



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

MARCO JOSÉ GONÇALVES ALMEIDA

**TRANSPLANTAÇÃO FECAL, O ESTADO DA ARTE
ARTIGO DE REVISÃO**

ÁREA CIENTÍFICA DE GASTROENTEROLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR LUÍS FILIPE FURTADO SOARES TOMÉ**

SETEMBRO/2015

RESUMO

O microbioma intestinal refere-se ao conjunto de bactérias alojadas no trato gastrointestinal que interagem através de vários mecanismos complexos. A perturbação deste verdadeiro ecossistema está na base de várias doenças entéricas, sendo a infeção por *Clostridium difficile* a mais estudada. A modulação dos microbiotas intestinais surge assim como arma terapêutica potencial e tem sido objeto de numerosos estudos nesse sentido. Entre as várias formas de modulação da flora está a transplantação fecal, uma técnica recente que consiste na introdução de material fecal proveniente de dador saudável no trato gastrointestinal do doente. Este procedimento implica uma escolha criteriosa do dador, colheita e manipulação adequadas do material fecal, preparação do recetor e administração do conteúdo preparado. Esta revisão foca-se sobretudo na modulação do microbioma pela transplantação fecal, com especial enfoque na forma como exerce o seu efeito, nos campos de aplicação desta técnica e em todo o procedimento que a transplantação implica, sem esquecer os efeitos adversos e os riscos que comporta. É também prospetivada a evolução futura da transplantação fecal.

Palavras-chave: transplantação fecal; transplantação de microbiotas; microbioma;

Clostridium difficile.

ABSTRACT

The intestinal microbiome refers to the bacteria present in the gastrointestinal tract that interact through several complex mechanisms. The disruption of this truly ecosystem is the basis of many enteric diseases of which the infection by *Clostridium difficile* is the most studied. Therefore, the modulation of intestinal microbiota emerges as a potential therapeutic weapon and has been the subject of many studies. Fecal transplantation is one way amongst others to modulate the flora, a recent technique involving the introduction of fecal material from the gastrointestinal tract of a healthy donor to the tract of the patient. This procedure involves a careful selection of the donor, collection and handling of fecal material, preparation of the recipient and administration of the content previously prepared. This review focuses mostly in the modulation of the microbiome by the fecal transplantation with special regard on how exerts its effects, the fields of application of this technique and the whole procedure involved in the transplantation, without forgetting its adverse effects and its risks. The expected evolution of the fecal transplantation is also mentioned.

Keywords: fecal transplantation; microbiota transplantation; microbiome; *Clostridium difficile*.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1.Introdução | 5 |
| 2.Breve nota histórica | 7 |
| 3.Importância dos microbiotas intestinais | 8 |
| 4.Formas de modulação dos microbiomas intestinais | 11 |
| 4.1.Antibióticos | 11 |
| 4.2.Prebióticos | 12 |
| 4.3.Probióticos | 12 |
| 4.4.Transplantação fecal | 12 |
| 5.Microbioma pré vs pós transplante | 14 |
| 6.Campos de aplicação | 16 |
| 6.1.Infeção por <i>Clostridium difficile</i> | 16 |
| 6.2.Doença inflamatória intestinal | 18 |
| 6.3.Síndrome do intestino irritável | 21 |
| 6.4.Outros | 21 |
| 7.Técnica do transplante | 23 |
| 7.1.Considerações gerais | 23 |
| 7.2.Rastreio de dador | 24 |
| 7.2.1.Questionário inicial | 24 |
| 7.2.2.Exames laboratoriais | 26 |
| 7.3.Colheita e preparação do material fecal | 28 |
| 7.4.Preparação do recetor e administração | 30 |
| 7.5.Efeitos adversos | 33 |
| 7.6.Follow-up pós-transplante | 36 |
| 7.7.Riscos da técnica | 37 |
| 8.Perspetivas futuras | 38 |
| 9.Conclusão | 40 |
| Referências bibliográficas | 41 |

LISTA DE ABREVIATURAS

CDI - Infecção por *Clostridium difficile*

CMV - Citomegalovírus

DII - Doença inflamatória intestinal

MRSA - *Staphylococcus aureus* metilina-resistentes

SII - Síndrome do intestino irritável

1 Introdução

O trato digestivo constitui um aparelho nobre na manutenção da homeostase corporal. Todos os processos que lá ocorrem, sejam de ordem metabólica, imunológica ou inflamatória, são de importância vital. Todas as funções gastrointestinais implicam uma interação com a grande comunidade bacteriana que se encontra alojada ao longo de todo o trato. O conjunto das comunidades bacterianas presentes no trato gastrointestinal constitui um perfil sujeito a variações ao longo do tempo, e é denominado microbioma intestinal.

A evidência da importância de um microbioma estável é hoje inequívoca. Muitos estudos suportam a ideia de que determinadas espécies bacterianas presentes no trato digestivo têm potencial patogénico, enquanto outras são protetoras, impedindo a colonização pelas anteriores através de vários mecanismos recentemente descobertos. A alteração do microbioma pode ser considerada adaptativa, e está dependente de vários fatores entre os quais a dieta.

A modulação do microbioma com efeito terapêutico é mundialmente utilizada pela comunidade médica, através da prescrição antibiótica. A utilização destes fármacos implica sempre um novo re-equilíbrio em função do espectro de ação. Esta dinâmica pode proporcionar o crescimento de algumas espécies patogénicas, até então apenas existentes em quantidades inofensivas.

Estudam-se hoje novas terapêuticas de modulação do microbioma, entre as quais a transplantação fecal ou transplantação de microbiotas. Este método implica a transferência da comunidade bacteriana intestinal de um dador saudável previamente estudado, para um recetor que possui um desequilíbrio no seu microbioma intestinal.

Um número crescente de doenças tem sido associado à destabilização do microbioma. A infecção por *Clostridium difficile* (CDI) tem sido a mais estudada no âmbito da transplantação e será, assim, a principal patologia abordada ao longo desta revisão. Representa hoje a principal causa de infecção associada a cuidados de saúde, ultrapassando a infecção por *Staphylococcus aureus* metilina-resistentes (MRSA). Também a doença inflamatória intestinal (DII) tem sido objeto de estudo, tal como a síndrome do intestino irritável (SII) pelo que também merecerão menção proporcional. Muito atrás seguem outras patologias que não se limitam ao trato digestivo mas que não reúnem consenso científico e sobre as quais existem ainda muito poucos estudos.

A transplantação fecal está associada a riscos, particularmente a transmissão de agentes infecciosos. Um dos objetivos deste trabalho é a elaboração de um processo de seleção e rastreio de dador, com base nos estudos existentes até à data atual, tendo em vista a minimização deste risco. Um segundo objetivo passa pela uniformização da técnica de colheita e preparação, duas etapas com impacto na eficácia do método.

2 *Breve nota histórica*

A utilização da transplantação fecal foi pela primeira vez reportada no séc. IV, sendo então descrita como uma suspensão fecal humana ingerida em casos de envenenamento ou diarreia severa. No séc. XVI, a técnica seria novamente mencionada por Li Shizhen que descreveria a administração oral de solução fecal fermentada, suspensão fecal (apelidada de sopa amarela), fezes secas ou fezes de criança para tratar diarreia severa, febre, dor, vômitos e obstipação. No séc. XVII a transplantação fecal começou a ser utilizada na medicina veterinária por via oral e retal, mais tarde denominada de transfaunação[1].

Em 1958, Eisemann descreveu a utilização da transplantação fecal através de enemas de retenção em quatro doentes com colite pseudomembranosa, tendo sido o primeiro protocolo descrito em humanos. Só em 1983, cinco anos após a descrição da bactéria, é que a CDI surge como alvo terapêutico documentado da transplantação fecal[1, 2]. Não restam contudo grandes dúvidas que muitos estudos que se sucederam ao de Eisemann estavam de facto a estudar infeções por *Clostridium difficile*[2].

Alterações sucessivas ao protocolo de Eisemann foram sendo feitas, inclusive nas vias de administração. Até 1989 a utilização de enemas era a via que predominava, período a partir do qual se começaram a utilizar outras vias tais como sonda nasogástrica, gastroscopia, colonoscopia e enemas auto-administráveis[1]. Atualmente, estima-se que aproximadamente 75% dos casos reportados de transplantação fecal foram realizados com recurso à colonoscopia ou enema de retenção, enquanto 25% foram realizados com recurso à sonda nasogástrica ou por gastroduodenoscopia[3].

3 Importância dos microbiotas intestinais

Os microbiotas intestinais referem-se a um conjunto complexo de células bacterianas que formam um verdadeiro ecossistema alojado no trato gastrointestinal. Sabe-se hoje que o número de células bacterianas é uma ordem de grandeza superior ao número total das células somáticas humanas e que há um aumento distal progressivo de bactérias ao longo do trato gastrointestinal[3, 4].

Ao nascimento, o intestino apresenta-se estéril. A composição que adquire é influenciada por diversos fatores tais como a genética, o tipo de parto, o método de alimentação, higiene e outros fatores ambientais[5-7]. Deste ponto de vista, é interessante a perspectiva de que todos nós somos submetidos a vários transplantes fecais naturais que resultam na colonização de algumas espécies que apenas se encontram no intestino humano[8]. Cedo na infância é estabelecido o equilíbrio nas comunidades bacterianas intestinais que permanece relativamente estável durante a vida, exceto se houver mudanças dietéticas major ou utilização de antibióticos[6, 9].

Num indivíduo saudável, os microbiotas intestinais desempenham um papel importante e complexo na homeostase corporal, intervindo em vias metabólicas importantes, na síntese de vitaminas essenciais e na hidrólise de hidratos de carbono complexos, no desenvolvimento e maturação da imunidade sistêmica e de estados inflamatórios, na regulação da motilidade gastrointestinal e na proliferação celular e diferenciação da barreira epitelial intestinal. Os microbiotas intestinais são também responsáveis pela defesa contra a invasão de espécies bacterianas exógenas, um conceito apelidado de “resistência de colonização” que envolve competição por nutrientes e por locais de adesão. Está demonstrada a particular importância dos anaeróbios obrigatórios na resistência à infecção, em oposição aos aero-tolerantes que diminuem a quantidade dos primeiros[4, 10-14].

