



Artigo de Revisão

Transplante de microbiota intestinal e o *Clostridium difficile*: indicações e diagnóstico laboratorial

Emerson Barbosa da Silva^{1,2*}, Amanda da Silveira Panceli¹, Camila dos Santos Chagas¹, Patrick Gabriel dos Santos Pessini¹, Emily Garcia Sampaio¹, Daniel Santos Neves¹, Rodrigo Pereira Barbosa^{1,3}

¹ Centro Universitário Saúde ABC – CUSABC / Disciplina de Parasitologia. Av. Lauro Gomes, 2000 – Vila Sacadura Cabral, Santo André – SP.

² Universidade Ibirapuera – UNIB / Disciplina de Interpretação de Exames Laboratoriais. Av. Interlagos, 1329 – Chácara Flora, São Paulo – SP.

³ Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – Av. Liberdade, 899 – Liberdade, São Paulo-SP.

* Autor correspondente. E-mail: emerson.silva@fmabc.br

INFO ARTICLE

Histórico do artigo

Recebido: 26 de agosto de 2019

Aceito: 14 de outubro de 2019

Palavras-chaves:

Clostridium difficile

Transplante de Microbiota Fecal

Enterocolite Pseudomembranosa

RESUMO

O *Clostridium difficile* (CD) é o agente patogênico mais frequente em infecções hospitalares, responsável por cerca de 25% das diarreias associadas a antibióticos, acometendo principalmente idosos, imunocomprometidos e pacientes hospitalizados. São bacilos formadores de esporos resistentes as condições do meio, gerando infecção através da sua ingestão e liberação de toxinas. Os sintomas mais leves incluem diarreia aquosa, náusea, dores abdominais e febre, já em casos mais graves colite pseudomembranosa, megacolon tóxico ou perfuração intestinal, que pode resultar em septicemia e morte. Seu diagnóstico é realizado principalmente através de ensaios imunoenzimáticos que realizam a pesquisa das toxinas da bactéria. O tratamento consiste na utilização de antibióticos como vancomicina e metronidazol, porém esses podem apresentar uma recidiva da doença. Atualmente há a pesquisa do transplante de microbiota fecal, como tratamento, esse apresenta como foco restabelecer o equilíbrio da microbiota. O presente trabalho teve como objetivo a investigação laboratorial que leva a indicação do transplante de microbiota fecal como tratamento da infecção por CD. Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa, com artigos publicados entre os anos de 1999 a 2019. Constatou-se que o transplante da microbiota fecal apresenta 90% de sucesso no tratamento da recidiva do CD na maioria dos trabalhos.

1. Introdução

Um grande problema enfrentado pelos profissionais da saúde é a infecção hospitalar, definida como aquela adquirida após a internação do paciente. A maioria das infecções hospitalares são causadas por um desequilíbrio da relação existente entre a microbiota humana normal e os mecanismos de defesa do hospedeiro (Pereira et al., 2015).

Essas infecções são consideradas mais graves nas unidades de terapia intensiva e estão associadas à gravidade clínica dos pacientes, uso de procedimentos invasivos, como cateter venoso central, sonda vesical, período prolongado de internação, uso de imunossupressores e antibióticos (Oliveira et al., 2009).

O agente patogênico mais frequente em infecções gastrointestinais hospitalares, é o *Clostridium difficile* (CD), responsável por cerca de 25% das diarreias associadas a antibióticos (Martins, 2009). Isso ocorre porque os

antibióticos constituem o principal fator de alteração da microbiota bacteriana, seu uso prolongado altera a microbiota intestinal, provocando a substituição por microrganismos resistentes às drogas em uso (Rocha et al., 1999).

Em relação à transmissão do patógeno, essa ocorre de um doente a outro por via fecal-oral. A colonização dos doentes está relacionada com a duração do tempo de internação hospitalar, sendo os portadores assintomáticos potenciais reservatórios, podendo transmitir o CD a doentes suscetíveis (Martins, 2009).

O CD é um bacilo formador de esporos, e a infecção inicia-se com a ingestão desses. Os esporos são encontrados em superfícies como mesas, cadeiras, camas, dispositivos médicos, roupas, calçados, no solo e em sanitários, tornando a transmissão ainda mais fácil através do contato e posterior deglutição. Os sintomas da infecção por CD podem incluir: fezes soltas frequentes, dores abdominais, náuseas, febre,

desidratação, fadiga e contagem elevada de glóbulos brancos (leucocitose). As complicações associadas variam de diarreia moderada, colite grave, megacólon tóxico ou perfuração intestinal, que pode resultar em septicemia e morte (Junior, 2012).

