

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2023.04.10

湖南省精液常规检验室间质量评价体系的初步建立*

伍细言¹, 李维娜^{2a}, 贺景亮³, 吴慧兰^{2b}, 朱文兵^{2b}, 陆金春⁴(1. 湖南省妇幼保健院生殖医学中心, 长沙 410008; 2. 中信湘雅生殖与遗传专科医院 a. 男科学部, b. 人类精子库, 长沙 410221; 3. 中南大学湘雅医院生殖医学中心, 长沙 410008; 4. 东南大学附属中大医院生殖医学中心, 南京 210037)

摘要:目的 通过初步建立湖南省精液常规检验室间质量评价(质评)体系,了解湖南地区不同生殖男科实验室精液常规检验结果的差异,从而提高湖南地区整体精液常规检验水平。方法 分 2 次制备并发放 2 个不同水平的精子浓度及精子活力质控品,发放给湖南地区 20 家生殖男科实验室,回收检验结果并采用 Robust 稳健统计法及实验室能力比对分析(PT)评价实验室的检验能力。结果 70%(14/20)的实验室采用计算机辅助精子分析(CASA)、30%(6/20)使用 Makler 计数板手工计数分析精子浓度;50%(10/20)的实验室采用 CASA,50%(10/20)采用手工方式分析精子活力。4 个精子浓度质控品的实验室间变异系数(CV)范围为 13.47%~21.79%;4 个活力质控品 CV 范围,前向运动精子率(PR)为 5.65%~20.76%,非前向运动精子率(NP)为 31.36%~59.30%,不活动精子率(IM)为 5.50%~8.80%。20 家参评实验室精子浓度项目评价结果显示,65%(13/20)合格,10%(2/20)可疑,25%(5/20)离群;20 家参评实验室精子活力项目评价结果显示,30%(6/20)合格,35%(7/20)可疑,30%(6/20)离群,1 家 5%(1/20)未回报第一次活力结果。PT 合格率(PT \geq 80%)为 55%(11/20),不合格率(PT $<$ 80%)为 45%(9/20)。结论 通过 Robust 稳健统计法评价生殖男科实验室的精液常规检验能力可行;亟需对实验室技术人员进行标准化培训和质量控制,以提高湖南地区各生殖男科实验室精液常规分析水平。

关键词:精子浓度;精子活力;稳健统计;室间质量评价;湖南

中图分类号:R446

文献标志码:A

Preliminary establishment of an inter-laboratory quality assessment system for routine semen testing in Hunan province

WU Xiyan¹, LI Weina^{2a}, HE Jingliang³, WU Huilan^{2b}, ZHU Wenbing^{2b}, LU Jinchun⁴(1. Center for Reproductive Medicine, Hunan Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha 410008, Hunan; 2. a. Department of Andrology, b. Human Sperm Bank, Reproductive and Genetic Hospital of CITIC-Xiangya, Changsha 410221, Hunan; 3. Center for Reproductive Medicine, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan; 4. Center for Reproductive Medicine, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To investigate the differences in the results of routine semen testing from different reproductive and andrology laboratories in Hunan province by establishing preliminarily an inter-laboratory quality assessment (QA) system for routine semen testing in Hunan province, and then improve the overall level of routine semen testing in Hunan province. **Methods** Two different levels of sperm concentration and sperm motility video quality control materials were prepared in two batches and distributed to 20 reproductive and andrology laboratories in Hunan province. Then, the testing results were collected and analyzed by the Robust statistics method, and the testing ability of a laboratory was evaluated by the laboratory proficiency testing (PT) analysis. **Results** 70% (14/20) of laboratories determined sperm concentration by a computer-assisted sperm analysis (CASA) system, and 30% (6/20) of laboratories by the manual method with a Makler chamber. 50% (10/20) of laboratories analyzed sperm motility by a CASA system, and 50% (10/20) of laboratories by the manual method. The inter-laboratory coefficients of variation (CV) of four sperm concentration quality control samples ranged from 13.47% to 21.79%. The inter-laboratory CVs of progressive motility (PR), non-progressive motility (NP) and immotile sperm rate (IM) of four sperm motility quality control samples were 5.65% - 20.76%, 31.36% - 59.30% and 5.50% - 8.80%, respectively. The evaluation results of sperm concentration items in 20 participating laboratories showed that 65% (13/20) were qualified, 10% (2/20) were suspicious, and 25% (5/20) were outliers. The evaluation results of sperm motility items in 20 participating laboratories showed that 30% (6/20) were qualified, 35% (7/20) were suspicious, 30% (6/20) were outlier, and 5% (1/20) did not report their first sperm motility results. The qualification rate of PT (PT \geq 80%) was 55% (11/20), and the unqualification rate (PT $<$ 80%) was 45% (9/20). **Conclusion** It is feasible to evaluate the testing ability of routine semen testing in repro-

