

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE BRASILEIRA

Marcelo Dias de Castro

**AVALIAÇÃO DE CAUSAS DE DIARRÉIA EM PACIENTES
SUBMETIDOS A TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS
TRONCO HEMATOPOÉTICAS**

Juiz de Fora
2014

Marcelo Dias de Castro

**AVALIAÇÃO DE CAUSAS DE DIARRÉIA EM PACIENTES SUBMETIDOS A
TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTIICAS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Saúde, área de concentração: Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: Prof. Doutor Abrahão Elias Hallack Neto

CO-ORIENTADOR: Prof. Doutor Júlio Maria Fonseca Chebli

Juiz de Fora
2014

Marcelo Dias de Castro

**AVALIAÇÃO DE CAUSAS DE DIARRÉIA EM PACIENTES SUBMETIDOS A
TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós Graduação em Saúde, área de concentração: Saúde Brasileira, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Abrahão Elias Hallack Neto
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Erich Vinícius de Paula
Universidade de Campinas

Prof. Dr. Angelo Atalla
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, Professor Doutor Abrahão Elias Hallack Neto, tanto pela confiança, em um momento tão delicado, em pleno início do núcleo de hematologia e transplante de medula óssea, quando ele apostou em minha capacidade de responder a desafios, incentivando-me e dando forças a cada momento da pós graduação, quanto pela amizade, dando apoio durante um momento doloroso da minha vida.

Ao Professor Doutor Júlio Maria Fonseca Chebli que desde a idéia inicial apoiou e contribuiu com dicas e sugestões fundamentais para a montagem do projeto, além de cooperar com a confecção e revisão do artigo científico.

Agradeço ao Dr. Angelo Atalla, chefe do serviço de transplante de medula óssea, que desde a residência médica foi provavelmente meu maior incentivador a cursar a pós graduação, além de ter sido a pessoa que realmente me ensinou a estudar de maneira crítica e ininterrupta.

A toda equipe de enfermagem do HU-UFJF, em especial a Enfermeira Rosângela Cunha, minha querida e eterna amiga, com quem muito aprendi e cujo exemplo profissional vem me inspirando até hoje, sem a qual este projeto, que muito depende de cooperação interdisciplinar, não teria sido possível.

A todos os pacientes que de maneira voluntária, e sem nenhum interesse que não fosse a cooperação, participaram deste projeto e contribuíram para nosso estudo.

Agradeço também ao Dr. Fernando Colugnati pela orientação da estatística e pela colaboração na revisão do manuscrito.

À minha mãe, Elisabeth, aos meus irmãos, Patrícia e Rafael, por todo apoio e incentivo durante esta dura jornada, e pela torcida por mim, e peço desculpas pelo tempo em que não pude estar presente.

Ao meu pai, Helvécio Miranda, que infelizmente não está mais presente para assistir a este momento, mas, tenho certeza, sempre torceu e vibrou por mim a cada pequena vitória, por ter sido um homem de grande caráter e grande incentivador dos meus estudos.

A Ana Paula, minha esposa e meu grande amor, pelo incentivo, cumplicidade, compreensão e pela ajuda que vem me dando durante todo este período, sem cobranças, sem nenhum momento de irritação ou de tristeza pelas horas que não passamos juntos, por dedicar-me a este árduo trabalho.

Agradeço por fim a minha querida filha Izabela, o maior amor, a maior alegria, o grande sinônimo de vida, mas que não temos a menor idéia do quão grande é o amor que temos até tê-los em nossos braços. Filha, você é o maior sentido da minha vida e tudo que fiz e faço é para que você tenha exemplo e também orgulho de uma pessoa que possa, um dia, servir-lhe de inspiração. Quero ainda me desculpar pelo tempo em que não pude estar com você, mas quero que saiba que você é, sem sombra de dúvidas, o maior presente que já recebi na minha vida. Dedico a você este trabalho.

“A loucura é diagnosticada pelos sãos, que não se submetem a diagnóstico. Há um limite em que a razão deixa de ser razão, e a loucura ainda é razoável. Somos lúcidos na medida em que perdemos a riqueza da imaginação.”

Carlos Drummond de Andrade.

RESUMO

Diarréia é a maior causa de morbidade em pacientes submetidos a quimioterapia em altas doses e a transplante autólogo de células tronco hematopoéticas. Existem muitas causas de diarréia em pacientes que são transplantados, incluindo o efeito dos agentes quimioterápicos e as infecções. Neste estudo, foram avaliados 47 pacientes que receberam transplante no HU-UFJF entre maio de 2011 e maio de 2013. Todos os pacientes que apresentaram diarréia tiveram suas amostras de fezes enviadas para análise e pesquisa de agentes etiológicos através de exames específicos para fungos, coccídios, *Strongyloides*, parasitas intestinais, *Clostridium difficile*, e bactérias patogênicas. Trinta e nove pacientes (83%) tiveram diarréia, sendo que, destes, 35% tiveram diarréia induzida por quimioterapia, sete (17,5%) apresentaram coccídios, três (7,5%) tiveram *Cândida sp*, um (2,5%) *Clostridium difficile* e um paciente (2,5%) apresentou *Giardia lamblia*. Outros 30% apresentaram diarréia por outras causas. Houve uma tendência a mais diarréia em pacientes com mais de 50 anos ($p=0.09$), naqueles que receberam condicionamento com lomustina, etoposide, citarabina e melfalam ($p=0.083$) e houve um maior número de dias de neutropenia nos pacientes com diarréia ($p=0.06$). Porém nenhum fator de risco foi encontrado. Os dados apontam para a importância da correta identificação dos agentes etiológicos e da alta probabilidade de variações destes agentes em populações distintas.

Palavras-chave: transplante de células tronco, diarréia, agente etiológico, transplante autólogo.

ABSTRACT

Diarrhea is a major cause of morbidity for the patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation (ASCT). There are multiple causes of diarrhea in patients undergoing transplantation including antineoplastic chemotherapy and infections. In this study, 47 patients underwent ASCT at the HU-UFJF between May 2011 and May 2013. All patients who presented with diarrhea consented to stool sample analysis for identification of the etiological agents through specific exams in search of fungi, coccidia, intestinal parasites, *Strongyloides*, *C. difficile*, and other pathogenic bacteria. Thirty-nine patients (83%) had diarrhea, among whom 35% had diarrhea induced by chemotherapy, seven (17.5%) presented with coccidia, three (7.5%) with *Candida* sp., one (2.5%) with *C. difficile*, and one (2.5%) with *Giardia lamblia*. Other 30% had diarrhea for other causes. There was a tendency toward a higher incidence of diarrhea in oldest 50 years ($p=0.09$) and those who received lomustine, etoposide, cytarabine, and melphalan conditioning ($p=0.083$) and a higher number of days of neutropenia in patients with diarrhea ($p=0.06$); however, no risk factors were identified. The results shows the importance of correctly identifying the etiological agent and highlights the possible varieties of agents in specific populations.

Keywords: stem cell transplant; diarrhea; etiological agent, autologous transplant.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	10
2 Revisão da literatura.....	14
2.1 Causas comuns de diarreia em TACTH.....	14
2.1.1 Diarreia induzida por quimioterapia.....	14
2.1.2 Principais causas de diarreia infecciosa em TACTH.....	16
2.1.2.1 Estrongiloidíase.....	16
2.1.2.2 Coccídios.....	18
2.1.2.2.1 <i>Isospora belli</i>	19
2.1.2.2.2 <i>Cryptosporidium sp.</i>	20
2.1.2.3 <i>Clostridium difficile</i>	23
3 Objetivos.....	26
3.1 Gerais.....	26
3.2 Específicos.....	26
4 Hipótese.....	27
5 Pacientes e métodos.....	28
5.1 Pacientes.....	28
5.2 Avaliação laboratorial da diarreia.....	29
5.3 Análise estatística.....	29
6 Resultados e discussão.....	30
7 Conclusões.....	43
8 Referências.....	44
Apêndices.....	48
Anexos.....	51

AVALIAÇÃO DE CAUSAS DE DIARRÉIA EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTIAS

1- INTRODUÇÃO

A terapia com células tronco é uma área do conhecimento e de atuação médica intensamente pesquisada, e novas aplicações para seu uso tem sido exaustivamente avaliados. Neste contexto, destacam-se o transplante de células tronco hematopoéticas, sejam estas células provenientes da medula óssea ou do sangue periférico, as quais podem ser ainda provenientes de um doador voluntário compatível, no transplante alogênico, que ainda pode ser dividido em aparentado quando há relação de parentesco, especialmente entre irmãos, singênico no caso de gêmeos idênticos, ou não aparentado quando proveniente de bancos de doadores; ou então do próprio paciente, a auto doação, no caso de transplante autólogo. No Brasil, os primeiros relatos de transplante alogênico datam de 1979, enquanto o primeiro transplante autólogo foi realizado em 1987, em São Paulo – SP (disponível em: <http://www.tmobr.com.br/tmo.html>. Acesso em 22/01/2014).