Para o tratamento de infecção por CD são utilizados os antimicrobianos metronidazol e à vancomicina (Junior, 2012). Ambos os medicamentos estão sujeitos à recorrência da doença. A reincidência de diarreia causada pelo CD ocorre mais comumente na primeira ou na segunda semana após o término do tratamento e aproximadamente 25% dos pacientes podem apresentar reincidência (Junior, 2012).

Atualmente, devido à ausência de resultados em pesquisas que demonstrem uma eficácia superior de medicamentos em relação ao Transplante de Microbiota Fecal, clinicamente, o tratamento com TMF torna-se a melhor escolha, uma vez que pesquisas demonstram que 80% a 90% dos transplantes realizados obtêm sucesso (Pereira, 2014).

2. Revisão

Clostridium difficile

O *Clostridium difficile* é um bacilo gram-positivo, anaeróbico de 0,5-1,9 x 3,3-16,9µm, flagelado, pertencente ao filo Firmicutes, classe Clostridia, ordem Clostridiales, família Clostridiaceae e gênero *Clostridium*, produtor de enzimas proteolíticas (hialuronidase e colagenase) e formador de esporos ovais. Sob a forma de esporos é amplamente disseminado em inúmeros tipos de ambiente, pois os mesmos são resistentes às agressões como calor, meio ácido, e à maioria dos desinfetantes comuns, ficando então viáveis por meses no ambiente (Pereira, 2014).

Trata-se de uma bactéria que apresenta dificuldade de crescimento em meios de cultura tradicionais e sendo, portanto, denominada *difficile*. É a principal causa de diarreia no ambiente hospitalar (Junior, 2012).

O *Clostridium difficile*, foi isolado pela primeira vez nas fezes de um recém-nascido saudável em 1935 por Hall e O'Toole. Os recém-nascidos não possuem uma microbiota intestinal totalmente constituída, podendo estar colonizados por este agente. Contudo, raramente apresentam diarreia, possivelmente pela ausência do enteroreceptor ainda não expresso no intestino imaturo (Martins, 2009).

As suspeitas iniciais de colite associada a antibióticos envolviam doentes cirúrgicos, atribuindo-se a responsabilidade ao *S. aureus*. Só em 1974, Tedesco et al. relacionaram o uso de antibióticos com o CD mediante um estudo. Em 1978, Bartlett et al. identificaram o CD como a causa da colite pseudomembranosa. Três anos depois foram descritas as toxinas A e B (Martins, 2009).

A toxina A (enterotoxina) e toxina B (citotoxina), possuem uma sequência de 2710 e 2366 aminoácidos e pesos moleculares de 308 e 279 kDa, respectivamente. Dentre os aminoácidos que compõem essas toxinas, a aspargina, glicina e glutamina são os que se apresentam em maiores quantidades (Rocha et al., 1999).

O mecanismo de ação dessas toxinas ainda é pouco compreendido, mas sabe-se que o processo patogênico inicia-se através da germinação dos esporos do CD e sua aderência na forma vegetativa à mucosa intestinal através das adesinas, seguida da penetração na mucosa auxiliada por seus flagelos e pela secreção de protease. Para estabelecer infecção o CD precisa resistir a uma variedade de defesas inatas do hospedeiro, incluindo a presença de peptídeos antimicrobianos produzidos pelos tecidos no intestino. Para isso, a bactéria emprega um mecanismo, a d-alanilação do ácido teicóico. (Richieri & Federige, 2016).

A segunda fase do processo é a produção de toxinas, a patogenicidade é dependente da presença de uma ou ambas

as toxinas estreitamente relacionadas com a produção de diarreia (Richieri & Federige, 2016).

Todas as cepas toxigênicas de CD apresentam um locus de patogenicidade (PaLoc) que mede 19,6 Kb. Este locus é constituído por cinco genes (tcdA, tcdB, tcdC, tcdE, tcdR). As toxinas A e B são codificadas pelos genes tcdA e tcdB. O gene tcdC atua como regulador negativo, evitando a expressão do locus PaLoc, enquanto o gene tcdR atua como um regulador positivo da expressão de tcdA e tcdB. Quanto ao gene tcdE, este codifica uma porina com a função de fazer poros na membrana citoplasmática que permite a liberação das toxinas (Fachi, 2017).

As toxinas A e B são produzidas durante o final da fase de crescimento logarítmico e a fase estacionária e a produção dessas depende de fatores como os níveis de nutrientes, temperatura e presença de antibióticos (Lima, 2014).

As toxinas são liberadas no lúmen intestinal e internalizadas pelas células intestinais por meio da ligação aos receptores de clatrina. Dentro das vesículas endossômicas as toxinas sofrem clivagem autocatalítica, e os fragmentos contendo os sítios ativos das toxinas se destacam para o citosol, onde exercem suas atividades enzimáticas em um terminal NH₂ homólogo (Lima, 2014).