Recentemente tem-se atribuído mais importância à produção de bacteriocinas e de moléculas imunomoduladoras derivadas de bactérias. Pensa-se que as bacteriocinas possam conferir vantagem à espécie que as produz, devido à sua atividade antimicrobiana, eliminando assim espécies que competem pelos mesmos nutrientes. O campo da ação das bacteriocinas não se limita ao trato gastrointestinal, especulando-se hoje qual a importância desta descoberta num conjunto de doenças de outros órgãos tais como os pulmões, nas quais as bacteriocinas circulantes originadas no intestino podem ser responsáveis pela seleção de microbiotas do trato respiratório. A síntese de moléculas imunomoduladoras e de bacteriocinas poderá ser um dos mecanismos que contribui para a eficácia da modulação do microbioma intestinal pela transplantação fecal, e deverá ser o alvo de muitos estudos no futuro[4, 15].

Outras explicações são também aparentemente viáveis. A simples ocupação do epitélio pela flora estável poderia explicar a eliminação de bactérias como *Clostridium difficile*. Também existe a possibilidade teórica de haver inibição direta da bactéria patogénica, ou de haver depleção de substratos que promovam a germinação de *Clostridium difficile*. Os sais biliares terão também um papel de relevo, visto que os sais biliares secundários gerados a partir dos primários pelas bactérias inibem o crescimento de formas vegetantes de *Clostridium difficile*[12].

A interação entre microbiota intestinal e a imunidade tem uma importância vital na sua utilização. Estudos feitos em ratos demonstraram a indução da diferenciação de linfócitos Th17 por algumas espécies de microbiotas intestinais tal como foi evidenciada a indução de linfócitos Treg por outras. Esta bivalência entre a indução de inflamação intestinal e sistémica (Th17) e a redução de inflamação intestinal (Treg) abre várias portas de estudo nestes capítulos[16-21].

O estilo de vida moderno de países desenvolvidos mudou a dinâmica da ecologia microbiótica humana numa dimensão ainda não quantificável. A higiene crescente e o uso de antibióticos, são apontados como responsáveis na diminuição da exposição a certas espécies ancestrais microbianas. Apesar de, em muitos casos, se tratarem de microrganismos patogénicos, nem sempre o benefício é absoluto. Esta alteração nos padrões de vida é provavelmente responsável pelo aumento da prevalência de doenças “modernas” tais como asma e obesidade[22-24].

4 Formas de modulação dos microbiotas intestinais

Perante a prova inequívoca de que existe alteração do microbioma intestinal num grande número de doenças, parece lógico tentar intervir a esse nível. Consideram-se várias formas de intervenção na modulação dos microbiotas intestinais tais como a dieta, antibióticos, prebióticos, probióticos e a transplantação de material fecal[25-27].

4.1 Antibióticos

Relativamente aos antibióticos, apesar de serem o pilar do tratamento da doença infecciosa nos dias de hoje, têm fortes inconvenientes tais como o aumento da resistência bacteriana aos mesmos, destruição da flora normal e absorção sistémica[25]. A demonstração em modelos animais que a utilização de antibióticos pode potenciar infeções por *Salmonella enterica* ou por *Vibrio cholerae* tem já mais de meio século de existência[28, 29]. Sabe-se hoje com elevada certeza que a utilização de antibióticos é o principal fator de risco no desenvolvimento de infeção por *Clostridium difficile* em humanos, estando na origem de 90% dos casos. Particularmente associados à infeção estão as fluoroquinolonas e os beta-lactâmicos[30]. O uso de antibióticos está associado à expansão de bactérias aerotolerantes[13]. Pensa-se que, em condições fisiológicas, a expansão de tais bactérias seja prevenida pela existência de anaeróbios obrigatórios sem que se tenha conseguido, contudo, até à data explicar o mecanismo pelo qual isso acontece[31]. A falta de seletividade para a destruição de bactérias patogénicas é a base da explicação para o desenvolvimento de CDI após utilização de antibióticos[25]. A desordem e redução da diversidade bacteriana gastrointestinal, a chamada “disbiose”, faz com que a exposição a *Clostridium difficile* nesse período possa ter como consequência o crescimento desta espécie, visto não haver resistência à sua colonização outrora exercida pelos microbiotas intestinais comensais[11]. Outras

bactérias patogénicas além de *Clostridium difficile* podem beneficiar da disbiose para se multiplicar e diferenciar[32].

O termo disbiose foi recentemente criticado por ter sempre implícito um efeito deletério para o hospedeiro. É argumentado que a alteração qualitativa nos microbiotas intestinais pode ser apropriada face a uma mudança no hospedeiro, ou simplesmente não ter quaisquer consequências patológicas[33].

4.2 Prebióticos

Um prebiótico é um ingrediente seletivamente fermentado que permite modificações específicas quer na composição quer na atividade da microflora gastrointestinal, conferindo benefícios no bem-estar e saúde do hospedeiro[34]. A efetividade dos prebióticos no tratamento de doença gastrointestinal ainda não está bem documentada atualmente[25].

4.3 Probióticos

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades apropriadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Na prática clínica tem-se utilizado probióticos para diversas doenças, apesar de não haver evidência sólida do seu benefício em todas elas[25]. Uma meta-análise revelou que o uso de probióticos juntamente com antibióticos na infeção por *Clostridium difficile* não foi superior ao uso isolado de antibióticos[35]. Parece, ainda assim, haver consenso quanto ao benefício dos probióticos na síndrome do intestino irritável[33].

4.4 Transplantação Fecal

A transplantação fecal de microbiotas implica a colheita de fezes a partir de um dador saudável, previamente investigado, preparação das mesmas, e infusão direta no trato gastrointestinal de um recetor com objetivos terapêuticos. A transplantação fecal tem a

vantagem de permitir a implantação estável a longo-prazo da flora do dador[36].Estão descritas várias vias de acesso tais como sonda nasogástrica, sonda nasoduodenal, sonda nasojejunal, colonoscopia ou enema[4, 37]. Foi inclusive descrita a combinação de vias de acesso, tais como colonoscopia seguida de enema, sonda nasojejunal ou jejunoscopia[36, 38]. A maioria dos transplantes de microbiotas fecais foram realizados utilizando a colonoscopia ou enemas de retenção, contabilizando estas duas vias 75% dos casos descritos até à data[39].

5 *Microbioma pré vs pós transplante*

A tecnologia metagenômica recente e a sequenciação do DNA e do 16S RNAr bacteriano permitiram expandir o conhecimento sobre o microbioma intestinal, catalogando a diversidade de microbiotas do trato gastrointestinal, em situações de saúde e de doença[4, 12, 26, 40, 41]. Em indivíduos saudáveis, os filos predominantes são Bacteroidetes e Firmicutes, correspondendo estes a 70-90% de toda a flora intestinal, enquanto Actinobacteria e Proteobacteria são muito menos comuns. Dentro de cada filo há uma multitude de espécies, estando hoje estimadas entre 500 e 2000, ao todo[4, 9, 40]. A forte depleção dos dois primeiros filos em situações de infecção por *Clostridium difficile* sugere que possam ter bastante importância como fatores protetores. Acresce ainda a informação de que em indivíduos com infecção recorrente por *Clostridium difficile*, a quantidade de Bacteroidetes e Firmicutes presente nas fezes é ainda menor que em situações de episódio único. Observa-se também uma prevalência anormalmente elevada de Proteobacterias em indivíduos doentes em fase pré-transplante[42-45]. Foi também demonstrada que em doentes com CDI, há depleção de bactérias produtoras de butirato, sugerindo a hipótese de que o butirato poderá limitar o crescimento de *Clostridium difficile*[46].

A transplantação fecal revoluciona a diversidade bacteriana do recetor. Duas semanas após a infusão fecal, as comunidades bacterianas do recetor são muito semelhantes às do dador, com especial predominância dos filos Bacteroidetes e Firmicutes (até 80% do total de sequências lidas) e depleção de Proteobacterias. A duração temporal desta alteração correlaciona-se com a eficácia da transplantação fecal. Sabe-se com segurança que a nova composição persiste por mais de 30 dias após transplantação, podendo-se manter até às 24 semanas[36, 42, 43, 45, 47-49].

Apesar da simples reposição de algumas espécies poder restaurar a resistência à colonização por bactérias patogénicas, resta ainda estudar a influência dos restantes componentes das fezes tais como ácidos biliares, proteínas e bacteriófagos[50]. Foi já documentado por um estudo que a quantidade de ácidos gordos de cadeia curta presente nas fezes após o transplante aumenta para níveis iguais aos de indivíduos saudáveis, facto que merecerá certamente maior atenção da parte dos investigadores, num futuro próximo[51]. Outro estudo demonstrou que ácidos gordos de cadeia curta produzidos por *Bifidobacterium* comensais atuam no epitélio inibindo a translocação de toxinas do tipo Shiga, produzidas pela *E.coli* O157:H7[52].

