

计算机辅助精液分析系统的性能评价

陈亚军, 史桂兰, 王 瑶, 金灿灿(江苏省中医院检验科, 南京 210029)

【摘要】 目的 了解计算机辅助精液分析系统(CASA)的性能。**方法** 选择精子密度作为主要指标, 对 CASA 检测的线性、批内精密度、干扰试验、与手工计数的比较, 以及操作人员之间比对进行了初步评价。**结果** 线性实验结果: 精子密度在 $(5 \sim 100) \times 10^6/\text{mL}$ 范围内相关系数 $r^2 = 0.999\ 1$, 批内精密度的影响度为 $2.03\% \sim 2.92\%$, 与手工比对的 P 值为 0.52 , 操作人员之间比对 P 值为 $0.000\ 65$ 。**结论** CASA 在精子密度 $(5 \sim 100) \times 10^6/\text{mL}$ 范围内有良好的线性, 有较高的批内精密度和较强的抗生物干扰物质的能力, 与手工法比较差异无统计学意义, 但操作人员间比对差异有统计学意义。

【关键词】 精子质量分析; 计算机辅助应用; 精子计数

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.07.026 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)07-0825-02

The evaluation of the performance of computer-aided semen analysis system CHEN Ya-jun, SHI Gui-lan, WANG Yao, JIN Chan-chan (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210029, China)

【Abstract】 Objective To understand the performance of computer-aided semen analysis (CASA) system. **Methods** We selected the sperm density as the main parameter, and compared the results of the linearity tested by CASA, intraassay precision, interference test with those of manual counting, and compared the results from different operators as a preliminary evaluation. **Results** When the sperm density was between $(5 - 100) \times 10^6/\text{mL}$, the linear correlation coefficient result was $r^2 = 0.999\ 1$, With intraassay precision 4.04% . The degree of white blood cells interference was between $2.03\% - 2.92\%$, and P value of the comparison of the result of CASA and manual counting was 0.52 . P value of the comparison of the results between different operators was $0.000\ 65$. **Conclusion** When the sperm density is between $(5 - 100) \times 10^6/\text{mL}$, CASA can get a good linear result, and have better intraassay precision, a better anti-biotic substances ability. The difference of results between the CASA and manual counting is not significant, but the difference of results between different operators is significant.

【Key words】 sperm quality analysis; computer assisted application; sperm count

为了解计算机辅助精液分析系统(CASA)的性能, 按照美国临床检验标准化委员会(NCCLS)的相关文件的要求, 对 CASA 的主要性能进行了评价, 内容包括线性、精密度、干扰试验、与手工计数间的比对及操作人员之间比对。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 捷达 CASA, 型号: JD-801。

1.1.2 标本 实验所用标本均来自江苏省中医院门诊患者精液标本, 要求患者禁欲 $3 \sim 5\ \text{d}$ ^[1], 手淫取精, 置 $37\ ^\circ\text{C}$ 水浴箱温浴至液化。

1.1.3 干扰物 $2\ \text{mL}$ 抗凝全血标本, 用 $4\ \text{mL}$ 溶血素溶解红细胞后离心, 取沉淀的白细胞用生理盐水洗涤后稀释, 计数为 $14.15 \times 10^6/\text{mL}$ 。

1.1.4 试剂(精子稀释液) $\text{NaHCO}_3\ 5\ \text{g}$, $40\%\ \text{CH}_2\text{O}\ 1\ \text{mL}$, $\text{H}_2\text{O}\ 100\ \text{mL}$, 待完全溶解过滤后使用^[2], 室温保存。

1.2 方法

1.2.1 线性评价 选择一份总量为 $2.1\ \text{mL}$ 的临床精液标本, 手工法计数密度为 $316.4 \times 10^6/\text{mL}$, 作为理论值, CASA 测定密度为 $246.77 \times 10^6/\text{mL}$, 用生理盐水按 $1:0.5$, $1:1$, $1:1.5$, $1:2$, $1:3$, $1:4$, $1:8$, $1:16$, $1:32$, $1:64$, $1:128$, $1:256$ 稀释, 然后测定精子密度, 计算理论值与实测值之间的回归方程及相关系数。

1.2.2 批内精密度评价 根据 NCCLS 的要求^[3], 选择一份

正常精液标本测定精子密度, 连续测定 20 次, 计算平均值($\bar{x}$)、标准差(s)和变异系数(CV)。

1.2.3 干扰实验 选择一份正常精液标本重复测定两次密度, 然后分成两份各 $0.5\ \text{mL}$, 分别加入 $14.15 \times 10^6/\text{mL}$ 浓度的白细胞 $10\ \mu\text{L}$, $20\ \mu\text{L}$, 每份重复测定两次, 结果取平均值。以影响度作为干扰试验的评价指标, 计算公式为: 影响度 = $[(\text{加入干扰物的精子密度测定值} - \text{未加干扰物的精子密度测定值}) / \text{未加干扰物的精子密度测定值}] \times 100\%$ 。