Para produzir os efeitos tóxicos, TcdA e TcdB devem ser internalizadas nas células alvo, através de endocitose, sendo que o primeiro passo é a união ao receptor celular, essencial no processo de entrada na célula. Acredita-se que o receptor para TcdA é um carboidrato Gal-β,(1,4)-GlcNac. O receptor para TcdB ainda não está bem definido (Richieri & Federige, 2016).

As toxinas A e a B têm seus efeitos atribuídos a monoglicosilação das proteínas Rho, Rac e Cdc42, utilizando UDP-glicose como substrato. Essas proteínas são pequenas GTPases intracelulares que exercem um papel regulador primário sobre o citoesqueleto de actina e sobre a morfologia celular. A monoglicosilação das RhoGTPases induzida pelas toxinas promove a inativação dessas proteínas resultando na condensação das fibras de actina, com conseqüente desarranjo do citoesqueleto, arredondamento celular, marginalização do núcleo, perda da integridade estrutural e, por fim, morte celular (Lima, 2014).

Ambas as toxinas, ao inativar as proteínas Rho, também bloqueiam a fagocitose das células vegetativas bacterianas, contribuindo para sua persistência no hospedeiro. Todos estes fatores levam a morte das células epiteliais, degradação do tecido conjuntivo, que associados ao muco e uma acentuada presença de células inflamatórias, resulta na colite pseudomembranosa devido ao tecido morto de fibrina e numerosos leucócitos formarem uma camada sobre a superfície do intestino (Richieri & Federige, 2016).

As toxinas também estimulam a liberação de citocinas pró-inflamatórias (como IL-1β, TNF-α, IL-8) a partir de células epiteliais e células imunológicas residentes da mucosa, as quais causam influxo de neutrófilos e conduzem a uma maior destruição do revestimento intestinal. Esse intenso processo inflamatório resulta no impedimento da absorção de nutrientes, levando a quadro disabsortivo e translocação bacteriana (Richieri & Federige, 2016).

Do ponto de vista epidemiológico, têm sido detectadas alterações importantes desde o final dos anos 90. Notou-se um aumento marcado do número de casos de CD, este aumento foi atribuído ao aparecimento e disseminação de uma nova estirpe conhecida por B1/NAP1/027 que apresenta uma maior virulência associada à mutação do gene regulador tcdC, cuja função é independente dos elementos regulatórios associados ao PaLoc, além de apresentar resistência às fluoroquinolonas e a presença de uma toxina binária secretada na fase de crescimento logarítmico (Viana, 2013).

Além das toxinas, outras moléculas produzidas pela bactéria atuam como fator de virulência como as proteínas S-layer (PLSs), componentes da superfície do bacilo *C.difficile*, que apresentam efeitos imunomoduladores. Essas moléculas são capazes de induzir a liberação de quantidades elevadas tanto de mediadores pró-inflamatórios, incluindo TNF- α , IL-12 e IL-23, quanto anti-inflamatórios, como IL-10. Efeito esse que tem sido atribuído à ativação do receptor de superfície TLR4. Além da polarização mista de linfócitos TCD4+ em Th1/Th2. Assim, as PLSs podem contribuir com a patogenicidade do microrganismo por perturbar o equilíbrio de citocinas e seus efeitos sobre a maturação e função efetora de leucócitos (Fachi, 2017).

Diagnóstico

O diagnóstico clínico é realizado pela identificação dos sintomas que geralmente aparecem alguns dias após o início da antibioticoterapia, podendo ocorrer em até dois meses após sua suspensão (Junior, 2012).

O quadro típico da infecção é diarreia aquosa com vários episódios durante o dia e febre baixa. As complicações incluem desidratação e desnutrição. Os casos mais graves coincidem com diminuição da diarreia caracterizada pelo megacólon tóxico, que pode evoluir para perfuração (Junior, 2012).

De acordo com a literatura até o momento, no diagnóstico laboratorial, a coprocultura é considerada o padrão-ouro para diagnóstico de *CD* com sensibilidade em torno de cem por cento, mas não é usado por seu alto custo e pela demora de seu resultado (em média 48 horas) (Junior, 2012).

Nas primeiras pesquisas para o isolamento do *CD* pesquisadores propuseram um meio seletivo denominado CCFa (ágar cefoxitina frutose), que apresentava solução de gema de ovo com incubação em meio anaeróbio. As colônias neste meio apresentam coloração amarela fluorescente, com borda filamentosa, e pode-se observar alteração da cor do meio de alaranjado para amarelo (Tsuchiya, 2012).