O transplante autólogo de células tronco hematopoéticas (TACTH) consiste na realização de uma quimioterapia em altas doses, que tem como objetivo tratar uma doença neoplásica baseada no princípio de resposta dependente da dose, para aumentar as chances de cura ou de remissão prolongada de uma determinada moléstia, conhecida como fase de condicionamento. No entanto, o emprego de uma dose muito elevada de quimioterapia traz consigo uma toxicidade medular inaceitável, e, assim, empregamos o uso do resgate hematopoético, com a infusão das células tronco do próprio paciente, as quais foram coletadas previamente e

criopreservadas, como maneira de reconstruir o ambiente medular destruído pela quimioterapia.

Esta etapa é seguida por um período de aplasia medular intenso, durante o qual o indivíduo ficará exposto a todos os efeitos da neutropenia, da plaquetopenia e da imunossupressão. No entanto, a toxicidade medular não é a única a qual o paciente segue exposto durante o procedimento. Outros efeitos imediatos e tardios do tratamento podem se manifestar em tais pacientes, como mucosite, alterações hepáticas e renais, entre outras.

A diarreia é a mais prevalente causa de morbidade em pacientes que são submetidos a TACTH, acometendo cerca de 64,9 a 91,0% destes pacientes (BOBAK, 2008; ARANGO, 2006). As causas de diarreia estão relacionadas a toxicidade secundária ao tratamento e aos efeitos da quimioterapia, principalmente.

A toxicidade das drogas usadas no condicionamento, a irritação provocada por elas em epitélios e mucosas, efeitos colaterais de medicamentos como os antibióticos e as infecções podem provocar ou contribuir para a ocorrência de diarreia. *Cryptosporidium sp* é um parasita intestinal emergente que tem sido descrito como causador de infecção intestinal e extra-intestinal em indivíduos imunocomprometidos, assim como o *Isospora belli*. Infecções por estrogilóides e ascaris são menos comuns, enquanto diarreia por micobactérias ou espécies de *Candida* são bastante raros (ANDERSON, 2007; DETRAIT, 2009).

A presença de diarreia por parasitas comuns, ou seja, endêmicos na população, é uma causa etiológica possível de diarreia infecciosa que deve ser prontamente investigada, por ter suas conseqüências agravadas pelo estado de imunossupressão destes pacientes. Parasitas como estrogilóides, ascaris e

espécies de amebas, por serem prevalentes em nossa região, podem causar diarreia por vezes facilmente tratáveis quando é feito o diagnóstico correto (PAWLOWSKI, 2009).

O *Clostridium difficile* é uma bactéria que causa diarreia em indivíduos de origem nosocomial, além de ter forte associação com o uso de antimicrobianos de largo espectro (NOMURA, 2009), ao qual esta população específica está frequentemente exposta, com a finalidade de tratar quadros de neutropenia febril e sepse neutropênica.

Existe ainda a forte associação de infecções intestinais com germes oportunistas, presentes e largamente descritos em grupos de pacientes imunocomprometidos, submetidos a quimioterapia e portadores de doenças oncológicas ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), como a estrongiloidíase, a criptosporíase, a isosporíase e a infecção por espécies de *Candida* (DETRAIT, 2009).

Diante disso, o uso de antimicrobianos de maneira empírica é prática muito comum em diversos serviços que lidam com este tipo de paciente quando apresentam diarreia, seja durante ou após o período de internação para realização do TACTH. Sendo assim, acreditamos que a identificação sistemática do agente etiológico infeccioso é de grande relevância para o correto manejo desta população.

Apesar desta identificação ser importante no manejo destes casos, existe um número pequeno de pesquisas na literatura consultada sobre os agentes etiológicos presentes nestes casos, sendo que muitos destes estudos avaliam somente a diarreia por *Clostridium difficile*, que tem grande importância em países desenvolvidos (MUSHER, 2008). No Brasil, por tratar-se de um país tropical,

apresenta particularidades próprias desse meio em relação aos agentes infecciosos; estudo em centro privado do estado de São Paulo, avaliando uma população urbana e com perfil sócio econômico distinto de nossa população geral, produziu um perfil que deve ser confrontado com outros estudos em nosso meio para avaliarmos nossa realidade epidemiológica (DELLA VECHIA, 2010).

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1- Causas comuns de diarreia em TACTH

2.1.1- Diarreia induzida por quimioterapia

A diarreia induzida por quimioterapia (DIQT) é uma intercorrência comum em pacientes submetidos a tratamento quimioterápico, sendo importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos a TACTH, levando a limitações ao tratamento, desnutrição, diminuição da qualidade de vida e elevação dos custos hospitalares. A perda de fluidos e as alterações hidroeletrólíticas, com desidratação e evolução para insuficiência renal são as grandes consequências das formas mais graves e que colocam em risco a vida desses indivíduos (ARBUCKLE, 2000).

As causas são multifatoriais, destacando-se as alterações vistas na mucosa, com destruição aguda da mucosa intestinal com perda do epitélio e alterações em criptas intestinais, com aumento de criptas imaturas, levando a aumento do volume de secreção e redução da capacidade de reabsorção (MILLES, 1962), até efeitos colinérgicos específico de algumas drogas (BENSON, 2004).

O principal modelo de DIQT com os protocolos modernos é o tratamento quimioterápico de primeira linha para o câncer colorretal. As combinações de drogas que incluem o 5-fluoruracil, o irinotecam e a capecitabina são as mais usadas neste contexto, sendo as que mais se correlacionam com diarreia, tornando-se padrão para o estudo desta intercorrência (ROSENOFF, 2006).

Dentre os fatores de risco para DIQT, um estudo italiano citou episódios prévios de DIQT, estações quentes do ano e localização do tumor primário no cólon como os mais relevantes (CASCINU, 1997).

O manejo da DIQT tem variado de acordo com a gravidade dos casos, normalmente baseado nos critérios do **National Cancer Institute criteria for severity of chemotherapy-induced diarrhea** (STEIN, 2010), que classifica a diarreia num escore de 1 a 5 (tabela 1), o qual se vale do número de evacuações, presença de sangue nas fezes, necessidade de fluidos intravenosos e presença de colapso circulatório.

Tabela 1- Critério de toxicidade para DIQT segundo o National Cancer Institute.

Grau de toxicidade

- | | |
|---|---|
| 1 | Aumento de < 4 evacuações do basal ou pequeno aumento na drenagem pela ostomia |
| 2 | Aumento de 4-6 evacuações diárias do basal ou uso de fluidos venosos ou moderado aumento na drenagem pela ostomia e nenhuma interferência nas atividades diárias |
| 3 | Aumento de >6 evacuações do basal ou incontinência ou uso de fluidos > 24 horas ou hospitalização ou grande aumento de drenagem na ostomia ou interferencia nas atividade diárias |
| 4 | Consequências que provoquem risco de vida (ex: choque) |
| 5 | Morte |

Adaptado de: STEIN, A. Chemotherapy-induced diarrhea: pathophysiology, frequency and guideline-based management. Ther Adv Med Oncol., 2010.

Alguns autores se valem da mudança de dieta, alterações dos hábitos e hidratação oral para controle dos sintomas. O uso de medicações é muitas vezes necessário, sendo as drogas agonistas opióides usadas como primeira escolha, e a loperamida a droga mais usada nestes casos (WADLER, 1998; MAROUN, 2007).

Existem também vários estudos que mostram um análogo da somatostatina, o octreotide, como boa alternativa, com taxas de até 100% de resposta (ARBUCKLE, 2000), e é usado em casos graves de diarreia.

2.1.2- Principais causas de diarreia infecciosa em TACTH

2.1.2.1 – Estrongiloidíase

É uma infecção causada por um helminto chamado *Strongyloides stercoralis*. Trata-se de infecção endêmica em áreas tropicais e subtropicais, embora seja um parasita cosmopolita, encontrado em quase todo o mundo. Em estudo epidemiológico em imigrantes cambojanos na Austrália, por exemplo, 40% apresentavam sorologia positiva para este helminto (CARUANA, 2006).

O ciclo de vida não requer hospedeiro intermediário, uma vez que o contato com o próprio solo contaminado é suficiente para a infecção.

