

· 论 著 ·

# 子宫切除术宫颈去留对阴道微生态的影响

姚 祺, 黄美霞, 闵美蕙, 李一妹

**[摘要]** **目的** 分析不同子宫切除术对阴道微生态的影响,探讨不同术式对阴道免疫功能的影响。**方法** 将 300 例微生态评价正常的子宫疾病患者,按手术方式分为全子宫切除组(100 例)、次全子宫切除组(100 例)及非子宫切除组(100 例)。对三组患者术后阴道微生态系统进行再评价及对比,同时观察三组外周血清 T 细胞 17(Th17)的变化情况。**结果** ①三组患者阴道微生态系统均产生不良变化(菌群密集度及多样性),其中全子宫切除组表现较为明显( $P < 0.05$ ),非子宫切除组影响程度最小;②非子宫切除中以乳酸杆菌计数为优势菌病例占 93%,次全子宫切除及全子宫切除组分别为 89% 及 60%;三组乳酸杆菌比例差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );③全子宫切除组和次全子宫切除组病原菌检出率无明显差异,但与子宫非切除术组之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );④全子宫切除组阴道分泌物标本涂片革兰染色 Nugent 评分明显高于次全子宫切除组及非子宫切除组,三组比较具有统计学差异( $P < 0.05$ );⑤全子宫切除组术后阴道 pH $\leq 4.5$  患者比例明显高于其他两组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );⑥全子宫切除组阴道微生态功能正常为 40%,次全子宫切除组为 71%,非子宫切除组为 91%,三组结果统计有统计学意义( $P < 0.05$ );⑦非子宫切除组辅助性 Th17 百分率低于两组子宫切除组( $P < 0.01$ ),其中全子宫切除组升高最明显。**结论** 全子宫切除术对阴道微生态的影响较次子宫切除、非子宫切除明显,其可能与阴道免疫防御功能降低有关。

**[关键词]** 子宫切除;宫颈去留;阴道微生态;辅助性 T 细胞 17

**[中图分类号]** R713.42 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2015.03.007

## The impacts of maintain or remove of cervix in hysterectomy on vaginal microecosystem

YAO Qi, HUANG Mei-xia, MIN Xian-hui, LI Yi-mei. Department of Gynecology and Obstetrics, 95 Clinical Branch, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Putian, Fujian 351100, China

**[Abstract]** **Objective** To analyze the impacts of different hysterectomy on vaginal microecosystem, simultaneously discuss the influences of different operative methods on vaginal immune function. **Methods** 300 cases of normal microecological evaluation of hysterectomy patients in our hospital were included into the study, divided into panhysterectomy group (100 cases), subtotal hysterectomy group (100 cases) and the hysterectomy group (100 cases), according to the hysterectomy methods, reassessed and compared postoperative vaginal microecosystem of the three groups of patients, and observed the changes of Th17 cells in peripheral serum of the three groups. **Results** ①The vaginal microecosystem in three groups of patients generated disturbing changes, the changes on intensity and diversity of vaginal flora in the vaginal microecosystem of panhysterectomy group were most significant than the other groups ( $P < 0.05$ ); ②The gram-positive big bacillus were the dominant bacteria in the vaginal bacteria of the three groups, then was gram-positive coccus, the quantity of gram-positive big bacillus of the panhysterectomy group were significantly more than he other groups ( $P < 0.05$ ); ③The pathogen distribution differences of postoperative candida and trichomonas vaginalis in the three groups were with statistical significance ( $P < 0.05$ ); ④Vaginal smear gram staining Nugent scores of specimens in the patients with panhysterectomy were significantly higher than he other groups with significant differences ( $P < 0.05$ ); ⑤The proportion of the postoperative patients with vaginal pH $\leq 4.5$  in the subtotal hysterectomy group was obviously inferior to the patients with panhysterectomy, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ); ⑥The vaginal microecological function of the panhysterectomy group was 40%, that of subtotal hysterectomy group was 71%, the results of the three groups were with statistical significant differences ( $P < 0.05$ ); ⑦Flow cytometry detection were used to detect CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> in different groups of vaginal secretions, percentage of CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> cell in the subtotal hysterectomy group was significantly inferior to ( $P < 0.01$ ) of panhysterectomy group. **Conclusion** The impacts of panhysterectomy on vaginal microecosystem is more obvious than hysterectomy, it may be associated with the decrease of vaginal immune defense function.

