

## ·论 著·

## 中国 118 家实验室精液分析状况的调查

陆金春 张红焯 胡毓安 黄宇峰 吕年青

**【摘 要】** 为在实验室内和实验室间实现精液分析标准化和进行质量控制,必须了解目前男科实验室精液分析的状况。为此,对中国大陆地区的部分精液分析实验室进行了调查。设计的“男科实验室精液分析调查表”,包含 36 个问题,涉及精液分析的相关内容。本研究发放调查表 145 份,回收有效调查表 118 份。调查显示,53.6%(59/110)的实验室采用目测法检测精液量;对液化不全精液,70.9%(73/103)的实验室未作任何处理;精子密度、活动率、存活率及形态学分析以手工普通光学显微镜分析和计算机辅助精液分析(CASA)系统检测并存;精子染色方法达 5 种以上;精子自身抗体检测以酶联免疫吸附试验(ELISA)为主;仅有 27.1%(32/118)的实验室开展了精浆生化项目检测。而且,在参与调查的所有实验室中,无一家实验室开展精液分析的室内和室间质量控制。总之,在中国大陆,男科实验室精液分析的方法和报告方式很不统一。采用的精液分析方法与《世界卫生组织人类精液分析实验室手册》第 4 版推荐的方法也不一致。本研究提示,为使不同实验室的检测结果具有可比性且有意义,中国男科实验室目前使用的精液分析方法急需标准化和质量控制。

**【关键词】** 实验室;质量控制;调查表;精液分析;标准化

**A Survey on the Status of Semen Analysis in 118 Laboratories in China** LU JC, ZHANG HY, HU YA, HUANG YF, LÜ NQ. Department of Laboratory Science, Nanjing Hospital, Jiangsu Corps, The Armed Police Force, PLA, Nanjing 210028, China (LU JC); Department of Laboratory Science, Affiliated Nanjing First Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China (ZHANG HY); Department of Reproduction and Genetics, School of Medicine, Jinling Hospital, Nanjing University, Nanjing 210002, China (HU YA, HUANG YF); Jiangsu Family Planning Research Institute, Nanjing 210036, China (LÜ NQ)  
Corresponding author: LÜ NQ, E-mail: nq-lu@public1.ptt.js.cn

**【Abstract】** Collecting baseline information on how laboratories perform testing is a reasonable first step towards establishing intra- and inter-laboratory standardization and quality control for semen analysis. We carried out a survey of the laboratories performing the testing in Mainland China. A questionnaire, composed of 36 questions covering all aspects of semen analysis, was designed, and a copy was distributed to each of the 145 laboratories. Of these, 118 laboratories completed the questionnaires. The survey results showed that semen volume was measured visually in 53.6% (59/110) of the responding laboratories, and 70.9% (73/103) of laboratories analysed incompletely liquefied semen without any treatment. In addition, both manual-microscopic and computer-assisted semen-analysis systems were applied to analyse sperm concentration, motility and morphology. However, more than five methods were employed in routine sperm staining. An enzyme-linked immunosorbent assay was commonly used for determining whether antisperm antibodies were present. Several seminal biochemical markers were analysed in only 27.1% (32/118) of the responding laboratories. Generally, there was a lack of intra- and inter-laboratory quality control measures for semen analysis in all laboratories responding to this survey. In conclusion, the methods of semen analysis and the interpretation of test results in the surveyed laboratories differed markedly. In particular, many laboratories employed methods other than those recommended by the World Health Organization Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-cervical Mucus Interaction (1999). These findings suggest an urgent need for the standardization of semen analysis with acceptable quality controls for each parameter to make the results repeatable and meaningful.

**【Key words】** Laboratory; Quality control; Questionnaire; Semen analysis; Standardization

(J Int Reprod Health/Fam Plan, 2010, 29: 215-220)

作者单位: 210028 南京, 武警江苏总队医院南京分院检验科(陆金春); 南京医科大学附属南京第一医院检验科(张红焯); 南京军区总医院(胡毓安, 黄宇峰); 江苏省计划生育研究所(吕年青)  
通讯作者: 吕年青, E-mail: nq-lu@public1.ptt.js.cn  
本文首次发表在 *Asian J Androl*, 2010, 12(1): 104-110

