

**EXPERTISE EN DIENSTVERLENING
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF GLOBAAL JAARRAPPORT

**Andrologie
2020**

Sciensano/Andrologie/75-NL

Expertise en dienstverlening
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

AD HOC EXPERTENCOMITE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Sandra Wathlet	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.50.91	e-mail: Sandra.Wathlet@sciensano.be	
Bernard China	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.53.58	e-mail: Bernard.China@sciensano.be	
Experten/	Instelling				
Ilse Goovaerts	UZA				
Kelly Tilleman	UZ Gent				
Anne Vansteenbrugge	CHIREC Delta				
Greta Verheyen	UZ Brussel				
Christine Wyns	Cliniques universitaires St-Luc, Université Catholique de Louvain				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experts op: 15/02/2021

De experts hebben de mogelijkheid gekregen om hun opmerkingen via email door te sturen voor publicatie van het rapport.

Autorisatie verspreiding rapport: Door Sandra Wathlet, enquêtecoördinator, op 02/03/2021.

Handtekening van de enquêtecoördinator.

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/nl/rapports_annee.htm

INHOUDSTAFEL

1. DEELNAME	4
2. KWALITEIT VAN DE STALEN	4
2.1. HOMOGENITEIT.....	4
2.2. STABILITEIT	4
2.3. VEILIGHEID.....	4
2.4. AGGREGATIEGRAAD.....	4
3. TELLING	5
3.1. GEBRUIKTE TELKAMERS.....	5
3.2. POSITIVE DISPLACEMENT PIPETTE	6
3.3. EVALUATIE	6
3.4. EVALUATIE PER LABORATORIUM.....	7
4. MORFOLOGIE	7
4.1. KLEURINGEN.....	7
4.2. CRITERIA	7
4.3. CUT OFF	7
4.4. EVALUATIE	8
4.5. KLINISCHE INTERPRETATIE	9
5. MOTILITEIT	9
6. VITALITEIT	10
7. BESLUIT	10

1. Deelname

In 2020 werden 3 enquêtes georganiseerd voor de bepaling van de kwaliteit van spermastalen. In de enquêtes 2020-1, 2020-2 en 2020-3 hebben de deelnemers telkens twee suspensies ontvangen voor de bepaling van de zaadcelconcentratie en twee glaasjes voor de bepaling van de morfologie. Hiernaast hebben de deelnemers voor enquête 2020-2 een gekleurd glaasje ontvangen voor de bepaling van de vitaliteit en voor enquête 2020-3 twee video-opnames voor de bepaling van de motiliteit.

Tabel 1. Percentage deelname

Enquête	Parameter	Inschrijvingen	Antwoorden	%
2020-1	Telling	126	122	96.8
	Morfologie	104	99	95.2
2020-2	Telling	124	122	98.4
	Morfologie	100	99	99.0
	Vitaliteit	84	81	96.4
2020-3	Telling	126	122	96.8
	Morfologie	101	98	97.0
	Motiliteit	119	109	91.6
Totaal		884	852	96.4

Het antwoord percentage was voor 2020 (96.4%), gelijk aan dat van 2019 (96.4%), maar hoger dan 2018 (90.3%) waar er voor één rondzending problemen waren met B-post.

2. Kwaliteit van de stalen

2.1. Homogeniteit

Voor elke enquête werd de homogeniteit bepaald volgens de methode van Coucke et al. 2019. Alle stalen werden als homogeen beschouwd.

2.2. Stabiliteit

Een validatiedossier werd opgesteld op basis van de resultaten van de voorbije jaren voor de telling en de morfologie. Hierin werd nagegaan of het interval tussen het versturen van de stalen en het moment van analyse een impact had op het resultaat. Een regressieanalyse heeft aangetoond dat de medianen van de antwoorden identiek waren ongeacht de dag van analyse. De stalen werden dus als stabiel beschouwd tijdens de 15 dagen antwoordtijd.