* 基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30018);湖南省妇幼保健院锐新项目(2021RX30)。

作者简介:伍细言,1976 年生,男,副主任技师,大学本科,主要从事生殖检验工作。

通信作者:朱文兵,E-mail:zhuwenbing0971@sina.com;陆金春,E-mail:406646227@qq.com。

ductive and andrology laboratories by the Robust statistics method. It is urgently needed to perform standardized training and quality control for laboratory technicians and improve the level of routine semen analysis of reproductive and andrology laboratories in Hunan province.

Key words: sperm concentration; sperm motility; robust statistics; inter-laboratory quality assessment; Hunan province

精液检验是评估男性生育力的基本项目,通过精液检验室间质量评价(质评)可提高精液分析结果的准确性。有专家呼吁建立各省市的精液检验质量管理机构或者在全国范围内建立精液检验的质量管理中心^[1-2],但由于男性精液样本及检验过程的特殊性,目前国家卫生健康委临床检验中心室间质评项目中无精液检验项目,仅有少数地区如四川省^[2]、广东省^[3]等进行了部分精液检验项目的室间质评的初步探索。精液检验室间质评未形成有效方案,缺乏权威的精液检验室间质评机构,精液检验能力尚需加强。研究显示,我国参加精液检验室间质评的实验室比例小,绝大多数精液检验项目缺乏有效的质控措施,质控品与实际检验样本差异较大,质控品和实际检验流程明显不同,各实验室参评结果偏倚大等问题^[2-5]。

精液检验项目包括精液常规、精子形态学、精浆生化、精子功能以及泌尿生殖道感染、脱落细胞、遗传学检验等^[4],其中精液常规检验主要包括精子浓度和活力,是目前男性不育诊断及治疗的最经典项目。考虑到湖南省是第一次进行精液检验室间质评,经湖南省医学会男科学组会议讨论,决定通过开展精液常规检验室间质评活动,探索建立湖南地区精液常规检验室间质评体系,从而提高湖南地区整体精液常规检验水平。

1 资料与方法

1.1 参评实验室 湖南省医学会生殖医学专业委员会生殖男科学组组成单位共 20 家生殖男科实验室参与本次室间质评,涵盖湖南地区 9 个市(长沙市、株洲市、湘潭市、常德市、衡阳市、岳阳市、郴州市、娄底市及邵阳市)。

1.2 精子浓度评价 精子浓度质控品为乳胶质控珠(广州华粤行医疗科技公司提供),批内变异系数(coefficient variation, CV)、批间 CV 经参比实验室验证,批号分别为 C202201~C202204。各实验室收到质控品后室温保存,使用前混匀,取样后及时加盖盖好,精子浓度统一以 $n \times 10^6 / \text{mL}$ 回报。

