

生殖支原体感染对男性不育患者精液质量的影响

闫泽晨¹, 商学军², 刘 玮², 万秀霞³, 万长春⁴, 许 松⁵, 钟 勇⁶, 翁志强⁶

(1. 郑州大学第一附属医院外科医学部, 河南 郑州 450052; 南方医科大学南京临床医学院 /

南京军区南京总医院, 2. 男科, 5. 泌尿外科, 6. 门诊部, 江苏 南京 210002;

3. 青岛大学基础医学院人体机能学实验室虚拟实验室, 山东 青岛 266071;

4. 金湖县人民医院检验科, 江苏 金湖 211600)

【摘要】 目的: 探讨泌尿生殖道生殖支原体(MG)在男性不育患者中的感染情况及其对精液质量的影响。

方法: 收集2015年3月~7月来南京军区南京总医院生殖医学中心门诊的352例不育患者的精液标本。MG感染采用实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)检测。精液分析根据《WHO人类精液检查与处理实验室手册》第5版进行操作, 分析精液pH值、精液量、精子总数、精子浓度、精子总活力、前向运动精子百分率(PR)、不动精子百分率(IM)、精子DNA碎片化指数(DFI)等。数据统计用t检验(t-tests)与非参数检验(Wilcoxon test)方法。结果: 不育患者MG感染率为3.4%(12/352); 比较MG阳性与MG阴性不育患者间精液分析结果发现, MG阴性患者在精液量[(3.84±0.12) ml vs (2.85±0.14) ml, P=0.008], PR[(23.57±0.99)% vs (15.86±1.72)%, P=0.032]均要显著高于MG阳性患者, DFI[(20.71±1.55)% vs (30.73±2.24)%], P=0.014]则显著低于MG阳性患者。而精液pH值(7.39±0.01 vs 7.38±0.02, P=0.774)、精子浓度[(60.05±4.29) × 10⁶/ml vs (52.96±15.78) × 10⁶/ml, P=0.683]、精子总数[(221.56±15.43) × 10⁶ vs (154.15±46.37) × 10⁶, P=0.236]、精子总活率[(33.52±1.51)% vs (29.04±3.11)%], P=0.626], IM[(62.34±1.69)% vs (60.95±5.63)%], P=0.691]组间均无统计学差异。

结论: 本研究证明: 男性不育患者泌尿生殖道MG感染患者并不在少数, 应引起重视; 泌尿生殖道MG感染对精液质量有潜在负面影响, 特别是精子活力。

【关键词】 生殖支原体; 不育; 精液质量; 实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)

中图分类号: R697 文献标志码: A doi: 10.13263/j.cnki.nja.2018.04.005*

Impact of *Mycoplasma genitalium* infection on the semen quality of infertile males

YAN Ze-chen¹, SHANG Xue-jun², LIU Wei², WAN Xiu-xia³, WAN Chang-chun⁴,

XU Song⁵, ZHONG Yong⁶, WENG Zhi-qiang⁶

1. Department of Surgery, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China; 2. Department of Andrology, 5. Department of Urology, 6. Department of Outpatients, Nanjing School of Clinical Medicine, Southern Medical University / Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 3. Virtual Laboratory Section, Laboratory of Human Integrated Biological Functions, School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Jinhu People's Hospital, Jinhu, Jiangsu 211600, China

* 基金项目: 国家自然科学基金(81771646 81701506); 国家“十二五”科学支撑计划(2012BAI32B03); 2017年度军队计生专项研究任务计划(17JS013); 江苏省社会发展面上项目(BE2017724)

作者简介: 闫泽晨(1988-) 男, 河南新乡市人, 主治医师, 博士, 从事泌尿男科基础与临床研究。

商学军(1971-) 男, 江苏盱眙县人, 主任医师, 教授, 博士, 从事男科学专业。Email: shangxj98@sina.com。闫泽晨与商学军对本研究有同等贡献, 为共同第一作者。

