

《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版 与第 4 版精子形态评估标准的比较研究

张欣宗^{1,2}, 姚康寿², 熊承良¹

(1. 华中科技大学同济医学院计划生育所, 湖北 武汉 430030;

2. 浙江省计划生育科学技术研究所, 浙江 杭州 310012)

【摘要】 目的: 比较《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版与第 4 版(以下称《WHO5》、《WHO4》)精子形态评估标准的差异, 了解《WHO5》对精子形态评估标准的变化。方法: 由浙江省人类精子库 9 名工作人员分别用《WHO5》与《WHO4》精子形态评估标准, 对 96 张精子形态照片共计 1 000 个精子进行形态评估。结果: 用《WHO5》标准评估的形态正常精子百分率 $[(26.50 \pm 5.06)\%]$ 高于用《WHO4》标准的评估 $[(11.39 \pm 3.17)\%]$, 差异有显著性($P < 0.05$); 用《WHO5》标准评估的头部异常率 $[(64.26 \pm 7.66)\%]$ 及尾部异常率 $[(10.92 \pm 2.03)\%]$ 较《WHO4》 $[(76.11 \pm 8.13)\%]$ 、 $[(39.89 \pm 3.85)\%]$ 更低, 差异有显著性($P < 0.05$), 颈和中段异常率及过量残留胞质差异无显著性[分别为 $(16.46 \pm 3.08)\%$ vs $(15.22 \pm 3.51)\%$ 、 $(4.24 \pm 1.66)\%$ vs $(3.87 \pm 1.68)\%$, $P > 0.05$]。结论: 《WHO5》精子形态总体评估标准不如《WHO4》的评估标准严格, 形态正常精子百分率更高。

【关键词】 WHO 手册; 精子形态; 评估标准; 比较

中图分类号: R321.1 文献标志码: A 文章编号: 1009-3591 (2011) 11-0989-04

A comparative study of sperm morphology evaluation criteria by the fifth and fourth editions of WHO Laboratory Manual

ZHANG Xin-zong^{1,2}, YAO Kang-shou², XIONG Cheng-liang¹

1. Research Institute of Family Planning, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China; 2. Zhejiang Research Institute of Family Planning, Hangzhou, Zhejiang 310012, China

【Abstract】 **Objective:** To compare the criteria of sperm morphology evaluation in the fifth edition of WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen and those in the fourth edition, and to know the changes in the criteria of sperm morphology evaluation in the new edition. **Methods:** Nine technicians from Zhejiang Human Sperm Bank evaluated the morphology of 1 000 spermatozoa in 96 sperm morphological pictures according to the criteria in the fourth and fifth editions of WHO Laboratory Manual, respectively. **Results:** The percentage of morphologically normal sperm by the criteria of the fifth edition was $(26.50 \pm 5.06)\%$, significantly higher than $(11.39 \pm 3.17)\%$ by the fourth edition ($P < 0.05$), while the rates of sperm head and tail defects based on the former were $(64.26 \pm 7.66)\%$ and $(10.92 \pm 2.03)\%$, significantly lower than $(76.11 \pm 8.18)\%$ and $(39.89 \pm 3.85)\%$ according to the latter ($P < 0.05$). There were no significant differences in the rates of sperm midpiece defects and excessive residual cytoplasm by the fifth and fourth editions ($[16.46 \pm 3.08]\%$ vs $[15.22 \pm 3.51]\%$ and $[4.24 \pm 1.66]\%$ vs $[3.87 \pm 1.68]\%$, $P > 0.05$). **Conclusion:** The criteria of sperm morphology evaluation in the fifth edition of WHO Laboratory Manual are

less strict than those in the fourth, and the percentage of morphologically normal sperm is higher according to the fifth edition. *Natl J Androl*, 2011, 17 (11): 989-992

