

• 专家共识 •

肠菌移植制备和质控实验室标准化技术规范 中国专家共识(2023 版)

中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会; 中国感染免疫与微生态研究转化协作组

摘要: 肠菌移植也称粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT), 作为一种新兴的治疗手段已被尝试应用于多种疾病, FMT 是重建肠道微生态的有效方法, 是指将健康人粪便中的功能菌群处理以后移植到患者肠道内, 重建新的肠道菌群, 恢复肠道菌群的多样性和生物学功能, 实现肠道内外疾病的治疗, 达到治病的目的。在针对 FMT 的基础与临床研究领域, 需要认识与了解 FMT 制备和质控的实验室检测方法。由于 FMT 技术的实验流程、质量管理等方面没有形成统一标准, 为了明确 FMT 制备和质控实验室标准化技术规范, 中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会和中国感染免疫与微生态研究转化协作组组织有关专家共同讨论, 提出《肠菌移植制备和质控实验室标准化技术规范中国专家共识(2023 版)》, 为 FMT 基础与临床领域进一步应用深入研究提供依据。

关键词: 肠菌移植; 肠道微生态; 实验流程; 质量控制; 技术规范; 专家共识

中图分类号: R-331 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-376X (2024) 06-0705-07

DOI 编码: 10.13381/j.cnki.cjm.202406013

Chinese expert consensus on standardized technical specifications for laboratory preparation and quality control of fecal microbiota transplantation (2023 edition)

The Tumor and Microecology Professional Committee of the Chinese Anti-Cancer Association;

The Chinese Infection Immunology and Microecology Research Translation Collaborative Group

Corresponding authors: GUO Zhi, E-mail: guozhi77@126.com;

WANG Qiang, E-mail: wangqiang@wust.edu.cn

Abstract: Fecal microbiota transplantation (FMT) has been attempted as an emerging therapeutic tool for a variety of diseases. FMT is an effective method to rebuild intestinal microecology, which refers to transplanting functional flora from healthy human feces into the patient's intestine after treatment to rebuild new intestinal flora and restore the diversity and biological of intestinal flora, so as to realize the treatment of diseases inside and outside the intestinal tract and achieve the purpose of curing diseases. In the field of basic and clinical research targeting FMT, there is a need to recognize and understand the laboratory assays for FMT preparation and quality control. Since there is no unified standard for the experimental procedure and quality management of FMT technology, in order to clarify the standardized laboratory technical specifications for FMT preparation and quality control, the Tumor and Microecology Professional Committee of the Chinese Anti-Cancer Association and the Chinese Infection Immunology and Microecology Research Translation Collaborative Group organized relevant experts to discuss and propose the "Chinese Expert Consensus on Standardized Technical Specifications for Laboratory Preparation and Quality Control of Fecal Microbiota Transplantation (2023 Edition)", which provides a basis for further application and in-depth research in the basic and clinical fields of FMT.

Keywords: Fecal microbiota transplantation; Gut microecology; Experimental procedures; Quality control; Technical specifications; Expert consensus

肠菌移植也称粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT), 作为一种新兴的治疗手段已被尝试应用于多种疾病, FMT 是重建肠道微生态的有效

方法, 是指将健康人粪便中的功能菌群处理以后移植到患者肠道内, 重建新的肠道菌群, 恢复肠道菌群的多样性和生物学功能, 实现肠道内外疾病的治

作者简介: 郭智, 华中科技大学协和深圳医院血液内科主任、主任医师, 中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会副主任委员; 王强, 武汉大学医学部副主任、教授, 中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会候任主任委员

通信作者: 郭智, E-mail: guozhi77@126.com; 王强, E-mail: wangqiang@wust.edu.cn

疗, 达到治病的目的^[1]。治疗过程中常针对患者的不同情况和各种途径的特点选择其最合适的菌群输入途径, 其途径包括经口服肠菌胶囊, 经鼻胃管、鼻空肠管、胃十二指肠镜、肠镜及造瘘口给予肠菌悬液等。传统口服方法简便、经济, 但一般患者可能难以接受。经鼻胃管、鼻空肠管、胃十二指肠镜均需常规给予抑酸药物以减弱胃酸作用, 且肠菌悬液不一定能到达结肠远端部位, 故而不适用于结肠病变患者, 尤其合并肠梗阻的患者, 经造瘘口可能会进一步增加感染概率。新的 FMT 的途径——经内镜结肠植管(transendoscopic enteral tubing, TET), 通过普通肠镜检查至回盲部, 沿活检孔插入 TET 管, 将肠菌悬液送入导管至回盲部; 这种新的移植途径相比于传统的移植途径, 更加简单经济, 并且可以全结肠给药, 方便短期内多次重复的治疗^[2]。在难治性或复发性艰难梭菌感染中的疗效已经明确, 目前 FMT 已被应用于消化系统疾病、神经精神类疾病、血液系统疾病、代谢综合征、多重耐药菌(multiple drug resistant organism, MDRO)等疾病的治疗^[3-6], 包括在肿瘤方面的应用也是越来越多^[7-8], FMT 在控制异基因造血干细胞移植后出现的急性胃肠道移植抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)已被推荐为三线治疗^[9-11], 有很多研究显示肠道微生物群在 GVHD 的发病机制中发挥了重要的免疫调节作用^[12-14]。FMT 的适应症主要为抗肿瘤治疗中导致的腹泻, 该治疗手段无绝对禁忌证, 患者出现消化道明显活动性出血、粒细胞减少和血小板严重减少状态时应暂缓治疗。在针对 FMT 的基础与临床研究领域, 需要认识与了解 FMT 制备和质控的实验室检测方法。由于 FMT 技术的实验流程、质量控制等方面没有形成统一标准, 为了明确 FMT 制备和质控实验室标准化技术规范, 中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会和中国感染免疫与微生态研究转化协作组组织有关专家共同讨论, 提出《肠菌移植制备和质控实验室标准化技术规范中国专家共识(2023 版)》, 为 FMT 基础与临床领域进一步应用深入研究提供依据^[15]。

