

Trapianto del microbiota fecale (FMT) in 16 cani affetti da IBD idiopatica



Il trapianto del microbiota fecale (FMT) è un trattamento medico non farmacologico in fase sperimentale, finalizzato a ripristinare una diversità filogenetica nel microbiota. In medicina umana è ormai consolidato l'impiego del FMT per trattare infezioni ricorrenti da *Clostridium difficile* (RCDI). In medicina veterinaria il FMT è stato recentemente impiegato per trattare una serie di patologie gastrointestinali, non responsive alle comuni terapie mediche, quali IBD idiopatica (*inflammatory bowel disease*, malattia infiammatoria intestinale), enteropatie croniche, colite cronica e infezioni gastrointestinali da *Clostridium perfringens*. L'obiettivo del nostro studio è stato quello di eseguire il trapianto fecale del microbiota in 16 cani affetti da IBD idiopatica non responsive alle comuni terapie, valutando la risposta clinica, tramite indice di classificazione CCECAI, con un follow-up a 1 mese e 3 mesi. In questo lavoro sono stati inseriti 16 cani affetti da IBD idiopatica non responsive alle comuni terapie; 9 soggetti sono stati sottoposti a trapianto con emulsione fresca eseguito per via endoscopica, di questi il 55,5% ha ricevuto anche il trapianto per via orale. Per 7 pazienti è stato eseguito solamente il trapianto per via orale mediante l'uso di capsule congelate. I dati evidenziano miglioramento clinico nella maggior parte dei pazienti sia dopo il trapianto eseguito per via orale che per via endoscopica. La mancanza di una completa valutazione del microbiota tramite tecnica di pirosequenziamento e l'assenza di un gruppo di controllo rappresentano i due principali limiti di questo lavoro. Ciò nonostante il trapianto fecale appare una concreta e promettente possibilità di trattamento palliativo delle IBD idiopatiche, non responsive alle comuni terapie, meritevole di ulteriori studi ed approfondimenti.

Enrico Bottero¹,
Med Vet

Elena Benvenuti^{2*},
Med Vet

Pietro Ruggiero²,
Med Vet

INTRODUZIONE

In medicina umana è ormai consolidato il ruolo fondamentale che riveste il microbiota intestinale nella regolazione del metabolismo, nel funzionamento del sistema immunitario e nel mantenimento dell'omeostasi intestinale^{1,2,3}. Riconoscere che il microbiota gastrointestinale (GI) è strettamente coinvolto nel benessere dell'ospite, ha portato all'idea di manipolare i microorganismi intestinali per migliorare la salute. Il trapianto del microbiota fecale (FMT) o batterioterapia fecale, è un trattamento medico non farmacologico in fase sperimentale finalizzato a questo scopo. In questa procedura il materiale fecale, contenente il micro-

biota dell'intestino distale, viene trasferito da un donatore sano a un paziente malato^{1,2,4}. Uno dei principali obiettivi del trapianto fecale è ripristinare una diversità filogenetica nel microbiota, la cui alterazione è fattore causativo o con-causativo di patologia enterica. In medicina umana è consolidato l'impiego del FMT per trattare infezioni ricorrenti da *Clostridium difficile* (RCDI) con un'efficacia clinica del 90%^{2,5,6}. Inoltre esistono nu-

Il FMT in medicina umana è ormai una pratica consolidata per ripristinare la diversità filogenetica del microbiota intestinale.

¹ Poliambulatorio Veterinario Argentina, via Levà 58, Taggia (IM)

² Centro Veterinario Specialistico, via Sandro Giovannini 51, Roma

*Corresponding Author (info@endovet.it)

merosi studi sull'efficacia del FMT per trattare patologie legate a disbiosi quali l'IBD (*inflammatory bowel disease*) idiopatica e la sindrome metabolica^{1,7,8,9}, il diabete^{2,7,9} e l'autismo^{2,8,9}. In medicina veterinaria il FMT è stato recentemente impiegato per trattare una serie di patologie gastrointestinali, non responsive alle comuni terapie mediche, quali IBD idiopatica, enteropatie croniche, colite cronica e infezioni gastrointestinali da *Clostridium perfringens*^{9,10,11,12,13}. Si tratta principalmente di case report, tratti da abstract di congressi e non da articoli scientifici, in cui a piccoli gruppi di pazienti è stato eseguito il trapianto mediante clisma nel colon discendente senza l'ausilio dell'endoscopia. A oggi non esistono infatti studi randomizzati riguardo l'impiego del FMT in un numero elevato di pazienti. L'obiettivo del nostro studio è valutare la risposta e l'efficacia clinica del trapianto fecale in corso di IBD idiopatica non responsiva alle comuni terapie mediche in 16 cani.

MATERIALI E METODI

In questo lavoro sono stati inseriti 16 cani affetti da IBD idiopatica non responsiva alle comuni terapie. 9 soggetti sono stati sottoposti prima a trapianto per via endoscopica e poi per via orale, mentre nei restanti 7 cani è stato utilizzato unicamente il trapianto per via orale.

I pazienti candidati per il FMT sono cani di almeno due anni di età affetti da IBD idiopatica non responsiva alle comuni terapie, sottoposti a esame endoscopico e istologico da almeno un anno.

Scelta del ricevente

Il paziente ricevente il trapianto deve avere un'età superiore ai 2 anni, manifestare sintomi gastroenterici cronici e deve essere stato sottoposto ad esame endoscopico e istologico del tratto gastroenterico da almeno 1 anno. Per ogni paziente inserito nello studio, sono stati valutati i seguenti criteri d'inclusione:

Anamnesi clinica remota: definita tramite l'indice di classificazione CCECAI (Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index)¹⁵ che è stato valutato al momento dell'esame endoscopico.

Analisi di laboratorio: emocromocitometrico, profilo biochimico, urine e analisi specifiche per l'apparato gastroenterico: TLI (immunoreattività tripsino-simile), folati e cobalamina. Le analisi devono risalire a non più di un mese dall'esecuzione del trapianto; vengono escluse enteropatie infettive, endocrinopatie e patologie neoplastiche.

Analisi delle feci: viene esclusa la presenza di un'enteropatia parassitaria eseguendo esame coprologico su campioni prelevati in 3 gg successivi op-

pure eseguendo un trattamento con fenbendazolo a 50 mg/kg SID per 5 gg nei 15 giorni antecedenti al trapianto (Panacur® compresse 250 mg, MSD Animal Health S.r.l. Milano).

Anamnesi dietetica: il paziente deve essere stato sottoposto ad adeguato trial dietetico (dieta casalinga o commerciale monoproteica o idrolizzata) per almeno tre settimane e ne deve essere nota la risposta clinica; sono stati esclusi pazienti affetti da Enteropatia Dieta Responsiva.

Anamnesi farmacologica: il soggetto deve essere stato sottoposto a trial antibiotico con metronidazolo al dosaggio di 10 mg/kg/BID (Stomorgyl® compresse, Merial Italia Spa, Padova) e/o tilosina tartrato al dosaggio di 15 mg/kg/BID (Tylan® solubile, Elanco, Firenze) per almeno 3 settimane e ne deve essere nota la risposta clinica. Vengono esclusi i pazienti affetti da Enteropatia Antibiotico Responsiva. Per i pazienti affetti da IBD idiopatica inseriti nello studio deve essere nota la terapia medica immunosoppressiva somministrata (principio attivo, dosaggio del farmaco, via di somministrazione e durata della terapia) e la conseguente risposta clinica.

