

·论著·

菌液保存时间对菌群移植治疗慢传输型便秘疗效的影响



扫码阅读电子版

林志亮¹ 陈启仪¹ 田宏亮¹ 杨波¹ 赵笛¹ 叶晨¹ 张雪莹^{1,2} 马春联¹ 秦环龙^{1,2}
李宁¹

¹同济大学附属第十人民医院结直肠病专科 肠道微生态治疗中心,上海 200072;

²同济大学肠道疾病研究所,上海 200072

通信作者:李宁,Email:liningr@vip.sina.com;秦环龙,Email:hlong_qin@live.com

【摘要】 目的 探讨不同菌液保存时间对菌群移植(FMT)的疗效和并发症的影响。方法 采用回顾性队列研究方法,回顾性收集2017年8月至2019年10月期间,于同济大学附属第十人民医院肠道微生态治疗中心自愿接受菌群移植治疗的483例慢传输型便秘患者的临床资料。根据FMT所用菌液保存时间进行分组,分为新鲜菌液组(菌液制备完成后0~4℃冷藏6h内,29例)、菌液保存1周组(-80℃冷冻保存1周,187例)、菌液保存1个月组(-80℃冷冻保存1周至1个月,121例)、菌液保存3个月组(-80℃冷冻保存1~3个月,89例)、菌液保存6个月组(-80℃冷冻保存3~6个月,38例)和菌液保存12个月组(-80℃冷冻保存6~12个月,19例)。比较各组间FMT治疗后1周和1月的每周完全自主排便次数、Wexner便秘评分、胃肠生活质量(GIQLI)评分、FMT治疗满意评分及相关不良反应。结果 不同菌液保存时间分组的慢传输型便秘患者基线资料比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。治疗1个月后,全体患者总体排便次数为(3.83±1.22)次/周,Wexner便秘评分为(6.74±3.56)分,GIQLI评分为(108.76±15.38)分,临床治愈率为57.8%(279/483),临床改善率为66.3%(320/483),治疗满意度为(3.85±0.93)分。全组病例在FMT治疗及随访期间均未出现严重的FMT相关并发症,无死亡病例。出现FMT相关不良反应事件共115例(23.8%),包括恶心25例(5.2%)、呕吐13例(2.7%)、腹泻21例(4.3%)、腹痛16例(3.3%)、腹胀33例(6.8%)、咽喉部疼痛56例(11.6%)、发热16例(3.3%),均经对症处理后症状缓解。不同菌液保存时间各分组之间,FMT治疗前以及治疗后1周和1个月患者的排便次数、Wexner便秘评分、GIQLI评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);各组间,治疗后1周和1个月的患者临床治愈率、临床改善率以及治疗满意度的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。各组间,FMT治疗后患者总体并发症及各类型并发症的差异亦均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结论 FMT治疗慢传输型便秘安全有效。新鲜菌液样本或-80℃冷冻保存1年内的菌液样本均可安全地应用于FMT治疗慢传输型便秘,短期随访疗效稳定,且无严重不良反应。

【关键词】 菌群移植; 慢传输型便秘; 菌液保存时间

基金项目:国家自然科学基金(81670493);同济大学附属第十人民医院临床中心建设专项经费(04.99.18001)

DOI:10.3760/cma.j.cn.441530-20200414-00207

Effect of fecal bacterial preservation time on the outcomes of fecal microbiota transplantation for slow transit constipation

Lin Zhiliang¹, Chen Qiyi¹, Tian Hongliang¹, Yang Bo¹, Zhao Di¹, Ye Chen¹, Zhang Xueying^{1,2}, Ma Chunlian¹, Qin Huanlong^{1,2}, Li Ning¹

¹ Department of Colorectum, Intestinal Microenvironment Treatment Center, the Tenth People's Hospital, Medical School of Tongji University, Shanghai 200072, China; ² Institute for Intestinal Diseases, Medical School of Tongji University, Shanghai 200072, China