通讯作者: 闫泽晨, Email: yanzechen@qq.com

【Abstract】 Objective: To explore *Mycoplasma genitalium* (MG) infection in the urogenital tract of infertile men and its influence on semen quality. **Methods:** Semen samples were collected from 352 infertile males in the Center of Reproductive Medicine of Nanjing General Hospital from March to July 2015. MG infection was detected by real-time fluorescence simultaneous amplification and testing 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 (PMS) and immotile sperm (IMS), and sperm DNA fragmentation index (DFI). The data obtained were subjected to statistical analysis by *t*-test and non-parametric test (Wilcoxon test). **Results:** MG infection was found in 3.4% (12/352) of the infertile patients. Compared with the MG-positive cases, the MG-negative ones showed a significantly higher semen volume ($[2.85 \pm 0.14]$ vs $[3.84 \pm 0.12]$ ml, $P = 0.008$) and percentage of PMS ($[15.86 \pm 1.72]$ vs $[60.95 \pm 5.63]$ %, $P = 0.032$) but a lower DFI ($[30.73 \pm 2.24]$ vs $[20.71 \pm 1.55]$ %, $P = 0.014$). However, no statistically significant differences were observed between the two groups in the semen pH value (7.38 ± 0.02 vs 7.39 ± 0.01 , $P = 0.774$), sperm concentration ($[52.96 \pm 15.78]$ vs $[60.05 \pm 4.29] \times 10^6$ /ml, $P = 0.683$), sperm count ($[154.15 \pm 46.37]$ vs $[221.56 \pm 15.43] \times 10^6$, $P = 0.236$), total sperm motility ($[29.04 \pm 3.11]$ vs $[33.52 \pm 1.51]$ %, $P = 0.626$), or percentage of IMS ($[23.57 \pm 0.99]$ vs $[62.34 \pm 1.69]$ %, $P = 0.691$). **Conclusion:** Urogenital MG infection is common in infertile males and potentially affects the semen quality, especially sperm vitality of the patient. *Natl J Androl, 2018, 24 (4): 317-321*

【Key words】 *Mycoplasma genitalium*; infertility; semen quality; real-time fluorescence simultaneous amplification and testing

Supported by grants from National Natural Science Foundation of China (81771646, 81701506), National Key Science Program of the 12th Five-Year Plan (2012BAI32B03), PLA Specialized Research Program of Family Planning 2017 (17JS013), and Social Development Project of Jiangsu Province (BE2017724). Correspondence to: YAN Ze-chen, email: yanzechen@qq.com

Received: November 3, 2016; accepted: January 16, 2017

生殖支原体 (*mycoplasma genitalium*, MG) 是 1981 年由 Tully 首次从男性非淋菌性尿道炎 (NGU) 患者的泌尿道中分离出来的新的支原体^[1]。MG 培养极其困难, 此后随着分子生物学技术的发展与应用, 才出现大量关于 MG 的研究。MG 的流行病学调查并没有引起很大的关注, 可能与没有标准检测方法、感染的报道较少有关, 但是 WHO 已经将其归为一种新的性传播疾病^[2]。男性感染 MG 后可导致急性非淋菌性尿道炎、前列腺炎、淋病后尿道炎、获得性反应性关节炎、睾丸附睾炎, 甚至与 HIV 感染有高度相关, 而女性 MG 感染率更高, 危害更大^[3-6]。MG 感染导致男性不育或精液质量的下降也有报道, 但研究结论一直存在争议^[7]。关于 MG 的检测目前并没有统一标准, 但多数文献报道核酸扩增技术对 MG 的检测有 95% 以上的敏感性与准确率^[8]。现利用实时荧光核酸恒温扩增检测 (simultaneous amplification and testing, SAT) 技术与计算机辅助精液分析 (computer assisted sperm analysis, CASA) 系统对来院生殖医学中心就诊的男性不育患者精液标本进行 MG 检测及精液质量分析, 探讨育龄不育男性生殖支原体感染情况及其对精液质量的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象与分组 不育研究对象均为 2015 年 3 ~ 7 月南京军区南京总医院生殖医学中心门诊就