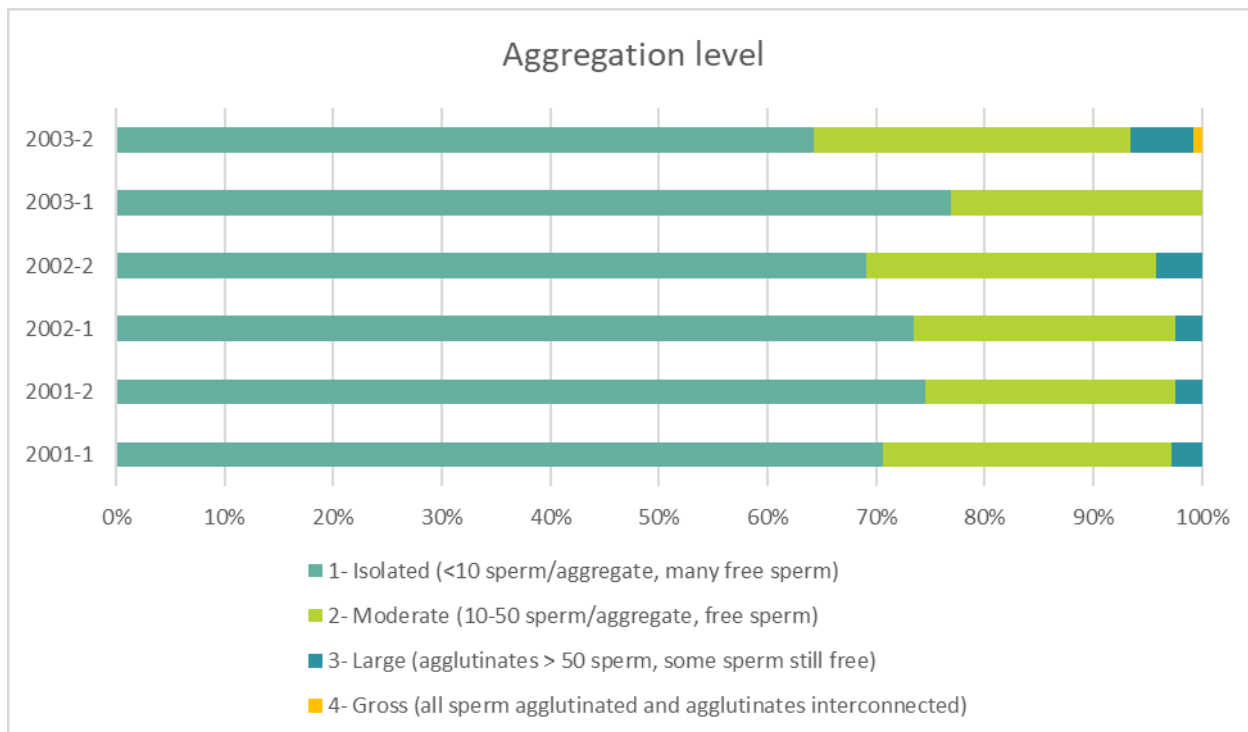
Voor de vitaliteit werden analyses uitgevoerd voor en na de enquête op dezelfde glaasjes om de stabiliteit te bepalen. De staaltjes werden als stabiel beschouwd na statistische analyse.

2.3. Veiligheid

De donoren werden getest op HCV, HBV en HIV. De resultaten waren negatief.

2.4. Aggregatiegraad

Voor de telling van de zaadcellen werd aan de deelnemers gevraagd om de aggregatiegraad te evalueren. Vier niveaus zijn mogelijk, nl. van 1 t.e.m. 4 met stijgend percentage aggregatie (figuur 1).



Figuur 1 : Aggregatiegraad in de stalen voor de telling

In de meeste stalen waren er weinig aggregaten aanwezig. Op basis van de evaluatie van de deelnemers werd een ANOVA analyse uitgevoerd om na te gaan dat de aggregatiegraad de telling niet beïnvloedt. Er werd geen invloed van de aggregatiegraad gevonden op de telling.

3. Telling

De eerste parameter die bestudeerd werd, is de telling van de zaadcellen. De laboratoria gebruiken verschillende telkamers om deze analyse uit te voeren (zie tabel 2).