Corresponding authors: Li Ning, Email: liningr@vip.sina.com; Qin Huanlong, Email: hlong_qin@live.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of different fecal bacterial preservation time on the efficacy and complications of FMT. **Methods** A retrospective cohort study was carried out. Clinical data

of 483 patients with slow transit constipation undergoing voluntary FMT at Intestinal Microecology Diagnosis and Treatment Center from August 2017 to October 2019 were retrospectively collected. According to the storage time of fecal bacterial samples used in FMT treatment, the cases were divided into fresh bacterial solution ($n=29$), bacterial solution stored at -80°C for 1 week ($n=187$), 1 month ($n=121$), 3 months ($n=89$), 6 months ($n=38$), and 12 months ($n=19$). The total number of complete bowel movement, Wexner constipation score, gastrointestinal quality of life index (GIQLI), FMT satisfaction score and related adverse reactions were summarized and compared among groups 1 week and 1 month after FMT treatment.

Results There were no statistically significant differences in the baseline data of patients among different bacterial solution storage time (all $P>0.05$). After 1 month of treatment, the overall frequency of defecation of all the patients was (3.83 ± 1.22) times / week, Wexner constipation score was (6.74 ± 3.56) points, GIQLI score was (108.76 ± 15.38) points, clinical cure rate was 57.8% (279/483). The improvement rate was 66.3% (320/483), and the treatment satisfaction was (3.85 ± 0.93) points. No severe FMT-associated complication and death were observed during treatment and follow-up period. FMT-related adverse events occurred in 115 cases (23.8%), including nausea in 25 cases (5.2%), vomiting in 13 (2.7%), diarrhea in 21 (4.3%), abdominal pain in 16 (3.3%), abdominal distension in 33 (6.8%), sore throat in 56 (11.6%) and fever in 16(3.3%), all of which relieved after symptomatic treatment. There were no statistically significant differences in the number of defecations, Wexner constipation scores, and GIQLI scores before FMT, 1 week and 1 month after FMT treatment among different bacterial solution storage groups (all $P>0.05$). Differences of clinical cure rate, clinical improvement rate, and treatment satisfaction of patients 1 week and 1 month after treatment were not statistically significant (all $P>0.05$). Among the groups, differences in the overall complications and types of complications after FMT treatment were not statistically significant (all $P>0.05$). **Conclusions** FMT is safe and effective in the treatment of slow transit constipation. Fresh fecal bacterial samples or fecal bacterial samples frozen at -80°C for 1 year can be safely applied to FMT for the treatment of slow transit constipation, with stable short-term efficacy and without serious adverse reactions.

【Key words】 Fecal microbiota transplantation; Slow transit constipation; Fecal bacterial preservation time

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81670493); Special Fund for the Construction of the Clinical Center of Tenth People's Hospital of Tongji University (04.99.18001)

DOI:10.3760/cma.j.cn.441530-20200414-00207

菌群移植(fecal microbiota transplantation, FMT)是将健康人的粪便菌群以某种途径移植到患者肠道内,通过其中的功能菌群在患者体内重建新的、具有多样性的肠道菌群,以达到治疗肠道内外疾病的目的^[1]。目前FMT已被《临床医学指南》推荐用于治疗复发性艰难梭菌感染(*Clostridium difficile* infection, CDI)^[2]。同时很多研究也表明,FMT在治疗肠易激综合征^[3]、炎性肠病^[4]、便秘^[5]以及代谢综合征^[6]等疾病中具有潜在的治疗价值。虽然FMT治疗推荐使用新鲜粪菌液,但在实际临床实施过程中常常无法随时随地获取新鲜样本,为了延长菌液的安全有效期限或进行异地治疗,临床上通常将粪菌 -80°C 冷冻保存。Fouhy等^[7]研究发现,用于治疗CDI感染的粪菌微生物在10%甘油中冷冻储存6个月仍能保持安全性和临床功效。Jiang等^[8]对患

者使用相同供体进行FMT治疗时,发现与新鲜菌液相比,冷冻菌液的有效性相似,而冻干粪菌的功效略低。为了进一步探讨菌液保存时间在FMT治疗过程中对疗效的影响,现收集2017年8月至2019年10月期间接受FMT治疗的慢传输型便秘病例患者进行资料回顾性分析。