诊患者。纳入条件: 婚后 1 年以上, 夫妇同居, 有规律性生活而未采取任何避孕措施, 排除女方因素而未孕, 年龄 24 ~ 50 岁。排除条件: 所有研究对象排除可能影响精液质量的其他疾病如精索静脉曲张、先天性性腺发育不良、附睾结核、糖尿病等。近期无严重急性疾病, 无生殖毒性物质接触史, 无外伤及遗传性疾病家族史, 体检无明显的睾丸、附睾及输精管异常, 经专科医生临床诊断为男性不育的患者, 愿意接受调查并提供精液标本 (签署知情同意书)。该实验所有实验过程均通过了南京军区南京总医院伦理委员会批准。考虑到其他生殖道感染可能对精子质量的影响, 精液质量比较时排除有解脲支原体 (UU)、人型支原体 (MH)、沙眼衣原体 (CT) 感染的患者 (与 MG 一同检测, 数据未发表)。

1.2 样本的采集 受检者禁欲 3 ~ 5 d 用新洁尔灭棉球消毒双手、阴茎头及尿道口, 阴茎头和尿道口再用含有生理盐水的棉球擦拭一遍, 随后手淫法采集精液, 嘱患者将精液全部射入清洁无菌无毒一次性广口容器中, 置于 37 °C 温箱内孵育液化。MG 病原体检测样标本的收集: 精液液化后, 用移液器吸取精液 100 μl 到标本保存管, 震荡混匀, -20 °C 保存待检。

1.3 试剂和材料 精液分析所需的主要实验室检测设备包括国产 WLJY-9000 伟力彩色精子质量检测系统软件、37 °C 温箱等。主要试剂: 精子稀释液、改良的巴氏染色系列试剂、伊红染液等。体格检查: 标准睾丸体

积测量模型等。MG 检测: 实时荧光核酸扩增检测仪、样本 RNA 核酸保存液及提取液、RNA 恒温扩增核酸检测试剂盒(均由上海仁度生物科技有限公司提供)。

1.4 计算机辅助精液分析 采用国产 WLJY-9000 伟力彩色精子质量检测系统进行精液分析, 诊断标准按 WHO 第五版精液分析正常标准, 对精子总数、精子浓度、总活力、前向运动精子(percentage of progressively motile sperm, PR) 百分率等进行分析。精子 DNA 碎片指数(DNA fragmentation index, DFI) 检测按文献方法^[9]: 使用吖啶橙(AO) 染色, 流式细胞仪测 DFI。

1.5 样本病原体检测 采用 SAT 技术对不育患者的精液样本进行检测, 具体操作方法参照试剂盒说明^[10]。简单介绍: 设置阳性和阴性对照, 取 400 μl 加有样本保存液的精液样本和 100 μl 核酸提取液混匀, 60 °C 恒温 5 min, 室温静置 10 min, 再于磁珠分离器上静置 5 min, 弃液体, 加入洗涤液洗涤 2 次, 保留与磁珠结合的 RNA, 加入 40 μl 核酸反应液。取其中 30 μl 转移到 PCR 反应管中, 60 °C 10 min, 42 °C 5 min, 加入 42 °C 预热的 SAT 酶, 42 °C 实时恒温扩增 40 min。同时扩增产生的 RNA 拷贝与优化的探针特异结合产生荧光信号, 由荧光检测仪捕获荧光信号进行分析。

1.6 统计学分析 用 SPSS 20.0 软件包统计分析数据, 比较 MG 阳性与 MG 阴性两组患者间的精液参数等的差别。计数资料(年龄、不育时间、精液 pH 值、精液量、精子浓度、精子总活率、DFI、精子总数、PR、IM) 用 $\bar{x} \pm s$ 表示。所有的数据在分析之前均做正态性检验, 发现患者年龄、不育时间、精液 pH 值、精子浓度与精子总数均服从正态分布且具方差齐性, 选用 *t* 检验方法。而精液量、精子总活率、DFI、PR、IM 均不服从正态分布, 选用非参数检验

(Wilcoxon 检验) 方法。P ≤ 0.05 为有统计学差异。

2 结果

2.1 男性不育患者精液标本中 MG 的感染情况 根据纳入与排除标准, 筛选出 352 例男性不育门诊患者, 利用 SAT 技术及 RNA 检测试剂盒检测出 12 例精液 MG 阳性样本, MG 感染阳性率为 3.4% (12/352)。精液 MG 阴性组与 MG 阳性组患者的平均年龄 (30.53 ± 0.27 vs 31.83 ± 1.83) 岁, 平均不育时间 (2.97 ± 0.13 vs 2.55 ± 0.39) 年, 差异无统计学意义(表 1)。