I soggetti che hanno seguito questo iter clinico e che non hanno risposto alla terapia rientrano nel novero delle IBD idiopatiche non responsive e rappresentano il campione sottoposto alla prova. I proprietari sono stati informati e hanno dato il consenso all'impiego di questa terapia palliativa.

I cani riceventi sono stati suddivisi in 4 categorie in base al peso:

- A: cani di peso < 10 kg
- B: cani di peso tra 10 e 20 kg
- C: cani di peso tra 20 e i 40 kg
- D: cani di peso > ai 40 kg

Scelta del donatore

Il cane donatore deve avere almeno 6 mesi di età, essere in buone condizioni generali, avere un body condition score (BCS) normale ed un normale fecal score. Ogni cane donatore è sottoposto a valutazione dell'anamnesi remota e recente. Nell'anamnesi i seguenti segni clinici: nausea, disoressia, vomito, diarrea, dimagrimento, colica addominale e costipazione non devono superare i 5 episodi annui. Nella valutazione soggettiva del proprietario tali manifestazioni devono essere considerate inusuali e non devono interessare gli ultimi sei mesi.

Sono stati esclusi i soggetti affetti da malattie croniche

I cani donatori sono stati selezionati dopo accurata visita clinica, attenta valutazione anamnestica recente e remota, e approfonditi esami ematologici e fecali.

metaboliche, endocrine e oncologiche (sindrome metabolica, diabete, Cushing etc...) e i soggetti con malattie autoimmuni (atopia, anemia, lupus etc...) e/o allergiche. I donatori non devono avere legami di parentela con il ricevente e non devono essere stati sottoposti a nessun tipo di terapia medica, antibiotica o integrativa negli ultimi 3 mesi. Inoltre devono presentare normali analisi di laboratorio di base (emocromo, profilo biochimico, elettroforesi, esame urine) e di funzionalità gastro-enterica (TLI, folati, cobalamina, lipasi pancreatica specifica). Tutti i cani donatori sono stati sverminati con fenbendazolo 50 mg/kg SID per 5 giorni (Panacur® compresse 250 mg, MSD Animal Health S.r.l. Milano) almeno 1 volta negli ultimi 3 mesi e sono risultati negativi all'esame parassitologico delle feci (eseguito sulle feci di tre giorni consecutivi e da meno di 15 gg dall'esecuzione del trapianto) ed al test Elisa per *Giardia* spp. Il donatore è stato sottoposto a esame colturale fecale nel mese precedente al trapianto e deve risultare negativo per *Salmonella*, *Campylobacter* spp, *Clostridium difficile* e *Clostridium perfringens*. Il donatore deve essere alimentato con la stessa dieta da almeno 3 mesi e vengono esclusi i pazienti alimentati con diete crude.

I cani donatori sono stati suddivisi in 4 categorie in base al peso (A: cani < 10 kg, B: cani tra 10 e 20 kg, C: cani di peso tra i 20 e i 40 kg, D: cani di peso > ai 40 kg). Ogni cane è stato utilizzato come donatore solo per i cani riceventi appartenenti alla stessa categoria di peso.

Sono state ulteriormente individuate delle categorie preferenziali, ma non discriminanti per scegliere i donatori. Il soggetto donatore dovrebbe provenire dalla stessa regione geografica del ricevente, dovrebbe appartenere alla stessa razza del ricevente, dovrebbe essere alimentato con medesima tipologia alimentare del ricevente, dovrebbe avere proprietari affidabili e attendibili e dovrebbe abitare in una zona comoda per la consegna ed eventuale stoccaggio del materiale fecale da parte del veterinario.

Preparazione del materiale per il trapianto

Le feci del donatore sono state prelevate entro trenta minuti dalla defecazione, riposte in un recipiente ermetico e refrigerate a 3 °C se la temperatura esterna era maggiore di 25 gradi. Per il trapianto per via endoscopica l'emulsione fecale deve essere preparata entro sei ore dalla raccolta ed entro 12 ore deve avvenire il trapianto.

Per ogni categoria di peso sono impiegati:

Categoria A e B: da 60 a 80 g di feci fresche;

Categoria C e D: 100-150 g di feci fresche.

Per ogni paziente le feci sono state amalgamate con 75-100 ml (categoria A e B) o 150-200 ml (categoria C e D) di soluzione fisiologica (Sodio cloruro 0,9%®, Eurospital, Trieste) e 50-75 ml di soluzione di arricchimento (yogurt magro)¹⁰. Dopo aver frullato il tutto a minima ve-



Figura 1 - Preparazione dell'emulsione fecale. Dopo aver frullato l'emulsione del materiale fecale si esegue il processo di filtrazione tramite un passino a trama sottile.

locità (Innoliving - Innofit, 250 W), l'emulsione è stata filtrata con un passino a trama sottile (Figura 1) ottenendo una soluzione in volume variabile da 100 a 250 ml che



Figura 2 - Preparazione del trapianto per via orale. Dopo aver frullato e filtrato l'emulsione fecale, mediante siringa viene inserita la soluzione in un sacchetto di plastica per formare cubetti di ghiaccio.

corrispondono a circa 10 ml/kg di soluzione fecale per paziente.

Preparazione dell'emulsione fecale da sottoporre a congelamento per il trapianto per via orale

Per i soggetti riceventi, appartenenti alla categoria A e B, 100 g di feci sono state emulsionate entro sei ore dalla raccolta, con 200 ml di soluzione fisiologica tiepida,

La soluzione per il trapianto è prodotta con feci fresche che sono emulsionate e poi filtrate; per il trapianto orale sono utilizzate capsule congelate.

mentre per i soggetti appartenenti alla categoria C e D 100 g di feci sono stati emulsionati con 100 ml di soluzione fisiologica; i due componenti venivano amalgamati manualmente mediante un cucchiaino di legno. Poi il materiale è stato frullato a minima velocità mediante frullatore elettrico (Innoliving - Innofit, 250 W) per 2-3 minuti. Il contenuto del frullatore è stato passato attraverso co-

lino a trama fine e raccolto in un contenitore. Da questo contenitore, mediante siringa a becco largo, è stato aspirato il materiale emulsionato di consistenza semiliquida che veniva inserito in un sacchettino per cubetti di ghiaccio (Figura 2). In ogni porzione erano contenuti circa 1,5 g di materiale fecale per i soggetti della categoria A e B e circa 3 g di feci per le categorie C e D.

Esecuzione del trapianto per via endoscopica

Il paziente, prima del trapianto, è stato sottoposto a digiuno di 24 ore da cibo e di 6 ore da liquidi.

L'esame endoscopico è stato eseguito con paziente in anestesia generale inalatoria, posto in decubito laterale sinistro; dopo una valutazione macroscopica della mucosa, viene eseguito un lavaggio con soluzione fisiolo-

Il trapianto eseguito per via endoscopica consente di instillare la soluzione contenente il microbiota fecale direttamente nel duodeno e/o nell'ileo e nel colon del paziente.

gica tiepida prima nel duodeno e, nei pazienti opportunamente preparati, anche nell'ileo e nel colon.