Com o avanço da tecnologia e a necessidade do rápido diagnóstico, a cultura foi praticamente descartada e os ensaios imunoenzimáticos tem sido os mais utilizados, esses realizam a pesquisa da enzima *Clostridium difficile* glutamato desidrogenase (GDH) produzida em larga quantidade por todas as cepas toxinogênicas e não toxinogênicas, tornando-se um excelente marcador para o organismo. Esses também realizam a pesquisa das toxinas da bactéria, apresentando resultado em até 2 horas. No entanto, dependendo da metodologia do teste, a sensibilidade pode variar entre 50 a 99%, e a especificidade de 70 a 100% (Junior, 2012). São eles: aglutinação pelo látex, ELISA e imunocromatografia.

O teste de aglutinação pelo látex envolve uma reação antígeno-anticorpo com leitura por visualização direta da aglutinação formada, esse apresenta sensibilidade e especificidade baixa e não distingue cepas patogênicas de não patogênicas. Para o diagnóstico diferencial outras causas de colite devem ser excluídas (Santos et al., 2017).

O Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) para detecção da toxina A ou B é de menor custo e mais rápido, por isso é preferido pela maioria das instituições. A sensibilidade é baixa, porém quando a realização do teste ocorre em duas ou três amostras seriadas de fezes, a sensibilidade aumenta para 90%, e a especificidade fica em torno de 100% (Santos et al., 2017).

Além do ELISA convencional existe o teste DOT-ELISA, que atualmente está em contrapartida a coprocultura da prática clínica, sendo uma técnica baseada na sensibilização de membranas de nitrocelulose com antígeno, e posterior adição de um anticorpo marcado com peroxidase,

para ocorrência de reação com formação de cor. O princípio é semelhante ao ELISA; no entanto, não requer aparelhagem sofisticada (Blanco et al., 2014).

Existem vários kits imunocromatográficos comerciais para a identificação do *CD*, um deles libera resultados em apenas 10 minutos com preparação simples utilizando pequeno volume de amostra e uma solução tampão. Apresentando sensibilidade e especificidade de 99%. E realizando a diferenciação das toxinas A e B.

Esse é um teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa do antígeno do *CD* Toxina A e Toxina B em fezes humanas, outro método que apresenta alta sensibilidade e especificidade é a reação de cadeia de polimerase (PCR), cuja sensibilidade é maior do que 90% e especificidade de 100% (Junior, 2012). Além do PCR comum há também a utilização do PCR em tempo real, que no Brasil já teve seu ensaio aprovado para utilização e aplicação clínica pela ANVISA (Senna et al., 2015).

Outro recurso é a utilização das técnicas moleculares como a ribotipagem por amplificação do PCR, que permite comparar tamanhos de fragmentos obtidos, correspondentes a regiões de RNA ribossômico. O padrão de bandas obtido define um determinado ribotipo, que facilmente é comparado entre centros de estudo (Viana, 2013).

A colonoscopia é indicada quando a pesquisa de toxinas nas fezes é negativa e há necessidade do diagnóstico rápido. Ela avalia todo o cólon, entretanto, pode apresentar como complicação a perfuração colônica (Junior, 2012). A radiografia de abdômen é inespecífica e a tomografia de abdômen pode auxiliar na determinação da extensão da lesão nos casos mais avançados avaliando pneumoperitônio e perfuração colônica (Junior, 2012).

Pode também auxiliar no diagnóstico, o hemograma que apresenta leucocitose e desvio para a esquerda. E nos casos graves são comuns alterações eletrolíticas, elevação da creatinina, queda da albumina e elevação do lactato acima de 5mmol/l, elevação da velocidade de hemossedimentação e da proteína C-reativa (Pereira, 2014).

Tratamento

A medida fundamental para o tratamento de *CD* é a interrupção da terapêutica antibacteriana, para ser possível o restabelecimento da microbiota intestinal normal. É também considerável garantir a reposição adequada de líquidos e eletrólitos. Os agentes antidiarreicos precisam ser evitados, pois estes têm a capacidade de diminuir a motilidade intestinal e assim aumentar o tempo de exposição da mucosa às toxinas e conseqüentemente o risco de lesão tecidual (César, 2010). Estas medidas podem ser suficientes no caso de uma infecção leve, porém em casos mais graves se faz necessário um tratamento direcionado ao *CD*.

Terapêutica Antibacteriana

Desde a década de 1990 que o fármaco utilizado no tratamento do *CD* é o metronidazol. A sua eliminação é essencialmente renal e 6-15% é excretado nas fezes. A vancomicina por via oral é muito eficaz e uma boa alternativa ao metronidazol. É eliminada inalterada nas fezes (César, 2010). O metronidazol é um derivado 5-nitroimidazólico que atua como bactericida: depois de penetrar na bactéria, os produtos resultantes da sua redução ligam-se ao DNA bacteriano, impedindo a sua replicação, induzindo à morte celular (Cordeiro, 2016). São recomendadas para adultos com infecção ligeira a moderada, doses de 500mg três vezes por dia ou 250mg quatro vezes por dia, durante 10 a 14 dias (Correia et al., 2012).