## 前 言

精液分析是医院实验室尤其是辅助生殖技术 (ART) 和男科实验室的常规检测项目之一, 尤其

ART 实验室进行精液分析的标本量远多于一般医院实验室。一般而言,在采集和测试精液前,要求患者禁欲 3~7 d,然后手淫留取精液标本。精液分析时,要询问患者最近有无发热史或使用某些药物,因其可能影响精液分析结果。必要的精液分析项目包括精液液化时间、精液量、黏稠度、pH 值、精子活动率、存活率、精子密度(一些实验室还包括精子总数)以及精子形态学的评估。其他相关测试包括抗精子抗体、精液白细胞、精浆生化、生精细胞检测、精子功能试验和微生物培养等。精液分析结果应非常准确,这很重要,因这些检查结果直接影响后续的临床诊断和治疗。而且,为保证不同实验室之间的结果具有可比性,以及避免重复检查带给患者沉重的经济负担,不同实验室间精液分析方法的规范化很有必要。然而,一些研究提示,由于目前对精液分析缺乏有效的标准化体系、质量控制措施、专业技能考核培训和继续教育,同一实验室内部和不同实验室之间的精液分析结果存在明显差异<sup>[4]</sup>。

参与调查的实验室人员一致认为,精液分析标准化和质量控制势在必行<sup>[4-6]</sup>。因此,了解实验室进行精液分析的基本信息是建立实验室内部和不同实验室之间精液分析标准化和质量控制的首要步骤<sup>[3]</sup>。由于目前缺乏中国实验室精液分析状况的信息,因此,笔者在 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对此进行了调查,现报告如下。

### 资料与方法

#### 一、调查表的设计

根据对中国男科实验室的了解和《世界卫生组织人类精液分析实验室技术手册》(简称手册)第 4 版<sup>[7]</sup>制定了“男科实验室精液分析调查表”。该调查表包含 36 个问题,涉及到精液样本的采集方式、要求的禁欲时间、精液各种检测指标(包括液化时间、精液量、pH 值、精子密度、活动率、存活率及精子形态学;精液中非精子成分如白细胞、红细胞和上皮细胞的检测;抗精子抗体的检测;评价附属性腺器官功能的精浆生化指标如精浆果糖、 $\alpha$  葡糖苷酶、酸性磷酸酶和肉碱的检测以及精子功能试验等)的分析方法和报告方式、对目前精液分析方法及其质量控制的想法以及被调查者所在的省份和医院级别等。

#### 二、调查表的发放和填写

现场将调查表发放至每位被调查者,并逐条向被调查者说明以保证结果的可靠性和有效性,填写

完毕后及时回收调查表。共发放调查表 145 份,回收有效调查表 118 份。

#### 三、调查表的分析

对回收的有效调查表逐项进行统计,计算百分率,以描述性统计方法分析结果。

### 结果

#### 一、接受调查实验室的一般情况

来自中国大陆除西藏和山西之外的 29 个省、自治区和直辖市。在中国大陆,医院通常被分为一级(<100 张床位)、二级(100~500 张床位)和三级(>500 张床位)医院。接受调查实验室中,来自二级以上(含二级)和二级以下医院者各占 27.9%(24/86),其他(44.2%,38/86)来自计划生育研究所或技术指导站、专科医院或高校医院等。

#### 二、禁欲时间与精液标本的采集

被调查的实验室中,有 81.4%(96/118)要求患者的禁欲时间为 3~7 d,7.6%(9/118)的实验室要求禁欲时间为 1~2 d,9.3%(11/118)的实验室对禁欲时间未作要求;精液样本的采集绝大多数(88.1%,104/118)使用手淫法,使用采精器者只占 2.5%(3/118),4.2%(5/118)的实验室 2 种留取精液的方法均采用,但也有 5.1%(6/118)的实验室使用其他留取精液的方法,如性交中断法等。

#### 三、精液样本的理化检验

精液样本的理化参数分析采用不同的方法,结果见 Table 1。

#### 四、精子密度、活动率、存活率及形态学分析 精子密度、活动率、存活率及形态学的分析方法

**Table 1** Semen samples treated and analysed by different methods for physical chemistry parameters. The numbers of centres to the percentages are given in parentheses.

