTI *et al.*, 2018).

Segundo Allegretti e colaboradores (2018), os manuais de procedimentos do *American College of Gastroenterology* e da *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* não recomendam o uso de FMT em pacientes que apresentem apenas um episódio da ICD pois não há evidência suficiente de que este método seja eficiente no tratamento.

Além da ICD, há relatos que o FMT também pode servir de tratamento de doenças inflamatórias intestinais, como a doença de Crohn, problemas de autoimunidade, metabolismo

e desenvolvimento do sistema nervoso, como autismo e Parkinson. Entretanto, mais estudos deverão ser realizados para o melhor entendimento dos benefícios desta técnica para essas situações (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

### 3.5.2 Seleção de doadores

Existem duas formas de obtenção de doadores: (1) doadores escolhidos pelo paciente e (2) doador universal. Os doadores escolhidos pelo paciente são tipicamente irmãos, companheiros ou amigos. Um dos pontos positivos dessa abordagem é que alguns pacientes se sentem mais confortáveis em saber a procedência do material que irão receber. Os doadores universais são voluntários saudáveis, recrutados por meio de anúncios em jornais ou mídias sociais (ALLEGRETTI *et al.*, 2018).

Segundo Brandt e Aroniadis (2013), material fecal de doadores que apresentam parentesco com o receptor geram maiores chances de resolução da ICD (87,2-90.5%) comparados ao material de um doador universal (84%).

O risco de transmissão de patógenos desconhecidos via FMT não pode ser excluído, por isso, todos os participantes do processo devem estar cientes de que suas amostras serão testadas, visando a proteção do doador contra novas doenças. Os critérios de exclusão e seleção são baseados em questionários sobre o doador, similares aos questionários fornecidos à doadores de sangue. Para ser um doador, o indivíduo deve ter idade maior que 18 anos. Crianças também poderão doar, desde que haja consentimento dos pais ou responsáveis. Entre os critérios de exclusão se encontram: histórico de viagens para áreas tropicais nos últimos 3 meses, atividade sexual de risco, procedimentos cirúrgicos, transfusões de sangue prévias, uso de antimicrobianos nos últimos 3 meses, diarreia crônica, doenças gastrointestinais e outros fatores que podem aumentar o risco de transmissão de doenças (SMITS *et al.* 2013).

Como parte do protocolo, o *National Institute of Health* (NIH) requer que todas as amostras de fezes doadas sejam testadas para toxinas A e B de *C. difficile* (preferencialmente pelo método de PCR), *Helicobacter pylori*, bactérias entéricas patogênicas (especificamente *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*), parasitas (*Giardia*, *Cryptosporidium* e *Isospora*), Rotavírus e Norovírus. O sangue do doador deverá ser testado para hepatite A (IgM), B (HBsAg, anti-HBc IgM e IgG e anti-HBsAg) e C (anti-HCV), HIV I e II, HTLV I e II, citomegalovírus e sífilis. A escolha dos micro-organismos testados é baseada na região em que o paciente se encontra e, com isso, há a possibilidade de inclusão de

testes para outras bactérias, parasitas e vírus além dos citados anteriormente (BRANDT, 2013).

### 3.5.3 Meios de administração

A administração do material fecal do doador pode ser feita tanto pelo trato gastrointestinal superior (endoscopia, tubos nasoentéricos ou cápsulas) como inferior (colonoscopia, enema de retenção ou sigmoidoscopia) e sua escolha dependerá da localização anatômica da doença. Independente do método de administração, geralmente são instilados 60-70 mL da solução fecal no receptor (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

Antes do procedimento o paciente deverá passar por uma lavagem intestinal, independente de onde será feita a administração do material fecal, visando a redução da população residente desses ambientes. Após a lavagem, sugere-se que o receptor tome dois comprimidos de Cloridato de Loperamida uma hora antes do procedimento, para promover retenção do material transplantado por pelo menos 4 horas. Nos casos dos receptores portadores de ICD recorrente, antigamente recomendava-se a interrupção do tratamento com vancomicina ou outros antimicrobianos dois a três dias antes do procedimento. Atualmente não é mais necessário (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

