

男性不育患者生殖道感染与精液参数的临床研究

王素梅¹ 艾斯卡尔·阿曼² 任黎刚³

[摘要] 目的:比较泌尿男性门诊孕前体检者和男性不育患者的溶脲脲原体(UU)、沙眼衣原体(CT)和淋球菌(NG)感染率,分析男性精液参数异常的可能病因。方法:选择 2017 年 1 月~2018 年 12 月就诊的男性不育患者 143 例为观察组,选择同时时间段孕前体检的 90 例男性为对照组,对比分析两组受检者的精液自动化分析和病原学检测结果。结果:观察组和对照组的 CT 感染率分别为 3.5%(5/143)、0,NG 感染率为 0.4%(1/143)、0,UU 感染率为 23.8%、23.3%,两组比较均无统计学意义($P>0.05$)。两组受检者的精液量、精子浓度、总精子数、精子总活力、前向运动精子比例差异无统计学意义($P>0.05$),但观察组精子畸形率高于对照组($P<0.05$);UU 阳性组和 UU 阴性组的精子浓度、活力和精子畸形率差异无统计学意义($P>0.05$),而 UU 阳性组的重度畸形精子症发病率明显高于 UU 阴性组($P<0.05$)。结论:育龄男性生殖道感染中 UU 感染发生率较高,UU 感染影响精液中精子形态,可能是男性不育的原因之一。

[关键词] 男性不育;精液质量;溶脲脲原体;男性生育力评估

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.12.013

[中图分类号] R698 **[文献标志码]** A

Impact of reproductive tract infection on the semen quality of infertile males

WANG Sumei¹ AIAIKAR Aman² REN Ligang³

(¹Department of Clinical Laboratory, Zhejiang Provincial Hospital, Hangzhou, 310014, China;

²Department of Urology, Wensu People's Hospital; ³Department of Urology, Tongde Hospital of Zhejiang Province)

Corresponding author: REN Ligang, E-mail: ren_lg@aliyun.com

Abstract Objective: To explore *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Neisseria gonococcus* infection in the reproductive tract of infertile men and its influence on semen quality. **Method:** Semen samples were collected from 143 infertile males in the clinic of urology of Tongde Hospital of Zhejiang from January 2017 to December 2018. UU infection was detected by culture method and semen analyses were conducted according to the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th Ed) on the semen pH value, semen volume, total sperm count, sperm concentration, total sperm motility, percentages of progressively motile sperm and immotile sperm. The data obtained were subjected to statistical analysis by t-test and non-parametric test (chi-square test). **Result:** UU infection was found in 23.6% (55/233) of total, and UU infection rate was 23.8%, 23.3% in the infertile patients group and pre-pregnancy physical examination group, respectively. CT infection rate was 3.5%, 0 in two groups, respectively. Meanwhile, NG infection rate was 0.4%, 0 in two groups, respectively. The total semen quality of male infertile group was slightly lower than that of pre-pregnancy physical examination group, but there was no significant difference in seminal fluid volume, sperm concentration, total sperm count, total sperm motility, forward motility or UU infection rate between the two groups ($P>0.05$). However, abnormal sperm rate in male infertile group was higher than that in pregnant group ($P<0.05$). No statistically significant difference was observed between UU-positive group and UU-negative group in the semen concentration, sperm count, total sperm motility, progressive sperm motility, abnormal sperm rate, while significant difference exists in the incidence of severe dysmorphic spermatozoa ($P<0.05$). **Conclusion:** Urogenital UU infection is common in males of reproductive age and it has adverse effects on morphology of semen resulting in male infertility.

