临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001299

宫颈上皮内瘤变患者 HPV 感染与阴道微生态关系研究

秦　勤，常淑芳，孙江川，张永红，张潇元，丁钦容，胡亚玲，谢　兰
（重庆医科大学附属第二医院妇产科，重庆　40010）

【摘　要】**目的**：通过分析宫颈上皮内瘤变（cervical intraepithelial neoplasia，CIN）患者阴道微生态状况及宫颈锥切除术（loop electrosurgical excision procedure，LEEP）后人乳头瘤病毒（humn papilloma virus，HPV）持续感染与阴道微生态的关系，为 CIN 患者治疗中恢复阴道微生态提供依据。**方法**：回顾 2015 年 1 月至 2016 年 6 月在我院进行 LEEP 术的 CIN 患者治疗前后阴道微生态状况及治疗后 HPV 持续感染情况。**结果**：722 例患者中具有完整随访资料者 383 例，其中 84.3%（323/383）的患者阴道微生态异常，38.4%（147/383）的患者检测出明确致病菌，以细菌性阴道病（bacterial vaginosis，BV）为主。接受 LEEP 术治疗后，51 例患者 HPV 持续阳性，其中 76.5%（39/51）阴道微生态异常，BV 和 VVC 的感染率分别为 35.3%（18/51）和 9.8%（5/51）；332 例患者 HPV 转阴，其中 16.3%（45/332）微生态异常，BV 及外阴阴道假丝酵母菌病（vulvovvaginal candidiasis，VVC）的感染率分别为 6%（20/332）和 1.2%（4/332），与术后 HPV 持续阳性患者相比，其阴道微生态异常发生率及 BV、VVC 的感染率明显下降（$P<0.05$）。**结论**：合并 HPV 感染的 CIN 患者阴道微生态失调较为普遍，其中以 BV 感染最为常见，CIN 术后 HPV 持续阳性与阴道微生态异常及 BV、VVC 感染有关，提示清除致病菌、恢复阴道微生态在 CIN 治疗中十分重要。

【关键词】宫颈上皮内瘤变；人乳头瘤病毒感染；阴道微生态
【中国分类号】R711.7　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-03-09

Study of vaginal microenvironment and humn papilloma virus infection for patients with cervical intraepithelial neoplasia

Qin Qin, Chang Shufang, Sun Jiangchuan, Zhang Yonghong, Zhang Xiaoyuan, Ding Qinrong, Hu Yaling, Xie Lan
(*Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To analyze the vaginal micro-ecological condition and humn papilloma virus (HPV) infection for patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) before and after loop electrosurgical excision procedure (LEEP), and to provide references for restoring vaginal micro-ecological condition in the treatment of CIN. ***Methods***: Retrospective analysis has proceed in patients who was diagnosed as CIN with HPV infection and treated by LEEP from January 2015 to June 2016 at the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; their vaginal microflora and HPV infection were evaluated before and after LEEP. ***Results***: Totally 383 patients out of 722 patients have with complete follow-up data. Patients with vaginal microflora imbalance accounted for 84.3% (323/383), and patients with clearly diagnosed pathogens accounted for 38.3% (147/383); the incidences of bacterial vaginosis (BV), vulvovvaginal candidiasis (VVC), trichomonas vaginitis (TV) and aerobe vaginosis (AV) were 27.4% (105/383), 7.0% (27/383), 2.3% (9/383), 1.6% (6/383), respectively. After LEEP treatment, fifty-one of the 383 patients was positive for HPV persistently, and vaginal microflora imbalance accounted for 76.5% (39/51) for those HPV positive; the incidences of BV and VVC were 35.3% (18/51) and 9.8% (5/51), respectively. The rest of the 332 patients was negative for HPV, vaginal microflora imbalance accounted for 16.3% (45/332); the incidences of BV and VVC were 6% (20/332) and 1.2% (4/332), respectively. The incidence of imbalanced vaginal micro-ecological, BV and VVC was significantly higher in patients with HPV positive than in patients with HPV negative post-LEEP ($P<0.05$). ***Conclusion***: The imbalanced vaginal micro-ecological is prevalent in CIN patients with HPV infection, and the BV is the most common pathogens. HPV persistent infection for CIN post-LEEP is related to vaginal microflora imbalance and pathogens infection such as BV and VVC, which indicates that is very importent to restore the vaginal micro-ecological balance and clear the pathogens during CIN treatment.