1.2.4 CASA 与手工计数之间的比较 用 CASA 严格按仪器操作要求检测 25 份临床标本, 同时用手工计数法按 WHO 标准用牛鲍氏血细胞计数板计数精子密度^[5], 将测定结果进行比较。

1.2.5 操作人员之间比对 根据 NCCLS 制订的“用患者标本进行方法比较的偏差评估”^[4]要求, 2 名操作人员(1 名为经培训的多年从事操作熟练工作人员, 另 1 名为经 1 个月时间培训的操作人员)用 CASA 系统分别测定 25 份临床标本, 比较操作人员结果之间的相关性。

1.3 统计学分析 用 SPSS 软件进行配对 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 线性评价 见图 1、2, 从中可以看出, 该系统测定精子密度的线性回归方程为 $Y = 0.820\ 2X + 6.202$, $r^2 = 0.987\ 6$; 取精子密度在 $(5 \sim 100) \times 10^6/\text{mL}$ 之间的回归方程为 $Y = 0.983\ 2X$

+0.268 3, $r^2=0.999\ 1$ (见图 2)。

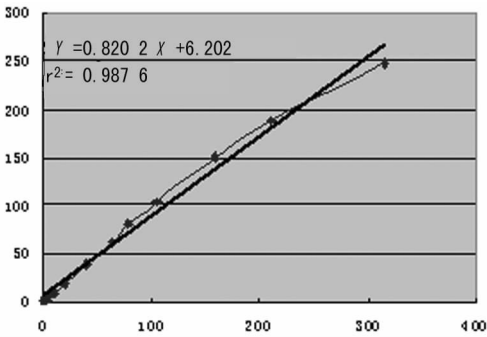


图 1 线性评价的散点图

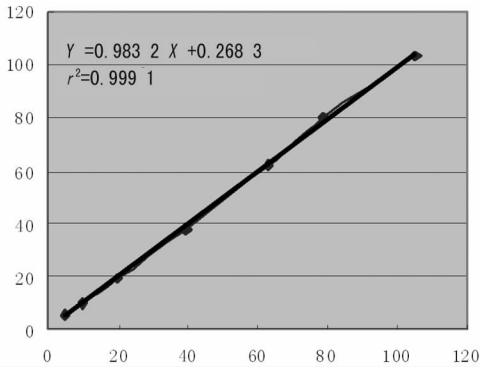


图 2 精度在 $(5\sim100)\times10^6/\text{mL}$ 线性评价的散点图

2.2 批内精密度 CASA 测定精子密度的批内精密度试验得出结果为平均值为 $81.84\times10^6/\text{mL}$, 标准差 (S) 为 3.31, 变异系数 (CV) 为 4.04%。

2.3 抗白细胞干扰性能评价 见表 1。

表 1 CASA 抗白细胞干扰性能评价

白细胞浓度($\times10^6/\text{mL}$)	精子密度($\times10^6/\text{mL}$)	影响度 (%)
0	59.76	0
0.283	61.00	2.03
0.566	61.56	2.92

2.4 CASA 与手工计数之间的比对结果: CASA 分析与手工计数所得 25 组数据配对资料 t 检验得 P 值为 0.52 ($P>0.05$)。

2.5 操作人员之间比对结果 根据两名操作人员对 25 份临床标本测定的精子密度值, 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

3 讨 论

精液分析是一项十分重要和广泛应用于评估男性生殖能力的临床检验项目, 其分析指标是评估男性生育能力的重要依据。CASA 是将精液标本通过测定精子运动的吸光度变化, 精子形态图像和运动图像经显微镜进行图像放大后被摄像送入图像分析系统, 经计算机适时动态分析处理, 自动得到精子密度、活力、活率, 并能对精子的运动轨迹特征进行分析和分类统计^[7]。CASA 在临床应用较为普遍, 系统性能的优劣直接影响到检测结果的准确性。

对按比例稀释的精液标本的分析显示, 当精子密度在 $(5\sim100)\times10^6/\text{mL}$ 范围内分析系统线性回归方程的斜率为 0.983 2 (>0.97)、截距为 0.268 3, $r^2=0.999\ 1$ 表明其具有良好的线

性^[8-9]; 而在整个稀释浓度范围内回归方程的斜率为 0.820 2 (<0.97)、截距为 6.202, $r^2=0.987\ 6$, 线性较差。同时从散点图 1、2 也可以看出 CASA 在测定较高密度的标本时结果偏低, 而较低密度的标本结果偏高。作者建议精子密度过高于 $100\times10^6/\text{mL}$ 时应对标本进行稀释后再计数, 密度低于 $5\times10^6/\text{mL}$ 时应用手工计数, 从而保证结果的准确性。

