

# TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL COMO TRATAMENTO DA INFEÇÃO RECORRENTE POR *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

## FECAL MICROBIOTA TRANSPLANT AS TREATMENT FOR RECURRENT *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION

### **Autores**

Paula Silva - Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias – Instituto Politécnico de Castelo Branco, *BSc*

Patrícia Coelho - Sport, Health & Exercise Unit (SHERU) | Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural), Instituto Politécnico de Castelo Branco, *PhD*

Francisco Rodrigues - Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural) | Sport, Health & Exercise Unit (SHERU), Instituto Politécnico de Castelo Branco, *PhD*

### **Centro de execução do trabalho**

Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias  
Instituto Politécnico de Castelo Branco

### **Conflitos de interesse**

A equipa de investigação declara a não existência de conflitos de interesse na realização do estudo

### **Fontes de Financiamento**

Não existiu qualquer fonte de financiamento de contribuição para a realização do estudo

### **Contacto do autor responsável**

franciscobrodrigues@ipcb.pt

### **Tipo de artigo**

Artigo de Revisão

## Resumo

### Introdução

A infecção causada por *Clostridium difficile* tem registado mudanças na sua incidência ao longo dos últimos anos, resultando numa das maiores preocupações a nível global de saúde pública. Tem grande importância no ramo da medicina devido às altas taxas de recorrência que apresenta, bem como de mortalidade e morbidade associadas, tornando-se uma das infecções associadas aos cuidados de saúde causadora de diarreia mais comuns relacionada com o uso de antibióticos.

### Objetivo

demonstrar as vantagens, segurança e eficácia do transplante de microbiota fecal como alternativa para o tratamento da infecção provocada por *Clostridium difficile* recorrente.

### Material e Métodos

Para a realização deste trabalho foram analisados artigos publicados entre 2005 e 2019 nas bases de dados *PubMed* e *Scielo*, recorrendo à utilização das seguintes combinações de palavras-chave: *Clostridium difficile* infection, risk factors, recurrent, diagnose, treatments, fecal microbiota transplantation e prevention.

### Dados e Discussão

O tratamento atualmente utilizado com os antibióticos metronidazol, vancomicina ou fidaxomicina tem revelado falhas em 5 a 35% dos indivíduos, incorrendo em novas recorrências da infecção. O tratamento para esta infecção na sua forma recorrente aparenta ser reduzido, sendo que o estudo e a pesquisa de novas soluções têm ganho um especial interesse nos últimos anos, como é o caso do transplante de microbiota fecal. Este constitui numa alternativa eficiente consistindo na introdução de microbiota intestinal de um doador saudável num doente alterando e restaurando desta forma a diversidade da flora intestinal.

### Conclusão

Este método tem ganho cada vez mais notoriedade devido à sua taxa de 80 a 100% de sucesso, no entanto a sua utilização permanece limitada com a necessidade de realização de mais estudos de modo a ser indicada como terapia inicial.

### Palavras-chave

*Clostridium difficile* (B03.300.390.400.200.250); Infecção (C03.335.508.700.550.550.375); Recorrência (C23.550.291.937); Tratamento (E08.186); Transplante de Microbiota Fecal (E02.095.231)

## Abstract

### Introduction

The infection caused by *Clostridium difficile* has registered changes in its incidence over the last few years, resulting in one of the greatest concerns in global public health. It is of great importance in the medical field because of its high recurrence rates, as well as associated mortality and morbidity, making it one of the most common healthcare-associated infections causing diarrhea related to antibiotic use.

### Objective

to demonstrate the advantages, safety and efficacy of faecal microbiota transplantation as an alternative for the treatment of infection caused by recurrent *Clostridium difficile*.

### Material and Methods

To carry out this work, articles published between 2005 and 2019 in the *PubMed* and *Scielo* databases were analyzed, using the following combinations of keywords: *Clostridium difficile* infection, risk factors, recurrent, diagnosis, treatments, fecal microbiota transplantation and prevention.

### Data and Discussion

Treatment currently used with the antibiotics metronidazole, vancomycin or fidaxomicin has been found to fail in 5 to 35% of individuals, incurring new recurrences of the infection. The treatment for this infection in its recurrent form appears to be reduced, and the study and search for new solutions have gained special interest in recent years, as is the case with fecal microbiota transplantation. This constitutes an efficient alternative consisting in the introduction of intestinal microbiota from a healthy donor to a patient, thus altering and restoring the diversity of the intestinal flora.

### Conclusion

This method has gained more and more notoriety due to its 80 to 100% success rate, however its use remains limited with the need for further studies in order to be indicated as initial therapy

### Keywords

*Clostridium difficile* (B03.300.390.400.200.250); Infection (C03.335.508.700.550.550.375); Recurrence (C23.550.291.937); Treatment (E08.186); Fecal Microbiotic Transplantation (E02.095.231)

## Introdução

A infecção por *Clostridium difficile* tem vindo a revelar, nas últimas décadas, um aumento preocupante da sua incidência, severidade, morbidade e mortalidade, afetando cada vez mais as populações adultas e pediátricas (Anjewierden *et al.*, 2019; Bakken, *et al.*, 2011). Estima-se que a mesma provoque mais de 30.000 mortes por ano (Mills *et al.*, 2018).

À medida que a incidência da infecção por *Clostridium difficile* (ICD) vai aumentando, o número de tratamentos ineficazes é cada vez maior, bem como o número de indivíduos com recidivas ou recorrências, os quais representam uma taxa de 15 a 30%. A forma recorrente da infecção por *Clostridium difficile* corresponde a uma doença persistente/"crónica", uma vez que esta infecção resiste e retorna após os tratamentos em aproximadamente 40% dos pacientes. Este ressurgimento pode manter-se durante anos, conduzindo ao uso contínuo de antibióticos e internamentos hospitalares (Bakken, *et al.*, 2011; Song & Kim, 2019). Assim, existem disponíveis diversos tratamentos para a infecção por *Clostridium difficile* recorrente (ICDr) porém, na sua globalidade, todos se baseiam na toma de antibióticos (Bakken, *et al.*, 2011). O metronidazol e a vancomicina têm sido selecionados como opção de tratamento padrão (embora existam mais gamas de antibióticos disponíveis), no entanto estes estão relacionados com o aumento das taxas de recorrência. Encontrar um tratamento permanente para a ICDr continua assim a ser uma das necessidades atuais (Meneses *et al.*, 2018; Reigadas, *et al.*, 2018). Esta necessidade ocorre devido às falhas terapêuticas, às resistências aos antibióticos e ao aumento da incidência e recorrência registadas nos últimos anos, as quais têm conduzido ao aumento da procura de alternativas terapêuticas que sejam igualmente eficazes e seguras (Meneses *et al.*, 2018; Reigadas, *et al.*, 2018).