Semen parameters	Methods	Laboratories (%)
Volume	Graduated cylinder	46.4 (51/110)
	Visual examination	53.6 (59/110)
	Weight analysis	0 (0/110)
Viscosity	No detection	28.4 (31/109)
	Pipette method	29.4 (32/109)
	Glass-stick method	37.6 (41/109)
	Other methods	4.6 (5/109)
Incomplete liquefaction	Untreated	70.9 (73/103)
	Chymotrypsin treatment	15.5 (16/103)
	Filter paper to filtrate	4.9 (5/103)
	Other methods, such as trypsin treatment	8.7 (9/103)
pH value	pH indicator paper	81.4 (92/113)
	Unspecified methods	1.8 (2/113)
	No detection	16.8 (19/113)

和结果报告的方式,见 Table 2。大多数被调查对象用手工普通光学显微镜进行检测,一些实验室也使用计算机辅助精液分析(CASA)系统进行检测。CASA 系统的使用,以 0.5~10 年不等,使用 CASA 系统的实验室 55.9%(33/59)是使用北京伟力公司(北

(83/107)的实验室仍使用未染色标本的显微镜目测法,仅 22.4%(24/107)的实验室使用染色法。只有 13.9%(15/108)的实验室开展精液生精细胞的检测,检测方法仍以瑞-吉染色法(54.1%,20/37)为主,16.2%(6/37)的实验室使用改良巴氏染色法,其余

**Table 2** Analytical methods and expression of results for sperm concentration, motility, vitality and morphology. The numbers of centres to the percentages are given in parentheses.

Sperm parameters	Analytical methods			Expression of results
	Manual	CASA	Both	
Concentration	49.2% (58/118) <sup>a</sup>	33.9% (40/118)	16.1% (19/118)	Value <sup>a</sup> ×10 <sup>6</sup> ·mL <sup>-1</sup> (100%)
Motility	50.9% (57/112) <sup>b</sup>	49.1% (55/112)		
Morphology	74.1% (80/108)	25.9% (28/108)		Grades a, b, c and d (71.8%[84/117]); Well, general and poor (26.5% [31/117]); unspecified (1.7% [2/117]).
Vitality		Visual estimate: 67.9% (72/106)		Total percentage of normal morphological sperm (65.5%[72/110]); the percentages of abnormal sperm head, neck and tail (34.5% [38/110]).
		Staining method: 15.1% (16/106)		Value%(100%)
		Hypotonic swelling test: 4.7% (5/106)		
		Unspecified: 12.3% (13/106)		

Abbreviation: CASA. computer-asisted semen analysis.

<sup>a</sup>Measured by haemocytometer (60.2%[59/98]), macro chamber (24.5%[24/98]),

Makler chamber(7.1%[7/98]), Cell-VU chamber(1.0%[1/98]) and unspecified(7.1%[7/98]).

<sup>b</sup>Measured by hamocytometer(47.5%[47/99]), macro chamber(28.3%[28/99]) and unspecified(24.2%[24/99]).

<sup>c</sup>Detected value.

京,中国)的产品,23.7%(14/59)使用清华同方(北京,中国)的产品,还有 20.3%(12/59)的实验室使用国外的 CASA 系统,包括 Hamilton 公司的产品和以色列的 SQA 系统等。使用 CASA 系统的实验室对所使用的仪器有不同的满意度,见 Table 3。而且,使用 CASA 系统的实验室为减少结果的偏差,70.8%(34/48)进行了手工干预。

29.7%(11/37)的实验室使用其他染色方法。然而,这些染色方法对生精细胞并不具特异性。精液常规分析中,报告精液中存在白细胞的单位占 93.3%(97/103),51.0%(53/104)的实验室也报告精液中上皮细胞的存在,报告精液中有生精细胞存在的实验室只有 16.3%(17/104)。

**Table 3** CASA users' attitudes towards sperm analysis. The numbers of centres to the percentages are given in parentheses.

Parameters	Technicians' opinion (%)		
	Satisfactory	Neutral	Unsatisfactory
Sperm count	35.7 (20/56)	60.7 (34/56)	3.6 (2/56)
Sperm motility	41.2 (21/51)	54.9 (28/51)	3.9 (2/51)
Sperm morphology	17.4 (8/46)	63.0 (29/46)	19.6 (9/46)

Abbreviation: CASA, computer-assisted semen analysis.

