

DENV-NS1 抗原检测,然后保存于低温冰箱,而本次核酸检测则为本起疫情结束后才进行。此期间这些标本历经室温放置、冻存、复检和运输等过程,以致有的标本未能始终处于超低温保存状态或被多次冻融,可能导致病毒RNA降解而影响检测效果。因此,标本的有效保存和及时检测非常重要。

### 参 考 文 献

- [1] Bureau of International Cooperation, Department of Health of China, Department of Health of Yunnan Province, and Yunnan Provincial Institute for Parasitic Diseases. Manual for Dengue Fever Control in Yunnan Border Areas [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2011: 1-81. (in Chinese)  
中国卫生部国际合作司,云南省卫生厅,云南省寄生虫病防治所. 云南边境登革热防治手册[M]. 昆明:云南科技出版社, 2011: 1-81.
- [2] Zhang HL, Fu SH, Deng Z, et al. An outbreak of imported dengue fever from Myanmar to the border of China, with its viral molecular epidemiological features [J]. Chin J Epidemiol, 2013,

34(5): 428-432. (in Chinese)

张海林,付士红,邓掌,等. 云南中缅边境一起输入性登革热暴发的分子流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(5): 428-432.

- [3] Zhang HL, Shi HF, Mi ZQ, et al. The character of mosquitoes distribution and relation with the arbovirus in Xishuangbanna prefecture, Yunnan province [J]. Endemic Dis Bull, 2000, 15(4): 35-38. (in Chinese)  
张海林,施华芳,米竹青,等. 云南省西双版纳州蚊虫分布特点及与虫媒病毒的关系[J]. 地方病通报, 2000, 15(4): 35-38.
- [4] Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever [J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(3): 480-496.
- [5] Thu HM, Lowry K, Myint TT, et al. Myanmar dengue outbreak associated with displacement of serotypes 2, 3, and 4 by dengue 1 [J]. Emerg Inf Dis, 2004, 10(4): 593-597.

(收稿日期: 2014-07-11)

(本文编辑: 万玉立)

## 血清HBV-DNA水平与精液参数及体外受精-胚胎移植结局的相关性分析

杨旭 李庆兴 林佳 张李雅 黄学锋 郑九嘉

**【关键词】** 乙型肝炎病毒; 精液参数; 体外受精-胚胎移植  
**Association between serum HBV-DNA with sperm parameters and out-comes of in vitro fertilization pre-embryo transfer** Yang Xu, Li Qingxing, Lin Jia, Zhang Liya, Huang Xuefeng, Zheng Jiujia. Reproductive Medicine Center, the First Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Corresponding author: Zheng Jiujia, Email: zhengjiujia@126.com

This work was supported by a grant from the Wenzhou Science and Technology Cooperation Program (No. Y20140025).

**【Key words】** Hepatitis B virus; Semen parameter; In vitro fertilization pre-embryo transfer

HBV可以通过血睾屏障进入睾丸组织和精液中,可能影响精液质量,降低男性生育能力<sup>[1]</sup>。近年来,接受辅助生殖技术(ART)治疗的夫妻中HBV感染及高HBV-DNA载量者并不少见,男方慢性HBV感染且血清HBV-DNA拷贝数 $> 5.0 \times 10^2$  IU/ml的患者接受ART治疗后是否对体外受精-胚

胎移植(IVF-ET)结局有影响还不清楚。本研究对男性HBV-DNA阳性(其配偶完全排除HBV感染的可能)和阴性对照行IVF-ET治疗的夫妻进行比较,旨在探讨男方HBV-DNA高拷贝数对IVF-ET治疗结局可能的影响。

### 1. 对象与方法:

(1)研究对象:收集2012年1—12月在温州医科大学附属第一医院生殖医学中心就诊,接受IVF-ET治疗的182对不育夫妇,女方排除无影响卵子质量的生殖系统疾病,年龄 $< 35$ 周岁。

(2)研究方法:采用美国CASA精子分析系统检测精子活动力,包括前向运动精子(a+b级)、原地活动精子(c级)和静止精子(d级);采用荧光定量PCR法测定血清HBV-DNA拷贝数、精子染色质扩散(SCD)实验检测精子DNA损伤。

(3)统计学分析:应用SPSS 16.0软件进行数据分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2. 结果:

(1)样本特征:182对不育夫妇中,84对为HBV-DNA阳性,98对为HBV-DNA阴性。血清HBV-DNA阳性组精子浓度、活动精子(a+b+c,%)百分率、正常形态精子数和d级精子数与阴性组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而精液量、液化时间及pH值在两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

(2)血清HBV-DNA拷贝对精子DNA碎片指数(DFI)的

表1 HBV-DNA拷贝阳性组与阴性组精液常规参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	液化时间 (min)	精液量 (ml)	pH值	精子浓度 (10 <sup>6</sup> /ml)	精子总数 (10 <sup>6</sup> /ml)	精子形态		
							a+b+c(%)	d(%)	正常(%)
阴性	98	22.7±0.8	2.47±0.1	7.23±0.1	85.6±6.6 <sup>a</sup>	187.4±13.2	65.6±1.6 <sup>a</sup>	33.60±1.6 <sup>a</sup>	4.99±0.4 <sup>a</sup>
阳性	84	22.8±1.2	2.73±0.1	7.28±0.1	67.0±6.6	160.0±14.0	60.1±2.0	38.73±1.9	3.92±0.3

注:<sup>a</sup>两组比较,  $P < 0.05$

影响:比较发现,阳性的DFI为(17.30±0.96)%,阴性组为(13.50±0.75)%,两组间DFI差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

