

零污染空气净化对体外受精-胚胎移植妊娠结局的影响

吴远菲, 卢晓娟, 殷潜生, 罗铭, 吕庆庆, 徐火炬, 杨旭辉

(广东省妇幼保健院生殖健康与不孕症科, 广东 广州 511442)

【摘要】 目的 探索零污染空气净化系统对体外受精-胚胎移植(IVF-ET)妊娠结局的影响。方法 分别利用独立样本 t 检验比较我院生殖中心在应用零污染空气净化系统前(A组:尘埃及细菌滤过空气净化系统)及后(B组:零污染空气净化系统)两组周期不同年龄段(≥ 35 岁和 < 35 岁)的正常受精率、受精率、卵裂率、优胚率、临床妊娠率和早期流产率差异。结果 对于年龄 < 35 岁的IVF-ET患者,应用零污染空气净化系统前后两组不孕年限、平均获卵数、优质卵数和移植胚胎数比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),但实验组优胚率和卵裂率明显提高,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);显著提高临床妊娠率,降低早期流产率。对于年龄 ≥ 35 岁的IVF-ET患者,应用零污染空气净化系统前后两组不孕年限、平均获卵数、优质卵数、正常胚胎和移植胚胎数差异均无统计学意义($P > 0.05$),但实验组优胚率和卵裂率明显提高,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);显著提高临床妊娠率,降低早期流产率。结论 实验室和手术室使用零污染空气净化系统能明显改善IVF-ET胚胎发育潜能,提高临床妊娠率,有效降低早期流产率。

【关键词】 零污染;空气净化;体外受精-胚胎移植;妊娠率

【中图分类号】 R714.22 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)02-0222-04

Effect of non-pollution-air purification technology on the outcome of *in vitro* fertilization-embryo transfer. WU Yuan-fei, LU Xiao-juan, YIN Qian-sheng, LUO Ming, GUO Qing-qing, XU Huo-ju, YANG Xu-hui. Department of Reproductive Health and Infertility, Women and Children's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 511442, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To explore the effect of non-pollution-air purification technology on the outcome of *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET). **Methods** Two different kinds of air purification systems were used in IVF-ET (group A: the common air purification system; group B: non-pollution-air purification technology). The normal fertilization rate, fertilization rate, cleavage rate, high-quality embryo rate, pregnant rate and early abortion rate were compared between two groups and analyzed using independent sample t test according to age (cut off: 35 years) per group. **Results** For patients with less than 35 years old, there was no statistical difference between two groups for duration of infertility, the average number of retrieved oocytes, mature oocytes and the number of transplanted embryos ($P > 0.05$). The cleavage rate, high-quality embryo rate and clinical pregnant rate were significantly higher in group B than those in group A, and the early abortion rate was significantly lower in group B than that in group A ($P < 0.05$). For patients with more than 35 years old, there was no statistically significant difference between two groups for duration of infertility, the average number of retrieved oocytes, mature oocytes, normal embryos and transplanted embryos ($P > 0.05$). The cleavage rate, high-quality embryo rate and clinical pregnant rate were significantly higher in group B than those in group A, and the early abortion rate was significantly lower in group B than that in group A ($P < 0.05$). **Conclusion** In Reproductive Center, the non-pollution-air purification system in the laboratory and operation room can effectively improve air quality, significantly improve the clinical pregnant rate, and reduce the rate of early abortion rate.

【Key words】 Non-population; Air purification; *In vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET); Pregnant rate

目前,不孕不育人群的比例逐年攀升,体外受精-胚胎移植(IVF-ET)技术已成为其主要的治疗手段,而如何提高妊娠率是该技术的核心,其影响因素包括从临床到实验室的每个细微环节,胚胎实验室环境的改善是重中之重,包括空气质量、温度、湿度、噪音、光线等。因为在体内,配子或胚胎处于一个无光、恒温、恒湿、低氧的环境,母体的各种屏障过滤了

绝大多数潜在危害胚胎发育的干扰物,母体内分泌及子宫、输卵管微分泌环境进一步保证胚胎正常发育。而IVF-ET技术的发展使胚胎的早期发育完全暴露在实验室环境下,其有害成分诸如挥发性气体、二氧化碳中的杂质气体以及一次性用品和实验室清洗、消毒用品所释放的气体^[1-3]均可能对胚胎发育产生不利影响,导致其发育延迟及停滞。因此胚胎实