### 六、自身抗体的检验

抗精子抗体的存在可使精子发生凝集,59.3%(64/108)的实验室报告有显微镜下精子凝集现象,而 40.7%(44/108)的实验室并不报告。目前,仅有 55.1%(65/118)的实验室开展抗精子抗体的检测,见 Table 4。除抗精子抗体外,44.1%(52/118)的实验室也开展了与生殖相关的其他自身抗体的检测,如抗子宫内膜抗体等,见 Table 4。

### 五、检验精子形态学、精液白细胞和生精细胞的染色方法

精子形态学、精液白细胞和生精细胞的检验离不开染色技术,调查显示,目前常用的精子染色方法有瑞-吉染色法(46.1%,30/65)、瑞氏染色法(33.8%,22/65)及改良巴氏染色法(15.3%,10/65),10.7%(7/65)的实验室报告使用其他染色方法,如 Shorr 染色法、Diff-Quick 染色法和苏木精-伊红(HE)染色法。对于精液白细胞的检测,77.6%

被检测的抗体类型(如凝集抗体和制动抗体)和方法广泛不同。使用的抗精子抗体检测试剂盒来自不同的制造商,有 11.1%(3/27)的实验室使用进口试剂盒。然而,也有一些实验室未提供试剂盒生产厂商的信息。

### 七、精浆生化指标的检验

目前,仅有 27.1%(32/118)的实验室开展了精浆生化指标如精浆果糖、α-葡糖苷酶、酸性磷酸酶和锌的检测。进行这些生化指标检测的实验室百分比和所使用的方法见 Table 5。

八、精液培养及精子功能试验

调查显示,目前仅有 14.2%(15/106)的实验室进行过精液培养检测。精子功能试验为选择性检验项目,目前仅有 15.3%(18/118)的实验室开展此项目,包括去透明带仓鼠卵母细胞试验(22.2%,4/18)、人透明带结合试验(16.7%,3/18)、顶体反应检测(50.0%,9/18)及其他未说明的精子功能试验(16.7%,3/18)。

九、对精液分析方法的评价

对目前精液分析方法感到满意的仅占 11.7%(13/111),而 34.2%(38/111)的实验室对目前精液分析方法感到不满意,其余 54.1%(60/111)的实验室感到一般。

目前,中国尚无一家实验室开展精液分析的室内和室间质量控制。调查显示,94.4%(102/108)的实验室认为日常对精液分析进行质量控制是必须的,仅 5.6%(6/108)的实验室认为精液分析的质量控制并不重要。一些被调查者还对精液分析的质量控制提出具体建议,如开展室内和室间质量控制、成立男科实验室质量控制中心、定期分发质控品等。

讨论

本研究中,完成调查表的实验室分布在中国大陆的绝大多数省份,代表了不同级别的医院实验室,而且绝大多数填写问卷的人员是男科实验室的专业工作人员,因此,调查结果可信,可以反映目前中国进行精液分析实验室的真实状况。结果显示,精液分析的方法和报告方式很不统一,而且,许多方法与第 4 版手册推荐的方法也不一致<sup>[7]</sup>。

调查显示,81.4%(96/118)的实验室要求患者的禁欲时间为 3~7 d,与手册推荐的时间一致。然而,有研究者认为,常规精液分析可要求患者禁欲 2~7 d,但对需要检测精浆 α 葡糖苷酶水平的患者,禁欲时间应规定为 4~7 d,因为禁欲 2~3 d 后留取的精液中精浆 α 葡糖苷酶水平明显低于禁欲 4~5 d 和 6~7 d 的水平<sup>[8-9]</sup>。尽管没有调查精液样本收集前是否考虑到病史的影响,但应该强调病史(如发热史)可能会影响精液分析结果。

目前,精液样本的采集多采用手淫法(88.1%,104/118),与第 4 版手册<sup>[7]</sup>推荐的一致。81.4%(92/113)的实验室使用 pH 试纸检测精液 pH 值。

**Table 4** Methods used to detect antisperm antibodies (some other autoantibodies were analysed in different laboratories). The numbers of centres to the percentages are given in parentheses.

Detection items (number of laboratories)	Description of methods or autoantibodies	Percentage of laboratories (%)
Antisperm antibodies (n=65)	ELISA	78.5 (51/65)
	Insolubilized enzyme method	3.1 (2/65)
	Immunobead test	1.5 (1/65)
	Sperm immobilization test	1.5 (1/65)
	Unspecified methods	12.3 (8/65)
	ELISA and immunobead tests	3.1 (2/65)
Other reproduction-associated autoantibodies (n=52)	Anti-endometrium antibody	98.1 (51/52)
	Anti-phospholipid antibody	57.7 (30/52)
	Anti-ovarian antibody	53.8 (28/52)
	Anti-zona pellucida antibody	25.0 (13/52)
	Anti-nuclear antibody	13.5 (7/52)

Abbreviation: ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay.