6 Campos de aplicação

6.1 Infecção por *Clostridium difficile*

O número de infecções por *Clostridium difficile* tem vindo a aumentar, sendo que apresenta um crescimento exponencial desde o ano 2000, com aumento da mortalidade e da morbilidade desde então[2]. Trata-se de uma bactéria ubiquitária, bacilo gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos e produtor de toxinas[53]. A transmissão da bactéria é feita por via fecal-oral, sendo a transmissão horizontal muito importante em meio hospitalar, através das mãos de profissionais de saúde que contactam com doentes sintomáticos ou ambiente envolvente[54]. A CDI tem sido tradicionalmente associada a cuidados hospitalares. Contudo, dados recentes sugerem que até um quarto das infecções diagnosticadas são adquiridas na comunidade[55]. A exposição a antibióticos é o principal fator de risco para CDI. Paradoxalmente, é precisamente com antibióticos que é feita a terapêutica de primeira linha[4]. Na prática clínica, utiliza-se metronidazole e vancomicina para o tratamento de CDI. O primeiro tem a vantagem de ser mais barato sem haver diferença estatisticamente significativa comparativamente com vancomicina na doença não severa nem no risco de recorrência. A vancomicina é o agente mais eficaz na doença severa, aumentando contudo a taxa de enterococcus vancomicina-resistentes. As mais recentes guidelines europeias sugerem também a utilização de fidaxomicina, sendo todavia um novo fármaco bastante mais caro que os anteriores, e com pouca atividade contra a estirpe NAP1/BI/027. Esta estirpe é a responsável pelo aumento da mortalidade associada à infecção nos últimos anos, e produz aproximadamente 20 vezes mais enterotoxinas A e B que estirpes consideradas não virulentas, além de ter sido já associada a uma terceira estirpe, a toxina binária, que se pensa contribuir para a sua virulência. Apesar destas armas terapêuticas, entre 20-25% dos doentes desenvolvem infecção recorrente, tendo risco acrescido para o desenvolvimento de

recorrências subsequentes. Os principais fatores de risco para infecção recorrente são: episódio anterior de CDI, idade superior a 65 anos, utilização de antibióticos após o diagnóstico da infecção, utilização de Inibidores das bombas de prótons, infecção com a estirpe NAP1/BI/027, estadia prolongada ou recente em instituição de saúde e ausência de resposta com Anticorpo Antitoxina A[50, 54-57]. Em casos de primeira recorrência, o risco de haver uma segunda recorrência situa-se entre 35 a 45%, e em casos de múltiplas recorrências o risco de recorrências subsequentes é superior a 50%[58]. A literatura atual mostra consistentemente taxas de cura de CDI acima de 90%, através da transplantação fecal[4].

Um estudo randomizado comparou três terapêuticas possíveis em doentes com CDI recorrente: vancomicina 500mg, per os, quatro vezes por dia durante quatro dias seguida de lavagem intestinal e infusão de fezes de dador através de sonda nasoduodenal; regime de vancomicina standard (500mg per os, 4 vezes por dia durante 14 dias); e regime de vancomicina standard com lavagem intestinal no 4º ou 5º dias. Verificou-se uma taxa de cura de 81% no grupo em que foi feita a infusão fecal, contra 31% no grupo em que se realizou vancomicina isolada e 23% no grupo submetido a lavagem intestinal após regime de vancomicina. Neste estudo, a taxa de cura foi definida como ausência de diarreia, ou diarreia persistente explicada por outras causas com 3 testes negativos para a presença da toxina de *Clostridium difficile* nas fezes, em 3 dias consecutivos[59].

Entende-se por infecção recorrente um segundo episódio que surge até 8 semanas após o início do primeiro, tendo os sintomas cessado entre os dois episódios com ou sem antibioterapia, que difere do conceito de infecção refratária, sendo que esta última não responde a terapêutica antibiótica adequada[57, 60].

À data atual, a transplantação fecal é considerada uma modalidade de tratamento válida para a CDI recorrente[50]. Esta nova posição assumida é justificada pela razão custo/benefício e pelo rápido estabelecimento de uma flora intestinal equilibrada[61].

As indicações atuais para utilização de transplantação fecal compreendem: infecção recorrente por *Clostridium difficile* (pelo menos três episódios de infecção e falência de um regime de 6-8 semanas com vancomicina, com ou sem alternativa antibiótica tal como rifamixina ou nitazoxanida, ou pelo menos dois episódios de infecção severa que resultem em hospitalização associada a morbidade significativa), infecção moderada por *Clostridium difficile* que não responde a terapia standard (vancomicina) durante pelo menos uma semana e colite severa ou fulminante sem resposta a terapia antibiótica standard após 48h[62].

Alguns estudos feitos em crianças revelam também excelentes resultados, com eficácia até 100% na cura de infecção por *Clostridium difficile*, alargando a aplicação da técnica a esta faixa etária. Contudo serão necessários mais estudos para atestar a segurança da transplantação fecal em crianças, a longo prazo[63, 64].

6.2 Doença inflamatória intestinal

A alteração dos microbiotas intestinais na doença inflamatória intestinal está bem documentada. Infelizmente, ainda não é possível apurar se essas alterações constituem a consequência ou a causa da inflamação. Noutros termos, resta investigar se está em causa uma resposta imune anormal a microbiotas intestinais normais, ou se está em causa uma resposta imune normal contra microbiotas intestinais patológicos[33].

Apesar de não se saber ainda a etiologia da doença inflamatória intestinal, a hipótese dominante na literatura é que resulta da inflamação devido a microbiotas alterados ou patogénicos, num hospedeiro geneticamente suscetível[9]. Comparativamente a indivíduos saudáveis, há visivelmente menos *Bacteroides*, *Bifidobacteria* e grupos IV e IX de

Clostridium, todos eles fazendo parte da flora comensal. Em alguns casos de Doença de Crohn verifica-se também a depleção de *Faecalibacterium prausnitzii*, um microrganismo pertencente ao filo *Firmicutes* que inibe a produção de citocinas pro-inflamatórias tais como IL-12 e INF γ . Assim, é racional que alteração do microbioma intestinal seja aplicada à DII, apesar de não se saber se a disbiose é causa ou consequência da inflamação[4, 65].

O primeiro estudo que documentou a utilização de transplante fecal no âmbito da doença inflamatória intestinal foi publicado há mais de duas décadas. Um dos autores do estudo sofria de colite ulcerosa histologicamente confirmada, refratária a sulfassalazina e esteroides. Infundiu, nele próprio, fezes de dador através de enemas, eliminando o padrão de histológico de inflamação aguda e ficando livre de sintomas seis meses após o transplante[66]. Uma revisão recente analisou a literatura existente no âmbito da DII e, no que à Colite ulcerosa diz respeito, as taxas de remissão variaram entre 0-68%, para um total de 106 doentes estudados[67].

Atualmente, os resultados da transplantação fecal em doença inflamatória intestinal não são consensuais, estando longe da unanimidade conquistada no tratamento da CDI recorrente. Fatores como terapêuticas concomitantes, alterações na dieta, tabagismo e escolha pouco seletiva de doentes são apontados como justificações possíveis na discrepância verificada atualmente. Quanto maior a agressividade da doença, em fase pré-transplante, menor a probabilidade de cura, apesar de alguns doentes com doença avançada poderem igualmente beneficiar desta estratégia. Foi recentemente descrito um caso de um indivíduo de 32 anos de nacionalidade chinesa, que sofria de doença de Crohn refratária com fístula enterocólica que entrou em remissão clínica um mês após o transplante fecal. A eficácia da transplantação parece ser superior quando o início da doença inflamatória é associado ao uso de antibióticos[68-71]. A utilização da transplantação fecal no âmbito da doença de Crohn parece ser bem menos consensual que no âmbito da colite ulcerosa. Isto deve-se ao número de

estudos efetuados, muito limitado no caso da primeira, e que será certamente alvo de intensa investigação num futuro próximo[67].

No passado, vários estudos tentaram associar doença inflamatória intestinal a uma só espécie bacteriana. Contudo, não ficou demonstrado em nenhum deles que um único agente patogénico conseguisse provocar doença de Crohn ou Colite Ulcerosa. Apesar disso está documentada com robustez a presença de *E.Coli* aderente/invasiva na doença de Crohn com envolvimento ileal[65].

Um estudo procurou estabelecer a relação entre a prescrição de antibióticos e o surgimento de doença inflamatória intestinal. Concluiu que era mais provável haver um historial de prescrição de antibióticos em indivíduos com doença inflamatória intestinal (excluindo utilização no âmbito da DII), comparativamente com indivíduos saudáveis. Isto poderá sugerir que a disbiose provocada pela utilização de tais fármacos poderá ser responsável por alguns dos novos casos de doença inflamatória intestinal[72].

Existe também uma relação infeliz entre a doença inflamatória intestinal e a CDI, que duplica a utilidade da transplantação fecal neste grupo de doentes. A colonização por *Clostridium difficile* toxigénica é consideravelmente superior em situações de doença inflamatória, comparativamente à população em geral (8.1% vs 1%)[73]. A colite ulcerosa é a principal responsável por esta estatística, com uma prevalência de CDI de 37.3 em 1000 doentes, contabilizando a doença de Crohn uma prevalência de 10.9 em 1000 doentes. A CDI nestes doentes em particular é responsável pelo prolongamento do tempo de internamento com aumento dos custos associados, bem como da mortalidade[74]. Foi recentemente descrito um caso de cura de CDI num doente canadiano de 87 anos com colite ulcerosa em estado de remissão clínica. A cura foi obtida após dois transplantes, visto que a terapêutica antibiótica para uma pneumonia comprometeu o sucesso do primeiro transplante. Em nenhuma das

transplantações houve reativação da doença inflamatória. Foi demonstrada a abundância de Proteobacterias e depleção de Firmicutes e Bacteroidetes na fase pré-transplante[75].

A CDI não é a única entidade infecciosa que pode piorar um contexto de DII. Outros agentes poderão ser responsáveis pelo agravamento clínico e histológico. A infecção por Citomegalovírus é uma causa frequente de complicação de DII, principalmente em doentes medicados com glucocorticoides para outras condições inflamatórias[76].

6.3 *Síndrome do intestino irritável*

Também a Síndrome do intestino irritável merece uma referência neste capítulo. Várias explicações têm sido propostas como etiologia da síndrome do intestino irritável tais como hipersensibilidade intestinal ou representação cerebral aberrante de informação visceral ou resposta anormal ao stress, mas nenhum parece conseguir desencadear todos os sintomas característicos desta patologia. Os estudos existentes atualmente não são unânimes, sendo necessária mais investigação nesse sentido[33].

Apesar de aparentes discordâncias, tem sido descrito na literatura um eixo cérebro-intestino. Existem já conclusões interessantes sobre a relação do microbioma intestinal com o desenvolvimento cerebral, bem como a sua função e morfologia, sendo portanto plausível a ideia de que mudanças nos microbiotas poderão ter influência na síndrome do intestino irritável[77]. Dados recentes convergem ainda na ideia de que a ativação do sistema imune entérico, causada por alterações do microbioma intestinal, podem interagir com o eixo cérebro-intestino[78]. Foi também demonstrado que doentes com gastroenterites agudas têm um risco 6 a 7 vezes superior de desenvolver síndrome do intestino irritável, doença que surge em 10-30% dos casos pós-infeção[3].

