

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.13.038

四川地区精液分析室间质量评价初探

吴应碧, 郑艳[△], 余林, 贾焯霖, 应丽娟, 杨婷婷, 徐金艳, 李福平

四川大学华西第二医院生殖男科/出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川成都 610066

摘要:目的 了解四川地区不同实验室对精液分析检测结果的差异, 为提高四川地区整体精液分析结果的准确性及可比性打下基础。方法 分别制备 1 个水平的精子浓度及精子形态质控品, 2 个水平的精子活力质控品, 发放给四川地区 17 家男科实验室或检验科, 回收检测结果并分析参与实验室的均值和实验室间变异系数(CV)。结果 共 15 家实验室反馈了数据, 其中 15 家反馈精子浓度检测结果的实验室中有 10 家(67%)实验室采用计算机辅助精子分析系统(CASA)对浓度质控品进行分析, 8 家(53%)使用计数板类型为 Makler 计数板。14 家反馈精子活力及形态检测结果的实验室中, 10 家(71%)实验室采用人工分析方式对精子活力质控品进行分析, 14 家(100%)实验室采用人工分析方式对精子形态进行分析。实验室间精子浓度 CV 值为 29.84%, 2 个活力质控品中前向运动精子比例 CV 值分别为 18.30% 及 12.97%, 正常精子形态百分比 CV 值为 72.13%。结论 该研究为首次在四川地区开展精液分析的室间质量评价活动, 精液分析室间质量评价中, 前向运动精子比例 CV 值最低, 正常精子形态比例 CV 值最高。亟需对实验室技术人员进行标准化培训和质量控制, 以提高四川地区各实验室精液分析结果的准确性, 使不同实验室间的结果具有可比性。

关键词:精子浓度; 精子活力; 精子形态; 室间质量评价; 变异系数; 四川

中图分类号:R446.19

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)13-1959-04

目前生育率下降已经成为一个大趋势^[1-2], 全世界不孕不育发病率为 8%~12%, 由男性因素导致的不育占 40%~50%^[3-4]。精液分析为评估男性生育力最基本的检测项目, 在男性不育的诊断、治疗和科研中具有极其重要的作用^[5]。精液分析与其他检验项目比较, 精液标本黏稠度高、非匀质性且其检测是在运动状态下进行, 导致精液分析检测结果变异系数(CV)较其他检验项目大, 实验室间的精液检测结果可比性差^[6-9]。室间质量评价可增加精液分析实验室间结果的可比性, 但目前国内精液分析室间质量评价整体开展较差, 国家卫生健康委临床检验中心室间质量评价项目中无精液分析项目, 部分地区如广东省^[6]进行了精液分析室间质量评价的初步探索, 但还未形成有效的方案, 国内精液分析室间质量评价整体需要加强。目前四川地区精液分析整体现状发展滞后, 实验室间结果可比性差^[10], 缺乏室间质量评价。所以, 本研究拟在四川地区开展精液分析的室间质量评价活动, 探索建立四川地区精液分析室间质量评价体系, 分析各实验室间精液分析结果的差异, 为提高四川地区整体精液分析结果的准确性及可比性提供依据。

1 资料与方法

1.1 参与室间质量评价单位 四川地区共 17 家实验室参与本次室间质量评价, 涵盖四川地区 6 个市(成都市、绵阳市、攀枝花市、遂宁市、雅安市及达州市), 其中包括 9 家检验科、5 家生殖中心及 3 家男科

实验室。

1.2 质控品标本来源 用于室间质量评价的精液标本在四川省人类精子库收集。在获得健康志愿者知情同意后收集其精液, 志愿者在精液收集前进行乙型肝炎表面抗原、抗丙型肝炎抗体、抗梅毒螺旋体抗体、人类免疫缺陷病毒抗原/抗体检测, 结果均为阴性。

1.3 精子浓度质控品的制备 选取精子浓度在 $(10\sim 100)\times 10^6/\text{mL}$ 、30 min 内液化、黏稠度正常、圆细胞浓度 $< 1.0\times 10^6/\text{mL}$ 的精液标本, 将精液充分混合后, 按每毫升精液中加入 100 μL 10%(v/v)甲醛溶液充分混匀, 分装于冷冻管中, 密封管口, 并在冷冻管外壁贴上质控品批号等标识, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。参照 CNAS-GL05 做均匀性评价, 经 ANOVA 方差分析样品内及样品间无显著差异, 样品是均匀的。