Sono stati utilizzati rispettivamente: da 40 a 100 ml per il duodeno, da 30 a 60 ml per l'ileo e da 60 ml a 120 ml per il colon in base al peso del soggetto ricevente^{10,11}. Il lavaggio è stato eseguito, nell'arco di 10-15 minuti a pressione, tramite sacca per infusione (spremisacca a pressione, sacche da 1 l, Alcyon, Marene, CN) collegata mediante deflussore al canale di lavoro dell'endoscopio. A fine lavaggio del colon è stato eseguito il trapianto a livello duodenale. L'emulsione fecale contenuta in siringa da 60 ml è stata inserita sul canale di lavoro e il materiale distribuito in maniera omogenea, partendo dalle porzioni duodenali più distali raggiungibili (Figura 3). Dopo il trapianto duodenale, quando possibile, è stato eseguito il trapianto anche a livello dell'ileo e del colon (Figura 4).

A fine trapianto il paziente era mantenuto in anestesia ancora per 15 minuti con concentrazioni di anestetico inalatorio minime (MAC per isoflurano 0,8-0,6) man mano decrescenti, non essendo a questo punto più presenti stimolazioni.

Dopo il risveglio il paziente era tenuto sotto controllo medico, in ricovero per 2-4 ore, prima di essere riconsegnato ai proprietari. Nelle 48 ore successive al trapianto veniva richiesto al proprietario di valutare lo stato generale ed il comportamento del paziente. Questa iniziale valutazione di follow up è stata categorizzata in 3 classi di andamento:

1: Soggetto in buone condizioni (normale per comportamento e attitudine). La defecazione si presenta come prima del trapianto o miglioramento nella consistenza



Figura 3 - Paziente sottoposto (caso n° 2) a trapianto fecale per via endoscopica. Inserimento attraverso il canale operativo dell'endoscopio della soluzione fecale.

delle feci. Non si segnalano: vomito, disoressia, colica o altri sintomi gastro-enterici.

2: Soggetto non in buone condizioni. Il paziente presenta peggioramento rispetto a prima del trapianto (escludendo la ripresa post anestesia): diminuzione della consistenza delle feci, presenza di sintomi gastro-enterici o di altra natura, non riscontrati in precedenza.

3: Soggetto in gravi condizioni. Il paziente può presentare: abbattimento, anoressia, grave diarrea e/o disidratazione con necessità di ricovero e terapia intensiva.

Dopo 48-72 ore dall'esecuzione del trapianto i soggetti sono stati sottoposti a esame emocromocitometrico e biochimico di base.

Dopo 7 giorni dall'esecuzione del trapianto (quando possibile) veniva ripetuto l'esame colturale delle feci per escludere la presenza di infezioni batteriche. Dopo una settimana in 5 pazienti dei 9 sottoposti a trapianto per via endoscopica, secondo la disponibilità del proprietario, è stato eseguito anche il trapianto per via orale somministrando materiale fecale congelato proveniente dal medesimo donatore (Figura 5). Tale materiale veniva somministrato a giorni alterni nel primo mese e poi ogni 72 ore nel secondo e terzo mese.

Nei 7 soggetti sottoposti unicamente a trapianto per via orale la somministrazione avveniva ogni 48 ore nel primo mese e poi ogni 72 ore nel secondo e terzo mese. Anche in questi soggetti veniva eseguito: follow-up clinico ed analisi di laboratorio dopo 48-72 ore dall'inizio della somministrazione e, quando possibile, l'esame colturale fecale dopo 7 giorni dalla prima somministrazione per via orale per escludere la presenza d'infezioni batteriche. Per la maggior parte dei pazienti inseriti nello studio, si è cercato di non effettuare modifiche della terapia e della dieta in atto ma, nei soggetti in cui sia stato opportuno eseguire delle variazioni, sono state descritte singolarmente. Il follow-up è stato eseguito, per tut-

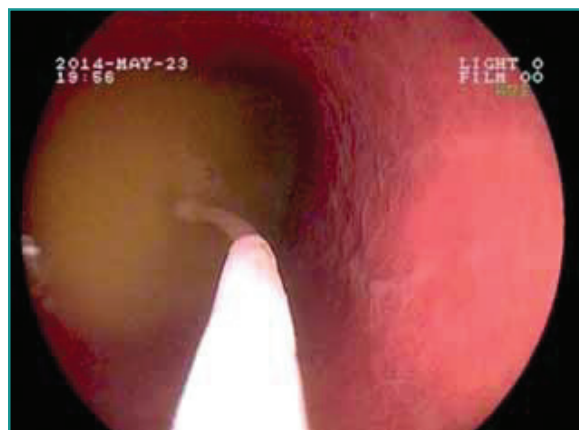


Figura 4 - Immagine endoscopica del trapianto fecale. Dopo lavaggio con soluzione fisiologica instillata tramite il canale operativo dell'endoscopico, si applica a livello dell'ileo l'emulsione fecale.



Figura 5 - Trapianto per via orale. Il proprietario può somministrare la capsula congelata direttamente al paziente oppure associarla al cibo.

ti i cani, valutando a distanza di un mese e tre mesi l'indice CCECAI. (Tabella 1 e Tabella 2)

RISULTATI

In questo lavoro sono stati inclusi 16 cani, 9 sono sottoposti a trapianto per via endoscopica e 7 a trapianto per via orale. I pazienti sottoposti al trapianto endoscopico erano: 4 Pastori tedeschi, 2 Meticci di taglia media, 1 Corso, 1 Cocker e 1 Dogo argentino. Tra i cani inseriti erano presenti 6 maschi, di cui uno castrato e 3 femmine ste-

L'indice di classificazione clinica CCECAI consente di caratterizzare i segni clinici digestivi presenti e monitorare l'andamento clinico del paziente nel medio e lungo periodo.

rilizzate; l'età media era di 5,4 anni (da 2,5 - 11 anni). In tutti i pazienti era presente diarrea (100%) mentre il dimagrimento nel 90% dei soggetti, disoressia nel 33,3% e vomito nel 22% dei casi. La diagnosi clinica e istologica dei pazienti è stata di IBD idiopatica; l'infiltrato infiammatorio microscopico intestinale riscontrato all'esame istologico era di tipo linfoplasmocitario in 7 cani, eosinofilo in un caso e linfoplasmocitario e neutrofilico in un soggetto. Il 66% dei cani presentava ipoalbuminemia, in tre casi di grado lieve (2,1 g/dl, intervallo di riferimento 2,3-3,9 g/dl). In nessuno dei pazienti inseriti nello studio, era presente il sospetto di patologie concomitanti come la pancreatite. Al momento del trapianto il 55% dei cani era alimentato con dieta idrolizzata, il 33% con dieta casalinga e il 12% con dieta monoproteica commerciale. Nell'anamnesi farmacologica di tutti i pazienti erano segnalati trattamenti con prednisolone (VetSolone® compresse, Bayer, Milano), nel 55,5% dei casi anche tratta-

menti con ciclosporina (Atoplus® capsule, Novartis Animal Health, Origgio, Va), e nel 12% dei casi budesonide (Rafton® capsule, Falk Pharma GmbH, Germania); la terapia con metronidazolo era stata impiegata nel 88% dei soggetti e tutti i pazienti avevano ricevuto anche tilosina. Al momento dell'esecuzione del trapianto tutti i soggetti erano sottoposti a terapia medica con immunosoppressore, con antibiotico (metronidazolo o tilosina) o con entrambi.

L'indice di classificazione clinica CCECAI valutato prima del trapianto, ha mostrato una media di punteggio pari a 11,4 che corrisponde a una patologia di grado severo.

