

糞便微生物移植 (Fecal Microbiota Transplantation) 於困難梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium difficile*) 腸炎的應用

李倩瑜¹ 鄭舒倖² 鄭健禹²

衛生福利部桃園醫院 ¹小兒科 ²感染科

近年來由於抗生素使用導致困難梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium difficile*) 腸炎的病例在歐美各地有逐漸增加的趨勢，約有 10~25% 的病人有復發的情形，疾病嚴重度也有加重的趨勢，因此增加治療上的困難，除了使用適當的抗生素治療病人外，以糞便微生物移植來治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌疾病，有不錯的成功率，甚至有可能成為以後治療首次困難梭狀芽孢桿菌腸炎的主要方式。（**感控雜誌 2014:24:26-32**）

關鍵詞： 反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎、糞便微生物移植

困難梭狀芽孢桿菌是一種厭氧、會形成孢子的革蘭氏陽性桿菌，它是偽膜性大腸炎主要的致病菌，也是造成院內感染腹瀉的主因，在歐美已成為最重要的院內感染致病菌之一[1]。困難梭狀芽孢桿菌腸炎的危險因子常與廣效性抗生素使用、病人年齡（長者）以及住院時間長有關[2]。將近一半的病人於住院四週以後，身上會有困難梭狀芽孢桿菌移生[3,4]；約四分

之一的病人感染困難梭狀芽孢桿菌之後會復發，進而增加醫療成本[5]，每一次復發會增加下次再復發的機會[2]，治療的難度會隨著復發次數增加，甚至對標準治療無效，一項古老但近來常用的另類療法--糞便菌叢移植 (fecal microbiota transplantation)，成為治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎的契機。

民國 102 年 10 月 30 日受理
民國 102 年 12 月 9 日接受刊登

通訊作者：李倩瑜
通訊地址：桃園市中山路1492號
連絡電話：(03) 3699721 轉3508

糞便微生物移植 (Fecal Microbiota Transplantation) 的歷史

治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎，首要在於重建健康的腸道微生物相。回溯歷史，遠在 1,700 年前的中國就已經使用糞便移植來治療嚴重腹瀉的病人[6]。而在近代 1958 年，美國的 Eiseman 與同事第一個以較現代的方法--糞便灌腸的方式，成功治療一位嚴重偽膜性大腸炎的患者[7]。1988 年澳洲雪梨的消化疾病中心，以糞便微生物移植方式成功治癒一位不明病因大腸炎患者[8]。自此之後，有很多文獻報告以糞便微生物移植方式治療發炎性腸道疾病成功的經驗[9,10]，目前全球以糞便微生物移植治療困難梭狀芽孢桿菌腸炎的經驗也超過 500 例[11]。

腸道微生物

微生物被視為一種組織而非器官，其組成與功用非常複雜，有將近 100 兆 (10^{14}) 隻細菌在人體中，約為人體細胞的 10 倍之多[12]，大部份細菌都住在大腸中，只有約 30% 的細菌可以被培養出來[13]，精細分析其中種類，一個人的腸道裡約有 500~1,500 種細菌[14-16]。這些微生物對宿主的益處包括合成維生素，發酵食物中的碳水化合物，代謝膽汁及宿主的激素，形成屏障與腸道中病菌競爭並將其排除，與腸道的上皮細胞交互作用

影響免疫系統發展與成熟[17-19]。

抗生素的使用導致腸道微生物改變，生態失調，進而影響腸道屏障功能，導致黏膜免疫缺陷，因此環境中的腸道病菌如困難梭狀芽孢桿菌，有機會在腸道滋生致病[20]。

反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎目前的致病機轉並不十分清楚，可能跟困難梭狀芽孢桿菌的孢子持續存在[21]，產生梭狀芽孢桿菌毒素抗體不足[22]，或持續性腸道生態失調缺乏多樣性菌叢 (如 *Bacteroides*, *Firmicutes*) 有關[23,24]。困難梭狀芽孢桿菌腸炎傳統治療是使用如 metronidazole、vancomycin、fidaxomicin 或 refaximin 等藥物，然而抗生素使用導致更進一步的腸道微生物相損傷，復發率至少 20%，反觀移植健康的糞便微生物可以矯正腸道生態失調的問題，提供正常的屏障以及功能性的動態平衡。

