

基于阴道微生态评价系统的不孕女性阴道微生态分析*

郑 芬¹, 陈宇宁¹, 胡秀梅², 尹小毛³, 李相新^{1△}

(1. 佛山妇幼保健院检验科, 广东佛山 528000; 2. 南方医科大学附属南方医院检验科, 广东广州 510515;
3. 南方医科大学第五附属医院检验科, 广东广州 510515)

摘 要: **目的** 通过对不孕女性进行阴道微生态分析, 以了解不孕女性的阴道微生态状况, 指导临床合理诊治。 **方法** 采用阴道微生态评价系统对 1 440 例不孕患者(不孕组)进行阴道分泌物检测, 并以同期的 1 200 例育龄期体检女性(体检组)作为对照, 分析比较两组人群的微生态类型特点, 同时对不孕女性进行支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟球菌病原菌检测。数据采用 SPSS18.0 软件进行统计分析。 **结果** 不孕组女性的阴道微生态失调率(87.92%)高于体检组(72.17%), 差异有统计学意义($P < 0.05$); 细菌性阴道病(BV)、外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)、滴虫性阴道炎(TV)、需氧型阴道炎(AV)、BV 合并 VVC、BV 中间型合并 VVC 的检出高于体检组($P < 0.05$)。菌群正常, 功能下降的类型更易在体检组人群中检出($P < 0.05$)。原发性不孕与继发性不孕中各种微生态类型检出率差异无统计学意义($P < 0.05$)。不孕女性各类病原菌中以解脲支原体检出率(35.97%)最高。 **结论** 女性不孕症与阴道微生态失调有一定的相关性, 纠正女性阴道微生态失调对于女性不孕症的诊治具有重要的意义。

关键词: 阴道微生态; 不孕; 细菌性阴道病; 外阴阴道假丝酵母菌病; 滴虫性阴道炎

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.22.006 **中图法分类号:** R71, R446.5

文章编号: 1673-4130(2019)22-2713-04 **文献标识码:** A

Vaginal microecological analysis of infertile women based on the vaginal microecological evaluation system*

ZHENG Fen¹, CHEN Yuning¹, HU Xiumei², YIN Xiaomao³, LI Xiangxin^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Foshan Maternal and Child Health Care Hospital, Foshan, Guangdong 528000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China;
3. Department of Clinical Laboratory, the Fifth Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

Abstract: Objective To understand the status of vaginal microecology of infertile women and guide clinical diagnosis and treatment by analyzing vaginal microecology of infertile women. **Methods** The vaginal microecological assessment system was used to detect the vaginal secretions of 1 440 infertile patients (infertility group). A total of 1 200 women of reproductive age who underwent physical examination were chosen as the control (physical examination group). The characteristics of the microecological types of the two groups were analyzed and compared. Meanwhile, mycoplasma, chlamydia trachomatis and neisseria gonorrhoeae were detected in infertile women. SPSS18.0 software was used for statistical analysis of the data. **Results** The rate of vaginal microecological disorder in infertile women (87.92%) was higher than that in the physical examination group (72.17%), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The positive rate of bacterial vaginosis (BV), vulvovaginal candidiasis (VVC), trichomoniasis vaginitis (TV), aerobic vaginitis (AV), BV combined VVC, BV intermediate type combined VVC in the infertility group were higher than those in the physical examination group ($P < 0.05$). The type with normal bacterial flora but decreased function was more likely to be detected in the physical examination group ($P < 0.05$). There was no difference in the detection rate of various microecological types between primary infertility and secondary infertility ($P < 0.05$). The de-

* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81601819), 佛山市卫生和计划生育局医学科研项目(20180128), 佛山市科技局科技攻关项目(2017AB002991), 广东省自然科学基金项目(2017A030310019)。

作者简介: 郑芬, 女, 主管技师, 主要从事细菌耐药性研究。 △ 通信作者, E-mail: gdfsylxx@163.com。

本文引用格式: 郑芬, 陈宇宁, 胡秀梅, 等. 基于阴道微生态评价系统的不孕女性阴道微生态分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(22): 2713-2716.

tection rate of ureaplasma urealyticum (35.97%) was the highest among all kinds of pathogens in infertile women. **Conclusion** Female infertility and vaginal microecologic disorders have a certain correlation, correcting the microecological imbalance is of great significance to the diagnosis and treatment of female infertility.