Ao longo da última década, de entre as opções de tratamento disponíveis, o transplante de microbiota fecal tem ganho um maior relevo. Este tratamento, cuja missão final consiste em restaurar o equilíbrio da flora intestinal, tem-se revelado promissor e eficaz com elevadas taxas de sucesso (Bakken, *et al.*, 2011; Meneses *et al.*, 2018). No entanto, tem

existido uma resistência por parte dos pacientes, devido principalmente a algumas dúvidas sob a forma base de administração, o que conduziu à necessidade de descoberta de diversas formas de administração deste tratamento. O mais recente, a utilização de cápsulas de via oral, tem-se revelado eficaz, seguro e de fácil administração, tornando-se assim um potencial tratamento padrão (Reigadas, *et al.*, 2018).

## Objetivos

Este trabalho tem como objetivo demonstrar as vantagens, segurança e eficácia do transplante de microbiota fecal como alternativa para o tratamento da infecção provocada por *Clostridium difficile* recorrente.

## Metodologia

Para a realização deste trabalho foram analisados artigos publicados entre 2005 e 2019 nas bases de dados *PubMed* e *SciELO*, recorrendo à utilização das seguintes combinações de palavras-chave: *Clostridium difficile* infection, risk factors, recurrent, diagnose, treatments, fecal microbiota transplantation e prevention.

Foram selecionados artigos de revisão, artigos originais, artigos de pesquisa e estudos clínicos, dentro do tema definido.

## *Clostridium difficile*

### Patogenia e Fatores de Virulência

A microbiota intestinal do ser humano é constituída por cerca de 300 a 500 espécies de microrganismos, com capacidade para combater outros microrganismos de caráter patogénico (como o *Clostridium difficile*), impedindo a sua colonização (Meneses *et al.*, 2018). Para que esta bactéria consiga sobreviver e colonizar-se no intestino grosso de modo a provocar infecção, a microbiota tem de estar descompensada, existindo assim um ambiente propício para a sua colonização. Esta descompensação encontra-se tipicamente relacionada ao efeito secundário do uso de antibióticos (Asempa & Nicolau, 2017; Mills *et al.*, 2018).

A bactéria *Clostridium difficile* é um bacilo gram-positivo anaeróbio com capacidade de formar esporos e produzir toxinas. Este poderá ser uma parte integrante da flora intestinal do ser humano possuindo a capacidade de colonizar de forma assintomática 2-15% dos indivíduos, principalmente quando o hospedeiro possui comorbidades e/ou esteve em unidades de saúde por estadias prolongadas (Mills, Rao, & Young, 2018). Este microrganismo foi isolado pela primeira vez por Hall e O'Toole em 1935 como um elemento da flora microbiana de recém-nascidos saudáveis (Bartlett, 2017). Atualmente é considerado uma das causas principais de infeções em meios hospitalares tanto em adultos como em crianças, sendo a principal causa de casos de diarreias neste contexto (Anjewierden *et al.*, 2019; Song & Kim, 2019). Igualmente esta bactéria é definida como o agente causador de gastroenterites infecciosas e colites pseudomembranosas, possuindo um elevado relevo a nível da mortalidade e morbidade (Meneses *et al.*, 2018).

O elemento distintivo da infeção por *Clostridium difficile* (ICD) a nível da sua histopatologia, corresponde ao dano que este provoca no revestimento das células da mucosa epitelial, onde este agente patogénico irá atingir os tecidos através da produção de duas toxinas, que funcionam como fatores de virulência desta infeção: a toxina glicosiltransferase A (TcdA), uma enterotoxina e a toxina B (TcdB), uma citotoxina (Asempa & Nicolau, 2017; Cojocariu, *et al.*, 2014). Este dano provocado no epitélio origina uma resposta inflamatória aguda com predominância de neutrófilos (Asempa & Nicolau, 2017). A Toxina A é responsável pela ativação e recrutamento dos mediadores inflamatórios, e fixa-se a recetores do enterócito. Já a Toxina B executa um efeito citotóxico direto, no entanto os recetores a que esta toxina se liga não são conhecidos (Júnior, 2012; Pereira, 2014).

O *Clostridium difficile* produz estirpes toxinogénicas e não toxinogénicas, estando confirmadas até à data mais de 800 estirpes, onde as primeiras possuem um locus de patogenicidade composto pelos genes *tcda*, *tcdb*, *tcdc*, *tcde* e *tcdr*, onde os dois primeiros, como descritos anteriormente, se tratam das toxinas produzidas e são os fatores de virulência da ICD (Dayananda & Wilcox, 2019; Pereira, 2014). Relativamente aos restantes genes, o TcdC é um regulador negativo, o TcdR um regulador positivo da

produção de toxinas e o TcdE um agente formador de poros que irá mediar e permitir a entrada das toxinas (Pereira, 2014). No momento da ligação a recetores no enterócito, as toxinas internalizam-se na célula através de endocitose mediada pelos seus recetores, seguida pela glicosilação das proteínas Rho (auxilia terminus do processo de transcrição) e Ras inicializando assim o processo inflamatório (Cojocariu, *et al.*, 2014).

Outra estirpe produzida é a binária, muito associada a fases mais graves da doença, encontrada entre 2002 e 2005 numa província do Canadá, denominada de BI/NAP1/027 (Grupo BI, pulstipo norte-americano tipo 1, ribotipo 027 - PFGE), sendo designada como estirpe hipervirulenta responsável por inúmeros casos de infeção. Esta estirpe é assim definida uma vez que possuiu a capacidade de produzir 16 vezes mais de toxina A e 23 vezes mais de toxina B, comparativamente às diversas estirpes existentes (Cojocariu, *et al.*, 2014). Embora tenha tido origem no Canadá, depressa se expandiu para outras regiões, começando a ser observada nos Estados Unidos, na Europa e na Austrália. Sendo esta estirpe responsável por produzir casos mais graves de infeção, esta tem ainda a particularidade de ser mais resistente a tratamentos, como os antibióticos, o que a tem vindo a definir como um dos fatores causadores para o aumento da mortalidade e morbidade associados à bactéria (Pereira, 2014).

Relativamente às estirpes não toxinogénicas, estas não representam preocupação para os indivíduos colonizados, uma vez que não produzem ICD. Podem, inclusive, até serem benéficas, pois possuem um efeito protetor contra uma possível ICD (Pereira, 2014). No entanto, é importante referir que, de entre os indivíduos infetados por uma estirpe toxinogénica, nem todos desenvolvem a doença, permanecendo como portadores assintomáticos uma vez que podem propagar esporos e assim transmitir a mesma. No que toca à sua transmissão ainda não se encontra bem determinado como a mesma se realiza (Rocha, 2017). A incidência destes portadores assintomáticos na comunidade é de cerca de 4% e nos doentes hospitalizados de 20% (Júnior, 2012).

Quando indivíduos assintomáticos são expostos a fatores de risco e desenvolvem a infeção por *Clostridium difficile*, a sua resposta humoral é mais rápida e específica em comparação com os indivíduos

não colonizados. Nestes pacientes assintomáticos que desenvolvem a ICD, não são encontrados benefícios no seu tratamento, uma vez que após proceder-se ao tratamento, na grande maioria dos casos ocorre recolonização por *Clostridium difficile* (Júnior, 2012).

