Rassegna

Review

Terapia delle infezioni da *Clostridium difficile* con trapianto di feci: controlli microbiologici sul donatore

Treating Clostridium difficile *infection with faecal transplantation: donor microbiological testing*

Giuseppe Russello, Flavia Brovarone, Marcellino Bardaro, Edoardo Carretto

S.C. Microbiologia, IRCCS "Arcispedale Santa Maria Nuova", Reggio Emilia, Italy

INTRODUZIONE

Le diverse patologie associate all'infezione da *Clostridium difficile* (*C. difficile associated diseases*, CDAD o *C. difficile infections*, CDI) sono in costante aumento nel mondo occidentale, e in particolare sono in costante aumento le forme a maggiore gravità, sostenute da particolari ceppi appartenenti a specifici cloni quali, ad esempio, quelli appartenenti al *North American pulsed-field gel electrophoresis type 1*, corrispondenti al gruppo BI dopo analisi con enzimi di restrizione o al PCR-ribotipo 027 (ceppi NAP1/BI/027) [1]. Ad esempio, negli Stati Uniti la prevalenza di CDI dal 1996 al 2003 è raddoppiata e nel 2010 l'incidenza è stata stimata pari a 500.000 casi per anno, con un tasso di mortalità annua che in alcune casistiche raggiungeva il 4% dei pazienti [1-3]. Analoghe modificazioni nell'epidemiologia sono state riscontrate in Europa, Taiwan, Corea e Canada [4-7].

Il farmaco di prima scelta nel trattamento delle forme lievi-moderate di CDI continua a essere il metronidazolo, mentre la vancomicina è la molecola di prima scelta in donne in gravidanza, nei soggetti intolleranti al metronidazolo o nelle forme di CDI gravi o complicate [8]. Indipendentemente dalle linee guida dell'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) occorre segnalare come alcuni Autori abbiano riportato un crescente aumento di fallimenti terapeutici in corso di trattamento con metronidazolo, suggerendo l'impiego della vancomicina come farmaco di prima scelta [9]. Recentemente si sono rese disponibili altre risorse terapeutiche, quali la fidaxomicina, la cui reale efficacia è ancora oggetto di valutazione [10].

Il fallimento terapeutico viene considerato coma la ripresa di malattia da parte del paziente. Alcuni studi indicano come il tasso di *relapse* sia stimabile in un 15-30% dei soggetti con prima infezione da *C. difficile* e che ulteriori recidive si verifichino nel 65% dei soggetti dopo un secondo episodio di CDI [1]. Alla base di questi episodi successivi all'infezione primaria possono esserci fenomeni di reinfezione con ceppi differenti o, più frequentemente, la mancata eradicazione del ceppo originario [1, 11]. In alcuni pazienti le infezioni ricorrenti possono diventare dei veri processi morbosi cronici in cui le recidive possono ripetersi anche per anni. Soggetti con infezioni recidivanti presentano sicuramente alterazioni nella risposta immune, ma terapie immunologiche con immunoglobuline hanno fornito risultati poco chiari e sono ancora oggetto di valutazione [12, 13].

Sono stati descritti approcci alternativi basati sul possibile ripristino del normale equilibrio della flora batterica intestinale attraverso l'utilizzo di probiotici (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*