Enema de retenção é um método de baixo custo e geralmente bem tolerado. É normalmente usado em pacientes pediátricos ou portadores de colostomia. O benefício deste método é que não requer sedação e conseqüentemente apresenta poucos riscos. Em termos de eficácia, o uso de enemas para o tratamento de ICD é o que apresenta a menor porcentagem entre todas as vias de administração de FMT (ALLEGRETTI *et al.* 2018). Nesta técnica, aproximadamente 50 a 60 mL do material fecal preparado serão administrados em uma bolsa de enema tradicional e inseridos no reto do paciente, posicionado em decúbito lateral, com o auxílio de um tubo retal. A bolsa de enema não deve ultrapassar 45 cm acima do quadril do paciente e a infusão deve ser realizada de 30 minutos a até 4 horas, para que haja o máximo benefício terapêutico (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

Rectosigmoidoscopia talvez seja a rota de administração preferida em pacientes com riscos de perfuração intestinal por ser um dos métodos menos invasivos. Até hoje, não existem estudos que comparem a eficácia da sigmoidoscopia no tratamento da ICD com os outros meios de administração (ALLEGRETTI *et al.* 2018).

A colonoscopia é a principal rota de administração do FMT e é corroborada por vários estudos que comprovam sua eficácia no tratamento de ICD recorrente. Dentre os motivos para

a preferência deste método se encontram a aceitação do paciente e a capacidade do material fecal infundir o cólon por completo, elucidando a extensão e gravidade da doença ao mesmo tempo que é feito o tratamento. Para realizar a colonoscopia, o colonoscópio é inserido no ceco ou no íleo do paciente e o material fecal é infundido por 2 a 3 minutos (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

A administração do FMT por tubos nasoentéricos é a mais utilizada na Europa. O benefício deste método é que não requer sedação, porém é bastante desconfortável para o paciente. Além de ser desconfortável, se faz necessário um exame radiológico para confirmar se o tubo foi introduzido no local esperado e se há riscos de vômitos e aspiração. A infusão deve durar de 20 a 30 minutos para não gerar efeitos adversos (ALLEGRETTI *et al.* 2018).

O método de endoscopia apresenta os mesmos riscos e eficácia do tubo nasoentérico. Entretanto, esse método requer sedação e apresenta riscos durante o procedimento. Sua escolha deve ser considerada em casos de pacientes que tenham realizado cirurgias complicadas no trato gastrointestinal inferior e aqueles que não apresentam cólon intacto (ALLEGRETTI *et al.* 2018). Para evitar o risco de aspiração do material fecal, as infusões pelo trato gastrointestinal superior devem ser com volumes menores (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

O FMT também pode ser administrado por cápsulas. A solução contendo o material fecal é centrifugada e introduzida na cápsula, a qual será armazenada a -80 °C e descongelada de 1 a 2 horas antes da sua administração no paciente. Este método só deverá ser realizado em pacientes que não apresentem disfagia ou riscos de aspiração, pois nestas situações poderá haver contaminação de áreas que são naturalmente estéreis, como o pulmão. Caso o paciente não apresente nenhum destes fatores de risco, as cápsulas apresentam o melhor custo benefício entre todas as formas de administração de FMT e apresentam poucas complicações durante o procedimento (ALLEGRETTI *et al.* 2018; GUPTA; ALLEN-VERCOE; PETROF, 2016).

Antigamente acreditava-se que o material fecal fresco era superior ao congelado no tratamento de ICD recorrente, pois pensava-se que ao congelar as fezes, o número de micro-organismos viáveis diminuía. Porém, diversos estudos confirmam que o material congelado apresenta efetividade igual ou ligeiramente menor que o material fresco na resolução clínica da ICD (BRANDT; ARONIADIS, 2013).

#### **3.5.4 Critérios de cura pós transplante**

Após o FMT, os pacientes devem continuar sob monitoramento constante por pelo menos 8 semanas. A boa resposta ao tratamento implica melhora clínica dos sintomas diarreicos, com diminuição das evacuações diárias e consistência das fezes, bem como a melhora de outros parâmetros da severidade da doença, como resultados laboratoriais, radiológicos e achados nos exames de endoscopia. A repetição do teste de toxinas de *C. difficile* nas fezes do paciente geralmente não é recomendada, visto que as toxinas da bactéria podem permanecer positivas em até 30 dias após o tratamento. Pacientes que não apresentem recorrência da doença após 8 semanas do FMT podem ser considerados clinicamente curados (CAMMAROTA *et al.* 2017; ALLEGRETTI *et al.* 2018).

