• 临床检验研究论著 •

支原体、衣原体及抗精子抗体检测在男性不育症中的应用价值

黄长武¹, 彭兰芬¹, 郑哲明², 蒋友明¹

(广东医学院附属东莞市厚街医院: 1. 检验科; 2. 男性科, 广东东莞 523945)

摘要:目的 探讨支原体、衣原体和抗精子抗体的检测对男性不育症的应用价值。方法 采用培养法、免疫层析法、ELISA 法, 对 102 例不育男性和 42 例已育男性进行支原体、衣原体和抗精子抗体的检测及精液常规的分析。根据结果分为单纯支原体或(和)衣原体阳性组 71 例, 单纯抗精子抗体阳性组 21 例, 支原体或(和)衣原体和抗精子抗体阳性组 8 例, 支原体、衣原体和抗精子抗体阴性组 44 例, 对 4 组的精液常规主要指标进行比较。结果 不育男性支原体、衣原体、抗精子抗体阳性率明显高于已育男性 ($P < 0.05$); 单纯支原体或(和)衣原体阳性组, 单纯抗精子抗体阳性组及支原体或(和)衣原体和抗精子抗体阳性组的精子密度、活动率、活力明显低于阴性组, 精子的畸形率、液化时间、白细胞数明显高于阴性组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 支原体、衣原体的感染及抗精子抗体的产生对精液多项指标有明显影响, 精液质量下降, 从而引起男性不育症的发生。

关键词: 解脲支原体; 人型支原体; 沙眼衣原体; 抗精子抗体; 男性不育症

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.015

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)11-1412-03

Value of Detection of *Mycoplasma*, *Chlamydia* and anti-sperm antibodies in male infertility

Huang Changwu¹, Peng Lanfen¹, Zheng Zheming², Jiang Youming¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Andrology, Dongguan Houjie Hospital

Affiliated to Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523945, China)

Abstract: Objective To explore the application value of detection of *Mycoplasma*, *Chlamydia* and anti-sperm antibodies for male infertility. Methods Culture method, immune chromatography, and enzyme linked immunosorbent assay were adopted for the detection of *Mycoplasma*, *Chlamydia*, and anti-sperm antibodies respectively in 102 cases of infertile males and 42 cases fertile males. And the routine semen analysis was proceed as well. All the subjects were divided into 4 groups according to the detection results: simple *Mycoplasma* or/and *Chlamydia* positive group (71 cases), simple anti-sperm antibodies positive group (21 cases), *Mycoplasma* and *Chlamydia* or/and anti-sperm antibodies positive group (8 cases), *Mycoplasma*, *Chlamydia* and anti-sperm antibodies negative group (44 cases). The main indexes of semen routine were compared among 4 groups. Results The positive rates of *Mycoplasma*, *Chlamydia* and anti-sperm antibodies in infertile males were significantly higher than those of fertile males ($P < 0.05$). The sperm densities, activity rates, activity of simple *Mycoplasma* or / and *Chlamydia* positive group, simple anti-sperm antibodies positive group, and *Mycoplasma* and *Chlamydia* or / and anti-sperm antibodies positive group were significantly lower than the negative group, while the sperm malformation rates, liquefaction times, white blood cell counts of the three groups were significantly higher than the negative group ($P < 0.05$). Conclusion *Mycoplasma*, *Chlamydia* infection and anti-sperm antibodies production have significant effect on the indexes of semen, which cause decline in semen quality and the occurrence of male infertility.