系统测定同一份标本 20 次所得变异系数 (CV) = 4.04%, 小于 5%, 结果表明 CASA 具有较高的批内精密度, 仪器的重复性较好。

本次试验所用干扰物白细胞分离自临床血液标本, 所加生物干扰物最终浓度分别为 $0.283\times10^6/\text{mL}$ 、 $0.566\times10^6/\text{mL}$, 结果白细胞对精子密度的影响度分别为在 2.03% 和 2.92%, 说明 CASA 具有较强的抗白细胞干扰能力。

CASA 与手工计数比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 这可能与本研究 CASA 手工计数由 1 名操作人员完成有关, 操作过程规范统一, 对于保证检测结果的准确十分重要。

2 名操作人员之间比较差异有统计学意义 ($P<0.01$), 具有极显著性差异。使用 CASA 分析精液前应先调节载物台使精子头部呈灰色, 计算分析的准确性与图像成像的质量、尺寸的定标和“最大灰度”值的选择有很大关系^[10]。操作者因技术水平、经验及个人的视觉习惯不同调节灰度时会有差异, 灰度不同 CASA 识别出的精子数会有很大差异。其次选择视野时, 一般标本应随机拍摄 5~8 个视野进行分析^[10] (一般要求分析 200 个精子以上), 操作人员可能由于不了解规范操作而一味选择精子数多、质量好的视野进行追拍, 由此造成结果的偏差。还有就是排除杂质时, 操作者因经验缺乏可能会将一些静止的畸形精子误认为杂质, 同时杂质的排除需要精确计数视野内杂质数, 不能粗略估计, 以免由此而带来误差。建议每天在检测前用质控品将仪器参数进行标定 (如亮度、对比度、灰度值大小等), 以减少误差。

CASA 具有显微静止图像和精子运动图像摄存功能, 能统计分析精子质量的 20 多项指标^[11], 动态指标更能反映精子受精能力、精子穿透能力^[12], 评估精子运动速度是预测受精率的有用参数。总的来说, CASA 能够为临床工作提供科学的诊断依据。但仍存在一些不可避免的误差, 建立精子质量分析的标准化和质量控制体系, 并增强各实验室结果间的可比性, 使精子质量分析评估更真实可靠。

参考文献

[1] 刘风华. 精液分析的质量控制[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(7): 681-682.
[2] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997, 139-140.
[3] 杨国昌, 许叶. 精密度评价和方法比较中 NCCLS 评价方案的应用[J]. 临床检验杂志, 1999, 17: 47-49.
[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples. Approved guideline[S]. EP9-A, Pennsylvania: NCCLS, 1986.
[5] 谷翊群, 陈振文, 于各鸣, 等. 世界卫生组织编. WHO 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 6-96.
[6] Keel BA. 精液分析标准化的重要性(下转第 829 页)

特别是对住院治疗较介意,48.9%不接受。但病情较重、患者感到痛苦需专科治疗时,仍有 70.9%诊疗于专科医院。在 33%知道需到精神专科就诊的患者中,一部分是通过病友告知,另一部分是医生建议。

表 2 神经症患者就诊心理及过程[n(%)]		
项目	是	否
是否知道需到精神专科就诊	101(33.0)	205(67.0)
是否知道神经症属于精神疾病	115(37.6)	191(62.4)
是否介意到精神病医院诊疗	169(55.2)	137(44.8)
是否接受住院治疗	187(61.1)	119(48.9)
对治疗是否有信心	92(30.0)	214(70.0)
是否第 1 次就诊	62(20.3)	244(79.7)
是否到过综合医院诊疗	294(96.1)	12(3.9)
是否到过精神专科诊疗	89(29.1)	217(70.9)

2.3 诊断及花费情况 诊断分类:神经症性反应^[2] 17 例(5.6%),恐怖症 15 例(4.9%),强迫症 35 例(11.4%),焦虑症 54 例(17.6%),躯体形式障碍 86 例(28.1%),神经衰弱 89 例(29.5%),其他待分类 10 例(3.3%)。诊断来源:精神专科门诊 124 例(40.5%),综合科门诊 182 例(59.5%),其中神经内科 72 例(23.5%),消化内科 32 例(10.5. %),呼吸内科 31 例(10.1%),心血管内科 28 例(9.2%),骨科 9 例(2.9%),其他 10 例(3.3%)。花费:≤3 000 元 42 例(13.7%),3 000 至 2 万元 185 例(60.1%),>2 万元 79 例(25.8%),在费用支出中以辅助检查为主^[3]。

