

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.05.002

广州地区精液分析生物参考区间的建立*

石汉振¹, 杨佩桦², 曾冬玉³

(1. 广东省中医院检验医学部, 广东广州 510530; 2. 广州医科大学金域检验学院, 广东广州 511436;
3. 暨南大学第一附属医院感染科, 广东广州 510120)

摘要:目的 建立广州地区精液常规分析的生物参考区间, 为临床不育症诊治和患者生育力评估提供科学的实验室判断依据。**方法** 收集 2015 年 2 月至 2016 年 5 月正常体检男性(2 年内已生育、准备要二孩)精液标本 156 份, 使用西班牙 SCA 全自动精子分析仪及改良巴氏染色法, 根据第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》, 检测精液主要指标及正常精子形态率, 按美国临床和实验室标准协会(NCCLS)的标准化文件 C28-A2 进行统计处理, 建立起该实验室精液分析的生物参考区间。**结果** 该实验室精液分析的生物参考区间结果如下: 精液量 ≥ 2.00 mL; 液化时间 ≤ 45.00 min; pH 值为 7.0~8.0; 精子浓度为 $\geq 17.95 \times 10^6$ /mL; 前向运动精子总数为 $\geq 24.15 \times 10^6$ /一次射精; 精子总活动率为 $\geq 36.71\%$; 精子前向活动率 $\geq 28.10\%$; 精子正常形态率 $\geq 3.00\%$ 。**结论** 实验室应建立所在区域人群精液分析的生物参考区间, 为临床不育症诊治或辅助生殖技术实施提供科学的实验室判断依据。

关键词: 生物参考区间; 精液; 精液参数

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)05-0581-04

Establishment of biological reference intervals of semen analysis in Guangzhou area*

SHI Hanzhen¹, YANG Peihua², ZENG Dongyu³

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510530, China; 2. Jingyu Clinical Laboratory Institute, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511436, China; 3. Department of Infection, First Affiliated Hospital of Medical College, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

Abstract: **Objective** To establish the biological reference intervals of semen analysis in Guangzhou area to provide a scientific laboratory judgment basis for the clinical diagnosis and treatment of clinical infertility and fertility evaluation. **Methods** A total of 156 cases of semen sample from normal males undergoing physical examination (having birth within two years and preparing the second baby) from February 2015 to May 2016 were collected. The Spanish SCA automatic sperm analyzer and improved pap staining were used to detect the main indicators of semen and rate of normal sperm morphology according to the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for Human Semen Examination and Treatment. The statistical process was performed according to the standardized documents C28-A2 of NCCLS. Then the biological reference intervals of semen analysis in this laboratory were established. **Results** The biological reference intervals of semen analysis in this laboratory are as follows: the semen volume ≥ 2.00 mL, the liquefaction time 45.00 min, the pH value 7.0-8.0, the sperm concentration 17.95×10^6 /mL, the total number of moving sperm 24.15×10^6 / one time, the sperm total motility $\geq 36.71\%$, the sperm progressive motility 28.10%, the rate of sperm normal morphology 3.00%. **Conclusion** The laboratory establishes the normal biological reference intervals of semen analysis in local area to provide a scientific laboratory judgment basis for the clinical diagnosis and treatment of clinical infertility or assisted reproductive technology implementation.

Key words: biological reference intervals; semen; semen parameters

精液分析越来越广泛被应用于评价男性生育能力、诊断男性生殖系统疾病以及辅助生殖技术。有研究显示, 1995—2008 年 14 年间精子密度和精子总数明显降低^[1]。世界卫生组织(WHO) 2010 年第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》^[2]相对于世界卫生组织 2001 年第 4 版《人类精液及精