Key words: *Ureaplasma urealyticum*; *Mycoplasma hominis*; *Chlamydia trachomatis*; anti-sperm antibody; male infertility

不育不孕是指在有正常性生活的情况下, 夫妻双方未经避孕 2 年以上未妊娠者。近年来, 男性不育症的发病率居高不下, 主要由感染因素和免疫因素引起。感染因素尤其以非淋菌性因素引起的男性尿路感染居多, 其主要病原体是衣原体和支原体。尿路感染后, 未经过有效的治疗, 进而引起慢性生殖系统感染。有研究发现, 15% 的男性不育与生殖道感染有关^[1]。支原体感染与男性不育症之间的关系, 在国内仍存在争议, 甚至有人认为二者之间不存在必然的联系^[2]。男性生殖道感染后, 精子容易透过自身屏障进入到血液中, 引起免疫性反应, 常产生抗精子抗体(AsAb), 因而对自身精子有免疫力, 容易发生免疫反应而使精子的活力下降, 这种免疫性不育引起了医务工作者的关注。基于以上的情况, 本文对 102 例不育男性和 42 例已育男性的支原体、衣原体和 AsAb 阳性率进行比较研究, 同时对其精液主要指标进行分析, 进一步分析支原体、衣原体和 AsAb 对精液质量的影响及与男性不育症的相关关系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院门诊 2010 年 1 月至 2013 年 2 月男性科

就诊的不育男性 102 例, 均为婚后未采取任何避孕措施, 夫妻同居 2 年以上, 性生活正常, 无遗传性疾病家庭史, 无慢性疾病, 泌尿外科检查未发现睾丸、附睾及输精管异常, 排除女方不孕因素, 而女方未孕的男性患者。年龄 22~45 岁, 平均 30 岁。另选取有生育史男性健康体检者 42 例, 年龄 21~42 岁, 平均 28 岁。先按已育和不育分为 2 组, 观察 2 组间支原体、衣原体、AsAb 阳性率, 然后再按支原体或衣原体及 AsAb 阳性、阴性情况分为 4 组, 即单纯支原体或(和)衣原体阳性组, 单纯 AsAb 阳性组, 支原体或(和)衣原体和 AsAb 阳性组, 支原体、衣原体和 AsAb 阴性组, 观察各阳性组和阴性组之间在精液常规检查中各主要指标方面的差异。

1.2 标本采集与处理 支原体、衣原体标本由男性科医生取样, 用无菌小棉签插入男性尿道 2~4 cm 处, 轻轻旋转后取出, 放入标本收集专用瓶即时送检验科进行支原体、衣原体检测。另取受试者静脉血 3 mL, 分离血清, 放 4 °C 保存, 1 周内完成 AsAb 的测定。精液标本: 禁欲 3~5 d, 手淫法或取精器取精于干燥消毒玻璃容器内, 37 °C 恒温水浴箱自行液化。

1.3 方法

1.3.1 支原体、衣原体测定 支原体由珠海益民生物工程制品厂提供的支原体培养加药敏试剂盒,采用微孔培养法,严格无菌操作,接种后置 37 °C 培养箱中培养,分别于 24 h 和 48 h 观察结果。衣原体由中联达公司提供的英国立明衣原体试剂盒,用免疫层析法,均严格按说明书操作。

1.3.2 AsAb 检测 采用 ELISA 法,试剂由上海抚生实业有限公司提供,芬兰雷勃公司产酶标仪与洗板机,严格按说明书操作。

1.3.3 精液常规检查 精液标本完全液化后充分混匀,严格按照《WHO 人类精液检查与处理实验室手册》的方法采用以色列产 SQA-V 全自动精子质量分析仪对精子密度、活动率、活力、畸形率、液化时间及白细胞数量进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料的比较采用 *t* 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不育组与已育组支原体、衣原体感染情况比较 对 2 组结果进行 χ^2 检验,结果不育组支原体、衣原体感染阳性率明显高于已育组($P < 0.05$),且 102 例不育者中有 6 例为衣原体、支原体混合感染,占 5.9%,不育组 AsAb 阳性率达 27.5%,明

显高于已育组 2.3%,两者之间差异有统计学意义($P < 0.01$)。在不育组中,解脲支原体(Uu)与人型支原体(Mh)双重感染的有 10 例,AsAb 阳性者 28 例中有 8 例合并支原体或衣原体感染。见表 1。

表 1 不育组与已育组支原体、衣原体、AsAb 阳性率情况比较[n(%)]