资料与方法

一、研究对象

采用回顾性队列研究方法。病例纳入标准:(1)依据罗马Ⅲ标准^[9]诊断为便秘,并经结肠传输试验证实存在慢传输型便秘;(2)近6个月内对饮食生活干预、泻剂、生物反馈及灌肠等治疗疗效欠佳;(3)年龄 >18 岁;(4)体质指数(body mass index, BMI)为 $18.5\sim 25.0\text{ kg/m}^2$ 。病例排除标准:(1)存在巨结肠

改变; (2) 单纯出口梗阻型便秘; (3) 继发性便秘(内分泌、药物、代谢或神经性疾病); (4) 既往有腹部手术史(除外阑尾切除术、胆囊切除术、剖腹产、结扎术)或肛周手术史; (5) 既往有消化系统肿瘤或炎性肠病病史; (6) 既往有肠道病原体感染史; (7) 治疗开始前 2 周内服用益生菌及质子泵抑制剂; (8) 哺乳期妇女或孕妇; (9) 患有其他可能引起肠道动力及菌群紊乱的疾病。

根据以上标准, 回顾性收集 2017 年 8 月至 2019 年 10 月期间, 于同济大学附属第十人民医院肠道微生态治疗中心自愿接受菌群移植治疗的慢传输型便秘患者的临床资料。根据 FMT 所用菌液保存时间进行分组, 分为新鲜菌液组(菌液制备完成后 0~4℃ 冷藏 6 h 内)、菌液保存 1 周组(-80℃ 冷冻保存 1 周)、菌液保存 1 个月组(-80℃ 冷冻保存 1 周~1 个月)、菌液保存 3 个月组(-80℃ 冷冻保存 1~3 个月)、菌液保存 6 个月组(-80℃ 冷冻保存 3~6 个月)和菌液保存 12 个月组(-80℃ 冷冻保存 6~12 个月)。本研究符合《赫尔辛基宣言》中有关伦理的要求, 患者均签署知情同意书。

二、供体筛选

(1) 18~25 岁具有健康生活、饮食习惯的非孕期成年人; (2) 近 6 个月内未服用抗生素、益生菌及其他微生态制剂史(除外乳酸菌制品); (3) 既往无慢性病史; (4) 传染病检查(乙肝、丙肝、艾滋病、梅毒等)阴性; (5) 粪便检查(志贺杆菌、痢疾杆菌、弯曲菌属、艰难梭状芽孢杆菌及寄生虫等)阴性。共有 8 名符合标准的供体为本研究中的患者的临床治疗提供粪菌, 参照既往研究[10]进行菌群分析认为, 菌群相对稳定, 可视为标准供体。

三、FMT 流程和方法

菌液制备参考 Amsterdam 菌液制备规范^[11]。使用无菌烧杯收集供体的新鲜粪便 100 g, 置于无菌搅拌器内, 加入 500 ml 无菌生理盐水, 充分搅拌后将混悬液依次经无菌纱布、孔径 2.0 mm 和 0.5 mm 的筛网过滤, 将所得粪便菌液与甘油按 5:1 混合后均分为 6 份(分 6 d 应用于同一名受体进行 FMT), 于 -80℃ 冰箱内冷冻保存, 制备至储存时间≤60 min。患者在 FMT 前 3 d 行肠道准备, 口服万古霉素(0.5 g, 2 次/d, 3 d), 经血管造影辅助放置鼻空肠管, FMT 治疗前 12 h 给予口服或鼻饲聚乙二醇(2 L)行抗生素洗脱; 肠道准备完成后, 每日定时经鼻空肠管饲入 FMT 治疗 1 次, 共 6 d, 随访期为 FMT 后 1 个月; 住院及随访

期间停止其他治疗, 非必要时不建议服用其他药物。

四、治疗有效性和安全性评估

1. 有效性评估: 依据以下 6 个指标进行评价。(1) 排便次数: 治疗前后每周完全自主排便次数。(2) Wexner 便秘评分(0~30 分, 分值越高, 便秘程度越重)^[12]。(3) 胃肠生活质量(gastrointestinal quality of life index, GIQLI)评分(0~144 分, 分值越低, 胃肠生活质量越差)^[13]。(4) 临床治愈率: 完全自主排便次数 >3 次/周的患者占比。(5) 临床改善率: 临床症状未达到治愈水平, 但较治疗前明显改善的患者比例。(6) FMT 治疗患者满意度评分: 1 分为不满意; 2 分为不确定; 3 分为有点满意; 4 分为满意; 5 分为非常满意。

