

2 种方法处理精液液化异常的比较分析

陈伟辉,方小武,韦剑洪,吴嘉齐

[摘要] **目的:**比较机械混匀法和菠萝蛋白酶消化法处理液化异常精液的质量。**方法:**选取 60 份经常规分析证实为精液液化异常标本,标本量均 ≥ 1.5 ml,每份标本均分为 3 组:A 组即对照组,未经任何处理;B 组,采用机械混匀法处理;C 组,采用菠萝蛋白酶消化法处理。首先应用西班牙人类精液分析微机辅助智能系统分别对 3 组样本的精子浓度、精子活力等参数进行检测;同时采用伊红染色法检测精子存活率;改良巴氏染色法分析精子正常形态率。**结果:**3 组精子浓度和存活率差异均无统计学意义($P > 0.05$);B 组和 C 组精液液化时间均比 A 组明显缩短,精子活力也显著高于 A 组($P < 0.01$);B 组精子正常形态率明显低于 A 组与 C 组($P < 0.01$);C 组精液液化时间明显短于 B 组($P < 0.01$)。**结论:**菠萝蛋白酶消化法比机械混匀法更适于处理精液液化异常,可明显缩短精液常规分析时间,降低精液黏度,避免取样误差,提高检测的准确性。

[关键词] 精液检验;精液液化异常;菠萝蛋白酶;机械混匀

[中国图书资料分类法分类号] R 446.144

[文献标志码] A

Comparison of two methods of handling non-liquefaction semen

CHEN Wei-hui, FANG Xiao-wu, WEI Jian-hong, WU Jia-qi

(Reproductive Medical Center, Boai Hospital of Zhongshan, Zhongshan Guangdong 528401, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the methods of mechanical mixing and bromelain treatment in handling non-liquefaction semen.

Methods: Sixty cases of non-liquefaction semen were taken from the patients in our department and all the sample's volume was ≥ 1.5 ml after routine examination. Every sample was divided into group A (control group), group B (semen handled by mechanical mixing) and group C (semen treated with bromelain). Human Computer-aided Semen Analysis System of Spain was used to detect the sperm density and motility; at the same time, Eosin Staining was used to detect the sperm viability, and Modified Papanicolaou Staining was employed to analyze the rate of the normal morphology sperm. **Results:** There was no significant difference among the three groups in the sperm density and viability ($P > 0.05$). The time of semen liquefaction and sperm motility in group B and group C were both significantly higher than those in group A ($P < 0.01$). However, the rate of normal morphology sperm in group B was significantly lower than that in group A and group C ($P < 0.01$). The time of semen liquefaction in group C was significantly shorter than that in group B ($P < 0.01$). **Conclusions:** Bromelain method is superior to mechanical mixing in handling abnormal liquefaction semen. It can not only shorten the time of semen routine analysis but reduce the semen viscosity, which will avoid sampling error.

[Key words] semen analysis; abnormal liquefaction semen; bromelain; mechanical mixing

根据 WHO 标准^[1],在室温下,精液标本通常在 15 min 内完全液化,很少超过 60 min,如果 60 min 仍未完全液化,则称为精液液化异常,包括精液液化延迟和不液化,是男性不育常见的病因之一。精液液化异常会导致精液黏稠度升高、精子活力下降等^[2-3],这使得精液评估变得困难,从而影响精液分析结果的准确性和可靠性,给临床诊断和治疗带来很大的困惑,因此,有必要在对液化异常精液进行分析前对精液进行处理,以提高分析结果的准确性。本研究通过机械混匀法和菠萝蛋白酶消化法处理液化异常精液,分别观察液化时间及精液其他参数的改变,探讨 2 种方法对精液质量的影响。现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1~6 月到我中心就诊,经精液常规分析证实为精液液化异常的男性患者 60 例,年龄 20~48 岁,均无外伤及性功能障碍病史,体检未发现明显睾丸、附睾及输精管异常。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 患者禁欲 2~7 d,用手淫法收集全部精液于干净容器内,在 37℃ 电热恒温水浴箱中水浴。液化异常标本为液化时间 ≥ 60 min,所有标本量 ≥ 1.5 ml。

1.2.2 实验方法 将每份液化异常标本均分为 3 份:1 份未处理(A 组);1 份采用机械混匀法处理(B 组),加入等体积的生理培养液(Dulbecco 磷酸缓冲盐水),并且用加样器反复吹打,促其液化;一份采用菠萝蛋白酶消化法处理(C 组),用 Dulbecco 磷酸

缓冲盐水制备 10 IU/ml 的菠萝蛋白酶,用 10 IU/ml 的菠萝蛋白酶液与等体积的精液(1+1)进行稀释(1:2),用移液管吸头的尖部搅拌,37℃ 孵育 10 min^[1]。应用西班牙人类精液分析微机辅助智能系统(CASA)分别对 3 组精子浓度、精子活力等参数进行检测,同时采用伊红染色法检测精子存活率,改良巴氏染色法(南京欣迪医药生产有限公司生产的试剂盒)分析精子正常形态率。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 q 检验。