组别	n	Uu 阳性	Mh 阳性	衣原体阳性	AsAb 阳性
不育组	102	42(41.2)	19(18.6)	22(21.6)	28(27.5)
生育组	42	5(11.9)	1(2.3)	1(2.3)	1(2.3)
P	—	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

—:无数据。

2.2 支原体、衣原体、AsAb 阳性组精液质量主要指标的比较 单纯支原体或(和)衣原体感染组,单纯 AsAb 阳性组,支原体或(和)衣原体和 AsAb 阳性组分别与支原体、衣原体和 AsAb 阴性组比较,见表 2,结果显示各阳性组精液质量明显低于阴性组,两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$),尤其以支原体、衣原体和 AsAb 混合感染阳性组精液质量更差($P < 0.01$)。

表 2 支原体或衣原体、AsAb 各种阳性组与阴性组精液检查主要指标比较($\bar{x} \pm s$)

精液主要指标	单纯支原体和(或)衣原体阳性组(n=71)	单纯 AsAb 阳性组(n=21)	支原体和(或)衣原体和 AsAb 阳性组(n=8)	支原体、衣原体和 AsAb 阴性组(n=44)
精子密度($\times 10^9/L$)	52.2 $\pm$ 30.1*	49.3 $\pm$ 25.3*	36.2 $\pm$ 29.1**	70.2 $\pm$ 29.2
精子活率(%)	40.3 $\pm$ 18.2*	39.6 $\pm$ 18.3*	37.1 $\pm$ 20.3*	68.2 $\pm$ 18.4
活力(%)				
A 级	12.6 $\pm$ 9.3*	13.6 $\pm$ 7.9*	9.7 $\pm$ 10.5*	22.3 $\pm$ 18.1
B 级	17.2 $\pm$ 10.6**	18.4 $\pm$ 9.6*	15.2 $\pm$ 11.2**	35.2 $\pm$ 16.3
畸形率(%)	28.6 $\pm$ 6.4*	22.9 $\pm$ 8.6*	34.9 $\pm$ 4.9**	16.2 $\pm$ 5.8
液化时间(min)	78.6 $\pm$ 15.3**	76.4 $\pm$ 17.2**	90.6 $\pm$ 14.6**	22.3 $\pm$ 8.9
白细胞数目(/HP)	6.8 $\pm$ 3.6	5.4 $\pm$ 4.2**	7.3 $\pm$ 3.7**	1.6 $\pm$ 1.8

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$,与支原体、衣原体和 AsAb 阴性组比较。

3 讨论

支原体检测,很多实验室采用精液培养法,但由于分解尿素或精氨酸的细菌或真菌的干扰,可造成假阳性。本法采用男性尿道棉拭子培养法,减少了精液成分对培养的影响,本研究结果提示,不育组男性支原体感染率达到了 50.0%,与徐丽等^[3]报道的支原体感染率 47.5% 大体相同,并有上升的趋势。不育男性衣原体感染率为 21.6%,与彭兰等^[4]报道的不育男性衣原体感染率为 28.64% 相符。已育组男性的衣原体感染率 2.3%,两者比较有显著性差异。临床上,由于衣原体感染或支原体感染者且其浓度小于 10^4 cfu/mL 时,患者很少出现不适症状,就诊率低,容易导致衣原体、支原体感染反复迁延,从而引起生殖道严重的慢性病理、生理改变而引起精液质量的下降,并导致男性不育。

人类精子抗原的成分十分复杂,种类繁多,到目前为止已涉及 100 多种^[5],就其来源大体分为两类,一类是精子发生过程中产生的,为精子固有的抗原,如种族特异性抗原,组织相容性抗原、HY 抗原、LDH-C4、PH-20、SP-10、MSA-63 抗原等。另一类为精子进入卵巢或与精浆混合时,精浆内的一些蛋白质