A vancomicina é um antibiótico glicopeptídico que age inibindo a síntese da parede celular por impedir a incorporação de ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina na molécula de peptidoglicano (Cordeiro, 2016).

Recentemente, a fidaxomicina surgiu como uma alternativa para os casos de *Clostridium difficile* resistentes, sendo um antibiótico macrocíclico apresentando eficácia superior em casos de infecção pela estirpe NAP1/027/BI, possui ação bactericida, atuando em nível da inibição da ARN polimerase bacteriana. Recomendam-se doses de 200mg duas vezes por dia (Cordeiro, 2016). Apesar de mais eficiente que os antibióticos tradicionais, essa medicação ainda não está disponível devido seu elevado custo (Gane et al., 2015).

A resposta à antibioticoterapia pode ser incerta, e a taxa de recorrência chega a 25%. Após a primeira recorrência, o risco de apresentar uma segunda aumenta para 40% e, para múltiplas recorrências, o risco ultrapassa 50% (Gane et al., 2015).

A reincidência ocorre devido à permanência dos esporos no intestino e pela inabilidade do sistema imune em erradicar o agente. No geral, a terapêutica antibacteriana falha sempre que o microrganismo desenvolve mecanismos de resistência que lhe permite sobreviver na presença do antimicrobiano. Já foram identificadas estirpes que apresentam resistência ao metronidazol e à vancomicina, que ainda são utilizados como tratamento padrão. Essas estirpes conduziram à investigação de outras formas de tratamento (Cordeiro, 2016). Uma vez que a alteração da microbiota intestinal facilita a infecção por *CD*, a erradicação dele pode ser conseguida pela restauração da flora comensal (Cordeiro, 2016). A terapêutica microbiana tem sido considerada como o método mais eficaz no tratamento de recorrências do *CD*.

Probióticos e Prebióticos

Os probióticos são microrganismos vivos (leveduras e bactérias não patogênicas) utilizados para restaurar a microbiota intestinal. Ao colonizarem a mucosa, inibem a adesão de espécies patogênicas, competem pelos nutrientes, bloqueiam a produção de toxinas e estimulam a imunidade local dificultando a colonização (Cordeiro, 2016).

Os prebióticos são ingredientes alimentares utilizados no crescimento dos micro-organismos no intestino, não são digeridos no intestino delgado, mas são metabolizados no intestino grosso. Apresentam a capacidade de modificar a composição da microbiota, de forma que as bactérias benéficas se tornam predominante (Paixão e Castro, 2016).

Tratamento Cirúrgico

A cirurgia é raramente recomendada, sendo necessária apenas em complicações da doença, tais como a colite fulminante (65% a 100% dos casos); a não resposta ao tratamento médico; megacólon tóxico e casos de perfuração (Cordeiro, 2016). A cirurgia mais citada é a colectomia subtotal com ileostomia, sem remover o reto e após a melhora sugere ser realizada a anastomose íleo-retal (Pereira, 2014).

Imunoterapia

Segundo Cordeiro, atualmente existem duas vacinas em fase de testes clínicos: uma desenvolvida pelo Instituto Sanofi-Pasteur, que consiste numa mistura de toxinas A e B inativadas; e a segunda, desenvolvida pela Intercell, uma proteína de fusão recombinante que contém uma parte do domínio de ligação ao receptor das toxinas A e B.

Clinicamente ainda não há evidências significativas da eficácia das vacinas, pois não existem estudos alargados.

O Transplante da Microbiota Fecal (TMF)

O Transplante de Microbiota Fecal (TMF) é definido como o método pelo qual bactérias comensais, pertencentes ao trato gastrointestinal de pessoas saudáveis, são inseridas em pacientes com infecções bacterianas no intestino com o objetivo de restaurar a microbiota natural (Paixão e Castro, 2016).

A microbiota intestinal apresenta uma variedade de microrganismos vivos que colonizam o intestino logo após o nascimento, constituída por microbiota nativa e de transição temporária, sendo considerado como um dos ecossistemas mais complexos, com cerca de 1.000 bactérias distintas.

Apresenta várias funções tendo como mais importante a defesa do organismo humano contra microrganismos patogênicos invasores. Fora a síntese de vitaminas, fermentação de hidratos de carbono, desdobramento da bile e de hormônios do hospedeiro, além de influenciar no desenvolvimento e maturação do sistema imune intestinal (Pereira, 2014).

O *CD* apresenta uma relação de simbiose com o organismo humano, tornando-se oportunista e, desta forma, tem a capacidade de provocar infecção quando o equilíbrio normal da microbiota intestinal é perturbado, por exemplo, pelo uso de antibióticos (Cêrca, 2018).