A auto-infecção é caracterizada por infecção pela larva rabdiforme que, transformada, penetra como larva filariforme antes de ser expulsa do organismo, reinfectando o trato gastrointestinal inferior através de mucosa e pele perianal. É uma forma comum de infecção no hospedeiro imunocomprometido, a qual poderá levar a quadros graves de hiperinfecção (KEISER, 2004). As manifestações clínicas

são variáveis, indo desde eosinofilia assintomática, apresentando quadro de variadas manifestações cutâneas, como prurido, urticárias, lesões serpiginosas do tipo larva migrans, edema e eritema, até sintomas gastrointestinais, com dor abdominal, duodenite, náuseas, vômitos e anorexia (KEISER, 2004).

Os sintomas pulmonares podem ser devidos a irritação das vias aéreas, levando a tosse, dispnéia e hemoptise, podendo chegar a síndrome de Loeffler com eosinofilia.

A autoinfecção, especialmente em imunocomprometidos, pode levar a hiperinfecção (ROY, 2012), com comprometimento disseminado e quadro séptico, que pode envolver o trato gastrointestinal, pulmões, coração, sistema nervoso central, glândulas endócrinas e conseqüente disfunção orgânica.

A imunossupressão é o grande fator de risco para doença disseminada, devido a redução da imunidade mediada por células, como na imunodeficiência congênita, má nutrição, alcoolismo, malignidade, uso de drogas imunossupressoras e transplante de medula óssea (KEISER, 2004). Portanto a presença de doença disseminada por *Strongyloides stercoralis*. deve ser avaliada em pacientes com sintomas gastrointestinais e sintomatologia de doença disseminada em pacientes submetidos a transplante de medula óssea e provenientes de áreas endêmicas (DULLEY, 2009).

O diagnóstico parasitológico deve ser realizado em amostras de fezes, muitas vezes sucessivas, através de técnicas de concentração, pois técnicas convencionais podem ser inadequadas. O método mais utilizado é o método de Baermann modificado, ou Baermann-Moraes, onde a larva é estimulada a migrar do bolo fecal

para um reservatório (WINN, 2008). Técnicas sorológicas também são utilizadas, mas em locais de alta prevalência podem ser de difícil interpretação.

O tratamento era anteriormente realizado com tiabendazol, mas recentemente o uso da ivermectina (IGUAL-ADELL, 2004) tem sido o tratamento de escolha na dose de 200 microgramas por quilo de peso corporal, em dois dias consecutivos, sendo o albendazol (ARCHIBALD, 1993) na dose de 400 miligramas 2 vezes ao dia por 3 a 7 dias a opção alternativa. A nitazoxanida também pode ser efetiva no tratamento da estrogiloidíase (FOX, 2005), mas é menos eficaz que as anteriores. A associação de ivermectina e albendazol é a opção de tratamento para doença disseminada, com bons resultados até mesmo no cenário de pacientes em transplante de células tronco (ORLENT, 2003).

2.1.2.2 – Coccídios

Os coccídios são um subgrupo de protozoários que pertencem ao subfilo Sporozoa. São parasitas teciduais obrigatórios. Desse subgrupo de protozoários fazem parte também o *Plasmodium* e o *Toxoplasma* (WINN, 2008).

Os coccídios intestinais, que compreendem os gêneros *Isospora*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora* e *Sarcocystis*, requerem um hospedeiro externo, como gato, gado ou animal doméstico. A exceção é o *Isospora belli*, no qual as fases sexual e assexual podem ocorrer no ser humano, sem necessidade de hospedeiro intermediário.

Com o advento da síndrome da imunodeficiência adquirida na década de 1980, os casos de diarreia por *Cryptosporidium sp* e por *Isospora belli* tornaram-se comuns e são agora consideradas doenças infecciosas emergentes (WINN, 2008).

2.1.2.2.1 – *Isospora belli*

O *Isospora belli* é considerado um protozoário intracelular obrigatório. Pode habitar naturalmente o intestino delgado humano, o qual constitui o seu maior reservatório no ambiente. Seus oocistos são extremamente resistentes no ambiente, onde permanecem por vários meses. As infecções humanas não necessitam de um hospedeiro intermediário, não sendo, portanto, uma zoonose, uma vez que as formas sexual e assexuadas ocorrem naturalmente no intestino humano. A transmissão ao homem se dá pela ingestão de água e alimentos contaminados por fezes.

Epidemiologicamente trata-se de um parasita freqüente em todo o mundo, tanto em locais desenvolvidos como em desenvolvimento. No Brasil, alguns autores descrevem taxas de positividade em pacientes portadores de AIDS que variam de 8,1 a 10,1% (ARCOVERDE, 2004; BRANTLEY, 2003).

Clinicamente, é uma doença que ganha importância em imunocomprometidos, visto que em indivíduos imunologicamente competentes a doença é rara e auto-limitada, por vezes assintomática, geralmente não necessitando tratamento (PEREIRA, 2009).

Do ponto de vista laboratorial, a coleta de fezes convencional e seu exame a fresco, com ou sem o uso de corante lugol, é uma forma fácil e rápida na identificação do parasita, através do achado de seu oocisto a microscopia. Os

oocistos imaturos possuem como características morfológicas serem de forma ovais ou elipsóides, medindo cerca de 20 a 33 micrômetros de comprimento e apresentam parede dupla, lisa e hialina. Recomenda-se, como forma de aumentar a positividade, a coleta múltipla de amostras. As técnicas baseadas em coloração ácido-álcool-resistência são consideradas superiores para o diagnóstico, apesar de um pouco mais trabalhosas. O aspirado duodenal e a biópsia de intestino são métodos possíveis para realizar o diagnóstico, mas por se tratarem de métodos invasivos são pouco utilizados (PEREIRA, 2009).

Os métodos sorológicos são factíveis, mas sua interpretação é difícil e possuem somente valor epidemiológico (PEREIRA, 2009).

Quando a doença se torna manifesta, caracteriza-se por quadro de diarreia comumente aquosa, dor abdominal, anorexia ou redução do apetite, má absorção intestinal, febre e desidratação, podendo gerar quadros de diarreia crônica de difícil resolução. O tratamento com sulfametoxazol-trimetropim é geralmente eficaz, ocorrendo melhora do quadro em torno de 1 a 6 dias em pacientes imunodeprimidos (WINN, 2008). Agentes alternativos são a pirimetamina e o ciprofloxacim, mas com eficácia inferior.

A nitazoxanida tem surgido como opção de tratamento eficaz e bem tolerada, com poucos efeitos colaterais (FOX, 2005), sendo os estudos realizados em sua maioria em pacientes com AIDS.

2.1.2.2.2 – *Cryptosporidium sp*

São protozoários coccídios associados a enterocolite. Com a disseminação da AIDS na década de 1980, tornou-se doença emergente. Embora mais de 23 espécies tenham sido nomeadas, apenas oito destas possuem características biológicas que as distingam como espécies propriamente ditas. O *Cryptosporidium parvum* genótipos 1 e 2, este último agora denominado *Cryptosporidium hominis*, são as espécies relacionadas a infecções em humanos, tendo sido freqüentemente encontrados em fezes de pacientes imunocomprometidos (KOSEK, 2001).

A infecção em humanos ocorre por ingestão de água e alimentos contaminados ou por contato direto com animais infectados.

As manifestações clínicas podem variar conforme o hospedeiro. Caracteristicamente um período de latência de uma semana é esperado, seguido por sintomas de diarreia, anorexia, dor abdominal, vômitos e febre, sendo que os sintomas podem se tornar recorrentes.

A resposta imune a criptosporíase inclui imunidade humoral e celular, uma vez que a resposta mediada por linfócitos T é muito importante, sendo que pacientes com deficiência da resposta mediada por linfócitos constituem um grupo especialmente sensível a formas graves de apresentação da doença (OKHUYSEN, 1998).

Pacientes imunocomprometidos podem apresentar desde doença diarreica auto-limitada até diarreia crônica, ou ainda doença grave, com comprometimento do trato biliar, podendo ocorrer hepatite, pancreatite grave e colangite, com subseqüente quadro de sepse (CAMA, 2007). Nos Estados Unidos, quatro síndromes clínicas são vistas em pacientes com AIDS e doença intestinal: uma

síndrome aguda, semelhante ao cólera, uma síndrome diarréica crônica, uma síndrome de diarréia intermitente e uma forma auto-limitada (KOSEK, 2001).

Uma variedade de manifestações extra-intestinais pode ocorrer em pacientes com AIDS, incluindo colecistite, colangite, hepatite, pancreatite e comprometimento do aparelho respiratório. Em 10% ou mais dos pacientes pode haver comprometimento da árvore biliar, levando a quadro grave, com dor abdominal em quadrante superior direito e febre (GROSS, 1986; DRAGOVIC, 2013).

