

· 专家谈 ·

精液分析标准化刻不容缓

黄宇烽¹, Philip S. Li²

(1. 南京军区南京总医院生殖遗传研究室, 江苏南京 210002; 2. Center for Male Reproductive Medicine and Microsurgery, Cornell Institute for Reproductive Medicine, Department of Urology, The New York Presbyterian Hospital, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021, USA)

关键词: 精液分析; 标准化

中图分类号: R446; R321.1 文献标识码: A 文章编号: 1009-3591(2005)02-0083-02

Urgent Need for the Standardization of Semen Analysis among Clinical Andrology Laboratories

HUANG Yu-feng¹, Philip S. Li²

1. Laboratory of Reproduction & Genetics, Nanjing General Hospital of Nanjing Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 2. Center for Male Reproductive Medicine and Microsurgery, Cornell Institute for Reproductive Medicine, Department of Urology, New York Presbyterian Hospital, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY 10021, USA

Key words: semen analysis; standardization

精液分析,特别是精子计数,仍是评估男性生育能力的最基本测试。尽管《WHO 人类精液及精子-宫颈粘液相互作用实验室检验手册》推荐使用牛鲍氏(Neubauer)血细胞计数板作为精液分析的工具,并且建议了质量控制(QC)方法^[1],但是,据 Keel 等^[2]报告,对超过 530 家男科学实验室就精子密度、形态学、存活率及抗精子抗体的室间质量控制调查结果显示,同 1 份精液样本的精子密度差异范围达 $3 \sim 492 \times 10^6/\text{ml}$,手工检测的变异系数(CV)为 30% ~ 138%,计算机辅助的精液分析(CASA)的 CV 为 24% ~ 99%。不同实验室所测同 1 份样本精子密度的太大差异提示,精子计数方法的不同、计数板种类的不同以及操作的标准化与否对精子计数结果有着直接的影响。进一步的调查和研究清楚地说明了男科学实验室精液分析的标准化刻不容缓,更详细的评论参见本期专家谈作者 Brooks A. Keel 教授的文章“精液分析标准化的重要性及紧迫性”。

最近陆金春等^[3]进行的一项对照研究将含已知浓度的美国男科学实验室 QC(US andrology lab QC)乳胶珠溶液(Hamilton Thorne Biosciences, USA)作为 QC 标准溶液引入实验室 QC,来评价不同计数板的准确性和可靠性,这可避免精液样本固有误差的来源,如由精液粘度、精子凝集或存在生精细胞等引起的精子密度差异。结果显示,不同精子计数板的精子计数结果相差较大,引起误差的原因是多方面的,除精液本身性质所致的固有误差外,还包括技术误差,这通常是由于人为或操作引起的,包括样本的混匀、加样等操作,但也可归因于计数板本身的不准确性。不同精子计数板的相对准确性和精密度可产生显著不一致的结果^[3]。

牛鲍氏血细胞计数板是 WHO 推荐使用的精子计数工具^[1]。血细胞计数板本来是设计用于计数外周血红细胞与白细胞的,不过已经发现其用于精子计数时结果差异较大^[4],这可能与样本计数前

需要40倍稀释有关,其亦受环境条件、加样及分析时间的影响。

1978年,以色列科学家Makler研制了一种专用于未稀释精液精子计数的计数板。有数据显示,其与血细胞计数板的结果之间缺少相关性^[5]。据我们所知,Ginsburg等^[6]是首先使用一种含有特定颗粒浓度的溶液比较不同计数板结果的人,他们发现Makler计数板的计数及标准差都远远高于血细胞计数板和Micro-Cell计数板的结果,我们的研究结果支持这一结论。而Micro-Cell计数板是由Ginsbury和Armand于1990年发明的一次性使用的精子计数板,用于精液自动分析仪中的精子计数,不过在进行手工分析时需要附加显微镜网格目镜才能计数。