### **3.6 Vantagens e problemas do transplante de microbiota fecal no tratamento de ICD.**

A ideia de que o FMT leva a normalização da comunidade microbiana intestinal é derivado de diversos estudos com pacientes tratados com FMT para ICD recorrente. Esses estudos tiveram como foco principal pacientes que sofreram múltiplas recorrências da doença e foram expostos durante vários meses a diversos ciclos de antimicrobianos com atividade contra a maior parte das bactérias intestinais. A perda da diversidade microbiana se mostra de forma progressiva em pacientes com ICD e proporcional ao número de ciclos de tratamentos com antimicrobianos (KHORUTS; SADOWSKY, 2016).

A principal vantagem do FMT é que, após sua administração, independente do método de utilização, observa-se uma rápida normalização do microbiota intestinal, a qual passará a ser semelhante à do doador, gerando resultados positivos em, no mínimo, 24 horas após o procedimento (KHORUTS; SADOWSKY, 2016). Além da restauração do microbiota, FMT também restaura comunidades microbianas normais envolvidas no metabolismo secundário de ácido biliar, um processo que é alterado pelo uso de antimicrobianos e suprimido em pacientes com ICD recorrente. A restauração da normalidade das propriedades do ácido biliar no cólon cria um ambiente inibitório para a germinação de esporos de *C. difficile* e seu crescimento (ALLEGRETTI *et al.* 2018).

Em 2013, o manual para o tratamento de *C. difficile* criada pela *American College of Gastroenterology* indica o FMT como terapia alternativa para ICD recorrente não responsiva a vancomicina (GUPTA; ALLEN-VERCOE; PETROF, 2016). No único estudo brasileiro encontrado na literatura a respeito da realização do FMT, 10 pacientes foram submetidos ao tratamento e a taxa de cura foi de 90%. Apenas um paciente apresentou recidiva da doença,



visto que o mesmo iniciou um novo ciclo de antimicrobianos para o tratamento de infecção no trato urinário, porém não houve presença de diarreia (GANC *et al.* 2015). Demais estudos que comprovam a eficácia do FMT estão descritos no Quadro 2.

**Quadro 2:** Resultados de seis relatórios relacionados ao uso do FMT como tratamento de ICD.

Referência	Tipo de estudo	Nº de pacientes	Doença	Dose e Método de administração	Período de acompanhamento e resultado
Tvede; Rask-Madsen (1989).	Aberto	2	ICD	1 a 2 enemas de retenção (50 g de fezes homogeneizados em 500 mL de solução salina)	6 meses. Paciente 1: recuperação clínica completa com erradicação do <i>C. difficile</i> e suas toxinas após 1 infusão; Paciente 2 foi submetido a 2 infusões, porém não houve resposta ao tratamento.
Flotterod; Hopen (1991).	Relato de caso	1	ICDrec	Enema de retenção via tubo duodenal (10 g de fezes homogeneizados em solução salina).	3 dias. Cura da diarreia após a infusão do material fecal.
Paterson <i>et al.</i> (1994).	Série de casos	7	ICDcr	Enemas de retenção diários por 3 dias (200 mL de fezes homogeneizados em 200 mL de solução salina)	2 anos. Todos os pacientes apresentaram resolução rápida da ICD sem recorrência da doença.
Lund-Tonnesen <i>et al.</i> (1998).	Aberto	18	ICD	Enema via colonoscópio (10 g de fezes homogeneizados em solução salina) e tubo nasoentérico em um paciente	1 a 5 dias. 15/18 clinicamente curados sem recorrência. 3 pacientes com colite severa não responderam ao tratamento.