【Key words】cervical intraepithelial neoplasia; humn papilloma virus infection; vaginal microenvironment

作者介绍：秦　勤，Email：284127742@qq.com，
研究方向：女性外阴及宫颈病变的研究和治疗。
通信作者：常淑芳，Email：shfch2005@163.com。
基金项目：重庆市卫计委重点资助项目（编号：2015ZDXM010）。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170609.1101.008.html（2017-06-09）

宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia,CIN)作为与宫颈浸润癌密切相关的一组癌前病变,与高危型人乳头瘤病毒(humn papilloma virus,HPV)持续感染密切相关。近年研究亦发现细菌性阴道病(bacterian vaginosis,BV)与 CIN 发生有关[1-3]。但 HPV 感染与阴道微生态的关系尚不十分清楚,特别是 CIN 患者宫颈锥切除术(loop electrosurgical excision procedure,LEEP)后 HPV 持续阳性与术后阴道微生态的关系尚未见文献报道。本研究通过对宫颈上皮内瘤变患者治疗前后阴道微生态情况进行分析,了解其与 HPV 感染以及与 CIN 发病的关系,从而为 CIN 治疗中恢复阴道微生态平衡提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月至 2016 年 6 月在我院宫颈病变中心进行 LEEP 术的 CIN 患者,共 722 例,符合纳入标准共 383 例;患者年龄 19~72 岁,平均年龄(42.3±5.3)岁。

纳入标准:①术前 1 个月内 HPV 筛查为高危型阳性;②宫颈活检结果均为 CIN;③具有手术前 1 个月内及手术后 3 个月内未行任何阴道炎相关治疗的阴道微生态结果及 HPV 随访资料;④术后 3 个月内禁欲。

排除标准:①病例资料不完整;②术后未禁欲;③妊娠及哺乳期;④使用糖皮质激素或伴随免疫抑制性疾病等影响阴道微生态及 HPV 结果者;⑤术后用乳酸杆菌或抗 HPV 药物治疗者。本研究经重庆医科大学伦理委员会审批同意进行。备注:LEEP 术前阴道微生态结果临床诊断为阴道炎者,给予药物治疗,炎症消失后再行 LEEP 术。

1.2 研究方法

1.2.1 阴道微生态研究方法 阴道分泌物取样:研究对象取膀胱截石位,用 2 根无菌棉签于其阴道侧壁上 1/3 取得阴道分泌物。

阴道微生态检测内容:①涂片后行革兰染色镜检;②用 pH3.8~5.0 精密试纸测定阴道 pH;③爱必维试剂盒行阴道微生物功能检测。

微生态诊断标准[4]:①阴道微生态正常:阴道菌群密集度Ⅱ~Ⅲ级,菌群多样性Ⅱ~Ⅲ级,优势菌为乳杆菌,且 H_2O^2(+),乳杆菌Ⅰ~Ⅱa 级,阴道 pH≤4.5;②阴道微生态失调:以上任何一项出现异常,均可诊断;③细菌性阴道病(bacterial vaginosis,BV):Nugent 评分≥7 分,线索细胞>20%;④外阴阴道假丝酵母菌病(vulvovaginal candidiasis,VVC):发现芽生孢子或菌丝;⑤滴虫性阴道炎(trichomonas vaginitis,TV):湿片法显微镜下见到阴道毛滴虫;⑥需氧菌性阴道病(aerobe vaginosis,AV):凝固酶(+)或 β-葡萄糖醛酸苷酶(+)。