2. 安全性评估: 根据治疗后与 FMT 相关的不良反应进行评价。

五、统计学方法

应用 SPSS19.0 软件进行数据分析, 分类资料用例(%)表示; 符合正态分布的计量资料, 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 治疗前后各时间点比较采用重复测量方差分析组间两两比较采用 Bonferroni 法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 两两比较以 $P < 0.017$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、一般资料

共收集 FMT 治疗的慢传输型便秘患者 648 例, 其中符合排除标准患者 165 例, 共纳入 483 例患者, 年龄(53.1±17.1)岁, 其中男性 164 例, 女性 319 例。其中, 新鲜菌液组 29 例, 菌液保存 1 周组 187 例, 菌液保存 1 个月组 121 例, 菌液保存 3 个月组 89 例, 菌液保存 6 个月组 38 例, 菌液保存 12 个月组 19 例。6 组间基线资料之间的差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 见表 1。

二、FMT 治疗有效性比较

治疗 1 个月后, 全组患者自主排便次数为(3.83±1.22)次/周, Wexner 便秘评分为(6.74±3.56)分, GIQLI 评分为(108.76±15.38)分, 临床治愈率为 57.8%(279/483), 临床改善率为 66.3%(320/483), 治疗满意度为(3.85±0.93)分。

与治疗前相比, 经 FMT 治疗的患者完全自主排便次数增加, Wexner 便秘评分降低, GIQLI 评分升高, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 见表 2。不同菌液保存时间各分组之间, FMT 治疗前以及治疗后 1 周和 1 个月患者的排便次数、Wexner 便秘评分、

GIQLI评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);各组间,治疗后1周和1个月的患者临床治愈率、临床改善率以及治疗满意度的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表2。

全组8名供体中,菌液保存时间 >6 个月且应用于超过6名受体的供体仅1名(供体A),将本供体的受体按菌液保存时间分为3组:菌液保存3个月内组(35例)、菌液保存3~6个月组(7例)和菌液保存6~12个月组(6例);3组间比较,FMT治疗前以及治疗后1周和1个月患者的排粪次数、Wexner便秘评分、GIQLI评分差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),治疗后1周和1个月的患者临床治愈率、临床改善率以及治疗满意度的差异亦均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表3。

三、FMT治疗安全性比较

全组病例在FMT治疗及随访期间均未发生严重的FMT相关并发症,无死亡病例。出现FMT相关不良反应共115例(23.8%),不良反应事件包括恶心25例(5.2%)、呕吐13例(2.7%)、腹泻21例(4.3%)、腹痛16例(3.3%)、腹胀33例(6.8%)、咽喉部疼痛56例(11.6%)、发热16例(3.3%),均经对症处理后症状缓解。不同菌液保存时间的各分组之间,FMT治疗后患者总体并发症及各类型并发症的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),见表4。

讨 论

目前FMT治疗已被广泛应用于多种肠功能性疾病的治疗^[14]。同济大学附属第十人民医院肠道

表1 不同菌液保存时间组别的慢传输型便秘患者基线资料比较

基线资料	新鲜菌液组 (29例)	菌液保存1周 组(187例)	菌液保存1个月 组(121例)	菌液保存3个月 组(89例)	菌液保存6个 月组(38例)	菌液保存12个 月组(19例)	统计值	P值
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	49.5±12.7	52.1±17.2	55.4±15.7	53.8±17.9	51.6±18.8	50.4±18.8	$F=1.051$	0.387
男[例(%)]	9(31.0)	65(35.0)	44(36.7)	30(33.7)	11(28.9)	5(26.3)	$\chi^2=1.500$	0.913
体质指数(kg/m^2 , $\bar{x}\pm s$)	21.7±1.9	21.0±2.0	21.0±2.0	21.1±2.2	21.0±1.0	21.1±2.0	$F=0.551$	0.737