A transmissão desta bactéria pode ocorrer de diferentes formas: pessoa a pessoa, através de instrumentos contaminados em meio hospitalar e através da via fecal-oral. Devido à sua grande resistência a desinfetantes comerciais, a sua propagação em hospitais é difícil de controlar, uma vez que os esporos produzidos têm a capacidade de se preservarem no ambiente envolvente por longos períodos (Júnior, 2012). Estes esporos possuem ainda outra particularidade, pois quando se reúnem as condições favoráveis para a sua colonização, os que se encontram dormentes têm como aptidão resistirem à acidez gástrica e assim conseguirem passar pelo sistema digestivo, devido a uma diminuição de substâncias presentes no trato intestinal (como ácidos biliares) acabando por germinarem no cólon. Passam assim a definirem-se como formas vegetativas em replicação ativa, onde iniciam nesse local a produção das suas toxinas (Júnior, 2012; Pereira, 2014; Rocha, 2017).

Posto isto, as ICD foram classificadas como prioritárias pelo ECDC ("*The Centers for Disease Control and Prevention*"), uma vez que esta patologia era assinalada como exclusiva em ambientes hospitalares e/ou centros de cuidados de saúde, porém é cada vez mais encontrada na comunidade, atingindo grupos considerados de baixo risco como por exemplo crianças, mulheres em periparto e pessoas que não tiveram nenhum ou pouco contacto com os serviços de saúde (DePestel & Aronoff, 2013; Meneses *et al.*, 2018; Mills *et al.*, 2018). Assim, de modo a identificar e prevenir a transmissão desta infeção, é necessário que os recursos existentes de saúde pública tomem como prioridade medidas para a sua diminuição (Mills *et al.*, 2018).

## Epidemiologia

Em Portugal os dados epidemiológicos relativos à infeção por *Clostridium difficile* são escassos e limitados, porém nos últimos anos tem surgido um maior interesse por parte de vários investigadores em estudar e conhecer melhor a sua distribuição a nível nacional (Bispo, 2012; Santos, Isidro, Júlio, &

Oleastro, 2015). Com base num estudo português realizado por Vieira e colaboradores, com o objetivo de identificar epidemiologicamente os casos que ocorrem num hospital central de pacientes com diarreia associada ao *Clostridium difficile*, entre os anos de 2000 e 2007, foi observada uma incidência anual média de 3,71 por 10.000 internamentos, sendo ainda constatado que ocorreu um aumento dos internamentos desde o ano 2000 até ao ano de 2007. Todos os estudos posteriores consultados, apontam valores semelhantes (Czpieł *et al.*, 2019) Neste último foram registados 0,15% de internamentos em pacientes com diarreia associada ao *Clostridium difficile* (Vieira, *et al.*, 2010).

O aumento da incidência da ICD pode ser explicado por várias razões, tais como a melhoria dos métodos de deteção, nomeadamente os testes imunoenzimáticos que possuem uma componente sensível e específica para a deteção de *Clostridium difficile*, um elevado aumento na utilização de antibióticos como terapia e de imunossupressores nos tratamentos de quimioterapia, bem como o aumento observado da infeção, promovendo desta forma a disseminação no meio hospitalar através dos esporos produzidos, contribuindo para uma maior probabilidade de infeção dos pacientes mais suscetíveis a infeções (Bispo, 2012; Vieira, *et al.*, 2010).

A epidemiologia desta bactéria, até devido às complicações associadas, tem sido muito estudada em todo o mundo (Sartelli *et al.*, 2019).

### ***Clostridium difficile* recorrente**

A fisiopatologia básica da ICD recorrente e a razão da mesma ocorrer, ainda não se encontra bem compreendida. Existem dados que demonstram que recorrências por ICD representam metade dos casos, com origem em recidivas provocadas pela estirpe original. Todavia, é importante ter em atenção que, contrariamente ao expectável, nem sempre os esporos desempenham um papel na fisiopatologia da ICD recorrente, uma vez que alguns pacientes podem ter recidivas com diferentes estirpes - segundo uma análise molecular em cada 6 de 18 pessoas (33%) desenvolvem infeção por uma nova estirpe (Bakken, *et al.*, 2011; Czpieł, *et al.*, 2019). Assim, pensa-se que a resposta imune às toxinas de *Clostridium difficile* e a nova exposição a esporos possa contribuir para que as recidivas ocorram. No

entanto, em relação à resistência aos antibióticos, não há dados suficientes para se afirmar que seja uma causa de risco de recorrência (Czepiel, *et al.*, 2019)

Relativamente aos sintomas de quando ocorre uma recorrência, estes surgem na semana que se segue à finalização do tratamento para a infeção por *Clostridium difficile*. A taxa de recorrência deste novo episódio é de 10 a 25% dos indivíduos, chegando até 65% em pacientes que já tenham tido mais do que uma recidiva (Czepiel, *et al.*, 2019). Esta taxa aumenta devido pelos filios bacterianos das Pessoas afetadas com infeção por *Clostridium difficile* recorrente (ICDr), sendo que estes controlam o colón e assim o predis põem a múltiplas recorrências (Liubakka & Vaughn, 2016).

Os principais fatores de risco para a infeção por *Clostridium difficile* recorrente incluem a idade avançada, o uso generalizado de antibióticos, a supressão de ácido gástrico, doença subjacente grave, histórico prévio de ICD, entre outros (Song and Kim, 2019).

### **Tratamentos para a Infeção por *Clostridium difficile* primária e recorrente**

Para se dar início a qualquer tratamento à ICD, devem existir sintomas que permitam identificar esta infeção, sendo que o facto de se obter um teste positivo para a presença de toxinas não obriga ao seu início (Czepiel, *et al.*, 2019). Para que se proceda à terapia da ICD, primeiramente deve-se ter em atenção a sua causa e identificar o motivo do desenvolvimento da mesma. Como foi já abordado anteriormente, a principal razão da ICD é o uso de antibióticos, sendo que quando se trata deste motivo, se deve considerar a descontinuação do mesmo, uma vez que teoricamente a sua cessação irá possibilitar que a flora intestinal consiga se restabelecer, se for possível tendo em conta a patologia base (Liubakka & Vaughn, 2016). Assim, o objetivo inicial do tratamento é a eliminação dos sintomas e a prevenção de recidivas desta infeção (Asempa & Nicolau, 2017). Para proceder ao seu início existem recomendações a serem tomadas, de acordo com as guidelines existentes de 5 sociedades médicas diferentes, de diferentes áreas geográficas. Estas normas orientadoras são, na sua globalidade, coincidentes, à exceção dos documentos mais recentes que possuem indicações novas e incorporam

tratamentos recentes, como a fidaxomicina e o transplante de microbiota fecal (Bartlett, 2017). Estas guidelines têm como referência a gravidade da infeção, bem como se a mesma se trata de uma recorrência (Asempa & Nicolau, 2017). Assim, em 2014, o ESCMID ("*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*"), indicou os dois medicamentos principais a utilizar, um para casos não severos (o metronidazol) e o outro para casos de infeção mais severos (a vancomicina) (Czepiel, *et al.*, 2019).