I donatori che sono stati impiegati per il trapianto fecale in endoscopia erano rispettivamente: Meticcio (in 2 casi), Golden retriever (in 1 caso), Cane da pastore fonnese (in 4 casi), Cocker (in 1 caso), Setter irlandese (in 1 caso). A tutti i pazienti è stata somministrata la soluzione fecale per via endoscopica nel duodeno; nel 44% dei pazienti è stata somministrata solo nel duodeno, nel 44 % dei pazienti nel duodeno, ileo e colon e nel 12% nel duodeno e nel colon. La

quota di soluzione fecale è stata suddivisa tra i vari distretti come descritto in precedenza.

Nel primo follow-up post trapianto in un paziente veniva riscontrata diarrea.

Le analisi eseguite dopo 48-72 ore non hanno evidenziato alterazioni; l'esame colturale delle feci, effettuato nell'80% dei cani, non ha evidenziato presenza di agenti patogeni.

Il trapianto del microbiota fecale ha l'obiettivo di inserire una nuova popolazione microbica che possa completare o arricchire il microbiota nativo che si presenta alterato o distrutto.

La media dei punteggi clinici evidenziati dopo il trapianto erano rispettivamente: CCECAI 7,4 (a 1 mese) e CCECAI 7,8 (a tre mesi) (Tabella 1).

Il trapianto per via orale, mediante somministrazione di capsule congelate (Figura 5), è stato eseguito in 7 cani: 1 Pastore tedesco, 1 Maremmano, 1 Pinscher, 1 Bassotto, 1 Bulldog inglese, 1 Pastore belga e 1 Bolognese. L'età

Tabella 1 (prima parte) - TRAPIANTO ENDOSCOPICO								
Nella tabella sono inclusi tutti i pazienti in cui è stato eseguito il trapianto endoscopico								
Razza	Sesso	Età (anni)	Sintomi G.E. principali	Diagnosi	Ipoalbuminemia	Terapie eseguite	Dieta	CCECAI
Pastore tedesco	m	3	Feci malformate, deficit d'incremento ponderale	IBD severa eosinofilica	No	Dieta idrolizzata, metronidazolo, tilosina, prednisolone, azatioprina, ciclosporina	Idrolizzato	12
Pastore tedesco	fs	2,5	Feci diarroiche dimagrimento	IBD moderata con linfangectasia	Si lieve	Dieta idrolizzata, metronidazolo, tilosina, prednisolone, azatioprina, ciclosporina	Monoproteico commerciale	13
Corso	m	6	Feci malformate, dimagrimento, disoressia, prurito	IBD linfoplasmocitaria e neutrofilica severa	No	Dieta casalinga, metronidazolo, tilosina, prednisolone, azatioprina, ciclosporina	Monoproteico casalinga	10
Pastore tedesco	fs	6	Diarrea recidivante, dimagrimento, disoressia	IBD	Si	Metronidazolo, tilosina, prednisolone, ranitidina	Idrolisato	11
Pastore tedesco	mc	11	Diarrea, dimagrimento	IBD	Si	Metronidazolo, tilosina, prednisolone, azatioprina, ciclosporina, ranitidina	Monoproteica casalinga	14
Meticcio media taglia	m	5	Coliche addominali, vomito e diarrea recidivanti	IBD	Si lieve	Metronidazolo, budesonide, tilosina	Idrolisato	9
Meticcio media taglia	fs	11	Diarrea, dimagrimento, nausea	IBD	No	Tilosina, prednisolone, omeprazolo, probiotico	Monoproteica casalinga	12
Cocker	m	1,5	Diarrea, dimagrimento, coliche	IBD	Si	Metronidazolo, tilosina, prednisolone, ciclosporina, ranitidina	Idrolisato, iperdigeribile low fat	12
Dogo argentino	m	3	Diarrea, deficit incremento ponderale, vomito	IBD	Si lieve	Metronidazolo, tilosina, prednisolone, ranitidina	Idrolisato	10

media dei pazienti inseriti era di 6 anni (da 3 -11 anni) e tra questi 6 erano maschi, di cui uno castrato, e una femmina sterilizzata.

Tutti i pazienti presentavano diarrea, il 42% dei cani di soressia, il 42% vomito e il 28% perdita di peso; la diagnosi clinica e istologica era stata di IBD idiopatica. L'infiltrato infiammatorio microscopico riscontrato all'esame istologico era di tipo linfoplasmocitario in 4 cani e linfoplasmocitario ed eosinofilo in 3 pazienti; nessun paziente presentava ipoalbuminemia. In nessuno dei pazienti inseriti nello studio, era presente il sospetto di patologie concomitanti come la pancreatite. Per il 42% dei cani era impiegata al momento del trapianto una dieta idrolizzata, per il 42% una dieta monoproteica e nel 16% dei casi rispettivamente una dieta iperdigeribile. In tutti i pazienti era stata eseguita terapia con metronidazolo al quale era stato associato anche prednisolone.

Prima del trapianto il CCECAI medio era 8,57.

I donatori impiegati per il trapianto per via orale erano: Golden retriever (3 casi), Cane da pastore fonnese (2 casi) e Cocker (2 casi). Dopo 48 ore dall'inizio del trapianto al primo follow-up nessun paziente ha manifestato effetti collaterali o alterazioni emato-chimiche.

A un mese dal trapianto è stata sospesa la terapia farmacologica in 4 pazienti e in due casi è stato continuato l'antibiotico. Per un paziente (caso numero 3, Tabella 2) dopo due settimane è stato implementato il

dosaggio della terapia steroidea e sospeso il trapianto fecale per bocca. Suddetto paziente è stato quindi escluso dalla valutazione clinica del CCECAI a un mese e tre mesi.

DISCUSSIONE

Il trapianto del microbiota fecale, anche conosciuto come batterioterapia fecale o infusione fecale, è una procedura medica non farmacologica in fase sperimentale, utilizzata come cura compassionevole nei pazienti affetti da enteropatie croniche non responsivi alle comuni terapie farmacologiche. Questa procedura è stata utilizzata per la prima volta in medicina umana per il trattamento della colite pseudomembranosa nel 1958 in 4 pazienti¹⁶; mentre nel 1983 tale procedura fu utilizzata per il trattamento del *Clostridium difficile*¹⁷. A oggi l'interesse per tale procedura è aumentato, in medicina umana è ormai una pratica consolidata per il trattamento del *Clostridium difficile* e in medicina veterinaria se ne sta indagando l'efficacia in corso di patologie gastrointestinali che non trovano risoluzione con le comuni terapie mediche¹³.