1 供体的筛选和管理

FMT 的安全性和有效性依赖于供体, 作为 FMT 的生产原料, 合适的供体筛选与管理程序至关重要, 才能保证供体生物安全性。在供体筛选与管理的过程中会涉及候选人/供体的隐私信息, 需要保护供体的隐私, 对候选人进行知情同意、信息脱敏、筛选及对供体进行管理。

1.1 供体的筛选 供体筛选是一个非常严格的过程,

供体的筛选过程包括问卷初筛、现场面试、全面体检及医学核查 4 个阶段, 一般选择青年供体, 这样才能使供体的功能状态和身心健康得到保障。为了保证 FMT 的安全性, 供体的筛选需要有严格的标准, 筛选标准需要同时兼顾供体的健康状况、依从性以及供体肠道菌群的多样性和稳定性。供体的健康至关重要, 需保证供体无感染性疾病或任何可能在 FMT 中传染给受体的病毒或致病菌。由于每个人的肠道菌群的组成、多样性及丰度不同, 菌群的稳定性也会受到多种因素的影响, 为尽可能地提高 FMT 的有效性, 也需要对供体的肠道菌群进行深入地了解, 进行多维度的评估^[16-17]。

1.1.1 问卷初筛 通过问卷筛选来评估供体候选人饮食、作息、生活状态、健康状况等情况。初筛问卷内容包括:(1)三餐是否规律, 甜食、辣椒的摄入频率和程度;(2)失眠或熬夜的频率;(3)胃肠道情况(腹泻、便秘等);(4)是否患有传染性疾病、慢性疾病等;(5)是否接受过器官移植、慢性透析等;(6)是否在 MDRO 高频感染地工作;(7)是否对青霉素和食物过敏。

1.1.2 现场面试 通过问卷初筛的供体候选人进入到面试阶段, 面试过程中需沟通以下内容:(1)向供体候选人介绍项目情况, 签署知情同意书;(2)向供体提供当地高发流行传染病的流行病学调查问卷, 确认患该传染性疾病的风险为低风险后继续接下来的询问环节;(3)围绕供体候选人身体状况、饮食习惯、作息情况及生活状态等各方面问题进行针对性提问, 供体候选人需如实回答;(4)提问结束后, 要求供体候选人填写身体健康状态问卷和心理健康测评问卷。身体健康状态问卷应至少包括目前是否患有严重疾病和其他影响肠道菌群的疾病(如肠易激综合征、消化道出血、腹泻等), 近 6 个月内医疗处理、药物使用、疫苗接种情况, 以及是否感染幽门螺杆菌、有无家族遗传史等。

心理健康测评问卷采用《症状自评量表(SCL-90)》, 该量表共有 90 个项目, 包含较广泛的精神病症状学内容, 主要从感觉、情感、思维、意识、行为、生活习惯、人际关系、饮食睡眠等方面进行测评, 并通过 10 个因子分别反映 10 个方面的心理症状情况。

供体面试问题的排除标准需至少包括以下部分:(1)三餐不规律, 作息不规律, 频繁失眠和熬夜;(2)抽烟或经常饮酒;(3)饮食不健康, 比如经常吃甜食或喜吃生食、加工类肉制品;(4)患有慢性疾病、先天性疾病、胃肠道疾病、心脑血管疾病, 直系亲属

有严重疾病的遗传病史；(5)近 6 个月内服用抗生素；(6)在医院或养老院等 MDRO 高频感染地工作；(7)生活在一起的人当中有医务工作者或长期住院者；(8)本人既往感染过 MDRO；(9)9 个月内接种减活疫苗；(10)《症状自评量表(SCL-90)》自评总分数低于 50 分。

1.1.3 全面体检 通过面试的供体候选人进入全面体检阶段，体检内容应包含供体候选人血液及粪便采样检查、新型冠状病毒及流感病毒核酸检测。血液检查：血常规、肝功能、肾功能、生化七项(谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、总胆红素、间接胆红素及直接胆红素)、感染筛查八项(乙肝五项、艾滋病抗体、梅毒抗体及丙肝抗体)、血脂四项(甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白及极低密度脂蛋白)、风疹病毒、巨细胞病毒、镁离子、甲戊肝、抗核抗体两项、EB 病毒、类风湿因子、免疫六项、T 淋巴细胞白血病病毒抗体。粪便检查：便常规、钙卫蛋白、粪便寄生虫、线虫、幽门螺杆菌粪便抗原检测、MDRO(革兰阴性杆菌包括超广谱 β -内酰胺酶的肠杆菌科、耐碳青霉烯肠杆菌科、产碳青霉烯酶的肠杆菌科，革兰阳性球菌包括耐万古霉素肠球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌)检测、白假丝酵母、沙门菌、志贺菌等。胃肠道病原体检测：弯曲菌、艰难梭菌、沙门菌、志贺菌、副溶血性弧菌、霍乱弧菌、创伤弧菌、小肠结肠炎耶尔森菌、致泻性大肠埃希菌(EPEC、STEC、大肠埃希菌 O157 等)、类志贺邻单胞菌、隐孢子虫、轮状病毒 A 型、诺如病毒 G I/G II 型、星状病毒、腺病毒、札如病毒等致病微生物。