Persky; Brandt (2000).	Relato de caso	1	ICD	Enema via colonoscópio (500 mL de fezes homogeneizado s em solução salina)	5 anos. Resolução completa e imediata da diarreia. Pesquisa de toxinas de <i>C. difficile</i> negativa.
Aas <i>et al.</i> (2003).	Série de casos	18	ICDrec	25 mL de material fecal via tubo nasogástrico (30 g de fezes homogeneizado s em 50 a 70 mL de solução salina.	90 dias. 15/18 pacientes se encontravam assintomáticos durante o período de acompanhamento; 13 pacientes apresentavam resultados negativos na pesquisa de <i>C. difficile</i> ; 2 foram a óbito devido a doenças não relacionadas a ICD; 1 falha no tratamento (pesquisa positiva para <i>C. difficile</i> ).

Legenda: ICDrec - Infecção por *C. difficile* recorrente; ICDcr - Infecção por *C. difficile* crônica.

Fonte: Adaptado de Borody *et al.* (2004).

Apesar de ser comprovado que o FMT apresenta alta eficácia e poucos efeitos colaterais, ainda existe resistência de profissionais na recomendação clínica deste procedimento. Em um estudo que visava elucidar o motivo da resistência, 139 médicos foram questionados e 65% responderam que não indicariam o FMT pois desconheciam sua indicação e acreditavam que causaria repugnância pelo paciente (ZIPURSKY *et al.*, 2014).

Os principais problemas encontrados na prática de FMT são as dificuldades na implementação de protocolos para a realização do transplante e preparo do material, baixo número de doadores e efeitos adversos (PETROF; KHORUTS, 2014).

Os efeitos adversos mais comuns relatados após o tratamento de ICD com FMT são diarreia, cólicas abdominais, febre e constipação. Os riscos de efeitos adversos em pacientes que recebem as infusões via trato gastrointestinal superior são maiores devido ao risco de broncoaspiração, podendo gerar quadros de sepse e até levar o paciente a óbito (CAMMAROTA *et al.* 2017). O potencial risco de transmissão de patógenos, como HIV e

vírus da hepatite, também não deve ser ignorado. Contudo, até hoje não há relatos na literatura de transmissão de doenças após FMT. Em um estudo com 77 pacientes, 2 pessoas reportaram que após o tratamento seus quadros já existentes de alergia e artrite se tornaram mais severos, fato que reforça a ideia de que a microbiota fecal apresenta funções além do trato gastrointestinal (LO VECCHIO; COHEN, 2013).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da utilização da técnica de transplante da microbiota fecal (FMT) e seus benefícios no controle da infecção por *C. difficile* (ICD) colocam em evidência as limitações de terapias antimicrobianas convencionais e a importância do papel da microbiota intestinal na manutenção da saúde. Com isso, a microbiota passa a ser reconhecida como um órgão e não somente como uma simples comunidade de micro-organismos, sugerindo que o FMT possa ser utilizado no tratamento de diversas doenças, além das que acometem o trato gastrointestinal. Outros estudos devem ser realizados para aprimorar a técnica de FMT, no intuito de avaliar o papel dos diferentes micro-organismos presentes na microbiota do trato intestinal, tanto de indivíduos saudáveis quanto em portadores da doença, em favor de abordagens direcionadas ao transplante de classes ou micro-organismos específicos, com o objetivo de reduzir as chances de possíveis efeitos adversos em pacientes que receberão este tratamento.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAS, J. et al. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 580-585, 2003.

ALLEGRETTI, J. R. et al. The 5D Framework: A Clinical Primer for Fecal Microbiota Transplantation to Treat *Clostridium difficile* infection. **Gastrointestinal Endoscopy**, Saint Louis, v. 87, n. 1, p. 18-29, 2018.

ANDERSON, J.L; EDNEY, R.J; WHELAN, K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 503-516, set. 2012.

ANDRADE, G. S. **Papel da Microbiota nas Doenças Digestivas**. 2015. 42f. Dissertação (Mestrado) em Medicina da Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2015.

ANGELAKIS, E; MERHEJ, V; RAOULT, D. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. **The Lancet: Infectious Diseases**, Nova York, v. 13, p. 889-899, out. 2013.

ARORA, T; SINGH, S; SHARMA, R. K. Probiotics: Interaction with gut microbiome and antiobesity potential. **Nutrition**, Los Angeles, v.29, n. 4, p.591-596, jan. 2013.

AVILA, M. B; AVILA, N. P; DUPONT, A. W. Recent Advances in the Diagnosis and Treatment of Clostridium difficile Infection. **F1000 Research**, Londres, v. 5, p. 118, 2016.