Em pacientes com AIDS, a criptosporíase tem sido associada com piora da sobrevida independente da contagem de células CD4 (BLANSHARD, 1992).

Recentemente chama-se a atenção para a possível ocorrência de infecções subdiagnosticadas em áreas endêmicas, principalmente em países em desenvolvimento (DESAI, 2012). Um estudo indiano feito com 65 pacientes recebendo transplante de medula óssea alogênico identificou 7 casos de criptosporíase (KANG, 2002). Um outro estudo realizado também na Índia, em pacientes transplantados renais, demonstrou a presença de *Cryptosporidium sp* em 16,6% dos casos de diarréia (UDGIRI, 2004).

O diagnóstico é feito pela detecção de oocistos nas fezes, de formato ovalado ou esférico, com aproximadamente 6 micrômetro, e possuem coloração vermelha quando corados com a técnica álcool-ácido-resistente.

O tratamento, segundo orientação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, deve ser realizado com azitromicina ou roxitetromicina, ambas por via oral e divididas em duas doses diárias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A nitazoxanida, na dose de 1 a 2 gramas diários e por 2 semanas, mostrou efetividade de 65% dos casos em um estudo mexicano (ROSSIGNOL, 1998), e pode

ser uma boa opção para o tratamento monoterápico ou para associação com outras drogas.

A associação de azitromicina e nitazoxanida é usada em pacientes imunossuprimidos, inclusive naqueles transplantados de medula óssea, com bons resultados (LEGRAND, 2011).

2.1.2.3 *Clostridium difficile*

O *Clostridium difficile* é a causa mais importante de diarreia em pacientes hospitalizados. Pode causar desde colonização e infecção assintomática até manifestações graves, debilitantes e com elevada morbi-mortalidade (LOO, 2011).

Trata-se de uma bactéria anaeróbia, cujas toxinas por ela produzidas, denominadas toxina A e toxina B, são consideradas as causas diretas das principais manifestações clínicas da infecção (LYRAS, 2009).

No contexto do TACTH, a incidência de infecção por *Clostridium difficile* pode variar entre os diversos estudos, mas é considerada causa relevante de diarreia nesta população, com incidências variando entre 1,3% e 20,4% (MOSSAD, 1996; CHAKRABARTI, 2000). Em um recente estudo multicêntrico retrospectivo, com dados coletados entre 2003 e 2008 exclusivamente em pacientes submetidos a TACTH, foram constatados 53 casos em 873 pacientes, com uma incidência de 6,1%, e mostrou-se um evento comum e relativamente precoce nesta população (ALONSO, 2013).

As manifestações clínicas da infecção por esta bactéria pode variar de paciente para paciente, podendo haver ainda complicações graves. Portanto

quadros de diarreia, colite, megacolon e até perfuração intestinal são quadros vistos nestes pacientes (AVERY, 2000).

Nos quadros de diarreia, as manifestações clínicas mais observadas nas infecções por *Clostridium difficile* são a própria diarreia, dor abdominal, febre, leucocitose e a formação de uma pseudomembrana colônica, que é vista em exame endoscópico, mas pode, especialmente em pacientes imunossuprimidos, não estar presente (MUSHER, 2008; NOMURA, 2009).

Os principais fatores relacionados a infecção por *Clostridium difficile* foram identificados em vários estudos, sendo de maior impacto a idade avançada, período de internação prolongado, uso de inibidores da bomba de prótons, utilização de antimicrobianos como a clindamicina, cefalosporinas, quinolonas, penicilinas de largo espectro e uso de quimioterapia (BOBAK, 2008; ARANGO, 2006). Escores para gravidade da infecção tem sido desenvolvidos para facilitar e nortear o tratamento baseado na gravidade, como, Por exemplo, o Severity Score Index, feito no momento do diagnóstico, e que se correlaciona com o risco de mortalidade (TORO, 2011).

O diagnóstico pode ser feito por crescimento da bactéria em exames de microbiologia ou por identificação da presença da toxina produzida por ela em amostras de fezes. Existem kits próprios para identificação das toxinas A e B, normalmente por técnica de imunoenensaio enzimático (ELISA), sendo o mais comum o que identifica a toxina A, mas vem ganhando espaço a utilização de kits que fazem a pesquisa simultânea das toxinas A e B, os quais podem tornar o diagnóstico mais sensível. Alguns autores recomendam ainda que se faça repetidas análises a procura da toxina nos casos de forte suspeição clínica (MOYENUDDIN, 2002).

O tratamento baseia-se principalmente na utilização de antibióticos orais com boa cobertura para *Clostridium difficile*, sendo o metronidazol e a vancomicina considerados como as medicações de escolha para o tratamento da infecção (MUSHER, 2008).

Alguns autores tem sugerido que o metronidazol possa exercer menor pressão seletiva sobre a flora hospitalar, induzindo menos o surgimento de bactérias multirresistentes. Porém a vancomicina possui melhor atividade e melhor resposta clínica, sendo considerada droga de primeira escolha (WILCOX, 2011). No entanto, esta droga não é disponível no Brasil para uso oral.

Algumas opções de tratamento, como anticorpos antitoxina tem sido utilizados como alternativa, mas carecem de mais estudos (WILCOX, 2004).

Atualmente a nitazoxanida tem sido utilizada com sucesso no tratamento da diarreia relacionada ao *Clostridium difficile*, mesmo em casos de má resposta ao metronidazol e a vancomicina (FOX, 2005; MUSHER, 2006).

A opção do tratamento cirúrgico pode ser necessária em alguns casos, como no desenvolvimento de megacólon, perfuração intestinal, ou com a realização de colectomia como medida heróica em casos refratários ao tratamento medicamentoso.

Atualmente estão sendo publicados estudos com um antigo método conhecido como transplante fecal, que consiste em infundir no trato gastrointestinal do enfermo fezes de um doador saudável, como forma de reequilibrar e reconstituir uma flora capaz de corrigir o desequilíbrio causado pela infecção pelo *Clostridium difficile*, com resultados favoráveis em até 81% dos casos (van NOOD, 2013).

3- OBJETIVOS

3.1- Geral

Caracterizar clínica e epidemiologicamente a diarreia em TACTH, no serviço de transplante de medula óssea do Hospital Universitário da UFJF.

3.2- Específicos

Identificar as principais causas de diarreia.

Identificar fatores de risco que influenciem o aparecimento de diarreia.

Avaliar quais agentes infecciosos são prevalentes em nosso meio.

4- HIPÓTESE

Diarréia é uma importante complicação em pacientes submetidos a TACTH, o que torna extremamente importante a realização da adequada avaliação e identificação etiológica dos episódios diarreicos neste grupo de pacientes.

A elevada incidência de diarréia induzida por quimioterapia é comum em diferentes grupos, mas agentes etiológicos como o *Clostridium difficile* são frequentes em ambientes diferentes de nossa realidade climática e sócio-econômica, a qual facilita o desenvolvimento de agentes de vinculação oral-fecal, como helmintos e protozoários.

5- PACIENTES E MÉTODOS

Após aprovação do comitê de ética em pesquisa local sob protocolo 053.420.2011, realizamos um estudo prospectivo e longitudinal onde foram avaliados os pacientes internados para realização de transplante autólogo de células tronco hematopoéticas na unidade de transplante de medula óssea do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil, no período compreendido entre maio de 2011 e maio de 2013.

5.1- Pacientes

Todos os pacientes internados na unidade neste período foram elegíveis para o estudo. Diarréia foi definida como a presença de duas ou mais evacuações de aspecto líquido ou pastoso em um período de 24 horas entre o dia da internação e o dia 30 pós transplante (ARANGO, 2006).

Foram excluídos do estudo pacientes que não quiseram participar ou aqueles que não assinaram, ou seus responsáveis legais não quiseram assinar, o termo de consentimento livre e esclarecido.

As principais variáveis avaliadas foram: sexo, idade, doença de base, condicionamento utilizado, tempo de neutropenia, presença de febre, duração da febre, duração da diarréia, momento do início da diarréia, características das fezes, uso de antimicrobianos e utilização de inibidor de bomba de prótons.

5.2- Avaliação laboratorial da diarreia

Para a pesquisa etiológica nos pacientes que apresentaram diarreia foram realizados exames parasitológico de fezes com técnica de MIF e Baermann-Moraes em 3 amostras em dias alternados. Amostras a fresco foram coletadas para pesquisa direta fungos e de coccídeos, e duas amostras em dias consecutivos para pesquisa de toxinas A/B conjugadas para *Clostridium difficile* pelo método de ELISA. Foi realizada cultura de fezes frescas para *Shigela sp*, *Salmonela sp* e *Escherichia coli* entero-patogênica. Foi realizada nova coleta no caso de pacientes que cessaram a diarreia por 24 horas e reiniciaram a qualquer momento, considerando-se um novo episódio, e uma nova amostra para *Clostridium difficile* no caso de pacientes que apresentavam diarreia e iniciavam um novo evento de febre, devido a alta incidência de febre nestas infecções.