1.4 精子活力质控品的制备 选取两份不同活力级别的精液标本, 采用计算机辅助精子分析系统(CASA)分别录制数个 15 s 的视频, 录制视频数(即采集视野数)以能评估到至少 200 个精子为限, 计数前向运动精子比例。将两个标本的所有视频分别作为精子活力质控品 1 及活力质控品 2。

1.5 精子形态质控品的制备 选取 10 份浓度 $> 15\times 10^6/\text{mL}$ 的精液标本制作 10 张形态涂片, 经改良巴氏染色后, 1 000 倍油镜下选取精子分布均匀视野, 采用高清摄像头采集图片, 从上述 10 张涂片采集的图片中随机选取 100 个头部和尾部完整的精子并标记编号。

[△] 通信作者, E-mail: 419807785@qq.com。

1.6 质控品发放 将精子浓度、活力及形态质控品统一发放给参评单位,48 h内按照各自实验室日常精液分析检测方法分析质控品,并反馈分析结果。

1.7 统计学处理 采用 SPSS20.0 进行数据处理及统计分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布计量数据以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。用 CV 值表示各实验室之间结果的变异。

2 结果

2.1 各参评实验室一般概况 四川地区共 17 家实验室参与本次室间质量评价,其中 15 家(88.24%)实验室反馈了检测结果,包括 7 家检验科、5 家生殖中心及 3 家男科实验室。其中 15 家反馈精子浓度检测结果,14 家反馈精子活力及精子形态检测结果。

2.2 实验室检测方法比较 各实验室中浓度检测使用最多的方法为 CASA 检测,活力检测使用最多的方法为人工检测,形态检测全为人工检测,见表 1。

表 1 实验室检测方法及其计数板类型结果比较[n/n(%)]

项目	检测方法	实验室
浓度	CASA	10/15(66.67)
	人工	3/15(20.00)
	全自动	2/15(13.33)
活力	CASA	4/14(28.57)
	人工	10/14(71.43)
形态	人工	14/14(100.00)

2.3 实验室使用计数板类型比较 15 家实验室中 8 家(53.33%)使用计数板类型为 Makler 计数板,各 1 家(6.67%)分别使用 Macro 计数板、精子计数池、红宝石计数板及牛鲍计数板,3 家(20.00%)使用计数板类型不清楚。

2.4 实验室精子浓度结果比较 15 家实验室精子浓度质控品检测结果的 CV 值为 29.84%,将浓度检测方法分为 CASA 方法及其他(人工和全自动)方法,CASA 方法 CV 值(23.96%)低于其他方法 CV 值

(43.16%)。将检测浓度使用计数板深度分为 10 μm 及非 10 μm (3 家 100 μm 、1 家 20 μm 、1 家 15 μm)、10 μm 的计数板浓度检测结果 CV 值(24.82%)明显低于非 10 μm 浓度检测结果 CV 值(42.66%),见表 2。

2.5 实验室精子活力结果比较 14 家实验室中,活力质控品 1 和 2 的前向运动精子比例的 CV 值分别为 18.30%及 12.97%,将活力检测方法分为人工方法及 CASA 方法,CASA 方法检测前向运动精子的 CV 值明显低于人工方法,见表 3。

2.6 实验室精子形态结果比较 14 家实验室中,正常精子形态百分比的 CV 值较高,为 72.13%。在对 100 个精子的形态评估中,仅有 34.00%(34/100)的正常或异常精子所有实验室评估结果一致,68.00%(68/100)的精子评估结果不一致。异常形态精子中,过量残留胞浆的 CV 值最高(96.71%),见表 4。头部缺陷精子中空泡异常的 CV 值最高,为 65.32%,颈部和中段缺陷中弯曲缺陷的 CV 值最高,为 139.45%,主段缺陷中卷尾缺陷的 CV 值最高,为 115.45%,见表 5。

表 2 15 家实验室精子浓度结果比较

	实验室(n)	$\bar{x} \pm s (\times 10^6/\text{mL})$	CV(%)
所有实验室	15	56.81 \pm 16.95	29.84
检测方法			
CASA	10	57.33 \pm 13.73	23.96
其他方法	5	55.79 \pm 24.08	43.16
计数板深度			
10 μm	10	57.90 \pm 14.37	24.82
非 10 μm	5	56.31 \pm 24.02	42.66