* 基金项目: 广东省中医院朝阳人才计划项目(E42703)。

作者简介: 石汉振, 男, 副主任技师, 主要从事男性学检验技术及辅助生殖实验室技术研究。

子-宫颈黏液相互作用试验检验手册》^[3]中部分参考区间也做了相应下调。但有学者指出,世界卫生组织 2010 年第 5 版中精液分析主要指标生物参考区间的标本采集人群中并没有涉及来自占世界人口 1/5 的中国人的任何临床数据和资料^[2]。如果只是对其生搬硬套,将对部分患者造成误判。因此,有必要建立起本实验室区域性的生物参考区间。本次实验依据美国临床和实验室标准协会(NCCLS)C28-A2 要求,收集 156 例正常体检男性(2 年内已育、准备要二孩)精液标本进行精液分析,按照第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》标准要求建立本实验室精液分析的生物参考区间。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集广东省中医院 2015 年 2 月至 2016 年 5 月正常体检男性(2 年内已生育,准备要二孩)156 例,进行问卷调查后纳入,排除器质性疾病、生殖系统炎症、不良生活习惯(如经常抽烟、喝酒、熬夜)、不良环境影响(如从事高温作业,长期接触射线、化学药物、有毒有机物等)以及部分职业(如油漆工人、装修工人、矿工、专职司机等)的研究对象。研究对象平均年龄为(31±5.3)岁。

1.2 仪器与试剂 西班牙 SCA 全自动精子分析仪,恒温水浴箱,光学显微镜,南京欣迪改良巴氏染色液,玻璃染色缸,不锈钢玻片架,10 mL、100 mL 加样枪,玻片,盖玻片,10 mL 塑料试管。

1.3 方法

1.3.1 收集标本 要求研究对象禁欲 2~7 d,取精室手淫取精,收集一次射精的全部精液于清洁、无毒密闭容器内,置 37℃ 水浴箱中待液化后进行精液分析,检测的同时做好质量控制^[4]。

1.3.2 精液分析主要指标操作步骤 使用称重法称量精液标本,换算成精液体积并记录。将精液倒进 10 mL 塑料试管中,放置 37℃ 恒温水浴箱中等待液化,液化后对精液分析主要指标(精液量、pH 值、液化时间、精子浓度、前向运动精子总数、精子总活动率、前向运动精子活动率、精子正常形态率)进行检测并记录。精液 pH 值选用 6.0~10.0 的精密 pH 试纸检测。精子浓度、前向运动精子总数、精子总活动率、前向运动精子活动率使用西班牙 SCA 全自动精子分析仪检测。精子正常形态率采用改良巴氏法进行染色,油镜下计数 200 个精子,依据第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》判断标准计算其正常形态率^[2]。

1.3.3 建立生物参考区间 依据 NCCLS C28-A2 文件的要求建立生物参考区间。出于对检测项目临床意义考虑,不需要考虑性别因素和年龄因素。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。使用 Grubbs 检验公式 $G = \frac{|X_d - \bar{X}|}{s}$, X_d 为离群

值, $\bar{X}$ 、 s 分别为包括离群值在内的均值、标准差,分别计算各项指标的 G 值,如果 G 值大于 Grubbs 检验临界值表中相应的临界值时,则将 X_d 作为异常值舍去。去除离群值后,需保证样本例数大于或等于 156 例,然后随机分别抽取 156 例进行分析。

2 结果

2.1 精液分析主要指标数据分布频数 可见精液分析主要指标(精液量、pH 值、液化时间、精子密度、前向运动精子总数、精子总活动率、前向运动精子活动率、精子正常形态率)均呈非正态分布,因此可以采用百分位数的方法(单侧取第 5.0 个百分位数,双侧取第 2.5 个百分位数、第 97.5 个百分位数)作为其生物参考区间。见图 1~8。