表2 不同菌液保存时间组间的慢传输型便秘患者菌群移植前后疗效指标比较

基线资料	新鲜菌液组 (29例)	菌液保存1周组 (187例)	菌液保存1个 月组(121例)	菌液保存3个 月组(89例)	菌液保存6个 月组(38例)	菌液保存12个 月组(19例)	统计值	P值
排粪次数(次/周, $\bar{x}\pm s$)								
治疗前	1.10±1.08 ^b	0.97±0.88 ^b	1.04±0.93 ^b	0.98±0.92 ^b	0.84±0.82 ^b	0.89±0.81 ^b	$F=0.430$	0.828
治疗后1周	3.55±1.30	3.58±1.39	3.48±1.25	3.61±1.35	3.63±1.05	3.63±0.90	$F=0.161$	0.977
治疗后1个月	3.79±1.20	3.88±1.25	3.85±1.18	3.75±1.18	3.79±1.28	3.74±1.33	$F=0.169$	0.974
Wexner便秘评分(分, $\bar{x}\pm s$)								
治疗前	14.90±3.81 ^b	15.10±3.41 ^b	15.40±3.40 ^b	14.51±3.39 ^b	15.39±3.58 ^b	14.53±3.27 ^b	$F=0.889$	0.488
治疗后1周	8.00±3.09	9.38±4.56	8.71±4.57	9.81±4.63	8.13±3.68	8.53±4.14	$F=1.578$	0.165
治疗后1个月	7.55±4.17	6.73±3.79	6.14±3.24	7.03±3.76	7.32±2.34	6.79±2.92	$F=1.315$	0.256
GIQLI评分(分, $\bar{x}\pm s$) ^a								
治疗前	85.45±11.05 ^b	84.44±11.98 ^b	82.85±12.82 ^b	83.98±12.64 ^b	84.71±13.00 ^b	84.21±14.64 ^b	$F=0.357$	0.878
治疗后1周	105.45±11.11	109.92±14.37	110.87±15.35	109.60±13.97	111.29±15.02	107.79±12.26	$F=0.828$	0.530
治疗后1个月	105.38±16.26	109.69±15.62	108.65±16.18	106.72±13.89	110.11±15.27	112.21±12.83	$F=0.981$	0.429
临床治愈率[例(%)]								
治疗后1周	14(48.3)	97(51.9)	60(49.6)	48(53.9)	20(52.6)	10(10/19)	$\chi^2=0.548$	0.990
治疗后1个月	16(55.2)	110(58.8)	70(57.9)	52(58.4)	21(55.3)	10(10/19)	$\chi^2=0.458$	0.993
临床改善率[例(%)]								
治疗后1周	19(65.5)	116(62.0)	74(61.2)	57(64.0)	23(60.5)	12(12/19)	$\chi^2=0.373$	0.996
治疗后1个月	20(69.0)	120(64.2)	81(66.9)	62(69.7)	24(63.2)	13(13/19)	$\chi^2=1.149$	0.950
治疗满意度(分, $\bar{x}\pm s$)								
治疗后1周	3.79±1.05	3.80±1.08	3.73±1.00	3.75±1.05	3.79±1.00	3.74±0.73	$F=0.082$	0.995
治疗后1个月	3.79±0.90	3.89±0.96	3.82±0.92	3.82±0.98	3.84±0.86	3.89±0.73	$F=0.137$	0.984