Diarreia foi definida como infecciosa nos casos em que foram isolados patógenos entéricos, fungos ou parasitas intestinais, ou no caso de positividade da toxina A/B. Os pacientes afebris que apresentaram diarreia sem nenhum agente infeccioso isolado foram considerados como tendo diarreia induzida por quimioterapia, enquanto os demais casos foram considerados como diarreia de causa indeterminada.

5.3- Análise estatística

A análise estatística foi feita através do programa SPSS versão 21. Foram utilizados os testes de qui-quadrado de Pearson ou de Fisher para variáveis

categóricas, e o teste de Mann-Whitney para variáveis que não obedeciam uma distribuição normal. Foi considerado estatisticamente significativo um $p < 0.05$.

Foram analisadas as diversas variáveis como fatores de risco para diarreia, sendo elas idade, sexo, doença de base, condicionamento, uso de inibidor de bomba de prótons, febre, tempo de neutropenia, presença ou ausência de neutropenia e utilização de antimicrobianos.

Foi realizada ainda uma análise para tentar encontrar fatores que fossem mais associados com diarreia infecciosa em relação as demais causas, como características das fezes, presença de febre, duração da diarreia, idade superior a 50 anos, doença de base e condicionamento utilizado, uso prévio de antibióticos e duração da neutropenia.

6- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão são apresentados no formato do artigo científico a seguir. Este artigo foi submetido a revista indexada conforme norma do programa e o comprovante de submissão consta nos anexos.

Infectious diarrhea in autologous stem cell transplantation: high prevalence of
coccidia in a South American center

Running title: Infectious diarrhea in autologous transplantation

Marcelo Dias de Castro^{1,2}, Julio Maria Fonseca Chebli¹, Angelo Atalla¹, Fernando Colugnate¹, Sandra Neves dos Santos¹, Milton Artur Ruiz¹, Abrahao E Hallack Neto¹

1- Universidade Federal de Juiz de Fora

2- Faculdade de Medicina de Barbacena - Fundação José Bonifacio Lafayette de Andrada

Correspondence: Marcelo Dias de Castro

Rua Jaime do Rego Macedo 97 Centro Barbacena MG Brazil CEP 36200032

Email: marcelohemato@yahoo.com.br

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interests.

Abstract

Diarrhea is frequently seen in autologous stem cell transplantation (ASCT), in which infections are an important cause of diarrhea. Despite *Clostridium difficile* being among the most common causes of outbreaks, a study population's characteristics and environment may result in other pathogens causing diarrhea in ASCT. In this study, 47 patients underwent ASCT at a Brazilian center between May 2011 and May 2013. All patients who presented with diarrhea consented to stool sample analysis for identification of the etiological agents through specific exams in search of fungi, coccidia, intestinal parasites, *Strongyloides*, *C. difficile*, and other pathogenic bacteria. Thirty-nine patients (83%) had diarrhea, among whom seven (17.5%) presented with coccidia, three (7.5%) with *Candida* sp., one (2.5%) with *C. difficile*, and one (2.5%) with *Giardia lamblia*. There was a tendency toward a higher incidence of diarrhea in older patients ($p=0.09$) and those who received lomustine, etoposide, cytarabine, and melphalan conditioning ($p=0.083$) and a higher number of days of neutropenia in patients with diarrhea ($p=0.06$); however, no risk factors were identified. The high frequency of diarrhea caused by coccidia shows the importance of correctly identifying the etiological agent and highlights the possible varieties of intestinal infections in populations of patients who undergo ASCT.

Keywords: stem cell transplant; diarrhea; etiological agent; coccidia

Introduction

Diarrhea is one of the most prevalent causes of morbidity in patients who submit to autologous stem cell transplantation (ASCT), resulting in a significant compromise in patient quality of life.^{1,2,3} The causes of diarrhea are mainly related to the toxicity of high-dose chemotherapy schemes, irritation of the epithelia and mucosa of the digestive tract, and various infectious causes.

The association with the presence of the *Clostridium difficile* bacteria is a known cause of diarrhea in individuals of nosocomial origin⁴ in addition to being associated with the use of broad-spectrum antimicrobials.⁵ There is also a strong association between intestinal infections and opportunistic germs that are present and largely described in groups of immunocompromised patients who undergo chemotherapy as well as those with oncological diseases or acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), such as strongyloidiasis, cryptosporidiosis, isosporiasis, and candidiasis.⁶

The empirical use of antimicrobials that cover these microorganisms is common practice in several clinics that manage patients who present with diarrhea during or after hospitalization for ASCT.¹ However, there are few studies regarding its etiology or the infections that may be involved in such events, especially in Brazil. The objective of this study is to identify the main etiologies of diarrhea in our environment.

Materials and Methods

Once study approval was granted by the institutional research and ethics committee, the patients admitted between May 2011 and May 2013 for ASCT at the

Bone Marrow Transplant Unit of the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora were assessed.

All patients were assessed via a parasitological stool examination and treated according to the pathogen found prior to the ASCT since no patient presented with diarrhea at the time of ASCT. Diarrhea was defined as the presence of two or more watery or loose fecal discharges within a 24-hour period. All patients received prophylactic acyclovir in the beginning of the chemotherapy conditioning up to the neutrophil grafting without prophylaxis for bacteria and fungi. In the case of fever, the antimicrobial used initially for all patients was cefepime.

To assess the infection causes in patients presenting with diarrhea, parasitological stool examinations using the merthiolate-iodine-formalin and Baermann-Moraes technique was conducted with three samples. Fresh samples were collected for the direct assessment of fungi and coccidia as well as the assessment of the A and B toxins combined using enzyme-linked immunosorbent assay for *C. difficile*. Fresh stool cultures were performed for *Shigella* sp., *Salmonella* sp., and *Escherichia coli*. New samples were collected for patients who stopped having diarrhea for 24 hours and had new episodes at any time, and a new sample for *C. difficile* was collected from patients who presented with diarrhea and a new episode of fever.

Diarrhea was defined as infectious in cases in which enteric pathogens, intestinal parasites, or fungi were isolated or in the case of a positive A/B toxin for *C. difficile*. Afebrile patients who presented with diarrhea with no isolated infectious agents were considered as having chemotherapy-induced diarrhea and the others were defined as having diarrhea of an unspecified cause.

The statistical analysis was conducted using SPSS software version 21, in which Pearson's chi-squared test or Fisher's test for categorical variables as well as the Mann-Whitney test for non-normal distribution variables were used. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

The assessment included 47 patients (Table 1). Among these patients, 39 (83%) had diarrhea, among whom one patient presented with two episodes, for a total of 40 events of diarrhea in the study period. Fourteen patients presented with diarrhea induced by chemotherapy (35%), in which there was no relationship between the protocol used and the presence of diarrhea, and 14 were classified as having other causes. Among the 12 cases of infectious diarrhea, the most frequent agents were coccidia in seven (17.5%) cases, among which there were four (10%) cases of *Cryptosporidium* sp. and three cases in which it was not possible to determine the genus of the isolated coccidia. The second most frequent pathogen was *Candida* spp. in three cases, among which *Cryptosporidium* sp. was also isolated for one patient. There was only one case of diarrhea caused by *C. difficile* and one case of *Giardia lamblia* (Table 2). All of the stool cultures came back negative.

There was no difference in the incidence of diarrhea in relation to sex, underlying disease, days of neutropenia, presence of fever, or use of antimicrobials. There was a slight tendency toward a higher frequency in patients aged ≥ 50 years, although the difference was not statistically significant ($p=0.09$). All of the patients

who received the LEAM (lomustine, etoposide, cytarabine, and melphalan)⁷ protocol presented with diarrhea.

The patients who were specifically treated for the isolated diarrhea-causing agents showed an average of 5.3 days of diarrhea, while those who were not treated specifically had an average of 8 days of diarrhea (p=0.13).

All patients developed febrile neutropenia and there was a tendency toward more days of neutropenia in those presenting with diarrhea (p=0.06); in eight (66.6%) of the 12 events of infectious diarrhea, the patients presented with a neutrophil count < 500 mm³ when the diarrhea started. There was no correlation between the use of antibiotics and the frequency of diarrhea considering that all patients made use of cefepime to treat the fever episode, including the eight patients who did not present with diarrhea; of the 39 patients with diarrhea, only 23% used cefepime before the diarrhea started. The use of other antimicrobials, such as vancomycin and carbapenem, had no relationship with the higher presence of diarrhea either.