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**, Londres, v. 61, n. 2, p. 169-179, 2012.

BEAUGERIE, L; PETIT, J. Antibiotic-associated diarrhoea. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, Londres, v. 10, n. 2, p. 337-352, 2004.

BORODY, T.J; KHORUTS, A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. **Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology**, Londres, v. 9, n. 2, p.88-96, fev. 2012.

BORODY T. J. *et al.* Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. **Journal of Clinical Gastroenterology**, Nova York, v. 38, n. 6, p. 475-483, 2004.

BRANDT, L. J. American Journal of Gastroenterology Lecture: Intestinal Microbiota and the Role of Fecal Microbiota Transplant (FMT) in Treatment of *C. difficile* Infection. **The American Journal of Gastroenterology**, Nova York, n. 108, v. 2, p. 177-185, 2013.

BRANDT, L. J; ARONIADIS, O. C. An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes. **American Society for Gastrointestinal Endoscopy**, Denver, v. 78, n. 2, p. 240-249, 2013.

BURNHAM, C. D, CARROLL, K. C. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection: an Ongoing Conundrum for Clinicians and for Clinical Laboratories. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 26, n. 3, p. 604-630, 2013.

CAMMAROTA, G. *et al.* Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. Vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, Oxford, v. 41, n. 9, p. 835-843, mar. 2015.

CAMMAROTA, G. *et al.* European consensus conference on fecal microbiota transplantation in clinical practice, **GUT**, Londres, v. 66, n. 4, p. 569-580, 2017.

CIPRIANI, J. Transplante de fezes será feito pelo Hospital de Clínicas da UFMG. **Jornal do Estado de Minas**, Belo Horizonte, dez. 2017. Disponível em: [https://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2017/12/02/interna\\_gerais,921457/transplante-de-fezes-sera-feito-pelo-hospital-das-clinicas-da-ufmg.shtml](https://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2017/12/02/interna_gerais,921457/transplante-de-fezes-sera-feito-pelo-hospital-das-clinicas-da-ufmg.shtml). Acesso em 23 abr. 2018.

COHEN, S. 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**, Thorofare, v. 31, n. 5, p. 431-455, 2010.

FLOTTEROD, O; HOPEN, G. Refractory *Clostridium difficile* infection. Untraditional treatment of antibiotic-induced colitis. **Journal of the Norwegian Medical Association**, Oslo, v. 111, n. 11, p. 1364-1365, 1991.

GANC, A. J. *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, 2015.

GERDING, D. N. *et al.* Diagnosis and Treatment of *Clostridium difficile* infection (CDI). **Infect Dis Clin Pract**, Baltimore, v. 24, n. 1, p. 3-10, 2016.

GOUGH, E; SHAIKH, H; MANGES, A. R. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent Clostridium difficile Infection. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 53, n. 10, p. 994-1002, nov. 2011.

GUARNER, F. Functions of the Gut Microbiota. In: WGO (World Gastroenterology Organization). **Handbook on Gut Microbes**, Milwaukee: The WGO Foundation, 2014. p. 9-11.

GUPTA, S; ALLEN-VERCOE, E; PETROF, E. O. Fecal microbiota transplantation: in perspective. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, Londres, v. 9, n. 2, p. 229-239, 2016.

HERRERA, C; GUARNER, F. Microbial Communities. In: WGO (World Gastroenterology Organization). **Handbook on Gut Microbes**, Milwaukee: The WGO Foundation, 2014. p. 7-8.

HIRSCH, B. E. et al. Effectiveness of fecal-derived microbiota transfer using orally administered capsules for recurrent Clostridium difficile infection. **BMC Infectious Diseases**, Londres, v. 15, p. 191, 2015.

KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**, Kiel, v. 8, n. 1, p. 1-13, jan. 2008.

KHORUTS, A; SADOWSKY, M. J. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. **Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology**. Londres, v. 12, n. 9, p. 508-516, set. 2016.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1760p.

LANGE, K. *et al.* Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. **Digestive Diseases**, Basel, v. 34, n. 3, p. 260-268, 2016.

LEFFLER, D. A; LAMONT, T. Clostridium difficile infection. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 372, n. 12, p. 1539-1548, 2015.