O TMF, também denominado de “infusão fecal” ou de “bacterioterapia fecal”, é uma opção terapêutica para o *CD* envolvendo administração de um filtrado fecal líquido (microbiota distal do intestino grosso), de um doador com microbiota com as características, consideradas normais, a um doente. Com o objetivo da restauração da microbiota intestinal (Ferreira, 2015).

As principais indicações para o TMF no tratamento do *CD* são: infecção leve recorrente, caracterizada por 3 ou mais episódios e/ou tratamento sem resposta à vancomicina por 6 a 8 semanas; infecção moderada sem resposta a terapia padrão por pelo menos uma semana e; infecção grave sem resposta a terapia padrão durante 48 horas (Nascimento, 2018).

A primeira aplicação de material de fezes foi por volta do século IV, à qual deram o nome de “sopa amarela”, sendo administrada oralmente para o tratamento de um doente com diarreia grave, pelo médico chinês Ge Hong. No século XVI, começaram a usar produtos derivados de fezes para distúrbios gastrointestinais e sintomas de febre (Cêrca, 2018).

Porém só em 1958, que um grupo de cirurgiões do Colorado, chefiado pelo Dr. Eiseman, implementou o Transplante de Microbiota Fecal. Trataram quatro doentes com colite pseudomembranosa e diarreia severa associada a antibioticoterapia através de enemas fecais de doadores saudáveis, obtendo resultados bastante favoráveis (Cêrca, 2018).

No Brasil, o TMF é pouco conhecido. Seu primeiro procedimento foi realizado em 2013 por Arnaldo Ganc no Hospital Albert Einstein, em São Paulo, para o tratamento de um paciente de 82 anos com insuficiência renal crônica e diarreia causada por *CD* por mais de 4 meses. O procedimento foi realizado via endoscópica com o cessamento dos sintomas 24 horas após o tratamento. Em 2017, o Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais criou o primeiro banco de fezes do país (Nascimento, 2018).

Para a realização do TMF se faz necessário um doador, o receptor e o procedimento de infusão do fluido fecal.

Seleção de Doadores

A seleção do doador é feita preferencialmente pelo cônjuge ou parentesco próximo, caso não encontre compatibilidade, faz a escolha por um doador não aparentado (doador universal). Inicialmente é necessário realizar uma entrevista ao possível doador, no qual é aplicado um questionário de pré-seleção para tomar conhecimento do histórico familiar em relação a doenças, bem como para fornecer algumas recomendações (Cêrca, 2018).

Os potenciais doadores devem ser rastreados para o risco de agentes infecciosos, como HIV, vírus da hepatite B e C, Salmonella, Shigella e CD. São também critérios de exclusão: o uso de antibióticos ou agentes imunossupressores nos 3 meses anteriores; história de doença inflamatória intestinal; síndrome do intestino irritável; síndrome metabólica; história de neoplasia ou doença infecciosa; obstrução, diarreia ou pólipos intestinais; cirurgia gastrointestinal; comportamento sexual de alto risco, uso de drogas ilícitas, e tatuagem ou piercing nos 6 meses anteriores (Cordeiro, 2016).

Uma semana antes da doação, realiza-se também a pesquisa bacteriana em amostras de fezes do doador além de um segundo questionário em que se procura por eventos ocorridos desde a pré-seleção. Na noite anterior à doação considera-se a administração de um laxante osmótico ao doador, como macrogol, lactulose ou lactitol, com o objetivo de facilitar a coleta e manipulação da amostra (Cêrca, 2018).

Preparação do Receptor

O receptor deve ser preparado inicialmente sendo informado sobre possíveis complicações, o mesmo deve estar internado durante o período de 48 horas, deve ser submetido a uma lavagem intestinal para reduzir a microbiota anormal e permitir a implantação mais eficaz da microbiota do doador, além de estar pelo menos 6 horas de jejum antes do procedimento. Quando o TMF ocorre por enema ou colonoscopia, recomenda-se que o receptor retenha o material transplantado por pelo menos 30 a 40 minutos, mas preferencialmente por mais de 4 horas. Para isso pode-se fazer o uso de 1 a 2 comprimidos de loperamida, um fármaco que reduz a motilidade intestinal. Quando administrado por sonda nasogástrica, deve administrar-se ao receptor um inibidor de bomba de prótons na noite anterior e na manhã do procedimento (Cêrca, 2018).

Procedimento

As fezes são colhidas no dia do transplante e o primeiro passo é diluí-las em água ou numa solução de cloreto de sódio (NaCl) a 0,9%. Em seguida é necessário homogeneizar a amostra adicionando diluente até obter uma consistência líquida, evitando a formação de bolhas de ar. Posteriormente realiza-se a filtração da suspensão fecal, que pode ser feita através de compressas de gaze de algodão estéreis para a remoção de partículas. Uma vez terminada a sua preparação, a infusão deve ser feita dentro de seis horas (Cêrca, 2018).