6.4 Outras aplicações

Os campos de aplicação da transplantação fecal não se limitam às três doenças citadas anteriormente. No que diz respeito ao papel desta técnica na obesidade e síndrome metabólico, existem alguns resultados animadores. Foi já demonstrada a redução da concentração de triglicérides em jejum bem como aumento da sensibilidade hepática e periférica de insulina, após transplantação fecal. O mesmo estudo demonstrou a presença ileal marcada de *E.halli* em casos de síndrome metabólico, uma bactéria produtora de butirato[79].

Muito recentemente foi demonstrado que uma sessão diária de transplantação em três dias consecutivos juntamente com vancomicina proporcionou a cura de infecção por MRSA em cinco doentes, confirmada num follow-up de 3 meses, sendo que três deles tinham também doença de Crohn[80].

O campo da patologia hepática está ainda por explorar, neste contexto. Um estudo chinês concluiu que a disbiose está presente na hepatite crónica severa, o que favorece a infecção oportunista[81]. Outro estudo propôs a modulação simbiótica da flora intestinal como alternativa à lactulose em casos de encefalopatia hepática mínima[82]. Um terceiro estudo demonstrou disbiose tanto no pós-transplante hepático por cirrose, como em cirróticos não transplantados, o que poderá significar tendência acrescida para translocação bacteriana a partir do intestino em ambas as situações, conclusão suportada pela relação entre os níveis de endotoxina plasmática e as alterações na composição e riqueza bacteriana intestinal[83].

7 Técnica do Transplante

7.1 Considerações sobre a técnica

Dada a natureza da técnica, alguns doentes poderão sentir-se desconfortáveis com a ideia de receber material fecal de dador desconhecido. Todavia, a hipótese de transplante de dador anónimo seguido de protocolo estandardizado pode ser preferível para muitos[26, 84]. Pode ser pedido ao doente que selecione um dador saudável, em função da sua preferência. Verifica-se que a maioria dos doentes seleciona o parceiro sexual ou um familiar próximo. Apesar de, na teoria, o risco de transmissão de doença infecciosa ser menor aquando da escolha de um parceiro sexual, amigo ou parente, recomenda-se sempre a realização de testes de despistagem de agentes infecciosos, quer no sangue, quer nas fezes[1, 26]. A única exceção admissível é a do transplante urgente[1]. Face a testes de despistagem negativos para os agentes testados, dever-se-á ter em conta o conceito de "período de janela"[50]. Discute-se hoje a possibilidade de criação de bancos de armazenamento de material fecal, conservados a baixas temperaturas. Um estudo demonstrou igual eficácia na erradicação de CDI, utilizando material fecal armazenado entre uma e oito semanas a -80°C, tendo como únicos critérios de exclusão doentes com idade inferior a 18 anos e condição clínica frágil não decorrente de CDI[84]. Apesar deste resultado, a maior parte da literatura converge numa eficácia ligeiramente superior quando o dador tem algum tipo de relação com o recetor, em comparação com dadores desconhecidos (90.5% vs 84%)[1]. Quanto ao género, não parece influenciar as taxas de erradicação[39].

7.2 *Rastreio de Dador*

A seleção do dador deve ser bastante criteriosa, por forma a evitar a transmissão de agentes tais como vírus, bactérias ou parasitas. Esta preocupação reflete o principal problema de segurança desta técnica[85]. Contudo, o rastreio do dador não se deve basear exclusivamente nesta preocupação, descurando outras. O conhecimento que atualmente se define sobre a influência dos microbiotas intestinais em doenças não infecciosas, faz de algumas delas critério de exclusão para doação de fezes[37, 50]. Alguns autores manifestam ainda a sua preferência por dadores jovens do sexo masculino[43].

Protocolos de transfusão sanguínea têm sido utilizados e adaptados com sucesso à transplantação de microbiotas[50].

7.2.1 *Questionário Inicial*

A literatura atual converge na ideia de que, a primeira etapa do rastreio deve passar por um questionário ao potencial dador, tendo em vista a identificação de fatores de risco para transmissão de doença infecciosa ou não infecciosa[1, 26, 50, 60, 85].

Devem ser selecionadas algumas perguntas tendo em vista a caracterização da saúde do dador, incitando-o a justificar as suas respostas sempre que tal seja apropriado. O potencial dador tem de ser questionado sobre comportamentos sexuais de risco, história cirúrgica, história de viagens, piercings, transfusões sanguíneas, doenças gastrointestinais diagnosticadas tais como DII, pólipos cólicos, SII, diarreia crónica ou recente. Deverá ser ainda questionada a utilização de antibióticos nos últimos 3 meses ou de hospitalização no mesmo período[26, 50, 86-88]. Apresentam-se os critérios de exclusão na tabela 1.

Tabela 1 – Critérios de exclusão propostos

| <u>Critérios Absolutos</u> | Referências |
|--|--------------------|
| Terapêutica antibiótica nos últimos 3 meses | [1, 89] |
| Doença transmissível conhecida | [25] |
| Fatores de risco para doença de Creutzfeldt-Jakob | [25, 89] |
| Viagem a região com alta incidência de diarreia do viajante (6 meses) | [25] |
| Comportamentos sexuais de risco | [1, 89] |
| Realização de Piercing ou Tatuagem nos últimos 3-6 meses | [1, 60] |
| Detenção prisional recente | [1] |
| Diarreia crônica | [1] |
| Doença celíaca | [50] |
| Obstipação | [1] |
| Doença Inflamatória Intestinal | [1, 50] |
| Síndrome do intestino irritável | [1, 50] |
| Pólipos cólicos/Neoplasia Coloretal | [1] |
| Neoplasia maligna (exceto neoplasia cutânea não melanoma) | [60] |
| Tratamento atual anti-neoplásico | [43, 60] |
| Estado de Imunossupressão | [1, 43, 89] |
| Obesidade mórbida | [1] |
| Cirrose hepática descompensada | [43] |
| Transplante recente de medula óssea | [43] |
| <u>Critérios Relativos</u> | Referências |
| Diabetes Mellitus tipo 2 | [60] |
| Síndrome Metabólico | [1] |
| Atopia | [1] |
| Síndrome da Fadiga Crônica | [1] |
| Cirurgia GI Major | [60] |
| Doença auto-imune sistêmica | [50] |
| História familiar de auto-imunidade | [90] |
| História familiar de neoplasia (1º e 2º Graus) | [90] |
| Gravidez | [43] |
| Admissão na Unidade de Cuidados Intensivos | [43] |
| Tratamento com vasoconstritores | [43] |

7.2.2 Exames Laboratoriais

Após a etapa do questionário, inclui-se uma fase de testes sanguíneos e fecais (tabela 2). Um estudo que concluiu pelo custo/efetividade favorável utilizando armazenamento de material fecal e contando com várias doações de um mesmo dador, seguiu um padrão de exames laboratoriais efetuados periodicamente a cada seis meses, além do inquérito inicial, este último repetido apenas antes de cada doação por parte de voluntários[84].

Poderá ser necessária investigação adicional, justificada pelos padrões infecciosos locais. A ajuda de um Infeciologista poderá ser fundamental para estabelecer quais os agentes patogénicos que deverão ser investigados individualmente[86]. É possível que um agente patogénico que não tenha sido testado na etapa de rastreio seja transmitido ao recetor. Até ao momento, a literatura relata poucos casos de gastroenterite pós-transplante[86].

Investiga-se atualmente se a identificação de determinada espécie bacteriana nas fezes do dador poderá potencializar a eficácia desta técnica[42]. Estudos estão em curso para determinar com exatidão a composição do microbioma humano, identificando assim enterótipos. A variação em função de padrões individuais e geográficos está também a ser objeto de estudo[91]. Este tipo de informação poderá vir a ser utilizada para aumentar a eficiência da transplantação fecal[90].

Tabela 2 –Protocolo sugerido para investigação aprofundada de dador

| Amostra | Investigação | Referências | |
|--------------------------------------|--|---|-----------------|
| Sanguínea | Contagem das 3 linhagens sanguíneas | [85, 89] | |
| | Função Hepática | [85, 89] | |
| | HIV 1+2 (Ac e carga viral) | [1, 25, 86, 88, 89, 92, 93] | |
| | HTLV I/II | [88-90] | |
| | Hepatite A (IgG e IgM) | [1, 25, 87, 89, 92, 94-96] | |
| | Hepatite B (HBsAg, anti-HbsAg e anti-HBcore) | [1, 25, 50, 87, 89] | |
| | Hepatite C (AntiHVC) | [1, 25, 50, 87, 89] | |
| | CMV (IgG e IgM) | [50, 97] | |
| | VEB (ACV IgM, ACV IgG, ACV e anti-ANVEB) | [26, 50, 97] | |
| | <i>Treponema pallidum</i> | [1, 25, 92, 97, 98] | |
| | <i>Helicobacterpylori Ac</i> | [1, 88, 89] | |
| | <i>Entamoeba histolytica</i> | [50, 90] | |
| | <i>Strongyloides stercoralis</i> (ELISA) | [43, 50, 90] | |
| | Fecal | Cultura seletiva fecal | [85] |
| | | <i>Clostridium difficile</i> (toxina B por PCR) | [1, 25, 89, 93] |
| | | <i>Salmonella spp.</i> | [85, 90, 93] |
| | | <i>Shigella spp.</i> | [85, 93] |
| <i>Campylobacter spp.</i> | | [26, 90, 93] | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | [85] | |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | | [85] | |
| <i>Yersinia spp.</i> | | [90, 93] | |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | | [85] | |
| <i>Vibrio cholerae</i> | | [85] | |
| <i>Candida albicans</i> | | [85] | |
| <i>Escherichia coli O157</i> | | [90] | |
| Protozoários e Quistos (microscopia) | | [85] | |
| Helminas | | [25, 85] | |
| Tremátodes | | [85] | |
| <i>Giardia lamblia</i> (Ag) | | [1, 25, 85, 90] | |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | | [85] | |
| <i>Microspora spp.</i> | | [85] | |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | | [85] | |
| <i>Microspora spp.</i> | | [85] | |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (Ag) | | [1, 25] | |
| <i>Isospora spp.</i> | | [1, 60] | |

Ag, antígeno;Ac, anticorpo;ACV, antígeno da cápside viral;ANVEB, Antígeno nuclear do vírus Epstein-Barr; CMV, citomegalovírus;HIV, vírus da imunodeficiência humana; HTLV, vírus linfotrópico de células T humano; HVC, vírus da hepatite C; VEB, vírus de Epstein-Barr;spp, espécie.