注:^aGIQLI评分为胃肠生活质量评分;^b与其他时间点比较, $P<0.017$

表 3 供体 A 的不同菌液保存时间组间的慢传输型便秘患者菌群移植前后疗效指标比较

项目	菌液保存 3 个月内组 (35 例)	菌液保存 3~6 个月组 (7 例)	菌液保存 6~12 个月组 (6 例)	统计值	P 值
排便次数(次/周, $\bar{x} \pm s$)					
治疗前	1.00±1.03 ^b	1.00±0.82 ^b	1.00±0.89 ^b	$F=0$	1.000
治疗后 1 周	3.49±1.25	3.57±0.79	3.17±0.75	$F=0.238$	0.789
治疗后 1 个月	3.71±1.13	3.00±0.82	3.33±1.37	$F=1.329$	0.275
Wexner 便秘评分(分, $\bar{x} \pm s$)					
治疗前	14.80±3.63 ^b	14.86±2.73 ^b	14.67±4.27 ^b	$F=0.005$	0.995
治疗后 1 周	8.63±3.55	8.86±2.545	8.83±2.48	$F=0.020$	0.980
治疗后 1 个月	7.51±4.02	6.86±2.48	7.83±4.12	$F=0.117$	0.890
GIQLI 评分(分, $\bar{x} \pm s$) ^a					
治疗前	85.86±10.58 ^b	84.71±13.09 ^b	79.00±12.70 ^b	$F=0.961$	0.390
治疗后 1 周	105.40±10.95	108.71±6.02	106.67±8.45	$F=0.323$	0.726
治疗后 1 个月	105.80±15.59	113.43±16.46	110.54±16.17	$F=0.832$	0.442
临床治愈率[例(%)]					
治疗后 1 周	18(51.4)	3(3/7)	3(3/6)	$\chi^2=0.171$	0.918
治疗后 1 个月	20(57.1)	4(4/7)	3(3/6)	$\chi^2=0.109$	0.947
临床改善率[例(%)]					
治疗后 1 周	22(62.9)	4(4/7)	4(4/6)	$\chi^2=0.132$	0.936
治疗后 1 个月	23(65.7)	4(4/7)	4(4/6)	$\chi^2=0.200$	0.905
治疗满意度(分, $\bar{x} \pm s$)					
治疗后 1 周	3.77±1.03	3.57±0.79	3.17±0.75	$F=1.026$	0.367
治疗后 1 个月	3.63±0.94	3.14±0.90	3.33±1.37	$F=0.820$	0.447

注:^a GIQLI 评分为胃肠生活质量评分;^b 与其他时间点比较, $P < 0.017$

表 4 不同菌液保存时间分组间的慢传输型便秘患者菌群移植前后不良反应发生情况比较[例(%)]

不良反应分类	新鲜菌液组 (29 例)	菌液保存 1 周 组(187 例)	菌液保存 1 个 月组(121 例)	菌液保存 3 个 月组(89 例)	菌液保存 6 个 月组(38 例)	菌液保存 12 个 月组(19 例)	χ^2 值	P 值
总体情况	6(20.7)	41(21.9)	33(27.3)	20(22.5)	10(26.3)	5(5/19)	1.607	0.900
恶心	2(6.9)	9(4.8)	6(5.0)	5(5.6)	2(5.3)	1(1/19)	0.273	0.998
呕吐	1(3.4)	4(2.1)	2(1.7)	3(3.4)	2(5.3)	1(1/19)	2.376	0.975
腹泻	0	10(5.3)	7(5.8)	2(2.2)	1(2.6)	1(1/19)	3.620	0.605
腹痛	1(3.4)	5(2.7)	6(5.0)	3(3.4)	1(2.6)	1(1/19)	0.907	0.970
腹胀	3(10.3)	9(4.8)	9(7.4)	6(6.7)	4(10.5)	2(2/19)	3.053	0.692
咽喉疼痛	4(13.8)	21(11.2)	15(12.4)	11(12.4)	6(15.8)	3(3/19)	0.889	0.971
发热	0	5(2.7)	5(4.1)	3(3.4)	2(5.3)	1(1/19)	2.164	0.826

微生态治疗中心自成立以来,已系统性开展 FMT 治疗慢传输型便秘的工作,并取得较好临床治疗效果^[5,15-16]。研究表明,慢传输型便秘患者粪便菌群的专性厌氧菌相对减少,同时真菌和潜在致病菌相对增多,而胃肠动力又与肠道菌群的变化密切相关^[17]。肠道动力与肠道菌群变化的相关性在动物实验中亦得到证实,无菌鼠的胃排空和肠道传输时间与正常小鼠相比明显延长,而引入乳酸菌或双歧杆菌后,无菌鼠的肠道动力得到明显改善^[18-19]。本

研究结果显示,FMT 治疗慢传输型便秘 1 个月后的临床治愈率为 57.8%,临床改善率为 66.3%。这与本中心之前相关报道结果类似^[20],远高于普卢卡必利的疗效^[21]。

影响 FMT 有效性的因素包括粪菌的收集、转运、均质化、保存和再取样等^[22]。在临床应用及科研工作中,为了保证 FMT 治疗的安全和疗效,长期维持样品菌种的形态、功能和遗传特性的稳定是非常重要的。在保存微生物的方法中,冷冻保存是目