Key words: vaginal microecology; infertility; bacterial vaginosis; vulvovaginal candidiasis; trichomoniasis vaginitis

近年来,随着人们生活观念的转变及二胎政策的放开,不孕症的发病率呈逐年上升的趋势,严重影响家庭和社会和谐。不孕症是多种病因或疾病导致的结果,生殖道感染是其中一个重要的病因,尤其是沙眼衣原体、解脲支原体的感染被认为与女性不孕关系密切^[1-2]。生殖道感染是阴道微生态失调的一个严重后果,因此,从阴道微生态的角度关注不孕女性这一特殊群体显得十分必要,本文将基于阴道微生态评价系统对不孕女性进行阴道微生态分析,探讨微生态异常与不孕的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 7—12 月来佛山妇幼保健院生殖中心就诊的不孕女性 1 440 例(排除男性因素引起的不孕)作为不孕组,年龄 20~42 岁。要求月经干净至少 3 d,检查前 1 周内未使用过阴道药物,未做阴道冲洗。以同期 1 200 例育龄期的体检女性作为对照。

1.2 标本采集 将窥阴器用生理盐水湿润后放入阴道内,暴露出子宫颈,用无菌棉拭子于阴道上 1/3 侧壁取分泌物,置于试管内。不孕女性同时另取宫颈分泌物拭子 3 只,分别用于检测支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟球菌培养。

1.3 仪器与试剂 所用仪器为阴道炎自动检测工作站+镜检系统(bPR-2014,江苏硕世);试剂为阴道炎联合检测试剂盒(江苏硕世)和革兰染色液(珠海贝索)。

1.4 检测方法

1.4.1 阴道微生态检测 形态学检测:取阴道分泌物拭子涂片、干燥、固定、革兰染色,利用镜检系统油镜下观察,通过观察菌群的密集度、多样性、优势菌、炎性反应状况等指标,评价阴道微生态。评价标准参见《阴道微生态评价的临床应用专家共识》^[3]。功能学检测:按照试剂说明书和仪器说明书,取 1 软管滴加 5~6 滴稀释液,将阴道分泌物棉签置于软管稀释液中,通过反复旋转棉签(3~4 次)使棉签上附着的分泌物释放入稀释液内,然后挤干棉签头,得到样本液。将样本液置于阴道炎工作站进行功能学指标的检测。功能学检测指标包括过氧化氢、白细胞酯酶、唾液酸苷酶、β-葡萄糖醛酸酶、乙酰氨基葡萄糖苷酶、pH 值。

1.4.2 支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟菌检测 1 支宫颈分泌物拭子采用液体培养法分离鉴定解脲支原体和人型支原体;1 支宫颈分泌物拭子采用免疫层析法进行沙眼衣原体检测;1 支宫颈分泌物拭子采用淋

球菌选择平板进行淋病奈瑟球菌培养,所有操作规程均按照说明书进行。

1.5 阴道微生态诊断标准^[3] (1)正常阴道微生态的定义为:阴道菌群的密集度为Ⅱ~Ⅲ级,多样性为Ⅱ~Ⅲ级,优势菌为乳杆菌,阴道 pH 值为 3.8~4.5,乳杆菌功能正常(H₂O₂ 分泌正常),白细胞酯酶等阴性。当阴道菌群的密集度、多样性、优势菌、阴道分泌物白细胞计数等炎性反应指标、pH 值和乳杆菌功能任何 1 项出现异常,即诊断为微生态失调状态。(2)细菌性阴道病(BV):Nugent 评分≥7 分。(3)外阴阴道假丝酵母菌病(VVC):镜检找到芽生孢子或菌丝。(4)滴虫性阴道炎(TV):镜检见到滴虫。(5)需氧型阴道炎(AV):临床特征及 Donder's 评分≥3 分。(6)细胞溶解性阴道病(CV):镜检发现大量乳酸杆菌,阴道鳞状上皮细胞溶解后残存的上皮细胞碎片和裸核,pH 值 3.5~4.5,过氧化氢分泌正常,排除其他病原体感染,如 VVC、BV。