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:30900729)

通讯作者:杨旭辉。E-mail:yxshy52@163.com

实验室空气质量的改善是提高胚胎发育潜能及妊娠结局的关键因素之一^[4-5]。

空气净化是改善空气质量进而保证胚胎发育潜能的有效方式。它通过降低环境空气生物性、物理性和化学性污染物的浓度,使空气达到最大限度无菌、无毒的技术或方法^[6-8]。空气净化从单纯过滤除菌发展到兼具有除菌和过滤有害气体至允许范围的双重净化功能,其除菌、过滤级别包括千级(ISO6级)、万级(ISO7级)到十万级(ISO8级)。我院2014年1月之前采用传统的颗粒物净化技术,即只对空气中的以颗粒物状态存在的尘粒和微生物进行过滤除菌。2014年1月之后采用零污染空气净化技术,在过滤除菌的同时控制空气中的物理性、生物性和化学性污染。本文即通过回顾性分析并比较两种不同空气净化技术对IVF-ET周期治疗患者的正常受精率、受精率、卵裂率、优胚率、临床妊娠率和早期流产率的影响,为建立更稳定、高质量的空气净化系统提高妊娠结局提供充分的科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2011年8月至2015年1月在广东省妇幼保健院生殖中心进行IVF/ICSI-ET治疗的5230例患者共6422个周期。女方不孕原因包括输卵管、盆腔因素、子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征、不明原因不孕等。按启用零污染空气净化系统前后分为两组,即启用新洁净系统前共2809个周期作为对照组,启用新洁净系统后共2389个周期作为实验组,其余实验条件相同。

1.2 方法

1.2.1 控制性超排卵方案 黄体中期长方案:在使用促性腺激素治疗周期前的黄体中期(月经周期第20~21天),肌注长效达必佳0.8~1.2 mg (GnRHa,德国辉凌公司生产,3.75 ml/支),两周之后开始使用促性腺激素(Gn, HMG/FSH-HP, serono公司生产,75 UI/支),150~300 U/d。GN启动5 d后根据患者阴超及抽血检测激素结果调整用药剂量。超长方案:在周期第1~3天肌注达必佳3.75 mg,4周一次连用2次,第二次用完当月第25天给予促性腺激素150~300 U/d,同时依据卵巢反应调整用药剂量。短方案:月经第2~3天开始每日皮下注射达必佳0.1 mg (Dacapeptyl,德国Fer-ring),注射达必佳的第2日起每日给予果纳芬(Gonal-F,瑞士Serono)至注射HCG前1 d,多数周期以150~300 IU为起始剂量,若前次控制性超排卵(COH)周期低反应(获卵数少于3个)、高龄、基础血清FSH偏高者及肥胖者,则起始量225 IU,根据超促排卵的反应(基于血清E2值及超声的监测),将Gonal-F的剂量调整在37.5~300 IU之间,当1个以上卵泡平均直径达18 mm时,当晚给予注射HCG 5 000~10 000 IU,

34~36 h后经阴道超声指导取卵。拮抗剂方案:包括固定方案和灵活方案,均于月经第2~3天开始用基因重组卵泡刺激素(rFSH),固定方案组在GnRH第5天开始用拮抗剂,灵活方案在GnRH 5 d后根据卵泡大小,抽血检测激素FSH、LH、E2决定是否开始使用GnRH拮抗剂,假如给予拮抗剂则均每日给予思则凯0.25 mg皮下注射,启用拮抗剂当日检测血清FSH、LH和E2,继续按原GnRH剂量用至绒毛膜促性腺激素(HCG)注射日。

1.2.2 卵泡监测及取卵 根据患者GN启动后4~5 d阴超和抽血检测激素的水平调整GN用量,当卵泡两个径线均 ≥ 18 mm,2个径线 ≥ 17 mm时,注射HCG 5 000~10 000 mg (HCG, profasi 5 000 U/支,瑞士serono),扳机后34~36 h B超引导下用17G穿刺针经阴道取卵,采用日本产阿洛卡SSD-1400型B超机,阴道探头频率5.0 MHz。