1.1.4 医学核查 应建立医学核查程序和标准。需要配备具有临床医学背景的医学核查员，负责对供体候选人/供体体检结果进行审核并给出审核结果。供体候选人血液及粪便检查、新型冠状病毒的核酸检测、流感病毒的核酸检测、胃肠道病原体检测均出检验结果后，医学核查员根据检验结果，按照医学核查标准判断候选人是否通过体检医学审核。通过所有环节的供体候选人可成为供体，进入供体库。成功筛选只是第一步，为了保证 FMT 的安全性和有效性，建立合理的供体管理程序对在库供体进行持续管理至关重要。

1.2 供体的管理 供体管理的流程包含了供体健康管理、供体外出管理、供体捐赠管理、捐赠有效期管理、供体放行管理等。

1.2.1 供体健康管理 为了及时且持续地掌握供体的健康状态，应设置定期回访健康管理机制。供体

协调员应每周定期和供体沟通确认，了解供体近 1 周的身体健康状况。向供体强调有任何身体不适都需要及时告知。对于处于非健康状态的供体，需根据对应情况和筛选标准，安排供体复检或淘汰。

1.2.2 供体外出管理 由于供体可能存在外出情况，为保证产品的安全性，需设置供体外出情况管理机制。如供体因出差、旅游、参加交流会、访学、夏令营、放假回家等原因而离开原驻地一段时间，需提前报备给供体协调员知晓，供体协调员应与供体确认详细情况并参考管理机制进行针对性处理。

1.2.3 供体捐赠管理 为持续生产的稳定有序进行，保证产品的安全性，需要设置供体捐赠管理程序。按照生产计划安排供体捐赠，参考捐赠管理机制在供体捐赠有效期且定期随访无异常情况下和供体沟通协商捐赠时间、地点及捐赠注意事项。样本采集后转运到仓库的时间不能超过 2 小时。供体在完成每次捐赠后需进行为期 21 天的健康追踪记录并存档。

1.2.4 捐赠有效期管理 需设置捐赠有效期管理机制，定义一个捐赠有效期为 60 个自然日。当捐赠有效期结束时，供体协调员应对供体进行新一轮面试与全面体检。全面体检流程按照供体筛选流程标准，以确保供体仍符合捐赠要求，供体符合捐赠要求后进入下一个捐赠有效期。

1.2.5 供体放行管理 为保证产品的安全性，在产品放行前应再次确认每次捐赠为合格捐赠。定义合格捐赠的标准：(1)供体在捐赠有效期内进行捐赠；(2)供体捐赠前和捐赠后的 MDRO 检查结果合格，且 2 次检查时间间隔不应超过 60 天；(3)捐赠后大于等于 21 天的 HIV 检查结果合格；(4)日常随访、捐赠当日身体状况确认及捐赠后随访均无异常。

供体的筛选和管理程序更多关注在安全性方面，在实际应用中，为尽可能地保证 FMT 的疗效，还需对供体的肠道菌群进行检测和深入分析，建立供受体配型机制，以满足不同适应症的临床需求，帮助更多患者^[17-18]。

2 肠道菌群检测

人体肠道环境里有数百到上千种细菌，重达 1 000 g 左右。它们与人体日常健康和疾病息息相关，它们一方面受宿主饮食和外部环境的塑造，另一方面以各种各样的机制形式参与人体的生理过程中，调控免疫、代谢、神经几大系统，继而与周身器官的生理功能发生联结。为了研究这个复杂体系，我们需要了解肠道中有什么样的细菌种类，它们之间

如何相互作用,它们在疾病的发展和病情改善中有些什么功能。这些信息可以通过对样本中 DNA 进行 16S rRNA 扩增子测序或者鸟枪法宏基因组测序,以及肠道菌群的代谢组学来获取。同时,由于直接从患者肠道采集样本用于菌群检测难度较大,故实践中以粪便样本的菌群 DNA 检测作为肠道菌群的替代检测方案^[19-20]。

肠道菌群检测的结果可用于指导 FMT 的实施。FMT 效果往往是由疾病特点,供体和患者的生理状态及菌群特点决定的。另外,即便被诊断为同一种疾病,不同患者可能具有不同的成病机制和特征。因此,根据疾病特点选择菌群相匹配的供体与患者,有助于最大化提升 FMT 的治疗效果^[21-22]。

目前普遍接受的肠道菌群检测是对粪便样本中的肠道菌群进行 DNA 检测。对于供体肠道菌群的了解,需要采集供体的粪便样本,提取 DNA,进行 16S V4 区域测序和宏基因组测序,分析每个候选人肠道菌群结构、多样性、代谢途径等信息。16S rRNA 基因检测成本较低,需要的 DNA 含量较少,且分析流程较为简单,但是能够从数据中获取的信息也比较有限,比如它的检测只能深入到细菌的属水平,无法检测菌种水平以及细菌以外的微生物;没有基因功能信息,只能基于算法模型和公共数据库对菌的功能进行粗略的预测。宏基因组测序成本较高,所需 DNA 含量略多,分析流程复杂且对计算资源要求较高,但是能够从样本中获取丰富的信息,比如细菌、古菌、病毒的种、甚至是株水平的组成信息;宏基因组数据中也包含丰富的功能基因或者合成基因簇的信息。实践中可以将 2 种检测结合起来,兼顾成本和效果,以 16S rRNA 基因检测作为初筛,根据分析结果挑选最具代表性的样本进行深度的宏基因组检测和分析。