O transplante pode ser feito 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. Independentemente do método de administração, geralmente são infundidos de 50 a 70 ml da solução fecal no receptor (Nascimento, 2018).

O enema de retenção é um método de baixo custo usado em pacientes pediátricos ou portadores de colostomia. O benefício deste método é que não requer sedação e consequentemente apresenta poucos riscos. Nesta técnica,

aproximadamente 50 a 60 ml do material fecal preparado são administrados em uma bolsa de enema e inseridos no reto do paciente, a infusão deve ser realizada de 30 minutos a até 4 horas, para que haja o máximo benefício terapêutico (Nascimento, 2018).

Rectosigmoidoscopia é a rota de administração aconselhada em pacientes com riscos de perfuração intestinal por ser um dos métodos menos invasivos. (Nascimento, 2018).

A colonoscopia é a principal forma de administração do TMF devido 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 em 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 (Nascimento, 2018).

A administração do TMF por tubos nasoentéricos apresenta como benefício não requerer sedação, porém é bastante desconfortável para o paciente. Além de se fazer 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 (Nascimento, 2018).

O método de endoscopia requer sedação e apresenta riscos durante o procedimento. Sua escolha deve ser considerada em casos de pacientes que tenham realizado cirurgias no trato gastrointestinal inferior e aqueles que não apresentam cólon intactos. Para evitar o risco de aspiração do material fecal, as infusões pelo trato gastrointestinal superior devem ser com volumes menores (Nascimento, 2018).

O TMF 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. Caso o paciente não apresente nenhum destes fatores de risco, as cápsulas apresentam como vantagem, o fácil armazenamento, custo reduzido, fácil administração, confortável para o paciente, não invasivo e seguro para pacientes gravemente enfermos. Além de que o congelamento das amostras permite a triagem dos doadores com antecedência e a facilidade do armazenamento permite a investigação dos doadores para possíveis infecções virais incubadas (Nascimento, 2018).

Antigamente acreditava-se que o material fecal fresco era superior ao congelado no tratamento de CD recorrente, porém, diversos estudos confirmam que o material congelado apresenta efetividade igual ou ligeiramente menor que o material fresco. (Nascimento, 2018).

Após o transplante, os pacientes devem continuar sob monitoramento por pelo menos oito semanas, a resposta ao tratamento implica na melhora dos sintomas. Pacientes que não apresentem recorrência da doença após oito semanas do transplante podem ser considerados clinicamente curados (Nascimento, 2018).

A principal vantagem do TMF é a rápida normalização da microbiota intestinal. Além da restauração de comunidades microbianas normais envolvidas no metabolismo secundário de ácido biliar, um processo que é alterado pelo uso de antimicrobianos e suprimido em pacientes com CD recorrente. A restauração da normalidade das propriedades do ácido biliar no cólon cria um ambiente inibitório para a germinação de esporos de CD e seu crescimento (Nascimento, 2018).

3. Conclusão

Em virtude dos fatos mencionados é notável que a infecção por *Clostridium difficile* seja uma complicação comum após a alteração da microbiota intestinal ocasionada pelo uso abusivo de antibióticos. Essa infecção apresenta elevada importância médica devido aos fatores de virulência das estirpes, a facilidade de disseminação no ambiente hospitalar pela formação de esporos, e o acometimento principalmente de pacientes idosos e imunocomprometidos que apresentam um pior prognóstico e maior chance de recidiva.

A resposta precária ao tratamento padrão do CD com vancomicina oral ou metronidazol acarreta altas taxas de recorrência, girando em torno de 30%. E aumentando após dois ou mais episódios de infecção. Isso porque o tratamento envolve a administração adicional de antibióticos, paradoxalmente o que resultou a infecção, impedindo a restauração da microbiota intestinal, criando assim a necessidade de desenvolver outros tipos de tratamento.

Surge então o Transplante da Microbiota Fecal (TMF) para o tratamento da infecção recorrente por CD que consiste na introdução da microbiota de um doador saudável em um paciente com a infecção. É uma técnica de comprovada eficácia, baixo custo quando comparada ao tratamento convencional e com poucos efeitos adversos.

Porém apesar de sua eficácia o TMF é pouco utilizado devido a falta de dados e informações em longo prazo, além da falta de padronização de um protocolo para a realização da técnica. É perceptível através de pesquisas que a falta de protocolos gera uma insegurança por parte dos médicos em receitar o transplante como uma forma de tratamento. Por fim, é notável que o TMF é atualmente a melhor forma de tratamento para a recidiva da infecção por CD mas para que haja o uso dessa técnica se faz necessário desenvolver procedimentos padronizados, divulgação da sua efetividade, conhecimento das vias de administração e aceitação dos profissionais da saúde e dos pacientes.