7.3 Colheita e Preparação do Material Fecal

A quantidade de material utilizada parece estar inversamente relacionada com a taxa de recorrência. Preparações >500ml associam-se a taxas de cura de 97%, enquanto preparações <200ml evidenciam uma taxa máxima de cura de apenas 80%. Ainda, o peso de fezes utilizado mostra também forte influência. Administrações de material fecal <50g quadruplica o risco de recorrência[39, 60]. Para efeitos de transplantação fecal, foram utilizados até ao momento quantidades compreendidas entre 15g e 300g de material fecal, sendo que para administração via trato gastrointestinal superior a quantidade utilizada varia entre 30g e 50g. O limite máximo de material fecal geralmente utilizado para administração via trato gastrointestinal inferior foi de 200g[26, 50, 85]. Alguns autores recomendam ao dador a ingestão de 60ml leite de magnésio na noite anterior à doação para permitir colheitas em quantidades suficientes na manhã seguinte, aumentando a taxa de sucesso[60].

A preparação do material fecal engloba a sua mistura com um vetor que facilita o seu transporte em solução líquida[50]. Foram descritos vários tipos de veículos tais como solução salina não bacteriostática, água, leite de vaca pasteurizado ou iogurte[1, 25, 26]. A hipótese teórica da lise bacteriana devido à hipotonicidade do diluente aquoso não parece afetar a qualidade do transplante[1]. A utilização da água apresenta a que apresenta maior eficiência (98%) seguida do iogurte ou leite (94%). A mistura com solução salina é a que apresenta pior taxa de resolução da CDI (86%), sendo contudo melhor que a água em termos de recorrência da infeção[25]. As quantidades utilizadas de diluente deverão variar conforme o peso de material fecal colhido. Volumes entre 200mL e 500mL poderão ser utilizados, sendo consensual a proporção de 50-60g de material fecal para 250-300mL de diluente, por administração retal[26, 54, 60]. Para administração via trato gastrointestinal superior são consensuais quantidades e volumes menores (entre 5-30g para 10-125mL, máx200mL). Esta disparidade entre vias prende-se com o risco de aspiração de conteúdo e com a frequência de

náuseas e vômitos que se verifica com volumes superiores. A diferença de volume administrado poderá responder, em parte, pela ligeira inferioridade das abordagens superiores no tratamento de infecção recorrente por *Clostridium difficile*[1, 43, 85, 89, 99].

Procede-se à mistura recorrendo-se a técnicas de homogeneização manual, a uma espátula, ou com a ajuda de uma misturadora, até à formação de um líquido, posteriormente filtrado para remoção de matéria particulada[87, 92]. A filtração pode ser levada a cabo por um filtro de café, compressas de gaze ou por um escoador. Pretende-se criar uma suspensão incapaz de provocar obstrução da sonda nasoentérica ou do canal do endoscópio[26].

Especula-se atualmente sobre as implicações do ambiente aeróbio nesta etapa de preparação. Não se sabe se a eficácia seria superior se a preparação fosse feita em ambiente anaeróbio, preservando assim anaeróbios obrigatórios[50]. Alguns anaeróbios facultativos são também inativados por oxigénio atmosférico[10].

Após procedimento de preparação, o produto final pode ser armazenado em seringas de 60 ml para administração através do canal de biópsia do colonoscópio, estabelecendo-se 2 a 3 minutos como o tempo necessário para instilar o conteúdo de cada seringa[1, 4, 60]. A administração da preparação no recetor deve ser feita nas primeiras 24 horas seguintes à colheita, preferencialmente nas primeiras 6 horas[43].

Para protocolos de preservação a baixas temperaturas, a preparação final é ainda retificada com glicerol estéril de grau farmacêutico e armazenado a -80°C[84].

7.4 *Preparação do recetor e administração*

O passo seguinte à preparação varia com o tipo de via utilizado[4]. Foram descritas várias vias de administração: infusão por colonoscopia, por enema, nasojejunal, nasoduodenal, nasogástrica e por duodenoscopia[93, 100]. Uma análise recente demonstrou níveis de eficácia elevados aquando da utilização da colonoscopia ou da via nasogástrica para erradicação de *Clostridium difficile*. Ainda assim, a via colonoscópica apresentou eficácia ligeiramente superior[100]. Uma revisão sistemática demonstrou taxas de cura de 81% quando o produto foi instilado no estomago, 86% quando instilado no duodeno/jejuno, 93% quando instilado no cego ou cólon ascendente e de 84% quando instilado no cólon distal[99]. Quando se opta pela colonoscopia, deve-se procurar aumentar a extensão de cólon exposto ao transplante, administrando sempre que possível no íleum terminal e no cego[84]. Parece não existir uma via ideal para todos os doentes. A seleção da via deve ser feita em função da doença que se quer tratar, da tolerabilidade/aceitação por parte do doente, contra-indicações de cada via e custo. Uma abordagem superior poderá, por exemplo, ser mais benéfica em casos de Doença de Crohn localizada ao intestino delgado, mas poderá ser contra-indicada se houver distúrbio da motilidade do intestino delgado ou diverticulose jejunal[1, 86]. É também advogada a ideia de que, em idosos, a introdução de um pequeno volume de suspensão fecal através de sonda nasogástrica é segura e igualmente eficaz à abordagem colonoscópica, mesmo sem preparação intestinal pré-transplante[100].

Alguns autores defendem um tratamento antibiótico pré-transplante com vancomicina, em casos de doentes não medicados. Tal abordagem permitiria reduzir as formas vegetativas de *Clostridium difficile*, apesar deste fármaco não atuar nos esporos bacterianos[59, 92, 97, 98, 101]. Todavia, ainda não foi comprovada a sua vantagem em termos de eficácia[43]. Os recetores devem ser obrigatoriamente avisados para a necessidade de interrupção da medicação antibiótica contra *Clostridium difficile* ou para outros fins, na noite anterior ao

transplante ou 2 a 3 dias antes, se possível[1, 26, 86]. A maioria dos autores não refere qualquer procedimento de preparação intestinal do recetor, quando a abordagem é superior[85]. Todavia, há quem defenda um procedimento de preparação intestinal no dia anterior à infusão, independentemente da via[25]. Está descrita a utilização de polietilenoglicol para este efeito[84]. A administração do purgativo pode também ser feita a dois tempos: na noite anterior e na manhã que antecede a infusão[26]. A preparação intestinal tem por objetivo a remoção de flora patogénica e de esporos de *Clostridium difficile* existentes, visto serem resistentes à vancomicina, além de resíduos antibióticos remanescentes[43, 84]. É prática comum a administração de loperamida imediatamente antes da colonoscopia ou do enema de retenção, embora também sejam referidas duas tomas, uma quando o procedimento de transplantação acaba e outra 6 horas depois. O objetivo desta prática é maximizar o tempo ao qual a mucosa intestinal do recetor é exposta ao transplante, devendo este período ser, no mínimo, de 4 horas[1, 26, 43, 85].

A maioria das infeções por *Clostridium difficile* foi tratada com uma única infusão. Contudo, alguns casos exigem um número maior de administrações[25]. Outras aplicações da transplantação fecal tal como Doença inflamatória Intestinal, Síndrome do cólon irritável ou obesidade requerem provavelmente várias infusões para que a técnica seja bem sucedida[4, 25].

A instilação terapêutica através do trato gastrointestinal superior poderá teoricamente aumentar o tempo de exposição do material fecal à flora do recetor[100]. É comum a utilização de Inibidor da Bomba de Protões aquando da abordagem superior, para evitar destruição de componentes bacterianos pelo ácido gástrico[43, 92, 100]. Por precaução, recomenda-se ainda a utilização da radiologia para confirmação do posicionamento sempre que se utiliza uma sonda nasoentérica[1].

O enema de retenção apresenta-se como uma via altamente eficaz, passível de ser feita no domicílio e pelo próprio doente. O baixo custo é também um trunfo desta técnica[25]. Quando a administração é feita através de enema, o material fecal preparado pode ser diretamente injetado em sacos de enema para administração retal (50-60mL), que poderão ser utilizados até duas vezes por dia. Aconselha-se que a administração seja lenta, para minimizar riscos de perfuração do cólon, e imediatamente antes dormir, maximizando o tempo de retenção[1, 4]. Esta via apresenta como desvantagem o fato do material instilado não ultrapassar a flexura esplénica o que implica múltiplas instilações para ser igualmente eficaz a outras vias de administração[89]. Um estudo recente demonstrou que a utilização de vancomicina entre as várias sessões de transplantes, em doentes que necessitaram de 4 ou mais transplantes fecais administrados através de enemas, aumentou a taxa de cura a 6 meses de 86.2% para 91.5%[87]. Considera-se o procedimento da lavagem intestinal desnecessário quando se opta por esta via de administração[26].

7.5 *Efeitos Adversos*

O principal risco da Transplantação Fecal é o da transmissão de agentes infecciosos, razão pela qual se deve realizar um rastreio ao dador. Alergénios são também passíveis de serem transmitidos por esta técnica. Talvez pela existência de um procedimento de rastreio, a transmissão de doença infecciosa não tem sido relatada na literatura[26, 50, 93].

O efeito adverso mais frequente é a diarreia pós-transplante que afeta até 94% dos recetores de material fecal. Na maioria dos casos, a diarreia tem lugar no próprio dia da infusão e 74% dos casos sofrem remissão até ao terceiro dia pós-transplante. Outros efeitos como cólicas abdominais, eructações, obstipação ou ausência de ruídos peristálticos são menos frequentes[1, 26, 60, 90, 102].