Key words male infertility; semen quality; *Ureaplasma urealyticum*; male fertility assessment

男性不育在临床上是比较常见的疾病,随着人

们生活方式发生变化,大部分男性存在嗜酒、嗜烟、熬夜或者纵欲过度等不良生活习惯,同时加上社会压力的增大,都易使男性出现不育^[1]。男性生殖道感染也是男性不育的重要因素,其中,沙眼衣原体(CT)感染和淋球菌(NG)感染对于生殖的影响较大,但二者感染率低,而感染率更高的溶脲脲原体

*基金项目:浙江省科技厅公益项目(No:LGF18H040010);
浙江省医药卫生科研基金(No:2014KYB028)

¹浙江省人民医院检验中心(杭州,310014)

²新疆阿克苏地区温宿县人民医院泌尿外科

³浙江省立同德医院泌尿外科

通信作者:任黎刚, E-mail: ren_lg@aliyun.com

(UU)对于男性的精液质量,和男性生育到底有多少影响,目前意见不一^[2-3]。基于此,我们回顾分析近 2 年门诊就诊患者常规精液参数变化和生殖道感染特征,探讨男性不育的原因,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2017 年 1 月~2018 年 12 月在我院行精液检测分析的门诊患者,研究中剔除精液病原学检测不全病例 268 例,本组中病原学检测以 UU、CT 和 NG 为主,纳入病例 233 例。143 例男性不育患者为观察组,90 例男性孕前体检者作为对照组。观察组年龄 21~43 岁,平均 (32.09 ± 3.23) 岁,对照组年龄 22~44 岁,平均 (31.0 ± 4.1) 岁。两组患者在一般资料等方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 标本采集

两组受检者检验前均严格禁欲 2~7 d,同时要求禁烟酒和保持健康生活习惯。采集精液方法使用手淫法进行采集,得到精液后置于无菌容器中,然后送检验科进行检验,将精液标本放置在 37℃ 恒温台上^[4],在 1 h 之内分析完成。在检验时需要严格按照相关标准和要求进行,防止检验结果出现误差。

1.3 精液分析

精液常规分析采用 BEION 精子质量分析仪进行分析,按照 WHO《人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)^[4]诊断标准进行,配合 Makler 精子计数板进行人工精液质量检测精液参数。对于一些因精液密度低不适合于机器检查的样本,采用人工显微镜的方法检查。对比分析两组受检者的精液量、精液液化时间、精子浓度、总精子数、精子总活力、前向运动精子比例和精子畸形率。正常参考指标:精液量正常 ≥ 1.5 mL,精子畸形率(自动分析系统) $\leq 30\%$,精子总活力 $\geq 40\%$,精子前向运动精子比例 PR $\geq 32\%$ 。

1.4 UU 培养

精液样本采集后立即送检、接种,打开培养管

内外盖,将待测样本拭子插入培养管,旋转并挤压数次,使拭子中样本充分浸入培养液中,弃去拭子。将培养液置于 37℃ 恒温培养箱中培养 24~72 h 后,观察结果。UU 培养药敏试剂盒由法国生物梅里埃公司提供,按试剂盒提供的说明书进行操作。培养液不变色为阴性,培养液由橙色变为红色且清亮为阳性,表示有 UU 生长。

1.5 CT 检测

采用荧光定量 PCR 方法进行检测 CT-DNA,所用试剂由中山大学达安基因诊断中心生产。尿道拭子取材,严格按照说明书步骤提取核酸后进行 CT-DNA 检测,检测仪器为 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪。反应条件:95℃ 预变性 15 min,然后 94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s,共 40 个循环,最后末次延伸 72℃ 7 min。取 5 μ L 此 PCR 产物作模板,用内引物扩增,第二轮扩增条将退火温度调整为 60℃,余条件相同。两轮反应均设置水为阴性对照。PCR 产物检测用 1×T AE 制备 1.5% 琼脂糖凝胶,其中含有 1.0 μ g/mL EB,将水平电泳仪电压调整为 100 V,电泳时间为 30 min。

1.6 NG 培养

将标本接种于 TM 培养基,置于 37℃ 温箱孵育 48 h 后观察,挑取透明、水滴状、边缘整齐的可疑菌落做鉴定(用 Vitek32cc2 细菌自动鉴定仪, NH 卡)。

1.7 统计学方法

本次研究将通过 SPSS 17.0 统计软件来比较分析所有数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以 % 表示, χ^2 和 t 检验分析差异的显著性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床精液参数

结果显示,两组精液量、总精子数、精子浓度、精子总活力、精子前向运动比例差异均无统计学意义($P > 0.05$)。组间精子畸形率观察组高于对照组($P = 0.014$)。见表 1。