2 结果

3 组精子浓度和精子存活率差异均无统计学意

义($P > 0.05$);B 组和 C 组精液液化时间均比 A 组明显缩短,精子活力也均比 A 组高($P < 0.01$);B 组精子正常形态率均明显低于 A 组与 C 组($P < 0.01$);C 组精液液化时间明显短于 B 组($P < 0.01$)(见表 1)。

3 讨论

人的精液有凝固液化的特征,凝固现象主要是在射精前后的短暂时间内存在,液化过程表现在前列腺液和精囊液接触后开始,通常在室温下几分钟内精液开始液化,15 min 内完全液化。人的精液凝固液化特性是保护精子行使正常功能和生育能力的

表 1 3 组精液检测结果比较($n_i = 60; \bar{x} \pm s$)

分组	液化时间/min	精子浓度/($\times 10^6$ /ml)	存活率/%	精子活力/%	正常形态率/%
A 组	61.50 \pm 13.17	65.47 \pm 28.30	45.51 \pm 22.68	26.83 \pm 12.96	3.4 \pm 2.1
B 组	24.00 \pm 10.22**	67.12 \pm 29.40	45.72 \pm 15.15	34.67 \pm 14.25**	2.5 \pm 1.2**
C 组	14.10 \pm 4.12 $\Delta\Delta$ *	66.89 \pm 21.28	45.55 \pm 19.16	35.39 \pm 15.39**	3.4 \pm 1.5 $\Delta\Delta$
F	381.63	0.07	0.002	6.68	6.00
P	<0.01	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01
$MS_{组内}$	98.291	706.030	385.790	202.625	2.700

q 检验:与 A 组比较 ** $P < 0.01$;与 B 组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

非常重要的生物现象^[3]。精液不液化使精液黏度增高,影响精子的活动力和穿透宫颈黏液的能力^[4-5],是造成男性不育的原因之一。

液化异常精液黏度增高,这使得在检测精液时用加样器取样困难,导致取样误差,影响检测结果的准确性,而且精液不液化阻止精子前向运动,精子的大多数能量消耗于克服尾部的切线运动,使精子活动受限、活动缓慢或在原地摆动,评估精子活力时结果偏低。本研究结果显示,3 组精子浓度和精子存活率差异均无统计学意义($P > 0.05$);B 组和 C 组精液液化时间均比 A 组明显缩短,精子活力也显著高于 A 组($P < 0.01$),结果与杨运运等^[3,6]报道一致。本研究结果提示通过机械混匀和菠萝蛋白酶消化均可使精液液化时间缩短,黏度降低,精子活力增加,2 种方法都可缩短精液常规分析的时间,避免了取样误差,提高检测的准确性。

另外,本研究结果显示,B 组精子正常形态率均明显低于 A 组与 C 组($P < 0.01$),A 与 C 组精子正常形态率差异无统计学意义($P > 0.05$),这提示采用机械混匀法处理精液对精子形态有影响,而菠萝蛋白酶消化法则对精子形态没有影响。这可能是由于机械混匀需用加样器反复吹打,导致精子尾部受损或头尾分离。

同时本研究结果显示,C 组精液液化时间明显短于 B 组($P < 0.01$),说明采用菠萝蛋白酶消化法处理比机械混匀法更能缩短精液液化时间,从而缩短了精液常规分析的时间。文献^[7]报道,精液不液化多数是前列腺疾病或精囊炎所致。精液中存在精囊分泌的凝固因子及前列腺分泌的液化因子,前列腺或精囊出现疾病,凝固因子和液化因子失去平衡,导致精液液化异常,黏度增高。而菠萝蛋白酶是一种水解蛋白酶,含有多种不同蛋白水解酶组分,对多种蛋白质及多肽具有催化水解活性,可使纤维蛋白大分子链断裂而使黏性精液分解。

综上所述,菠萝蛋白酶消化法比机械混匀法更加适于处理液化异常精液,可缩短精液常规分析的时间,避免取样误差。但 2 种处理方法对精子功能如精子顶体酶、精子 DNA 完整性、精子蛋白质组学等方面和精浆生化是否有影响,尚待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 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]. 谷翊群,陈振文,卢文红,等译. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2010:10-11.
- [2] 王琰,王旭初,杜海胜,等. 精液不液化对精液质量的影响[J]. 实用临床医学,2013,14(1):71-72.
- [3] 杨运运,徐计秀,王璟琦,等. 精液液化程度与精子活力、活动率、精子密度及 pH 值的研究分析[J]. 中国医疗前沿,2010,23(5):66-67.