A differenza del probiotico il cui principale obiettivo è di adjuvare il ripristino dell'attività metabolica o immunologica del microbiota nativo del soggetto, l'obiettivo del trapianto fecale è quello di introdurre una comunità di microrganismi completa e nuova che bilanci fino alla sostituzione del microbiota nativo distrutto o alte-

Tabella 1 (seconda parte) - TRAPIANTO ENDOSCOPICO

Donatore	Sede del trapianto	Primo follow-up post trapianto 48-72 ore	Somministrazione per via orale	Terapia post trapianto	CCECAI 1 mese	CCECAI 3 mesi	Variazioni terapeutiche post trapianto a un mese
Met, m, 4aa, 20 kg	Duodeno-ileo-colon	1	No	Dieta idrolizzata, tilosina	7	12	No
Met, m, 4aa, 20 kg	Duodeno-ileo-colon	1	No	Dieta casalinga, tilosina	5	8	No
Golden retr, fs, 3 aa	Duodeno-ileo-colon	1	No	Dieta casalinga, tilosina	4	8	Cambio dieta con idrolizzato
Pastore sardo, m, 6 aa	Duodeno-colon	1	Si	Dieta casalinga, tilosina, prednisolone	7	6	Steroidi a dosaggio minimo utile e tilosina a gg alterni
Pastore sardo, m, 6 aa	Duodeno	1	Si	Prednisolone, ciclosporina, tilosina	8	6	Diminuzione graduale steroidi e ciclosporina
Setter irlandese	Duodeno	1	Si	Tilosina, prednisolone, probiotici	6	5	Prednisone a gg alterni
Pastore sardo, m, 6 aa	Duodeno	1	No	Tilosina, metronidazolo prednisolone	12	10	Aggiunta di azatioprina e probiotico
Cocker, f, 6 mesi	Duodeno	2	Si	Tilosina, omeprazolo prednisolone	10	10	Ciclosporina
Pastore sardo, m, 6 aa	Duodeno-ileo-colon	1	Si	Tilosina e prednisolone a scalare	8	6	No

rato¹⁸. Il meccanismo che sta alla base di questo cambiamento e che si accompagna anche alla risoluzione dei segni clinici rimane però non del tutto chiarito. Il nostro lavoro si è posto come obiettivo primario la valutazione dell'efficacia clinica del trapianto fecale in corso di IBD idiopatica non responsiva alle comuni terapie nel cane. Nella nostra indagine sono stati inseriti 16 pazienti affetti da IBD non responsiva alla terapia medica; 7 casi sono stati sottoposti a trapianto unicamente per via orale e 9 per via endoscopica.

Nei pazienti inseriti nello studio la diagnosi era stata effettuata per via endoscopica e istopatologica da almeno 1 anno; la scelta di un periodo anamnestico così lungo, pur escludendo i pazienti non responsivi alle comuni terapie anche da meno tempo, consente di includere soggetti che abbiano fatto un adeguato iter terapeutico. Inoltre, l'andamento clinico poco soddisfacente di questi pazienti ha facilitato e stimolato l'accettazione della procedura di trapianto da parte dei proprietari. Purtroppo non è stato possibile includere pazienti sottoposti al medesimo protocollo terapeutico vista la notevole variabilità nell'uso dei farmaci e d'integratori in corso di IBD; questo rappresenta uno dei limiti del nostro studio.

Seppur il CCECAI sia un indice di classificazione clinica relativo al complesso delle enteropatie croniche, gli autori hanno preferito la sua valutazione a quella del CIBDAI (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index)¹⁴, indice creato da Jergens nel 2003 per classificare l'IBD. Secondo gli autori il CCECAI risulta più com-

pleto e idoneo per caratterizzare i segni clinici ed il follow-up sia a medio che a lungo termine.

Tutti i parametri valutati hanno rilevato un miglioramento complessivo della condizione clinica nei soggetti sottoposti a trapianto sia endoscopico che per via orale. Nel gruppo del trapianto endoscopico, dopo 3 mesi, solo un paziente (caso 1, Tabella 1) manifestava una condizione insoddisfacente con un punteggio CCECAI sovrapponibile a quello iniziale mentre in un altro caso (caso 7, Tabella 1) si è evidenziato miglioramento clinico solo dopo 40 giorni dal trapianto.

Questo dato è spiegabile sia come fatto casuale, sia come fisiologico andamento altalenante delle malattie infiammatorie croniche, ma potrebbe anche essere correlato a una risposta solo parziale al trapianto eseguito per via endoscopica. A favore di questa ipotesi va sottolineato che entrambi i soggetti non sono stati sottoposti a successivo trapianto per via orale. Un'ulteriore ipotesi è che i casi di IBD idiopatica più gravi rispondano peggio al trapianto fecale. Anche in medicina umana, in alcuni lavori^{19,20}, la risposta al trapianto nei pazienti con IBD idiopatica di grado moderato è migliore rispetto ai casi di IBD idiopatica grave e in una serie di 5 casi¹⁹ solo un paziente, con condizione di partenza meno grave degli altri, manifesta una buona risposta al trapianto per almeno 3 mesi. È interessante notare che, anche nel gruppo di cani sottoposti unicamente a trapianto per via orale, due soggetti (caso 1 e caso 4, Tabella 2), partiti con indice CCECAI maggiore, abbiano a tre mesi una differente risposta clinica: ottima nel primo caso, moderata nel secondo; ciò

Tabella 2 (prima parte) - TRAPIANTO PER VIA ORALE								
Sono inclusi nella tabella i pazienti che sono stati sottoposti esclusivamente al trapianto per via orale								
Razza	Sesso	Età (anni)	Sintomi G.E. principali	Diagnosi	Ipoalbuminemia	Terapie eseguite	Dieta	CCECAI
Maremmano	fs	7	Feci malformate, perdita di peso, disoressia, vomito	IBD lpc e eosinofilica severa	No	Dieta monoproteica, metronidazolo, tilosina, prednisolone, metilprednisolone, azatioprina, ciclosporina	Monoproteico commerciale	11
Bolognese	m	4	Disoressia, vomito, feci malformate, prurito	IBD moderata/severa	No	Dieta idrolizzata e monoproteica, metronidazolo, tilosina, prednisolone, azatioprina	Monoproteico commerciale	8
Pastore tedesco	m	7	Disoressia, feci malformate, dimagrimento	IBD	No	Dieta iperdigeribile, metronidazolo, tilosina, amox ac. clav, prednisolone	Iperdigibile commerciale	8
Pinscher	mc	6	Coliche addominali, diarrea	IBD	No	Prednisolone, metronidazolo, ciclosporina	Idrolisato, casalinga	12
Bassotto	m	3	diarrea	IBD	No	Tilosina, metronidazolo, prednisolone	Monoproteica commerciale	8
Bulldog inglese	m	4	Diarrea e borborigmi	IBD	No	Tilosina, metronidazolo, prednisolone	Idrolisato	8
Pastore belga	m	11	Diarrea, vomito	IBD eosinofilica	No	Tilosina, metronidazolo, buscopan	Idrolisato	5

dimostra ulteriormente la complessità sia della gestione terapeutica dell'IBD idiopatica che della comprensione del FMT.

Una variabile che andrebbe approfondita riguarda il sito di esecuzione del trapianto. Nella nostra casistica in alcuni cani il trapianto è stato eseguito solo nel duodeno mentre in altri anche nel colon e nell'ileo, pur mantenendo sempre il medesimo quantitativo di feci trapiantate; questa scelta è stata influenzata primariamente da difficoltà operative nel raggiungere l'ileo o nell'inadeguata preparazione del colon. Nell'opinione degli autori la procedura ideale sarebbe eseguire il trapianto in tutti i distretti raggiungibili, ma in ragione del numero limitato di casi di questo studio non è possibile supportare tale considerazione con dati statisticamente significativi.

Alcuni lavori in medicina umana²⁰ evidenziano come sia rilevante la qualità e la composizione del microbiota del donatore e come sia variabile tra soggetto e soggetto la composizione del microbiota successivamente al trapianto. Il lavoro in precedenza citato evidenzia una variazione dinamica della flora con picchi di presenza d'alcune famiglie, facendo ipotizzare che la colonizzazione da parte del microbiota del donatore sia un processo graduale. Queste considerazioni confermano la complessità della comprensione delle diverse variabili in corso di trapianto fecale e lasciano ipotizzare che il trapianto continuativo possa essere più efficace del trapianto eseguito una sola volta.