表 1 对照组和观察组常规精液分析比较

参数	对照组($n=90$)	观察组($n=143$)	参考值	T	P
年龄/岁	31.0 ± 4.1	31.7 ± 4.6	—	1.204	0.105
精液量/mL	3.8 ± 1.5	3.5 ± 1.4	≥ 1.5	-1.632	0.664
精子浓度/ $(\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1})$	56.3 ± 40.5	54.8 ± 39.8	≥ 15	-0.270	0.525
总精子数/ $\times 10^6$	211.4 ± 162.3	195.7 ± 163.0	≥ 39	-0.717	0.581
总活力/%	61.7 ± 20.8	60.1 ± 23.3	≥ 40	-0.391	0.218
前向运动比例/%	46.9 ± 17.7	45.4 ± 20.8	≥ 32	-0.436	0.092
精子畸形率/%	25.6 ± 15.02	28.5 ± 18.8	≤ 30	1.363	0.014

2.2 临床特征

按照精液检测和病原学检测结果临床分类见表 2。比较 UU、CT 和 NG 感染率,以及少精症、无精症、弱精症、液化异常、精液不液化和畸精症的发病率,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。我们将结果依据计算机精子形态情况进一步分析,以 $\leq 30\%$ 作为正常参考界值, $30\%\sim 60\%$ 界定为普通畸形精子症, $\geq 60\%$ 界定为重度畸形精子症。我们也发现,在精液活力正常人群中,计算机精子形态正常率达到 99.4%(175/176),仅 1 例精子畸形率为 36.4%,高出 30%的正常参考值;53 例弱精症中(观察组 37 例,对照组 16 例),畸形精子症占 94.3%(50/53),重度畸形精子症 18 例。弱精症患者的畸形精子症比例明显高于非弱精症人群,组间比较有显著差异($P<0.01$)。

2.3 UU 阳性组和 UU 阴性组的精液参数结果

UU 阳性组和阴性组间常规精液参数比较没有明显差异,见表 3。其中,UU 阳性组畸形精子症比例 27.3%(15/55),UU 阴性组畸形精子症比例

20.2%(36/178),组间没有差异($P=0.41$)。如果以精子畸形率 $\geq 60\%$ 界定为重度畸形精子症,数据提示 UU 阳性组重度畸形精子症占 18.2%(10/55),UU 阴性组重度畸形精子症比例为 6.7%(12/178),两组比较存在显著差异($P=0.023$)。

表 2 对照组和观察组的临床特征比较 例(%)

临床诊断分类	对照组 (n=90)	观察组 (n=143)	χ^2	P
UU 感染	21(23.30)	34(23.78)	0.0065	0.9355
CT 感染	0	5(3.5)	1.7663	0.1838
NG 感染	0	1(0.4)	0.0565	0.8121
少精症	4(4.44)	15(10.49)	1.9484	0.1860
无精症	1(1.11)	3(2.10)	0.0011	0.9736
弱精症	16(17.78)	37(25.9)	1.6255	0.2023
精液液化异常	32(35.56)	59(41.26)	0.5342	0.4648
精液不液化	24(26.67)	41(28.67)	0.0332	0.8554
畸形精子症	16(17.77)	35(24.48)	1.0840	0.2978
重度畸精症	6(6.67)	16(11.19)	0.8451	0.3579