Discussion

Diarrhea in patients who underwent ASCT is a very common event, with frequencies in the literature of 47–91%.^{1,2,8,9} In our environment, 83% of the assessed patients presented with diarrhea, which is confirmed to be an important cause of morbidity and decreases the quality of life of these patients.³

Despite of the varying frequencies in different reports in the literature,^{1,2,10} *C. difficile* as the cause of diarrhea was infrequent in our environment, thus not justifying the empirical use of antimicrobial treatment with actions against such pathogen, even

for patients using broad-spectrum antimicrobials such as fourth-generation cephalosporins for the treatment of febrile neutropenia in our clinic.

Coccidia were present in approximately 18% of the patients who presented with diarrhea, accounting for the main cause of infectious diarrhea (58% of the isolated agents). Such findings demonstrate a frequency that is above that reported in the literature for ASCT¹; we believe that this is due to its high prevalence in developing nations such as Brazil, in which the positivity rates in patients with AIDS are 8.1–21.4%.^{11,12}

Despite showing no statistically significant difference, the diarrhea tended to be shorter in duration in those patients who were treated for an infectious agent compared to those who did not have an infectious cause; therefore, the latter did not submit to any type of specific diarrhea treatment, reinforcing the infectious etiology of the diarrhea in those patients who received antimicrobial treatment.

An assessment of the infectious events conducted retrospectively in the same clinic¹³ without a systematic research of the infectious agents in patients with diarrhea identified only three cases of coccidia (two *Cryptosporidium* sp. and one *Isospora* sp.) in 72 patients with diarrhea, which alerts us to the need for a routine assessment for pathogens in diarrheal stools, particularly when initiated during the neutropenia period, considering that in 66.6% of the infectious diarrhea events in this round, the patients presented with neutrophil counts < 500 mm³.

Despite high-dose chemotherapy having been the main cause of diarrhea, in light of the fact that 30% of diarrhea episodes are related to infections and nearly 18% are caused by coccidia, the need to identify an infectious agent to adequately

treat diarrhea in patients submitted to ASCT is evident. Given these signs, clinicians must be attentive to the presence of coccidia in the environment.

Acknowledgments

We thank all those who contributed to data collection and analysis.

References

1. Bobak D, Arfons LM, Creger RJ, Lazarus HM. *Clostridium difficile*-associated disease in human stem cell transplant recipients: coming epidemic or false alarm? *Bone Marrow Transplant* 2008; **42**: 705–713.
2. Arango JI, Restrepo A, Schneider DL, Callander NS, Ochoa-Bayona JL, Restrepo MI et al. Incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea before and after autologous blood stem cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2006; **37**: 517–521.
3. Anderson KO, Giralt SA, Mendoza TR, Brown JO, Newmann JL, Mobley GM et al. Symptom burden in patients undergoing autologous stem-cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; **39**: 759–766.
4. Musher DM, Aslam S. Treatment of *Clostridium difficile* colitis in the critical care setting. *Crit Care Clin* 2008; **24**: 279–291.
5. Nomura K, Fujimoto Y, Yamashita M, Mirimoto Y, Ohshiro M, Sato K et al. Absence of pseudomembranes in *Clostridium difficile*-associated diarrhea in patients using immunosuppression agents. *Scand J Gastroenterol* 2009; **44**: 74–78.
6. Detrait M, Poirier L, Roy DC, Kiss T, Busque L, Cohen S et al. Diphyllbothriasis, a rare cause of profuse diarrhea following autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009; **44**: 131–132.
7. Santos KB, Costa LJ, Atalla A, Pereira J, Hallack Neto AE. Maximum tolerated dose of lomustine in combination with etoposide, cytarabine and melphalan in autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with lymphoma. *Bone Marrow Transplant* (in press)

8. van Kraaij MGJ, Dekker AW, Verdonck LF, van Loon AM, Vinje J, Koopmans MPG et al. Infectious gastroenteritis: an uncommon cause of diarrhea in adult allogeneic and autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2000; **26**: 299–303.
9. Avery R, Pohlman B, Adal K, Bolwell B, Goldman M, Kalaycio M et al. High prevalence of diarrhea but infrequency of documented *Clostridium difficile* in autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2000; **25**: 67–69.
10. Alonso CD, Dufresne SF, Hanna DB, Labbé A-C, Treadway SB, Neofytos D et al. *Clostridium difficile* infection after adult autologous stem cell transplantation: a multicenter study of epidemiology and risk factors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; **19**: 1502–1508.
11. Bachur TPR, Vale JM, Coêlho ICB, Queiroz TRBS, Chaves CS. Enteric parasitic infections HIV/AIDS patients before and after the highly active antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis* 2008; **12**: 115–122.
12. Brantley RK, Williams KR, Silva TMJ, Siström M, Thielman NM, Ward H et al. AIDS-associated diarrhea and wasting in northeast Brazil is associated with subtherapeutic plasma levels of antiretroviral medications and with both bovine and human subtypes of *Cryptosporidium parvum*. *Braz J Infect Dis* 2003; **7**: 16–22.
13. Santos KB, Hallack Neto AE, Silva GA, Atalla A, Abreu MM, Ribeiro LC. Infection profile of patients undergoing autologous bone marrow transplantation in a Brazilian institution. *São Paulo Med J* 2012; **130**: 6–10.

Table 1. Patient characteristics

	With diarrhea	Without diarrhea	Total	p value
Patients, n	39 (83%)	8 (17%)	47 (100%)	
Sex (M/F)	20 (43%)/19(40%)	4 (8.5%)/4 (8.5%)	24 (51%)/23 (49%)	0.60
Age (mean/range)	48.1 (16–65)	39.9 (19–56)	46.7	0.13
<50 years/>50 years	16 (34%)/23 (49%)	6 (13%)/2 (4%)	22(47%)/25(53%)	0.098
Underlying disease				0.47
Multiple myeloma	25 (53%)	4 (8.5%)	29 (61.5%)	
Non-Hodgkin's lymphoma	4 (8.5%)		4 (8.5%)	
Hodgkin's lymphoma	8 (17%)	3 (7%)	11 (24%)	
AML	2 (4%)	1 (2%)	3 (6%)	
Conditioning				0.083
MEL 200	22 (47%)	4 (8.5%)	26 (45.5%)	
CBV	3 (7%)	3 (7%)	6 (14%)	
LEAM	9 (18.5%)		9 (18.5%)	
Busulfan base schemes	5 (10%)	1 (2%)	6 (12%)	
Febrile neutropenia in days (mean/range)	5.7 (1-15)	3.4 (1–7)	5.3	0.067
Time of diarrhea in days (mean/range)				
infectious/non-fever	5.3 (1–9)/8 (2–18)	7.3 (1–18)		0.13
At the start of diarrhea	15 (38.5%)			
Prior use of antimicrobials	9 (23%)			

AML: acute myeloid leukemia; MEL 200: melphalan 200 mg/m²; CBV: cyclophosphamide, carmustine, and etoposide; LEAM: lomustine, etoposide, cytarabine, and melphalan

Table 2. Distribution of the diarrhea causes in ASCT at the institution

Diarrhea causes	Episodes (n)	Percent (%)
Quantity induced	14	35.0
Unspecified	14	35.0
Infectious agent	12	30.0
Coccidia	7	17.5
<i>Candida</i> spp.	3	7.5
<i>Clostridium difficile</i>	1	2.5
<i>Giardia lamblia</i>	1	2.5
Total	40	100.0

ASCT, autologous stem cell transplantation

7- CONCLUSÕES

1- Diarréia é um evento comum, estando presente em 83% dos pacientes avaliados.

2- Não foram identificados fatores de risco para o aparecimento de diarréia no TACTH.

3- A DIQT foi a principal causa de diarréia neste grupo de pacientes.

4- Em nosso meio houve baixa prevalência de diarréia por *C. difficile*, o que não justifica o uso de antibioticoterapia empírica para este patógeno.

5- Os coccídios foram importante causa de diarréia infecciosa, uma vez que foram responsáveis por 7 episódios em um total de 12 casos de diarréia infecciosa, sendo que a prevalência de *Candida sp* também se apresentou elevada, com 3 casos.