前公认的最安全可靠的方法之一。冷冻保存样本有两个目的:(1)保存粪菌活性;(2)保持 DNA 或其他生物标志物稳定。FMT 样本收集和保存的原则为:(1)避免反复冷冻-解冻,防止粪菌样本 DNA 降解导致宏基因组 DNA 质量降低;(2)避免剧烈的温度波动,增加细菌存活率;(3)缩短转运时间,而低温保存可延长转运时间,维持样品微生态稳定^[23]。Tang 等^[24]的研究表明,冷冻与新鲜 FMT 在治疗难治性或复发性 CDI 患者时一样有效。Fouhy 等^[7]将新鲜制备的粪菌在-80℃或干冰上快速冷冻后保存 7 d 后,与新鲜样本相比,发现菌群的种群分布差异没有统计学意义,因此快速冷冻可以保持微生态的完整性。本研究通过回顾性分析不同菌液保存时间对 FMT 治疗慢传输型便秘临床疗效的影响,结果发现,-80℃保存 1 周、1 个月、3 个月、6 个月和 12 个月的菌液样本和新鲜样本相比,经 FMT 治疗后的便秘患者的每周完全自主排便次数、Wexner 便秘评分、GIQLI 评分、临床改善率、临床治愈率和 FMT 治疗满意度等方面差异均无统计学意义。

本研究部分患者出现恶心、呕吐、腹泻、腹痛、腹胀、咽喉疼痛及发热等不良反应,主要发生在 FMT 后 12 h 内,FMT 完成后 6 d 随访至 1 个月时,极少出现上述症状。根据现有的文献,目前全世界使用 FMT 治疗的患者中,出现了 2 例明确因 FMT 产生了侵袭性感染,由产超广谱 β 内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamase, ESBL)的大肠杆菌(*E. coli*)诱发,其中 1 例已死亡^[25]。但这两例患者均存在免疫功能不全,本研究的受体在接受治疗前均严格按照本中心的筛选标准进行系统性评估,确保患者处于一个相对稳定的生命状态^[20]。

本研究尚存在以下几点不足:(1)本研究是回顾性研究,证据等级较弱,本中心拟在后续研究中开展大样本前瞻性、随机对照试验,从而获得高质量研究证据;(2)FMT 治疗后仅随访 1 个月,随访时间较短,而慢传输型便秘患者往往病史较长,短期内改善并不意味着长期治疗效果的完全改善,因此需要开展更长时间随访的研究;(3)研究结果客观性评价指标较少,存在随访偏倚的可能,后续研究将增加基于 16S rRNA 和宏基因组技术的肠道菌群分析、结肠传输试验等客观指标,进一步阐明不同菌液保存时间对菌液样品和患者的影响。

综上所述,新鲜菌液样本或-80℃冷冻保存 1 年

内的菌液样本均可安全地应用于 FMT 治疗慢传输型便秘,短期随访疗效稳定,且无严重不良反应发生。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives [J]. Clin Endosc, 2016, 49(3):257-265. DOI: 10.5946/ce.2015.117.
- [2] Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections[J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(4):478-499. DOI: 10.1038/ajg.2013.4.
- [3] El-Salhy M, Hatlebakk JG, Gilja OH, et al. Efficacy of faecal microbiota transplantation for patients with irritable bowel syndrome in a randomised, double-blind, placebo-controlled study[J]. Gut, 2020, 69(5):859-867. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319630.
- [4] Jeon SR, Chai J, Kim C, et al. Current evidence for the management of inflammatory bowel diseases using fecal microbiota transplantation[J]. Curr Infect Dis Rep, 2018, 20(8): 21. DOI: 10.1007/s11908-018-0627-8.
- [5] 李宁,田宏亮,马春联,等. 菌群移植治疗肠道疾病 406 例疗效分析 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2017, 20(1): 40-46. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2017.01.009.
- [6] Koote RS, Levin E, Salojärvi J, et al. Improvement of insulin sensitivity after lean donor feces in metabolic syndrome is driven by baseline intestinal microbiota composition [J]. Cell Metab, 2017, 26(4):611-619.e6. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.09.008.
- [7] Fouhy F, Deane J, Rea MC, et al. The effects of freezing on faecal microbiota as determined using MiSeq sequencing and culture-based investigations[J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0119355. DOI: 10.1371/journal.pone.0119355.
- [8] Jiang ZD, Ajami NJ, Petrosino JF, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection - fresh, or frozen, or lyophilised microbiota from a small pool of healthy donors delivered by colonoscopy [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2017, 45(7):899-908. DOI: 10.1111/apt.13969.
- [9] Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process[J]. Gastroenterology, 2006, 130(5):1377-1390. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008.
- [10] 田宏亮,丁超,龚剑锋,等. 粪菌移植治疗慢传输型便秘 20 例临床研究[J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(8):873-875. DOI: 10.7504/CJPS.ISSN1005-2208.2015.08.21.
- [11] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile* [J]. N Engl J Med, 2013, 368(5):407-415. DOI: 10.1056/NEJMoa1205037.
- [12] Riss S, Herbst F, Birsan T, et al. Postoperative course and long term follow up after colectomy for slow transit constipation - is surgery an appropriate approach? [J]. Colorectal Dis, 2009, 11

