



MINISTERO DELLA SALUTE

Istituto Superiore di Sanità
Centro Nazionale Trapianti

Roma,

07/08/2020

Prot. 1386/CNT2020



WHO Collaborating Centre
On Vigilance and Surveillance for
Human Cells, Tissues and Organs

**Ai Centri FMT Nazionali
Loro sedi**

E, p.c. Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria
Ministero della Salute

Oggetto: emendamento al “Programma Nazionale sul trapianto di microbiota fecale umano”
(FMT - Fecal Microbiota Transplantation)

Con riferimento all'emendamento in oggetto presentato dal CNT (24 febbraio 2020 Prot 452 CNT/2020), con il quale si richiedeva che il Programma Nazionale sul trapianto di FMU prevedesse anche l'impiego di materiale fecale congelato, il Consiglio Superiore di Sanità (CSS), nelle sedute del 9 giugno e del 14 luglio 2020, si è espresso con parere favorevole.

Pertanto, il “Programma Nazionale sul Trapianto di Microbiota Fecale umano (FMT) – aspetti regolatori, clinici e organizzativi” è stato integrato con il protocollo per la preparazione del materiale fecale congelato e con altre indicazioni procedurali correlate, incluse alcune raccomandazioni del CSS.

Si allega il nuovo documento in cui sono evidenziate le revisioni apportate alle pag: 3,5,8,10, All 2 (pag 12 e 13).

Il Direttore del Centro Nazionale Trapianti
Dr. Massimo Cardillo

Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Tel +39 06/4990.4040 - 4041 - 4045
Fax. +39 06/4990.4101
e-mail: cnt@iss.it - PEC: cnt@pec.iss.it

www.trapianti.salute.gov.it

Programma Nazionale sul Trapianto di Microbiota Fecale umano (FMT) – aspetti regolatori, clinici e organizzativi. (Revisione 04.08.2020)

Premessa

In considerazione dei risultati ottenuti dall'applicazione del FMT per il trattamento di pazienti adulti affetti da infezioni ricorrenti causate da *Clostridium difficile* (*C. difficile*) refrattari alla antibiotico terapia standard e considerato che per l'applicazione del FMT da parte delle Regioni e Province autonome è necessario il completamento del quadro regolatorio, anche attraverso la definizione dell'Accordo Stato Regioni sui requisiti minimi organizzativi, tecnologici e strutturali, è auspicabile che possa essere avviato un programma nazionale al fine di acquisire dati utili a definire standard di qualità relativi all'assistenza dei pazienti. In tale ottica si è predisposto il presente documento recante il Programma nazionale che, con il coordinamento del Centro Nazionale Trapianti (CNT), è finalizzato all'applicazione del FMT presso strutture sanitarie con idonee caratteristiche clinico organizzative e che prevede le indicazioni procedurali per l'adesione al programma e metodologiche per l'esecuzione del FMT.

• **Introduzione**

Il trapianto di microbiota fecale umano (FMT) consiste nella somministrazione del materiale fecale di un donatore sano nell'intestino di un soggetto malato per il trattamento di specifiche patologie correlate a uno squilibrio del microbiota intestinale.

Il FMT è stato recentemente proposto come opzione terapeutica in casi di infezione ricorrente da *C. difficile* resistente alla terapia antibiotica nell'adulto.

L'infezione da *C. difficile* si può manifestare con un quadro di colite grave soprattutto in pazienti anziani e ospedalizzati, potendo dar luogo a complicanze severe come megacolon, perforazione intestinale, shock. La patologia, tipicamente associata a uno stato di alterazione del microbiota intestinale, molto spesso causato dall'assunzione di antibiotici, è legata alla produzione di tossine che danneggiano la mucosa intestinale e determinano infiammazione e diarrea. Il trattamento standard dell'infezione da *C. difficile* prevede l'utilizzo di vancomicina o fidaxomicina come terapia di prima linea, ma si assiste in molti casi alla ricorrenza dell'infezione con ricomparsa dei sintomi e di positività delle tossine nelle feci. Il fenomeno sembra essere correlato al persistere dello stato di alterazione del microbiota intestinale causata dall'uso degli antibiotici stessi. La comparsa di ceppi nosocomiali resistenti a certi antibiotici e dotati di maggiore virulenza ha recentemente aumentato la numerosità dei casi e la loro severità. Il tasso di incidenza e la mortalità delle infezioni da *C. difficile* è notevolmente aumentato negli ultimi decenni soprattutto in ambiente ospedaliero e comunitario.