Corresponding author
Edoardo Carretto
E-mail: edoardo.carretto@asmn.re.it

e *Saccharomyces boulardii*); tuttavia, la loro efficacia è ancora oggi da definirsi in quanto i dati presenti in letteratura sono contrastanti [14].
Uno degli approcci "storici" alla terapia della diarree croniche è il trapianto fecale (TF), noto anche come batterioterapia fecale o infusione microbica umana; il primo utilizzo di questa tecnica risale al 1958 [15]. Questo trattamento è stato utilizzato in modo non sistematico da diversi gruppi. Soltanto negli ultimi anni sono stati pubblicati numerosi studi, la maggioranza dei quali, tuttavia, relativa a piccoli numeri di pazienti che avevano in comune un buon *outcome* dei soggetti trattati, specialmente nei casi di infezioni recidivanti con insuccessi alla terapia tradizionale. Una revisione sistematica dei casi di pazienti con CDI recidivante trattata con TF ha evidenziato un successo terapeutico superiore al 90% [16, 17]. Brandt e coll. hanno dimostrato, in uno studio clinico multicentrico pubblicato nel 2012, come il TF presentasse percentuali di guarigione primaria del 91% (definita come risoluzione dei sintomi senza recidive entro i 90 giorni dal TF) e percentuali di cura secondaria del 98% (definita come risoluzione dei sintomi dopo un'ulteriore somministrazione di vancomicina associata o meno ad un ulteriore trapianto fecale) [18].
Il TF prevede l'instillazione di una sospensione liquida fecale nella parte superiore del tratto gastrointestinale tramite sondino naso-gastrico o a livello del colon per mezzo di un colonscopio o di un catetere rettale.
L'esatto ruolo del TF nel trattamento di una CDI rimane ancora ignoto. Il tratto gastrointestinale è un ambiente caratterizzato da una comunità, stabile e complessa, di microorganismi che coesistono in simbiosi con l'ospite. La flora intestinale umana è costituita da diverse migliaia di specie batteriche e da più di 10^{14} batteri, la maggior parte dei quali risiede a livello del colon, coinvolti in diversi processi quali la sintesi di vitamine, la fermentazione dei carboidrati ingeriti, il metabolismo della bile e degli ormoni [19]. Essi inoltre costituiscono un ecosistema microbico che non permette la colonizzazione di microrganismi patogeni per meccanismo di competizione ("resistenza alla colonizzazione") e, infine, influenzano lo sviluppo e la maturazione del sistema immunitario attraverso interazioni con l'epitelio intestinale [20, 21]. Può essere ipotizzabile che il TF possa determinare la ricolonizzazione intestinale, un recupero delle funzioni biologiche del microbiota intestinale (ridotte dopo terapia antibiotica), permettendo una risoluzione della CDI e prevenendo altresì una successiva ricolonizzazione da parte del *C. difficile* [22].
Bakken et al. considerano indicazioni al TF [1]:

- le infezioni ricorrenti da *C. difficile* lievi o moderate (un minimo di tre episodi di gravità lieve-media recidivanti nonostante una terapia antibiotica di almeno 6-8 settimane), oppure gravi (un minimo di due episodi che hanno richiesto l'ospedalizzazione del paziente);
- le infezioni moderate che non rispondono a terapia standard (vancomicina) somministrata per almeno una settimana;
- le infezioni gravi, o con decorso fulminante, in assenza di risposta alle terapie standard somministrate per almeno 48 ore.

Scelta del donatore
Non ci sono criteri univoci per la scelta del donatore; in generale, c'è consenso sul fatto che il donatore ideale possa essere il partner o un familiare del soggetto con infezione. Ciò perché questi soggetti solitamente condividono fattori di rischio e quindi la potenziale trasmissione di agenti infettivi è ridotta [16, 22, 23]. Nonostante un contatto costante del ricevente con il donatore aumenti la possibilità che quest'ultimo possa essere portatore di un ceppo di *C. difficile*, Bakken et al. sostengono che il trapianto di feci contenenti *C. difficile* non necessariamente determina il fallimento della procedura [1].
I familiari stretti presentano inoltre il vantaggio "teorico" di condividere un elevato numero di specie microbiche intestinali con il ricevente, aumentando in tal modo le probabilità che particolari elementi del sistema immunitario intestinale del donatore possano essere tollerati più facilmente dal ricevente [15, 24, 25].
Sebbene non siano stati descritti eventi avversi attribuibili direttamente al trapianto fecale, un appropriato *screening* del donatore è indispensabile per evitare la trasmissione di patologie al ricevente. I criteri di esclusione possono essere distinti in criteri assoluti e relativi [1]. Il momento anamnestico è assai importante. Dovranno essere esclusi soggetti con infezioni da HIV, HBV e HCV nonché gli individui a rischio per queste infezioni, ad esempio tossicodipendenti o soggetti con rapporti sessuali multipli. Sono altresì da considerare criteri di esclusione: storia di pregressa carcerazione, esecuzione di tatuaggi o *piercing* nei sei mesi precedenti o viaggi in aree geografiche endemiche per infezioni gastrointestinali o a elevato rischio per