表 3 参评实验室前向运动精子结果比较

项目	n	活力质控品 1	活力质控品 2
所有实验室($\bar{x} \pm s, \%$)	14	50.10 \pm 9.17	76.85 \pm 9.96
CV(%)		18.30	12.97
人工方法($\bar{x} \pm s, \%$)	10	48.27 \pm 10.29	76.64 \pm 11.83
CV(%)		21.31	15.44
CASA 方法($\bar{x} \pm s, \%$)	4	54.68 \pm 2.80	77.38 \pm 3.09
CV(%)		5.12	4.00

表 4 参评实验室精子形态质控品评估结果比较

数值	正常精子形态	异常精子形态			
		头部缺陷	颈部和中段缺陷	主段缺陷	过量残留胞浆
比例[M($P_{25} \sim P_{75}$), %]	14.50(10.25~20.75)	74.00(72.25~85.00)	17.00(15.25~25.25)	5.00(3.25~9.00)	2.00(1.00~4.50)
CV(%)	72.13	24.53	46.87	62.79	96.71

表 5 参评实验室精子形态不同部位异常结果比较

数值	头部缺陷			颈部和中段缺陷		主段缺陷		
	外形异常	顶体异常	空泡异常	弯曲	粗/细	卷尾	短/断尾	双尾
比例[M($P_{25} \sim P_{75}$), %]	59.00 (36.75~68.50)	24.00 (19.00~30.50)	16.00 (9.25~24.25)	2.50 (1.25~4.75)	11.50 (7.25~19.00)	1.00 (1.00~3.50)	2.50 (1.00~4.00)	1.00 (1.00~2.00)
CV(%)	42.89	42.49	65.32	139.45	67.47	115.45	80.08	35.89

3 讨 论

本次室间质量评价的质控品均在各参评实验室进行检测,且均由从事精液分析的技术人员按照日常分析方式进行检测,可反映该实验室实际精液分析水平。本次室间质量评价活动虽涵盖四川地区 6 个市,但仅 15 家实验室反馈了检测结果,因此该结果仅反映部分四川地区医疗单位精液分析室间质量评价水平。本研究为首次在四川地区开展精液分析的室间质量评价活动,虽参评实验室规模不大,但在此次组织开展室间质量评价活动中,累积了如何组织参评实验室、如何制订参评项目及如何制备与分发质控品等方面的经验,为后续大规模推动四川地区精液分析室间质量评价活动打下基础。

此次 15 家反馈了检测结果的单位中有 7 家(46.67%) 在检验科进行精液分析,有文献提到,多数检验科精液分析是按照《全国临床检验规程》标准进行^[11],但《全国临床检验规程》中精液分析的项目、检测方法 & 参考值更新较慢,与世界卫生组织(WHO)推荐的精液分析标准有差异。目前全国推荐精液分析参考标准使用《WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen》第 5 版^[12](以下简称 WHO 第 5 版),因为该手册详细介绍了精液分析不同项目的具体操作、方法、仪器、参考值及质量控制措施等。

此次室间质量评价 15 家实验室精子浓度质控品检测结果的 CV 值较高(29.84%)。国内外文献报道的精子浓度检测结果 CV 值也较高,比利时^[13]文献中 CV 值为 19.2%,国内广东省^[6]文献中 CV 值为 34.09%,意大利^[9]文献中的 CV 值分别为 46.65%、59.03% 和 75.14%。分析精子浓度检测结果的 CV 值高于其他检验项目的原因可能为各实验室参考标准、使用方法及操作等不一致,如加样前混匀次数及混匀方式不一致。15 家实验室中使用 CASA 方法检测精子浓度的 CV 值为 23.96%,低于其他方法检测的 CV 值(43.16%)。对于精子浓度和活力分析,CASA 结果较人工分析方法更客观准确,但不同的 CASA 分析仪器由于其分析原理不同、帧率不同、配备的精子计数池深度不同,结果会有很大差异^[14-15],仍需注意使用和评估各类型的 CASA。不同计数板深度对精液分析结果也会产生影响,精子计数板深度与前向运动精子呈负相关,精子计数板深度与浓度结果呈正相关^[16-17]。CASA 计数精子时建议使用深度为 10 μm 的计数板,目的是确保精子既形成单层分布又能自由活动,从而保证视野内所有的精子都能被软件捕捉识别。