不同实验室之间精子计数结果的显著差异可导致临床精液分析结果的不确定性,1份精液标本的计数结果在此实验室检测被认为是正常值范围,而在彼实验室可能被认为在不育范围,这将导致临床医生对患者采取不同的治疗措施。流行病学研究亦提示,精子密度在过去50年间已有显著降低,但也有否定这一说法的报道^[7]。不同地区精子密度亦有显著性差异^[8,9],但这些报道是不同的人群和不同精子计数方法,而不同精子计数方法获得的结果差异又十分显著,提示不同实验室之间严格的QC十分必需。室内QC和室间QC是保证不同实验室结果准确和可靠的重要措施之一。精子计数是男科实验室目前考虑较多的质控项目之一^[10,11],目前最大的挑战来自精子计数方法学的标准化和监测^[12]。我们的研究显示,Cell-VU计数板的准确性和精密度均优于血球计数板和Makler计数板,我们惊奇地发现这个结果仍与多年前文献报道相符^[13,14],表明了Cell-VU专利技术独特的高技术含量和极高的稳定性。而且,Cell-VU可一次性或反复多次使用,这在计数传染性较强的样本时将显示出独特的优势。

Cell-VU计数板用于未稀释标本的精子计数。它由一个特别设计的标准(3×1")载玻片与表面被激光蚀刻有计数网格的盖玻片组成。载玻片和盖玻片都被清楚地标记以保证正确使用。盖玻片的1mm×1mm网格被均分为100个0.1mm×0.1mm小方格,而且薄得足以在高倍镜下无须特别的接合器或网格。载玻片由两个计数板(允许进行2个样本的测试)组成,每个计数板的深度均为20μm。这个优化的深度形成的单层精子细胞,使精子的运动

不受阻碍,存活率能被评估,并且易于进行精子计数。

因此,我们建议必须建立一个标准的计数板操作系统可应用于所有实验室,为不同实验室的QC评价提供基础,最终提高所有实验室结果的准确性、可靠性以及可比较性。

获取各种精子计数板的更多资料,请访问制造商的网站:

1. 血细胞计数板:WWW.QJSH.com
2. Marker;www.sefimedical.com
3. Cell-VU;www.cellvu.com
4. Micro-Cell;www.conceptiontechnologies.com

参考文献

- [1] 谷翊群,陈振文,于各鸣,等译,世界卫生组织编. WHO人类精液及精子-宫颈粘液相互作用实验室检验手册[M]. 第4版. 北京:人民卫生出版社,2001.
- [2] 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.
- [3] 陆金春,吕年青,黄宇烽,等. 三种精子计数池的质量评估[J]. 中华男科学杂志,2004,10(10):755-757,760.
- [4] 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.
- [5] Peters AJ, Zaneveld LJ, Jeyendran RS. Quality assurance for sperm concentration using latex beads[J]. Fertil Steril, 1993, 60(4): 702-705.
- [6] Ginsburg KA, Armand DR. The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movement measurements obtained by manual and videomicrographic analysis [J]. Fertil Steril, 1990, 53(5): 882-887.
- [7] Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, et al. Semen analyses in 1283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality [J]. Fertil Steril, 1996, 65(5): 1009-1014.
- [8] Fisch H, Ikeguchi EF, Goluboff ET. Worldwide variations in sperm counts [J]. Urology, 1996, 48(6): 909-911.
- [9] Fisch H, Goluboff ET. Geographic variations in sperm counts: a potential cause of bias in studies of semen quality [J]. Fertil Steril, 1996, 65(5): 1044-1046.
- [10] Franken DR. African experience with sperm morphology training courses[J]. Reprod Biomed Online, 2003, 7(1): 114-119.
- [11] Cooper TG, Bjorndahl L, Vreeburg J, et al. Semen analysis and external quality control schemes for semen analysis need global standardization [J]. Int J Androl, 2002, 25(5): 306-311.
- [12] 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.
- [13] Seaman EK, Goluboff E, BarChama N, et al. Accuracy of semen counting chambers as determined by the use of latex beads[J]. Fertil Steril, 1996, 66(4): 662-665.
- [14] Mahmoud AM, Depoorter B, Piens N, et al. The performance of 10 different methods for the estimation of sperm concentration [J]. Fertil Steril, 1997, 68(2): 340-345.