

## ·评论·

## 精液分析现状:对《亚洲男性学杂志》出版的陆金春等所著的“中国 118 家实验室精液分析状况的调查”一文的评论

Baker HW

陆金春等<sup>[1]</sup>所著的“中国 118 家实验室精液分析状况的调查”一文主要回顾了当前在中国采用的精液分析方法。调查使用的是作者自己设计的包括 36 个问题的“男科实验室精液分析调查表”。给 145 家精液实验室发放了调查表,收回 118 份答卷。调查表均由实验室专业技术人员填写。调查表都是由作者在 2005—2007 年间利用参加中国男科学专业会议和男科诊断技术培训班的机会发放的。文章中并未指出这种方式募集到的实验室是否能代表中国的精液分析实验室的整体情况。综合性医院的实验室约占一半,其他是附属机构的医院或计划生育研究所。部分没有返回调查表的机构可能是因为未开展精液分析或未开设精液分析实验室。因此调查的响应比例应该比实际的更高,这是中国医学的显著特征。根据调查结果,作者呼吁精液分析应该更好地标准化。

本评论和意见是从精液分析用于检测和治疗不育不孕的角度出发的<sup>[2]</sup>。调查报告显示,当前运用的精液检测方法明显有许多缺点,尤为显著的是:①50%左右的精液分析实验室运用计算机辅助精液分析(CASA)。②许多研究者认为现今的精液分析不尽如人意。③经常用酶联免疫吸附(ELISA)法检测抗精子抗体。④27%的实验室将精液生化检测列为常规检测。⑤无质量保证措施。⑥时常采用不符合第 4 版《世界卫生组织人类精液分析实验室技术手册》<sup>[3]</sup>(简称手册)的精液分析方法。

实验室认证机构普遍认为,手册推荐的方法应作为标准方法。不采用这些方法的实验室负责人必须证明其采用的方法得到的结果与标准方法相同

或更好。手册包含标准方法和变动在可接受范围内的操作程序,也提供了多种其他可供选择的试验和研究试验。笔者主要针对标准方法进行评论。

笔者认为,精液量、精液浓度、精子前向活力和总活力、精子形态和精子抗体等的测定需要更可靠、更标准的方法。在临床上,精液评估的某些方面可进行调整,如精液黏稠度、液化性、精子存活率、精子生化。黏稠度异常或液化有问题足以让临床医生警惕并意识到精液黏稠度异常可能导致的无效精液分析结果。尽管 pH 检测是常规检测,但其只对少精症患者和低精液量患者有意义。对这类患者,检测结果为 pH 酸性说明患者的精囊有病变,精液贮存功能丧失。这有助于两侧输精管先天性缺如和射精管梗阻的诊断。尽管测定果糖可替代 pH 检测发现患者缺少精囊液,笔者认为 pH 检测是非常有临床意义的,而其他精液生化参数检测的作用不大。常规的精液活动力检查也可判断精子存活率,两者的检测结果应当相似。然而对临床而言,当精子活力低下时,精子存活率检测才可作为死精子症的辅助诊断指标<sup>[2]</sup>。

令人惊讶的是,在 118 家实验室中,没有一家通过称重法测量精子数量。而这是手册中最简单的方法<sup>[3]</sup>，“2.3.3 体积……精液的体积可用……或者称重有精液和无精液的标准容器测得”。使用标准的加盖量杯,装精液后称重,将结果减去多次空杯质量的平均值,该方法比将精液倒入量筒中计算更加准确,因为精液会在倒之前黏附在杯壁上,造成损失<sup>[4]</sup>。

精子抗体的检测应在不育患者的精液样品中进行,因为精子自身免疫力会造成约 5%的男性不育,而在精液分析中其没有特殊的外观特征。精子凝集反应不是精子自身免疫的有效指标。如果未发现精子抗体存在,患者可能会进行标准体外受精(IVF)治疗,并因没有检测出精子自身免疫情况而导致受精失败。因此手册<sup>[3]</sup>建议将测试精子抗体列入标准

作者单位:Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Melbourne and Melbourne IVF Reproductive Services, The Royal Women's Hospital, Parkville 3052 Victoria, Australia

通讯作者:Baker HW, E-mail: g.baker@unimelb.edu.au

本文首次发表在 *Asian J Androl*, 2010, 12(1):115-117

程序中。精子穿透宫颈黏液测试是一种可选的有效精子自身免疫筛查测试。精子抗体测试应是一种已成熟的可靠的检测病理性精子抗体的方法,这点极其重要。不足 10% 的中国实验室使用免疫珠试验 (IBT) 和精子制动试验,超过 50% 的实验室用 ELISA 法进行精子抗体测试,其测试结果和 IBT 的结果没有联系,所以在临床上有极高的误导性<sup>[5]</sup>。