1.3 精子活力评价 精子活力质控品为精液活力视频,选取 4 份(No.1~No.4)不同活力级别的精液

标本,采用计算机辅助精子分析(computer-aided sperm analysis, CASA)分别录制数个 30 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,每个质评样本包括有带 Makler 网格和不带网格两种,采用 CASA 的参评实验室分析不带网格的 M202201、M202203、M202205、M202207 视频,采用手工法的参评实验室分析带网格的 M202202、M202204、M202206、M202208 视频。精子活力以《WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen》第 5 版方法为标准分成以下 3 类:(1)前向运动型(progressive motility, PR):精子运动活跃、线性运动或者在较大的范围内运动(不考虑运动的速度);(2)非前向运动型(non-progressive motility, NP):精子运动但不活跃,如精子在较小的范围内运动,精子头部轻微移位或仅有鞭毛摆动;(3)不活动型(immotility, IM):精子完全不动^[6]。精子活力结果以各类型精子 PR、NP 和 IM 的百分率(%)回报。

1.4 质控品发放 全年 8 个批号(浓度及活力各 4 个)的质控品分 2 次发放,将精子浓度质控品乳胶珠统一通过快递形式发放给参评单位,精子活力视频通过学组质评微信群网络发放,在收到质控品的 1 周内按照各自实验室日常精液常规检验方法分析并反馈结果。

1.5 统计学分析 参考 CNAS-GL02《能力验证结果的统计处理和评价指南》中的统计技术和计算方法,采用 Robust 稳健统计方法对测试结果进行统计。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。用 Z 值法评价实验室测试能力: $IQR = P_{75} - P_{25}$, $SIQR = 0.7413 \times IQR$, $Z = (X - M) / SIQR$, $|Z| \leq 2$ 为满意结果; $2 < |Z| < 3$ 为可疑结果,在结果表中用 * 标识; $|Z| \geq 3$ 为不满意(离群)结果,在结果表中用 ** 标识^[7]。

1.6 能力比对分析(proficiency testing, PT)评分 PT 参照美国 CLIA'88 能力比对检验分析质量标准,将回报分为合格和不合格两种^[8]。 $|Z| \leq 2$ 为在可接受范围,PT 得分为 100%, $|Z| > 2$ 不合格,PT 得分为 0%,未回报结果 PT 亦为 0%。每次室间评价所有项目 $PT \geq 80\%$ 为该次评价合格;年度两次 PT 均

≥80%，则该年度精液常规室间质评的 PT 成绩合格。

2 结果

2.1 检验方法比较

各实验室中精子浓度和活力检验使用最多的方法均为 CASA 检验,见表 1。

表 1 实验室检验方法及计数板类型结果比较[n(%)]

项目	检验方法	实验室数
浓度	CASA	14/20(70%)
	手工	6/20(30%)
活力	CASA	10/20(50%)
	手工	10/20(50%)

2.2 精子浓度及活力基本参数

各实验室精子浓度及精子活力结果经 Shapiro-Wilk 正态性检验,大部分不符合正态分布,因而各计量数据统一以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。精子浓度及活力结果见表 2。

表 2 精子浓度及活力基本参数

项目	$M(P_{25}, P_{75})$	CV(%)
浓度($\times 10^6$ /mL)	C202201	54.75(51.28, 64.95) 18.52
	C202202	15.00(13.63, 16.35) 13.47
	C202203	78.00(67.08, 90.00) 21.79
	C202204	24.62(21.00, 27.05) 18.22
活力(%)	PR ₁	31.00(26.50, 35.00) 20.33
	NP ₁	5.00(4.00, 8.00) 59.30
	IM ₁	63.00(60.00, 65.45) 6.41
	PR ₂	57.00(53.30, 60.80) 9.75
	NP ₂	7.10(5.75, 11.30) 57.95
	IM ₂	34.10(32.95, 37.00) 8.80
	PR ₃	23.85(21.75, 28.43) 20.76
	NP ₃	9.75(8.75, 14.25) 41.82
	IM ₃	67.35(58.82, 69.00) 11.20
	PR ₄	55.80(53.75, 58.00) 5.65
	NP ₄	7.60(6.89, 10.10) 31.36
	IM ₄	35.71(34.60, 37.25) 5.50