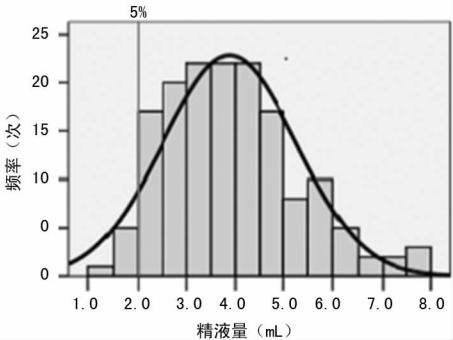


图 1 精液量分布频数

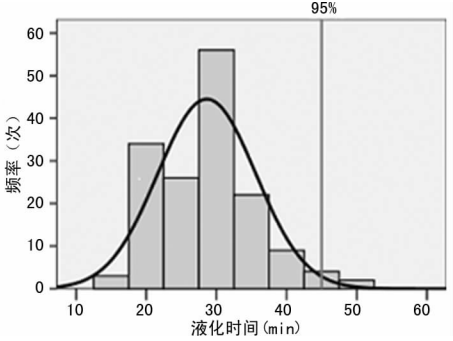


图 2 液化时间分布频数

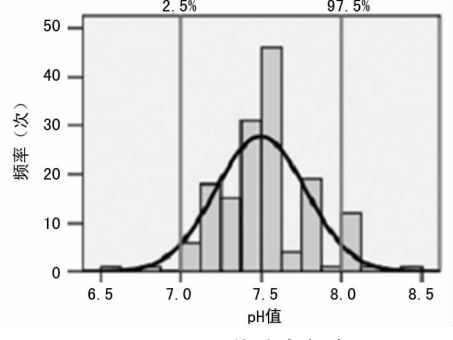


图 3 pH 值分布频数

2.2 本实验室精液分析主要指标的生物参考区间 精液量 ≥ 2.00 mL; 液化时间 ≤ 45.00 min; pH 值为 7.0~8.0; 精子浓度为 $\geq 17.95 \times 10^6$ /mL; 前向运动精子总数为 $\geq 24.15 \times 10^6$ /一次射精; 精子总活动率为 $\geq 36.71\%$; 精子前向活动率 $\geq 28.10\%$; 精子正常形态 $\geq$

3.00%。见表 1。

2.3 生物参考区间评审 根据 CNAS CL38:2012 文件的要求,选择本实验室 20 份健康已生育者标本

进行生物参考区间评审验证,结果显示,20 份标本检测结果均在建立的生物参考区间范围内。

表 1 精液分析主要指标结果统计

指标	<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i> _{2.5}	<i>P</i> ₅	<i>P</i> ₅₀	<i>P</i> ₉₅	<i>P</i> _{97.5}
精液量(mL)	156	3.88	1.36	—	2.00	3.75	6.36	—
液化时间(min)	156	28.62	6.99	—	15.00	30.00	45.00	—
pH 值	156	7.5	0.28	7.0	—	—	—	8.0
精子浓度(×10 ⁶ /mL)	156	92.23	55.42	—	17.95	79.65	209.33	—
前向运动精子总数(×10 ⁶ /一次射精)	156	146.77	100.19	—	24.15	116.74	363.90	—
精子总活动率(%)	156	52.39	7.84	—	36.71	51.95	69.10	—
精子前向活动率(%)	156	44.00	8.00	—	28.10	44.10	65.62	—
精子正常形态(%)	156	3.80	1.45	—	3.00	4.00	9.00	—