Esta distinção no grau de doença deve-se ao facto de estudos realizados terem demonstrado que, quando comparados em tratamentos, as infeções leves de *Clostridium difficile* possuíam a mesma taxa de eficácia; porém quando se tratava de uma ICD severa, a percentagem foi 76% para o metronidazol e 97% para a vancomicina. Relativamente a casos de recorrência, ambos retêm ainda uma taxa elevada de recidivas (30%), sendo que quando ocorrem dois ou mais eventos de infeção, a taxa de risco aumenta até aos 60% (Júnior, 2012; Messias *et al.*, 2018). A fidaxomicina foi aprovada em 2011 como uma nova forma terapêutica equivalente à vancomicina, no entanto esta possui uma atividade antimicrobiana mais específica que os outros dois antibióticos referidos anteriormente, não possuindo desta forma uma ação tão agressiva na microbiota intestinal. Para além deste facto foi identificada como mais eficiente na redução da taxa de recorrência em cerca de metade quando comparada com a vancomicina (Asempa & Nicolau, 2017; Messias *et al.*, 2018).

Outro tipo de terapia que poderá ser utilizada é o uso de probióticos, uma vez que estes contêm na sua constituição suplementos nutricionais compostos por colónias de microrganismos, onde foi demonstrado um resultado positivo dos mesmos na prevenção da ICD primordial devido à sua capacidade de recuperação da flora intestinal (Asempa & Nicolau, 2017; Czepiel, *et al.*, 2019). No entanto não existem dados suficientes sobre o papel dos mesmos no modo de ação no tratamento, daí não serem sugeridos para esse efeito ou como agentes na prevenção numa primeira instância (Czepiel, *et al.*, 2019).

Outra forma de terapia é a imunização por Bezlotoxumab. Trata-se de uma terapia imunológica de um anticorpo monoclonal com poder de se ligar à toxina B. Este método foi demonstrado através

de indivíduos colonizados que não apresentavam sintomas e possuíam concentrações elevadas de anticorpos contra toxinas A e B que revelaram ser protetores. Assim o uso deste anticorpo monoclonal revela ter o benefício de permitir que ocorra um aumento da imunidade para as toxinas causadoras de ICD, com a vantagem de não desregular a microbiota intestinal ao contrário dos antibióticos. Aplicando estes anticorpos monoclonais direcionados à toxina poderá reduzir-se o risco de recorrência da ICD, por isso foi aprovado em 2016 como um agente disponível para uso da prevenção de ICDr em pacientes que possuem um elevado risco de a contrair (Czepiel, *et al.*, 2019).

### **Transplante de Microbiota fecal como tratamento do *Clostridium difficile* recorrente**

O transplante de microbiota fecal (TMF) foi utilizado pela primeira vez no século IV por Ge Hong como tratamento para casos de diarreia grave ou intoxicação alimentar (Czepiel, *et al.*, 2019; Liubakka & Vaughn, 2016). Este método foi novamente documentado no século XVII na Europa no ramo da medicina veterinária, sendo que em 1958 foi pela primeira vez publicado um estudo realizado sobre esta temática, envolvendo clisteres fecais para o tratamento adjuvante da colite pseudomembranosa provocada por antibióticos. Em 1983 foi comunicado o primeiro transplante fecal num indivíduo com ICD. Após esta data não foi relatado mais nenhum caso até 2010, altura em que este procedimento se tornou cada vez mais reconhecido como uma solução eficaz para casos de recorrência da ICD, sendo hoje em dia considerado o tratamento que revelou ter a maior taxa de prevenção contra ICDr entre todas as alternativas abordadas (Czepiel, *et al.*, 2019; Liubakka & Vaughn, 2016).

Este método tem como função restabelecer a microbiota intestinal normal a partir do seu estado de descompensação, através de fezes de um dador com um microbioma saudável para o doente. Desta forma irá ocorrer uma competição entre as estirpes toxinogénicas e a microflora transferida terminando assim com a infeção, uma vez que o *Clostridium difficile* se trata de um agente patogénico oportunista multiplicando-se apenas quando há uma desregulação da flora. Segundo um consenso redigido em 2010 para se colocar em ação o TMF é necessário considerar doentes nas seguintes situações: presença de múltipla

recorrência, ICD moderada com falha na terapêutica de primeira linha durante uma semana e ICD severa ou fulminante sem resposta depois de 48 horas após terapia (Liubakka & Vaughn, 2016).

A forma como se prepara e processa o TMF ainda não apresenta um procedimento padrão, sendo que existem diversos ensaios para descobrir qual a melhor forma de o fazer de modo a ter em atenção o doente. No entanto, atualmente, as fezes do dador são diluídas numa solução salina, homogeneizadas, filtradas de modo a obter uma solução líquida que possa ser aplicada (Czepiel, *et al.*, 2019; Messias *et al.*, 2018). Este preparado pode ser administrado de diferentes formas, incluindo o trato gastrointestinal inferior como colonoscopia, e enema, o trato gastrointestinal superior, onde se incluem a endoscopia, cateter nasofágico ou ingestão de cápsulas (Czepiel, *et al.*, 2019).

Relativamente à via colonoscópica, trata-se da via mais utilizada por possibilitar a observação direta da área afetada, a melhor retenção do líquido fecal e uma maior infusão do volume do mesmo. No entanto, existe o risco de perfuração da mucosa quando a mesma se encontra demasiado inflamada. Já a via nasogástrica, sendo eficiente e segura, é indicada para doentes com contraindicações para a via descrita anteriormente. A maior complicação deste método de administração é a aspiração do material e a regurgitação. Comparativamente, a via colonoscópica revelou um maior efeito em relação à via nasogástrica (Czepiel, *et al.*, 2019; Messias *et al.*, 2018). Outra via utilizada é o enema de retenção, um procedimento mais fácil, com menos complicações e de baixo custo, porém possuiu como obstáculo o facto de ser difícil manter o material fecal, quando é necessário repetir o procedimento (Czepiel, *et al.*, 2019). A ingestão de cápsulas revestidas de gelatina onde é colocado no seu interior o material fecal centrifugado, é semelhante aos outros meios, no entanto necessitam de um maior período de tempo para melhorar clinicamente. Apresentam, no entanto, como vantagem o fácil armazenamento, o baixo custo, baixa taxa de efeitos adversos, facilidade de administração e o facto de ser não invasivo e ser seguro para doentes com um maior grau de severidade. A única desvantagem prende-se com os doentes que apresentam dificuldades de deglutição, situação que aumenta o risco de broncoaspiração. Uma das formas de armazenamento e controlo de amostras é o congelamento das cápsulas, uma