3.1. Gebruikte telkamers

De "improved Neubauer" telkamer is de aanbevolen telkamer door WHO 2010 en werd tevens het meest gebruikt door de deelnemers (zie tabel 2)

Tabel 2. Gebruikte telkamers in functie van de enquête

Telkamer	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Improved Neubauer	74	60.7	74	60.7	82	67.2
Disposable	22	18.0	22	18.0	19	15.6
Bürker	7	5.7	5	4.1	5	4.1
Makler	6	4.9	6	4.9	5	4.1
Not defined	4	3.3	5	4.1	1	0.8
Fuch-Rosenthal	3	2.5	4	3.3	4	3.3
Thoma	3	2.5	3	2.5	3	2.5
SQA	2	1.6	2	1.6	2	1.6
Microscope slide, coverslip and a fixed volume of semen	1	0.8	1	0.8	1	0.8
Totaal	122		122		122	

Het percentage laboratoria (62.8%) dat aangeeft een Improved Neubauer telkamer te gebruiken was vergelijkbaar met 2019 (63.5%).

3.2. Positive displacement pipette

De richtlijnen van de WHO2010 raden aan om een “positive displacement pipette” te gebruiken om de suspensie voor concentratiebepaling te pipetteren. Tabel 3 toont aan dat 73 tot 78% van de deelnemers dit type pipet gebruiken. Dit was in dezelfde lijn als in 2019 waar 72 tot 79% van de deelnemers een “positive displacement pipette” gebruikten.

Tabel 3. Gebruik van een positive displacement pipette in functie van de enquête

Positive displacement pipette	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	%	N	%	N	%
Ja	89	73.0	92	75.4	95	77.9
Neen	33	27.0	30	24.6	27	22.1
Totaal	122		122		122	

3.3. Evaluatie

Als targetwaarde wordt de mediaan van de gebruikers van de referentiemethode beschouwd. De referentiemethode is de “Improved Neubauer” telkamer in combinatie met het gebruik van een “positive displacement pipette”. Op basis van deze targetwaarde en voor elk staal wordt een Z-score berekend.

$$Z\text{-score} = \frac{|R-M|}{SD}$$

R= te evalueren resultaat

M= mediaan van de referentiemethode

SD= standaarddeviatie van de referentiemethode

Een laboratorium wordt geciteerd (Z-citatie) indien zijn absolute Z-score groter dan of gelijk aan 3 is, wat wil zeggen dat het resultaat meer dan 3SD afwijkt van de targetwaarde.

In 2020 werden 732 resultaten voor de telling geëvalueerd en 44 (6.01 %) weken af (absolute Z-score ≥ 3) (zie tabel 4).

Tabel 4. Z-citatie per staal

Staal	Geëvalueerde resultaten	$ Z \geq 3$	%
2001-1	122	6	4.92
2001-2	122	6	4.92
2002-1	122	9	7.38
2002-2	122	10	8.20
2003-1	122	7	5.74
2003-2	122	6	4.92
Totaal	732	44	6.01

Tabel 5 geeft het aantal citaties weer in functie van de gebruikte methode. Men kan vaststellen dat de referentiemethode (cursief) 3.44 % Z-citatie heeft. Dit percentage is significant lager ($p < 0.01$) dan volgende methode: Fuchs-Rosenthal.

Tabel 5. Citaties per methode

Methode	$ Z \geq 3$	$ z < 3$	ztot	Z (%)	P*
<i>Improved Neubauer - Positive disp</i>	13	365	378	3.44	/
Improved Neubauer –No positive displacement	2	80	82	2.44	1.000
A chamber with a fixed depth disposable	9	125	134	6.72	0.135
Bürker - A chamber with a fixed depth reusable	5	31	36	13.89	0.014
Makler - A chamber with a fixed depth reusable	5	29	34	14.71	0.011
Not defined	0	22	22	0.00	1.000
Fuchs-Rosenthal - A chamber with a fixed depth reusable	6	16	22	27.27	0.000
Thoma - A chamber with a fixed depth reusable	2	16	18	11.11	0.144
Microscope slide, coverslip and a fixed volume of semen	2	4	6	33.33	0.020
Totaal	44	688	732	6.01	/

*: homogeniteitstest (Fisher exact test) ten opzichte van de pZ waarde van de referentiemethode. De pZ-methode geeft een globale evaluatie van de kwaliteit van het laboratorium op basis van het totaal van de resultaten gerapporteerd over een jaar. De verhouding van het aantal Z -scores buiten de limieten ($|Z| \geq 3$) wordt berekend ten opzichte van alle resultaten die door een specifiek laboratorium werden gerapporteerd.