Attualmente non esiste in medicina veterinaria un lavoro che indaghi in maniera sistematica queste variabili e soprattutto il trapianto fecale con diversi donatori nello stesso soggetto. Nel nostro studio nessun soggetto è stato

sottoposto a trapianto con donatori diversi, poiché tutti i cani hanno subito un solo trapianto per via endoscopica e, quando sottoposti a integrazione continuativa per via orale, le feci provenivano sempre dal medesimo donatore. La scelta di non cambiare donatore è stata fatta per ridurre il numero di variabili da inserire nella valutazione dei risultati; ma certamente nei soggetti che non manifestano un'adeguata o una incompleta risposta clinica la possibilità di cambiare donatore andrebbe ulteriormente indagata. Inoltre è stato scelto di impiegare donatori che abbiano un peso corporeo simile ai pazienti riceventi, seppur non sia descritta in letteratura, un'associazione tra peso corporeo e composizione del microbiota, secondo gli autori questa scelta può ridurre eventuali variabili non ancora identificate.

Il trapianto endoscopico, se associato al trapianto orale, sembra avere maggiori possibilità di successo.

Un dato interessante riguarda la diversa risposta clinica tra i soggetti che dopo il trapianto endoscopico effettuano anche il trapianto per via orale rispetto a quelli in cui non è stato eseguito.

Tra i 5 cani sottoposti a trapianto orale dopo quello endoscopico 4 (90% dei pazienti) manifestano andamento soddisfacente e solamente uno insoddisfacente. Questi dati fanno supporre che la somministrazione per via orale abbia un ruolo positivo e determinante per il mantenimento di un buon andamento clinico. Anche in medicina umana^{1,2,19} viene ipotizzato che nei casi di IBD più grave il trapianto continuativo sia più efficace che il

Tabella 2 (seconda parte) - TRAPIANTO PER VIA ORALE

Donatore	Primo follow-up post trapianto 48-72 ore	Terapia post trapianto	Esame colturale dopo 7 gg	CCECAI 1 mese	CCECAI 3 mesi	Variazioni terapeutiche post trapianto a un mese
Golden retr, fs, 3 aa	1	Dieta monoproteica tilosina, metronidazolo	0	2	3	Sospende metronidazolo, continua dieta e tilosina
Golden retr, fs, 3 aa	1	Dieta monoproteica, tilosina		4	6	Sospensione di tutto
Golden retr, fs, 3 aa	1	Dieta iperdigeribile, prednisolone	0	Non valutato	Non valutato	Dopo due settimane è stata implementata la terapia steroidea e sospese capsule
Cocker, f, 6 mesi	1	Budesonide a scalare	0	11	8	Cambi dieta vari
Cocker, f, 6 mesi	1	tilosina, metronidazolo		6	5	Sospensione di tutto
Pastore sardo, m, 6 aa	1	tilosina, prednisolone	0	7	5	Sospensione steroidi
Pastore sardo, m, 6 aa	1	Sospensione di tutto	0	7	6	Sospensione di tutto

trapianto singolo. Queste considerazioni nascono sia dalla valutazione clinica che dalla valutazione del microbiota nei pazienti trapiantati mediante diverse tecniche e principalmente il pirosequenziamento.

Nel nostro lavoro la principale lacuna risiede proprio nell'impossibilità di valutare la variazione del microbiota con metodi analitici specifici e avanzati. L'unico parametro di controllo nel nostro lavoro è di tipo clinico e l'esame colturale, eseguito pre e post trapianto, non è finalizzato alla conoscenza del microbiota, ma piuttosto alla necessità di escludere la presenza e l'insorgenza d'infezioni batteriche pericolose per il paziente e/o potenzialmente per l'uomo. Nell'uomo esistono parametri analitici specifici che sono correlabili alla risposta clinica; ad esempio è stato dimostrato come l'abbondanza relativa di Enterobacteriaceae e Lachnospiraceae nelle feci di pazienti con colite ulcerativa fosse associata ad un peggioramento dei segni clinici e quindi ad una ridotta efficacia del trapianto¹⁹. In corso di clostridiosi recidivante nell'uomo trattata con trapianto fecale il microbiota del ricevente, valutato tramite pirosequenziamento, si è dimostrato molto simile a quello del donatore dopo 45 giorni dal trapianto²⁰; il meccanismo che sta alla base di questo cambiamento che si accompagna anche alla risoluzione dei segni clinici rimane però non del tutto chiaro.

Per avere una stima più precisa del numero di microrganismi trapiantati e della composizione tassonomica dei phylum batterici, andrebbero eseguiti test molecolari come il pirosequenziamento.

Nei pazienti in cui il miglioramento non avviene o dura poco tempo, non è noto che cosa accada realmente. I dati disponibili evidenziano un microbiota diverso da quello del donatore nei soggetti che non migliorano. La difficoltà nel mantenere un microbiota stabile è più probabile nei pazienti con patologia più grave e questo dato è presumibile anche nel nostro lavoro. Nell'uomo questo accade principalmente in corso di colite ulcerativa o Chron rispetto al trattamento del *Clostridium difficile* in cui il miglioramento clinico persiste per tempi lunghi e a volte per sempre^{20,21}. Il monitoraggio dei pazienti tramite pirosequenziamento fecale eseguito a intervalli costanti (2-4 settimane) sarebbe finalizzato a comprendere maggiormente l'efficacia del trapianto e a prevenire la recidiva della patologia; ma nel nostro studio questa valutazione non è stata eseguita in ragione dei costi troppo elevati^{10,11}. Inoltre, la suddivisione non randomizzata dei pazienti suddivisi nei due gruppi terapeutici (trapianto per via endoscopica vs trapianto per via orale) potrebbe aver falsato lo studio comparativo tra le due metodiche.

Nel nostro studio, nel gruppo di pazienti sottoposti unicamente a trapianto per via orale sono stati inseriti i soggetti meno gravi dal punto di vista clinico. La scelta di inserire in questo gruppo pazienti con sintomatologia meno grave è finalizzata a capire se il trapianto può essere un'opzione anche nei pazienti con un'accettabile risposta alla terapia, con l'obiettivo quindi di ridurre fino a sospendere l'utilizzo di farmaci. In 6 pazienti a 1 mese è stata sospesa la terapia steroidea ed eseguito il mantenimento con dieta e/o antibiotici. Solo in un caso, in ragione del peggioramento dei segni clinici, è stato necessario sospendere il trapianto e implementare la terapia steroidea dopo due settimane. Vista l'impossibilità di eseguire il pirosequenziamento, non è stato possibile definire se tale peggioramento sia relazionabile al trapianto o al fisiologico andamento altalenante dell'IBD idiopatica. In 4 pazienti, dopo un mese, è stato sospeso ogni trattamento e proseguita la somministrazione del trapianto per via orale a giorni alterni. Secondo gli autori la somministrazione del trapianto per via orale potrebbe essere una buona opzione terapeutica per limitare anche l'impiego di terapie antimicrobiche. Inoltre, nel cane la componente di rifiuto psicologico nell'assumere per via orale il materiale fecale è ridotta rispetto all'essere umano e quindi è ipotizzabile tale procedura anche per lunghi periodi. Il trapianto per via orale conduce inoltre ad alcune considerazioni dal punto di vista metodologico. Per prima cosa è, ad oggi, sconosciuto se e come si modifichi il microbiota fuori dal corpo del donatore dopo essere stato esposto all'ossigeno²⁴. Nonostante non vi siano delle modalità di raccolta e stoccaggio standardizzate, la tecnica dovrebbe essere finalizzata a ridurre le manipolazioni del materiale al minimo ed eseguire il trapianto nel minor tempo possibile dalla raccolta. In medicina umana Ianiro G. (2014) descrive come il mantenimento dell'anaerobiosi sarebbe indicato per permettere la trasmissione dei ceppi batterici anaerobi e che anche le modalità di inoculazione del microbiota (capsule, endoscopia, clisma) possano influenzare la sopravvivenza batterica. In un recente lavoro di Marks S. (2014) il materiale fecale è stato prelevato entro 8 ore e congelato, successivamente è stato scongelato e somministrato per via endoscopica in pazienti affetti da infezioni ricorrenti da *Clostridium difficile* (RCDI) con percentuali di successo simili a quelle nei pazienti trattati con materiale fecale fresco.