Febre e dor abdominal podem ocorrer após transplante para cura de Doença de Crohn[90]. Foi também descrita a reativação da Colite Ulcerosa num doente transplantado para cura de CDI, não medicado para doença inflamatória na altura do transplante e sem sintomas da mesma há 20 anos. O padrão de Colite Ulcerosa foi confirmado por colonoscopia, apesar da resolução da infeção[103].

Uma das maiores preocupações de segurança desta técnica é a transmissão de infeção a doentes especialmente vulneráveis, leia-se imunocomprometidos. Este padrão de doentes é paradoxalmente dos que mais poderia beneficiar com a transplantação fecal, pela maior suscetibilidade a infeção recorrente, refratária ou severa por *Clostridium difficile* ou pela existência de DII que os colocou em tal estado de imunocomprometimento após terapia para esse efeito (glucocorticoides, 6-mercaptopurina, azatioprina, infliximab). Contrariamente ao esperado, a taxa de eventos adversos nestes doentes é muito baixa, sendo a transplantação fecal igualmente segura neste grupo de doentes. Ainda assim, estudos maiores são ainda necessários para fortalecer esta conclusão[104-106].

Foi recentemente descrito um caso de um doente americano de 37 anos com colite ulcerosa diagnosticada há 6 anos, que realizou transplante fecal em casa, proveniente de dois dadores, a mulher e um filho de 10 meses de idade, em quatro ocasiões, algumas semanas antes da admissão hospitalar. Queixava-se de hematoquézias acompanhadas de urgência a defecar até 10 vezes por dia, fadiga, anorexia, dores articulares *minor* e perda de peso de 4kg nas 3 semanas precedentes. Somam-se ainda a sudorese noturna, febre (38.8°C), e uma contagem de leucócitos de 17300/mm³. Foi realizada sigmoidoscopia flexível com biópsia, que revelou alterações diagnósticas de infecção por Citomegalovírus (CMV). O diagnóstico foi confirmado 5 dias após admissão com recurso ao teste com ácido nucleico para CMV, realizado em amostra sanguínea. Considerou-se a hipótese de transmissão da infecção por CMV pela transplantação fecal com recurso a fezes da criança de 10 meses. No caso da DII, a infecção pode conduzir a uma fase de exacerbação da doença, devendo esta hipótese ser devidamente acautelada no tratamento desta entidade, o que justifica a preocupação do rastreio de dador[76].

Foi descrito, num estudo de follow-up de 77 doentes submetidos a transplantação fecal em cinco hospitais americanos, o desenvolvimento de artrite reumatoide, síndrome de Sjörger, Púrpura trombocitopénica idiopática e neuropatia periférica em 4 doentes diferentes, após transplantação fecal. Tais observações não impediram os autores de concluir pela segurança e aceitabilidade desta nova técnica[102].

Foi recentemente reportado um caso de uma mulher de 32 anos com CDI recorrente, submetida a transplante fecal cuja dadora era a sua filha de 16 anos, com excesso de peso (IMC de 26.4). Apesar da resolução da infecção, 16 meses após o transplante a doente encontrava-se obesa (IMC de 33), e apesar de aconselhamento dietético e exercício programado continuou a ganhar peso, atingindo aos 36 meses um IMC de 34.5. Esta mulher não tinha antecedentes de obesidade, e o IMC pré-transplante era de 26. Semanas antes da

transplantação tinha sido submetida a terapia tripla para erradicação de H.pylori, sem sucesso. Facto interessante, a filha ganhou aproximadamente o mesmo peso que a mãe após o transplante. Os autores concluíram pela necessidade de seleção de dadores sem excesso de peso, neste caso particular dificultada pela escolha de um dador não ideal, aparentado do doente e por si escolhido[107].

Relata-se também como efeito adverso o facto de o dador passar a saber que tem determinada doença (por exemplo SIDA), com todas as consequências que isso possa acarretar. Deverá ser informado para esta possibilidade, dar o seu consentimento e ser-lhe garantida confidencialidade em todas as situações previstas[93].

Apesar de todos os efeitos adversos descritos, estudos de follow-up a longo prazo estabelecem elevada segurança da transplantação fecal[102].

7.6 *Follow up*

Com os todos os riscos que a transplantação fecal comporta, é absolutamente necessário garantir um acompanhamento e monitorização pós transplante, sendo estes devidamente documentados, e nos quais deve constar sempre o progresso da doença alvo. É sugerido um acompanhamento telefónico onde é feito um questionário estandardizado, evitando a deslocação do doente à instituição hospitalar. Propõe-se que seja feita uma vigilância nos seguintes momentos após o transplante: primeira semana, primeiro mês, ao fim de 3 e 6 meses. O questionário deverá obrigatoriamente abordar os seguintes pontos[26]:

- Inquirir sobre o estado geral do doente;
- Pedir ao doente para comparar o seu estado com a fase pré-transplante;
- Inquirir sobre a consistência e cor das fezes;
- Registrar o número de defecações diárias;
- Questionar sobre a existência de dor ou desconforto abdominais, caracterizando-os devidamente em caso de resposta afirmativa e registando estratégias utilizadas para alívio da dor;
- Questionar sobre existência de febre, arrepios ou sudorese noturna;
- Registrar alterações no peso;
- Questionar sobre outras preocupações do doente, ainda não questionadas;
- Inquirir sobre o aparecimento de doenças recentes, hospitalizações ou cirurgias.

7.7 *Riscos da Técnica*

A administração de conteúdo fecal por via endoscópica alta comporta um risco associado de aspiração, que pode ser reduzido pela diminuição do volume instilado, pela diminuição da velocidade de instilação, ou pela utilização de um endoscópio pediátrico que permite ultrapassar o piloro até ao duodeno distal[26, 50]. Esta via pode também, teoricamente, estar associada ao sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado[26]. Embora infrequentes, estão também descritos casos de hemorragia digestiva alta, peritonite, enterite e desenvolvimento de SII por esta via[85, 88, 90]. A utilização de sondas nasogástricas comporta também alguns riscos tais como perfuração esofágica, fístula broncopleural e pneumotórax. Poderá ser útil a utilização de Raios X para confirmar o posicionamento da sonda. Apesar de tudo, taxa de complicações é muito baixa[43, 100].

A via colonoscópica também comporta alguns riscos tais como infeção, hemorragia digestiva baixa, perfuração e aspiração associada à anestesia. Estes riscos devem ser tidos em consideração principalmente em doentes com múltiplas comorbilidades, ou na presença de algumas doenças do foro gastrointestinal tais como DII e diverticulose[2, 43, 60].

Estudos sobre os riscos da técnica de transplantação em crianças são ainda escassos atualmente. Segundo os estudos a que tive acesso, não existe risco acrescido nesta faixa etária comparativamente a outras[63, 64, 108, 109]. Contudo, está descrito um caso de apendicite duas semanas após-transplante por via colonoscópica, para cura de infeção recorrente por *Clostridium difficile* numa criança de 12 anos. Esta criança sofria também de doença de Crohn que poderá estar relacionada com o episódio[63].

8 *Perspetivas futuras*

A manipulação do conteúdo fecal poderá estar sujeita a grandes alterações no futuro. Além de preparações mais eficazes, haverá provavelmente a preocupação em obter um produto final sem odor ou na forma de comprimido[110]. Uma cápsula para este fim com microrganismos selecionados está neste momento a ser testada no Canadá[3].

É perspetivada a infusão de comunidades bacterianas específicas, devidamente documentadas como benéficas. Fala-se hoje num novo termo, “terapêutica microbiana de ecossistema”, que traduzirá um refinamento do conceito de transplantação fecal convencional[111]. Experiências em ratos foram já efetuadas com isolamento de 6 bactérias filogeneticamente diferentes, que curaram infeções recorrentes por *Clostridium difficile*[112]. Outro estudo canadiano demonstrou a cura de CDI resistente a antibioterapia em dois doentes infetados com uma estirpe hipervirulenta, com base numa mistura infundida por via retal de 33 estirpes bacterianas selecionadas[113].

É possível que, no futuro, sejamos capazes de selecionar um dador em função do perfil microbiológico que apresenta, e em função das características microbiológicas do recetor[114]. Não se conseguiu até à data clarificar porque é que a resposta à transplantação fecal tem melhores resultados com alguns dadores. Estima-se que a seleção atual de dadores seja imprecisa e superficial, centrada principalmente nos critérios de exclusão. Provavelmente no futuro haverá um mapeamento de enterótipos que permitirá a escolha seletiva do dador em função de determinada doença. Essa crescente seletividade na escolha do dador será um grande avanço em direção à implementação consensual desta técnica[68].

No futuro poderemos assistir à síntese de comunidades bacterianas específicas se for possível identificar todos os fatores potencialmente protetores. Estas comunidades sintéticas teriam como vantagens possíveis a industrialização facilitada bem como ausência de agentes

patogénicos indesejáveis como vírus e bactérias, nas quais se incluem microbiotas desconhecidos que possam predispor à obesidade, síndrome metabólico e DII[8, 9, 12].

A identificação recente de uma bactéria capaz de curar infecções por *Enterococcus faecium* vancomicina resistente abre inúmeras portas no campo da importância de cada bactéria transplantada, para uma infecção específica[31]. Além disso, poderá também estar em causa a escolha de uma via preferencial de administração caso, por exemplo, seja comprovado que determinada bactéria protetora pode ser destruída pela acidez gástrica ou, ao invés, necessita de fatores germinativos presentes no trato gastrointestinal superior para se tornar viável[9].

9 Conclusão

Alterações na estabilidade das comunidades bacterianas intestinais estão na gênese de várias doenças e são hoje fonte de estudo. A reposição do equilíbrio entre as várias espécies pode ser feita recorrendo à transplantação fecal com resultados satisfatórios. Neste contexto, a infecção recorrente por *Clostridium difficile* é a que beneficia de maior evidência científica, sendo consensual a superioridade da transplantação fecal em relação à terapêutica antibiótica convencional.