Alla luce dell'elevato tasso di efficacia nella cura dell'infezione ricorrente da *C. difficile* (92-94%) e di un numero molto basso di effetti collaterali (la maggioranza di lieve entità) dimostrato da review sistematiche e

metanalisi, comprendenti anche molti studi clinici randomizzati e controllati, il FMT risulta essere un'arma terapeutica molto efficace per il trattamento di pazienti affetti da infezione ricorrente da *C. difficile* refrattari alla antibiotico terapia standard (rCDI). Linee guida americane ed europee raccomandano il FMT quale opzione terapeutica consolidata per il trattamento della forma ricorrente dell'infezione.

Infine, durante la "European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice", tenutasi a luglio 2017 a Roma, è stato evidenziato che il FMT comporta un notevole risparmio economico per il sistema sanitario rispetto alle cure mediche attualmente disponibili.

- **Inquadramento regolatorio**

Dal punto di vista dell'inquadramento regolatorio, considerata la peculiarità della composizione, il microbiota fecale umano (MFU) destinato ad applicazioni sull'uomo, non rientra in un ambito normativo ben definito quale quello dei medicinali o quello del trapianto di tessuti e cellule. Secondo il parere legale della SANTE della Commissione europea, il MFU è da considerarsi "flora batterica" nella quale le eventuali cellule non esercitano un'azione terapeutica primaria. La presenza nel microbiota di flora batterica e di cellule di origine umana può determinare la trasmissione di agenti patogeni dal donatore al ricevente e pertanto i requisiti previsti dalle norme sui trapianti di cellule e tessuti (Direttiva europea 2004/23/CE e successive direttive di attuazione) possono considerarsi adeguati per assicurare la qualità e sicurezza del FMT. La Commissione europea ha lasciato agli Stati Membri la decisione di applicare tali requisiti.

Il Consiglio Superiore di Sanità, sentito anche il parere dell'Agenzia Italiana del Farmaco, ha concluso, nella seduta del 12 maggio 2015, che "nelle more di una specifica regolamentazione, al momento si possa condividere la proposta di inquadramento della procedura in questione nei termini prospettati dalla Direzione generale della prevenzione sanitaria e dal CNT e che pertanto, si possa far riferimento ai principali requisiti di qualità e sicurezza previsti dal d.lgs. 191/2007 e dal d.lgs. 16/2010".

Dall'applicazione delle norme su tessuti e cellule e, in particolare, in relazione agli istituti dei tessuti (banche) di cui all'articolo 3, comma 1, lett. q) del decreto legislativo 191/2007, ne consegue che la preparazione e la conservazione del MFU debbano essere effettuate in una "banca" che, come previsto dal decreto legislativo citato (art.6), sia specificatamente autorizzata/accreditata allo svolgimento di tali attività. L'autorizzazione/accreditamento viene rilasciata dalla regione o provincia autonoma che, avvalendosi del supporto del CNT effettua come previsto dal decreto legislativo 191/2007 (art.7), i controlli ispettivi periodici al fine di verificare il possesso dei principi e requisiti di cui ai decreti legislativi 191/2007 e 16/2010.

Come previsto dall'art. 6, del decreto legislativo 191/2007, con Accordo Stato Regioni potranno essere successivamente stabiliti i requisiti minimi organizzativi, tecnologici e strutturali per l'autorizzazione/accreditamento delle banche di MFU, anche sulla base dei risultati dell'applicazione del presente programma.

- **Obiettivi del programma**

Sulla base dei risultati ottenuti dall'applicazione del FMT quale opzione terapeutica per il trattamento di pazienti adulti affetti da infezioni ricorrenti causate da *C. difficile*, refrattari alla antibiotico terapia standard (rCDI), il Consiglio Superiore di Sanità, nell'ambito del gruppo di lavoro costituito ad hoc sul MFU, sta finalizzando una linea guida comprendente oltre al protocollo clinico per il trattamento e il follow up del pazienti, anche le indicazioni per la selezione dei donatori, i criteri di idoneità dei laboratori e le metodiche standard per la caratterizzazione del MFU, i requisiti tecnici per la sua preparazione e conservazione, le caratteristiche dei centri clinici idonei al fine di rendere possibile l'esecuzione del FMT sul territorio nazionale.