吸附于精子膜上,成为精子抗原的一部分,即精子附着抗原,这类抗原同样可以诱发 AsAb 的产生而导致不孕,因此对于无精子症患者,虽然没有精子,即没有精子固有抗原的刺激作用,但其精浆中仍有精子附着抗原,如果精浆突破血生精小管屏障,同样可以产生 AsAb。正常情况下,男性生育通道存在牢固的血生精小管,将精子抗原与抗体免疫系统隔离,因而不会发生抗精子自身免疫,当有支原体或衣原体感染时,炎症使血生精小管屏障遭到破坏,病原体可以直接侵入生精细胞损害曲细精管基膜屏障,使精子可溶性抗原外溢,而导致 AsAb 的产生^[6]。本研究显示 AsAb 阳性的 28 例中,有 8 例合并有支原体或衣原体感染,合并感染率为 28.6%,这说明 AsAb 的产生与支原体或衣原体感染有一定的关系。在单纯 AsAb 阳性的 21 例患者中,在无支原体、衣原体感染的情况下,仍然有 AsAb 的产生。说明除感染因素外,还存在其他免疫因素导致 AsAb 的产生。本研究显示单纯支原体或衣原体阳性组与支原体或衣原体和 AsAb 阳性组相比,后者的精子密度、活率低于前者,而畸形率、液化时间、白细胞数目高于前者,与 Soffer 等^[7]研究相符,更加说明在男性不育患者中,感染因素与免疫

因素的双重影响更加加重了精液质量的下降,从而增加了男性不育的机会。

关于沙眼衣原体对男性不育的影响,研究者用电镜在不育男性精液、睾丸及附睾中均观察到了沙眼衣原体,精子形态异常,包含大量胞浆残余体,顶体与核分离,精子膜破损乃至完全缺失和线粒体破坏。许多区域附睾上皮细胞膜破裂,细胞质成分外溢,管腔中可见到内质网和高尔基体,因此,沙眼衣原体感染后,可以对男性睾丸和附睾产生破坏作用,直接影响精子的发生与成熟。其二,沙眼衣原体可以吸附精子表面,并进入精子内部,在精子内部形成网状体并大量繁殖,造成精子膜和顶体的破坏。其三,沙眼衣原体感染后,容易引起慢性前列腺炎,降低精浆中酸性磷酸酶的活性,导致精子的畸形率明显上升^[8]。

支原体、AsAb 对精液质量的影响可能是通过下列途径进行的:第一,一方面支原体透过生精小管屏障侵入生精细胞,影响精子的发育与成熟,导致精子数量的下降,同时支原体侵入曲精小管,干扰精子的正常产生,并导致精子畸形,另一方面支原体直接和精子表面的结合点结合,导致精子畸形,同时也使精子的体积增大,故活力降低,畸形率增高^[9]。第二,支原体感染后精子的生存环境发生了改变,可使精液渗透压增加,精子细胞脱水,造成精子活力下降,甚至死亡。支原体感染还可以引起 T 细胞数目明显增加,巨噬细胞吞噬功能也增强,加强了对精子的吞噬、加工、递呈,诱导产生 AsAb^[10]。第三,各种因素诱导产生的 AsAb 与精子膜固有成分结合能导致补体的活化,使 C3 裂解加速,进而导致精子结合功能受损,精子功能遭到破坏,活率降低、病死率增高^[3]。同时 AsAb 可阻止精子穿过宫颈黏液,影响精子活力,封闭顶体膜上抗原位点,抑制精子对透明带的附着和穿透,影响精卵结合^[11],从而导致不孕。

受孕是一个复杂的生理过程,受多种因素的影响,排除女方不孕原因外,良好的精液质量是保证受孕的必备条件。受精的完成,除了卵细胞之外,精子的数量、质量、活动度都起着重要的作用,其中精子的质量尤为重要。男方每次排的精液量少于 1.5 mL,精子数少于 $20 \times 10^9/L$,精子畸形率超过 20%,精子病死率超过 50%,精子活动力低于 60%,精液 0.5 h 内不液化等等,都可引起不孕^[12]。本研究表明,阳性组中,精子活率都低于 60%,A 级+B 级精子的活力小于 50%,精子的畸形率大于 20%,液化时间大于 30 min,白细胞数每高倍视野下大于 5 个,与阴性组比较,都有显著性差异。这说明支原体、衣原体感染以及 AsAb 的产生,都可以引起精液质量的下降,从而导致男性不育症的发生。