vez que permite realizar uma seleção dos dadores previamente, possibilitando analisar as amostras para identificar possíveis infecções virais (Messias *et al.*, 2018). O facto de estas serem administradas a fresco ou congeladas não possui qualquer impacto, sendo a taxa de eficácia semelhante, 92% e 93% respetivamente (Song & Kim, 2019). Para que este procedimento se realize é necessário a escolha dos dadores, sendo essencial a seleção de indivíduos saudáveis, com idade superior a 18 anos; algumas sociedades estipulam os 60 anos como idade limite para doar. Estes devem preferencialmente fazer parte do círculo familiar, serem amigos do doente, ou serem da mesma região de modo a possuírem os mesmos hábitos alimentares e fatores de risco idênticos de modo a diminuir a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos. Podem, no entanto, em último caso, ser indivíduos voluntários não relacionados com o doente (Meneses *et al.*, 2018; Messias *et al.*, 2018). A transferência de agentes patogénicos e o desenvolvimento de perturbações autoimunes por parte do recetor são duas das grandes preocupações destes procedimentos, pois embora estes riscos sejam minimizados, podem sempre ocorrer. O material dos dadores deve ser analisado para a presença de vírus, bactérias e parasitas (Liubakka & Vaughn, 2016; Czepiel, *et al.*, 2019). Para além disto, são contraindicados indivíduos que utilizem imunossuppressores, realizem quimioterapia, tenham realizado uma terapia antimicrobiana ou tenham estado hospitalizados nos últimos 6 meses e histórico de patologias gastrointestinais (doença celíaca, ou DII) (Kim *et al.*, 2018).

### Eficácia do Transplante de Microbiota Fecal na Infecção por *Clostridium difficile* recorrente

Foram analisados três casos clínicos, de forma a ilustrar o tema aqui em debate.

1º Caso: Segundo um estudo realizado por Reigadas, *et al.*, foi relatada a utilização do TMF em 13 portadores de ICDr, com idade média de 75 anos, sendo que destes 76,9% eram do sexo feminino. Foram realizados três métodos diferentes de administração. Em 6 pacientes foi utilizada a via nasogástrica, em 2 por via colonoscópica e 5 utilizando as cápsulas orais. Os dadores foram 30,8% familiares e os outros foram dadores voluntários considerados saudáveis. Em dois destes procedimentos foi utilizado material fresco e os restantes congelados. Os resultados obtidos (Figura 1) foram reduzidos apenas a 12 pacientes, uma vez que um acabou por falecer por causas não relacionadas ao TMF. Assim, a taxa de solução primária foi de 83,3% (10/12), onde os dois indivíduos que não obtiveram resolução demonstraram diarreia após 2 meses de realizarem o tratamento. Foram tratados com vancomicina, sendo num deles novamente realizado TMF sem nenhuma recidiva observada posteriormente, resultando assim numa taxa de cura de 91,7% para estes métodos. Relativamente a complicações pós-transplante, ocorreram em apenas um participante após 72 horas, apresentando dor abdominal, febre, tendo sido identificada, por cultura, a presença do agente patogénico *E. coli* (Reigadas, *et al.*, 2018).

Patient number	Number of FMT	Administration	Fresh or frozen	Quantity	FMT- related complications	Primary outcome resolution	Secondary outcome (overall resolution)
1	1	Nasojejunal	Fresh	200ml	NA*	NA*	NA*
2	1	Nasojejunal	Fresh	200ml	NO	YES	YES
3	1	Nasojejunal	Frozen	200ml	NO	YES	YES
4	1	Nasojejunal	Frozen	120ml	NO	YES	YES
5	1	Nasojejunal	Frozen	-	NO	YES	YES
6	1	Nasojejunal	Frozen	-	NO	NO	NO**
7	1	Colonoscopy	Frozen	300ml	YES ( <i>E. coli</i> bacteremia)	YES	YES
8	1	Colonoscopy	Frozen	200ml	NO	YES	YES
9	1	Oral capsules	Frozen	15 capsules/day; 2 days	NO	YES	YES
10	1	Oral capsules	Frozen	15 capsules/day; 2 days	NO	YES	YES
11	1	Oral capsules	Frozen	15 capsules/day; 2 days	NO	YES	YES
12	2	Oral capsules	Frozen	15 capsules/day; 2 days	NO	NO	YES
13	1	Oral capsules	Frozen	15 capsules/day; 2 days	NO	YES	YES

NA\*: Not applicable, the patient died of causes not related to FMT within a week of FMT, and outcome could not be assessed. NO\*\*: The patient did not receive any additional transplants.

**Figura 1** - Procedimento realizado do TMF e respetivos resultados

Fonte: Reigadas, *et al.*, 2018

2º Caso: Ponte, *et al.*, publicaram em 2015 um estudo onde foram realizados 8 TMF a 6 doentes, com idade média de 71 anos, onde 66,7% eram do sexo feminino. Todos os participantes detinham um histórico recente de tratamento com antibióticos, 66,7% utilizava inibidores de bomba de prótons e 33,3% tinha uma sonda nasogástrica para nutrição entérica. Dos seis, cinco foram sujeitos a apenas um TMF, enquanto o outro doente passou por três TMF, onde um deles foi por colonoscopia. A forma de administração foi de 87,5% por endoscopia digestiva e a restante por colonoscopia. Foi excluído um dos pacientes, devido a uma infeção respiratória que necessitou ser tratada com recurso a antibióticos provocando a recaída da ICD. Os resultados obtidos foram concordantes para a via de administração colonoscópica (1/1) e com percentagem de 83,3% para o método da endoscopia na solução primária e 100% na solução secundária. Ocorreram casos que apresentaram diarreia após transplante, sintoma que foi solucionado até 2 dias, não sendo observado nenhum efeito adverso (Figura 2) (Ponte, *et al.*, 2015).

**Table II. Characteristics of FMT and episode of CDI in which FMT was performed**

Patient no.	No. previous CDI episodes	Time from CDI to FMT (days)	Confirmation CDI	PMC	WBC (/ul)	Creatinine level (mg/dL)	Albumin (g/dL)	Shock	Prior treatment	Indication for FMT	FMT route	Cure	Time from FMT to resolution of diarrhea (days)	Follow-up after FMT (months)	Adverse events
1	4	183	GDH/Toxin(EIA)	Yes	11,510	0.7	2.6	No	M+V+F	Recurrent	Upper	Yes	1	9	No
2	0	16	GDH/Toxin(EIA)	Yes	38,530	1.26	3.3	No	V	Refractory	Upper	Yes	2	6	No
3	0	20	GDH/Toxin(PCR)	ND	17,670	0.89	3.3	No	V	Refractory	Upper	Yes	1	4	No
4	3	91	GDH/Toxin(EIA)	No	26,210	0.61	2.4	No	M+V+F	Recurrent	Upper	Yes	1	2	No
5	0	33	GDH/Toxin(PCR)	Yes	13,170	0.79	2.3	No	M+V	Refractory	Upper	Yes	1	2	No
6	2	122	GDH/Toxin(EIA)	Yes	16,950	0.5	2.4	Yes	M+V+F	Recurrent	Upper	No*	1	9	No
6	5	268	GDH/Toxin(EIA)	Yes	28,980	1.36	2.1	No	M+V+F+upper FMT	Recurrent	Upper	No	2	4	No
6	6	306	GDH/Toxin(PCR)	Yes	15,430	0.68	1.2	No	M+V+F+upper FMT	Recurrent	Lower	Yes	2	3	No

CDI: *Clostridium difficile* infections; EIA: Enzyme Immunoassay; FMT: Fecal microbiota transplantation; F: Fidaxomicin; GDH: Glutamate dehydrogenase; M: Metronidazole; PCR: Polymerase chain reaction; PMC: Pseudomembranous colitis; V: Vancomycin; WBC: White blood count. \*Excluded due to subsequent antibiotic treatment for respiratory infection.