3 讨 论

3.1 神经症这一疾病名称在《美国精神疾病诊断与统计手册》第 4 版不再使用,在国际疾病分类第 10 版中也尽量避免使用,而在我国《中国神经障碍诊断标准》第 3 版中为了便于叙述和归纳,故仍作保留^[4],特别是癔症也作保留,并在《中国神经障碍诊断标准》第 3 版中将编号为 40 的癔症从原 CCMD-2 神经症中分出来单列,按《中国神经障碍诊断标准》第 2 版诊断标准癔症占全部神经症的第 2 位^[2]。而在本调查中,依《中国神经障碍诊断标准》第 3 版诊断标准,本调查诊断分类显示,躯体形式障碍位居第 2 位,诊断率较高(28.1%),近似于神经衰弱。以慢性、多数性躯体症状为特征的 Briquat 综合征及以转换症状为主的转换性障碍,依《中国神经障碍诊断标准》第 2 版诊断标准均归属于癔症,在《在评标准》的第 10 版中将上述两组症状分别归于躯体形式障碍和分离性障碍^[2]。在我国的《中国神

经障碍诊断标准》第 3 版中将躯体形式障碍作为神经症的一亚型列出,并诊断率较高,笔者观点认为:在中国神经障碍诊断标准》第 3 版中躯体形式障碍包含了《中国神经障碍诊断标准》第 2 版中的抑郁性神经症部分诊断及 Briquat 综合征的部分病例而作出诊断所致。当然本次调查范围及样本有限,有待进一步研究。

3.2 神经症患者大部分就诊于综合科,特别是初次就诊,以神经内科、心血管内科、消化呼吸内科为甚。而精神专科所遇到的往往是具有多年多次就诊经历,大量临床资料,用过多种药物,效果不佳,花费较多的病例,全科医生常遇到但不能认识,精神科医生认识又不常遇到,导致本病的诊断和治疗延误^[2,5]。全科医生关注的是躯体症状,而不重视精神、心理问题^[6]。患者关注的也是躯体症状,不会考虑为精神疾患,本调查显示 62.4%病例不能认识,与刘霞等^[5]报道 59.6%相当。所以加强通科医生精神疾病知识的培训,在综合医院联络精神病学或精神科门诊会诊,提高对神经症的鉴别诊断^[7];以及加强精神卫生知识的宣传教育,动员社会各界积极参与,提高人们对神经症的认识,来达到对神经症的了解,利于患者得到早期系统诊疗,提高疗效,减少花费,保障愈后。

参考文献

[1] 张亚林. 神经症理论与实践[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000. 3-25.

[2] 沈渔邨. 精神病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2002. 455-483.

[3] 王志阳,施慎逊,王立伟. 躯体化障碍和未分化躯体形式障碍患者辅助检查项目和费用调查[J]. 上海精神医学, 2009,21(3):153-155.

[4] 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准[M]. 3 版. 济南:山东科学技术出版社,2001:4.

[5] 刘霞,杨金华,李沛亨,等. 精神疾病患者首诊情况调查及健康指导的作用[J]. 临床神经医学杂志, 2009, 19(3): 174-176.

[6] 叶瑞繁,耿庆山,区丽明,等. 综合医院门诊患者焦虑、抑郁与躯体症状的关联研究[J]. 中国临床心理学杂志, 2009,17(4):462-464.

[7] 文璐,孙剑,徐乐平. 会诊-联络精神医学综合服务模式的进展[J]. 精神医学杂志, 2009,22(3):230-233.

(收稿日期:2010-12-22)

(上接第 827 页)

迫性[J]. 中华男科学杂志, 2005,11(2):85-90.

[7] 姜建平,郑为平,马锦洪. 计算机辅助精液分析系统与人工检测精液结果比较[J]. 中华男科学杂志, 2004, 10(8): 634-635.

[8] 张玉英,万维喜,张绍增. 伟力彩色精子质量分析系统在男性不育精液检测中的价值[J]. 西北国防医学杂志, 2001,22(4):342-344.

[9] 陈启光. 医学统计学[M]. 南京:东南大学出版社,2002: 102-108.

[10] 朱志平. 精液自动化分析的质量控制[J]. 现代中西医结合杂志, 2009,18(25):3096-3098.

[11] 黄华振,陈有,李琛. 计算机辅助精液分析的临床应用[J]. 实用医技杂志, 2005,12(9)B,2653-2654.

[12] 贾韶彤,杨宝珍,席向红,等. 采用计算机精子检测仪检测 1 429 份精液报告[J]. 宁夏医学院学报, 2003, 25(2): 105-107.

(收稿日期:2010-12-19)