Nelle more della definizione dell'Accordo Stato Regioni sopra menzionato per la definizione dei requisiti minimi organizzativi, tecnologici e strutturali e dell'applicazione della suddetta linea guida, al fine di poter effettuare il trattamento quale terapia consolidata per le infezioni ricorrenti causate da *C. difficile* e di acquisire ulteriori dati utili a definire standard di qualità relativi all'assistenza dei pazienti, si ritiene necessario avviare il presente Programma a livello nazionale, come fase post-sperimentale, con la partecipazione di strutture sanitarie che presentino le caratteristiche clinico-organizzative indicate nel presente documento. Il presente Programma Nazionale prevede che il MFU sia applicato facendo riferimento ai requisiti del decreto legislativo 191/2007 relativamente alle sole fasi di donazione, approvvigionamento, controllo, lavorazione, conservazione e distribuzione, per quanto applicabili.

- **Caratteristiche del Programma nazionale**

- *Durata*

Il programma prevede uno sviluppo in 2 anni.

- *Indicazione terapeutica e somministrazione di MFU*

L'unica indicazione clinica prevista è il FMT in pazienti adulti affetti da infezioni ricorrenti causate da *C. difficile* refrattarie alla antibiotico terapia standard (rCDI). L'infusione deve essere effettuata tramite l'utilizzo a fresco e congelato del microbiota donato con clistere o colonscopia, quest'ultima come via preferita di somministrazione. In condizioni cliniche particolari, qualora non sia possibile utilizzare la suddetta via di somministrazione si può ricorrere alla somministrazione attraverso il tratto digerente superiore. L'allegato 1 rappresenta il protocollo clinico (metodologia) per il trattamento e il follow up dei pazienti e comprende anche i criteri per la selezione dei donatori.

- *Preparazione del materiale fecale per il trapianto*

La lavorazione del materiale donato deve essere effettuata in un laboratorio che possiede i requisiti indicati successivamente. **L'allegato 2 descrive le modalità di preparazione dell'MFU per il trapianto con materiale fresco e congelato.**

- *Strutture partecipanti*

Il programma prevede la partecipazione di Centri Clinici e di Laboratori di Microbiologia in possesso dei rispettivi specifici requisiti previsti dal presente documento.

Al momento è escluso dal presente Programma Nazionale il FMT in pazienti pediatrici e in tutte le indicazioni terapeutiche diverse dal rCDI, per le quali è necessario effettuare studi sperimentali condotti secondo le norme previste per la sperimentazione clinica sul trapianto. Sulla base dei risultati ottenuti sarà predisposto un analogo programma nazionale che regolamenti il trapianto nei pazienti pediatrici.

- **Coordinamento del programma**

Il Programma nazionale per il FMT è coordinato dal CNT che valuta le richieste di adesione e il possesso dei requisiti previsti per i Centri Clinici e i Laboratori di Microbiologia che intendono partecipare.

Il CNT cura la raccolta dei dati relativi ai trattamenti ed effettua la sorveglianza e la registrazione dei dati derivati dall'attuazione del Programma Nazionale. L'analisi dei risultati sarà condivisa con il Ministero e il Consiglio Superiore di Sanità.

- **Procedura di adesione**

Le Regioni e le Province autonome trasmettono il presente Programma alle Aziende sanitarie che, verificato il possesso dei requisiti previsti, possono, previa approvazione da parte della propria Direzione generale, fare richiesta di adesione al programma stesso inviando la domanda al CNT.

Verificata la conformità dei Centri richiedenti ai requisiti previsti dal presente documento, e se necessario anche attraverso una verifica in loco, il CNT autorizza la partecipazione dei Centri Clinici al Programma, provvedendo a informare il Ministero della salute sui Centri aderenti e sulle fasi di inizio e svolgimento del Programma.

REQUISITI PER UN CENTRO DI FMT

Le Aziende sanitarie ospedaliere, Aziende ospedaliero/universitarie, Istituti di ricovero e cura a carattere scientifico – IRCCS, Presidi di grandi dimensioni della Azienda sanitaria locale – ASL e Aziende sanitarie private accreditate con SSN, devono identificare un Centro di FMT, con un compito di governo clinico per la gestione del programma di FMT e che coordini un team multidisciplinare costituito almeno da gastroenterologi, microbiologi e infettivologi.