由于环境、心理、社会等多种因素的影响,男性不育症的发生呈上升趋势。环境因素包括农药及杀虫剂的应用,废气的排放,电离辐射。自身原因如:过度吸烟与饮酒,药物、化妆品的乱用,吸毒以及性病的感染都是引起精液质量下降的原因;精神过度紧张,社会压力过大同样也可以引起精液质量的下降。感染因素和免疫因素的影响使男性精子数量和质量的下降日益严重,尤其是支原体、衣原体感染后,以及受感染因素主导引起的 AsAb 的产生,使精液质量下降明显,引起男性不育的机会大大增加。因此对不明原因引起的男性不育者进行支原体、衣原体及 AsAb 的检测是非常必要的,同时也要对患者进行必要的健康教育,加强道德修养,洁身自好,积极治疗。

参考文献

[1] 佟爱华,董梅,孙敏霞,等. 泌尿系感染的病原菌分布及耐药性调查[J]. 武警医学,2012,23(4):321-322.
 [2] 黄敏婷,陆春. 解脲脲原体感染对男性精液质量影响的研究进展[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2011,18(1):64-66.
 [3] 徐丽,周运恒,李骞,等. 男性不育患者解脲脲原体感染与精子质量和抗精子抗体的关系[J]. 武警医学,2013(8):686-688.
 [4] 彭兰,万芳,邹志宝,等. 男性不育症的检测及意义[J]. 检验医学与临床,2012,9(4):453-454.
 [5] 仲人前,范列英. 自身抗体基础与临床[M]. 北京:人民军医出版社,2006:199-201.
 [6] 农建宏,苏国生. 不孕不育患者抗精子抗体检测及临床意义[J]. 右江医学,2008,35(6):674-675.
 [7] Soffer Y, Ron-El R, Golan A, et al. Male genital mycoplasmas and Chlamydia trachomatis culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality, and autoimmunity[J]. Fertil Steril, 1990,53(2):331-336.
 [8] 徐晨. 沙眼衣原体与不育不孕[J]. 男性学杂志,1994,8(3):180-184.
 [9] 李向安,肖坤萍,奉小凤,等. 生殖道解脲支原体感染与精液异常关系的研究[J]. 中国计划生育学杂志,2004,12(3):164-166.
 [10] 张明,额尔敦,高智文,等. 不育男性抗精子抗体与解脲支原体检测的意义[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(3):348-350.
 [11] Ness RB, Markovic N, Carlson CL, et al. Do men become infertile after having sexually transmitted urethritis? An epidemiologic examination[J]. Fertil Steril, 1997,68(2):205-213.
 [12] 熊立凡,李树仁,丁磊成. 临床检验基础[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2003:255-259.

(收稿日期:2014-01-12)

(上接第 1411 页)

polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel[J]. J Thromb Haemost,2007,5(12):2429-2436.
 [7] Jiang DC, Bai XR, Zhang QX, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed-effect modeling[J]. Eur J Clin Pharmacol,2009,65(12):1187-1193.
 [8] Yu BN, Chen GL, He N, et al. Pharmacokinetics of citalopram in relation to genetic polymorphism of CYP2C19[J]. Drug Metab Dispos,2003,31(10):1255-1259.
 [9] Goldstein JA, Ishizaki T, Chiba K, et al. Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and

American black populations[J]. Pharmacogenetics,1997,7(1):59-64.
 [10] 顾连云,赵萍. CYP2C19 基因多态性在江苏及其周边地区汉族人群的调查研究[J]. 实用临床医药杂志,2011,15(1):125-128.
 [11] Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. N Engl J Med,2009,302(1):849-857.
 [12] Wu HY, Qian JY, Sun AJ, et al. Association of CYP2C19 genotype with periprocedural Myocardial Infarction after uneventful stent implantation in Chinese patients receiving clopidogrel pretreatment[J]. Circ J,2012,76(12):2773-2778.

(收稿日期:2014-01-18)