2.2 MG 感染与精液基本参数比较 影响精液质量的因素有很多, 根据纳入与排除标准(排除 UU、MH、CT 感染患者), 最终筛选出符合要求的 166 例 MG 阴性不育患者和 12 例 MG 阳性的患者, 分析全部 178 例患者的精液参数, 比较 MG 阳性与 MG 阴性不育患者间精液分析结果发现, MG 阴性患者在精液量 [(3.84 ± 0.12) ml vs (2.85 ± 0.14) ml, P = 0.008], PR [(23.57 ± 0.99) % vs (15.86 ± 1.72) %, P = 0.032] 均要显著高于 MG 阳性患者, DFI [(20.71 ± 1.55) % vs (30.73 ± 2.24) %, P = 0.014] 则显著低于 MG 阳性患者。两组患者的精液 pH 值均在正常范围内, 而精子浓度、精子总数、精子总活率、IM 虽然在两组间均无统计学差异。见表 2。

表 1 不育患者年龄、不育时间以及 MG 的感染情况
Table 1. Age, infertility duration, and *Mycoplasma genitalium* (MG) infection in the infertile males

	Age (yr)	Infertility duration (yr)	MG infection
MG +	31.83 ± 1.83	2.55 ± 0.39	3.4% (12/352)
MG -	30.53 ± 0.27	2.97 ± 0.13	96.6% (340/352)

表 2 178 例 MG 阳性与 MG 阴性不育患者精液参数
Table 2. Semen parameters of the 178 *Mycoplasma genitalium* (MG) -positive or -negative infertile males

Variable	MG-positive (n = 12)	MG-negative (n = 166)	P
pH	7.38 ± 0.02	7.39 ± 0.01	0.774 [#]
Semen volume (ml)	2.85 ± 0.14	3.84 ± 0.12	0.008 [*]
Sperm concentration (×10 ⁶ /ml)	52.96 ± 15.78	60.05 ± 4.29	0.683 [#]
Total sperm motility (%)	29.04 ± 3.11	33.52 ± 1.51	0.626 [*]
Sperm DNA fragmentation index (%)	30.73 ± 2.24	20.71 ± 1.55	0.014 [*]
Sperm count (×10 ⁶)	154.15 ± 46.37	221.56 ± 15.43	0.236 [#]
Progressively motile sperm (%)	15.86 ± 1.72	23.57 ± 0.99	0.032 [*]
Immotile sperm (%)	60.95 ± 5.63	62.34 ± 1.69	0.691 [*]

#: 所用统计方法为 *t* 检验(*t*-test); *: 所用统计方法为非参数检验(Wilcoxon test)
#: Results of the *t*-test; *: results of the Wilcoxon test.

3 讨论

MG 于 1981 年首次被分离于 NGU 患者,但直到 PCR 技术的出现,才证明 MG 可引起 NGU^[1]。Martin 等^[11]认为近 15 年以来有关 NGU 病因学最大的进展就是确定 MG 在该病中所起的重要作用,在所有引起 NGU 的病因中, MG 仅次于沙眼衣原体为 15% ~ 25%。大量的研究证明 MG 是一种正在浮现的感染性传播疾病^[12-13],国外流行病学调查发现有些地方 MG 感染比 CT 更加流行^[8],但在国内,由于检测技术的限制, MG 一直处于被忽视的状态。据估计大约有 15% 的不育是由生殖道感染导致的^[14-15]。迄今为止,泌尿生殖道 MG 感染是否会导致男性不育或对精液参数的影响一直存在争议^[7],而且相关的研究也较少^[2,16]。本研究的目的是调查 MG 感染在不育患者中的流行情况,并比较感染阳性与阴性患者间的精液参数等指标间的差别。