Il Centro di FMT è identificato presso una struttura clinica, un reparto di gastroenterologia o medicina interna specializzata in malattie dell'apparato gastrointestinale, ed è responsabile della selezione dei pazienti e dei donatori, di tutte le procedure per la somministrazione di FMT, del follow up dei pazienti e dell'invio al CNT dei dati relativi ai trattamenti di cui sopra, incluse le segnalazioni di reazioni/eventi avversi verificatisi nei pazienti.

È necessario inoltre che all'interno dell'Azienda siano presenti un servizio di endoscopia, un locale dedicato alla preparazione di MFU, un laboratorio di microbiologia responsabile della preparazione e del rilascio del

MFU per la procedura di FMT e che sia assicurata una consulenza infettivologica o l'accesso a un reparto di malattie infettive.

- **Requisiti della struttura clinica**

Devono essere identificate stanze di degenza o ambulatoriali per la somministrazione di MFU.

Deve essere disponibile un'attività ambulatoriale dedicata per la gestione clinica dei donatori e dei riceventi.

Il centro di FMT deve documentare i trattamenti di trapianto effettuati attraverso la registrazione delle procedure, comprensive dei dati relativi ai pazienti/donatori, alla preparazione del MFU e alla qualità del prodotto finale e i risultati in termini di efficacia e di sicurezza del trattamento.

- **Requisiti del laboratorio di microbiologia**

Il laboratorio di microbiologia deve assicurare:

- la gestione in qualità del processo di laboratorio relativo allo screening infettivologico sul donatore e sul materiale da infondere, comprensivo delle tecniche convenzionali e dei test rapidi per l'individuazione dei più importanti patogeni trasmissibili;
- la partecipazione a controlli di qualità interni ed esterni (VEQ), con esito positivo, e l'implementazione di un sistema di gestione della qualità a garanzia del massimo grado di sicurezza e qualità microbiologica del prodotto;
- la possibilità di effettuare una analisi del MFU mediante metodiche di Next generation sequencing (NGS).

- **Requisiti del locale per la preparazione di FMT**

- Il Centro di FMT deve disporre di un locale/area dedicato al controllo, alla lavorazione, al congelamento, alla conservazione e distribuzione del MFU nel rispetto dei requisiti di qualità e sicurezza previsti dal d.lgs 191/07 per le suddette fasi.

- Le attività di preparazione del MFU devono essere condotte in conformità con quanto descritto nell'allegato 2 sotto il controllo del laboratorio di microbiologia.

- L'area deve possedere i requisiti previsti per un laboratorio BSL2.

- Il congelamento e lo stoccaggio del MFU deve prevedere l'utilizzo di un congelatore a -80°C i cui parametri vengano adeguatamente monitorati in modo da garantire la sicurezza e la qualità del prodotto conservato.

- I procedimenti connessi con lo stoccaggio di MFU devono essere documentati da procedure operative standard, al fine di prevenire qualunque evento che possa compromettere la funzione o l'integrità del MFU. I campioni di MFU lavorati non sono distribuiti fino a quando i requisiti previsti non sono stati soddisfatti.

“Criteri e metodologia clinica per il trattamento dei pazienti affetti da infezioni da *Clostridium Difficile* ricorrenti (rCDI) e refrattarie al trattamento antibiotico standard.

PAZIENTI

Criteri di inclusione pazienti

- età \geq 18 anni
- diagnosi confermata di infezione di CDI multipla ricorrente a partire dal primo episodio di ricorrenza, con diarrea definita come 3 o più movimenti intestinali diarroici in 24 ore per almeno 2 giorni, con nessun'altra causa, da 8 settimane dall'ultima terapia antibiotica standard con vancomicina o fidaxomicina per 10 giorni
- immunoassay enzimatico (EIA) positivo per la tossina di CD o test molecolare per il gene (gene locus) della tossina di CD nelle feci
- sottoscrizione del consenso informato

Criteri di esclusione pazienti

- età inferiore a 18 anni
- gastroenterite attiva dovuta a patogeni diversi dal CD
- neutropenia $\leq 0,5 \times 10^9/L$
- evidenza radiologica di megacolon tossico o perforazione intestinale (ecografia o radiografia addominale (abdominal CT scan or X-ray))
- presenza di colostomia
- controindicazioni alla colonscopia
- qualsiasi condizione per la quale, secondo il medico, il trapianto di MFU metta a rischio la salute del paziente
- gravidanza
- storia di ipersensibilità al macrogol contenuto nelle preparazioni colonscopiche

DONATORI

Selezione del donatore

Numerose evidenze dimostrano come non ci sia differenza fra donatori consanguinei e donatori non consanguinei in termini di efficacia e sicurezza, almeno quando il MFU è utilizzato per trattare l'infezione da *C. difficile*.