3 供受体配型分析

3.1 供受体配型意义 FMT 通过对患者的肠道微生物重建实现对疾病的治疗和改善。尽管 FMT 作为医疗技术已经应用于很多适应症,但是由于它成分复杂且高度依赖于供体捐赠的样本,FMT 在各个适应症里起作用的机制和实现的效果并不相同。一些研究者发现,FMT 治疗过程中存在“超级供体”现象:某些供体的治疗应答率明显优于其他一些供体,并总结出在 IBD、代谢综合征、IBS 及复发性肝性脑病上的优秀供体的菌群特征^[23]。以色列团队使用 2 名供体的 FMT 联合 anti-PD-1 进行黑色素瘤治疗时发现,对治疗起应答的患者均来自同一供体组^[7]。另一方

面,从病患的角度看,患者的疾病特点可能涉及地区或者个体特异的菌-疾病作用机制。因此,提升 FMT 的治疗效果,可以从供体以及患者两方面角度切入,寻求二者的最佳组配。

3.2 配型方法简述 不少文献探讨了临床中有效供体的菌群特征。有学者提出 FMT 治疗中的理性供体选择框架:根据疾病特有的肠道微生态特点以及菌-宿主互作的模式来挑选有效供体的菌或者代谢物的指标^[24]。另有学者尝试构建预测模型去寻找最匹配的供体和患者,构建了包含多个维度的微生物特征(如 α 多样性、群落距离、有益菌、有害菌、有益代谢通路及有害代谢通路)在内的预测模型,在溃疡性结肠炎患者的多国数据集上表现出良好的预测效果^[25]。这些研究尽管为 FMT 治疗中供受体匹配提供了宝贵的参考,但是方法和结论往往受限于对菌-疾病互作机制研究的程度和研究使用的临床数据集。供受体配型的方法开发,除了参考现有已公开的方法思路,建议同时从以下角度来开展工作。

3.2.1 研究 FMT 所应用的疾病的特点 该疾病是因为某些病原菌感染导致的,还是因为肠屏障受损引发,或者是体内的免疫、代谢或者神经递质失衡引起的。是否具有细分的疾病亚型,这些亚型是否对应不同的 FMT 干预效果。

3.2.2 研究相关适应症中的关键菌或者功能 比如关键菌是参与短链脂肪酸的生成,改善肠屏障,还是调控糖脂代谢、线粒体功能,或者作用于特定的免疫细胞。相关适应症是否有菌的产物或者营养物质代谢相关的基因功能指标。某些菌或者菌的指标(比如肠型、多样性等)与疾病改善存在关联关系,但是因果关系和作用机制不明。这样的指标对供体选择的指示作用需要在文献和数据中寻找更多支撑的证据。

3.2.3 分析患者的肠道菌群特点 了解患者的疾病相关微生物特征,判断是否符合容易从 FMT 获益的人群的特点。研究患者的肠道菌群是否包含文献中报道的典型的疾病相关菌以及功能。

3.2.4 研究供体的肠道菌群特点,优选供体 从供体的基础指标(年龄、性别、BMI、饮食特点等)和菌的特征及菌群结构稳定性等角度优选最有可能产生效果的供体。

3.2.5 积攒临床数据并根据治疗结果不断迭代受体和供体选择方法 供体和受体特定菌种不同菌株的相容性以及供体特定菌株的定植也可纳入考察并指导对受体和供体的选择^[26-29]。

4 FMT 产品制备管理要求

用于 FMT 的产品,其常用剂型包括肠菌冷冻菌液、肠菌冷冻胶囊、肠菌冻干胶囊等等;制备 FMT 产品通常有 2 种模式:(1)用新鲜粪便样本直接制备;(2)先用新鲜粪便样本制备成冷冻粪便样本,然后用冷冻粪便制备成 FMT 产品^[30-31]。

4.1 FMT 产品常规制备流程 (1)新鲜粪便样本:按照布里斯托(Bristol)粪便分类法对新鲜粪便样本进行外观检查并选择合适的粪便类型样本,添加合适的无菌溶液以及经过均质、过滤、离心等技术进行分离浓缩制成肠菌原液,肠菌原液添加合适的冷冻保护剂(或冻干后)制备成中间产品,中间产品根据剂型需求制备成肠菌冷冻菌液、肠菌冷冻胶囊、肠菌冻干胶囊等,经过包装后得到最终 FMT 产品。(2)冷冻粪便样本:按照布里斯托粪便分类法对新鲜粪便样本进行外观检查并选择合适的粪便类型样本,添加合适的无菌冷冻保护液,通过合适的搅拌、均质等手段将粪便处理后装入合适的洁净无菌容器后,放入合适的冷冻环境存放,得到冷冻粪便样本。FMT 产品制备时,将冷冻粪便样本在合适的温度下进行解冻(比如 37℃ 水浴箱解冻)后经过合适的均质、过滤、离心等技术进行分离浓缩制成肠菌原液,肠菌原液根据必要添加合适的冷冻保护剂(或冻干后)制备成中间产品,中间产品根据剂型需求制备成肠菌冷冻菌液、肠菌冷冻胶囊、肠菌冻干胶囊等,经过包装后得到最终 FMT 产品。(3)检测和放行:根据制备工艺过程的风险管控要求,在 FMT 产品的制备过程不同阶段进行合适的取样和检测;当确保整个生产过程、所有检测指标以及供体体检等项目均未出现异常后进行放行。

4.2 FMT 产品制备要点 (1)应采用洁净、无菌以及具备一定密封性的采集容器收集粪便(通常不低于 30 g 粪便的量比较有意义);粪便收集后通常要求在 6 小时内开始制备;同时为保证细菌的完整性,制备时间应尽可能短。(2)采集供体粪便时应对照布里斯托粪便分类法,选择评分为 3~5 分的供体粪便类型,避免使用过硬或完全腹泻的水糊状供体粪便。(3)粪便制备过程中,与粪便接触的物料、溶液等均应无菌化处理;同时制备过程中应对粪便进行必要的取样,以进行“胃肠道病原体检测”以及必要的留样。(4)同一时间、同一操作场所,应避免进行多个粪便供体或批次产品的制备,制备场所在更换粪便供体或者批次时,应对制备场所进行全面严格的清洁消毒甚至熏蒸消杀,避免污染、交叉污染、差错、