糞便微生物移植治療成效

大部分糞便移植的臨床試驗並沒有做對照組分析，成功率高達九成[11]；第一個以隨機對照試驗研究糞便微生物移植治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎成效，發表在 2013 年 1 月份新英格蘭雜誌[25]，使用鼻十二指腸管灌健康者的糞便這一組病人，初次管灌即有 81% (13/16) 的病人在 10 週之內沒有再復發，成功治癒，相較於使用口服 vancomycin 500 mg 14 天者，成功率只有 31%。管灌健康者糞

便這一組病人並無特殊副作用產生(除了施行管灌當天93%有腹瀉,31%有腹絞痛,但症狀3小時後即消失)。經過移植之後2週,發現病人糞便裡的微生物多樣性已接近贈與者的糞便(*Bacteroidetes* 及 *Clostridia* class IV and XIVa 增加,而 *Proteobacteria* 減少)。最近加拿大 Thomas Louise 在 2013 年 IDWeek (Abstract 89, presented on October 3, 2013) 發表使用濃縮的糞便細菌膠囊來治療至少有四次困難梭狀芽孢桿菌腸炎的病人,共有 27 人參與試驗,每人服用 24~34 顆膠囊(細菌來自家庭成員),所有人均痊癒,且沒有人復發,病人滿意度甚佳。分析腸道菌叢, *Bacteroides*、*C. coccoides*、*C. leptum*、*Prevotella*、*Bifidobacteria* 及 *Desulfovibrio* 均有增加,而 *Enterobacteriaceae* 及 *Veillonella* 菌落減少,無困難梭狀芽孢桿菌被分離出來。

糞便微生物移植準備

許多研究移植的糞便微生物來自受移植者的健康家人,需事先篩檢排除腸道致病菌或寄生蟲如(困難梭狀芽孢桿菌、幽門螺旋桿菌、梨型鞭毛蟲、小隱孢子蟲)及病毒如肝炎病毒和愛滋病毒。接著糞便需以生理食鹽水、牛奶或水稀釋並攪拌均勻,之後經過過濾便可使用於移植工作。即便每個研究在獲得、篩選及準備糞便的過程有所不同,甚至給予的劑量及次

數也有所差異,但是在治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎成功率都超過八成[26]。此外,Hamilton 與其團隊則提出用標準化方式冷凍欲移植的糞便微生物,仍可成功,並且可以提供他人使用,免去要篩檢每個捐贈者的困擾,也較符合經濟效益。

細菌治療 (bacteriotherapy)

對許多人而言,用他人的糞便來治療疾病仍令人無法接受,如果能找出哪些細菌負責抑制困難梭狀芽孢桿菌,再利用這些細菌取代糞便來做細菌治療,免於暴露在糞便有致病菌或病毒的風險中,則病人的接受度應該會更高。然而,糞便中有上千種細菌存在,要找出會抑制困難梭狀芽孢桿菌的細菌是一項浩大的工程。在一項老鼠感染困難梭狀芽孢桿菌的實驗中發現,這些老鼠的腸道微生物中 *Firmicutes* (特別是 *Lachnospiraceae*) 減少,而 *Proteobacteria* 增加[28];而許多研究也發現,反覆感染困難梭狀芽孢桿菌的病人經過糞便移植治療之後, *Firmicutes* (特別是 *Lachnospiraceae*) 增加,而 *Proteobacteria* 減少[25,29]。Petrof 等人則是第一位成功利用特定的細菌群來治療反覆感染困難梭狀芽孢桿菌腸炎的團隊[30],他們先將糞便培養並純化出其中 33 種細菌,再藉由大腸鏡植入 2 位病人的大腸中,經過 6 個月追蹤,並無困難梭狀芽孢桿菌再復發的