Een Z-score buiten de limieten houdt in dat het resultaat meer afwijkt van de centrale waarde dan bij de overgrote meerderheid van de laboratoria die dezelfde techniek hebben gebruikt. Een hoge pZ-waarde houdt dan in dat het laboratorium relatief gezien veel waardes heeft gerapporteerd die verder lagen van de centrale waarde dan bij de overgrote meerderheid van de laboratoria die dezelfde techniek hebben gebruikt. Een hoge pZ-waarde van een laboratorium kan zo duiden op een mogelijke noodzaak tot verbetering van de toepassing van de gebruikte techniek in het laboratorium. Een lage pZ waarde duidt erop dat het laboratorium de techniek minstens even goed toepast als de overgrote meerderheid van de andere laboratoria.

3.4. Evaluatie per laboratorium

Van de 122 deelnemende laboratoria voor de telling in 2020 hebben 117 (96%) laboratoria resultaten ingegeven voor alle stalen (n=6). Op de 117 laboratoria zijn er 94 (80.34%) die nooit geciteerd werden (pZ=0%), 9 (7.69%) die één keer geciteerd werden (pZ=16.7 %), 9 (7.69 %) die twee keer geciteerd werden (pZ=33.3%), 3 (2.56%) die drie keer geciteerd werden (pZ=50%) en 2 (1.71) die 4 keer geciteerd werden (pZ=66.67%).

4. Morfologie

De deelnemers hebben bij elke enquête 2 te kleuren glaasjes ontvangen voor de bepaling van de morfologie van de zaadcellen.

4.1. Kleuringen

Tabel 6 geeft een overzicht van de verschillende kleuringen die gebruikt werden door de deelnemers tijdens de verschillende enquêtes van 2020. De aanbevolen kleuringen door de WHO 2010 richtlijnen zijn (modified) Papanicolaou, Shorr en Diff Quick (cursief in tabel 6). Deze kleuringen worden het meest gebruikt nl. door 72 à 74% van de laboratoria doorheen de verschillende enquêtes.

Tabel 6. Kleuringen gebruikt door de deelnemers tijdens de verschillende enquêtes

Kleuring	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	%	N	%	N	%
<i>Papanicolaou/modified</i>	30	30.3	29	29.0	28	28.6
<i>Papanicolaou</i>	25	25.3	27	27.0	26	26.5
<i>Diff-Quick</i>	14	14.1	14	14.0	13	13.3
Spermac	14	14.1	15	15.0	12	12.2
Other	10	10.1	9	9.0	12	12.2
<i>Shorr</i>	4	4.0	4	4.0	4	4.1
Giemsa	2	2.0	2	2.0	3	3.1
Totaal	99		100		98	

4.2. Criteria

Om na te gaan of een staal als normaal of abnormaal beschouwd dient te worden, refereren de deelnemers naar internationale richtlijnen. De meest gevolgde richtlijnen waren van de WHO 2010, gevolgd door 92 tot 95% van de deelnemers en Tygerberg met 3 tot 8% (zie tabel 7).