混淆的发生。(5)粪便制备暴露过程应全程在专用厌氧环境中进行(通常氧浓度低于 0.5%)。如采用密闭环境,也应确保密闭环境中的厌氧条件。(6)产品存放以及使用过程中避免反复冻融。(7)制备过程应及时、准确、真实、清晰地详细填写记录,并按规定存档(如至少存放到有效期后 1 年)、备查。(8)产品应进行一系列的稳定性研究,证明并确保其有效期的合理性。(9)应制定合理的中间过程、成品检测的监控项目以及可接受标准。(10)存放条件:冷冻产品通常在 -75℃ 以下密封保存;冻干产品通常在 -20℃ 或 2~8℃ 条件下密封保存,并应在存放过程中对温度进行全程实时监控。(11)整个 FMT 产品制备过程中,暴露工序应在专用厌氧环境中操作(胃肠道的正常菌群可分为需氧菌、厌氧菌,厌氧菌通常包括专性厌氧菌、微需氧厌氧菌及兼性厌氧菌)。由于最具优势的是厌氧菌,其是指无氧或氧化还原电势低的条件下才能生长繁殖的一类细菌,占菌群总数的 99%;其中厌氧菌中主要的专性厌氧菌还可以进一步分为极端厌氧菌、中度厌氧菌及耐氧厌氧菌。中度厌氧菌可以在氧含量达 8% 的环境下存活,极端厌氧菌则仅能在氧含量低于 0.5% 的环境下存活;所以在专用厌氧条件下对粪便进行处理及制备,会更好维持和有效提取肠道菌群厌氧菌成分。(12)制备场所建议按照最新的《洁净厂房设计规范》以及《医药工业洁净厂房设计标准》等洁净厂房标准进行设计和建造;其暴露工序的静态微生物控制环境应满足无菌控制要求,比如满足最新的 GMP《药品生产质量管理规范》A 级标准要求。(13)商业单位建议按照最新的 GMP《药品生产质量管理规范》或者 ICH Q10《Pharmaceutical Quality System 药品质量体系》建立合适的质量管理体系;医疗单位建议按照最新的《医疗机构制剂配制质量管理规范》执行并建立合理的质量管理体系;根据建立的质量管理体系,对产品制备全过程进行监督和控制,以确保产品质量符合预定标准或用途要求。

5 FMT 产品的质量控制

为保证 FMT 产品的安全性、有效性及稳定性,确保临床治疗效果,FMT 产品生产制备需建立配套的质量控制实验室与对应的标准操作规程,包括适当的人员、场地、设施、设备以及标准规范的取样、检验和留样流程,以保证原料、辅料、包装材料、工艺用水、生产车间、中间产品及终产品等与建立的标准规范一致。质量控制是保证产品质量的重要环节,为 FMT 的应用提供重要的技术依据^[29]。

5.1 原料的质量控制 FMT 的原料为供体粪便, 基于其生物学特性, 其主要控制参见供体管理章节; 但用于生产的粪便, 还需进行胃肠道病原微生物检测, 确保其未携带致病性的细菌、寄生虫、病毒等病原微生物, 具体为弯曲菌(空肠、结肠、乌普萨拉弯曲菌)、艰难梭菌(毒素 A/B)、类志贺邻单胞菌、沙门菌、志贺菌、副溶血性弧菌、霍乱弧菌、创伤弧菌、小肠结肠炎耶尔森菌、致泻性大肠埃希菌(EPEC、STEC、大肠埃希菌 O157、EIEC)、隐孢子虫、轮状病毒 A 群、诺如病毒 G I/G II 型、腺病毒 F40/41。

5.2 辅料和包装材料的质量控制 FMT 产品生产过程中使用的冷冻保护剂、空心胶囊、瓶子等辅料和包装材料, 应进行供应商管理, 确保物料品质; 建立流程, 对采购、验收、检测、入库、存储和发放等进行管理; 检测需参照《中国药典》或是国家相关法规、指南进行, 优先使用药用级别的物料; 如使用的物料无法达到药用级别, 需进行质量风险评估。

5.3 工艺用水和生产车间的质量控制 工艺用水建议使用纯化水及以上级别的水, 并按 GMP 和《中国药典》的要求, 定期进行性状、酸碱度、硝酸盐、亚硝酸盐、氨、电导率、易氧化物或总有机碳、不挥发物、重金属、微生物限度等项目的监测, 确保用水水质符合要求, 如果使用的是商业化的工艺用水, 应进行供应商管理; 生产车间的环境应匹配生产需求, 按照 GMP 的要求, 定期进行温湿度、压差、风速/风量、尘埃粒子、浮游菌、沉降菌、表面菌等项目的监控; 确保生产环境符合使用要求, 避免出现产品污染。