活力质控品 1 和 2 前向运动精子比例的 CV 值分别为 18.30% 和 12.97%,均小于 20%,较浓度及形态的 CV 值低,这一结果可能是由于活力质控品为视频,不需要各实验室分析前进行任何处理,从而降低了检测的误差和 CV 值。CASA 检测前向运动精子

比例的 CV 值明显低于人工方法,提示 CASA 较人工方法分析更客观,有更低的变异性。

本研究中,正常精子形态百分比的 CV 值为 72.13%,国内广东省文献中精子形态的 CV 值为 62.01%^[6],比利时^[13]及意大利^[9]文献中的 CV 值分别为 79.4% 及 80%,精子形态的 CV 值远高于浓度及前向运动精子比例的 CV 值,分析原因可能主要为:(1)不同实验室参考标准不一致,在 WHO 的连续几个版本中,评估标准的变化及临界值的变化造成检测人员对精子形态理解不一致;(2)由于 14 家实验室全部采用人工方法进行形态分析,人为主观意识强,缺乏客观性,同一实验室不同人员对同一精子的认识均存在差异,对处于临界形态的精子,同一技术人员两次分析也可能存在不一致结果等。FILIMBERTI 等^[9]文献中对参评实验室进行形态教学课程后,形态 CV 值较教学前明显下降,证实了形态教学课程的重要性。

在异常精子形态中,头部缺陷较其他缺陷 CV 值低,过量残留胞浆 CV 最高,为 96.71%。头部缺陷中空泡异常的 CV 值最高(65.32%),颈部和中段缺陷中颈部弯曲缺陷 CV 值最高(139.45%),主段缺陷中卷尾缺陷 CV 值最高(115.45%),考虑原因首先可能为多数实验室更关注头部缺陷,尤其注重头部缺陷中精子外形及顶体大小的缺陷,而对其他缺陷类型(如空泡及弯曲等)关注及认识较少。其次,WHO 第 5 版中对不同缺陷未给出具体定义,如卷尾的尾部需要卷曲到什么程度才能判断为卷尾,是否需要 $>360^\circ$ 才判断为卷尾;颈部弯曲未定义具体弯曲角度等,致使各实验室对精子形态有不同的理解及判断标准等。

综上所述,四川地区精液分析室间质量评价中,前向运动精子比例 CV 值最低,其次为浓度 CV 值,正常精子形态百分比 CV 值最高。为使四川地区不同实验室精液分析结果具有可比性,建议采取如下措施:首先建议各实验室采用 WHO 第 5 版作为实验室精液分析参考标准,参考该标准并结合实验室实际情况选择适合的方法和仪器设备,建立标准化操作程序,对于主观性强的精子形态分析可首先做好实验室内部人员比对,如采取共同阅片统一认识等方法。笔者希望通过本研究摸索建立精液分析的室间质量评价体系,推进各实验室精液分析技术的标准化操作及室内质量控制,提高四川地区各实验室检测水平,建立四川地区精液分析室间质评体系,最终达到实验室间精液分析结果互认。

参考文献

- [1] 杨静薇,卢文红,孙莹璞,等. CSRM 数据报告:2008—2018 年中国健康男性精液质量变化分析[J]. 生殖医学杂志,2020,29(1):1-6.
- [2] HUANG C, LI B, XU K, et al. Decline in semen quality among 30 636 young Chinese men from 2001 to 2015[J].