[Key words] WHO Laboratory Manual; sperm morphology; criteria; comparison

Correspondence to: XIONG Cheng-liang, email: clxiong951@sina.com

Received: March 25, 2011; accepted: August 6, 2011

精子形态分析在男性不育症的诊断和治疗中发挥重要的作用。尽管精子形态分析本身存在不足,如:染色方法不同,分析标准各异,以及技术人员的主观性,但是精子形态与精子功能的密切关系,以及精子形态分析在辅助生殖中的预测价值,均显示出精子形态分析在评价精子体内或体外受精(*in vitro fertilization*, IVF)潜能中的重要地位^[1]。《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》从第 1 版至第 5 版(以下称《WHO1》~《WHO5》)形态正常精子百分率的参考值范围发生很大的变化,呈现逐渐下降的趋势,其中《WHO1》为(80.5 ± 19.4)%;《WHO2》为 50%;《WHO3》为 30%;《WHO4》没有参考值,但认为形态正常精子百分率超过 15%,不影响 IVF 受精率;《WHO5》为 4%^[2-6]。国内外诸多学者对《WHO5》形态正常精子百分率大于 4%的参考值范围存在很大的争议,这么低的参考值范围对临床来说是否还有意义^[7]? 有人认为 WHO 手册参考值下降的原因是否由于《WHO5》中精子形态的评估标准较以前版本更为严格? 为了解《WHO5》与《WHO4》精子形态评估标准的差异,我们分别用两种版本的评估标准对 1 000 个精子进行了评估。现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 96 张精子形态照片共计 1 000 个精子均来自浙江省人类精子库的 10 例供精志愿者,年龄 22~26 周岁,精液常规参数均达到《WHO5》的参考值^[7],即精液量 ≥ 1.5 ml,精子浓度 ≥ 15 × 10⁶/ml,前向运动精子百分率 ≥ 32%,白细胞 < 1 × 10⁶/ml。

1.2 方法

1.2.1 精子图片的制备 待精液液化后,将精液滴于洁净载玻片上,推片,自然干燥后固定,用改良巴氏法染色,树脂封固。然后挑选染色比较清晰的精子形态片,用显微数码拍照,制成图片,对图片中的精子进行逐一标号(1~1 000)。

1.2.2 研究步骤 ①9 名人员用《WHO4》的评估标准^[6],对上述 1 000 个精子进行评估,评估项目包括形态正常精子百分率、头部异常率、颈和中段异常率、尾部异常率、过量残留胞质。②9 名工作人员同时学习《WHO5》中的精子形态学评估标准及精子图谱^[7],统一评估标准,图片中的精子形态评估时,对部分有疑问的精子(如精子头的大小、长宽比、中段的宽度等)用专业软件中的测量微尺进行测量,并进行分析人员精子形态评估结果之间的室内质量控制,经过单因素方差分析,确定工作人员之间的分析结果无显著差异。③9 名人员用《WHO5》的评估标准^[7],对上述 1 000 个精子再次进行评估,评估项目同上述《WHO4》。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 12.0 统计软件包进行分析,检测数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,均值比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

用《WHO5》标准评估的形态正常精子百分率高于用《WHO4》标准评估的形态正常精子百分率,有显著性差异;用《WHO5》与《WHO4》的标准评估比较,头部异常率、尾部异常率低,有显著差异($P < 0.05$);颈和中段异常率、过量残留胞质无显著差异($P > 0.05$)。具体结果见表 1。

表 1 WHO 不同标准精子形态学评估结果比较($\bar{x} \pm s, n = 1 000$)

Table 1. Results of sperm morphology evaluation according to WHO Laboratory Manual ($\bar{x} \pm s, n = 1 000$)

Edition	Normal spermatozoa (%)	Head defect (%)	Midpiece defect (%)	Tail defect (%)	Excessive residual cytoplasm (%)
Fifth	26.50 ± 5.06*	64.26 ± 7.66*	16.46 ± 3.08	10.92 ± 2.03*	4.24 ± 1.66
Fourth	11.39 ± 3.17	76.11 ± 8.18	15.22 ± 3.51	39.89 ± 3.85	3.87 ± 1.68

与第 4 版比较, * : $P < 0.05$

* : $P < 0.05$ versus the fourth edition

另外,9名工作人员评估各参数之间的CV分别为:形态正常精子百分率19.1%,头部异常率11.9%,颈和中段异常率18.7%,尾部异常率18.6%,过量残留胞质39.2%。