5.4 产品的质量 每批产品均需进行质量检测并填写检验记录, 检验方法应完成分析方法学验证或为经典检测方法, 以确保检验数据准确、可靠; 行业内常见检测项目: (1) 外观、性状: 通过目测检查产品状态是否符合预定标准, 是否有异常情况。(2) 装量: 为保证产品均匀、稳定, 可参照《中国药典》中的要求, 根据产品的标示装量设定对应的标准, 并进行检测。(3) 崩解时限: 如果产品为胶囊, 应进行崩解时限检查, 需符合《中国药典》崩解时限检查法中的要求; 崩解系指口服固体制剂在规定条件下全部崩解溶散或成碎粒, 除不溶性包衣材料或破碎的胶囊壳外, 应全部通过筛网。如有少量不能通过筛网, 但已软化或轻质上漂且无硬心, 可作符合规定论。(4) 致病菌检查: 不得检出致病性的细菌、寄生虫、病毒等病原微生物, 具体为弯曲菌(空肠、结肠、乌普萨拉弯曲菌)、艰难梭菌(毒素 A/B)、

类志贺邻单胞菌、沙门菌、志贺菌、副溶血性弧菌、霍乱弧菌、创伤弧菌、小肠结肠炎耶尔森菌、致泻性大肠埃希菌(EPEC、STEC、大肠埃希菌 O157、EIEC)、隐孢子虫、轮状病毒 A 群、诺如病毒 G I/G II 型、腺病毒 F40/41。(5) 微生物计数: 该项目为 FMT 产品的重要指标, 衡量产品含量; 目前业内没有统一、法定的检测方法, 常见的方法有培养法、流式细胞检测等; 微生物计数检测方法的原理、对象不一, 结果存在差异, 在标识微生物计数检测结果或是标准时, 需给出对应的检测方法。①培养法是经典的微生物检测方法, 也是各行业优先选择的方法; FMT 一般采用厌氧培养, 计数的是产品内的厌氧活菌菌落总数, 单位为 CFU; 若为肠菌菌液, 其活菌数应 $\geq 1.0E+8$ CFU/mL, 若为肠菌胶囊, 胶囊内容物中的活菌数应 $\geq 1.0E+8$ CFU/g。②流式细胞检测是一项快速检测分析单个粒子多物理特性的高技术, 通常指细胞通过激光束时在液流中的特性, 即粒子的大小、密度或是内部结构, 以及相对的荧光强度。通过光电系统记录细胞的散射光信号和荧光信号, 可得知细胞特性, 在 FMT 领域, 可以用于产品的活菌计数和总菌计数; 其计数的是产品中所有的活细胞或是总细胞数, 单位为个; 若为肠菌菌液, 其活菌数应 $\geq 1.0E+9$ 个/mL, 若为肠菌胶囊, 胶囊内容物中的活菌数应 $\geq 1.0E+9$ 个/g。(6) 留样: 关键物料和产品应进行留样, 放置到产品有效期后 1 年, 可用于产品质量追溯或调查; 留样需建立标准操作规程, 数量应足够调查使用, 并定期进行检查。

共识制定专家组

顾问: 朱宝利(中国科学院微生物研究所)、谭晓华(深圳市第三人民医院)、吴清明(武汉科技大学医学部)、邓启文(华中科技大学协和深圳医院)

组长: 郭智(华中科技大学协和深圳医院)、王强(武汉科技大学医学部)

执笔人: 郭智(华中科技大学协和深圳医院)、郝义(深圳未知君生物)、王强(武汉科技大学医学部)

成员(以姓氏拼音排序): 安江宏(深圳市第三人民医院)、曹宇(北京大学深圳研究生院)、陈丰(华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院)、陈鹏(解放军总医院第七医学中心)、程新生(华中科技大学协和深圳医院)、邓启文(华中科技大学协和深圳医院)、付广(武汉科技大学附属普仁医院)、郭智(华中科技大学协和深圳医院)、郝义(深圳未知君生物)、胡碧川(襄阳市中西医结合医院)、胡伟国(武汉大学人民医院)、黄

慧强(中山大学附属肿瘤医院)、黄振倩(广州医科大学附属第一医院)、黄自明(湖北省妇幼保健院)、姜义荣(东莞市人民医院)、黎国伟(惠州市中心人民医院)、李小安(绵阳市中心医院)、李志铭(中山大学附属肿瘤医院)、梁婧(山东第一医科大学第一附属医院)、刘加军(中山大学附属第三医院)、刘黎琼(华中科技大学协和深圳医院)、刘哲(天津大学医学部)、刘智(华中科技大学生命科学与技术学院)、毛欣(中国初级卫生保健基金会)、孟景晔(深圳市第三人民医院)、皮国良(湖北省肿瘤医院)、乔明强(山西大学生命科学学院)、瞿嵘(惠州市中心人民医院)、任骅(南方科技大学医学院)、邵亮(武汉大学中南医院)、史渊源(深圳北京中医药大学研究院)、舒榕(湖北省第三人民医院)、孙志强(南方医科大学深圳医院)、谭晓华(深圳市第三人民医院)、谭验(深圳未知君生物)、唐菲菲(北京大学人民医院)、王建勋(深圳北京中医药大学研究院)、王钧(香港大学深圳医院)、王亮(首都医科大学附属北京同仁医院)、王强(武汉科技大学医学部)、魏振军(解放军总医院第二医学中心)、吴清明(武汉科技大学医学部)、吴为(广东省公共卫生研究院)、夏忠军(中山大学附属肿瘤医院)、解奇(山东第一医科大学第一附属医院)、徐明明(华中科技大学协和深圳医院)、许晓军(中山大学附属第七医院)、杨文燕(山东第一医科大学)、殷茜(华中科技大学同济医学院附属同济医院)、余治健(华中科技大学协和深圳医院)、张宏艳(解放军总医院第五医学中心)、张幸鼎(中山大学医学院)、张钰(南方医科大学南方医院)、张育葵(湖北中医药大学附属襄阳市中医医院)、朱宝利(中国科学院微生物研究所)、朱艳丽(新乡医学院第一附属医院)、周浩(华中科技大学同济医学院附属协和医院)