注:—表示无数据

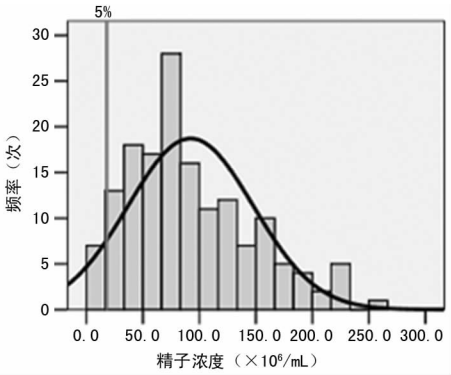


图 4 精子浓度分布频次

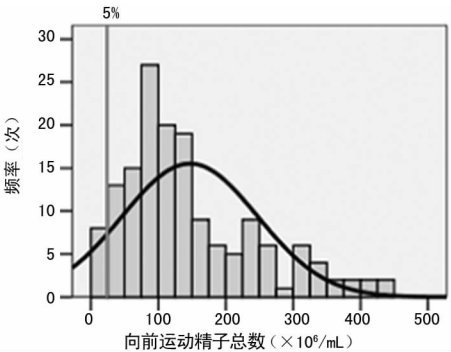


图 5 前向运动精子总数分布频次

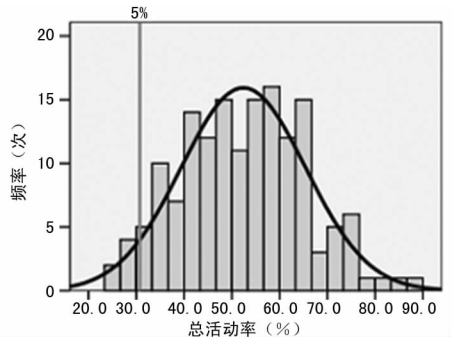


图 6 总活动率分布频次

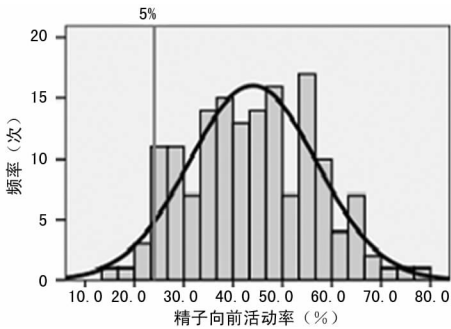


图 7 精子前向活动率分布频次

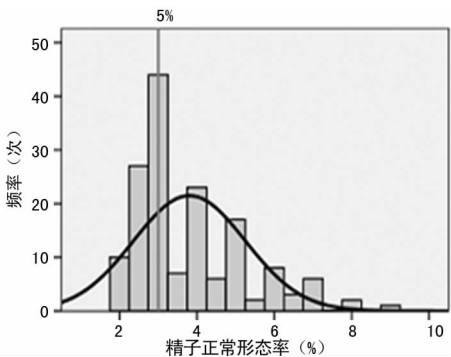


图 8 精子正常形态率分布频次

3 讨 论

精液分析是目前临床评估男性生育力,诊断及治疗不育症的一项重要检查。2010 年出版的第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》原始数据为来自 3 大洲的 8 个国家可生育男性的 400~1 900 份精液标本^[2],但并没有涉及来自占世界人口 1/5 的中国人的任何临床数据和资料。若直接使用其参考区间对我国男性精液进行分析判断,会对部分患者造成误判。因此,必须建立起本实验室区域内人群的精液分析生物参考区间。由于精液分析结果判读的特殊性,精子浓度、精子前向活动率、前向活动精子总数、精子正常形态率等指标只有降低才有意义,才

会影响临床结局判读或疾病诊断,因此本实验按照世界卫生组织要求,也是取第 5.0 个百分位数单侧作为其生物参考区间^[5]。

本研究发现,本实验室的精子活动率、精子前向活动率、正常精子形态率均低于第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》的参考值^[2]。而精液体积和精子浓度及前向运动精子总数略高于第 5 版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》中的参考值^[2]。分析其原因可能是由于存在地域或种族差异,有毒物质、放射性物质、杀虫剂、激素使用等环境因素,吸烟、饮酒、饮用咖啡、久坐、精神紧张等不良习惯的影响,以及分析样本量不够大等所导致的^[6-10]。因此,可以通过更长时间研究、增大样本量及改进统计方法或通过多中心科研协作的方法从而建立起更适宜本地人群的实验室(或地区)精液分析生物参考区间。

由于不同医疗机构医疗资源的差异造成国内精液分析存在多种不同的检测方法。比如,对于精子浓度的检测有牛鲍氏计数板手工法、Malker 板计数法、计算机自动分析(配相差显微镜)等,因此在将来的研究中有必要根据不同检测系统建立不同的精液分析生物参考区间,以满足不同实验室的需求,避免引起临床的误判。在本实验中将影响生物参考区间的因素去除,但部分处于灰区的患者也可能被筛除,而这部分应试者也可能拥有正常生育能力。因此,在以后研究中将这部分患者每年进行 1 次电话追踪,如果发现患者已生育,将继续纳入研究对象中。建立本区域人群的精液分析的生物参考区间将有利于临床医生根据精液分析结果更准确地评价患者精液质量及生育能力,提高临床不育症诊断的准确性^[11];同时为辅助生殖技术提供更准确的实验室诊断和技术支持,更好地为患者服务,有效减少医疗资源的浪费及辅助