**[Key words]** hysterectomy; maintain or remove of cervix; vaginal microecosystem; Th17

阴道内的正常微生物菌群具有一定的抗原性,可激活机体的特异性及非特异性免疫系统以抵挡外界微生物侵袭<sup>[1]</sup>,T 细胞 17(Th17)是近年发现的

作者单位: 351100 福建莆田,南京军区福州总医院 95 临床  
部妇产科

通讯作者: 黄美霞, E-mail: meixia49@sina.com

一种新的不同于 Th1、Th2 的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群,是招募中性粒细胞的主要调节者。因此我们设想:子宫切除术对患者阴道微生态环境的影响是否与 Th17 变化有关?为了证实这一设想,我们观察了 200 例不同子宫切除术和 100 例非子宫切除术患者,以期为恢复阴道微生态环境提供意见,报告如下。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 2011 年 1 月-2014 年 9 月 300 例因子宫良性疾病接受子宫手术患者纳入研究,其中,子宫肌瘤 234 例,子宫腺肌瘤 50 例,功能失调性子宫出血 16 例。根据手术方式分为全子宫切除组(100 例)、次全子宫切除组(100 例)及非子宫切除组(100 例)。所有患者均获得随访。300 例术前均阴道分泌物微生态评估显示正常,年龄 40~55(43.2±5.6)岁。本研究方案经过医院伦理委员会审查批准,所有患者均签署知情同意书。三组患者在年龄、病程、病种等方面比较差异均无统计学意义( $P$ 均>0.05),具有均衡性和可比性。

**1.2 排除标准**<sup>[2]</sup> ①有自身免疫性疾病并发症者;②严重肝脏、肾脏、或心功能异常者;③有影响阴道微生态的行为;④合并恶性肿瘤及重症感染者。

**1.3 主要试剂和仪器** 厌氧发生器、厌氧袋、哥仑比亚、沙保罗、RS、ANA 培养基(英国 OXOID 公司)。Rapid ID32A、PI Coryne APINH、API 50CHL 及其他细菌鉴定条购于梅里埃公司。四甲基联苯胺(TMB)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 酶购于上海国药集团化学试剂有限公司。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 鉴定培养基制作: MRS 琼脂培养基中加入 0.25 mg/mL TMB 和 0.01 mg/ml 辣根过氧化物酶(HRP)。

## 1.4 检查方法

**1.4.1 阴道微生态检测方法** 用无菌刮板刮取阴道侧壁上 1/3 处分泌物,用无菌长棉签将分泌物分装于两根无菌管内,对其中一无菌管内加入 0.5 mL 的生理盐水混匀,制作一份涂片后在光镜下(400 倍)观察优势病菌以及滴虫的数量及比例。再制作一份涂片进行革兰(Gram)染色法染色,将固定后结晶紫液中染色 45 s,用 0.01MPBS 冲洗干净,再用革兰碘 60 s,在碘丙酮中分化直至涂片无色透明,再用 0.01MPBS 冲洗干净后于 1% 中性红染核 60 s,再用 0.01MPBS 冲洗干净后置于显微镜下检测阴道微生态。另一无菌管使用 pH3.8~5.4 精密试纸测定阴道分泌物 pH 后用于检查阴道微生物功能(唾液酸苷酶、白细胞酯酶、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),所有操作均按照说明书进行。

## 1.4.2 阴道微生态检测内容

**1.4.2.1 阴道微生态衡量标准**<sup>[3-4]</sup> ①阴道菌群的密集度为 II~III 级,阴道菌群多样性为 II~III 级,优势病菌为乳酸杆菌(乳酸杆菌功能正常即 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 阳性),清洁度为 1 度, pH < 4.5; ②阴道菌群的密集度、多样性、优势病菌种类、清洁度及 pH 值中的一项出现异常均视为阴道微生态失调。