此调查结果中,精子形态检测最不如人意。在低倍镜下,不进行精子染色就检测精子形态所得的结果是不可能准确的。不同实验室在固定并染色后的涂片上检测到的精子形态结果差异很大<sup>[6-9]</sup>。这很重要,因为多个样本测得的持续性精子形态不良表明精子存在缺陷,这种情况下就需要用胞浆内单精子注射 (ICSI),而不是常规 IVF,以避免零或低受精率。全自动化技术的引进应能克服不同实验室间精子形态测定结果的差异<sup>[10]</sup>,同时临床医师也需要知道如何解读他们所用实验室的测试结果。

在中国,CASA 的使用率很高,50% 以上的实验室在使用。其中,约 30% 的实验室单独使用 CASA,多数实验室是手工检测和计算机辅助技术结合。CASA 可能可以获得理想的精子浓度和形态检测结果,但也存在很多问题<sup>[10]</sup>。许多系统仍不能区分精子和碎片,还可能存在着严重的精子密度依赖性的偏差。外部质量保证对验证不同的 CASA 系统的合适度至关重要。也有 25% 的实验室使用 CASA 检测精子形态,这些半自动式的方法肯定不准确。

尽管在精液分析时质量保证的用途受到质疑,仅有几个例子显示质控可纠正一些问题,但研究者仍坚信,像其他领域的临床测试一样,质量保证应当作为精液分析的常规检测程序<sup>[11-13]</sup>。质量保证措施是评价实验室的准确度和精密度的关键。在技术人员培训和质量保证过程中进行的研究显示,结果的差异很大。尽管通过培训,不同技术人员对同份样品的精子密度和活力测试结果的变异系数可降低到 15%,但即使是经常进行精液分析操作的技术人员,其培训前的变异性也很大<sup>[14-17]</sup>。

无质量保证、使用非标准方法、存在测试范围的差异,这些现象尽管不如人意,但这些问题不只存在于中国,以前的许多精液分析调查都表明,精液分析方法有很多需要改进的内容<sup>[13,18-21]</sup>。笔者认为,这些问题是手工精液分析方法中固有的,且在新的男性生育力测试方法出台前,将一直存在。Huang 等<sup>[22]</sup>应当因其为改进中国精液分析作出的努力而得到表扬。

## 参 考 文 献

- [1] Lu JC, Zhang HY, Hu YA, et al. A survey on the status of semen analysis in 118 laboratories in China [J]. *Asian J Androl*, 2010,12(1):104-110.
- [2] Baker HW. Clinical management of male infertility [EB/OL]. [2010-01-15]. <http://www.endotext.org/male/male7/maleframe7.htm>. DeGroot LJ. Editor. 2009.
- [3] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction [M]. 4th ed. Cambridge:Cambridge University Press, 1999.
- [4] Brazil C, Swan SH, Drobnis EZ, et al. Standardized methods for semen evaluation in a multicenter research study [J]. *J Androl*, 2004,25(4):635-644.
- [5] Clarke G, Baker HW. Immunological evaluation of male infertility [M]//*Male reproductive function pathophysiology and treatment* [M]. Kandeel F. New York:Informa,2007:293-300.
- [6] Matson PL. External quality assessment for semen analysis and sperm antibody detection: results of a pilot scheme [J]. *Hum Reprod*, 1995,10(3):620-625.
- [7] Ombelet W, Bosmans E, Janssen M, et al. Multicenter study on reproducibility of sperm morphology assessments [J]. *Arch Androl*, 1998,41(2):103-114.
- [8] McLachlan RI, Baker HW, Clarke GN, et al. Semen analysis: its place in modern reproductive medical practice [J]. *Pathology*, 2003,35(1):25-33.
- [9] Castilla JA, Morancho-Zaragoza J, Aguilar J, et al. Quality specifications for seminal parameters based on the state of the art [J]. *Hum Reprod*, 2005,20(9):2573-2578.
- [10] Garrett C, Liu DY, Clarke GN, et al. Automated semen analysis: 'zona pellucida preferred' sperm morphometry and straight-line velocity are related to pregnancy rate in subfertile couples [J]. *Hum Reprod*, 2003,18(8):1643-1649.
- [11] Jequier AM. Is quality assurance in semen analysis still really necessary? A clinician's viewpoint [J]. *Hum Reprod*, 2005,20(8):2039-2042.
- [12] Knuth UA, Neuwinger J, Nieschlag E. Bias to routine semen analysis by uncontrolled changes in laboratory environment-detection by long-term sampling of monthly means for quality control [J]. *Int J Androl*, 1989,12(5):375-383.
- [13] Pacey AA. Is quality assurance in semen analysis still really necessary? A view from the andrology laboratory [J]. *Hum Reprod*, 2006,21(5):1105-1109.
- [14] Jequier AM, Ukombe EB. Errors inherent in the performance of a routine semen analysis [J]. *Br J Urol*, 1983,55(4):434-436.
- [15] Auger J, Eustache F, Ducot B, et al. Intra-and inter-individual variability in human sperm concentration, motility and vitality assessment during a workshop involving ten laboratories [J]. *Hum Reprod*, 2000,15(11):2360-2368.