肺炎支原体-DNA 检测对小儿呼吸道感染的诊断价值

刘 伶

[摘要]目的:探讨肺炎支原体(MP)-DNA 的检测对小儿呼吸道感染的诊断价值,为临床诊断和治疗提供依据。方法:对 2010~2012 年儿科诊治的有呼吸道感染症状者,采用聚合酶链反应法检测呼吸道分泌物中的 MP-DNA。结果:6 231 例呼吸道感染患儿中 MP-DNA 阳性 1 882 例,阳性率 30.20%。 $>5\sim 12$ 岁年龄组 MP-DNA 阳性率为 57.51%,均高于其他年龄组($P<0.01$)。1~3 月份 MP-DNA 阳性率为 41.48%,7~9 月份阳性率为 37.27%,均高于 4~6 和 10~12 月份($P<0.01$)。女性阳性率为 41.36%,明显高于男性的 21.51%($P<0.01$)。结论:MP-DNA 检测对小儿呼吸道感染诊断有重要价值。呼吸道感染患者中 MP 感染率较高,及时快速地检测,对预防疾病加重和肺外多器官损害有重要意义。

[关键词] 肺炎支原体;呼吸道感染;聚合酶链反应

[中国图书资料分类法分类号] R 375.2 **[文献标志码]** A

近年来,肺炎支原体(MP)感染率呈增高趋势,根据临床症状很难鉴别 MP 或病毒、细菌等引起的呼吸道感染,给临床诊断和治疗带来一定的难度。MP 早期诊断极为重要,MP 感染临床症状出现后 7~10 d 是 IgM 抗体检测的最佳时机,但患儿发病初期血清 MP-IgM 检测往往为阴性,容易漏诊和误诊,这也是血清中 MP-IgM 抗体阳性率低于 MP-DNA 检测阳性率的原因。为了解小儿呼吸道 MP 感染的情况,我们对近 3 年来我中心接诊的婴幼儿,通过荧光定量聚合酶链反应(PCR)方法检测 MP-DNA,现将检测结果作一分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010~2012 年疑似 MP 感染患儿 6 231 例,男 3 501 例,女 2 730 例;年龄分布: <6 个月 2 919 例(46.85%),6 个月至 2 岁 1 101 例(17.67%), $>2\sim 5$ 岁 1 479 例(23.74%), $>5\sim 12$ 岁 732 例(11.74%)。所有患儿均有发热和咳嗽等症状。

1.2 检测方法 对所有接诊病例 24 h 内采集痰液或咽拭子或支气管脓液等标本,采用荧光定量 PCR 技术检测 MP-DNA,根据试剂盒说明该产品的检测

下限为 1 000 IU/ml。使用厦门安普利公司生产的 AMPLLY9800 型 PCR 扩增仪和艾康生物技术有限公司生产的 MP-DNA 检测试剂盒,严格按说明书操作。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 不同年龄组 MP-DNA 阳性率比较 6 个月至 2 岁组 MP-DNA 阳性率为 39.61%,均明显高于 <6 个月组和 $>2\sim 5$ 岁组($P<0.01$),而 $>5\sim 12$ 岁组 MP-DNA 阳性率为 57.51%,均高于其他年龄组($P<0.01$)(见表 1)。

表 1 不同年龄组 MP-DNA 阳性率(%)比较

年龄组	<i>n</i>	MP-DNA 阳性	阳性率/%	χ^2	<i>P</i>
<6 个月组	2 919	670	22.95		
6 个月至 2 岁组	1 101	436	39.61**		
$>2\sim 5$ 岁组	1 479	355	24.01 $\Delta\Delta$	404.86	<0.01
$>5\sim 12$ 岁组	732	421	57.51 $\#\#\Delta\Delta$		
合计	6 231	1 882	30.20		

率的两两比较:与 <6 个月组比较** $P<0.01$;与 6 个月至 2 岁组比较 $\Delta\Delta P<0.01$;与 $>2\sim 5$ 岁组比较 $\#\#\#P<0.01$

2.2 不同月份 MP-DNA 阳性率比较 1~3 月份阳性率为 41.48%,7~9 月份阳性率为 37.27%,均明显高于其他月份($P<0.01$)(见表 2)。

[收稿日期] 2013-08-28

[作者单位] 安徽省马鞍山市立医疗集团 临床检验中心,243000

[作者简介] 刘 伶(1970-),女,副主任检验师。

[4] 苏宁,夏薇,王维,等.精液黏度对精液质量的影响及相关因素[J].广东医学,2010,31(5):578-579.

[5] Francavilla F, Romano R, Verghetta LA, et al. Interactive effect of semen and cervical mucus quality on postcoital test outcome: analysis from an andrological point of view[J]. Int J Androl, 2002, 25(4):236-242.

[6] 王忠叶,王爱华.三种酶处理精液不液化症的实验观察[J].生殖与避孕,1998,18(4):246-248.

[7] 罗日有.81 例精液不液化症原因分析[J].广西医学,2004,26(8):1195-1195.