### Figura 2 - Procedimento realizado do TMF e respetivos resultados

Fonte: Ponte, *et al.*, 2015

3º Caso: Kim *et al.*, efetuaram uma revisão retrospectiva de 35 pacientes que realizaram TMF. Destes 30 eram do sexo feminino, onde 20 possuíam idade inferior a 65 anos e os restantes superior a 65 anos. 25 dos pacientes encontravam-se integrados na população com alto risco de contrair a doença (incluindo profissionais de saúde), 8 possuíam histórico de DII, 9 utilizaram inibidores de bomba de prótons e 8 doentes encontravam-se a realizar terapia com imunossuppressores. Todos os 35 já tinham realizado tratamento para ICD com antibióticos. Quanto aos resultados apresentados, dos 35 indivíduos, 30 (85,7%) apresentaram uma resolução da sintomatologia, sendo que os restantes continuaram a apresentar a mesma. Destes, 5 possuíam a estirpe BI/NAP1/027, observando-se uma taxa de sucesso de 60% (Kim *et al.*, 2018).

Specific variables	Success	Failure
Rate in inflammatory bowel disease	6 (75.0%)	2 (25.0%)
Rate in high-risk population	20 (80.0%)	5 (20.0%)
Rate in proton pump inhibitor use	7 (77.8%)	2 (22.2%)
Rate in immunosuppressant use	5 (62.5%)	3 (37.5%)
Overall rate	30 (85.7%)	5 (14.3%)

Values as n (%).

### Figura 3 - Resultados observados após TMF

Fonte: (Kim, Gadani, Abdul-Baki, Mitre, & Mitre, 2018)

## Discussão

A microbiota intestinal e o seu modo de ação no ser humano tem revelado interesse e importância no meio científico nos últimos anos, uma vez que estudando dois indivíduos considerados saudáveis, estes dois apresentam uma flora intestinal distinta, influenciada por distintos fatores como idade, área geográfica, medicação, alimentação, estilo de vida. Todos estes fatores provocam uma alteração da flora intestinal no entanto, a medicação, principalmente os antibióticos, são os que provocam a maior alteração desta microflora. Os antibióticos de largo espectro, principalmente nos casos de utilização prolongada, são os mais propensos a promover este desequilíbrio, uma vez que atuam nas estirpes patogênicas e não patogênicas (toda a flora), aumentando a probabilidade de criar resistência aos mesmos para ambas estirpes e possibilitando o aumento das mais oportunistas, como é o caso do *Clostridium difficile* (Meneses *et al.*, 2018).

De entre as várias formas de tratamento abordado, o metronidazol continua a ser o antibiótico mais utilizado para infecções leves a moderadas. Todavia, a vancomicina e a fidaxomicina são outras alternativas passíveis de serem utilizadas com uma maior eficácia, embora com altas taxas de recorrência. Embora se considere que não existe um tratamento único para todos os casos, sendo necessário estudar bem os fatores de cada paciente, como a gravidade da infecção e existência de comorbidades e recorrências, o TMF tem sido um exemplo de sucesso e eficácia no tratamento da ICD e da sua recorrência (Asempa & Nicolau, 2017; Messias *et al.*, 2018).

A microbiota intestinal de indivíduos com ICDr é notoriamente mais baixa comparativamente a indivíduos saudáveis. O transplante de microbiota fecal poderá ser extremamente importante, visto que este se trata da infusão de uma suspensão de fezes retiradas de um indivíduo com flora gastrointestinal saudável de modo a que a mesma vá equilibrar e restabelecer a do indivíduo com a patologia. (Ponte, *et al.*, 2015; Reigadas, *et al.*, 2018) Estudos atuais demonstram que o TMF tem vindo a apresentar taxas de 81% a 100%, sendo que segundo uma revisão realizada recentemente se verificou que 92% dos pacientes obtiveram uma recuperação dos sintomas, onde destes, 89% após

um único tratamento e apenas 5% apresentaram resolução dos mesmos após um retratamento, devido à falha ou recidiva. Estas falhas podem ter por base a insuficiência da microbiota intestinal realizada no primeiro transplante o que é, como referido, corrigido com um transplante adicional (Ponte, *et al.*, 2015).

Vários ensaios clínicos têm vindo a ser realizados de modo a comparar as diferentes formas de administração (Via gastrointestinal inferior e superior) possíveis para este método, analisando quais os seus resultados, vantagens e desvantagens, bem como qual a forma mais confortável de realizar a mesma tendo em atenção o paciente, com o objetivo de selecionar o melhor (Messias *et al.*, 2018). Assim as diversas formas descritas têm vindo a ser alvo de variados estudos, sendo exemplo os três casos apresentados anteriormente. Relativamente aos dados recolhidos nos mesmos, todos foram unânimes entre si, demonstrando a taxa de eficácia elevada de resolução para o TMF, obtendo-se em todos uma percentagem superior a 80% para as diferentes vias de administração. (Kim *et al.*, 2018; Ponte, *et al.*, 2015; Reigadas, *et al.*, 2018) Todos estes dados recolhidos foram concordantes com outros estudos realizados, uma vez que a taxa de sucesso do TMF ronda igualmente os 80% a 90% em ICDr (Asempa & Nicolau, 2017).

Em relação à via de administração, foi observada uma taxa de 100% para a via colonoscópica e a ingestão de cápsulas orais, onde existe a referência à possível preferência das cápsulas, uma vez que as mesmas são igualmente seguras e fáceis de deglutir. Outros estudos realizados relataram que quando utilizada a via endoscópica e nasogástrica, a percentagem de resolução do TMF para a infecção por *Clostridium difficile* é de 76% a 79% dos pacientes em contraste com 91% por colonoscopia (Ponte, *et al.*, 2015). No entanto a via nasogástrica ou outras relativas a esta via, são indicadas como tratamento da ICDr ligeira a moderada, enquanto a colonoscópica, devido a permitir uma inserção de um maior volume de material fecal e permitir a caracterização da extensão e gravidade, é recomendada para casos mais severos apresentando, todavia, com risco de perfuração do colón. (Ponte, *et al.*, 2015) Já em relação às cápsulas, um estudo realizado por Kao *et al.* comparou-o ao da via colonoscópica revelando que não existiram

resultados distintos, (taxa de solução de 96,2% para ambas as vias). Contudo, em relação à opinião dos pacientes, a utilização de cápsulas revelou ser preferencial devido a ser menos invasivo (Reigadas, *et al.*, 2018).