Prima della donazione è necessario fornire adeguate informazioni al donatore e deve essere acquisito il consenso informato del donatore e il suo consenso al trattamento dei dati personali come previsto dalla normativa vigente sulla privacy.

Prima della donazione di MFU è necessario un accurato screening del soggetto per evitare la trasmissione di malattie ai pazienti. Esso consiste di tre procedure fondamentali:

- Screening iniziale tramite questionario preliminare
- Screening tramite esami bioumorali (siero e feci) dei soggetti risultati idonei al questionario
- Valutazione finale tramite questionario e test molecolare rapido per i principali patogeni enterici sul campione fecale il giorno stesso della donazione

È fortemente consigliato lo screening del profilo di microbiota fecale e comparazione del profilo tra donatore e ricevente.

1. Screening iniziale tramite questionario preliminare

Il questionario preliminare deve investigare tre principali aspetti:

- storia nota o fattori di rischio per malattie infettive;
- storia di malattie gastrointestinali, metaboliche, neurologiche;
- utilizzo di farmaci/sostanze che possono alterare il microbiota intestinale.

1a) storia nota o fattori di rischio per malattie infettive

Storia nota o esposizione a HIV, HBV o HCV, sifilide, virus umano T-linfotropico I e II, malaria, tripanosomiasi, tubercolosi

- Infezione sistemica nota non controllata al momento della donazione
- Uso di droghe e/o sostanze illegali
- Comportamenti sessuali a rischio (rapporti/contatti sessuali occasionali/anonimi, comportamenti sessuali ad alto rischio con prostitute, tossicodipendenti, soggetti positivi per HIV, epatiti, sifilide; prostituzione; storia di malattia sessualmente trasmissibile)
- Soggetto sottoposto a trapianto di tessuti / organi
- Precedente (<12 mesi) trasfusione di sangue/emocomponenti o somministrazione di emoderivati
- Recente (<6 mesi) puntura accidentale con siringhe
- Recente (<6 mesi) esecuzione di tatuaggi, piercing, agopuntura
- Recente trattamento medico in condizioni di scarsa igiene (es. ospedali da campo, trattamenti medici in condizioni di fortuna, trattamenti medici non standardizzati)
- Rischio di trasmissione di malattie causate da prioni (Encefalopatie spongiformi trasmissibili) (Presenza di anamnesi familiare per TSE e altri fattori di rischio)
- Recenti (<6 mesi) infezioni batteriche, virali, fungine o parassitarie con implicazione gastrointestinale

- Recenti viaggi (<6 mesi) in paesi tropicali, paesi ad alto rischio di malattie trasmissibili o diarrea del viaggiatore
- Recente (<6 mesi) storia di vaccinazione con virus attenuato vivo, se c'è un rischio di trasmissione
- Lavoro come operatore sanitario
- Lavoro a contatto con animali (per escludere il rischio di trasmissione di infezioni zoonotiche)
- Lavoro nel trattamento di depurazione delle acque reflue e nel trattamento di rifiuti organici, es. compostaggio.

1b) Patologie gastrointestinali, metaboliche, neurologiche

Storia di sindrome dell'intestino irritabile, malattie infiammatorie croniche intestinali, stipsi cronica funzionale, morbo celiaco, altri disturbi gastro intestinali cronici

- Storia di malattie autoimmuni croniche e sistemiche con coinvolgimento gastrointestinale
- Storia o rischio elevato di cancro gastrointestinale (incluse poliposi)
- Comparsa recente di diarrea o ematochezia
- Storia di patologie neurologiche o psichiatriche
- Sovrappeso e obesità (indice di massa corporea > 25)

1c) Farmaci

- Recente (<3 mesi) di esposizione ad antibiotici, immunosoppressori, chemioterapici
- Terapia occasionale o continuativa con inibitori della pompa protonica effettuata nei 3 mesi precedenti

I soggetti risultati idonei al suddetto questionario dovranno eseguire un pannello di esami bioumorali su siero e feci. La maggioranza di tali esami è consigliata per ogni potenziale donatore, mentre alcuni esami sono consigliati per condizioni specifiche, a giudizio del medico.