1.2.2 LEEP 治疗方法 手术由固定医生操作,均在月经干净后 2~7 d 内进行,按 LEEP 刀标准操作流程对患者进行 LEEP 术,LEEP 手术范围由阴道镜所见决定,锥底切除超过病灶边缘 3~5 mm,锥长由转化区类型决定,Ⅰ型转化区:切除长度 5~10 mm,Ⅱ型转化区:切除长度 10~15 mm,Ⅲ型转化区:切除长度 15~25 mm。

1.2.3 HPV 检测方法 亚能 HPV(23 型)分型检测试剂盒、thermal cycler S1000 PCR 扩增仪和 Hybrimax 医用核酸分子快速杂交仪进行 HPV 分型检测。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理,计数资料以%表示,组间比较采用卡方检验,手术前后阴道微生态异常率比较采用配对卡方检验,检验水准 α=0.05

2 结 果

2.1 LEEP 术前阴道微生态总体情况

阴道微生态正常者占 15.7%(60/383),阴道微生态异常者占 84.3%(323/383)。

2.1.1 LEEP 术前阴道致病菌检出情况 38.4%的患者(147/383)检测出明确致病菌,其中 BV、VVC、TV、AV 的检出率分别为 27.4%(105/383)、7.0%(27/383)、2.3%(9/383)、1.6%(6/383)。

2.1.2 LEEP 术前阴道菌群及阴道 pH 情况 阴道菌群情况见表 1,菌群密集度及多样性异常率分别为 69.7%(267/383)、85.4%(327/383),乳酸杆菌分级异常率为 80.4%(308/383),阴道 pH>4.5 占 52.5%(201/383)。提示高危型 HPV 阳性患者乳酸杆菌分级、阴道菌群密集度、多样性以及阴道 pH 均发生了变化,主要以乳酸杆菌分级下降、pH 上升,阴道菌群密集度、多样性改变为主要表现。

表 1 383 例高危型 HPV 阳性的 CIN 患者 LEEP 术前阴道菌群密集度及菌群多样性(*n*,%)

Tab.1 Vaginal flora intensity and diversity in 383 cases with CIN of high-risk HPV positive before LEEP treatment(*n*,%)

分级	菌群密集度	菌群多样性
Ⅰ	143(37.3)	182(47.5)
Ⅱ	74(19.3)	38(9.9)
Ⅲ	42(11.0)	18(4.7)
Ⅳ	124(32.4)	145(37.9)

菌群密集度,根据在 100 倍油镜下观察到的每视野平均细菌数分为Ⅰ~Ⅳ级,Ⅰ级:1~9 个;Ⅱ级:10~99 个;Ⅲ级:100 个以上或满视野细菌;Ⅳ级:细菌聚集成团或密集覆盖黏膜上皮细胞。

菌群多样性,根据镜下的细菌种类数分为Ⅰ~Ⅳ级,Ⅰ级:1~3 种;Ⅱ级:4~6 种;Ⅲ级:7~9 种;Ⅳ级:10 种以上。

2.2 LEEP 术后阴道微生态变化情况

阴道微生态正常者占 75.7%(290/383),阴道微生态异常者占 24.3%(93/332),阴道微生态异常率较术前明显下降,两者进行配对卡方检验,差异有统计学意义(χ^2=89.758,P=0.000),见表 2。与 CIN 相关的 BV 感染率为 9.9%(38/383),较术前明显下降,差异有统计学意义(29.7% vs. 9.9%,χ^2=38.597,P=