In quest'ottica, nel nostro lavoro la preparazione del materiale fecale fresco, sia per via orale che per via endoscopica, avviene entro 6 ore dalla raccolta. In un lavoro di medicina umana relativo alla Clostridiosi²² gli autori utilizzano microbiota umano filtrato e miscelato a sostanza crioprotettiva e poi congelato per lo stoccaggio a -80° fino all'utilizzo. Questo procedimento eli-

mina l'odore fecale e riduce il volume; tale materiale in corso di Clostridiosi risulta efficace come il materiale fecale fresco; gli autori inoltre sequenziano il microbiota dimostrando che l'impianto del microbiota è stabile ed il microbiota del ricevente varia nella direzione della composizione del donatore. Il trapianto di materiale fecale fresco non è sempre facile da eseguire perché prevede un'attenta collaborazione e coordinazione tra proprietario e veterinario. La possibilità di utilizzare materiale fecale congelato anche per il trapianto endoscopico andrebbe ulteriormente indagata anche in medicina veterinaria.

Nell'uomo, inoltre, le modalità di esecuzione del trapianto sono svariate, può essere eseguito tramite duodenoscopia, ileo-colonscopia, attraverso clistere o per via orale^{1,23,25}. Seppur le metodiche in medicina veterinaria non siano ancora state standardizzate, secondo l'opinione degli autori, l'associazione di diverse modalità di trapianto potrebbe essere una scelta corretta; infatti nel nostro studio i pazienti sottoposti prima al trapianto per via endoscopica e poi per via orale sono quelli con la risposta clinica migliore. Ad oggi non c'è un'evidenza in letteratura veterinaria che una tecnica sia più efficace di un'altra. Anche in medicina umana non c'è differenza statistica nei risultati terapeutici tra il trattamento eseguito per via endoscopica nel duodeno o quello eseguito attraverso clisma nel colon discendente.

Secondo alcuni lavori^{1,24} è importante avere una stima più precisa possibile del quantitativo numerico dei microorganismi trapiantati in ogni procedura endoscopica piuttosto che l'esatta composizione tassonomica dei phyla batterici. Questa considerazione andrebbe applicata anche al quantitativo contenuto in ogni capsula introdotta per via orale per capire se esiste un quantitativo minimo efficace o "terapeutico". A differenza delle infezioni ricorrenti da *Clostridium difficile* (RCDI) in cui il microbiota nativo è stato fortemente danneggiato dalle molteplici cure antibiotiche e quindi il Clostridium enterotossigeno è facilitato nella sua proliferazione dalla distruzione della flora microbica commensale, in corso di IBD, questa distruzione non si verifica. Però in presenza di malattia infiammatoria cronica i pazienti sono frequentemente sottoposti a terapia antibiotica e la disbiosi è una causa e/o conseguenza rilevante del processo patologico in atto^{1,2,10}. Questa considerazione rappresenta il razionale dell'utilizzo del trapianto fecale in corso d'IBD, primariamente nei pazienti che sono sottoposti a terapia antibiotica. In alcuni lavori di medicina umana gli autori sottopongono i pazienti a trattamento antibiotico prima del trapianto¹⁷; nella nostra casistica non abbiamo effettuato questa procedura in maniera standardizzata, ma circa il 90% dei nostri pazienti al momento del trapianto era sottoposto a terapia antibiotica con uno o più dei seguenti principi attivi: metronida-

zolo/spiramicina e/o tilosina tartrato. Anche questo potenziale aspetto procedurale necessita di ulteriori approfondimenti e di una standardizzazione. Inoltre, nella maggior parte dei lavori^{2,5,17,19} sul trapianto fecale in medicina umana viene consigliata sospensione del trattamento antibiotico dopo il trapianto; nella nostra casistica l'antibiotico è stato sospeso solo in 4 su 16 pazienti, tutti appartenenti al gruppo sottoposto a trapianto per via orale e quindi tutti pazienti non considerati gravi. La mancata sospensione del trattamento antibiotico dopo il trapianto fecale merita ulteriori approfondimenti e non aver uniformato questa procedura rappresenta un limite del nostro studio. Infatti, non avendo eseguito il pirosequenziamento fecale, non è possibile affermare se e come il microbiota trapiantato venga modificato dalla terapia antibiotica, inoltre non è possibile escludere che il miglioramento clinico sia correlato all'antibiotico piuttosto che al trapianto. Quest'ultima ipotesi però non è probabile visto che tutti i pazienti erano già stati precedentemente sottoposti alla medesima terapia antibiotica senza risposta clinica. Mentre nelle infezioni ricorrenti da *Clostridium difficile* (RCDI) è possibile misurare le tossine clostridiche come marker di successo terapeutico, nel nostro studio la valutazione clinica è stata l'unico parametro di follow-up. Questo dato e l'assenza di un gruppo di controllo sottoposto a trapianto con placebo rappresentano i principali limiti al nostro lavoro. Purtroppo è stato impossibile per gli autori individuare un numero adeguato di proprietari disponibili a sottoporre a trapianto endoscopico, potenzialmente con placebo, i propri animali. Per ovviare, in parte, a questo difetto è stato scelto di inserire solo soggetti con un'anamnesi remota non inferiore a un anno, per avere un parametro esaustivo della risposta alla terapia prima del trapianto da confrontate con l'andamento (fino a tre mesi) post trapianto. Questo lavoro rappresenta, infatti, una fase preliminare di uno studio più ampio; a oggi è in atto la valutazione del follow-up post trapianto a lungo termine sia continuando la somministrazione per via orale, sia sospendendola. In conclusione, in medicina veterinaria il trapianto fecale in corso di IBD idiopatica non responsiva alle comuni terapie è una procedura palliativa che richiede ulteriori approfondimenti e maggiore standardizzazione. Sulla base dei risultati preliminari ottenuti, il FMT appare promettente e meritorio di altri studi finalizzati all'individuazione delle categorie di pazienti che possano maggiormente beneficiare di questa procedura e diretti a migliorare le modalità operative nella sua esecuzione.

RINGRAZIAMENTI

Un ringraziamento ai nostri colleghi Clara Sasso e Andrea Di Francesco, per il loro prezioso contributo nella realizzazione di questo studio.