情形，這是令人振奮的發現，將來需更多的研究來證實使用特定的細菌治療可以跟糞便微生物移植一樣有效。

糞便微生物移植方法

移植方法包括：由鼻十二指腸管灌、經大腸鏡導入、灌腸及最新的製成膠囊吞服。

研究發現，經由下消化道給予的效果比經由上消化道（鼻十二指腸管灌）給予的效果來的好（治療成功率 89~95% vs. 76~82%）[26,31]。經由上消化道給予有時會有嘔吐的症狀，還有病人觀感的問題，另外由上消化道給予屬於下消化道的菌叢，違背正常的生理且易攪亂局部菌落的平衡。

糞便微生物移植安全性

較令人在意的是移植的糞便菌叢裡是否有傳染性病菌在其中，因此需篩檢健康贈予者有無潛在疾病，糞便篩檢有無寄生蟲及蟲卵，以及如幽門螺旋桿菌、梨型鞭毛蟲、小隱孢子蟲、環孢子蟲等孢子蟲，困難梭狀芽孢桿菌及腸內致病菌等，血液則篩檢 HIV、human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2、Hepatitis A、B and C、Cytomegalovirus、Epstein-Barr virus、*Treponema pallidum* 等[32]。而在執行鼻十二指腸管插入或大腸鏡導入時亦有其技術上的風險。

雖然糞便微生物移植可以效應用

於治療困難梭狀芽孢桿菌腸炎，但是長期的結果仍未知。腸道的微生物跟一些腸道疾病有關如肥胖，發炎性腸道疾病及大腸癌[33-35]，某些神經及自體免疫疾病也與腸道微生物改變有關連性[36-38]，這些的相關性還未有致病機轉可以解釋，雖然做移植前會篩檢重要的病原菌，但是一些潛在的可能致病菌並無法完全篩檢出，因此長期的移植結果與副作用仍有待觀察。

結論

糞便微生物移植是目前治療反覆性困難梭狀芽孢桿菌腸炎最有效的方法，甚至如果得到更多臨床證明，有機會成為第一線治療方式。然而有許多問題仍待解答，例如糞便微生物抑致困難梭狀芽孢桿菌的機轉並不清楚，尚未有明確的指引建議最適當的移植方式，如何製造出最合適的移植菌叢，安全性的議題，以及長期性的療效等等，均有待收集更多臨床的證據才能有結論；也須透過腸道菌叢微生物基因體的分析，進一步了解腸道微生物結構與功用，以解答複雜的人與微生物關係。

參考文獻

1. Miller BA, Chen LF, Sexton DJ, et al: Comparison of the burdens of hospital onset, healthcare facility-associated *Clostridium difficile* Infection and of health care-associated infection