O risco de transmissão de infecção pode ser fortemente reduzido pelo estudo do dador, onde se inclui um questionário e avaliação laboratorial dirigida. Outros riscos inerentes à técnica devem ser tidos em conta e influenciar a escolha da via de administração.

Os campos de aplicação da modulação fecal através da transplantação são cada vez maiores, perspetivando-se grandes evoluções científicas nos próximos anos. É também provável que, num futuro próximo, a escolha do dador seja feita em função do seu perfil microbiótico. Enquanto o progresso científico avança, a sensibilização da população para esta solução é importante para afastar o estigma da receção de material fecal de outra pessoa. A implementação de um banco de fezes de dador universal estandardizado poderá porventura contribuir para esse efeito.

Referências Bibliográficas

1. Brandt, L.J. and O.C. Aroniadis, *An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes*. *Gastrointest Endosc*, 2013. **78**(2): p. 240-9.
2. Borody, T.J., D. Peattie, and A. Kapur, *Could fecal microbiota transplantation cure all Clostridium difficile infections?* *Future Microbiol*, 2014. **9**(1): p. 1-3.
3. Aroniadis, O.C. and L.J. Brandt, *Intestinal microbiota and the efficacy of fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease*. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 2014. **10**(4): p. 230-7.
4. Borody, T.J. and J. Campbell, *Fecal microbiota transplantation: techniques, applications, and issues*. *Gastroenterol Clin North Am*, 2012. **41**(4): p. 781-803.
5. Palmer, C., et al., *Development of the human infant intestinal microbiota*. *PLoS Biol*, 2007. **5**(7): p. e177.
6. Adlerberth, I. and A.E. Wold, *Establishment of the gut microbiota in Western infants*. *Acta Paediatr*, 2009. **98**(2): p. 229-38.
7. Fan, W., et al., *Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in infants during the six months of life*. *J Microbiol Biotechnol*, 2014. **24**(2): p. 133-43.
8. de Vos, W.M., *Fame and future of faecal transplantations--developing next-generation therapies with synthetic microbiomes*. *Microb Biotechnol*, 2013. **6**(4): p. 316-25.
9. Damman, C.J., et al., *The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation?* *Am J Gastroenterol*, 2012. **107**(10): p. 1452-9.
10. Sekirov, I., et al., *Gut microbiota in health and disease*. *Physiol Rev*, 2010. **90**(3): p. 859-904.
11. Moore, T., A. Rodriguez, and J.S. Bakken, *Fecal microbiota transplantation: a practical update for the infectious disease specialist*. *Clin Infect Dis*, 2014. **58**(4): p. 541-5.
12. Pamer, E.G., *Fecal microbiota transplantation: effectiveness, complexities, and lingering concerns*. *Mucosal Immunol*, 2014. **7**(2): p. 210-4.
13. Vollaard, E.J. and H.A. Clasener, *Colonization resistance*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994. **38**(3): p. 409-14.
14. Kamada, N., et al., *Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease*. *Nat Rev Immunol*, 2013. **13**(5): p. 321-35.
15. Joly, F., et al., *Drastic changes in fecal and mucosa-associated microbiota in adult patients with short bowel syndrome*. *Biochimie*, 2010. **92**(7): p. 753-61.
16. Ivanov, II, et al., *Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria*. *Cell*, 2009. **139**(3): p. 485-98.
17. Atarashi, K., T. Tanoue, and K. Honda, *Induction of lamina propria Th17 cells by intestinal commensal bacteria*. *Vaccine*, 2010. **28**(50): p. 8036-8.
18. Atarashi, K., et al., *Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species*. *Science*, 2011. **331**(6015): p. 337-41.
19. Chiba, T. and H. Seno, *Indigenous clostridium species regulate systemic immune responses by induction of colonic regulatory T cells*. *Gastroenterology*, 2011. **141**(3): p. 1114-6.
20. Round, J.L., et al., *The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota*. *Science*, 2011. **332**(6032): p. 974-7.
21. Reading, N.C. and D.L. Kasper, *The starting lineup: key microbial players in intestinal immunity and homeostasis*. *Front Microbiol*, 2011. **2**: p. 148.
22. Blaser, M.J. and S. Falkow, *What are the consequences of the disappearing human microbiota?* *Nat Rev Microbiol*, 2009. **7**(12): p. 887-94.
23. Blaser, M.J., *Equilibria of humans and our indigenous microbiota affecting asthma*. *Proc Am Thorac Soc*, 2012. **9**(2): p. 69-71.
24. Russell, S.L., et al., *Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma*. *EMBO Rep*, 2012. **13**(5): p. 440-7.

25. Cammarota, G., et al., *Gut microbiota modulation: probiotics, antibiotics or fecal microbiota transplantation?* Intern Emerg Med, 2014. **9**(4): p. 365-73.
26. Orenstein, R., C.L. Griesbach, and J.K. DiBaise, *Moving fecal microbiota transplantation into the mainstream.* Nutr Clin Pract, 2013. **28**(5): p. 589-98.
27. Kootte, R.S., et al., *The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus.* Diabetes Obes Metab, 2012. **14**(2): p. 112-20.
28. Bohnhoff, M., C.P. Miller, and W.R. Martin, *Resistance of the Mouse's Intestinal Tract to Experimental Salmonella Infection. II. Factors Responsible for Its Loss Following Streptomycin Treatment.* J Exp Med, 1964. **120**: p. 817-28.
29. Freter, R., *The fatal enteric cholera infection in the guinea pig, achieved by inhibition of normal enteric flora.* J Infect Dis, 1955. **97**(1): p. 57-65.
30. Dubberke, E.R., et al., *Clostridium difficile--associated disease in a setting of endemicity: identification of novel risk factors.* Clin Infect Dis, 2007. **45**(12): p. 1543-9.
31. Ubeda, C., et al., *Intestinal microbiota containing *Barnesiella* species cures vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* colonization.* Infect Immun, 2013. **81**(3): p. 965-73.
32. Perez-Cobas, A.E., et al., *Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach.* Gut, 2013. **62**(11): p. 1591-601.
33. Shanahan, F. and E.M. Quigley, *Manipulation of the microbiota for treatment of IBS and IBD--challenges and controversies.* Gastroenterology, 2014. **146**(6): p. 1554-63.
34. Roberfroid, M., *Prebiotics: the concept revisited.* J Nutr, 2007. **137**(3 Suppl 2): p. 830S-7S.
35. D'Souza, A.L., et al., *Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis.* BMJ, 2002. **324**(7350): p. 1361.
36. Grehan, M.J., et al., *Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora.* J Clin Gastroenterol, 2010. **44**(8): p. 551-61.
37. Borody, T.J., S. Paramsothy, and G. Agrawal, *Fecal microbiota transplantation: indications, methods, evidence, and future directions.* Curr Gastroenterol Rep, 2013. **15**(8): p. 337.
38. Dutta, S.K., et al., *Efficacy of Combined Jejunal and Colonic Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent *Clostridium difficile* Infection.* Clin Gastroenterol Hepatol, 2014. **12**(9): p. 1572-6.
39. Gough, E., H. Shaikh, and A.R. Manges, *Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection.* Clin Infect Dis, 2011. **53**(10): p. 994-1002.
40. Zoetendal, E.G., M. Rajilic-Stojanovic, and W.M. de Vos, *High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota.* Gut, 2008. **57**(11): p. 1605-15.
41. Tremaroli, V. and F. Backhed, *Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism.* Nature, 2012. **489**(7415): p. 242-9.
42. Khoruts, A., et al., *Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea.* J Clin Gastroenterol, 2010. **44**(5): p. 354-60.
43. Di Bella, S., et al., *Fecal microbiota transplantation: the state of the art.* Infect Dis Rep, 2013. **5**(2): p. e13.
44. Chang, J.Y., et al., *Decreased diversity of the fecal Microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea.* J Infect Dis, 2008. **197**(3): p. 435-8.
45. Seekatz, A.M., et al., *Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation.* MBio, 2014. **5**(3): p. e00893-14.
46. Antharam, V.C., et al., *Intestinal dysbiosis and depletion of butyrogenic bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea.* J Clin Microbiol, 2013. **51**(9): p. 2884-92.
47. Maccaferri, S., E. Biagi, and P. Brigidi, *Metagenomics: key to human gut microbiota.* Dig Dis, 2011. **29**(6): p. 525-30.