LO VECCHIO, A; COHEN, M. B. Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: benefits and barriers. **Current Opinion in Gastroenterology**, Londres, v. 30, n. 1, p. 47-53, 2014.

LUND-TONNENSEN, S. *et al.* Clostridium difficile-associated diarrhea treated with homologous feces. **Journal of the Norwegian Medical Association**, Christiania, v. 118, n. 7, p. 1027-1039, 1998.

LYRAS, D. *et al.* Toxin B is essential for virulence of Clostridium difficile. **Nature**, Londres, v. 458, n. 7242, p. 1176-1179, 2009.

MANICHANH, C. Antibiotics and Gut Microbes. In: WGO (World Gastroenterology Organization). **Handbook on Gut Microbes**, Milwaukee: The WGO Foundation, 2014. p. 27-29.

MARTÍNEZ-MELÉNDEZ, A. *et al.* Current knowledge on the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v. 23, n. 9, p. 1552-1567, 2017.

MONALTO, M. *et al.* Intestinal microbiota and its functions. **Digestive and Liver Disease Supplements**, Roma, v. 3, n. 2, p. 30-34, 2009.

MORAES, A. C. F. *et al.* Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 88, n.4, jun. 2014.

PASSOS, M. C. F; MORAES-FILHO, J. P. Intestinal microbiota in digestive diseases. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 255-262, 2017.

PATERSON, D. *et al.* Putting back the bugs: Bacterial treatment relieves chronic diarrhoea. **Medical Journal of Australia**, Camberra, n. 160, v. 4, p. 232-233, 1994.

PEREIRA, N. G. Infecção pelo *Clostridium difficile*. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 5, p. 27-49, 2014.

PERSKY, S. E; BRANDT, L. J. Treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea by administration of donated stool directly through a colonoscope. **American Journal of Gastroenterology**, Nova York, v. 95, n. 11, p. 3283-3285, 2000.

PETROF, E. O; KHORUTS, A. From Stool Transplants to Next-generation Microbiota Therapeutics. **American Gastroenterological Association**, Filadélfia, v. 146, n. 6, p. 1573-1582, 2014.

REGITANO, J.S; LEAL, R. M.P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, São Paulo, v.34, n.3, p.601-616, 2010.

RICHIERI, P; FEDERIGE, M. A. F. Risco de contaminação por *Clostridium difficile* em ambientes hospitalares, patogenicidade e controle. **Atas de Ciências da Saúde**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 11-29, 2016.

RODRÍGUEZ, J. M. *et al.* The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. **Microbial Ecology in Health and Disease**, Chichester, v. 26, n. 10, fev. 2015.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**. São Paulo, v.20, n.2, p.v-vi, jun 2007.

SERDOURA, S.V. **Microbiota intestinal e Obesidade**. 2017. 20f. Trabalho de Conclusão de Curso- Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade de Porto, Porto, 2017.



SILVA JÚNIOR, M. Recentes mudanças da infecção por *Clostridium difficile*. **Revista Einstein**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 105-109, 2012.

SMITS, L. P. et al. Therapeutic Potential of Fecal Microbiota Transplantation. **Gastroenterology**, Filadélfia, n. 145, v. 5, p. 946-945, 2013.

SURAWICZ, C. M. et al. Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. **The American Journal of Gastroenterology**, Nova York, v. 108, n. 4, p. 478-498, 2013.

TVEDE, M; RASK-MADSEN, J. Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea in six patients. **Lancet**, Londres, v.1, n. 8648, p. 1156-1160, 1989.

VOTH, D. E; BALLARD, J. D. *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 18, n. 2, p. 247-263, 2005.

WEXLER, H. M. Bacterioides: the Good, the Bad, and the Nitty-Gritty. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 20, n.4, p. 593-621, out. 2007.

ZHOU, Y; WARNER, B. B; TARR, P. I. Acquisition of the Human Gut Microbiota. In: WGO (World Gastroenterology Organization). **Handbook on Gut Microbes**, Milwaykee: The WGO Foundation, 2014. p. 19-23.

ZIPURSKY, J. S. et al. Physician attitudes toward the use of fecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. **Canadian Association of Gastroenterology**, Oakville, v. 28, n. 6, p. 319-324, 2014.