3 讨论

精子形态学检查是为了解正常精子与生理及病理范围内的变异精子所占的比例,是反映男性生育能力的一个重要指标。然而,精子形态学评估标准在不断变化,正常精子形态的参考值也在逐渐下降。从1980年《WHO1》到2010年《WHO5》,精子形态评估的历史包括两种方法或阶段,这也反映在手册连续出版过程中精子形态学评估标准的演变^[2-6],分别为自由的方法(liberal approach)和严格的方法(Tygerberg criteria),严格的精子形态评估方法在1987年由Menkveld等^[8-9]提出并在1990年对此进行了描述。《WHO1》、《WHO2》采用的是自由的方法,《WHO3》对人类精子形态学分类方法进行了详细描述,手册中指出,“严格标准应该在评估精子形态正常时使用”。并给出形态正常精子严格评估的定义,同时还指出,应该认为“临界的”形式均是异常的,《WHO4》手册已经完全采用了严格方法^[7],虽然《WHO5》也采用严格的方法,但与《WHO4》相比,对精子形态评估的标准仍有一些变化。通过对《WHO5》与《WHO4》精子形态学评估标准的仔细比较,我们发现两个版本均认为只有头和尾部正常的精子才是正常的,所有处于临界状态的精子认为是异常,两版精子形态的评估标准主要区别在于:①精子头部的评估标准:《WHO5》头部外形轮廓判断变的宽松,仅要求大致成椭圆形,而不是《WHO4》要求的必须为椭圆形;《WHO5》对头部空泡的判断更严格,多于2个空泡或者顶体后区空泡,都判断为异常。②颈和中段的评估标准:《WHO5》中认为颈部急剧弯曲才为异常;颈部的长度由《WHO4》要求为头部的1.5倍缩短为1倍,并且宽度比《WHO4》要更细。③尾部的评估标准:尾部只有尖锐的折角才判断为异常,而不再以《WHO4》中弯曲角度90°为界限。④过量残留胞质的评估标准:两版标准均为大于正常精子头部的1/3,无差异。精子形态异常大多数表现在精子头部外形的异常及尾部的异常,而《WHO5》与《WHO4》相比,这两种异常的判断标准发生比较大的改变,因此,对精子形态的评估结果将产生较大的影响。

《WHO5》有关形态学部份存在很大的争议,Elia-
sson^[10]认为根据“Tygerberg 严格标准”评估精子形

态是不科学的,当“Tygerberg 严格标准”还存在争议,甚至对其的支持很微弱时,WHO手册却对其进行了无条件的推荐。Eliasson^[10]也认为《WHO3》和《WHO4》推荐的“严格形态标准”原则令人难于理解,正如许多发表的关于精子形态的文献证实,研究者并不理解为什么《WHO5》要更加明确强调“严格形态标准”。另外,有些学者认为正常形态4%的参考值下限似乎太低,应该没有参考最新的研究结果,如此低的正常参考值有何实用意义?如何在临床上指导患者的诊断及治疗^[11]?《WHO5》的精子形态学彩图仅由一位专家Kruger进行分析,有些学者并不完全赞同他的评估结果。Ariagno等^[12]完全赞同Kruger有关异常精子的评估结果,但对于正常精子(如:彩图1的3、4、8、19、20以及彩图4的6、7、11~15)的评估结果持不同意见。

《WHO5》推荐“严格形态标准”,认为正常精子形态包括头、颈、中段、尾部和末端,由于通过光学显微镜很难观察到精子末端,因此可以认为细胞是由头(和颈)和尾(中段和尾部)组成。只有头和尾部正常的精子才认为是正常的。所有处于临界状态的精子均认为是异常^[7]。利用严格精子形态标准时,很容易认为存在一个公认、有效地严格评估形态的方法,但事实并非如此^[10]。目前,精子形态分析技术尚有待进一步完善,各实验室可通过建立精子形态分析的质量控制体系来减小精子形态分析过程中由于染色方法、分析标准、技术人员的主观性等所导致的结果差异,以保证精子形态分析结果的稳定性和可重复性^[13]。我们一直以来非常重视精子形态学评估的质量控制,主要步骤包括:①掌握和统一精子形态学的评估标准:WHO手册对精子的正常及异常有了一个较为详细的严格标准,并附有大量已评估的精子图谱。我们首先认真学习并掌握评判精子正常或异常的标准,然后结合WHO的精子评判标准对图谱中每个精子的评估结果进行分析;对部分有疑问的精子(如精子头的大小、长宽比、中段的宽度等)用专业软件中的测量微尺进行测量;将图谱中的精子根据评估结果进行详细分类,以寻找共同点和差异点。通过上述方法,逐步理解和掌握评估精子形态正常或异常的尺度,从而充分掌握并统一精子形态的评估标准。②集中统一读片:使用高清数码摄影装置拍摄精子形态图片,所有人员同时逐个精子根据WHO的精子评估标准进行评估,对于评估为异常的精子,必须说明异常的部位及原因,对每个精子的评估结果必须达成共识。集体