48. Hamilton, M.J., et al., *High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria*. Gut Microbes, 2013. **4**(2): p. 125-35.
49. Shankar, V., et al., *Species and genus level resolution analysis of gut microbiota in Clostridium difficile patients following fecal microbiota transplantation*. Microbiome, 2014. **2**: p. 13.
50. van Nood, E., et al., *Fecal microbiota transplantation: facts and controversies*. Curr Opin Gastroenterol, 2014. **30**(1): p. 34-9.
51. Gustafsson, A., et al., *Faecal short-chain fatty acids in patients with antibiotic-associated diarrhoea, before and after faecal enema treatment*. Scand J Gastroenterol, 1998. **33**(7): p. 721-7.
52. Fukuda, S., et al., *Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate*. Nature, 2011. **469**(7331): p. 543-7.
53. Austin, M., M. Mellow, and W.M. Tierney, *Fecal microbiota transplantation in the treatment of Clostridium difficile infections*. Am J Med, 2014. **127**(6): p. 479-83.
54. Borgia, G., et al., *Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: back to the future*. Expert Opin Biol Ther, 2015. **15**(7): p. 1001-14.
55. Marra, F. and K. Ng, *Controversies Around Epidemiology, Diagnosis and Treatment of Clostridium difficile Infection*. Drugs, 2015. **75**(10): p. 1095-118.
56. McFarland, L.V., *Alternative treatments for Clostridium difficile disease: what really works?* J Med Microbiol, 2005. **54**(Pt 2): p. 101-11.
57. Han, S., S. Shannahan, and R. Pellish, *Fecal Microbiota Transplant: Treatment Options for Clostridium difficile Infection in the Intensive Care Unit*. J Intensive Care Med, 2015.
58. Kelly, C.P., *Fecal microbiota transplantation--an old therapy comes of age*. N Engl J Med, 2013. **368**(5): p. 474-5.
59. van Nood, E., et al., *Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile*. N Engl J Med, 2013. **368**(5): p. 407-15.
60. Owens, C., E. Broussard, and C. Surawicz, *Fecal microbiota transplantation and donor standardization*. Trends Microbiol, 2013. **21**(9): p. 443-5.
61. Brandt, L.J., T.J. Borody, and J. Campbell, *Endoscopic fecal microbiota transplantation: "first-line" treatment for severe clostridium difficile infection?* J Clin Gastroenterol, 2011. **45**(8): p. 655-7.
62. Bakken, J.S., et al., *Treating Clostridium difficile infection with fecal microbiota transplantation*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011. **9**(12): p. 1044-9.
63. Pierog, A., A. Mencin, and N.R. Reilly, *Fecal Microbiota Transplantation in Children with Recurrent Clostridium difficile Infection*. Pediatr Infect Dis J, 2014.
64. Walia, R., et al., *Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation In Two Children With Recurrent Clostridium difficile Infection and Its Impact on Their Growth and Gut Microbiome*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2014.
65. Packey, C.D. and R.B. Sartor, *Commensal bacteria, traditional and opportunistic pathogens, dysbiosis and bacterial killing in inflammatory bowel diseases*. Curr Opin Infect Dis, 2009. **22**(3): p. 292-301.
66. Bennet, J.D. and M. Brinkman, *Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora*. Lancet, 1989. **1**(8630): p. 164.
67. Rossen, N.G., et al., *Fecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review*. World J Gastroenterol, 2015. **21**(17): p. 5359-71.
68. Borody, T.J., S. Finlayson, and S. Paramsothy, *Is Crohn's disease ready for fecal microbiota transplantation?* J Clin Gastroenterol, 2014. **48**(7): p. 582-3.
69. Rubin, D.T., *Curbing our enthusiasm for fecal transplantation in ulcerative colitis*. Am J Gastroenterol, 2013. **108**(10): p. 1631-3.
70. Kao, D., et al., *Fecal microbiota transplantation inducing remission in Crohn's colitis and the associated changes in fecal microbial profile*. J Clin Gastroenterol, 2014. **48**(7): p. 625-8.

71. Zhang, F.M., et al., *Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease*. World J Gastroenterol, 2013. **19**(41): p. 7213-6.
72. Shaw, S.Y., J.F. Blanchard, and C.N. Bernstein, *Association between the use of antibiotics and new diagnoses of Crohn's disease and ulcerative colitis*. Am J Gastroenterol, 2011. **106**(12): p. 2133-42.
73. Clayton, E.M., et al., *The vexed relationship between Clostridium difficile and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission*. Am J Gastroenterol, 2009. **104**(5): p. 1162-9.
74. Nguyen, G.C., et al., *A national survey of the prevalence and impact of Clostridium difficile infection among hospitalized inflammatory bowel disease patients*. Am J Gastroenterol, 2008. **103**(6): p. 1443-50.
75. Brace, C., et al., *Microbial composition analysis of Clostridium difficile infections in an ulcerative colitis patient treated with multiple fecal microbiota transplantations*. J Crohns Colitis, 2014.
76. Hohmann, E.L., A.N. Ananthkrishnan, and V. Deshpande, *Case Records of the Massachusetts General Hospital. Case 25-2014. A 37-year-old man with ulcerative colitis and bloody diarrhea*. N Engl J Med, 2014. **371**(7): p. 668-75.
77. Cryan, J.F. and S.M. O'Mahony, *The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior*. Neurogastroenterol Motil, 2011. **23**(3): p. 187-92.
78. Ringel, Y. and N. Maharshak, *Intestinal microbiota and immune function in the pathogenesis of irritable bowel syndrome*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2013. **305**(8): p. G529-41.
79. Vrieze, A., et al., *Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome*. Gastroenterology, 2012. **143**(4): p. 913-6 e7.
80. Wei, Y., et al., *Fecal microbiota transplantation restores dysbiosis in patients with methicillin resistant Staphylococcus aureus enterocolitis*. BMC Infect Dis, 2015. **15**: p. 265.
81. Li, L., et al., *Changes in intestinal microflora in patients with chronic severe hepatitis*. Chin Med J (Engl), 2001. **114**(8): p. 869-72.
82. Liu, Q., et al., *Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis*. Hepatology, 2004. **39**(5): p. 1441-9.
83. Wu, Z.W., et al., *Changes of gut bacteria and immune parameters in liver transplant recipients*. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2012. **11**(1): p. 40-50.
84. Hamilton, M.J., et al., *Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent Clostridium difficile infection*. Am J Gastroenterol, 2012. **107**(5): p. 761-7.
85. Landy, J., et al., *Review article: faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(4): p. 409-15.
86. Allegretti, J.R. and M.J. Hamilton, *Restoring the gut microbiome for the treatment of inflammatory bowel diseases*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(13): p. 3468-74.
87. Lee, C.H., et al., *The outcome and long-term follow-up of 94 patients with recurrent and refractory Clostridium difficile infection using single to multiple fecal microbiota transplantation via retention enema*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014. **33**(8): p. 1425-8.
88. Silverman, M.S., I. Davis, and D.R. Pillai, *Success of self-administered home fecal transplantation for chronic Clostridium difficile infection*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2010. **8**(5): p. 471-3.
89. Lo Vecchio, A. and M.B. Cohen, *Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: benefits and barriers*. Curr Opin Gastroenterol, 2014. **30**(1): p. 47-53.
90. Smits, L.P., et al., *Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation*. Gastroenterology, 2013. **145**(5): p. 946-53.
91. Siezen, R.J. and M. Kleerebezem, *The human gut microbiome: are we our enterotypes?* Microb Biotechnol, 2011. **4**(5): p. 550-3.

92. Aas, J., C.E. Gessert, and J.S. Bakken, *Recurrent Clostridium difficile colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube*. Clin Infect Dis, 2003. **36**(5): p. 580-5.
93. Kelly, C.R., S.S. Kunde, and A. Khoruts, *Guidance on preparing an investigational new drug application for fecal microbiota transplantation studies*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014. **12**(2): p. 283-8.
94. Persky, S.E. and L.J. Brandt, *Treatment of recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea by administration of donated stool directly through a colonoscope*. Am J Gastroenterol, 2000. **95**(11): p. 3283-5.
95. You, D.M., M.A. Franzos, and R.P. Holman, *Successful treatment of fulminant Clostridium difficile infection with fecal bacteriotherapy*. Ann Intern Med, 2008. **148**(8): p. 632-3.
96. Garborg, K., et al., *Results of faecal donor instillation therapy for recurrent Clostridium difficile-associated diarrhoea*. Scand J Infect Dis, 2010. **42**(11-12): p. 857-61.
97. Rubin, T.A., C.E. Gessert, and J. Aas, *Stool transplantation for older patients with Clostridium difficile infection*. J Am Geriatr Soc, 2009. **57**(12): p. 2386.
98. MacConnachie, A.A., et al., *Faecal transplant for recurrent Clostridium difficile-associated diarrhoea: a UK case series*. QJM, 2009. **102**(11): p. 781-4.
99. Cammarota, G., G. Ianaro, and A. Gasbarrini, *Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection: a systematic review*. J Clin Gastroenterol, 2014. **48**(8): p. 693-702.
100. Postigo, R. and J.H. Kim, *Colonoscopic versus nasogastric fecal transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection: a review and pooled analysis*. Infection, 2012. **40**(6): p. 643-8.
101. Russell, G., et al., *Fecal bacteriotherapy for relapsing Clostridium difficile infection in a child: a proposed treatment protocol*. Pediatrics, 2010. **126**(1): p. e239-42.
102. Brandt, L.J., et al., *Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent Clostridium difficile infection*. Am J Gastroenterol, 2012. **107**(7): p. 1079-87.
103. De Leon, L.M., J.B. Watson, and C.R. Kelly, *Transient flare of ulcerative colitis after fecal microbiota transplantation for recurrent Clostridium difficile infection*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2013. **11**(8): p. 1036-8.
104. Taur, Y. and E.G. Pamer, *The intestinal microbiota and susceptibility to infection in immunocompromised patients*. Curr Opin Infect Dis, 2013. **26**(4): p. 332-7.
105. Karakan, T., *Fecal microbiota transplant in immunocompromised patients: Encouraging results in a vulnerable population*. Turk J Gastroenterol, 2014. **25**(3): p. 346.
106. Kelly, C.R., et al., *Fecal microbiota transplant for treatment of Clostridium difficile infection in immunocompromised patients*. Am J Gastroenterol, 2014. **109**(7): p. 1065-71.
107. Alang, N. and C.R. Kelly, *Weight gain after fecal microbiota transplantation*. Open Forum Infect Dis, 2015. **2**(1): p. ofv004.
108. Walia, R., S. Kunde, and L. Mahajan, *Fecal microbiota transplantation in the treatment of refractory Clostridium difficile infection in children: an update*. Curr Opin Pediatr, 2014.
109. Kunde, S., et al., *Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2013. **56**(6): p. 597-601.
110. Zanella Terrier, M.C., et al., *Recurrent Clostridium difficile infections: the importance of the intestinal microbiota*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(23): p. 7416-23.
111. Almeida, R., T. Gerbaba, and E.O. Petrof, *Recurrent Clostridium difficile infection and the microbiome*. J Gastroenterol, 2015.
112. Lawley, T.D., et al., *Targeted restoration of the intestinal microbiota with a simple, defined bacteriotherapy resolves relapsing Clostridium difficile disease in mice*. PLoS Pathog, 2012. **8**(10): p. e1002995.
113. Petrof, E.O., et al., *Stool substitute transplant therapy for the eradication of Clostridium difficile infection: 'RePOOPulating' the gut*. Microbiome, 2013. **1**(1): p. 3.

114. Kahn, S.A., et al., *Patient perceptions of fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis*. *Inflamm Bowel Dis*, 2013. **19**(7): p. 1506-13.