0.000)；VVC 感染率为 2.3%(9/383)，较术前稍下降，差异也有统计学意义(7.0% vs. 2.3%，χ^2=9.444，P=0.023)。阴道菌群情况见表 3，菌群密集度及多样性异常率分别为 4.7%(18/383)和 1.6%(6/383)，乳酸杆菌分级异常率为 22.5%(86/383)，阴道 pH>4.5 占 4.2%(50/383)，均较术前明显下降，差异有统计学意义($\chi^2_{菌群密集度}$=346.448，P=0.000；$\chi^2_{菌群多样性}$=547.429，P=0.000；$\chi^2_{乳酸杆菌\ \text{Ⅱb-Ⅲ}}$=257.570，$P$=0.000；$\chi^2_{pH}$=135.114，$P$=0.000)。提示高危型 HPV 阳性的 CIN 患者经过 LEEP 术治疗后阴道微生态及菌群结构均发生了明显改变，主要表现在菌群密集度及多样性恢复，乳酸杆菌增加及阴道 pH 降低。

表 2　383 例高危型 HPV 阳性的 CIN 患者 LEEP 术前、术后阴道微生态情况（n）

Tab.2　Vaginal microenvironment condition in 383 cases with CIN of high-risk HPV positive before and after LEEP treatment（n）

术前	术后		合计
	正常	异常	
正常	55	5	60
异常	235	88	323
合计	290	93	383

表 3　383 例高危型 HPV 阳性的 CIN 患者 LEEP 术后阴道菌群密集度及菌群多样性（n，%）

Tab.3　Vaginal flora intensity and diversity in 383 cases with CIN of high-risk HPV positive after LEEP（n，%）

分级	菌群密集度	菌群多样性
Ⅰ	14(3.7)	4(1.1)
Ⅱ	260(67.9)	278(72.6)
Ⅲ	105(27.4)	99(25.8)
Ⅳ	4(1.0)	2(0.5)

2.3　LEEP 术后 HPV 感染与阴道致病菌检出情况

阴道微生态及病原菌感染情况见表 4，HPV 持续阳性患者阴道微生态的异常率明显高于 HPV 转阴患者，差异有统计学意义(76.5% vs. 16.3%，χ^2=87.156，P=0.000)；HPV 持续阳性患者 BV 及 VVC 检出率明显高于 HPV 转阴患者(35.3% vs. 6.0%，χ^2_{BV}=22.810，P=0.000；9.8% vs. 1.2%，χ^2_{VVC}=32.053，P=0.000)，提示 LEEP 术后 HPV 持续阳性与患者阴道微生态异常有关，其中 BV 及 VVC 感染可能是重要因素。

表 4　CIN 患者 LEEP 术后 HPV 感染与阴道微生态异常及病原菌感染（n，%）

Tab.4　Incident of abnormal vaginal microenvironment, pathogens and HPV infection of CIN patiens after LEEP treatment（n，%）

分组	阴道微生态异常率	BV检出率	VVC检出率
HPV阳性(n=51)	39(76.5)	18(35.3)	5(9.8)
HPV阴性(n=332)	54(16.3)	20(6.0)	4(1.2)
χ^2值	87.156	22.810	32.053
P值	0.000	0.000	0.000

2.4　LEEP 术后 HPV 感染与阴道菌群及 pH 情况

阴道菌群及 pH 的情况见表 5，术后 HPV 持续阳性患者阴道乳酸杆菌分级、菌群密集度、菌群多样性及 pH 异常率明显高于 LEEP 术后 HPV 转阴患者，差异有统计学意义($\chi^2_{菌群密集度}$=29.195，P=0.000；$\chi^2_{菌群多样性}$=15.031，P=0.000；$\chi^2_{乳酸杆菌\ \text{Ⅱb-Ⅱ-}_1}$=121.229，$P$=0.001；$\chi^2_{pH}$=91.753，$P$=0.000)，提示 LEEP 术后阴道菌群乳酸杆菌减少、菌群密集度及多样性异常及阴道 pH 上升与 HPV 持续感染有关。

表 5　CIN 患者 LEEP 术后 HPV 感染与阴道菌群异常及 pH 异常（n，%）

Tab.5　Abnormal vaginal flora, abnormal pH and HPV infection after LEEP treatment（n，%）