- due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011;32:387-90.
2. Kelly CP: Current strategies for management of initial *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Med* 2012;7 (Suppl 3):S5-10.
 3. Johnson S, Gerding DN: *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998;26:1027-34.
 4. Bartlett JG: *Clostridium difficile*: progress and challenges. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1213:62-9.
 5. Limbago BM, Long CM, Thompson AD, et al: *Clostridium difficile* strains from community-associated infections. *J Clin Microbiol* 2009;47:3004-7.
 6. Zhang F, Luo W, Shi Y, et al: Should we standardize the 1700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012;107:1755.
 7. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, et al: "Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis". *Surgery* 1958;44: 854-9.
 8. Borody TJ, Campbell J: Fecal microbiota transplantation: current status and future directions. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;5:653-5.
 9. Borody TJ, Warren EF, Leis S, et al: Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003;37:42-7.
 10. Borody TJ, Torres M, Campbell J, et al: Reversal of inflammatory bowel disease (IBD) with recurrent fecal microbiota transplants (FMT). *Am J Gastroenterol* 2011;106:S352.
 11. Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G: Fecal microbiota transplantation: indications, methods, evidence, and, future directions. *Curr Gastroenterol Rep* 2013;15:337.
 12. Savage DC: Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol*. 1977;31:107-33.
 13. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al: Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308:1635-8.
 14. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al: Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Pro Natl Acad Sci USA*. 2007;104:13780-5.
 15. Frank DN, Pace NR: Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008;24:4-10.
 16. Qin J, Li R, Raes J, et al: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59-65.
 17. Robison CJ, Bohannon BJ, Young VB: From structure to function: the ecology of host associated microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010;74:453-76.
 18. Lee YK, Mazmanian SK: Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science* 2010;330:1768-73.
 19. Sharma R, Young C, Neu J: Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:305879.
 20. Reid G, Younes JA, Van der Mei HC, et al: Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:27-38.
 21. Walters BA, Roberts R, Stafford R, et al: Relapse of antibiotic associated colitis: endogenous persistence of *Clostridium difficile* during vancomycin therapy. *Gut* 1983;24:206-12.
 22. Kyne L, Warny M, Qamar A, et al: Association between antibody response to toxin A and protection against recurrent *Clostridium difficile* diarrhoea. *Lancet* 2001;357:189-93.
 23. Tvede M, Rask-Madsen J: Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhea in six patients. *Lancet* 1989;1:1156-60.
 24. Chang JY, Antonopoulos DA, Kalra A, et al: Decreased diversity of the fecal Microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Infect Dis* 2008;197:435-8.
 25. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdrop M, et al: Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368:407-15.
 26. Gough E, Shaikh H, Manges AR: Systemic review of microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011;53:994-1002.

27. Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, et al: Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2012;107:761-7.
28. Reeves AE, Theriot CM, Bergin IL, et al: The interplay between microbiome dynamics and pathogen dynamics in a murine model of *Clostridium difficile* Infection. *Gut Microbes* 2011;2:145-58.
29. Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, et al: High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes* 2013;4:125-35.
30. Petrof E, Gloor G, Vanner S, et al: Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome* 2013;1:3.
31. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, et al: Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systemic review and metaanalysis. *Am J Gastroenterol* 2013;108:500-8.
32. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, et al: Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:1044-9.
33. DiBaise JK, Frank DN, Mathur R: Impact of the gut microbiota on the development of obesity: current concepts. *Am J Gastroenterol Suppl* 2012;1:22-7.
34. Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, et al: The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012;107:1452-9.
35. Dejea C, Wick E, Sears CL: Bacterial oncogenesis in the colon. *Future Microbiol* 2013;8:445-60.
36. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, et al: Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:16050-5.
37. Collins SM, Surette M, Bercik P: The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol* 2012;10:735-42.
38. De Leon LM, Watson JB, Kelly CR: Transient flare of ulcerative colitis after fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:1036-8.

Fecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infections

Chien-Yu Lee¹, Shu-Hsing Cheng², Jian-Yu Cheng²

Department of Pediatrics, Department of Internal Medicine, Tao-Yuan General Hospital, Ministry of Health And Welfare

Clostridium difficile is the causative agent of antibiotic-associated colitis that occurs when the normal intestinal tract flora colonization is disrupted by antimicrobial therapy. Since the early 2000s, *C. difficile* infections have become more frequent, severe, and refractory to standard therapies. *C. difficile* infection relapses occur in 10-25% of initially infected patients. Furthermore, multiple relapses in the same patient are common despite treatment with antibiotics (metronidazole or vancomycin). Fecal microbiota transplantation (FMT) has attracted great interest in recent years because of the growing epidemic of *C. difficile* infections, and it is now recommended for recurrent *C. difficile* infections. Many studies have reported FMT success rates of approximately 90% or more. In the future, after further refinement, FMT may be used following “first-time” *C. difficile* infections.

Key words: *C. difficile* infections; fecal microbiota transplantation