Tabel 7. Gevolgde criteria voor de interpretatie de morfologie in de enquêtes

Criteria	2020-1 (%)	2020-2 (%)	2020-3 (%)
WHO 2010 en Tygerberg (Aanbevolen criteria)	100 (92+8)	97 (92+5)	98 (95+3)
Other	0	3	2

4.3. Cut off

Nietegenstaande de overgrote meerderheid van de laboratoria meegeeft de WHO 2010 richtlijn of Tygerberg te gebruiken (98%-100%), werden nog steeds verschillende cut-off-waarden gebruikt (zie tabel 8). Volgens de WHO 2010 en Tygerberg is de geadviseerde cut-off 4% normale cellen voor de morfologie bepaling. Aan de deelnemers die een andere cut-off waarde gebruiken, maar de WHO 2010 of Tygerberg criteria voor evaluatie volgen werd gevraagd om hun procedure te herzien of aan te geven welke andere richtlijnen door

het laboratorium gevolgd worden voor de keuze van de cut-off waarde. Tabel 8 herneemt de verschillende cut-off waarden die de laboratoria gebruiken.

Tabel 8. Gebruikte cut-off waarden voor morfologie in de enquêtes

Cut off (%)	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	%	N	%	N	%
4	95	96.0	96	96.0	94	95.9
1	1	1.0	0	/	0	/
3	0	/	1	1.0	1	1.0
5	0	/	0	/	1	1.0
10	1	1.0	1	1.0	1	1.0
15	2	2.0	2	2.0	1	1.0

4.4. Evaluatie

Evaluatie per staal

De target waarde is de globale mediaan per staal.

Tabel 9 toont dat 20 resultaten van de 494 (4.04%) afwijken

Tabel 9. Percentage Z-citatie per staal en globaal

Staal	$ Z \geq 3$	N	%
2001-3	4	99	4.04
2001-4	3	99	3.03
2002-3	7	100	7.00
2002-4	/*	/*	/*
2003-3	2	98	2.04
2003-4	4	98	4.08
Totaal	20	494	4.04

* Voor staal 2002-4 werden geen Z-scores berekend o.w.v. het aard van het staal (globozoospermie - 0% normale cellen), wat geen betrouwbare berekening van de standaarddeviatie en bijgevolg van de Z-score toeliet.

Evaluatie per kleuringsmethode

Tabel 10 toont aan dat het percentage Z-citatie varieert van 0.00% (Shorr) tot 13.21% (other). Enkel de volgende kleuringen worden aanbevolen door de WHO 2010: Papanicolaou, Modified Papanicolaou, Shorr en Diff Quick. Voor het geheel van deze aanbevolen kleuringen is het percentage Z-citatie 2.49% (9 op 362).

Tabel 10. Percentage Z-citatie per kleuringsmethode

Kleuringsmethode	$ Z \geq 3$	N	%
Papanicolaou	3	129	2.33
Modified Papanicolaou	3	145	2.07
Shorr	0	20	0
Diff Quick	3	68	4.41
Giemsa	0	12	0
Spermac	4	67	5.97
Other stainings	7	53	13.21
Totaal	20	494	4.05

Evaluatie per laboratorium

Er werden door 100 laboratoria resultaten ingegeven voor morfologie in 2020. Hiervan hadden 96 laboratoria (96%) resultaten ingegeven voor alle stalen (N=5 na uitsluiting van staal 2002-4 voor evaluatie van de pZ; zie uitleg onder tabel 9). 86 van deze 96 laboratoria (89.58%) werden niet geciteerd (pZ=0%), 5 laboratoria (5.21%) werden 1 keer geciteerd (pZ= 20%), 2 laboratoria (2.08%) werden 2 keer geciteerd (pZ=40%), 2 laboratoria werden 3 (2.08%) keer geciteerd (pZ=60%) en 1 laboratorium (1,04%) werd 5 keer geciteerd (pZ=100%).

4.5. Klinische interpretatie

Voor de morfologie is de Z-score niet het enige aandachtspunt. Op basis van het percentage normale cellen, moet immers besloten worden of het staal normaal of abnormaal is. Indien de consensus voor de evaluatie van de morfologie tussen de deelnemers <60% is, wordt het staal beschouwd als "borderline".

Tabel 11 herneemt de interpretatie van de deelnemers voor de verschillende stalen van 2020.