- Fertil Steril, 2017, 107(1): 83-88.
- [3] KUMAR N, SINGH A K. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: a review of literature [J]. J Human Reprod Sci, 2015, 8(4): 191-196.
- [4] WHITFIELD M, POLLET-VILLARD X, LEVY R, et al. Posttesticular sperm maturation, infertility, and hypercholesterolemia [J]. Asian J Androl, 2015, 17(5): 742-748.
- [5] 谢伟, 张海英. 中国生育男性精液质量现状和研究进展 [J]. 医学综述, 2014, 20(14): 2562-2564.
- [6] 王奇玲, 唐运革, 邓顺美, 等. 精液分析区域性外部质量控制研究 [J]. 生殖与避孕, 2015, 35(12): 888-892.
- [7] 周芳, 卢文红, 王晓尉, 等. 四省一个直辖市精液分析外部质量控制网络建立的初步研究 [J]. 生殖医学杂志, 2019, 28(12): 1494-1501.
- [8] LARS B, BARRATT C L R, DAVID M, et al. 'How to count sperm properly': checklist for acceptability of studies based on human semen analysis [J]. Human Reprod, 2015(2): 227-232.
- [9] FILIMBERTI E, DEGL'INNOCENTI S, BORSOTTI M, et al. High variability in results of semen analysis in andrology laboratories in Tuscany (Italy): the experience of an external quality control (EQC) programme [J]. Andrology, 2013, 1(3): 401-407.
- [10] 郑艳, 吴应碧, 余林, 等. 四川地区精液常规分析现状的调查 [J]. 检验医学与临床, 2019, 16(8): 1136-1139.
- [11] 陆金春. 精液分析标准化与质量控制所面临的问题和解决措施 [J]. 临床检验杂志, 2016, 34(9): 641-645.
- [12] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [M]. 5th ed. Geneva: World Health Organization, 2010: 1-271.
- [13] PUNJABI U, WYNS C, MAHMOUD A, et al. Fifteen years of Belgian experience with external quality assessment of semen analysis [J]. Andrology, 2016, 4(6): 1084-1093.
- [14] 金灿灿. 计算机辅助精液分析系统的性能评价 [J/CD]. 世界最新医学信息文摘 (连续型电子期刊), 2017, 17(37): 120-123.
- [15] MORTIMER S T, HORST G V D, MORTIMER D. The future of computer-aided sperm analysis [J]. Asian J Androl, 2015, 17(4): 545-553.
- [16] 陆金春, 岳茹倩, 冯瑞祥, 等. 精子计数池深度对精子活力影响的实验研究 [J]. 中华男科学杂志, 2013, 19(9): 776-779.
- [17] 陆金春, 岳茹倩, 冯瑞祥, 等. 精子计数板深度与精子浓度的关系研究 [J]. 中国男科学杂志, 2013, 19(12): 17-20.

(收稿日期: 2020-12-17 修回日期: 2021-04-05)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 13. 039

抢救患者凝血功能与成分血输注量的关系

徐莹莹

河南科技大学第一附属医院输血科, 河南洛阳 471003

摘要:目的 研究抢救患者术前凝血功能与术中成分血输注量的关系, 为临床抢救输血患者及 ABO 同型血库存不足时的紧急抢救用血提供参考依据。方法 选取河南科技大学第一附属医院 2018 年 9 月至 2020 年 4 月急诊科术中用量 $\geq 1\ 600$ mL 的 164 例患者作为研究对象, 根据凝血功能分为正常组 (79 例) 和异常组 (85 例), 异常组根据是否紧急输注 O 型红细胞分为 A 组 (未紧急输注 O 型红细胞) 和 B 组 (紧急输注 O 型红细胞), 其中 A 组 57 例、B 组 28 例。分析各组患者术中各成分血的输注量与术前凝血功能的关系, 对比患者术前及输血后 1、2、3 d 的平均血红蛋白 (Hb)、间接胆红素 (IBiL) 水平及不规则抗体筛查结果, 探讨患者的用血安全与输血效果。结果 B 组患者的 AB 型占比高于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A 组和 B 组患者的术前凝血功能明显异常, 部分凝血指标与其术中成分血输注量呈一定相关性 ($P < 0.05$); 正常组、A 组、B 组患者术后 1、2、3 d 的 Hb、IBiL 水平与术前比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各组患者输血后均未出现新的不规则抗体。结论 凝血功能对术中成分血输注量有影响, 可作为术前及术中评估出血与用血量的重要依据; 紧急输注 O 型红细胞具有有效性和安全性。

关键词: 抢救患者; 凝血功能; 术中成分血输注; 输血量**中图分类号:** R826.2+6**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-9455(2021)13-1962-04

对急性大出血抢救患者及时输注全血或成分血, 可有效预防患者失血性休克、酸碱平衡紊乱及凝血功能异常的发生^[1-2]。目前, 本院临床针对需输血的抢救患者多根据患者病情采用成分血输注, 有效利用血液资源, 避免输血不良事件^[3]。对于需要大量输血的患者, 短时间内大量输注血液制品可能会造成凝血功

能异常, 因此, 合理输注成分血, 对维持患者正常生命体征、为手术治疗争取抢救时间具有非常重要的作用^[4]。但在紧急情况下, 同型血库存不足时, 紧急输注 O 型红细胞或者 AB 型血浆在紧急抢救患者生命的情况下显得尤为重要。有文献报道, 紧急抢救输血患者凝血功能与输血量具有相关性^[5], 为保证紧急用