分组	菌群异常			pH>4.5(%)
	乳酸杆菌分级	菌群密集度	菌群多样性	
HPV阳性(n=51)	42(82.6)	10(19.6)	4(7.8)	22(43.2)
HPV阴性(n=332)	44(13.3)	8(2.4)	2(0.6)	28(8.4)
χ^2值	121.229	29.195	15.031	91.753
P值	0.001	0.000	0.000	0.000

3　讨　论

随着对人体微生态系统日益深入的研究，微生态平衡在维持人类健康方面的作用得到进一步重视。女性阴道微生态系统是人体四大生态系统中较为复杂的体系，其稳定性由阴道内的微生态菌群、阴道的解剖结构、阴道的局部免疫以及机体的内分泌功能共同维持。近年研究发现阴道微生态异常所致的生殖道炎症及外阴上皮内非瘤样病变密切相关[5]，其中阴道微生态异常导致的 BV 与 CIN 发病相关[6]。众所周知，高危型 HPV 的持续感染是 CIN 的主要致病原因，HPV 检测是 CIN 患者术后随访的重要指标，但 CIN 患者术后阴道微生态状况与 HPV 持续感染的关系目前尚不清楚。

本研究对 383 例高危型 HPV 阳性的 CIN 患者 LEEP 术前、术后 HPV 感染及阴道微生态变化情况进行了回顾性分析，结果发现术前阴道微生态异常率达 84.3%，38.4%的患者(147/383)检测出明确致病菌，其中 BV、VVC、TV、AV 检测率分别为 27.4%(105/383)、7.0%(27/383)、2.3%(9/383)、1.6%(6/383)，提示高危型 HPV 阳性的 CIN 患者阴道微生态异常导致的阴道炎较为常见，其中以 BV 感染为主，与文献报告基本一致[7-9]。其机制可能与 BV 患者的厌氧菌代谢可产生具有致癌作用的胺及硝基胺，高浓度磷脂酶 C 和 A2 存在于 BV 患者的阴道分泌物中，增加了 HPV 感染易感性有关[12]。

健康女性的阴道 pH=3.8~4.5，阴道酸性环境的

维持是乳酸杆菌和雌激素共同作用的结果，雌激素促进阴道上皮增生变厚并增加细胞内糖原含量，阴道上皮细胞分解糖原为单糖，阴道乳酸杆菌将单糖转化为乳酸，维持生殖道的酸性环境。正常情况下乳酸杆菌占阴道内所有常驻菌的 95%以上[13]，尤其是产生 H_2O_2 的乳酸杆菌，通过合成 H_2O_2 直接作用，或与其他过氧化物、卤化物联合作用，以抑制其他细菌的生长，达到维持正常阴道微生态环境，防止感染的目的[14]。本研究结果表明，HPV 阳性的 CIN 患者的阴道 pH>4.5 者占 56.8%，这与阴道乳酸杆菌检出低下相一致，pH 异常升高，减弱了阴道局部微环境对其他病原微生物的抑制作用，乳酸杆菌的检出率明显降低，其优势地位被其他菌群所替代，使其在数量上明显减少，即便是数量上不减少，其菌株和微生物特性也发生了根本的变化，造成了阴道微生态环境的失衡，增加了 HPV 易感性。

本研究同时对 CIN 患者 LEEP 术后阴道微生态情况进行了随访，结果发现术后阴道微生态异常率、BV 检出率较术前明显降低，菌群结构也发生了显著改变，主要表现在乳酸杆菌增加，菌群多样性、密集度恢复及阴道 pH 降低。这一方面可能与 LEEP 术前对有明确致病菌感染患者进行了临床治疗，使阴道微生态得以恢复，另一方面 LEEP 术对 CIN 病灶的去除可能对阴道微生态的恢复具有促进作用。