参考文献

- [1] 李有宸, 高海女, 李兰娟. 从粪菌移植到下一代益生菌: 挑战与进展[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(2): 223-227.
LI Youchen, GAO Hainv, LI Lanjuan. From fecal microbiota transplantation to next-generation probiotics: challenges and progress[J]. Chin J Microecol, 2022, 34(2): 223-227. (in Chinese)
- [2] 周小珏, 冯婧, 张安仁, 等. 粪菌移植途径的临床应用现状[J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(9): 1104-1108.
ZHOU Xiaojue, FENG Jing, ZHANG Anren, et al. Clinical application of fecal bacteria transplantation approaches[J]. Chin J Microecol, 2021, 33(9): 1104-1108. (in Chinese)
- [3] Allegretti JR, Mullish BH, Kelly C, et al. The evolution of the use of faecal microbiota transplantation and emerging therapeutic indications[J]. Lancet, 2019, 394(10196): 420-431.
- [4] Paratore M, Santopaolo F, Cammarota G, et al. Fecal microbiota transplantation in patients with HBV infection or other chronic liver diseases: update on current knowledge and future perspectives[J]. J Clin Med, 2021, 10(12): 2605.
- [5] Nassar ST, Tasha T, Desai A, et al. Fecal microbiota transplantation role in the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review[J]. Cureus, 2022, 14(10): e29968.
- [6] Malard F, Gaugler B, Mohty M. Faecal microbiota transplantation in patients with haematological malignancies undergoing cellular therapies: from translational research to routine clinical practice[J]. Lancet Haematol, 2022, 9(10): e776-e785.
- [7] Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients[J]. Science, 2021, 371(6529): 602-609.
- [8] Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients[J]. Science, 2021, 371(6529): 595-602.
- [9] 中国抗癌协会肿瘤与微生态专业委员会. 肠道微生态与造血干细胞移植相关性中国专家共识[J]. 国际肿瘤学杂志, 2021, 48(3): 129-135.
Tumor and Microecology Committee of China Anti-cancer Association. Chinese expert consensus on the understanding of the correlation between intestinal microecology and hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Int Oncol, 2021, 48(3): 129-135. (in Chinese)
- [10] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组. 中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识(Ⅲ): 急性移植物抗宿主病(2020 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(7): 529-536.
Stem Cell Application Group of the Chinese Medical Association Hematology Branch. Chinese consensus of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological disease (Ⅲ): acute graft-versus-host disease (2020)[J]. Chin J Hematol, 2020, 41(7): 529-536. (in Chinese)
- [11] Wang J, Liang J, He MX, et al. Chinese expert consensus on intestinal microecology and management of digestive tract complications related to tumor treatment (version 2022)[J]. J Cancer Res Ther, 2022, 18(7): 1835-1844.
- [12] 邵亮, 郭智. 粪菌移植在治疗急性移植物抗宿主病中的作用[J]. 临床内科杂志, 2023, 40(1): 15-19
SHAO Liang, GUO Zhi. Role of fecal microbiota transplantation in the treatment of acute graft-versus-host disease[J]. J Clin Intern Med, 2023, 40(1): 15-19. (in Chinese)
- [13] Biliński J, Jasiński M, Basak GW. The role of fecal microbiota transplantation in the treatment of acute graft-versus-host disease[J]. Bio-medicines, 2022, 10(4): 837.
- [14] Shouval R, Geva M, Nagler A, et al. Fecal microbiota transplantation for treatment of acute graft-versus-host disease[J]. Clin Hematol Int, 2019, 1(1): 28-35.
- [15] Nicco C, Paule A, Konturek P, et al. From donor to patient: collection, preparation and cryopreservation of fecal samples for fecal microbiota transplantation[J]. Diseases, 2020, 8(2): 9.
- [16] Terveer EM, van Beurden YH, Goorhuis A, et al. How to: establish and Run a stool bank[J]. Clin Microbiol Infect, 2017, 23(12): 924-930.
- [17] Cammarota G, Ianaro G, Kelly CR, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice[J]. Gut, 2019, 68(12): 2111-2121.
- [18] Ramai D, Zakhia K, Ofosu A, et al. Fecal microbiota transplantation: donor relation, fresh or frozen, delivery methods, cost-effectiveness[J]. Ann Gastroenterol, 2019, 32(1): 30-38.
- [19] Gharaibeh RZ, Jobin C. Microbiota and cancer immunotherapy: in search of microbial signals[J]. Gut, 2019, 68(3): 385-388.

(下转第 717 页)