**1.4.2.2 革兰染色后显微镜检测** ①菌群密集度:将油镜下每视野平均细菌数分为 I~IV 级,具体分级内容: I 级:1~10 个细菌; II 级:11~100 个细菌; III 级:101~1000 个细菌; IV 级:1001 个细菌以上; ②菌群多样性:根据油镜下每视野可被辨识的细菌菌群数作为分级的标准,具体如下: I 级:1~3 种细菌; II 级:4~6 种细菌; III 级:7~9 种细菌; IV 级:10 种细菌以上; ③优势菌:阴道分泌物标本中分布最多的病菌; ④病原微生物:主要是真菌菌丝和(或)滴虫; ⑤采用 Nugent 评分法对革兰染色图片进行评分,将评分≥7 的涂片定义为 BV(+); ⑥阴道微生态功能测定:采用郑州安图生物有限公司生产的阴道炎五联检测试剂盒分别检测过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、唾液酸苷酶和白细胞脂酶 3 项功能。

**1.4.2.3 Nugent 评分法** 取新鲜阴道分泌物进行革兰染色涂片,由微生物室在油镜下观察细菌形态并进行评分。评分标准为:0~3 分为正常,4~6 分为临界范围,7~10 分为细菌性阴道病。

**1.5 Th17 细胞浓度检测** 采集不同组别阴道分泌物 1 mL,加入 100 μL 10% 多聚甲醛固定液进行固定,静置 20 s 后将上层悬浊液吸取至测定管内,加入 CD3-FITC、CD4-PE 和 CD8-APC 抗体,室温避光孵育 20 min,洗涤 2 次,用 1% 多聚甲醛固定,24 h 内使用流式细胞仪检测,CellQuest 软件分析。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 和 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。数据比较先进行正态性和方差齐性检验。若两者相符,采用单因素方差分析和 LSD- $t$  检验进行多样本均数间的两两比较。若有一项不符,则采用 Kruskal-Wallis H 检验和 Dunn's 多重检验对各组数据进行统计分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 阴道菌群密度和菌群多样性检出情况** 表 1、表 2 提示,三组患者选择不同手术方式后,患者阴道微生态阴道菌群密集度及多样性变化存在显著差异( $P < 0.05$ )。

表 1 三组患者阴道菌群密集度情况比较[ $n(\%)$ ]

菌群密集度	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
I 级	77(77)	5(5)	14(14)	0.01	5.29
II 级	23(23)	56(56)	48(48)		
III 级	0(0)	47(47)	24(24)		
IV 级	0(0)	2(2)	14(14)		

表 2 三组患者菌群多样性情况比较[ $n(\%)$ ]

菌群多样性	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
I 级	93(93)	7(7)	8(8)	0.01	6.17
II 级	7(7)	18(18)	79(79)		
III 级	0(0)	75(74)	13(13)		
IV 级	0(0)	0(0)	0(0)		

2.2 优势菌检出情况分析 表 3 提示,三组乳酸杆菌比例差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 3 三组患者优势菌情况比较[ $n(\%)$ ]

菌类	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
乳酸杆菌	93(93)	60(60)	89(89)	0.01	7.01
加德纳菌/类杆菌	7(7)	30(30)	11(11)		
不定弯曲小杆菌	0(0)	10(10)	0(0)		

2.3 病原菌检出情况 表 4 显示,关于病原菌感染情况,两组子宫切除术无明显差异,但与非子宫切除术组之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 4 两组患者病原菌情况比较[ $n(\%)$ ]

病原菌	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
假丝酵母菌	7(7)	25(25)	27(27)	0.05	6.99
阴道毛滴虫	0(0)	1(1)	1(1)		
无感染	93(93)	74(74)	73(73)		

2.4 Nugent 评分情况 表 5 表明,三组 Nugent 评分存在差异,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.5 阴道 pH 值情况 三组阴道 pH 值比例分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 6。

2.6 阴道微生态功能比较 阴道微生态功能三组结果统计差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 7。