2. Screening tramite esami bioumorali (siero e feci) dei soggetti risultati idonei al questionario

Gli esami bioumorali dovrebbero essere eseguiti al massimo 4 settimane prima della donazione.

2a) Esami generali

Sangue

- test per HIV, HBV e HCV mediante la tecnica per l'amplificazione degli acidi nucleici (NAT)

Sierologia per agenti infettivi (tutti gli esami devono essere negativi):

- HAV IgM
- HBsAg
- anti-HBcAg (totale e IgM)
- HCV Ab

- HIV-1 e HIV-2 Ab/Ag
- HEV IgM
- *Treponema pallidum* Ab
- CMV Ab IgM
- EBV Ab IgM
- *Entamoeba histolytica* Ab

Altri parametri: Emocromo, VES, PCR, glicemia, albumina, creatinina, elettroliti, transaminasi, bilirubina, γ GT, fosfatasi alcalina.

Feci (tutti i risultati devono essere negativi):

Patogeni batterici

- *C. difficile* tossinogenico (test molecolare)
- *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* (test colturale o molecolare)
- *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* VT-produttore, enteroaggregativo, enteropatogeno, enterotossigeno, *Vibrio cholera* (test molecolare)
- *Listeria monocytogenes* (test colturale)
- *H. pylori* (antigene fecale)
- patogeni multi-antibiotico-resistenti (Enterococchi vancomicina-resistenti, *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente, Gram negativi multiresistenti (Enterobatteri resistenti ai carbapenemi o produttori di ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai carbapenemi, *Acinetobacter* resistente ai carbapenemi) (test colturale)

Patogeni virali

- Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus e Sapovirus, (test molecolare)

Altri patogeni

- *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora cayatanensis*, *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis* (test molecolare)
- Uova, cisti e forme vitali di parassiti intestinali (esame coproparassitologico micro e macroscopico, con inclusione di *Isospora*, Microsporidi ed elminti)

Sangue occulto fecale

2b) Esami da effettuare in presenza di fattori di rischio

Sangue

- Sierologia per HTLV I e II
- Sierologia per *Strongyloides stercoralis*
- Sierologia per *Toxocara canis*

Feci

- Calprotectina fecale

3. Valutazione finale tramite questionario, **ricerca di SARS-CoV-2** e test molecolare rapido per i principali patogeni enterici sul campione fecale il giorno stesso della donazione

3a) Questionario

Un ulteriore questionario viene somministrato ai donatori il giorno stesso della donazione, per sincerarsi che non siano intervenuti, nell'intervallo fra l'acquisizione dei risultati e la donazione, eventi che potrebbero inficiare la procedura. È suggerito che tale questionario identifichi i seguenti punti:

- Comparsa di diarrea, nausea, vomito, dolore addominale, ittero, altri sintomi gastrointestinali
- Insorgenza di malattia, oppure, in generale, di febbre, mal di gola, linfadenopatie
- Uso di antibiotici o altri farmaci che possano alterare il microbiota intestinale (compresi gli inibitori di pompa protonica)
- Assunzione di sostanze potenzialmente nocive
- Nuovi partner sessuali, comportamenti sessuali ad alto rischio, viaggi all'estero (in particolare in ambienti tropicali), contatti con sangue umano
- Comparsa di diarrea tra le persone con cui si è frequentemente a contatto nel quotidiano

3b) **Ricerca di SARS-CoV-2 e test molecolare rapido per i principali patogeni enterici**

Il giorno stesso della donazione va effettuata la ricerca di SARS-CoV-2 sulle secrezioni respiratorie (tamponi oro o rino-faringeo) e sul campione fecale tramite real time Polymerase Chain Reaction (qPCR).

Deve essere inoltre eseguito il test molecolare rapido sul campione fecale per i principali patogeni enterici.

I soggetti che hanno superato tutte le fasi di valutazione e di controllo (compresi gli esami biochimici eseguiti al massimo 4 settimane prima della donazione) possono essere arruolati come donatori.

Per donazioni successive, se non vi sono cambiamenti nella salute dei donatori e non sono intervenuti accadimenti specifici, gli esami sul sangue e sulle feci possono essere considerati validi fino a 8 settimane dopo la prima donazione.

Dopo tale periodo tutte le analisi previste per la prima donazione vanno ripetute. La ripetizione di alcune analisi sierologiche potrebbe non essere necessaria in dipendenza dei risultati ottenuti nelle precedenti analisi. In ogni caso il test molecolare rapido va ripetuto a ogni donazione.