Tabel 11. Status (normaal of abnormaal) van elk staal

Staal	Normaal ($\geq 4\%$) %	Abnormaal ($< 4\%$) %	Besluit
2001-3	67.7	32.3	Normaal
2001-4	68.7	31.3	Normaal
2002-3	95.0	5.0	Normaal
2002-4	1.0	99.0	Abnormaal
2003-3	73.5	26.5	Normaal
2003-4	65.3	34.7	Normaal

5. Motiliteit

Voor enquête 2020-3 hebben de laboratoria 2 video-opnames van beweeglijke zaadcellen ontvangen. Op basis van deze opnames werd de motiliteit geëvalueerd.

Volgens de richtlijnen van de WHO 2010 dienen de zaadcellen geëvalueerd te worden als progressive (PR), non progressive (NP) en immotile (IM). De motiele zaadcellen omvatten de PR+NP.

Om deze parameter te evalueren werd als targetwaarde de mediaan van alle deelnemers gebruikt (zie tabel 12)

Tabel 12. Targetwaarde per parameter en per staal

Staal	Parameter	Mediaan (%)	SD	N	Besluit*
2003-5	PR	56	7	109	Normaal
2003-6	PR	40	7	109	Normaal
2003-5	PR+NP	61	8	109	Normaal
2003-6	PR+NP	49	7	109	Normaal

* : Normal if PR>32% and PR+NP>40%. PR : Progressive ; NP : non progressive

Op niveau van de Z-citatie werden respectievelijk 3.32% en 2.75% van de resultaten geciteerd voor de interpretatie "motile" en "progressive" (zie tabel 13).

Tabel 13. Z-citatie per parameter en per staal

Staal	Parameter	$ Z \geq 3$	$ Z < 3$	N	Z %
2003-5	PR+NP	1	108	109	0.92
2003-6	PR+NP	6	103	109	5.51
Total	PR+NP	7	211	218	3.32
2003-5	PR	1	108	109	0.92
2003-6	PR	5	104	109	4.59
Total	PR	6	212	218	2.75

PR : Progressive ; NP : non progressive

Voor de parameter "PR" werden 104 laboratoria van de 109 (94.41%) niet geciteerd ($pZ=0\%$), werden 4 laboratoria (3.67%) 1 maal geciteerd ($pZ=50\%$) en werd 1 laboratorium (0.92%) 2 keer geciteerd ($pZ=100\%$). Voor de parameter "PR+NP" werden 103 van de 109 laboratoria (94.50%) niet geciteerd ($pZ=0\%$), werden 5 laboratoria (4.59%) 1 maal geciteerd ($pZ=50\%$) en werd 1 laboratorium (0.92%) 2 maal geciteerd ($pZ=100\%$).

6. Vitaliteit

Voor de evaluatie van de vitaliteit werd een gekleurd glaasje (eosine-nigrosine) verstuurd tijdens enquête 2020-2. Hierbij diende het percentage levende cellen uitgedrukt te worden.

81 laboratoria hadden een resultaat ingegeven. De cut-off waarde is volgens de WHO 2010 richtlijnen 58%. 80% van de deelnemers gebruikte ook deze cut-off waarde. De targetwaarde was 63% levende cellen met een standaarddeviatie van 7%. Eén laboratorium op de 81 (1.24%) werd geciteerd (absolute waarde van de Z-score >3).

7. Besluit

Tabel 14 herneemt het percentage pZ waardes per parameter en per jaar over een periode van 6 jaar.

Tabel 14: overzicht citaties per jaar en per parameter

	Concentratie (%)	Morfologie – Normaal (%)	Motiliteit – Progressive (%)	Motiliteit – Motile (%)	Vitaliteit (%)
2015	4.05	6.13	3.83	2.22	/
2016	6.52	4.56	2.10	3.92	/
2017	4.47	6.13	1.07	1.50	/
2018	5.49	5.88	1.17	2.78	9.6
2019	6.06	3.27	2.99	1.86	1.27
2020	6.01	4.04	2.75	3.32	1.24

De parameters zijn stabiel naar het aantal citaties toe (tabel 14) tijdens de voorbije 6 jaar (3 jaar voor de vitaliteit).

EINDE

© Sciensano, Brussel 2021.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.