读片需反复多次进行,直至所有人员对精子的评估标准完全理解并掌握。③精子形态学评估结果的质控:选择一张精子形态质控片或者至少包含 200 个精子的图片,所有人员均进行精子形态学评估,对评估结果进行统计学分析,以评估分析人员之间的评估标准是否有差异,如有差异,仍需反复集体读片,重新掌握标准。④稳定精子形态学评估标准:定期通过精子形态质控片了解每名分析人员精子形态学评估标准的变化;定期分析、评价工作人员近期精子形态学评估的数据;定期进行集体统一读片。通过手工形态学分类对图片中的精子进行形态评估时,人员之间的变异系数受到 WHO 标准的掌握程度、精子分类的主观特性、图片的质量及工作人员的情绪等诸多因素的影响^[14],本研究 9 名工作人员精子形态评估各参数之间的 CV 分别为:形态正常精子百分率 19.1%,头部异常率 11.9%,颈和中段异常率 18.7%,尾部异常率 18.6%,过量残留胞质 39.2%。除过量残留胞质外,其它参数的 CV 基本都在可接受的范围内,由于本研究过量残留胞质比率较低,需分析更多的精子才能降低工作人员之间的 CV。

本组结果显示,用《WHO5》标准评估的形态正常精子百分率 $[(26.50 \pm 5.06) \%]$ 高于用《WHO4》标准评估的形态正常精子百分率 $[(11.39 \pm 3.17) \%]$;与《WHO4》的标准评估相比,用《WHO5》标准评估的头部异常率及尾部异常率更低,颈和中段异常率及过量残留胞质无显著性差异。上述结果基本上与两版精子形态学评估标准的差异相符;同时,也与《WHO5》的图谱评估结果相符,如:彩图 1 中的 3、4、6、11、13,彩图 7 中的 10、21、28、37,头部外形评估为正常,然而按《WHO4》的标准应该评估为异常,因为它们不是标准的椭圆形;彩图 8 中的 1~4、18、21,尾部评估为正常,然而按《WHO4》的标准应该评估为异常,尾部弯曲的角度均超过 90 度。

因此,本组结果认为《WHO5》精子形态总体评判标准不如《WHO4》的评判标准严格,形态正常精子百分率更高。

参考文献

[1] Guzik DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, et al. Sperm mor-

phology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med*, 2001, 345(19): 1388-1393.

- [2] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction, 1st ed. Singapore: Press Concern. 1980.
- [3] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1987.
- [4] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction, 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1992.
- [5] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1999.
- [6] World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization, 2010. 100.
- [7] Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. *Asian J Androl*, 2010, 12(1): 47-58.
- [8] Menkveld R. An investigation of environmental influences on spermatogenesis and semen parameters. [PhD dissertation (in Afrikaans)]. South Africa: Faculty of Medicine, University of Stellenbosch, 1987.
- [9] Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, et al. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod*, 1990, 5(5): 586-592.
- [10] Eliasson R. Semen analysis with regard to sperm number, sperm morphology and functional aspects. *Asian J Androl*, 2010, 12(1): 26-32.
- [11] Skakkebaek NE. Normal reference ranges for semen quality and their relations to fecundity. *Asian J Androl*, 2010, 12(1): 95-98.
- [12] Ariagno JI, Curi SM, Chenlo P, et al. Our experience in sperm morphology assessment. *Asian J Androl*, 2011, 13(2): 201-202
- [13] 王瑞雪, 刘睿智. 精子形态与精子功能关系研究进展. *中华男科学杂志*, 2007, 13(4): 348-351.
- Wang RX, Liu RZ. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi*, 2007, 13(4): 348-351.
- [14] 黄宇烽, 陆金春. 精子质量参数分析的标准化与质量控制的研究进展. *中华男科学杂志*, 2007, 13(11): 963-968.
- Huang YF, Lu JC. *Zhonghua Nan Ke Xue Za Zhi*, 2007, 13(11): 963-968.