表 3 UU 阳性组和阴性组的精液参数比较

$\bar{x} \pm s$

参数	体检组		不育组		全部病例	
	UU 阳性 (n=21)	UU 阴性 (n=69)	UU 阳性 (n=34)	UU 阴性 (n=109)	UU 阳性 (n=55)	UU 阴性 (n=178)
年龄/岁	31.0 $\pm$ 4.0	31.0 $\pm$ 4.4	31.4 $\pm$ 4.6	32.4 $\pm$ 5.1	31.3 $\pm$ 4.5	31.9 $\pm$ 4.7
精液量/mL	3.8 $\pm$ 1.6	3.9 $\pm$ 1.2	3.4 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 1.4	3.6 $\pm$ 1.2	3.6 $\pm$ 1.5
精子浓度/($\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$)	59.7 $\pm$ 41.1	48.6 $\pm$ 39.3	50.7 $\pm$ 41.0	56.1 $\pm$ 39.6	49.9 $\pm$ 40.0	55.4 $\pm$ 38.3
总精子数/ $\times 10^6$	213.3 $\pm$ 152.5	205.3 $\pm$ 196.4	181.5 $\pm$ 155.5	200.2 $\pm$ 165.8	190.6 $\pm$ 170.8	200.4 $\pm$ 157.4
总活力/%	60.0 $\pm$ 21.1	66.5 $\pm$ 20.3	58.3 $\pm$ 25.0	60.6 $\pm$ 22.8	61.2 $\pm$ 23.4	59.8 $\pm$ 22.3
前向运动比例/%	45.1 $\pm$ 17.4	52.1 $\pm$ 18.6	44.0 $\pm$ 22.0	45.8 $\pm$ 20.5	47.2 $\pm$ 21.0	45.0 $\pm$ 19.4
少精症/%	14.3(3/21)	4.3(3/69)	17.6(6/34)	11.0(12/109)	16.4(9/55)	8.4(15/178)
弱精症/%	19.0(4/21)	17.4(12/69)	29.4(10/34)	24.8(27/109)	25.5(14/55)	21.9(39/178)
畸精症/%	19.0(4/21)	17.4(12/69)	32.4(11/34)	22.0(24/109)	27.3(15/55)	20.2(36/178)
重度畸精症/%	9.5(2/21)	7.2(4/69)	23.5(8/34)	7.3(8/109)	18.2(10/55)	6.7(12/178)

3 讨论

男性不育症是临床上常见的男科疾病,除了遗传性因素外,发病原因多和不健康的生活习惯有关^[1]。生殖道感染对于生育具有不利的影响,已经证明 UU、CT、NG、人型支原体、生殖道支原体均能够导致尿道炎、前列腺炎、精囊炎等生殖道感染,但支原体也可以表现为定植状态,没有任何症状和体征。支原体和衣原体在泌尿生殖道的致病意义当前存在不少的争议。当前越来越认同泌尿生殖道不是无菌的,这里同样存在一个包括多种不同泌尿道菌落的微生物群落,这个微生物群落包括乳酸菌、棒状杆菌、普雷沃氏菌、链球菌、脲原体、厌氧菌、奇异菌属、葡萄球菌、肠球菌等,与潜在发生的炎症有关,甚至前列腺癌的发生也可能有关^[5]。生

殖道感染对男性不育症患者精液质量的影响到底如何? 本研究中 CT 和 NG 的阳性例数较少,以往文献较为肯定 CT 和 NG 损害男性生育力,本文不作讨论,我们主要就精液 UU 感染的区域性调查研究作详尽的阐述。

我们发现,孕前体检组较之不育组的精液检测参数并没有太多的优势,可能与精液指标容易受到影响多因素影响有关,和当前普遍的环境污染、水污染、饮食污染以及不良的生活方式有关,比如熬夜、酗酒等。不足之处是本研究为回顾性研究,而且在临床数据中我们没有区分继发性不育和原发性不育,也没有对是否有明显的生殖道细菌感染作甄别。我们的结论推测两种可能,一方面生殖道感染是影响男性精液参数的部分原因,但并非全部;

另一方面也因为常规精液分析指标只代表男性生育力评估的一个项目,还有精浆生化、精子 DNA 碎片、染色体和血激素水平等,我们并没有就该方面进行调查研究。临床研究也可能存在一些干扰因素,比如:孕前检查人群来院的意图不仅仅是婚前检查,而是本身已经怀疑生育力不佳的男性;而且因为就诊者性经历复杂,隐藏病史导致病史采集的不准确等。

虽然没有发现组间生殖道感染率的差异,我们的精液检测数据还是反映了本区域门诊男性人群的特点。在本地育龄男性人群中,UU 感染率 23.6%,CT 感染率 2.1%,NG 感染率 0.4%,少精症 8.2%,弱精症比例 21.5%,精液液化异常比例 39.1%,其中精液不液化比例达到 27.9%。UU 感染组的精液参数的分层研究没有发现浓度、活力差别,但在计算机自动分析系统的帮助下,我们发现 UU 感染人群的重度畸形精子症(畸形精子率 $>60\%$)比例明显升高,特别是在男性不育组中,UU 感染人群中精液畸形精子症比例达到 32.4%,重度畸形精子症者达到 23.5%,与 UU 无感染人群比较差异有统计学意义,UU 感染对不育症患者精子形态存在不利影响,说明 UU 感染可能是影响精子质量的因素。