核酸扩增检测(Nucleic Acid Amplification Test, NAAT) 技术有超过 95% 的敏感性和准确率,是目前 MG 研究普遍采用的方法,也是目前 WHO 推荐唯一可行的检测方法^[5,8,17]。本研究的对象为无泌尿生殖道感染症状的不育患者精液标本,可能携带的病菌数量较少,高敏感度与准确率的核酸扩增检测应该是最好的选择^[7]。本实验采用以实时荧光和 RNA 恒温扩增检测技术为基础的第二代核酸检测技术 SAT 检测灵敏度高、特异性强、准确而快速^[18]。SAT 检测 MG-RNA 片段,而 RNA 在环境中极不稳定,在病菌死后很短时间即降解,而 SAT 检测配备的 RNA 保存液,可有效防止 RNA 片段的降解,所以 SAT 检测相当于检测存活状态的 MG,可用于临床用药后的疗效观察及判愈^[19-20]。张颖等^[21]推荐用 SAT 方法对可疑病例进行 MG 的筛查,甚至大规模的临床筛查^[10]。

MG 的感染在不同地域不同人群中有很大的差别,国外研究 MG 在正常人群的感染率是 1% ~ 3%,在不育的男性中为 2% ~ 5%,在性病门诊高危人群为 2% ~ 33%,NGU 患者 MG 的感染率可达 13% ~ 42%^[22]。MG 的研究在国内较少,Zheng 等^[23]针对广西贺州性病门诊疑似有泌尿系统感染症状或有性传播疾病危险因素的人群首段尿标本进行 MG-DNA PCR 检测,发现感染率高达 28.6% (116/406),呼吁国家相关监督项目与临床医生重视这一病原体。我们的研究发现 MG 感染在男性不育患者中的感染率为 3.4% (12/352),与 Sellami 等^[7] (3.5%, 3/85)、Al-Sweih 等^[14] (3.2%, 4/127)、Gdoura 等^[2] (4.8%, 5/104)、Gdoura 等^[16] (5%, 6/120) 所报告的感染率相近,但是

与 Plecko 等^[22] (1.3%, 2/145)、Kjaergaard 等^[24] (0.9%) 报道结果相差较大。这些差别可能是由于所使用的检测方法、所选择的检测标本不同,也可能是 MG 感染的地区流行性差异所致。

对比两组患者的精液参数与 WHO 第 5 版精液分析正常标准参考值,发现两组患者的精液 pH 值 (≥ 7.2)、精液量 (> 1.5 ml)、精子浓度 ($> 15 \times 10^6$ /ml)、精子总数 ($> 39 \times 10^6$ 个/1 次射精) 均在正常范围内,PR 均低于 WHO 第 5 版精液分析正常标准参考值下限,而 IM 则偏高。精子活力是衡量精液质量和男性生育力的重要指标之一,以上数据可见本研究对象大部分为弱精子症不育患者,弱精子症在不育男性中约占 19% 是男性不育的常见病因^[25]。

本研究比较了 166 例 MG 感染阴性和 12 例 MG 感染阳性不育患者间的精液参数,发现 MG 感染阳性患者精液量 ($P=0.008$)、PR ($P=0.032$) 均比 MG 阴性患者要低,而 DFI ($P=0.014$) 则显著高于阴性对照组。精子浓度、精子总数、精子总活率、IM 虽然在两组间均无统计学差异,但以上指标在 MG 阴性不育患者均要略好于 MG 感染阳性不育患者。说明 MG 感染可影响精液质量,尤其是精子活力。Svenstrup^[26] 研究发现 MG 可以吸附在精子的头、体、尾各段,直接影响精子活力,当精子上吸附较多 MG 后则失去运动能力,随后大量精子粘集在一起,但是少量携带 MG 的精子仍然可以运动,尤其当 MG 吸附在精子体部和颈部的时候。检测中同时发现精子膜表面大量抗精子抗体存在,这种乳胶粒是 MG 的 8 倍大,暗示 MG 引起精子运动能力下降不仅仅是由于直接的机械损伤,更是包含抗原抗体反应在内的更广泛的生物学机制的综合作用。