1.2.3 体外受精胚胎移植 经密度梯度离心或上游法优选男方精子,并以10 000条/卵的浓度行体外受精。16~20 h后观察受精情况并将正常受精卵置于胚胎培养液中培养48 h,观察卵裂情况,进行胚胎质量评分并计算受精率、正常受精率、卵裂率和优质胚胎率,选择优质胚胎进行ET,或培养至第5天选择囊胚移植。采用评估卵裂球的数量、形态及胞浆碎片百分比的综合方式评估胚胎质量^[9],采用GARDNER囊胚评分标准评估囊胚^[10]。<35岁患者第一周期移植2个胚胎, ≥ 35 岁或<35岁第一周期未成功妊娠者可移植3个胚胎,囊胚均只能移植两个。

1.2.4 术后处理 取卵后开始黄体支持,胚胎移植术后14 d加验血HCG,大于5 IU者,2 d后复验HCG,有数值翻倍者,过2周再验,5周后B超观察有妊娠囊及胎心搏动,则诊断为临床妊娠。

1.3 观察指标 分别比较基于不同年龄(≥ 35 岁和<35岁)的两组患者的基本资料包括年龄、不孕年限、移植胚胎数、获卵数、优质卵数、正常胚胎数,优质胚胎数;比较正常受精率、受精率、正常卵裂率、优胚率、临床妊娠率和早期流产率。

1.4 各种率的计算 IVF受精率=(受精卵总数/授精的成熟卵数) $\times 100\%$;正常受精率=(2PN受精卵总数/授精的成熟卵数) $\times 100\%$;正常卵裂率=(正常受精卵裂胚胎数/2PN受精卵数) $\times 100\%$;优质胚胎率=(优质胚胎数/2PN卵裂胚胎数) $\times 100\%$;临床妊娠率=(妊娠周期数/所有移植周期数) $\times 100\%$;早期流产率=(早期流产的周期数/所有临床妊娠周期数) $\times 100\%$ 。

1.5 统计学方法 应用SPSS16.0统计软件进行数据分析,计数资料采用卡方检验,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用独立样本t检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 <35岁的两组患者一般情况比较 对于<35岁的患者,对照组2 582个周期,患者年龄26~32岁,不孕年限1~7年,获卵数7~21个,移植胚胎数1~3个。实

验组2 607个周期,患者年龄27~32岁,不孕年限1~7年,获卵数7~23个,移植胚胎数1~3个。两组患者的年龄、不孕年限、平均获卵数、优质卵数及移植胚胎数等资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 两组患者的一般资料比较(<35岁, $\bar{x}\pm s$)

组别	年龄(岁)	不孕年限(年)	平均获卵(个)	优质卵数(个)	正常胚胎数(个)	优质胚胎数(个)	移植胚胎数(个)
对照组($n=2\ 582$)	29.49±2.91	3.86±2.52	14.82±7.96	13.89±7.66	9.17±5.64	6.13±4.57	1.82±0.69
实验组($n=2\ 607$)	29.56±2.97	3.90±2.49	15.92±8.49	14.12±8.31	9.99±5.91	7.22±5.09	1.97±0.29
<i>t</i> 值	-0.721	-0.647	-0.779	-0.759	-5.133	-8.074	-0.699
<i>P</i> 值	0.471	0.518	0.235	0.228	0.000	0.000	0.495

2.2 <35岁的两组患者的正常受精率、受精率、卵裂率、优胚率、临床妊娠率和早期流产率的比较 对于<35岁的患者,实验组受精率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);实验组卵裂率,优胚率也高于对照组,差异有显著统计学意义($P<0.01$);实验组临床妊娠率高于对照组,早期流产率低于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

2.3 >35岁的两组患者一般情况比较 对于>35岁的患者,对照组685个周期,患者年龄35~38岁,不孕年限2~10年,获卵数4~18个,移植胚胎数1~3个。实验组548个周期,患者年龄35~38岁,不孕年限2~9

年,获卵数4~18个,移植胚胎数1~3个。两组患者的年龄、不孕年限、平均获卵数、优质卵数、正常胚胎数及移植胚胎数等资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表3。

2.4 ≥35岁的两组患者的正常受精率、受精率、卵裂率、优胚率、临床妊娠率和早期流产率的比较 对于≥35岁的患者,实验组受精率和正常受精率与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$);实验组卵裂率,优胚率高于对照组,差异有显著统计学意义($P<0.01$);实验组临床妊娠率高于对照组,早期流产率低于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