Prima della donazione, è necessario fornire adeguate informazioni al donatore e deve essere acquisito il consenso informato del donatore e il consenso al trattamento dei dati personali come previsto dalla normativa vigente sulla privacy.

METODOLOGIA PROCEDURALE E VIA DI SOMMINISTRAZIONE

Prima del trattamento è necessario che il paziente sia informato adeguatamente sulle procedure e che fornisca il suo consenso.

Terapia antibiotica pre-FMT

I pazienti con rCDI devono essere trattati con vancomicina o fidaxomicina almeno per 3 giorni prima della procedura di trapianto. Tali antibiotici devono essere interrotti 12-48 ore prima dell'infusione fecale. In caso di emergenza, e in caso di pronta disponibilità del materiale fecale, tale terapia antibiotica può essere evitata.

Preparazione intestinale dei riceventi

I riceventi sono preparati con lavaggio intestinale con polietilen glicole (PEG) prima della procedura di trapianto, quando essa viene effettuata sia tramite colonscopia sia tramite il tratto digerente superiore.

Vie di somministrazione

Il materiale fecale deve essere infuso tramite clistere o colonscopia, quest'ultima come via preferita di somministrazione. In caso di infusione tramite clistere, il paziente deve essere istruito a trattenere il materiale infuso per almeno 30 minuti e mantenere la posizione supina al fine di ridurre al minimo l'impulso alla defecazione.

La colonscopia è capace di esplorare l'intero colon, e può quindi valutare le caratteristiche della patologia meglio dei clisteri. Tale aspetto è rilevante in particolare per l'identificazione della colite pseudomembranosa, segno endoscopico di colite severa, la quale è un fattore prognostico negativo per la risoluzione dell'infezione dopo infusione singola, pertanto dovrebbe essere trattata con infusioni fecali multiple.

In caso di somministrazione tramite colonscopia, il materiale fecale dovrebbe essere infuso nel colon destro; in caso di colite severa, le feci possono essere infuse anche nel colon sinistro, per motivi di sicurezza.

In condizioni cliniche particolari, qualora non sia possibile utilizzare la suddetta via di somministrazione si può ricorrere alla somministrazione tramite il tratto digerente superiore. In tal caso, i pazienti devono essere tenuti in posizione verticale a 45° rispetto al piano del letto per 4 ore dopo l'infusione per prevenire l'aspirazione del materiale fecale.

In caso di condizioni critiche del paziente, l'utilizzo di clisteri dovrebbe essere preferito.

Il campione finale di MFU da somministrare al paziente deve consistere di almeno 30g di feci diluiti in soluzione salina sterile.

In caso di fallimento o di recidiva dopo infusione fecale, la procedura può essere ripetuta a giudizio del clinico.

FOLLOW UP DEI PAZIENTI

Dai dati di letteratura, il FMT ha dimostrato di essere una procedura sicura, con un numero molto basso di effetti collaterali (e solitamente di lieve entità), anche nei pazienti immunocompromessi e nei pazienti critici. Gli eventi avversi a breve termine che accadono più comunemente dopo la procedura di trapianto di MFU

sono: diarrea, dolori addominali, stipsi, febbre. Eventi avversi gravi, quali batteriemia, perforazione intestinale, morte, sono molto rari.

Il paziente deve essere seguito nell'immediato periodo post-trapianto per valutare l'insorgenza di reazioni/eventi immediati. Successivamente il paziente deve essere seguito per almeno 8 settimane dopo la procedura di trapianto per valutare l'efficacia del trattamento e gli eventuali eventi avversi a breve termine.

Eventuali reazioni/eventi avversi gravi verificatisi nei pazienti devono essere segnalati al CNT da parte del centro FMT entro 48 ore.

Caso per caso deve essere valutata la frequenza dell'analisi del microbiota del paziente. Si ritiene utile una raccolta di campioni fecali a 7, 30 e 60 giorni dopo il trapianto per completare il follow-up clinico (diario sintomi, parametri di laboratorio), consentire la mappa (caratterizzazione) del microbiota intestinale del paziente e valutare l'attecchimento del microbiota donato.

Allegato 2

PREPARAZIONE DEL MATERIALE FECALE

Il materiale fecale da utilizzare per il FMT può essere preparato il giorno stesso della procedura e utilizzato a fresco oppure essere congelato e conservato.