- (3):302-307. DOI:10.1111/j.1463-1318.2008.01592.x.
- [13] Quintana JM, Cabriada J, de Tejada I L, et al. Translation and validation of the Gastrointestinal Quality of Life Index (GIQLI) [J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2001, 93(11):693-706.
- [14] Pinn DM, Aroniadis OC, Brandt LJ. Is fecal microbiota transplantation the answer for irritable bowel syndrome? a single-center experience[J]. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(11):1831-1832. DOI:10.1038/ajg.2014.295.
- [15] Zhang X, Tian H, Gu L, et al. Long-term follow-up of the effects of fecal microbiota transplantation in combination with soluble dietary fiber as a therapeutic regimen in slow transit constipation [J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(7):779-786. DOI:10.1007/s11427-017-9229-1.
- [16] Tian H, Ding C, Gong J, et al. Treatment of slow transit constipation with fecal microbiota transplantation: a pilot study [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(10):865-870. DOI:10.1097/MCG.0000000000000472.
- [17] Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, et al. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 35(7):828-838. DOI:10.1111/j.1365-2036.2012.05007.x.
- [18] Stecher B, Chaffron S, Käppli R, et al. Like will to like: abundances of closely related species can predict susceptibility to intestinal colonization by pathogenic and commensal bacteria[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(1):e1000711. DOI:10.1371/journal.ppat.1000711.
- [19] Soret R, Chevalier J, De Coppet P, et al. Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(5):1772-1782. DOI:10.1053/j.gastro.2010.01.053.
- [20] 李宁,田宏亮,陈启仪,等. 菌群移植治疗肠道疾病 2 010 例疗效分析[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2019, 22(9):861-868. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2019.09.011.
- [21] Camilleri M, Piessevaux H, Yiannakou Y, et al. Efficacy and safety of prucalopride in chronic constipation: an integrated analysis of six randomized, controlled clinical trials[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(8):2357-2372. DOI:10.1007/s10620-016-4147-9.
- [22] Hsieh YH, Peterson CM, Raggio A, et al. Impact of different fecal processing methods on assessments of bacterial diversity in the human intestine[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7(1):1643. DOI:10.3389/fmicb.2016.01643.
- [23] Wu WK, Chen CC, Panyod S, et al. Optimization of fecal sample processing for microbiome study - the journey from bathroom to bench[J]. *J Formos Med Assoc*, 2019, 118(2):545-555. DOI:10.1016/j.jfma.2018.02.005.
- [24] Tang G, Yin W, Liu W. Is frozen fecal microbiota transplantation as effective as fresh fecal microbiota transplantation in patients with recurrent or refractory *Clostridium difficile* infection: a meta-analysis? [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017, 88(4):322-329. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2017.05.007.
- [25] DeFilipp Z, Bloom PP, Torres SM, et al. Drug-resistant *e. coli* bacteremia transmitted by fecal microbiota transplant [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(21):2043-2050. DOI:10.1056/NEJMoa1910437.

(收稿日期:2020-04-14)

(本文编辑:王静)

本文引用格式

林志亮,陈启仪,田宏亮,等. 菌液保存时间对菌群移植治疗慢传输型便秘疗效的影响[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2020, 23(增刊):S56-S62. DOI:10.3760/cma.j.cn.441530-20200414-00207.