目前评估男性生育力主要是常规精液分析,包括精液量、PH 值、精子浓度、活力、形态。但是大约 15% 的男性不育患者的常规精液分析结果是正常的,准确的诊断就不能简单依靠常规精液分析了,精子 DNA 损伤就是一个新的衡量指标^[27]。据报道成熟精子可表达不同程度的损伤凋亡相关标志^[28-29]。因为精子 DFI 对受精和妊娠结局有重要影响,Reichart 等^[30]与 Gallegos 等^[31]建议把其作为常规不育检查项目,所以精子 DNA 损伤被认为是一个新的评价精液质量和预测生育能力的指标^[32]。Gallegos 等^[31]在 2008 年评估过精子 DNA 完整性发现 CT 与 MG 感染者有更多的精子 DNA 碎片。Reichart 等^[30]也发现 UU 感染也可导致精子 DNA 碎片增多。与此一致的是,本研究发现 MG 感染不育患者比无感染不育患者其 DFI ($P=0.014$) 显著上升,该

发现也是首次报道,这也可能是MG导致精子活力下降或者男性不育的一个原因。

本实验的优点:对数据做了正态性检验和方差齐性检验,对满足不同条件的数据分别采用了 t 检验(t -tests)与非参数检验(Wilcoxon test)方法;MG的检测我们采用了第二代核酸检测技术SAT,保证了检测结果的准确性。本实验的不足:缺少正常生育对照组,所以我们仅比较了不育患者中的感染与非感染患者的各项参数;MG感染时间的长短、感染迁延的部位、器官等对精子质量是否也有影响以及影响的大小等均未考虑到,MG对男性感染患者精液质量的具体影响机制还不清楚,需要更多更深入的研究。

目前,由于国家开放的二胎生育政策,生育人群将增多,而潜在的不育男性群体也将大量出现,因此研究MG感染对男性精液质量的影响,并提出相应的预防策略具有重要意义。同时,我们的研究发现男性不育患者泌尿生殖道MG感染患者并不在少数,应引起重视。本研究在不育患者中比较了MG阳性与阴性患者间精液参数的差别,发现除了精液量、PR和DFI有统计学差异外,其余精液参数均无差异。同时也证实了SAT技术是一种快速、准确、有效的MG检测方法,其对泌尿生殖道等感染的病因学与流行病学检测都将有非常广泛的应用。