Le operazioni di preparazione del MFU dal ricevimento del materiale donato fino al rilascio del prodotto finale disponibile per il trapianto devono essere documentate. Il laboratorio che prepara il MFU deve accertarsi che il contenitore con il materiale donato abbia un'etichetta che riporti le seguenti informazioni: codice del donatore, data e ora della donazione, identificazione del paziente.

Preparazione del materiale fecale fresco

1. Il tempo tra la donazione e il FMT non deve superare le 6 ore. È pertanto importante che le procedure di donazione, preparazione del MFU e FMT siano ben coordinate anche per consentire la definizione del profilo di microbiota del donatore e lo screening infettivologico sul donatore e sul materiale da infondere.
2. Per la preparazione del MFU deve essere utilizzato uno spazio dedicato secondo quanto previsto dal Programma Nazionale sul Trapianto di Microbiota Fecale umano (FMT).
3. Per proteggere i batteri anaerobi, il materiale deve essere lavorato il più velocemente possibile.
4. Dal momento della raccolta al momento della preparazione, il materiale fecale può essere conservato a temperatura ambiente (20°C–30°C).
5. Per ogni campione devono essere utilizzati un minimo di 30 g di feci diluiti in 150 ml soluzione salina sterile. Un campione di 5 grammi ca. deve essere conservato a -80° per futuri esami.
6. Il suddetto materiale fecale deve essere sospeso nella soluzione salina tramite agitatore o manualmente, e quindi filtrato attraverso garza sterile o analogo sistema di filtrazione (es. filtro di metallo sterilizzabile).

7. Devono essere utilizzati strumenti e dispositivi sterili di qualità, convalidati o espressamente certificati, ove possibile, marcati CE.
8. Durante la preparazione del campione, l'operatore deve indossare maschera facciale, guanti protettivi e camice come previsto. Le manipolazioni critiche devono essere effettuate sotto cappa a flusso laminare verticale.
9. Il materiale di lavorazione incluse le sacche per confezionare il prodotto finale devono essere sterili.
10. Il prodotto finale deve essere chiuso sigillato in un prima sacca munita di una etichetta che riporti almeno le stesse informazioni del materiale pervenuto dalla donazione. Sull'etichetta della seconda sacca, oltre alle informazioni indicate sulla prima devono essere aggiunti: la data e l'orario limite massimo per la somministrazione del prodotto e la temperatura di conservazione.
11. Il trasporto del prodotto così confezionato deve avvenire per mezzo di un contenitore che possa evitare il danneggiamento della sacca e gli sbalzi termici.

Preparazione del materiale fecale congelato

Il congelamento deve avvenire nel più breve tempo possibile, comunque non oltre 6 ore dalla donazione:

1. Per ogni campione devono essere utilizzati un minimo di 30 gr di feci da sospendere in 150 ml di soluzione salina sterile con glicerolo per uso umano al 10%.
2. Il prodotto deve essere omogenizzato e filtrato in maniera analoga a quanto avviene per il materiale fresco (punto 5 della preparazione del materiale fecale fresco).
3. Al prodotto filtrato vanno aggiunti soluzione salina sterile con glicerolo per uso umano al 10% per un volume finale di 150 ml.
4. Il prodotto finale deve essere messo in un criocontenitore sterile, etichettato chiaramente (codice donatore, data di raccolta e di preparazione, data di scadenza stabilita in base ad un protocollo di validazione del processo), congelato a -80°C e stoccato in modo da evitare la distribuzione prima dell'ottenimento dei risultati del test molecolare rapido.
5. Prima dell'infusione, la sospensione fecale deve essere scongelata a 37°C ed eventualmente diluita con soluzione salina fino ad ottenere il volume di sospensione desiderato (250 ml).
6. Per il confezionamento e l'etichettatura ed il trasporto seguire quanto descritto sopra ai punti 9 e 10 per la preparazione del materiale fecale fresco.
7. Dopo lo scongelamento il campione fecale non può essere ricongelato.
8. Il trapianto deve avvenire entro 6 ore dallo scongelamento.

Per saggiare la validità del prodotto scongelato, valutando anche i rapporti relativi fra le varie specie all'interno del congelato, è necessario determinare il numero delle CFU/ml delle specie anaerobiche e aerobiche e di confrontarne i valori con quelli del materiale fecale fresco (vedi "Laboratory Handling Practice for Faecal Microbiota Transplantation" Quaranta G. et al, J Appl Microbiol, 2020)