注: 1、2、3、4 分别对应 CASA 法的 M202201、M202203、M202205、M202207 和手工法的 M202202、M202204、M202206、M202208 质控品。

2.3 精子浓度结果比较

4 个精子浓度质控品检验结果基本统计参数见表 2。精子浓度满意结果为 13 家(13/20, 65%); 可疑结果 2 家(2/20, 10%); 离群结果共 5 家(5/20, 25%)。在不同的方法对比中,

CASA 法 1 家(1/14, 7.14%) 可疑, 3 家(3/14, 21.43%) 离群; 优于手工法 1 家(1/6, 16.67%) 可疑, 2 家(2/6, 33.33%) 离群, 见表 3。

表 3 实验室精子浓度能力验证结果

序号	方法	Z ₁	Z ₂	Z ₃	Z ₄
2	CASA	-1.66	-3.51**	-0.65	-1.30
3	CASA	3.08**	-0.50	-0.99	-0.63
4	CASA	-0.32	-0.08	-0.56	0.00
6	CASA	1.29	-3.27**	-1.64	-1.72
7	CASA	-0.43	0.89	-0.64	0.58
8	CASA	-0.41	0.33	0.71	0.09
10	CASA	-1.73	-1.91	-1.93	-2.81*
13	CASA	-0.19	0.59	0.59	0.31
14	CASA	0.02	0.00	0.71	-0.81
15	CASA	0.91	-1.49	-0.47	-0.81
16	CASA	-0.02	1.19	0.87	0.91
17	CASA	-0.07	-0.50	0.83	-0.34
19	CASA	0.31	-1.24	-1.39	-1.36
20	CASA	0.02	0.00	-0.58	0.00
1	手工法	2.67*	2.18*	2.09*	0.71
5	手工法	0.52	-0.50	0.24	0.53
9	手工法	-0.27	0.00	0.71	-0.36
11	手工法	3.67**	0.15	0.58	0.22
12	手工法	-1.06	1.49	-0.24	1.42
18	手工法	3.97**	3.47**	0.91	1.98

注: Z₁、Z₂、Z₃、Z₄ 分别对应 CASA 法的 M202201、M202203、M202205、M202207 的 Z 值和手工法的 M202202、M202204、M202206、M202208 的 Z 值; *, 结果可疑, 实验室应引起注意, 建议实验室复查; **, 结果离群, 实验室应调查原因并制定纠正措施。

2.4 精子活力结果比较

4 个精子活力质控品检验结果基本统计参数见表 2。其中满意结果为 6 家(6/20, 30%), 可疑 7 家(7/20, 35%), 离群结果共 6 家(6/20, 30%), 1 家(1/20, 5%) 未回报第一次活力结果。分方法来看, CASA 法可疑 50%(5/10), 离群 40%(4/10), 劣于手工法的可疑 20%(2/10), 离群 20%(2/10)。见表 4。

2.5 精液常规室间质评结果

参评实验室 PT 综合得分及年度评价结果见表 5, 合格率(PT ≥ 80%) 为 55%(11/20), 不合格率(PT < 80%) 为 45%(9/20)。