参考文献

- [1] Tully JG, Taylor-Robinson D, Cole RM, et al. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract. *Lancet*, 1981, 1 (8233): 1288-1291.
- [2] Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, et al. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. *BMC Infect Dis*, 2007, 7: 129.
- [3] Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: From chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev*, 2011, 24 (3): 498-514.
- [4] 蒋法兴, 其木格, 苏晓红. 生殖支原体感染的研究进展. *中国皮肤性病学杂志*, 2010, 24(9): 859-861.
- [5] Napierala Mavedzenge S, Weiss HA. Association of *mycoplasma genitalium* and HIV infection: A systematic review and meta-analysis. *AIDS*, 2009, 23(5): 611-620.
- [6] Mandar R, Raukas E, Turk S, et al. Mycoplasmas in semen of chronic prostatitis patients. *Scand J Urol Nephrol*, 2005, 39 (6): 479-482.
- [7] Sellami H, Znazen A, Sellami A, et al. Molecular detection of *Chlamydia trachomatis* and other sexually transmitted bacteria in semen of male partners of infertile couples in Tunisia: The effect on semen parameters and spermatozoa apoptosis markers. *PLoS One*, 2014, 9(7): e98903.
- [8] Weinstein SA, Stiles BG. A review of the epidemiology, diagnosis and evidence-based management of *mycoplasma genitalium*. *Sex Health*, 2011, 8(2): 143-158.
- [9] 商学军, 莫敦胜, 詹绪新, 等. 左卡尼汀在男性不育患者精子DNA损伤中的保护作用. *第三军医大学学报*, 2015, 37 (15): 1508-1512.
- [10] 陈婷婷, 钱煦岱, 包文婷, 等. SAT技术检测解脲脲原体 and 沙眼衣原体核酸在泌尿生殖道感染中的应用. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(14): 2357-2359.
- [11] Martin DH. Nongonococcal urethritis: New views through the prism of modern molecular microbiology. *Curr Infect Dis Rep*, 2008, 10(2): 128-132.
- [12] Munoz JL, Goje OJ. *Mycoplasma genitalium*: An emerging sexually transmitted infection. *Scientifica (Cairo)*, 2016, 2016: 7537318.
- [13] Manhart LE, Holmes KK, Hughes JP, et al. *Mycoplasma genitalium* among young adults in the United States: An emerging sexually transmitted infection. *Am J Public Health*, 2007, 97 (6): 1118-1125.
- [14] Al-Sweih NA, Al-Fadli AH, Omu AE, et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *mycoplasma genitalium*, and *Ureaplasma urealyticum* Infections and Seminal Quality in Infertile and Fertile Men in Kuwait. *J Androl*, 2012, 33(6): 1323-1329.
- [15] Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, et al. Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update*, 1998, 4(6): 891-903.
- [16] Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L, et al. Assessment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, and *mycoplasma genitalium* in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of infertile couples. *J Androl*, 2008, 29(2): 198-206.
- [17] Organization WHO. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. Switzerland: Geneva, 2013, 15-18.
- [18] 郑雅萍, 陈伟, 应华永. 三种不同检测方法在女性淋病患者中的应用价值. *中国乡村医药杂志*, 2015, 22(9): 65-66.
- [19] 顾伟鸣, 杨阳, 吴磊, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染. *临床检验杂志*, 2010, 28 (4): 271-272.
- [20] 张萍萍, 龚匡隆, 尤永燕, 等. 实时荧光核酸恒温扩增法检测泌尿生殖道淋球菌感染. *国际皮肤性病学期刊*, 2010, 36 (3): 137-139.
- [21] 张颖, 赵琼珍, 李彦奇, 等. 不孕不育人群生殖支原体感染情况研究及疗效评估. *新疆医学*, 2015, 45(12): 1771-1773.
- [22] Plecko V, Zele-Starcevic L, Tripkovic V, et al. Unusually low prevalence of *mycoplasma genitalium* in urine samples from infertile men and healthy controls: A prevalence study. *BMJ Open*, 2014, 4(8): e005372.
- [23] Zheng BJ, Yin YP, Xiang Z, et al. An epidemiological study of *mycoplasma genitalium* infections among males attending a sexually transmitted disease clinic in Guangxi, China. *Jpn J Infect Dis*, 2014, 67(1): 17-21.
- [24] Kjaergaard N, Kristensen B, Hansen ES, et al. Microbiology of semen specimens from males attending a fertility clinic. *APMIS*, 1997, 105(7): 566-570.
- [25] Curi SM, Ariagno JI, Chenlo PH, et al. Asthenozoospermia: Analysis of a large population. *Arch Androl*, 2003, 49(5): 343-349.
- [26] Svenstrup HF, Fedder J, Abraham-Peskir J, et al. *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa. *Hum Reprod*, 2003, 18(10): 2103-2109.
- [27] Schulte RT, Ohl DA, Sigman M, et al. Sperm DNA damage in male infertility: Etiologies, assays, and outcomes. *J Assist Reprod Genet*, 2010, 27(1): 3-12.
- [28] Sakkas D, Mariethoz E, St John JC. Abnormal sperm parameters in humans are indicative of an abortive apoptotic mechanism linked to the Fas-mediated pathway. *Exp Cell Res*, 1999, 251 (2): 350-355.
- [29] Shen HM, Dai J, Chia SE, et al. Detection of apoptotic alterations in sperm in subfertile patients and their correlations with sperm quality. *Hum Reprod*, 2002, 17(5): 1266-1273.
- [30] Reichart M, Kahane I, Bartoov B. In vivo and in vitro impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted *Ureaplasma urealyticum* infection. *Biol Reprod*, 2000, 63(4): 1041-1048.
- [31] Gallegos G, Ramos B, Santiso R, et al. Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma*. *Fertil Steril*, 2008, 90(2): 328-334.
- [32] Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, et al. High-magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *Reprod Biomed Online*, 2006, 12(1): 19-25.

(收稿日期: 2016-11-03; 接受日期: 2017-01-16)

(本文编辑: 吴隽)