(收稿日期: 2011-03-25; 接受日期: 2011-08-06)

(本文编辑: 徐建平)



论文写作，论文降重，
论文格式排版，论文发表，
专业硕博团队，十年论文服务经验



SCI期刊发表，论文润色，
英文翻译，提供全流程发表支持
全程美籍资深编辑顾问贴心服务

免费论文查重：<http://free.paperyy.com>

3亿免费文献下载：<http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重：http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载：<http://ppt.ixueshu.com>

阅读此文的还阅读了：

- [1. 公畜精液的检查和分析](#)
- [2. 影视改编中的经典《简爱》](#)
- [3. 人类学与当今人类问题（第5版）](#)
- [4. 《热处理手册》（1—4卷）（第4版）征订](#)
- [5. 《眼科手册》（第4版）出版](#)
- [6. 人精子透明质酸酶活性测定的临床意义](#)
- [7. “~~版”新用法的认知考察](#)
- [8. 补肾生精汤对少弱精子症患者精液质量的影响](#)
- [9. 精液有变善观察 健康情况早知晓](#)
- [10. 人精浆葡萄糖浓度与精子密度和活动度的关系](#)
- [11. TRPV离子通道家族在人精液生殖细胞中的表达及定位](#)
- [12. 《WHO人类精液检查与处理实验室手册》第5版与第4版精子形态评估标准的比较研究](#)
- [13. 藏葵冷冻精液保存液配方筛选试验](#)
- [14. Insights into semen analysis: a Chinese perspective on the fifth edition of the WHO laboratory manual for the examination and pro](#)
- [15. 争锋GPS宇达电通A501/A701对比评测](#)
- [16. 输精管结扎与男性激素](#)

17. [对版画界定的思考](#)
18. [人精浆葡萄糖浓度与精子密度和活动度的关系](#)
19. [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](#)
20. [犬精液超低温冷冻保存液筛选试验](#)
21. [《世界卫生组织人类精液分析实验室技术手册》第5版中低...](#)
22. [WHO第5版人类精液检查主要计数指标参考区间验证](#)
23. [附缀式“X版”探微](#)
24. [第4版](#)
25. [2011年首期《WHO人类精液检查和处理实验室手册》\(第五版\)内容解读和实验室操作培训班通知](#)
26. [近十年我国报纸新闻时评专栏\(版\)发展的特征](#)
27. [男性保健四招判断你的精液是否正常](#)
28. [国务院关于印发国家知识产权战略纲要的通知](#)
29. [提升报纸时评专栏质量的思考](#)
30. [机械工程师手册第4版](#)
31. [A sperm GPI-anchored protein elicits sperm-cumulus cross-talk leading to the acrosome reaction](#)
32. [DDC\(21版\)与《中图法》\(第4版\)医学复分表的比较研究](#)
33. [睾丸生精细胞凋亡的基因调控](#)
34. [《机械设计手册》第5版隆重出版](#)
35. [ISO/IEC导则第5版对第4版主要修改内容](#)
36. [融汇与创新——谈我国现代陶艺创作](#)
37. [大熊猫精液品质的研究:精子和非精子的细胞成分超微结构观察](#)
38. [《中图法》第4版修订与第5版概要](#)
39. [表格在Word排版中的妙用](#)
40. [WHO第5版精液参考值标准的临床应用对IUI适应证谱的影响](#)
41. [基础课教学实验室评估的认识与思考](#)
42. [2011年第二期《WHO人类精液检查和处理实验室手册》\(第五版\)内容解读和实验室操作培训班通知](#)
43. [饮酒对男性精液质量影响的探讨](#)
44. [保健问答](#)
45. [人正常精液中早期凋亡精子的检测](#)
46. [新版《热处理手册》\(第4版\)目录](#)
47. [50Hz工频磁场暴露对成年男性精子活力参数和精液酸碱度的影响](#)
48. [对版画界定的思考](#)
49. [征稿启事](#)
50. [算法\(第4版\)](#)