1.6 统计学处理 数据采用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 女性阴道微生态的检测指标结果 比较发现 2 组人群的各项指标差异均有统计学意义($P < 0.05$),不孕组各指标异常的发生率高于体检组。总体来看不孕组微生态的失调率也高于体检组($P < 0.05$)。1 440 例不孕女性和 1 200 例育龄期体检女性阴道微生态的检测指标结果见表 1。

表 1 2 组人群阴道微生态检测指标形态学和功能学结果比较(n)

检测指标	不孕组 (n=1 440)	体检组 (n=1 200)	χ^2	P
菌群密集度异常(Ⅰ级和Ⅳ级)	200	120	9.239	0.002
菌群多样性异常(Ⅰ级和Ⅳ级)	240	120	24.702	<0.01
优势菌异常	770	505	33.999	<0.01
Nugent 评分 4~6 分	240	140	13.280	<0.01
Nugent 评分 7~10 分	111	48	15.903	<0.01
念珠菌	420	200	56.915	<0.01
滴虫	75	24	18.667	<0.01
pH 值>4.6	690	408	52.183	<0.01
过氧化氢分泌不足	1 260	840	123.200	<0.01
白细胞酯酶(+)	1 224	836	89.769	<0.01

续表 1 2 组人群阴道微生态检测指标形态学和
功能学结果比较

检测指标	不孕组 (n=1 440)	体检组 (n=1 200)	χ^2	P
唾液酸苷酶(十)	111	48	15.903	<0.01
β -葡萄糖醛酸酶(十)	14	0	11.729	<0.01
乙酰氨基葡萄糖苷酶(十)	420	200	56.915	<0.01
微生态失调	1 266	866	104.486	<0.01

2.2 2 组人群的微生态类型结果 不孕组 BV 中间型和单纯优势菌异常的检出率与体检组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);不孕组 BV、VVC、TV、AV、BV+VVC 及 BV 中间型+VVC 的检出率高于体检

组($P<0.05$);菌群正常,功能下降的类型更易在体检组人群中检出($P<0.05$)。原发性不孕与继发性不孕各种微生态类型检出率差异无统计学意义($P<0.05$)。2 组人群的微生态类型结果见表 2。

2.3 原发不孕和继发不孕支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟菌检测结果 继发性不孕解脲支原体的检出率高于原发性不孕($P<0.05$),但解脲支原体合并人型支原体、人型支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟菌的检出率与原发性不孕比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。各类病原菌中不孕女性解脲支原体检出率最高,为 35.97%。原发不孕和继发不孕支原体、沙眼衣原体和淋病奈瑟菌检测结果见表 3。

表 2 2 组人群阴道微生态类型结果比较[n(%)]

微生态类型	不孕组(n=1 440)					体检组 (n=1 200)	χ^2	P
	原发不孕 (n=490)	继发不孕 (n=950)	χ^2	P	合计 (n=1 440)			
正常微生态	56(11.43)	118(12.42)	0.300	0.584	174(12.08)	334(27.83)	104.486	<0.01
菌群正常,功能下降	101(20.61)	181(19.05)	0.499	0.480	282(19.58)	321(26.75)	19.075	<0.01
BV	24(4.90)	41(4.32)	0.254	0.614	65(4.51)	35(2.92)	4.582	0.032
VVC	135(27.55)	239(25.16)	0.963	0.326	374(25.97)	164(13.67)	61.085	<0.01
TV	24(4.90)	51(5.37)	0.145	0.703	75(5.21)	24(2.00)	18.667	<0.01
AV	4(0.82)	10(1.05)	0.187	0.665	14(0.97)	0(0.00)	11.729	0.001
BV 中间型	45(9.18)	107(11.26)	1.481	0.224	152(10.56)	140(11.67)	0.821	0.365
菌群异常,以革兰阴性或 阳性小杆菌为优势菌	50(10.20)	70(7.37)	3.403	0.065	120(8.33)	84(7.00)	1.632	0.201
菌群异常,以革兰阳性球菌为 优势菌	12(2.45)	38(4.00)	2.320	0.128	50(3.47)	49(4.08)	0.677	0.411
BV+VVC	12(2.45)	34(3.58)	1.335	0.248	46(3.19)	13(1.08)	13.351	<0.01
BV 中间型+VVC	27(5.51)	61(6.42)	0.467	0.494	88(6.11)	36(3.00)	14.153	<0.01