生殖技术的滥用。

参考文献

- [1] 黄春妍,姚陈均,王春,等. 1985—2008 年间我国正常男性精液质量变化分析[J]. 中华男科学杂志, 2010, 16(8): 684-688.
- [2] 世界卫生组织. 世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2011:2.
- [3] 世界卫生组织. WHO 人类精液及精子-宫颈黏液相互作用试验检验手册[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2001: 51.
- [4] 潘福达,郑红丽. 精液分析的质量控制[J]. 现代检验医学杂志, 2005, 20(2): 72-73.
- [5] 陆金春,黄宇烽,吕年青.《世界卫生组织人类精液分析实验室技术手册》与我国男科实验室现状[J]. 中华男科学杂志, 2010, 16(10): 867-871.
- [6] 黄莉萍,李亚斐,熊鸿燕,等. 近 25 年中国正常男性精液质量的变化趋势分析[J]. 生殖与避孕, 2011, 31(2): 122-128.
- [7] 宋向林. 生活习惯对男性精液质量的影响分析[J]. 中国卫生产业, 2014, 11(10): 141-142.
- [8] 张树成,贺斌,王弘毅,等. 有关环境与男性精液质量变化的几个问题[J]. 中国计划生育学杂志, 2003, 11(3): 189-191.
- [9] 武俊青,高尔生,杨秋英,等. 中国年轻男性精液质量与吸烟、饮酒等行为因素的关系[J]. 生殖医学杂志, 2004, 13(2): 87-90.
- [10] 甘燕玲,孙朝晖,全静雯,等. 3 527 例男性不育患者精液检查分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(4): 153-154.
- [11] 唐亮,彭亮,侯彦强,等. 松江地区男性不育患者精液常规分析[J]. 医学检验与临床杂志, 2015, 7(4): 64-65.

(收稿日期:2018-08-29 修回日期:2018-11-23)

(上接第 580 页)

- the region[J/OL]. J Med Microbiol, 2018, 67(6): 846-853.
- [31] SILVA JUNIOR V V D, FERREIRA L D, ALVES L R, et al. Detection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* harboring bla GES-1 and bla GES-11 in Recife, Brazil[J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2017, 50(6): 764-768.
 - [32] DAVANDEH I, ERAC B, AYDEMIR S S. Investigation of class-d beta-lactamases causing carbapenem resistance in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates[J]. Turk J Med Sci, 2017, 47(5): 1661-1666.
 - [33] CARTELLE GESTAL M, ZURITA J, GUALPA G, et al. Early detection and control of an *Acinetobacter baumannii* multi-resistant outbreak in a hospital in Quito, Ecuador[J]. J Infect Dev Ctries, 2016, 10(12): 1294-

1298.

- [34] MAMISHI S, MAHMOUDI S, SADEGHI R H, et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* strains among healthcare workers and patients in the tertiary referral children's medical hospital in Tehran, Iran[J]. Br J Biomed Sci, 2012, 69(4): 173-177.
- [35] HETSA B A, KUMAR A, ATEBA C N. Characterization of multiple antibiotic resistant clinical strains of *Staphylococcus* isolated from pregnant women vagina[J]. Folia Microbiol (Praha), 2018, 63(5): 607-617.
- [36] ABDOLLAHI S, RAMAZANZADEH R, KHIABANI Z D, et al. Epidemiological and Inducible Resistance in Coagulase Negative *Staphylococci*[J]. Glob J Health Sci, 2015, 8(4): 109-119.

(收稿日期:2018-07-29 修回日期:2018-11-20)