2.7 阴道分泌物 Th17 细胞百分率比较 非子宫切

除组 CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> T 细胞百分率(0.71 ± 0.18)% 次全子宫切除组 CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> T 细胞百分率(0.93 ± 0.22)%,均显著低于全子宫切除组的(2.58 ± 0.48)%,三组比差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 5 三组患者 Nugent 评分[ $n(\%)$ ]

Nugent 评分	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
0~3 分	97(97)	0(0)	60(60)	0.05	6.99
4~6 分	3(3)	43(43)	36(36)		
7~10 分	0(0)	57(57)	4(4)		

表 6 三组患者 pH 值检出情况[ $n(\%)$ ]

pH 值	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
≤4.5	18(18)	60(60)	40(40)	0.05	6.37
>4.5	82(82)	40(40)	60(60)		

表 7 三组患者阴道微生物功能情况[ $n(\%)$ ]

阴道微生态 功能	组别			$P$	$\chi^2$
	非子宫 切除组	全子宫 切除组	次全子宫 切除组		
正常	91(91)	40(40)	71(71)	0.05	4.53
异常	9(9)	60(60)	29(29)		

### 3 讨论

近年来不断有临床数据<sup>[5-7]</sup>推翻次全子宫切除术存留子宫颈可增加宫颈残端癌这一说法,在巴氏涂片筛查及阴道镜技术不断推广下,残留宫颈可能导致脱垂、溢液等问题被一一否定,人们重拾对子宫切除宫颈去留利弊的探讨。

3.1 不同手术方式对阴道微生态的影响 随着阴道微生态观念日益深入,从整体观、平衡观评价术后阴道微生态的变化逐渐被人们所接受,因此我们认为从阴道微生态环境的角度评估不同手术方式的临床效果有较大可行性<sup>[8-10]</sup>。常规情况下阴道菌群分为常住菌、过路菌及偶见菌三种类别,其中乳酸杆菌是阴道菌群中的优势病菌,其可制约、协调不同菌群之间的生长,以维持阴道微生态的动态平衡。本研究结果显示三组患者阴道微生态系统均产生不良变化,但不同组别患者阴道菌群仍均以乳酸杆菌为优势菌群,其中非子宫切除术组患者乳酸杆菌的比例最大,次全子宫切除术组次之,这一结果提示保留子宫或子宫颈后阴道具有更多数量的乳酸杆菌,而

乳酸杆菌调节免疫功能的作用已被广泛认可,其对病原菌的生长具有更明显的抑制作用,可通过更强烈的竞争黏附病原菌达到维持阴道微生态菌群平衡的目的。另外产生这一结果还可能与子宫次全切除术保留宫颈管内部分内膜有关,宫颈管内膜由上皮细胞及间质细胞组成,可应激性代偿一部分子宫内分泌功能<sup>[11-13]</sup>。研究中我们得知子宫全切除术对患者阴道 pH 值影响明显较大,我们认为这主要是由于子宫全切除术后宫颈黏液快速减少甚至消失,宫颈黏液属于宫颈内碱性分泌物,具有调和阴道 pH 的作用,随着宫颈黏液减少阴道 pH 逐渐降低,非子宫切除术及次全子宫切除术由于保留了子宫颈,因此对阴道 pH 影响减小。

**3.2 不同手术方式对阴道分泌物的 Th17 细胞百分比的影响** 本课题对三组患者阴道分泌物的 Th17 细胞浓度进行检测,发现非子宫切除术组 CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>T 细胞百分率显著低于两组子宫切除术患者,而其中次全子宫切除组亦低于全子宫切除组。Th17 细胞是新近发现与 Th1 及 Th2 性质不同的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群,它在机体自身免疫及炎症调控环节充当主要调节者的角色,目前我们可知,子宫切除术后患者发生阴道慢性炎症的风险系数明显增高,白介素家族尤其是 IL-6 在炎性微环境中被趋化聚集,此时幼稚的 CD4<sup>+</sup>T 在 IL-6 的作用下分化为 Th17 细胞,同时分泌 IL-17(主要是指 IL-17A),IL-17 自 1995 年被首次发现以来,一直被认为是源自 T 淋巴细胞的促炎因子,当 IL-17 与相应受体结合后作用于机体多种类型细胞,诱导多种促炎因子分泌,如 TNF- $\alpha$ 、GM-CSF、IL-23,调节免疫应答过程,因此我们认为 Th17 细胞分化和免疫功能的调控研究具有重要的基础和临床应用价值。有文献认为子宫切除术后患者阴道免疫防御系统发生变化,我们进行相同指标检测时发现子宫全切除术患者术后 Th17 细胞百分率明显高于次全子宫切除术患者,说明宫颈的保留对阴道免疫因子的影响小。