**Table 5** Percentage of 32 responding laboratories detecting several seminal biochemical markers. The numbers of centres to the percentages are given in parentheses.

Markers	Total percentage of laboratories (%)	Description of methods	Percentage of applicable laboratories (%)
Fructose	96.9 (31/32)	Resorcinol method	89.3 (25/28)
		Indole coloration	7.1 (2/28)
		Other unspecified methods	3.6 (1/28)
		Glucose oxidase method	94.7 (18/19)
α-Glucosidase	59.4 (19/32)	Other unspecified methods	5.3 (1/19)
		Disodium phenyl phosphate method	93.3 (14/15)
Acid phosphatase	46.9 (15/32)	Other unclaimed methods	6.7 (1/15)
		Elman's method	83.3 (5/6)
Carnitine	18.8 (6/32)	Other undescribed methods	16.7 (1/6)
		Commercial kits	100 (7/7)
Zinc	21.9 (7/32)		

53.6%(59/110)的实验室只是对精液量进行目测,没有一个实验室使用第 4 版手册<sup>[7]</sup>推荐的重力分析法。71.6%(78/109)的实验室检测精液液化不全和黏稠度,但对于液化不全的精液,70.9%(73/103)的实验室不作任何处理,这样一来,不处理的液化不全精液精子参数和精浆生化的检测结果将受到影响,因为吸取液化不全精液时由于精液的黏稠性,加样量很不准确<sup>[10]</sup>。因此,精液样本的理化检验及液化不完全精液的处理应引起精液分析实验室技术人员的重视。

精子密度、活动率、存活率及形态学是反映精子质量的重要参数。大约 50.0%(59/118)的实验室以手工普通光学显微镜分析精液。最近几年,CASA 系统的使用越来越普遍,但仍以使用中国生产的 CASA 系统为主。使用 CASA 的实验室,不论是对精子密度、活动率分析还是形态学分析,对 CASA 仪器的使用普遍感觉一般,而且大多数(70.8%,34/48)实验室对 CASA 结果进行了人工干预。尽管已报道 CASA 系统是一种比较客观的精液分析方法,且精确性很高<sup>[11]</sup>,但不同仪器的参数设置仍需要标准化,且不同仪器之间结果的可比性仍需要进一步研究。

精子密度和活动率分析中使用的计数板也很不一致。尽管血细胞计数板仅被用于分析精子密度,但其一直作为“金标准”。调查显示,中国仍有 60.2%(59/98)的实验室首选国产血细胞计数板。然而,已发表的几项比较性研究表明<sup>[12-15]</sup>,血细胞计数板计数结果明显偏高,并提出精子密度和活动率分析中使用的计数板也应标准化<sup>[16]</sup>。值得注意的是,一些计数板,如 Makler 计数板在同时分析精子密度和活动率时,不能数出被分析精液中足够数量的精子。

调查显示:在反映精子质量的几个参数中,精子存活率和形态学分析仍未得到精液分析实验室技术人员的重视。大多数实验室分析精子存活率(67.9%,72/106)和精子形态学(74.1%,80/108)仍是以显微镜目测为主,而未严格按第 4 版手册<sup>[7]</sup>规定的要求进行。而且,精液白细胞的检测亦以目测法为主(77.6%,83/107),且精液生精细胞的检查也未引起足够重视,仅 13.9%(15/108)的实验室开展此项检查。在这些与精子染色有关检查中,所用的染色方法很不统一,包括瑞-吉染色、瑞氏染色、改良巴氏染色、Shorr-Diff-Quik 及 HE 染色等。这表明精子形态学、白细胞及生精细胞的检查尚需进一步推广,并且需要建立统一的标准检测方法,以提高不

同实验室之间结果的可比性。

在中国大陆,大多数实验室开展了生殖相关自身抗体的检测,尤其是抗精子抗体的检测。检测方法以 ELISA 法为主,所用的检测试剂盒五花八门,包括全国各地的十多个试剂厂家和少量进口试剂盒。初步研究显示(结果未出版),4 种抗精子抗体检测试剂盒获得的结果很不一致,阳性率相差达 10 倍。提示抗精子抗体的检测方法急需标准化,尤其是精子抗原制备方法的标准化。