表 4 实验室精子活力能力验证结果

序号	方法	M202201/M202202			M202203/M202204			M202205/M202206			M202207/M202208		
		Z _{PR}	Z _{NP}	Z _{IM}	Z _{PR}	Z _{NP}	Z _{IM}	Z _{PR}	Z _{NP}	Z _{IM}	Z _{PR}	Z _{NP}	Z _{IM}
1	CASA	-1.62	-0.34	3.02**	0.20	0.17	0.00	1.43	0.96	-2.3*	0.01	-0.26	-0.01
4	CASA	-0.63	1.55	0.10	-0.79	1.34	0.23	-0.58	-0.06	0.28	-0.25	1.01	-0.36
6	CASA	-1.51	-0.98	3.32**	0.65	-0.39	-0.07	-0.04	-3.38**	0.38	-0.03	-0.3	0.34
7	CASA	-0.63	2.36*	-0.50	-0.54	1.43	-0.37	0.82	2.86*	-2.21*	-0.95	2.81*	-1.43
8	CASA	0.16	-0.34	0.25	1.44	0.22	-2.36*	-0.37	-0.18	0.22	0.06	0.17	0.15
10	CASA	-1.43	-0.47	2.82*	0.88	0.00	-1.03	0.84	-1.26	0.01	4.95**	-0.42	-6.98**
13	CASA	0.63	0.00	-0.74	1.98	-0.27	-3.36**	-0.17	-0.43	0.22	-0.25	-0.67	1.67
15	CASA	-0.79	1.01	0.74	-1.26	1.92	0.30	-0.37	0.06	0.09	1.33	0.59	-2.4*
18	CASA	-1.11	2.06*	0.47	-1.23	1.58	0.70	-0.78	-0.55	0.68	-0.57	0.59	0.66
20	CASA	0.16	0.00	0.00	-0.36	-0.75	2.30*	-0.58	0.18	0.15	-0.25	-0.25	1.17
17	手工法	0.95	0.00	-1.24	0.54	-0.27	-0.03	0.03	0.55	-0.44	1.02	-1.93	1.17
2	手工法	0.16	4.05**	-2.97*	-1.62	1.92	0.97	1.85	-0.67	-0.97	0.38	-0.25	0.15
5	手工法	—	—	—	—	—	—	1.19	1.29	-1.60	-0.95	1.75	-0.15
3	手工法	-0.32	1.01	0.00	-0.90	0.70	1.30	-0.78	-0.18	0.48	-0.89	0.17	1.67
9	手工法	0.63	0.00	-0.74	0.72	-0.02	-0.7	0.27	1.04	-0.87	0.41	1.17	-1.63
11	手工法	0.92	0.10	-1.26	-0.45	-0.53	2.17*	1.85	2.27*	-2.56*	-0.89	1.43	0.66
12	手工法	3.97**	-1.69	-4.70**	1.08	-1.00	-0.03	-0.17	-0.18	0.09	0.70	-0.67	0.15
14	手工法	0.63	0.00	-0.74	0.00	-1.00	1.97	0.19	0.55	-0.55	0.70	-0.17	-0.46
16	手工法	-0.43	-0.37	1.19	0.61	-0.10	-0.40	-0.03	-0.18	-0.01	0.63	-0.25	-0.26
19	手工法	0.00	0.00	0.25	-0.54	0.46	0.97	1.40	1.80	-2.02*	-0.06	1.17	-0.87

注:Z_{PR}、Z_{NP}、Z_{IM}分别表示各实验室对应的PR、NP、IM的Z值;*,结果可疑,实验室应引起注意,建议实验室复查;**,结果离群,实验室应调查原因并制定纠正措施。

表 5 参评实验室年度 PT 评价结果

序号	第一次 PT 得分(%)	第二次 PT 得分(%)	评价结果
1	62.5	75.0	不合格
2	62.5	100.0	不合格
3	87.5	100.0	合格
4	100.0	100.0	合格
5	25.0	100.0	不合格
6	75.0	87.5	不合格
7	87.5	62.5	不合格
8	87.5	100.0	合格
9	100.0	100.0	合格
10	87.5	62.5	不合格
11	75.0	75.0	不合格
12	75.0	100.0	不合格
13	87.5	100.0	合格
14	100.0	100.0	合格
15	100.0	87.5	合格
16	100.0	100.0	合格
17	100.0	100.0	合格
18	62.5	100.0	不合格
19	100.0	87.5	合格
20	87.5	100.0	合格

3 讨论

男性精液常规检验作为评估男性生育力最基本的检验项目,在男性不育的诊断、治疗和科研中具有极其重要的作用^[9-10]。与其他检验项目比较,精液样本为男性性活跃后的产物,具有收集困难、黏稠度高、非匀质特点,且精子的活动能力受温度