Para além das vias de administração abordadas anteriormente, existem ainda estudos que comprovam a eficácia do TMF infundido de outras formas, como o método combinado de enteroscopia com colonoscopia, o qual revelou possuir uma elevada taxa de sucesso, com redução dos sintomas e eliminação das toxinas produzidas por *Clostridium difficile* em apenas uma aplicação. Contudo, este não é tão selecionado devido a envolver duas técnicas e estar associado a um elevado custo. A utilização de enemas (embora não tenha sido abordado em nenhum dos estudos selecionados), tem taxa de sucesso elevada, porém revelou ser um processo que necessitava de repetições sucessivas até às manifestações clínicas melhorarem, principalmente nos casos de maior severidade, dado que não respondiam tão rapidamente ao tratamento (Messias *et al.*, 2018).

Atualmente ainda existe pouca informação da utilização do TMF para tratamento da ICD severa, no entanto Lagier *et al.* relatou que após um surto de ICD provocado pela estirpe hipervirulenta e tratado com TMF precoce, demonstrou uma taxa de mortalidade reduzida. (Reigadas, *et al.*, 2018) O mesmo foi observado no estudo por Kim *et al.*, onde foi encontrada uma ligação significativa entre o sucesso do TMF e esta estirpe, sendo obtido no estudo realizado uma taxa de 60% de resolução para pacientes portadores da estirpe hipervirulenta. Segundo uma revisão prévia realizada pelos autores do mesmo artigo abordado, foi demonstrada uma taxa de resolução de 89% após a realização TMF em pacientes com esta estirpe (Kim *et al.*, 2018).

No entanto devido ao pequeno número de pessoas participantes na maioria dos estudos realizados, podem existir outros fatores que podem influenciar os resultados obtidos, pois seria mais preciso e mais fiável realizar este tipo de estudos com um número de indivíduos maior e com fatores de risco diversificados, como imunocomprometidos. (Kim *et al.*, 2018) Relativamente à eficácia do tratamento da infeção recorrente nos imunocomprometidos,

são poucos os relatos disponíveis, uma vez que devido ao desconhecimento dos possíveis efeitos adversos e possíveis complicações da realização deste tratamento, existe receio em executá-lo, pois estes doentes apresentam defesas baixas na mucosa intestinal. (Messias *et al.*, 2018). Foi, no entanto, relatado no jornal *The New York Times* em junho de 2019, que a *Food and Drug Administration* (FDA) suspendeu a realização do transplante de microbiota fecal nos Estados Unidos devido a um estudo experimental em dois pacientes imunocomprometidos que provocou a morte de um dos pacientes e levou o outro paciente a um estado crítico de saúde. Ambos receberam uma amostra de fezes do mesmo dador, porém estas não teriam sofrido as análises necessárias para a pesquisa de organismos patogénicos, contraindo assim uma bactéria *E. coli* multirresistente e hipervirulenta. Torna-se, assim, importante que se realize esta triagem das amostras fecais, sendo que caso se revelem presentes quaisquer tipos de vírus, parasitas ou bactérias patogénicas, as mesmas não devem ser administradas (Grady, 2019).

Outras populações de risco, para além dos imunocomprometidos são, como já referido, pessoas com idade avançada, devido a ser comum, nesta faixa etária, a ocorrência de sucessivos internamentos (aumenta a exposição ao patógeno e consequentemente à sua transmissão) e uso persistente de antibióticos e medicamentos imunossuppressores, diminuição da resposta imunitária, entre outros. No entanto, embora se observe uma elevada taxa de letalidade junto das pessoas mais idosas, a forma como se enquadram na população de risco não é clara (Pereira, 2014). Outros fatores a ter em atenção é a presença de comorbidades importantes, estados de saúde que aumentem o risco de contrair efeitos adversos, como indivíduos que estejam a tomar medicações à base de corticosteroides, imunossuppressores, agentes anti-fator de necrose tumoral, doentes a receber quimioterapia, com cirrose hepática avançada e pacientes que tenham sido submetidos recentemente a um transplante de medula óssea (Cêrca, 2018). O transplante de microbiota fecal apresenta-se como uma alternativa eficaz e que pode ser utilizada como primeiro tratamento, uma vez que possui taxas elevadas de sucesso, é eficaz em relação aos antibióticos e são diminutas as

reações adversas encontradas no seu uso (Ponte, *et al.*, 2015). No entanto esta situação deverá ser minuciosamente monitorizada uma vez que os resultados obtidos variam consoante os efeitos adversos observados, sendo necessário avaliar se os mesmos provêm do transplante realizado ou se estão relacionados com outras comorbidades que os pacientes com ICDr possam apresentar (Cêrca, 2018).

São poucos os estudos que demonstram os efeitos adversos, no entanto, nos observados anteriormente, apenas um revelou ter uma complicação pós-transplante, porém na sua maioria estes estão relacionados com a sensação de desconforto gastrointestinal (que cessa em 12 horas), náuseas, dor abdominal, inchaço, flatulência, desconforto retal e incapacidade de evacuar. De um modo geral os pacientes que apresentam esses efeitos são os doentes com DII ou outra patologia relacionada com o trato intestinal (Asempa & Nicolau, 2017; Messias *et al.*, 2018; Ponte, *et al.*, 2015). Abordando a longo prazo, numa publicação realizada em 2018 sobre os efeitos do tratamento após o transplante numa média de 3,8 anos de seguimento dos pacientes que apresentavam ICDr, não foram relatados desenvolvimento de doenças autoimunes, DII, alergias, doenças do sistema nervoso ou outras patologias (Kim *et al.*, 2018). Um dos maiores entraves deste tratamento resume-se na aceitação, por parte dos clínicos, uma vez que quando questionados, 65% não o indicam como solução permanente da ICDr. A principal razão para este comportamento deve-se à falta de protocolos e uma logística adequada do transplante, bem como o desconhecimento da aceitação por parte dos doentes (Messias *et al.*, 2018).

## Conclusão

O uso atual de antibióticos ganhou proporções muito elevadas, revelando-se um problema de saúde pública de forma global, tendo como consequência o aumento da incidência da ICD, tanto na sua forma primária como mais grave e recorrente. Esta ICDr ocorre entre 5 a 30% dos indivíduos, no primeiro evento, tratados de forma correta com metronidazol ou vancomicina. Com base em trabalhos realizados, o TMF revelou ser a melhor solução entre estes pacientes, uma vez que foram observadas taxas de recorrência muito elevadas com o uso de antibióticos, sendo que esta alternativa demonstrou uma taxa de recuperação de quase 100%.

Esta técnica revelou assim ser um tratamento inovador como resposta a ICDr em alternativa a falhas nas terapias padrão, embora ainda necessite de mais estudos antes de ser selecionada como recomendada. Prevê-se que futuramente tratamentos para esta infeção irão envolver formas como TMF na sua via de administração em cápsula e o uso de próbióticos, tanto para tratamento como prevenção.

É importante referir que a prevenção da infeção por *Clostridium difficile* poderá ser evitada com a implementação de medidas de controlo principalmente junto dos profissionais de saúde, descontaminação dos equipamentos médicos e do ambiente envolvente, bem como a prescrição adequada de antibióticos.