4. Referências

Balassiano, I. T., Santos-Filho, J., de Oliveira, M. P., Ramos, M. C., Japiassu, A. M., et al. (2010). An outbreak case of *Clostridium difficile*-associated diarrhea among elderly inpatients of an intensive care unit of a tertiary hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 68(4), 449-55.

Blanco, R. D., Fidelis, C. F., Araujo, L. S., Henao, A. M., Cardona, J. A., et al. (2014). Desenvolvimento e padronização do Dot-ELISA usando peptídeos recombinantes para o diagnóstico sorológico de *Neospora caninum*. *Pesq. Vet. Bras.*, 34(8), 723-727.

Cêrca, I. D. A. (2018). Transplante de Microbiota Fecal. (Dissertação de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Portugal.

César, A. J. F. (2010). *Clostridium difficile* - prevenção e controlo. (Dissertação de Mestrado). Universidade do Porto, Portugal.

Cordeiro, I. C. E. (2016). *Clostridium difficile* - infeção e opções terapêuticas. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Coimbra, Portugal.

Correia, L., Monteiro, R., Alfaro, T., Simão, A., Carvalho, A., et al. (2012). Doença associada ao *Clostridium difficile* - aumento dramático da incidência em doentes internados. *Med. Int.*, 19(2), 61-8.

Fachi, J. L. (2017). Efeito dos ácidos graxos de cadeia curta e seu receptor (GPR43) em modelo murino de infecção por *Clostridium difficile*. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

Ferreira, L. M. (2015). Tratamento da colite ulcerosa através da manipulação da microbiota humana: probióticos, prebióticos, simbióticos e transplante fecal. (Dissertação

de Mestrado). Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal.

Gane, A. J., Gane, R. L., Reimão, S. M., Junior, A. F., Pasternak, J. (2015). Transplante de microbiota fecal por enteroscopia alta para o tratamento da diarreia causada por *Clostridium difficile*. *Einstein*, 13(2), 338-9.

Junior, M. S. (2012). Recentes mudanças da infecção por *Clostridium difficile*. *Einstein*, 10 (1), 105-9.

Lima, B. B. (2014). Efeito das toxinas A e B do *Clostridium difficile* sobre a via de Wnt- β - Catenina em células epiteliais intestinais. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Martins, L. F. P. (2009). *Clostridium difficile* - uma ameaça renovada. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Porto, Portugal.

Nascimento, N. L. (2018). Riscos e benefícios do transplante de microbiota intestinal como tratamento contra a infecção recorrente por *Clostridium difficile*. (Monografia). Centro Universitário de Brasília, Brasília.

De Oliveira, A. C., Kovner, C. T., Da Silva, R. S. (2009). Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*, 18(2), 98-104.

Paixão, L. A., Castro, F. F. S. (2016). A colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde*, 14(1), 85-96.

Pereira, M. S., Souza, A. C. S., Tipple, A. F. V., Prado, M. A. (2005). A infecção hospitalar e suas implicações para o cuidar da enfermagem. *Texto Contexto Enferm.*, 14(2), 250-7.

Pereira, N. G. (2014). Infecção pelo *Clostridium difficile*. *JBM*, 102(5), 27-49.

Richieri, P., Federige, M. A. F. (2016). Risco de contaminação por *Clostridium difficile* em ambientes hospitalares, patogenicidade e controle. *Atas de Ciências da Saúde*, 3 (1), 11-29.

Rocha, M. F. G., Sidrim, J. J. C., Lima, A. A. M. (1999). O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarreia inflamatória. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 32(1), 47-52.

Santos, S. L. F., Torres, K. B. N., Prado, R. M. S. (2017). Infecção por *Clostridium difficile* associada a antibioticoterapia: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. *Rev. Ciênc. Méd.*, 26(1), 19-26.

Senna, K., Santos, M., Tura B. (2015). Análise da incorporação do Teste de PCR-t para *Clostridium difficile*. *Instituto Nacional de Cardiologia*, 1(1), 1-13.

Tsuchiya, A. C. (2017). Avaliação de métodos e ocorrência de *Clostridium difficile* em carnes. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

Viana, H. L. (2013). *Clostridium difficile*: infecção e ribotipos. *J Port Gastroenterol*, 20(6), 240-242.

Vieira, A. M., Machado, M. V., Lito, L., Cristino, J. M., Fernandes, A., et al. (2010). Diarreia Associada a *Clostridium difficile* num Hospital Central. *J Port Gastroenterol*, 17(1), 11-7.