- [2] Comeveaux JJ, Kruer MC, Hu-Lince D, et al. SNP-based chromosomal copy number ascertainment following multiple displacement whole-genome amplification[J]. *Biotechniques*, 2007, 42(1):77-83.
- [3] Jasmine F, Ahsan H, Andrusis IL, et al. Whole-genome amplification enables accurate genotyping for microarray-based high-density single nucleotide polymorphism array [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008,17(12):3499-3508.
- [4] Spits C, Le Caignec C, De Rycke M, et al. Optimization and evaluation of single-cell whole-genome multiple displacement amplification[J]. *Hum Mutat*, 2006, 27(5): 496-503.
- [5] Dean FB, Hosono S, Fang L, et al. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(8): 5261-5266.
- [6] Jiang Z, Zhang X, Deka R, et al. Genome amplification of single sperm using multiple displacement amplification [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(10): e91.
- [7] Ivanov PL, Fomichev AA. Whole-genome amplification by MDA to improve sensitivity of forensic expert examination of chromosomal DNA[J]. *Sud Med Ekspert*, 2008, 51(4): 16-18.
- [8] Hosono S, Faruqi AF, Dean FB, et al. Unbiased whole-genome amplification directly from clinical samples[J]. *Genome Res*,2003, 13(5): 954-964.
- [9] Ling JW, Zhuang GL, Zhang CH, et al. Evaluation of genome coverage and fidelity of multiple displacement amplification from single cells by SNP array [J]. *Mol Hum Reprod*, 2009, 15(11): 739-747
- [10] Hellani A, Coskun S, Tbakhi A, et al. Clinical application of multiple displacement amplification in preimplantation genetic diagnosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2005, 10(3):376-380.
- [11] Kennett JY, Watson SK, Sapruff H, et al. Technical demonstration of whole genome array comparative genomic hybridization[J]. *J Vis Exp*, 2008, 5(18). pii: 870.doi:10.3791/870.
- [12] Panelli S, Damiani G, Espen L, et al. Ligation overcomes terminal underrepresentation in multiple displacement amplification of linear DNA[J]. *Biotechniques*, 2005, 39(2): 174-180.
- [13] Sun G, Kaushal R, Pal P, et al. Whole-genome amplification: relative efficiencies of the current methods [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2005, 7 (5): 279-286.
- [14] Hellani A, Coskun S, Benkhalifa M, et al. Multiple displacement amplification on single cell and possible PGD applications[J]. *Mol Hum Reprod*, 2004, 10(11): 847-852.
- [15] Renwick PJ, Lewis CM, Abbs S, et al. Determination of the genetic status of cleavage-stage human embryos by microsatellite marker analysis following multiple displacement amplification[J]. *Prenat Diagn*, 2007, 27(3):206-215.
- [16] Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, et al. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridisation[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(4): 1214-1218.
- [17] Grewal SS, Kahn JP, MacMillan ML, et al. Successful hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi anemia from an unaffected HLA-genotype-identical sibling selected using preimplantation genetic diagnosis[J]. *Blood*, 2004, 103(3): 1147-1151.
- [18] Lledó B, Ten J, Galán FM, et al. Preimplantation genetic diagnosis of Marfan syndrome using multiple displacement amplification [J]. *Fertil Steril*, 2006, 86(4):949-955.
- [19] Renwick PJ, Trussler J, Ostad-Saffari E, et al. Proof of principle and first cases using preimplantation genetic haplotyping-a paradigm shift for embryo diagnosis [J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 13(1): 110-119.
- [20] Renwick P, Ogilvie CM. Preimplantation genetic diagnosis for monogenic diseases: overview and emerging issues[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2007, 7(1):33-43.

(收稿日期:2010-01-19)

(上接 p226)

- [16] Brazil C, Swan SH, Tollner CR, et al. Quality control of laboratory methods for semen evaluation in a multicenter research study [J]. *J Androl*, 2004, 25(4):645-656.
- [17] Toft G, Rignell-Hydbom A, Tyrkiel E, et al. Quality control workshops in standardization of sperm concentration and motility assessment in multicentre studies [J]. *Int J Androl*, 2005, 28(3): 144-149.
- [18] Souter VL, Irvine DS, Templeton AA. Laboratory techniques for semen analysis: a Scottish survey[J]. *Health Bull (Edinb)*, 1997, 55(3):140-149.
- [19] Keel BA, Quinn P, Schmidt CF Jr, et al. Results of the American Association of Bioanalysts national proficiency testing programme in andrology[J]. *Hum Reprod*, 2000, 15(3): 680-686.
- [20] Keel BA. How reliable are results from the semen analysis? [J]. *Fertil Steril*, 2004, 82(1): 41-44.
- [21] Riddell D, Pacey A, Whittington K. Lack of compliance by UK andrology laboratories with World Health Organization recommendations for sperm morphology assessment [J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(12):3441-3445.
- [22] Huang YF, Lu JC. Advances in standardization and quality control for the analysis of sperm quality parameters [J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2007, 13(11):963-968.

(王文秀译 尹峰华 任丹青审校)