## Referências Bibliográficas

- Alves, L. (2015). Universidade da Beira Interior. Obtido em 2019, de [https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5177/1/4008\\_7790.pdf](https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5177/1/4008_7790.pdf)
- Anjewierden, S., Han, Z., Foster, C. B., Pant, C., & Deshpande, A. (2019). Risk Factors for *Clostridium difficile* infection in pediatric inpatients: A meta-analysis and systematic review. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 40(4), 420-426. doi:10.1017/ice.2019.23
- Asempa, T. E., & Nicolau, D. P. (2017). *Clostridium difficile* infection in the elderly: an update on management. *Clinical Interventions in Aging*, 12, 1799-1809. doi:10.2147/CIA.S149089
- Bakken, J. S., T, B., LJ, B., JV, B., DC, D., MA, F., . . . C, S. (2011). Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(12), 1044-1049. Obtido de <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2011.08.014>
- Bartlett, J. G. (2017). *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*, 31(3), 489-495. Obtido de <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.05.012>
- Bispo, M. (2012). Aumento alarmante da incidência da diarreia associada ao *clostridium difficile* em Portugal. *Jornal Português de Gastroenterologia*, 19(6), 276-277. Obtido de <https://dx.doi.org/10.1016/j.jpg.2012.09.003>
- Cêrca, I. (2018). Repositório Institucional. Obtido em 2019, de Universidade Fernando Pessoa: [https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/7347/1/PPG\\_27588.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/7347/1/PPG_27588.pdf)
- Jacek Czepiel, Mirosław Drózdź, Hanna Pituch, Ed J Kuijper, William Perucki, Aleksandra Mielimonka, Sarah Goldman, Dorota Wultańska, Aleksander Garlicki, Grażyna Biesiada. (2019) *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019 Jul;38(7):1211-1221.
- Cojocariu, C., Stanciu, C., Stoica, O., Singeap, A. M., Sfarti, C., Gîrleanu, I., & Trifan, A. (2014). *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 25, 603-610. doi:10.5152/tjg.2014.14054
- Czepiel, J., Drózdź, M., Pituch, H., Kuijper, E. J., Perucki, W., Mielimonka, A., . . . Biesiada, G. (2019). *Clostridium difficile* infection: review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(1211), 1-11.
- Dayananda, P., & Wilcox, M. H. (2019). A Review of Mixed Strain *Clostridium difficile* Colonization and Infection. *Frontiers in Microbiology*, 10. doi:0.3389/fmicb.2019.00692
- DePestel, D. D., & Aronoff, D. M. (2013). Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection. *Journal of pharmacy practice*, 26(5), 464-475. doi:10.1177/0897190013499521.
- DGS. (2019). Direção Geral de Saúde. Obtido de <https://www.dgs.pt/a-direccao-geral-da-saude/comunicados-e-despachos-do-director-geral/esclarecimento-sobre-infeccao-por-clostridium-difficile.aspx>
- Fehér, C., Soriano, A., & Mensa, J. (2017). A Review of Experimental and Off-Label Therapies for *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Diseases and Therapy*, 6(1), 1-35. Obtido de <https://doi.org/10.1007/s40121-016-0140-z>
- G. Bartlett, J. (2017). *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*, 31(3), 489-495. Obtido de <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.05.012>
- Grady, D. (13 de Junho de 2019). Fecal Transplant Is Linked to a Patient's Death, the F.D.A. Warns. *The New York Times*. Obtido de <https://www.nytimes.com/2019/06/13/health/fecal-transplant-fda.html>
- Júnior, M. S. (Março de 2012). Recent changes in *Clostridium difficile* infection. Obtido em 2019, de <https://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082012000100023>
- Kim, P., Gadani, A., Abdul-Baki, H., Mitre, R., & Mitre, M. (2018). Fecal microbiota transplantation in recurrent *Clostridium difficile* infection: A retrospective single-center chart review. *JGH open: an open access journal of gastroenterology and hepatology*, 3(1), 4-9. doi:10.1002/jgh3.12093
- Liubakka, A., & Vaughn, B. P. (2016). *Clostridium difficile* Infection and Fecal Microbiota Transplant. *AACN advanced critical care*, 27(3), 324-337. doi:10.4037/aacnacc2016703
- Meneses, R. B., Filardi, K. F., Bagano, P. F., Machado, R. G., & Fernandes, S. L. (2018). Transplante de microbiota fecal no tratamento da infecção por *Clostridium difficile* recorrente—uma revisão. *International Journal of Nutrology*, 11(02), 051-055. doi:10.1055/s-0038-1669391
- Messias, B., Franchi, B., Pontes, P., Barbosa, D., & Viana, C. (2018). Fecal microbiota transplantation in the treatment of *Clostridium difficile* infection: state of the art and literature review. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias*, 45(2), e1609. Obtido de <https://dx.doi.org/10.1590/0100-6991e-20181609>
- Mills, J. P., Rao, K., & Young, V. B. (2018). Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. *Current opinion in gastroenterology*, 34(1), 3-10. doi:10.1097/MOG.0000000000000410
- Pereira, N. G. (2014). Infecção pelo *Clostridium*. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 102(5). Obtido de <http://files.bvs.br/upload/S/0/047-2077/2014/v102n5/a4506.pdf>
- Ponte, A., Pinho, R., Mota, M., Silva, J., Vieira, N., Oliveira, R., . . . Carvalho, J. (Julho de 2015). Initial experience with fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile*. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 107(7), pp. 402-407.
- Reigadas, E., Olmedo, M., Valerio, M., Vázquez-Cuesta, S., Alcalá, L., Marín, M., . . . Bouza, E. (2018). Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection: Experience, protocol, and results. *Official journal of the Spanish Society of Chemotherapy*, 31(5), 411-418.
- Rocha, D. (Junho de 2017). SIGARRA U.Porto. Obtido em 2019, de [https://sigarra.up.pt/ffup/pt/pub\\_geral.show\\_file?pi\\_doc\\_id=134747](https://sigarra.up.pt/ffup/pt/pub_geral.show_file?pi_doc_id=134747)
- Santos, A., Isidro, J., Júlio, C., & Oleastro, M. (Março de 2015). *Clostridium difficile*: diversidade genética e perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos. (I. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Ed.) Obtido de Repositório Científico do Instituto Nacional de Saúde: <http://hdl.handle.net/10400.18/2998>
- Sartelli, M, et al (2019). 2019 update of the WSES guidelines for management of Clostridioides (*Clostridium*) *difficile* infection in surgical patients *World J Emerg Surg* 28;14:8. doi: 10.1186/s13017-019-0228-3. eCollection 2019.
- Song, J. H., & Kim, Y. S. (2019). Recurrent *Clostridium difficile* Infection: Risk Factors, Treatment, and Prevention. *Gut and Liver*, 13(1), 16-24. Obtido de <https://doi.org/10.5009/gnl18071>
- Vieira, A. M., Machado, M., Lito, L., Cristino, J., Fernandes, A., Maldonado, R., . . . Velosa, J. (2010). Diarreia Associada a *Clostridium Difficile* num Hospital Central. *Jornal Português de Gastroenterologia*, 17(1), 10-17. Obtido de [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0872-81782010000100003&lng=pt&tIng=pt](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-81782010000100003&lng=pt&tIng=pt).