(3)血清HBV-DNA拷贝与IVF-ET治疗中胚胎发育质量比较:阳性组D2-优质胚胎率(52.5%)与阴性组(68.0%)比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),受精率、卵裂率、D3-和D5-优质胚胎率、D5-和D6-囊胚形成率及总囊胚形成率在两组间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表2。

3. 讨论:临床上接受IVF-ET治疗的患者中,HBV携带者或血清HBV-DNA拷贝阳性的患者比较常见,同时在众多的HBV感染者中,有很大一部分正处在婚育年龄。本研究对84例HBV-DNA阳性者和98例阴性者研究发现,HBV-DNA阳性者的精子浓度、活动精子总数(a+b+c,%)及正常形态精子数均低于阴性者,d级精子和精子DFI高于阴性组;而精液量、液化时间、pH值及精子总数在两组间的差异无统计学意义。有研究表明<sup>[2]</sup>,HBV可穿过血睾屏障进入睾丸,并在病毒DNA复制的同时会有一定数量的HBV-DNA整合到精子染色体中,引起精子遗传物质的不稳定从而影响精子质量;同时,HBV感染后,诱发机体免疫应答;同时在感染组织产生局部的炎症反应及免疫反应,改变或破坏正常的免疫系统,导致相关功能的破坏。因此,当血清中HBV-DNA大量复制时精子参数及精子DNA都会受到一定程度的损伤。

本研究显示,除D2-优质胚胎率HBV-DNA拷贝阳性组显著低于阴性组外,受精率、卵裂率、优质胚胎率、囊胚形成率及妊娠结局在两组间差异无统计学意义。推测可能原因<sup>[3,4]</sup>:精液和卵泡液中虽然存在HBV-DNA,但其含量远低于血清,且在行IVF-ET治疗时所有精子在体外受精前均经过严格的密度梯度离心分离洗涤和上游筛选处理,这些均有助于降低病毒含量;即使有HBV-DNA整合到精子和胚胎染色体上,造成染色体畸变和基因突变,但卵子和胚胎存在自我修复机制,可进行一定程度的自我修复;HBV-DNA一般只能整合于HBV携带者部分的配子和胚胎,即使这种整合影响了胚胎发育质量,但在进行新鲜周期移植时通常选择最好的胚胎,这也减少了被感染或整合有HBV-DNA的胚胎植入宫腔的可能;虽然本研究及前期研究均发现<sup>[5]</sup>,HBsAg和血清HBV-DNA  $> 5.0 \times 10^2$  IU/ml阳性者的精子参数和质量均显著低于正常者,但是两组精液各参数指标却都在正常范围内,这可能也是血清HBV-DNA高载量对胚胎发育质量无影响的原因之一。这些推测可能都是血清HBV-DNA对胚胎发育不造成影响的原因。

本研究还显示,男性血清HBV-DNA阳性时对精子参数及精子DFI均会造成一定程度的损伤,但对行IVF-ET治疗时不影响胚胎发育;但本研究样本量有限,有必要扩大样本量进行研究。

[本研究得到温州市科技局资助(Y20140025)]

表2 HBV-DNA拷贝对胚胎发育质量的影响

组别 (HBV-DNA)	例数	受精		卵裂		D2-优质胚胎		D3-优质胚胎		D5-囊胚形成		D5-优质胚胎		D6-囊胚形成		D6-优质胚胎		总囊胚形成	
		个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)	个数	百分率(%)
阳性	84	595	69.8	570	95.8	299	52.5 <sup>a</sup>	231	40.5	106	25.4	8	1.92	74	17.7	0	0	180	43.2
阴性	98	630	70.4	607	96.3	413	68.0	223	36.7	117	28.3	15	3.63	65	15.7	0	0	182	44.1

注:<sup>a</sup>两组比较,  $P < 0.01$

参 考 文 献

[1] Qian WP, Tan YQ, Chen Y, et al. Rapid quantification of semen hepatitis B virus DNA by real-time polymerase chain reaction [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(34): 5385-5389.

[2] Huang JM, Huang TH, Qiu HY, et al. The effect of hepatitis B virus on human sperm cheomosome [J]. Carcinogenesis Teratogenesis Mutagenesis, 1999, 11(2): 72-74. (in Chinese) 黄建民, 黄天华, 邱焕英. 乙型肝炎病毒对精子染色体的影响 [J]. 癌变·畸变·突变, 1999, 11(2): 72-74.

[3] Ye F, Yue Y, Li S, et al. Presence of HBsAg, HBeAg, and HBV-DNA in ovary and ovum of the patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Am J Obstet Gynecol, 2006, 194(2): 387-392.

[4] Zhang CJ, Yang JN, Wang H, et al. Integration of hepatitis B virus DNA in hunman embryo blastomere [J]. J Shanxi Med University, 2008, 39(12): 1068-1071. (in Chinese) 张昌军, 杨敬宁, 王华, 等. 乙型肝炎病毒DNA在胚胎卵裂球细胞中的整合 [J]. 山西医科大学学报, 2008, 39(12): 1068-1071.

[5] Zheng JJ, Wang PY, Li QX, et al. Impact of hepatitis B virus infection on semen parameters and sperm function [J]. Chin J Infect Dis, 2013, 31(9): 543-547. (in Chinese) 郑九嘉, 王佩玉, 李庆兴, 等. 乙型肝炎病毒感染对精液参数及精子相关功能的影响 [J]. 中华传染病杂志, 2013, 31(9): 543-547.

(收稿日期:2014-05-11)  
(本文编辑:万玉立)