及排出时间的影响,导致检验结果 CV 值大,实验室间可比性差^[11-13]。

20 个参评实验室精子浓度 CV 值分别为 13.47%~21.79%,与比利时文献中的 19.2%^[14] 较接近,较四川省的 29.84%^[2]、广东省的 34.09%^[3] 降低,可能与其采用混合精液作为精子浓度质控物,在制备和分装及检验过程中程存在非特异性聚集、分布不均有关。

4 个活力质控品中 PR-CV 值分别为 5.65%~20.76%,IM-CV 值分别为 5.50%~8.80%,与吴应碧等^[2]的 18.30%和 12.97%、周芳等^[11]的 8.36%~21.78%较接近,这可能与本研究均采用视频作活力质评,无需分析前处理,降低了检验误差有关。NP-CV 值分别达 31.36%~59.30%,正常情况下精液样本中该部分精子所占比例较低,可能与取样误差以及检验人员误识别有关。NP 作为非前向运动精子,其定义为精子运动但不活跃,如以小圆周泳动,尾部动力几乎不能驱使头部移动,或者只能观察到尾部摆动^[6],因而亟需对实验室技术人员进行标准化培训,提高湖南地区各实验室精液分析水平。

参评实验室能力验证结果中同一项目偏倚方向可提示该实验室是否存在系统误差,比如 3、6、11 实验室分别只有 1 个浓度的结果离群,可能存在样本混均、取样的随机误差,建议工作人员仔细混均

样本,定量取样,保证计数池的均一性和代表性;1、10、18 高低浓度偏倚方向一致,可能存在系统误差,应在计数板、CASA 参数设置等方面查找离群或可疑的原因并制定措施纠正。CASA 较手工法 NP、IM 可疑及离群结果较多,可能与各实验室使用的 CASA 分析原理^[15]、去除杂质能力,精子运动参数设置,以及 CASA 视频帧率和放大倍率,质控视频清晰度、录制格式是否通用等有关。

作为湖南地区首次开展精液常规的室间质评活动,虽然参评实验室规模有限、项目也局限于精液常规,PT 评价合格率较低,但验证了通过 Robust 稳健统计法评价生殖男科实验室的精液常规检验能力可行,为全面推广精液检验室间质评做出了有益尝试。

4 参考文献

- [1] 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.
- [2] 吴应碧, 郑艳, 余林, 等. 四川地区精液分析室间质量评价初探[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(13): 1959-1962.
- [3] 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.
- [4] 陆金春. 生殖检验发展面临的问题与挑战[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(4): 241-246.
- [5] 伍细言, 黄玲, 彭新华, 等. 我国生殖检验现状的初步调查[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(4): 247-251.
- [6] Organization WH. WHO laboratory manual for the examination and

processing of human semen.[M]. Array Geneva: World Health Organization, 2010

- [7] 中国合格评定国家认可委员会. 能力验证结果的统计处理和评价指南: CNAS-GL02; 2006 [S].
- [8] 卫生部临床检验中心. 临床实验室室间质量评价的质量要求(草案)[C]. 全国临床化学指间质评总结大会资料汇编, 1998: 1.
- [9] 谷翔群. 男性生育力与精液参数的变化趋势[J]. 中华男科学杂志, 2014, 20(12): 1059-1062.
- [10] 谢伟, 张海英, 谢丹尼. 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.
- [11] 周芳, 王晓尉, 傅龙, 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.
- [12] Björndahl L, Barratt CLR, Mortimer D, *et al.* 'How to count sperm properly': checklist for acceptability of studies based on human semen analysis[J]. Hum Reprod, 2016, 31(2): 227-232.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Mortimer D, Mortimer S, der Horst G. The future of computer-aided sperm analysis[J]. Asian J Androl, 2015, 17(4): 545.

(收稿日期: 2022-11-28)

(本文编辑: 王海燕)