CIN 患者 LEEP 术后 HPV 转阴是治疗有效的重要标志，为明确术后 HPV 持续感染与阴道微生态的关系，本研究根据 LEEP 术后 HPV 检测结果将患者分为 HPV 持续阳性与 HPV 转阴组，对 2 组患者阴道微生态情况进行比较，术后 51 例患者 HPV 持续阳性，332 例患者 HPV 转阴，HPV 持续阳性患者阴道微生态异常率及 BV、VVC 感染率明显高于 HPV 转阴患者，提示阴道微生态的恢复及 BV、VVC 的清除与术后 HPV 转阴相关。在 HPV 持续阳性患者中，阴道微生态失调主要表现仍为阴道菌群中乳酸杆菌减少及菌群密集度、多样性异常，阴道 pH 升高，提示术后积极治疗 BV 及 VVC，补充乳酸杆菌，及时恢复阴道微生态平衡对 HPV 清除十分重要。由于本研究术后随访时间相对较短，阴道微生态异常对 CIN 术后病变残存及复发的关系尚需进一步。前瞻性研究，通过对患者术后阴道微生态进行调节，观察干预组与不干预组 HPV 转阴情况，以便进一步印证本文的结论。

综上所述，高危型 HPV 阳性的 CIN 患者的阴道微生态异常所致的阴道炎常见，尤其以 BV 感染为主；术后阴道微生态的恢复尤其是对 BV 及 VVC 的消除是 HPV 阴转的重要因素，故对 CIN 患者LEEP 术后要及时纠正阴道微生态失衡，补充乳酸杆菌，积极治疗合并的阴道炎，尤其是 BV 及 VVC 感染，对清除 CIN 术后 HPV 持续感染，预防 CIN 的复发具有重要临床价值。

参 考 文 献

[1] de Castro-Sobrinho JM, Rabelo-Santos SH, Fugueiredo-Alves RR, et al. Bacterial vaginosis and inflammatory response showed association with severity of cervical neoplasia in HPV-positive women[J]. Diagn Cytopathol, 2016, 44(2): 80-86.

[2] Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e45201.

[3] Nam KH, Kim YT, Kim SR, et al. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia[J]. J Gynecol Oncol, 2009, 20(1): 39-43.

[4] 廖秦平. 女性阴道微生态图谱[M]. 北京：北京民卫生出版社，2014.

[5] 谢 兰，常淑芳，孙江川，等. 435 例外阴上皮内非瘤样病变患者的阴道微生态状况分析[J]. 解放军医学杂志，2015，41(2)：136-139.

[6] Mongelos P, Mendoza LP, Rodriguez-Riveros, et al. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes and bacterial vaginosis presence in cervical samples from Paraguayan indigenous[J]. Int J Infect Dis, 2015, 39: 44-49.

[7] Lu H, Jiang PC, Zhang XD, et al. Characteristics of bacterial vaginosis infection in cervical lesions with high risk human papillomavirus infection[J]. 2015, 8(11): 21080-21088.

[8] Caixeta RC, Ribeiro AA, Segatti KD, et al. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women[J]. Diagn Cytopathol, 2015, 43(10): 780-785.

[9] Peres AL, Camarotti JR, Cartaxo M, et al. Molecular analysis and conventional cytology: association between HPV and bacterial vaginosis in the cervical abnormalities of a Brazilian population[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3): 9497-9505.

[10] Vieira-Baptista P, Lima-Silva J, Pinto C, et al. Bacterial vaginosis, aerobic vaginitis, vaginal inflammation and major Pap smear abnormalities[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016, 35(4): 657-664.

[11] 曾育英，钟继生. HPV 感染者阴道细菌感染特征分析[J]. 中国医学工程，2015，23(7)：27-28

[12] 朱丽红，袁宁霞，杜冬青. 281 例宫颈上皮内瘤变患者阴道微生态研究[J]. 中国妇幼保健，2013，28(19)：3144-3147.

[13] Zozaya-hindhliffe M, Lillis R, Martin DH, et al. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(5): 1812-1819.

[14] 陈国斌，王 颖，刘植华. 阴道乳酸杆菌与宫颈 HPV 感染及子宫颈癌前病变的相关性研究[J]. 中国现代药物应用，2016，10(12)：3-5.

（责任编辑：张辉洁）