通过本研究我们有理由相信宫颈去留与否确实对阴道微生态具有不同影响,子宫颈的保留对阴道的菌群、pH 值及免疫防御影响小,更有利于促进阴道微生态平衡的维持。在伦理学的指导下,本研究仅凭患者已接受的手术方式作为分组的标准,并未

进行随机分组,结果可能在一定程度上存在偏倚,另一方面可能此次入选样本量较小、随访时间较短有关,故有待于增加样本量,进一步扩大研究予以探讨子宫切除术中宫颈去留的利弊。但无论如何随着社会的发展、人们物质生活的提高、妇女寿命的延长和激素替代治疗的开展,人们对生活质量有了新的认识和要求,因此应提倡对每一例确需行子宫切除者,均应全面权衡并向患者说明宫颈去留的利弊,并由患者与医生共同决定术式,以提高患者对手术的满意度和术后生活质量。

#### 【参考文献】

- [1] 曾改鸿,王晓晖,王淑斐,等. 600 例体检妇女阴道微生态环境与年龄关系的分析[J]. 中国妇幼保健,2012,5(16):77-79.
- [2] 曾改鸿,何丽敏,黄春红,等. 600 例健康体检妇女阴道微生态状况分析[J]. 中国微生态学杂志,2012,33(6):112-115.
- [3] 闫翠云,张盼盼,张莉,等. 乳酸杆菌联合甲硝唑治疗细菌性阴道病的临床研究[J]. 中国药物与临床,2011,12(5):356-358.
- [4] 田小英,宋保志,廖秦平,等. 妇科恶性肿瘤术后阴道微生态状况分析[J]. 中国微生态学杂志,2013,5(10):789-791.
- [5] 陆大春,刘爱萍,蔡秀丽. 妊娠晚期外阴阴道假丝酵母菌病感染对妊娠结局的影响[J]. 公共卫生与预防医学,2013,25(2):568-569.
- [6] 李桂军,蒋琰琰,蔡文伟,等. 阴道微生态评价指标监测下治疗细菌性阴道病[J]. 中国微生态学杂志,2012,21(9):39-42.
- [7] 祝勤奋,李卫珍,张建英. 氯喹那多-普罗雌烯阴道片治疗细菌性阴道病 79 例临床分析[J]. 中国医师杂志,2012,11(12):29-32.
- [8] 刘纓,张建芳,豆卓越,等. 超高倍显微成像系统在阴道微生态评价中的应用[J]. 当代医学,2012,5(5):7-11.
- [9] 叶桂娥,刘木彪,黄宜娥,等. 2VVC 与 RVVC 患者治疗前后阴道菌群的对比研究[J]. 东南国防医药,2014,16(6):600-605.
- [10] 吴佳聪,彭丹红,任慕兰. 阴道微生态的研究进展[J]. 东南大学学报:医学版,2010,32(6):73-75.
- [11] 简华慧,韦秀玲. 桂西山区性病门诊应用阴道微生态调节治疗性病合并 RVVC 临床分析[J]. 右江民族医学院学报,2013,21(3):71-73.
- [12] 伍彩婵. 妊娠期阴道微生态状况的分析[J]. 中国当代医药,2013,4(33):56-58.
- [13] 李基明,黄草玲,李枝连,等. 4816 例妇科门诊妇女阴道微生态状况的分析[J]. 中国微生态学杂志,2011,3(9):49-52.

(收稿日期:2015-02-06;修回日期:2015-04-13)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)