表 3 不孕女性阴道其他致病微生物分布情况[n(%)]

致病微生物	原发不孕(n=490)	继发不孕(n=950)	合计(n=1 440)	χ^2	P
解脲支原体	157(32.04)	361(38.00)	518(35.97)	4.984	0.026
人型支原体	10(2.04)	13(1.37)	23(1.60)	0.930	0.335
解脲支原体+人型支原体	14(2.86)	30(3.16)	44(3.06)	0.099	0.753
沙眼衣原体	25(5.10)	57(6.00)	82(5.69)	0.485	0.486
淋病奈瑟菌	3(0.61)	7(0.74)	10(0.69)	0.073	0.787

3 讨 论

女性阴道微生态体系由阴道解剖构造、阴道微生态菌群及内分泌系统的调节功能组成。女性的阴道微生态体系是一个独特的、动态变化的体系,其维持稳态的核心内容就是阴道内生活的正常微生物菌群。健康女性阴道内存在着不同种类的微生物群落,如乳酸杆菌、葡萄球菌、链球菌、肠球菌、念珠菌及大肠埃希菌等,这些菌群相互协调、相互制约,对阴道正常微

生态和菌群的维持发挥关键作用^[4]。近年来,阴道微生态学已成为一门独立的学科并日益受到人们的关注,经过微生物学基础研究及临床妇产科感染性疾病的临床研究,阴道微生态评价体系及阴道炎诊断平台已建立,可客观地评价女性阴道微生态环境,为临床诊断、治疗及评估预后提供充足依据^[5]。

随着不孕症发病率的逐年升高,不孕症越来越受到大家的关注,生殖医学成为专家学者们探讨的一个

热门学科,关于不孕症的各方面研究不断增多。研究发现生殖道感染是女性的常见病,也是导致育龄期女性不孕的重要原因^[1,6-10]。反复的下生殖道感染易引发上行感染,导致子宫内膜炎、输卵管炎、盆腔炎等,引起解剖结构的改变,如输卵管阻塞、积水和盆腔黏连,更可通过多种方式逃避机体的免疫机制,诱发机体免疫损伤,产生抗精子抗体和抗子宫内膜抗体,从而在多个环节影响精卵结合或不利于受精卵着床,而引起女性不孕。因此,研究不孕女性的阴道微生态特点可为合理预防和治疗不孕症提供科学依据。

本研究中不孕女性的各项阴道微生态检测指标包括菌群密集度、多样性、优势菌、Nugent 评分、pH 值、真菌和滴虫的检出率及功能酶与育龄期体检人群的差异均有统计学意义,总体来看不孕组阴道微生态失调率(87.92%)高于体检组(72.17%),差异有统计学意义($P < 0.05$),考虑微生态失衡是女性不孕的重要因素,这与陈敏等^[2]、郑阳等^[11]、谭文举等^[12]的研究结果一致,所以在诊断和治疗不孕症的同时,通过阴道微生态系统评价可协助临床筛出病前状态者和隐匿感染者。