diarrea del viaggiatore nei sei mesi precedenti. Altri criteri di esclusione sono relativi alla presenza di comorbilità sia a carico all'apparato gastrointestinale che di altri organi o apparati; ad esempio, andrebbero esclusi pazienti con processi infiammatori intestinali [morbo di Crohn, rettocolite ulcerosa], sindrome dell'intestino irritabile, alterazioni idiopatiche dell'alvo [stipsi o diarrea], tumori gastrointestinali o presenza di polipi intestinali. Da ultimo, ai fini dell'esclusione, potrebbero essere considerati l'uso di antibiotici nei tre mesi precedenti, l'immunosoppressione iatrogena, nonché l'assunzione di sostanze alle quali il soggetto donatore è allergico.

Sebbene non costituiscano criteri assoluti di esclusione, infine, dovranno essere considerati criticamente altri fattori, quali la pregressa chirurgia addominale maggiore, la presenza di sindromi metaboliche, di patologie autoimmuni o atopiche, i fattori di rischio per malattia di Creutzfeldt-Jakob e sue varianti e le patologie neurologiche o croniche.

Dovranno essere esclusi, ovviamente, i soggetti con eventi infettivi acuti in atto. Una volta selezionato il donatore, la procedura dovrà essere completata entro e non oltre le due settimane dall'esecuzione dello *screening*.

A nostra conoscenza, non ci sono in letteratura indicazioni relative alla possibilità di donatori multipli; questa scelta dovrebbe essere a nostro avviso da proscriversi, poiché renderebbe necessari *screening* microbiologici su un maggior numero di pazienti, incrementando significativamente i costi in assenza di una evidente necessità.

Test di screening sul donatore

Il trapianto fecale deve essere considerato come una prestazione terapeutica relativa a utilizzo e infusione di tessuti e cellule umane. In questo ambito, dovranno essere eseguiti una serie di test di *screening* microbiologici precedenti l'infusione per garantire il ricevente dalla potenziale trasmissione di agenti infettivi. Dovranno essere seguite le normative previste dagli organi di controllo per gli *screening* di tali materiali, come ad esempio quelle previste dalla *Food and Drug Administration* [http:// www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm073964.htm] e dalla Comunità Europea, determinazione 2006/17/EU [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:038:0040:0052:IT:PDF]. Basandoci su queste linee guida e sull'analisi di pubblicazioni che riportassero i protocolli di *screening* pre-donazione abbiamo di seguito riportato le indagini relative alla prevenzione della trasmissione di agenti trasmissibili [1, 26-30].

Le feci del donatore dovranno essere analizzate microbiologicamente, effettuando le seguenti indagini:

- valutazione della presenza delle tossine di *C. difficile* mediante test di biologia molecolare; se non disponibile, eseguire ricerca dell'antigene e della presenza di tossine A e B mediante saggio immunoenzimatico (EIA);
- ricerca di patogeni enterici (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157:H7); alcuni Autori estendono la ricerca anche a *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Candida albicans* [26];
- ricerca degli antigeni fecali di *Giardia* e di *Cryptosporidium*;
- ricerca mediante colorazione di Giemsa di *Cyclospora* e *Isospora*, nonché di *Cryptosporidium* se non è possibile la ricerca di antigeni fecali;
- ricerca di uova e parassiti intestinali tramite indagini dirette e coproparassitologiche [inclusi *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis* ecc.;
- ricerca dell'antigene fecale di *Helicobacter pylori*;
- ricerca in biologia molecolare di *Rotavirus*, *Adenovirus*, *Norovirus*; laddove non disponibile, eseguire ricerca degli antigeni per questi virus mediante saggio immunoenzimatico (EIA).