调查显示,精浆生化指标检测仅在 27.1%(32/118)的实验室开展,而且,这些实验室中开展的精浆  $\alpha$  葡萄糖苷酶、果糖和酸性磷酸酶检测的方法均比较一致,分别为葡萄糖氧化酶法(94.7%,18/19)<sup>[8]</sup>、间苯二酚法(89.3%,25/28)<sup>[17]</sup>和磷酸苯二钠法(93.3%,14/15)<sup>[18]</sup>。然而,这些方法与第 4 版手册<sup>[7]</sup>推荐的方法均不完全相同。其可能的原因是由于国内大多数的男科学实验室未使用或未得到 WHO 手册,而 Huang 等<sup>[19]</sup>主编的《男科诊断学》自 1999 年出版后已进入许多男科学实验室。这表明以汉语出版的专业手册可能在中国的精液分析领域中起到主要的指导作用。

本研究调查的实验室只有约 15%(15/106;18/118)开展了精液培养和精子功能试验(如穿透试验、人透明带结合试验和顶体反应检测),这可能与这些试验主要用于科研目的而非临床诊断有关<sup>[20]</sup>。另外,亦可能与某些精子功能试验尚缺乏有效的临床意义有关。

本调查最后要强调的是:目前精液分析实验室技术人员对现有的精液分析方法感到满意的仅占 11.7%(13/111),而且,中国尚无实验室开展精液分析的室内和室间质量控制。目前,本研究小组在江苏省南京市 11 家医院的实验室率先开展了精液分析项目中的精子密度、精浆果糖、 $\alpha$  葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶的室间质量控制调查<sup>[21]</sup>,显示的结果差异较大,尤其是精浆酸性磷酸酶的检测结果。

总之,本研究调查了中国大陆目前部分实验室精液分析状况。结果提示,精液分析的每个参数均需要标准化和质量控制。为达到此目的,精液分析的每个参数都应选择最合适的分析方法和结果报告方式。而且,对技术人员进行定期培训与考核也是提高精液分析质量的重要方面之一。另外,行政部门也应该高度重视精液分析并采取积极有效的措施监测和指导精液分析操作,包括广泛建立实验室内和室间质量控制系统。因此,精液分析标