道菌群变化会对妊娠结局造成较大影响, 临床应加强重视并采取有关干预对策。

参考文献

- [1] Gante I, Melo L, Dores J, et al. Metformin in gestational diabetes mellitus: predictors of poor response[J]. *Eur J Endocrinol*, 2018, 178(1): 129-135.
- [2] Johnson EL, Heaver SL, Walters WA, et al. Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95(1): 1-8.
- [3] 王凤华, 刘静, 邓秋菊, 等. 血浆 20 种氨基酸水平与糖尿病风险的关联研究[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(4): 270-277.
WANG Fenghua, LIU Jing, DANG Qiujun, et al. Study on the association between plasma levels of 20 amino acids and risk of diabetes mellitus[J]. *Chin J Intern Med*, 2019, 58(4): 270-277. (in Chinese)
- [4] 中华医学会妇产科学分会产科学组, 中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组. 妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(8): 561-569.
Obstetrics and Gynecology Section of the Chinese Medical Association, Chinese Society of Perinatal Medicine, Diabetes in Pregnancy Collaborative Group. Guidelines for the diagnosis and treatment of gestational diabetes mellitus (2014)[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2014, 49(8): 561-569. (in Chinese)
- [5] Malaza N, Masete M, Adam S, et al. A systematic review to compare adverse pregnancy outcomes in women with pregestational diabetes and gestational diabetes[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(17): 10846.
- [6] Rowan JA, Rush EC, Plank LD, et al. Metformin in gestational diabetes: the offspring follow-up (MiG TOFU): body composition and metabolic outcomes at 7 - 9 years of age[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2018, 6(1): e000456.
- [7] Huang L, Thonusin C, Chattipakorn N, et al. Impacts of gut microbiota on gestational diabetes mellitus: a comprehensive review[J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60(5): 2343-2360.
- [8] Al Bataineh MT, Dash NR, Bel Lassen P, et al. Revealing links between gut microbiome and its fungal community in Type 2 diabetes mellitus among Emirati subjects: a pilot study[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 9624.
- [9] Huang L, Sililas P, Thonusin C, et al. Association between gut microbiota and insulin therapy in women with gestational diabetes mellitus[J]. *Can J Diabetes*, 2022, 46(8): 804-812.
- [10] 刘芊若, 方子晨, 吴宇涵, 等. 肠道菌群及其代谢产物与妊娠期糖尿病相关性的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2023, 43(5): 641-647.
LIU Qianruo, FANG Zichen, WU Yuhuan, et al. Research progress on the correlation between intestinal flora and its metabolites and gestational diabetes mellitus[J]. *J Shanghai Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2023, 43(5): 641-647. (in Chinese)
- [11] 李华, 曾智华, 陈秋玲, 等. 妊娠期糖尿病孕妇肠道菌群的组成变化及临床意义[J]. *中国妇幼健康研究*, 2023, 34(3): 41-47.
LI Hua, ZENG Zhihua, CHEN Qiuling, et al. Changes in the composition and clinical significance of intestinal flora in pregnant women with gestational diabetes mellitus[J]. *Chin J Woman Child Health Res*, 2023, 34(3): 41-47. (in Chinese)
- [12] 李森, 杨睿悦, 于冬妮, 等. 中国成人代谢综合征患者血清氨基酸水平改变的初步分析[J]. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(1): 61-65.
LI Miao, YANG Ruiyue, YU Dongni, et al. Preliminary analysis of changes in serum amino acid levels in Chinese adults with metabolic syndrome[J]. *Chin J Diabetes*, 2022, 30(1): 61-65. (in Chinese)
- [13] 王忠德, 岳欣, 牟凯. 妊娠糖尿病患者糖负荷前后血清氨基酸与胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能的相关性研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(17): 25-29.
WANG Zhongde, YUE Xin, MOU Kai. Correlation of serum amino acids with insulin resistance and pancreatic β -cell function in gestational diabetes mellitus patients before and after glycemic load[J]. *China J Mod Med*, 2020, 30(17): 25-29. (in Chinese)
- [14] 舒杨, 张春燕, 蒋涛, 等. 2 型糖尿病患者的氨基酸及酰基肉碱代谢水平分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(10): 1665-1669.
SHU Yang, ZHANG Chunyan, JIANG Tao, et al. Analysis of amino acid and acylcarnitine metabolism levels in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Lab Immunoas & Clin Med*, 2021, 28(10): 1665-1669. (in Chinese)
- [15] 叶柳静, 江欣, 魏小清. 妊娠期糖尿病患者氨基酸和酰基肉碱水平变化及胰岛素抵抗的关系[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(4): 364-367.
YE Liujing, JIANG Xin, WEI Xiaoqing. Relationship between changes in amino acid and acylcarnitine levels and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus[J]. *J Clin Exp Med*, 2021, 20(4): 364-367. (in Chinese)
- 收稿日期: 2023-11-03 修回日期: 2023-11-24 本文编辑: 吴英韬
- *****
- (上接第 711 页)
- [20] Aggarwala V, Mogno I, Li ZH, et al. Precise quantification of bacterial strains after fecal microbiota transplantation delineates long-term engraftment and explains outcomes[J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(10): 1309-1318.
- [21] He RQ, Li P, Wang JF, et al. The interplay of gut microbiota between donors and recipients determines the efficacy of fecal microbiota transplantation[J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2100197.
- [22] Vindigni SM, Surawicz CM. Fecal microbiota transplantation[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46(1): 171-185.
- [23] Wilson BC, Vatanen T, Cutfield WS, et al. The super-donor phenomenon in fecal microbiota transplantation[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 2.
- [24] Duvallet C, Zellmer C, Panchal P, et al. Framework for rational donor selection in fecal microbiota transplant clinical trials[J]. *PLoS One*, 2019, 14(10): e0222881.
- [25] Zhang BZ, Yang LX, Ning HB, et al. A matching strategy to guide donor selection for ulcerative colitis in fecal microbiota transplantation: meta-analysis and analytic hierarchy process[J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(1): e0215921.
- [26] Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2017, 389(10075): 1218-1228.
- [27] Tian HL, Ding C, Gong JF, et al. Treatment of slow transit constipation with fecal microbiota transplantation: a pilot study[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(10): 865-870.
- [28] Costello SP, Hughes PA, Waters O, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on 8-week remission in patients with ulcerative colitis: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2019, 321(2): 156-164.
- [29] Bokoliya SC, Dorsett Y, Panier H, et al. Procedures for fecal microbiota transplantation in murine microbiome studies[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 711055.
- [30] Perez E, Lee CH, Petrof EO. A practical method for preparation of fecal microbiota transplantation[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1476: 259-267.
- [31] Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice[J]. *Gut*, 2017, 66(4): 569-580.
- 收稿日期: 2023-04-24 修回日期: 2023-05-26 本文编辑: 李兵