PUNTI CHIAVE

- Il trapianto del microbiota fecale (FMT) o batterioterapia fecale, è una procedura medica non farmacologica in fase sperimentale il cui obiettivo è ripristinare la diversità filogenetica del microbiota.
- In medicina umana il trapianto del microbiota fecale è una pratica consolidata per il trattamento del *Clostridium difficile* e si sta indagando l'efficacia anche per patologie gastrointestinali non responsive alle comuni terapie mediche.
- In corso di patologia intestinale cronica è stata dimostrata la presenza di un'alterazione del numero e della composizione del microbiota (disbiosi); questa condizione viene spesso aggravata da terapie antimicrobiche e/o immunomodulatrici.
- La caratterizzazione qualitativa e quantitativa del microbiota fecale dei riceventi e dei donatori può essere eseguita attraverso tecnica di estrazione molecolare come il pyrosequenziamento.
- In medicina veterinaria, in questo momento, sono presenti solo comunicazioni aneddotiche sull'impiego del trapianto del microbiota fecale per il trattamento delle enteropatie croniche non responsive alle comuni terapie mediche.

Fecal microbiota transplantation (FMT) in 16 dogs with idiopathic IBD

Summary

Fecal Microbiota Transplantation (FMT) is a non-pharmacological medical treatment in the preliminary stage, which is being used to restore phylogenetic diversity in the microbiota. In human medicine has been shown to be an effective treatment for recurrent Clostridium difficile infections (RCDI). Therefore, in veterinary medicine FMT has recently been tested as a treatment for multiple gastrointestinal disease, unresponsive to common medical therapies, such as idiopathic IBD (inflammatory bowel disease), chronic enteropathy, chronic colitis and gastrointestinal infections caused by Clostridium perfringens. The aim of our study was to perform the fecal microbiota transplantation in 16 dogs with idiopathic IBD unresponsive to common therapies and evaluate clinical response, with CCECAI classification index, with a follow-up to 1 month and 3 months.

16 dogs affected by idiopathic IBD were included in this study; 9 animals underwent transplantation with fresh emulsion via endoscopic procedure and 5 of them had also received the transplant orally. 7 patients were only administered the oral transplantation by use of frozen capsules. The data show clinical improvement in the most of patients after transplantation performed orally and endoscopically.

The lack of a complete assessment of the microbiota by pyrosequencing technique and the absence of a control group represent the two main limitations of this work. Nevertheless, the fecal transplant might be effective in treating appears a concrete and promising possibility for the palliative treatment of idiopathic IBD unresponsive to common therapies, worthy of further study and investigation.

BIBLIOGRAFIA

1. Kelly C.R, Khan S, Kashyap P. *et al*: Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook Colleen R. Kelly, Gastroenterology 149: 223-237, 2015.
2. Borody TJ, Khoruts A.: Fecal microbiota transplantation and emerging applications. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 20: 88-96, 2011.
3. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, *et al*: Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science, 307: 1915-20, 2005.
4. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI: Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell, 124: 837-48, 2006.
5. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, *et al*: Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. Clinical Gastroenterology Hepatology 9: 1044-9, 2011.
6. Koboziev I, Reinoso Webb C, Kathryn L. *et al*: Role of the enteric microbiota in intestinal homeostasis and inflammation. Free Radical Biology and Medicine 68: 122-33, 2014.
7. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, *et al*: Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. Gastroenterology 143: 913-6, 2012.
8. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, *et al*: Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. Science 341: 1241214, 2013.
9. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F *et al*: Gut microbiota in autism mood disorders. World Journal of Gastroenterology 22: 361-368, 2016.
10. Marks S.: Therapeutic manipulation of the small animal GI microbiome: what evidence do we have for efficacy? American College of Veterinary Internal Medicine Congress, Nashville, TN, 2014, p. 3.
11. Weese J.S, Costa M.C., Webb J.A: Preliminary clinical and microbiome assessment of stool transplantation in the dog and cat. American College of Veterinary Internal Medicine Congress, Seattle, WA, 2013, p. 19.

12. Murphy T, Chaitman J, Han E: Use of fecal transplant in eight dogs with refractory *Clostridium perfringens*-associated diarrhea. American College of Veterinary Internal Medicine Congress, Nashville, TN 2014, p. 72.
13. Margo Roman: Microbiome restorative therapy: successful treatment of dogs and cats with fecal transplants, American Holistic Veterinary Medical Association Journal 38, 2015.
14. Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE *et al*: A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. Journal of Veterinary Internal Medicine 17: 291-297, 2003.
15. Allenspach K, Wieland B, Grone A, *et al*: Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. Journal of Veterinary Internal Medicine 21: 700-708, 2007.
16. Eiseman B, Silven W, Bascom GS *et al*: Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. Surgery 44: 854-9, 1958.
17. Schwan A, Sjolín S, Trottestam U *et al*: Relapsing *Clostridium difficile* enterocolitis cured by rectal infusion of homologous faeces. The Lancet 8: 845, 1983.
18. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK *et al*: Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Journal of Clinical Gastroenterology 44: 354-60, 2010.
19. Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A *et al*: Temporal bacterial community dynamics vary among ulcerative colitis patients after fecal microbiota transplantation. The American Journal of Gastroenterology 108: 1620-30, 2013.
20. Ianiro G, Bibbò S, Scaldaferrì F, *et al*: Fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease: beyond the excitement. Medicine (Baltimore) 93: e97, 2014.
21. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK *et al*: Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Journal of Clinical Gastroenterology 44: 354-60, 2010.
22. Costello SP, Tucker EC, La Brooy J *et al*: Establishing a Fecal Microbiota Transplant Service for the treatment of *Clostridium difficile* Infection. Clinical Infectious Disease 1: 908-14, 2016.
23. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M *et al*: Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. The New England Journal of Medicine 368: 407-415, 2013.
24. Petrof E.O, Khoruts A.: From Stool Transplants to Next- Generation Microbiota Therapeutics. Gastroenterology; 146: 1573-1582, 2014.
25. Dutta SK, Girotra M, Garg S *et al*: Efficacy of combined jejunal and colonic fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. Clinical Gastroenterology and Hepatology 12:1572-1576, 2014.


CASA EDITRICE E SOCIETÀ DI DISTRIBUZIONE
Editoria Scientifica

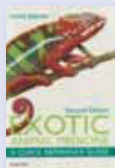
JEPSON
Exotic animal medicine - a quick reference guide

 2^a ed., 645 pagg., 50 ill., Elsevier, Febbraio 2017

Codice Articolo: ANESO241 ISBN: 9780323328494

Listino euro 76,99

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 65,00

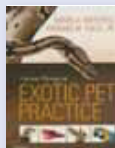

MITCHELL-TULLY
Current therapy in exotic pet practice

 1^a ed., 564 pagg., 300 ill., Elsevier, Febbraio 2017

Codice Articolo: ANESO242 ISBN: 9781455740840

Listino euro 82,99

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 71,00


MULLINEAUX-KEEBLE
BSAVA Manual of wildlife casualties

 2^a ed., 480 pagg., 150 ill., BSAVA Publications, Febbraio 2017

Codice Articolo: ANESO244 ISBN: 9781905319800

Listino euro 111,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 94,00


TYNES
Behavior of exotic pets

 1^a ed., 234 pagg., 80 ill., John Wiley & Sons, Febbraio 2017

Codice Articolo: ANESO243 ISBN: 9780813800783

Listino euro 80,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 68,00


FRYE
Self-assessment color review - Reptiles and amphibians

 2^a ed., 240 pagg., 400 ill., CRC Press, Gennaio 2017

Codice Articolo: ANESO240 ISBN: 9781422257601

Listino euro 41,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 34,00


 Per ordinare: www.evsl.it/distribuzione - Fax: 0372-457091 - E-mail: editoria@evsl.it