Dovrà inoltre essere valutato lo stato sierologico del donatore per i seguenti patogeni:

- HIV-1 e HIV-2;
- HAV IgM;
- HBsAg, anti-HBc (IgG e IgM) e anti-HBs;
- HCV Ab;
- sierologia per lue con test di *screening* seguito, in caso di positività, da test reaginico e treponemico (RPR e TPPA);
- alcuni autori suggeriscono la valutazione dello stato anticorpale per HTLV-I e HTLV-II, nonché per Cytomegalovirus ed EBV [26, 27].

A nostro parere, seppure non riportato esplicitamente nella letteratura, anche quella più recente, da noi consultata, stanti i problemi della diffusione di germi multiresistenti e il fatto che il ricevente è spesso un individuo immunocom-

promesso, potrebbe essere utile l'esecuzione di uno *screening* per microrganismi multiresistenti agli antibiotici (MDR, *multidrug resistant*) (quali enterobatteri produttori di carbapenemasi, *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* MDR) su tampone rettale o sulle feci del soggetto donatore.
La risoluzione della sintomatologia è il principale obiettivo del trattamento e l'assenza di recidive entro 8 settimane è l'obiettivo secondario della procedura. Dettagli tecnici quali preparazione del ricevente o del donatore, preparazione del campione, tempi di utilizzo o conservazione, modalità di somministrazione e volumi e controllo del ricevente dopo la somministrazione esulano dagli ambiti di questo articolo e si rimandano i lettori alla letteratura specifica (ad esempio [1]).

CONCLUSIONI

Le infezioni da *Clostridium diffcile* sono divenute un importante problema di Sanità Pubblica. Negli ultimi anni si è infatti assistito, a livello mondiale, a un generale incremento dell'incidenza, delle forme gravi e della mortalità attribuibile alle CDI. Il problema è anche economico: dati dell'*European Center for Disease Control* riportano come in Inghilterra la spesa media per paziente affetto da una CDI sia di 5000-15000 euro (http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/healthcare-associated_infections/clostridium_difficile_infection/pages/index.aspx). Negli Stati Uniti la spesa media è stimata essere di 2500-3700 dollari con un costo attribuibile per paziente, nei 6 mesi successivi la diagnosi, di 5000-7000 dollari [31].
La gestione delle forme gravi e ricorrenti, specialmente in soggetti anziani o immunocompromessi, rimane tutt'oggi una sfida clinica aperta. In questo ambito diversi autori hanno mostrato come la terapia fecale possa essere un'alternativa terapeutica efficace in pazienti non responsivi alle terapie tradizionali [16, 18, 23, 24, 32-34]. Nonostante questi promettenti risultati, ulteriori studi appaiono necessari per valutare la preparazione del campione, le corrette modalità di instillazione, l'utilizzo di eventuali adiuvanti (probiotici o prebiotici) al termine della terapia che portino alla formulazione di una procedura standardizzata.
Sarà inoltre necessario giungere a un consensus relativo alle caratteristiche cliniche relative ai pazienti che potranno beneficiare del TF e valutarne gli effetti a lungo termine in studi clinici correttamente disegnati [30, 35].
Relativamente agli aspetti microbiologici, le indagini proposte sono da considerarsi imprescindibili in relazione alla tipologia di procedura, stanti le normative legali per questo tipo di procedure. L'esecuzione di queste indagini deve essere previamente concordata con il laboratorio di Microbiologia e dovrà essere tenuta tracciabilità degli *screening* eseguiti. Un dato di interesse è che, a nostra conoscenza, in letteratura non esistono ad oggi studi di analisi costo-beneficio della procedura. L'esecuzione dello *screening* microbiologico sul donatore dovrà essere sicuramente computato per la corretta analisi dei costi.
Accanto alle indagini di *screening* tradizionali e proposti dalla letteratura, cui ci siamo rifatti, a nostro avviso sarebbe utile implementare i controlli relativi al possibile stato di colonizzazione da microrganismi multiresistenti dei soggetti donatori, poiché l'acquisizione di resistenze dei Gram negativi è oggetto di allarme nella comunità medica internazionale e ha risvolti di grande attualità nel nostro paese.
Un ulteriore aspetto che andrà puntualizzato in un prossimo futuro potrebbe essere relativo alla possibile trasmissione di microrganismi ancora sconosciuti, che quindi possono non essere rilevati con i normali test di *screening*. Recenti sviluppi nella culturomica e nella metagenomica hanno permesso di riscontrare un elevatissimo numero di specie batteriche non identificate prima, il cui ruolo è ancora del tutto ignoto [36]. Peraltro è oggi accertato il coinvolgimento del microbiota in alcuni processi morbosi cronici [morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa], sindromi dismetaboliche, neoplasie e obesità, ma sostanziali variazioni individuali nel determinismo patologico possono essere supposte [37].