本研究中不孕女性的正常菌群的检出率远低于体检人群,差异有统计学意义($P < 0.05$)。阴道正常菌群的优势菌为乳酸杆菌,乳酸杆菌可使糖原转变为乳酸,将阴道的 pH 值维持在 3.8~4.2,酸性环境可抑制致病微生物的繁殖;乳酸杆菌还可分泌产生过氧化氢,对细菌有杀伤作用。另外,乳酸杆菌对阴道壁黏膜的黏附作用强,可阻止致病微生物的入侵,减少阴道炎的发生。不孕女性由于乳酸杆菌的优势地位被打破,尤其是有功能的乳酸杆菌的减少,导致阴道的保护屏障减弱或缺失,引起病原菌的繁殖,从而引发生殖道炎症。阴道炎症可引起精子前向运动受阻、甚至死亡;宫颈炎症阻碍精子进入宫腔,子宫内膜炎可引起子宫内膜的容受性差,胚胎不易着床;输卵管炎症可造成输卵管闭锁、狭窄,使精卵无法结合;炎症还可造成输卵管黏膜破坏,或盆腔炎症引起盆腔黏连,影响输卵管蠕动及拾卵功能。本研究中不孕女性 VVC 检出率为 25.97%,BV 的检出率为 4.51%,滴虫的感染率为 5.21%,需氧菌性阴道炎检出率为 0.97%,BV 合并 VVC 的感染率为 3.19%,BV 中间型合并 VVC 的感染率为 6.11%,均高于育龄期的体检女性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

虽然秦晓梅等^[13]对 150 例不孕女性进行阴道微生态分析发现不孕女性和育龄期健康女性的阴道微生态状况、BV 患病率及阴道菌群分布比较差异无统计学意义,但笔者认为这可能是样本量较小引起的偏差,尽管阴道微生态异常可能不是女性不孕的完全独

立因素,但是微生态异常常与生殖内分泌、免疫异常相关联,促使不孕症的发展和形成。

4 结 论

综上所述,当从微生态的角度利用阴道微生态评价体系重新审视不孕症患者时发现,极大部分患者阴道处于微生态异常状态,极小部分处于正常状态。提示临床上应重视阴道微生态环境的变化,以阴道微生态状况为基础,将杀灭微生物作为主要治疗方针变为有针对性的杀菌、修复和恢复阴道微生态的新型治疗模式,从而为保护生育功能起到积极作用。

参考文献

- [1] 王纳,任春娥,姜爱芳,等. 女性生殖道感染与不孕关系的临床分析[J]. 潍坊医学院学报, 2016, 38(2): 155-157.
- [2] 陈敏,徐素君,雷丽红,等. 育龄妇女阴道的微生态状态与不孕症的关系[J]. 中国现代医生, 2017, 55(18): 55-57.
- [3] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道微生态评价的临床应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(10): 721-723.
- [4] 马立艳,孙伟. 阴道正常菌群构成及其影响因素的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(24): 3599-3601.
- [5] 牛华,曹研,陈铃,等. 阴道微生态综合评价在阴道感染中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 751-752.
- [6] 冯宪凌. 1 080 例女性不孕症相关病因调查分析[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(25): 4216-4218.
- [7] 陈曦,刘朝晖. 生殖道感染与不孕不育关系的研究进展[J]. 中国妇产科临床杂志, 2016, 17(6): 565-567.
- [8] TSEVAT D G, WIESENFELD H C, PARKS C, et al. Sexually transmitted diseases and infertility[J]. Am J Obstet Gynecol, 2017, 216(1): 1-9.
- [9] VAN O N, DE S P, MEYS J, et al. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2013, 28(7): 1809-1815.
- [10] DURUGBO I I, NYENGIDIKI T K, BASSEY G, et al. Bacterial vaginosis among women with tubal factor infertility in Nigeria[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2015, 131(2): 133-136.
- [11] 郑阳,刘旭华,刘志磊. 郑州地区 560 例不孕症妇女阴道微生态分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(9): 1294-1296.
- [12] 谭文举,吴文琪,韩雯雯. 女性不孕症患者阴道微生态状况研究[J]. 安徽医学, 2016, 37(11): 1340-1343.
- [13] 秦晓梅,孙成华. 不孕症女性阴道微生态状况分析[J]. 中国性科学, 2016, 25(8): 88-90.