表2 两组患者的IVF结局比较(<35岁, $\bar{x}\pm s$)

组别	正常受精率(%)	受精率(%)	卵裂率(%)	优胚率(%)	临床妊娠率(%)	早期流产率(%)
对照组($n=2\ 582$)	67.43±25.80	80.48±28.31	96.50±10.12	68.40±38.09	54.33	10.34
实验组($n=2\ 607$)	67.31±19.77	81.96±17.87	98.51±23.64	72.46±29.45	63.01	5.04
统计值	$t=0.183$	$t=-2.252$	$t=-3.954$	$t=-4.267$	$\chi^2=1.668$	$t=1.802$
<i>P</i> 值	0.855	0.024	0.000	0.000	0.251	0.283

表3 两组患者的一般资料比较(≥35岁, $\bar{x}\pm s$)

组别	年龄(岁)	不孕年限(年)	平均获卵(个)	优质卵数(个)	正常胚胎数(个)	优质胚胎数(个)	移植胚胎数(个)
对照组($n=685$)	36.32±1.15	6.05±3.80	11.41±7.42	10.83±7.10	6.97±5.10	4.42±3.89	2.15±0.85
实验组($n=548$)	36.25±1.10	5.56±3.81	11.79±6.96	11.28±6.72	7.37±4.89	5.40±4.12	2.11±0.52
<i>t</i> 值	1.068	1.098	-0.938	-1.142	-1.394	-4.299	1.042
<i>P</i> 值	0.286	0.226	0.349	0.254	0.164	0.000	0.298

表4 两组患者的IVF结局比较(≥35岁, $\bar{x}\pm s$)

组别	正常受精率(%)	受精率(%)	卵裂率(%)	优胚率(%)	临床妊娠率(%)	早期流产率(%)
对照组($n=685$)	66.87±20.57	80.43±19.46	96.07±12.77	63.76±38.57	44.01	18.01
实验组($n=548$)	67.59±21.49	82.14±19.38	98.63±14.69	72.71±26.35	50.67	10.17
统计值	$t=-0.599$	$t=-1.54$	$t=-3.239$	$t=-4.594$	$\chi^2=0.723$	$\chi^2=2.658$
<i>P</i> 值	0.549	0.124	0.001	0.000	0.479	0.076

3 讨论

由于人的卵母细胞或胚胎对环境要求很高,一个高质量的IVF实验室必须配备不仅能有效除菌而且过滤各种内源性有害气体如游离甲醛、苯、甲苯、二甲苯及总挥发性有机物及其他有害气体过滤至安全范围内的空气净化器,这就对各种空气净化系统提供了严格的指控标准。

本中心更换净化系统前用的是雅士AHU-1恒温

恒湿洁净室内机,颗粒物净化级别为ISO7级,仅能过滤尘埃及细菌,无法净化室内有害的污染物质;新的净化系统为德国WOLF卫生型洁净空气净化系统^[1],其QUATTRO管道式UVC杀菌空气净化装置采用2000年发展起来的管道C波段高强度紫外线空气杀菌技术,可瞬间杀灭流动空气中的微生物,对霉菌、芽孢、病毒和细菌,具有99.9%以上的杀灭率;新洁净系统的等离子动态杀菌除化学污染装置-静电吸附净化

器,能有效去除挥发性有机成份及化学污染物、消除尘粒。因为小的离子与离子团有更多机会与空气中的杂质和气体发生碰撞反应,使较小的微粒凝结成较大的气溶胶微粒被高中效过滤器拦截,或在重力的作用下自由落体并沉淀,由此达到去除有机挥发物、消除尘粒、净化空气的目的。文献显示这种高中效空气过滤、高强度风管紫外线辐照和等离子动态杀菌组合装备的手术室空气净化程度优于普通高效过滤洁净手术室,并具有普通洁净装备不具备的术中室内空气和物体表面直接瞬时杀菌功能,有利于减少采用传统洁净技术的手术室难以避免的手术组人员产生的术中空气污染。而且更环保节能($\geq 50\%$)。显然,新的空气净化系统不仅去除了各种微生物,而且过滤了挥发性有机成分,对胚胎室和手术室的空气质量有明显改善,那么,改善了空气质量对 IVF-ET 结局会有什么样的影响呢?