Keywords: *Clostridium difficile*, faecal transplantation, recurrent infection, donor, microbiological screening.

RIASSUNTO

Le infezioni sostenute da *Clostridium difficile* sono in continuo aumento in tutto il mondo, come pure le forme gravi associate a caratteristici cloni con particolare virulenza. Costituiscono esperienze comuni i riscontri di episodi ricorrenti nello stesso paziente, con una non adeguata risposta alle terapie farmacologiche tradizionali quali quelle con metronidazolo e vancomicina. Alcune casistiche riportano altresì una mortalità in aumento in pazienti con queste infezioni. Recentemente si è registrata una rivalutazione della pratica terapeutica che prevede il trapianto di materiale fecale da un donatore al paziente con infezione grave da *C. difficile*. Questa rassegna ha lo scopo di focalizzare, in maniera sintetica, informazioni e indicazioni su questo tipo di terapia e sulle indagini microbiologiche che devono essere eseguite sul donatore desunte dalle linee guida della letteratura.

SUMMARY

Clostridium difficile *associated diseases (CDADs) or* C. difficile *infections (CDIs) are increasing in incidence, severity and mortality. Among patients with CDIs, those with recurrent disease are less responsive to traditional therapies with commonly used drugs, such as metronidazole and vancomycin. Faecal microbiota transplantation is an old therapeutic procedure that has been recently proposed as a safe and effective treatment for CDI patients non-responsive to antibiotic therapy. In this paper we discuss the microbiological procedures that should be performed on faecal microbiota donors.*

BIBLIOGRAFIA

[1] Bakken J.S., Borody T., Brandt L.J., et al. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 9, 1044-1049, 2011.

[2] McDonald L.C., Owings M., Jernigan D.B. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 409-415, 2006.

[3] Freeman J., Bauer M.P., Baines S.D., et al. The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 23, 529-549, 2010.

[4] Bauer M.P., Notermans D.W., van Benthem B.H., et al. *Clostridium difficile* infection in Europe, a hospital-based survey. *Lancet* 377, 63-73, 2011.

[5] Lee Y.C., Wang J.T., Chen A.C., et al. Changing incidence and clinical manifestations of *Clostridium difficile*-associated diarrhea detected by combination of glutamate dehydrogenase and toxin assay in Northern Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 45, 287-295, 2012.

[6] Shin B.M., Kuak E.Y., Yoo H.M., et al. Multicentre study of the prevalence of toxigenic *Clostridium difficile* in Korea, results of a retrospective study 2000-2005. *J. Med. Microbiol.* 57, 697-701, 2008.

[7] Eggertson L. *C. difficile*, by the numbers. *CMAJ* 171, 1331-1332, 2004.

[8] Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S., et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults, 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America [SHEA] and the infectious diseases society of America [IDSA]. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 31, 431-455, 2010.

[9] Zar F.A., Bakkanagari S.R., Moorthi K.M., Davis M.B. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin. Infect. Dis.* 45, 302-307, 2007.

[10] Gerding D.N., Johnson S. Management of *Clostridium difficile* infection, thinking inside and outside the box. *Clin. Infect. Dis.* 51, 1306-1313, 2010.

[11] Tang-Feldman Y., Mayo S., Silva Jr J., Jr., Cohen S.H. Molecular analysis of *Clostridium difficile* strains isolated from 18 cases of recurrent clostridium difficile-associated diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 41, 3413-3414, 2003.