事实上,当前男性生殖道感染对生殖的影响还是被低估。已有发现 TOLL 样受体在睾丸、附睾、前列腺和输精管中均有表达^[6]。生殖道感染与男性不育的关系已被广泛研究,多数认为生殖道感染对精子活动产生抑制和导致精子形态改变,从而影响生育。Hou 等^[8]研究提示精液中的细菌群落在捐精者和不孕患者之间没有显著差异,提示生殖道感染对于男性生育的影响可能在不同个体中意义是不一样的。但是,Huang 等^[2]通过 Meta 分析发现 UU 和人型支原体与男性不育之间存在显著的关系,中国不育人群中 UU 阳性率明显较高。国内闫泽晨等^[7]研究认为生殖支原体对于精液质量影响更大。所以,我们在临床病原学研究中除了关注 UU 和 CT 以外,还需要增加精液生殖支原体检测指标。

目前临床上诊断男性不育的主要方法包括精液常规检查、抗精子抗体检验、尿液检验以及前列腺检查等,其中常用的方法则是精液常规检查,能够为临床分析男性精子质量,进一步评估男性生育功能还有精浆生化、精子 DNA 碎片、精子染色检

查等。随着智能化程度的提高,精液自动化分析在辅助生殖中应用越来越广,计算机辅助的精子形态学分析计算方法在精子异常检测任务中准确率达到 90%以上^[9]。精子形态和活力是相关联的,畸形精子往往活力下降,我们的观察也证实这一点,我们将计算机分析异常精子比例 $>60\%$ 作为重度畸形精子症,研究发现弱精症患者重度畸形精子症比例高于非弱精人群。我们认为自动化精液形态分析较染色法快速便利,而且对于临床生育力的评估有一定的参考价值。

综上所述,我们认为生殖道感染值得临床更多的关注。UU 感染虽然对精液精子浓度、活力指标影响不大,但依然对精液中精子形态有不利影响。当然,临床诊疗时,我们需要配合更多检测才能做好男性生育力评估,精液常规检查是一项了解生育力的重要检查,但并非全部。

[参考文献]

- 1 Vander Borcht M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology [J]. Clin Biochem, 2018, 62 (3): 2-10.
- 2 Huang C, Zhu HL, Xu KR, et al. Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis [J]. Andrology, 2015, 3 (5): 809-816.
- 3 刘淳, 卢美松. 男性不育症患者的精液各项参数与解脲支原体感染相关性分析 [J]. 中国性科学, 2017, 26 (9): 108-110.
- 4 陈振文, 谷龙杰. 精液分析标准化和精液质量评估——WHO《人类精液检查与处理实验室手册》(第 5 版)出版 [J]. 中国计划生育学杂志, 2012, 20 (1): 58-62.
- 5 Janssen DAW. The Microbiome: Another Dimension in the Pathophysiology of Urogenital Disease [J]. Eur Urol, 2019, 75 (4): 647-648.
- 6 詹绪新, 卿兴荣. 脂多糖通过 Toll 样受体对雄性生殖功能的影响 [J]. 中华男科学杂志, 2013, 19 (2): 163-168.
- 7 闫泽晨, 商学军, 刘玮, 等. 生殖支原体感染对男性不育患者精液质量的影响 [J]. 中华男科学杂志, 2018, 24 (4): 317-321.
- 8 Hou D, Zhou X, Zhong X, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men [J]. Fertil Steril, 2013, 100 (5): 1261-1269.
- 9 Ghasemian F, Mirroshandel SA, Monji-Azad S, et al. An efficient method for automatic morphological abnormality detection from human sperm images [J]. Comput Methods Programs Biomed, 2015, 122 (3): 409-420.

(收稿日期: 2019-12-21)