6- A diarréia de causa infecciosa apresenta grande relevância no cenário estudado, sendo que a flora local parece ser um fator de grande importância na sua etiologia.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, C. D. et al. Clostridium difficile infection after adult autologous stem cell transplantation: a multicenter study of epidemiology and risk factors. Biol Blood Marrow Transplant. V. 19, n. 10, p. 1502-1508, Oct 2013.
- ANDERSON, K. O. et al. Symptom burden in patients undergoing autologous stem-cell transplantation. Bone Marrow Transplant. V. 39, p. 759-766, Apr 2007.
- ARANGO, J.I. et al. Incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea before and after autologous peripheral blood stem cell transplantation for lymphoma and multiple myeloma. Bone Marrow transplant. v. 37, p. 517-521, Jan 2006.
- ARBUCKLE, R. B.; HUBER, S. L.; ZACKER, C. The consequences of diarrhea occurring during chemotherapy for colorectal cancer: a retrospective study. Oncologist. V. 5, p. 250-259, Apr 2000.
- ARCHIBALD, L. K. et al. Albendazole is effective treatment for chronic strongyloidiasis. Q J Med. V. 86, n. 3, p. 191-195, Mar 1993.
- ARCOVERDE, C. et al. Enteroparasitoses em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), atendidos no Hospital das Clínicas da UFPE. Rev Bras Anal Clin. V. 36, n. 1, p. 13-17, 2004.
- AVERY, R. et al. High prevalence of diarrhea but infrequency documented Clostridium difficile in autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant. V. 25, n. 1, p. 67-69, Jan 2000.
- BENSON, A. B. et al. Recommended guidelines for the treatment of cancer treatment-induced diarrhea. J Clin Oncol. V. 22, n. 14, p. 2918-2926. Jul 2004.
- BLANSHARD, C. et al. Cryptosporidiosis in HIV-seropositive patients. Q J Med. V. 85, p. 813-823, Nov-Dec 1992.
- BOBAK, D. et al. *Clostridium difficile*-associated disease in human stem cell transplant recipients: coming epidemic or false alarm? Bone Marrow Transplant. v. 42, p. 705-713, Oct 2008.
- BRANTLEY, R. K. et al. AIDS-associated diarrhea and wasting in Northeast Brazil is associated with subtherapeutic plasma levels of antiretroviral medications and with both bovine and human subtypes of *Cryptosporidium parvum*. Braz J Infec Dis. V. 7, n. 1, p. 16-22, Dec 2003.
- BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso, Brasília, Ministério da saúde, 8ª edição, 2010.

CAMA, V. A. et al. Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *J Infect Dis.* V. 196, n. 5, p. 684-691, Sep 2007.

CARUANA, S. R.. et al. Undiagnosed and potentially lethal parasite infections among immigrants and refugees in Austrália. *J Travel Med.* V. 13, p. 233-239, Jul-Aug 2006.

CASCINU, S. et al. Evaluation of factors influencing 5-fluorouracil-induced diarrhea in colorectal câncer patients. An italian group for the study of digestive tract câncer study. *Suppot Care Cancer.* V. 4, n. 4, p. 314-317, Jul 1997.

CHAKRABARTI, S. et al. *Clostridium difficile* infection in allogeneic stem cell transplant recipients is associated with severe graft-versus-host disease and non-relapse mortality. *Bone Marrow Transplant.* V. 26, n. 8, p. 871-876, Oct 2000.

DELLA VECHIA, P.C. et al. Avaliação de causas infecciosas de diarréia em pacientes adultos submetidos a transplante autólogo de medula óssea. In: XIV Congresso da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea, 2010, Vila de Porto de Galinhas - PE. *Rev Bras Hematol Hemoter, Sup 3.* Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 32, p. 35, 2010.

DESAI, N. T.; SARKAR, R.; KANG, G. Cryptosporidiosis: an under-recognized public health problem. *Trop Parasitol.* V. 2, n. 2, p. 91-98, Dec 2012.

DETRAIT, M. et al. Diphilobothriasis, a rare cause of profuse diarrhea following autologous transplantation. *Bone Marrow Transplantation.* V. 44, p. 131-132, Jan 2009.

DRAGOVIC, G. Acute pancreatitis in HIV/AIDS patients: an issue of concern. *Asian Pac J Trop Biomed.* V. 3, n. 6, p. 422-425, Jun 2013.

DULLEY, F. et al. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* V. 43, p. 741-742, Nov 2009.

FOX, L. M.; SARAVOLATZ, L. D. Nitazoxanide: a new thiazolide antiparasitic agent. *Clin Infect Dis.* V. 40, n. 8, p. 1173-1180, Apr 2005.

GROSS, T. L. et al. AIDS and multiple system involmente with *Cryptosporidium*. *Am J Gastroenterol.* V. 81, n. 6, p. 456-458, Jun 1986.

IGUAL-ADELL, R. et al. Efficacy and safety of ivermectin and thiabendazole in the treatment of strongyloidiasis. *Expert Opin Pharmacother.* V. 5, n. 12, p. 2615-2619, Dec 2004.

KANG, G. et al. Etiology of dierrhea in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation in South Índia. *Transplantation.* V. 73, n. 8, p. 1247-1251, Apr 2002.

KEISER, P. B.; NUTMAN, T. B. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. Clin Microbiol Rev. V. 17, n. 1, p. 208-217, Jan 2004.

KOSEK, M. et al. Cryptosporidiosis: an update. The Lancet Infect Dis. V. 1, n. 4, p. 262-269, Nov 2001.

LEGRAND, F. et al. Diagnosis and treatment of digestive cryptosporidiosis in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients: a prospective single centre study. Bone Marrow Transplant. V. 46, n. 6, p. 858-862, Jun 2011.

LOO, V. G. et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. N Engl J Med. V. 365, p. 1693-1703, Nov 2011.

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

MAROUN, J. A. et al. Prevention and management of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colorectal cancer: a consensus statement by canadian working group on chemotherapy-induced diarrhea. Curr Oncol. V. 14, n.1, p. 13-20. Feb 2007.

MILLES, S. S.; MUGGIA, A. L.; SPIRO, H. M. Colonic histological changes induced by 5-fluorouracil. Gastroenterology. V. 43, p. 391-399, 1962.

MOSSAD, S. B. et al. Early infectious complication in autologous bone marrow transplantation: a review of 219 patients. Bone Marrow Transplant. V. 18, n. 2, p. 265-271, Aug 1996.

MOYENUDDIN, M.; WILLIAMSON, J. C.; OHL, C. A. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: current strategies for diagnosis and therapy. Curr Gastroenterol Rep. V. 4, n. 4, p. 279-286, Aug 2002.

MUSHER, D. M. et al. Nitazoxanide for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. Clin Infect Dis. V. 43, n. 4, p. 421-427, Aug 2006.

MUSHER, D. M.; ASLAM, S. Treatment of *Clostridium difficile* colitis in the critical care setting. Crit Care Clin. V. 24, p. 279-291, 2008.

NOMURA, K. et al. Absence of pseudomembranes in *Clostridium difficile*-associated diarrhea in patients using immunosuppression agents. Scand J Gastroenterol. V. 44, n. 1, p. 74-78, 2009.

van NOOD, E. et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Engl J Med. V. 368, n. 5, p. 407-415, Jan 2013.

OKHUYSEN, P. C. et al. Susceptibility and serologic response of healthy adults to reinfection with *Cryptosporidium parvum*. Infect Immun. V. 66, n. 2, p. 441-443, Feb 1998.

ORLENT, H. et al. Strongyloidiasis pré and post autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* V. 32, p. 115-117, Jul 2003.

PAWLOWSKI, S. W.; WARREN, C. A.; GUERRANT, R. Diagnosis and treatment of acute or persistent diarrhea. *Gastroenterology.* V. 136, p. 1874-1886, May 2009.

PEREIRA, D. A. et al. Isospora belli: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial. *Rev Bras Anal Clin.* V. 41, n. 4, p. 283-286, 2009.

ROSENOFF, S. H. et al. A multicenter, randomized trial of long-acting octreotide for the optimum prevention of chemotherapy-induced diarrhea: results of the STOP Trial. *J Support Oncol.* V. 4, n. 6, p. 289-294, Jun 2006.

ROSSIGNOL, J. F. et al. A Double-blind placebo-controlled study of nitazoxanide in the treatment of cryptosporidial diarrhea in AIDS patients in Mexico. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* V. 92, n. 6, p. 663-666, Nov-Dec 1998.

ROY, A. et al. *Strongyloides stercoralis* infection in a patient with AIDS. *The Medicine Fórum.* V. 13, p. 20-22, 2012.

STEIN, A. Chemotherapy-induced diarrhea: pathophysiology, frequency and guideline-based management. *Ther Adv Med Oncol.* V. 2, n. 1, p. 51-63, Jan 2010.