准化与质控体系的建立任重道远,还有许多工作要做。

### 参 考 文 献

- [1] Keel BA. Quality control, quality assurance, and proficiency testing in the andrology laboratory[J]. *Arch Androl*, 2002, 48(6): 417-431.
- [2] Keel BA. How reliable are results from the semen analysis? [J]. *Fertil Steril*, 2004, 82(1):41-44.
- [3] Baker DJ, Paterson MA, Klaassen JM, et al. Semen evaluation in the clinical laboratory: How well are they being performed? [J]. *Lab Med*, 1994, 25:509-514.
- [4] Baker DJ. Semen analysis[J]. *Clin Lab Sci*, 2007, 20(3): 172-187.
- [5] Huang YF, Li PS. Urgent need for the standardization of semen analysis among clinical andrology laboratories [J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2005, 11(2):83-84.
- [6] Keel BA. Is the semen analysis a reliable test? [J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2005, 11(2):85-90.
- [7] World Health Organization. *Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction* [M]. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999:3-104.
- [8] Lu JC, Xu HR, Chen F, et al. Standardization and quality control for the determination of alpha-glucosidase in seminal plasma[J]. *Arch Androl*, 2006, 52(6):447-453.
- [9] Elzanaty S, Malm J, Giwercman A. Duration of sexual abstinence: epididymal and accessory sex gland secretions and their relationship to sperm motility[J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(1):221-225.
- [10] Chen F, Lu JC, Xu HR, et al. Chymotrypsin effects on the determination of sperm parameters and seminal biochemistry markers[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44(11): 1335-1339.
- [11] Davis RO, Boyers SP. The role of digital image analysis in reproductive biology and medicine [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1992, 116(4):351-363.
- [12] Lu J, Lu N, Huang Y, et al. Quality evaluation of three different sperm counting chambers [J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2004, 10(10):755-757.
- [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] Lu JC, Chen F, Xu HR, et al. Comparison of three sperm-counting methods for the determination of sperm concentration in human semen and sperm suspensions [J]. *Lab Med*, 2007, 38: 232-236.
- [15] Hu YA, Lu JC, Lu NQ, et al. Comparison of four methods for sperm counting[J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2006, 12(3): 222-224, 227.
- [16] Lu JC, Chen F, Xu HR, et al. Is flow cytometry really adapted to the determination of sperm concentration? [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2007, 67(4):394-401.
- [17] Lu JC, Chen F, Xu HR, et al. Standardization and quality control for determination of fructose in seminal plasma [J]. *J Androl*, 2007, 28(2):207-213.
- [18] Lu JC, Chen F, Xu HR, et al. Preliminary investigation on the standardization and quality control for the determination of acid phosphatase activity in seminal plasma [J]. *Clin Chim Acta*, 2007, 375:76-81.
- [19] Huang YF, Xu RJ. *Nan Ke Zhen Duan Xue (Chinese)* [M]. Shanghai: Shanghai Second Military Medical University Press, 1999:75-229.
- [20] Liu RZ, Na WL, Zhang HG, et al. Assessment of released acrosin activity as a measurement of the sperm acrosome reaction [J]. *Asian J Androl*, 2008, 10(2):236-242.
- [21] Lu JC, Xu HR, Chen F, et al. Primary investigations on the quality control for semen analysis in Nanjing City [J]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2007, 13(1):37-41.
- (陆金春译 李铮 任丹青审校)
- (上接 p214)
- [22] Aitken RJ, Wingate JK, De Iulius G, et al. Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(10): 4154-4163.
- [23] Jones R, Mann T, Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma[J]. *Fertil Steril*, 1979, 31(5): 531-537.
- [24] Cram D, Lynch M, O'Bryan MK, et al. Genetic screening of infertile men[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2004, 16(5): 573-580.
- [25] O'Bryan MK, de Kretser D. Mouse models for genes involved in impaired spermatogenesis[J]. *Int J Androl*, 2006, 29(1): 76-89.
- [26] Crow JF. The origins, patterns and implications of human spontaneous mutation[J]. *Nat Rev Genet*, 2000, 1(1): 40-47.
- [27] Hurst LD, Ellegren H. Human genetics: mystery of the mutagenic male[J]. *Nature*, 2002, 420(6914): 365-366.
- [28] Tiemann-Boege I, Navidi W, Grewal R, et al. The observed human sperm mutation frequency cannot explain the achondroplasia paternal age effect [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(23): 14952-14957.
- [29] Aitken RJ, Koopman P, Lewis SE. Seeds of concern [J]. *Nature*, 2004, 432(7013): 48-52.
- [30] Sipos A, Rasmussen F, Harrison G, et al. Paternal age and schizophrenia: a population based cohort study[J]. *BMJ*, 2004, 329(7474): 1070.
- [31] Reichenberg A, Gross R, Weiser M, et al. Advancing paternal age and autism [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2006, 63 (9): 1026-1032.
- [32] Frans EM, Sandin S, Reichenberg A, et al. Advancing paternal age and bipolar disorder [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2008, 65(9): 1034-1040.
- [33] Ji BT, Shu XO, Linet MS, et al. Paternal cigarette smoking and the risk of childhood cancer among offspring of nonsmoking mothers[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89(3): 238-244.
- [34] Lee KM, Ward MH, Han S, et al. Paternal smoking, genetic polymorphisms in CYP1A1 and childhood leukemia risk[J]. *Leuk Res*, 2009, 33(2): 250-258.
- [35] Aitken RJ. Just how safe is assisted reproductive technology for treating male factor infertility? [J]. *Exp Rev Obstet Gynecol*, 2008, 3: 267-271.
- [36] Carrell DT. Paternal genetic and epigenetic influences on IVF outcome[J]. *Exp Rev Obstet Gynecol*, 2008, 3: 359-367.
- [37] Houshdaran S, Cortessis VK, Siegmund K, et al. Widespread epigenetic abnormalities suggest a broad DNA methylation erasure defect in abnormal human sperm [J]. *PLoS ONE*, 2007, 2(12): e1289.
- [38] Li T, Vu TH, Ulaner GA, et al. IVF results in de novo DNA methylation and histone methylation at an Igf-H19 imprinting epigenetic switch. *Mol Hum Reprod*, 2005, 11(9): 631-640.
- (陈爱萍译 季灵艳 曹少锋 陈向锋 王一飞审校)