本实验以年龄为界将 IVF-ET 患者分为 <35 岁的普通育龄妇女组和 ≥ 35 岁的高龄妇女组,在一般情况诸如年龄、不孕年限、获卵数、优质卵数和移植胚胎数无统计学差异的前提下分别比较了其受精率、正常受精率、卵裂率、优胚率、临床妊娠率和流产率。结果显示:启用零污染空气净化系统后, <35 岁的 IVF-ET 患者正常胚胎数、优质胚胎数、受精率、卵裂率和优质胚胎率明显高于启用前,差异有统计学意义。临床妊娠率提高接近 10%,早期流产率下降 5%;对于 ≥ 35 岁的高龄人群组,启用零污染空气净化系统后,优质胚胎数、卵裂率和优质胚胎率明显高于启用前,差异有统计学意义。同时临床妊娠率提高 14%,早期流产率下降 8%,差异无统计学意义。对于高龄妇女,卵巢储备明显下降,卵子质量显著降低,用于授精的优质卵数急剧减少,因此较难比较其受精率的变化。而优质胚胎形成率的提高是实验室胚胎培养环境改善的最直观体现,在启用新净化系统后可见各年龄段妇女均有优胚率的显著改善,证实了这种净化系统的优越性。研究也表明当外界空气中有较多有害物质时,培养箱内可能有比外界高 6 倍之多的有机挥发物、无机化学空气污染物(CAC)、有毒的易挥发有机化学物(VOCs)和粒子,这些更有机会接触胚胎并影响其发育,而通过空气净化后这些有机挥发物质很难进入卵

体、实验用油和培养液中,从而使胚胎发育潜能接近于体内的自然发育,更有机会发育为优质胚胎^[12]。两个年龄段组均发现临床妊娠率的改善和流产率下降,差异虽然无统计学意义,但对一个中心而言,妊娠率提高 10%已经有了非常大的进步和改善,尤其在提高临床妊娠率的同时降低了流产率,与胚胎在更净化的环境中生长,发育潜能得到最大限度的展现和接受最低限度致流产的有害物质干扰息息相关。

当然,影响 IVF-ET 成功妊娠的因素很多,我们应该在实际工作中不断分析并总结经验,才能获得更好的妊娠结局。

参考文献

- [1] Cohen J, Gilligan A, Esposito W, et al. Ambient air and its potential effects on conception *in vitro* [J]. Hum Reprod, 1997, 12(8): 1742-1749.
- [2] Hall J, Gilligan A, Schimmel T, et al. The origin, effects and control of air pollution in laboratories used for human embryo [J]. Hum Reprod, 1998, 13[Suppl 4]: 146-155.
- [3] 杨健芝,洪蕾,刘嘉茵. 实验室环境对体外受精-胚胎移植及卵泡浆内单精子注射结局的影响[J]. 生殖医学杂志, 2002, 11(3): 168-169.
- [4] Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M. Infection in IVF: review and guidelines [J]. Hum Reprod Update, 2000, 6(5): 432-441.
- [5] Lee HH, Dawn W, William BR. Incubator management in an assisted reproductive technology laboratory [J]. Fertil Steril, 2008, 89(3): 703-710.
- [6] 韦相才,王困,李庆砚,等. 空气质量对体外受精-胚胎移植妊娠率的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 3(21): 125-126.
- [7] 黄国宁,刘东方,韩伟. 辅助生殖技术实验室的建设及其质量控制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 10(26): 755-758.
- [8] 刘东方,韩伟,黄国宁. 如何进行 IVF 实验室的质控[J]. 广东医学, 2010, 10(31): 2481-2482.
- [9] Kim MS, Kim JH, Jee BC, et al. Factors affecting occurrence of twin pregnancy after double embryo transfer on day 3 [J]. J Obstet Gynaecol Res, 2015, 41(8): 1223-1228.
- [10] Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer [J]. Fertil Steril, 2000, 73(6): 1155-1158.
- [11] 徐火炬. 高中效空气过滤、高强度风管紫外线辐照和室内空气动态离子杀菌组合[J]. 洁净与空调技术, 2012, 10(3): 77-93.
- [12] Boone WR, Johnson JE, Locke AJ, et al. Control of air quality in an assisted reproductive technology laboratory [J]. Fertile Steril, 1999, 71(1): 39-43.

(收稿日期:2015-05-11)