TORO, D. H. et al. An innovative severity score index for *Clostridium difficile* infection: a prospective study. *Infect Dis Clin Pract.* V. 19, n. 5, p. 336-339, Sep 2011.

UDGIRI, N. et al. Intestinal cryptosporidiosis in living related renal transplant recipients. *Transplant Proc.* V. 36, n. 7, p. 2128-2129, Sep 2004.

WADLER, S. et al. Recommended guidelines for the treatment of chemotherapy-induced diarrhea. *J Clin Oncol.* V. 16, n. 9, p. 3169-3178, Sep 1998.

WILCOX, M. H. Descriptive study of intravenous immunoglobulin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* diarrhea. *J Antimicrob Chemother.* V. 53, n. 5, p. 882-884, May 2004.

WILCOX, M. H.; Predicting the severity of *Clostridium difficile* infection. *Infect Dis Clin Pract.* V. 19, n. 5, p. 305-306, Sep 2011.

WINN, W. et al. Koneman – Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

Sites acessados

<http://www.tmobr.com.br/tmo>. Acesso em 22/01/2014.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
JUIZ DE FORA - MG – BRASIL

Serviço de Hematologia e Transplante de Medula óssea
Rua Catulo Beviglieri SN CEP 36036-110 Juiz de Fora MG
Fone: 32 4009-5142
E-mail: abrahallack@ig.com.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr.(a) está sendo convidado (a) a participar da pesquisa “avaliação de causas infecciosas de diarreia em pacientes submetidos a transplante de stem cell periférica autólogo”. Neste estudo pretendemos pesquisar e obter resultados sobre a incidência de diarreia e suas causas em pacientes internados para realização de transplante de medula na unidade de transplante do HU UFJF.

O motivo deste estudo é identificar os principais agentes que podem provocar diarreia em pacientes submetidos a transplante, e, assim, melhorar a maneira de diagnosticar e tratar estes pacientes.

Para este estudo adotaremos os seguintes procedimentos: serão selecionados os pacientes que apresentarem diarreia, que é complicação bastante comum, e serão colhidas amostras de fezes que serão analisadas em laboratório sem nenhum custo ou risco para o paciente.

Para participar deste estudo você não terá nenhum gasto e nem receberá qualquer vantagem financeira. Você poderá perguntar o que quiser antes de começar o estudo e poderá desistir a qualquer momento. Poderá retirar o seu consentimento ou interromper a participação se quiser. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que você é atendido pelo pesquisador e pela equipe.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com todo sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão a sua disposição quando do seu término. Seu nome ou o material que identifique sua participação não serão liberados sem sua autorização.

O Sr.(a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Caso haja algum problema relacionado ao estudo, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____, portador do documento de identidade _____, fui informado dos objetivos do estudo de maneira clara e esclareci todas as minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações ou modificar minha decisão de participar deste estudo.

Declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma copia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas duvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20 _____ .

Nome e assinatura do participante

Nome e assinatura do pesquisador

Nome e assinatura da testemunha

*Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP HU- Comitê de ética em pesquisa UH/UFJF
Hospital Universitário Unidade Santa Catarina
Prédio da Administração sala 27
CEP 36036-110
Email: cep.hu@ufjf.edu.br*

APÊNDICE B – Folha de coleta de dados



FOLHA DE COLETA DIARRÉIA TMO HU

NOME: Pront:

DATA TMO:

DIAGNÓSTICO:

PROTOCOLO:

DATA INÍCIO DA FEBRE:

DURAÇÃO DA FEBRE:

INÍCIO/DURAÇÃO DIARRÉIA:

NEUTRÓFILOS:

IBP:

ANTIBIÓTICOS:



ANTIPARASITÁRIOS:

PEGA:

Exames/ características

Fungos		
Coccidios		
Toxina A/B		
EPF		
Copro		

ANEXO A – Parecer do comitê de ética em pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP-HU CAS/UFJF
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Parecer nº 106/2011

Protocolo CEP-UFJF:053.420.2011 FR: 427391 CAAE: 0033.0.420.000-11
Projeto de Pesquisa: Avaliação de causas infecciosas de diarreia em pacientes submetidos a transplante de stem-cell periférica (TSCP) autólogo.

Grupo: III
Pesquisador Responsável: Abrahão Elias Hallack Neto
Pesquisadores Participantes: Marcelo Dias de Castro
Instituição: Hospital Universitário

Sumário/comentários do protocolo:

-Justificativa: A terapia com células tronco tem sido uma das áreas mais pesquisadas da medicina na atualidade. Neste contexto, destaca-se o transplante de medula óssea ou transplante de stem-cell hematopoética, seja proveniente da medula óssea ou do sangue periférico, e que tem sido largamente utilizado no tratamento de neoplasias hematológicas e não hematológicas e várias doenças auto-imunes. Diarreia é a mais prevalente causa de morbidade em pacientes que são submetidos a transplante de stem-cells periférico autólogo, acometendo de 64,9 a 91% dos pacientes. As causas de diarreia estão principalmente relacionadas a toxicidade dos esquemas quimioterápicos em altas doses, a irritação provocada em epitélios e mucosas do trato digestivo e especialmente a diversas causas infecciosas.

Critérios de exclusão: Serão avaliados todos os pacientes internados no setor de hematologia e transplante de medula óssea autólogo do Hospital Universitário da UFJF durante o período do estudo, objetivando um número de cerca de 40 pacientes.

-Orçamento e custos: O Projeto será financiado pela FAPEMIG .

-Cronograma: Adequado a realização do Projeto

-Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – O TCLE está em linguagem clara para compreensão dos participantes do estudo.

-Pesquisador apresenta experiência e qualificação para a coordenação do estudo. Demais membros da equipe também apresentam qualificação para atividade que desempenharão durante o estudo.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP-HU/CAS da UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96 e suas complementares manifesta-se pela pendência do protocolo de pesquisa proposto.

Salientamos que o pesquisador deverá encaminhar a este comitê o relatório final.

Situação: Projeto Aprovado

Juiz de Fora, 23 de maio de 2011.

Prof.ª Dra. *Angela Maria Gollner*
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
HU/CAS da UFJF

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP-HU CAS/UFJF
RUA CATULO BREVIGLIEI S/Nº - B. SANTA CATARINA
36036-110- JUIZ DE FORA - MG - BRASIL - Fone: 40095205
www.cep.hu.ufjf.br - cep.hu@ufjf.edu.br

RECEBI
DATA: 05/6/2011
ASS: <i>[assinatura]</i>

ANEXO B – Comprovante de submissão de artigo científico

tracking system home author instructions reviewer instructions help tips logout journal home	
Manuscript #	BMT-2014-333
Current Revision #	0
Submission Date	26th Apr 14
Current Stage	Submission
Title	Infectious diarrhea in autologous stem cell transplantation: high prevalence of coccidia in a South American center
Running Title	Running title: Infectious diarrhea in autologous transplantation
Manuscript Type	Original Article
Special Issue	N/A
Corresponding Author	Ms. marcelo castro (marcelohemato@yahoo.com.br) (universidade federal de juiz de fora)
Contributing Authors	Dr. julio maria chebli , Dr. angelo atalla , Dr. fernando colugnati , Dr. sandra santos , Dr. miltom ruiz , Dr. Abrahão Hallack Neto
Abstract	<p>Diarrhea is frequently seen in autologous stem cell transplantation (ASCT), in which infections are an important cause of diarrhea. Despite <i>Clostridium difficile</i> being among the most common causes of outbreaks, a study population's characteristics and environment may result in other pathogens causing diarrhea in ASCT. In this study, 47 patients underwent ASCT at a Brazilian center between May 2011 and May 2013. All patients who presented with diarrhea consented to stool sample analysis for identification of the etiological agents through specific exams in search of fungi, coccidia, intestinal parasites, <i>Strongyloides</i>, <i>C. difficile</i>, and other pathogenic bacteria. Thirty-nine patients (83%) had diarrhea, among whom seven (17.5%) presented with coccidia, three (7.5%) with <i>Candida</i> sp., one (2.5%) with <i>C. difficile</i>, and one (2.5%) with <i>Giardia lamblia</i>. There was a tendency toward a higher incidence of diarrhea in older patients ($p=0.09$) and those who received lomustine, etoposide, cytarabine, and melphalan conditioning ($p=0.083$) and a higher number of days of neutropenia in patients with diarrhea ($p=0.06$); however, no risk factors were identified. The high frequency of diarrhea caused by coccidia shows the importance of correctly identifying the etiological agent and highlights the possible varieties of intestinal infections in populations of patients who undergo ASCT.</p>
Applicable Funding Source	No Applicable Funding