[12] Kyne L., Warny M., Qamar A., Kelly C.P. Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 357, 189-193, 2001.

[13] O'Horo J., Safdar N. The role of immunoglobulin for the treatment of *Clostridium difficile* infection, a systematic review. *Int. J. Infect. Dis.* 13, 663-667, 2009.

[14] Pillai A., Nelson R. Probiotics for treatment of *Clostridium difficile*-associated colitis in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD004611, 2008.

[15] Eiseman B., Silen W., Bascom G.S., Kauvar A.J. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 44, 854-859, 1958.

[16] Gough E., Shaikh H., Manges A.R. Systematic re-

view of intestinal microbiota transplantation [fecal bacteriotherapy] for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin. Infect. Dis.* 53, 994-1002, 2011.
[17] Kelly C.P. Fecal microbiota transplantation - an old therapy comes of age. *N. Engl. J. Med.* 368, 474-475, 2013.
[18] Brandt L.J., Aroniadis O.C., Mellow M., et al. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am. J. Gastroenterol.* 107, 1079-1087, 2012.
[19] Qin J., Li R., Raes J., et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59-65, 2010.
[20] Robinson C.J., Bohannan B.J., Young V.B. From structure to function, the ecology of host-associated microbial communities. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 453-476, 2010.
[21] Sharma R., Young C., Neu J. Molecular modulation of intestinal epithelial barrier, contribution of microbiota. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010, 305879, 2010.
[22] Borody T.J., Warren E.F., Leis S.M., et al. Bacteriotherapy using fecal flora, toying with human motions. *J. Clin. Gastroenterol.* 38, 475-483, 2004.
[23] Rohlke F., Surawicz C.M., Stollman N. Fecal flora reconstitution for recurrent *Clostridium difficile* infection, results and methodology. *J. Clin. Gastroenterol.* 44, 567-570, 2010.
[24] Garborg K., Waagsbo B., Stallemo A., Matre J., Sundoy A. Results of faecal donor instillation therapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Scand. J. Infect. Dis.* 42, 857-861, 2010.
[25] Hamilton M.J., Weingarden A.R., Sadowsky M.J., Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am. J. Gastroenterol.* 107, 761-767, 2012.
[26] Landy J., Al-Hassi H.O., McLaughlin S.D., et al. Review article, faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 34, 409-415, 2011.
[27] van Nood E., Vrieze A., Nieuwdorp M., et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N. Engl. J. Med.* 368, 407-415, 2013.
[28] Borody T.J., Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 9, 88-96, 2012.
[29] Weissman J.S., Coyle W. Stool transplants, ready for prime time? *Curr. Gastroenterol. Rep.* 14, 313-316, 2012.
[30] Guo B., Harstall C., Louie T., Veldhuyzen van Zanten S., Dieleman L.A. Systematic review, faecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 35, 865-875, 2012.
[31] Dubberke E.R., Gerding D.N., Classen D., et al. Strategies to prevent *Clostridium difficile* infections in acute care hospitals. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29 Suppl 1, S81-92, 2008.
[32] Khoruts A., Dicksved J., Jansson J.K., Sadowsky M.J. Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J. Clin. Gastroenterol.* 44, 354-360, 2010.
[33] Silverman M.S., Davis I., Pillai D.R. Success of self-administered home fecal transplantation for chronic *Clostridium difficile* infection. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 8, 471-473, 2010.
[34] Yoon S.S., Brandt L.J. Treatment of refractory/recurrent *C. difficile*-associated disease by donated stool transplanted via colonoscopy, a case series of 12 patients. *J. Clin. Gastroenterol.* 44, 562-566, 2010.
[35] Kassam Z., Lee C.H., Yuan Y., Hunt R.H. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection, systematic review and meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 108, 500-508, 2013.
[36] Lagier J.C., Armougom F., Million M., et al. Microbial culturomics, paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 1185-1193, 2012.
[37] Festi D., Schiumerini R., Birtolo C., et al. Gut microbiota and its pathophysiology in disease paradigms. *Dig. Dis.* 29, 518-524, 2011.