

**EXPERTISE ET PRESTATIONS DE SERVICE
QUALITE DES LABORATOIRES**

**COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS**

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE
ANALYSES DE BIOLOGIE CLINIQUE**

RAPPORT ANNUEL GLOBAL DEFINITIF

**Andrologie
2020**

Sciensano/Andrologie/75-FR

Expertise et prestations de service
Qualité des laboratoires
Rue J. Wytsman, 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.sciensano.be

COMITE DES EXPERTS AD HOC

Sciensano					
Secrétariat		TEL:	02/642.55.21	FAX:	02/642.56.45
Sandra Wathlet	Coordinateur d'enquête	TEL:	02/642.50.91		
		e-mail:	Sandra.Wathlet@sciensano.be		
Bernard China	Coordinateur d'enquête remplaçant	TEL:	02/642.53.58		
		e-mail:	Bernard.China@sciensano.be		
Experts	Institution				
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				

Une version provisoire de ce rapport a été transmise aux experts le : 15/02/2021

Les experts ont eu la possibilité de transmettre leurs commentaires par email avant publication du rapport.

Autorisation de diffusion de rapport:

par Sandra Wathlet, coordinatrice d'enquête , le 02/03/2021.

Signature de la coordinatrice d'enquête :

Tous les rapports sont également consultables sur notre site web:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/ fr/rapports annee.htm

TABLE DES MATIERES

1. PARTICIPATION.....	4
2. QUALITE DES ECHANTILLONS.....	4
2.1. HOMOGENEITE.....	4
2.2. STABILITE.....	4
2.3. INNOCUITE.....	4
2.4. TAUX D'AGREGATION.....	4
3. DENOMBREMENT.....	5
3.1. CHAMBRES DE COMPTAGE UTILISÉES.....	5
3.2. POSITIVE DISPLACEMENT PIPETTE.....	6
3.3. EVALUATION.....	6
3.4. EVALUATION PAR LABORATOIRE.....	7
4. MORPHOLOGIE.....	7
4.1. COLORATIONS.....	7
4.2. CRITERES.....	7
4.3. CUT OFF.....	7
4.4. EVALUATION.....	8
4.5. INTERPRÉTATION CLINIQUE.....	9
5. MOTILITE.....	9
6. VITALITE.....	10
7. CONCLUSION.....	10

1. Participation

En 2020, 3 enquêtes ont été organisées pour la détermination de la qualité du sperme. Dans les enquêtes, 2020-1, 2020-2 et 2020-3, les participants ont reçu chaque fois deux échantillons de suspension cellulaire pour réaliser le comptage et deux frottis pour déterminer la morphologie. De plus, lors de l'enquête 2020-2, les participants ont reçu une lame colorée pour évaluer la vitalité et lors de l'enquête 2020-3, deux vidéos pour évaluer la motilité.

Tableau 1. Taux de participation

Enquête	Paramètre	Inscrits	Réponses	%
2020-1	Comptage	126	122	96.8
	Morphologie	104	99	95.2
2020-2	Comptage	124	122	98.4
	Morphologie	100	99	99.0
	Vitalité	84	81	96.4
2020-3	Comptage	126	122	96.8
	Morphologie	101	98	97.0
	Motilité	119	109	91.6
Total		884	852	96.4

Le taux de réponse de 2020 (96.4%) était plus haut que celui de 2018 (90.3%) où il y avait eu des problèmes avec B-post lors d'un des envois. Le taux de réponse de 2020 est égale à celui de 2019 (96.4%).

2. Qualité des échantillons

2.1. Homogénéité

Avant chaque enquête de 2020, l'homogénéité a été déterminée avec la méthode de Coucke et al. 2019 et les échantillons ont été considérés étant homogènes.

2.2. Stabilité

Un dossier de validation a été établi sur la base des résultats des années précédentes pour la numération et la morphologie. Le principe était de vérifier si l'intervalle entre l'envoi des échantillons et le moment de l'analyse avait une influence sur le résultat. Une étude de régression a montré que les médianes des réponses étaient identiques en fonction du jour de l'analyse. Les échantillons sont donc considérés comme stables tout au long des 15 jours de l'enquête.

Pour la vitalité, des tests ont été faits avant et après l'enquête sur les mêmes lames pour déterminer la stabilité. Les échantillons ont été considérés comme stables après analyse statistique.

2.3. Innocuité

Les donneurs ont été testés pour HCV, HBV et VIH et se sont révélés négatifs.

2.4. Taux d'agrégation

Pour le dénombrement des spermatozoïdes, une évaluation du taux d'agrégation a été réalisée par les participants. 4 catégories sont possibles, de 1 à 4 avec un taux de plus en plus élevé d'agrégation (figure 1).

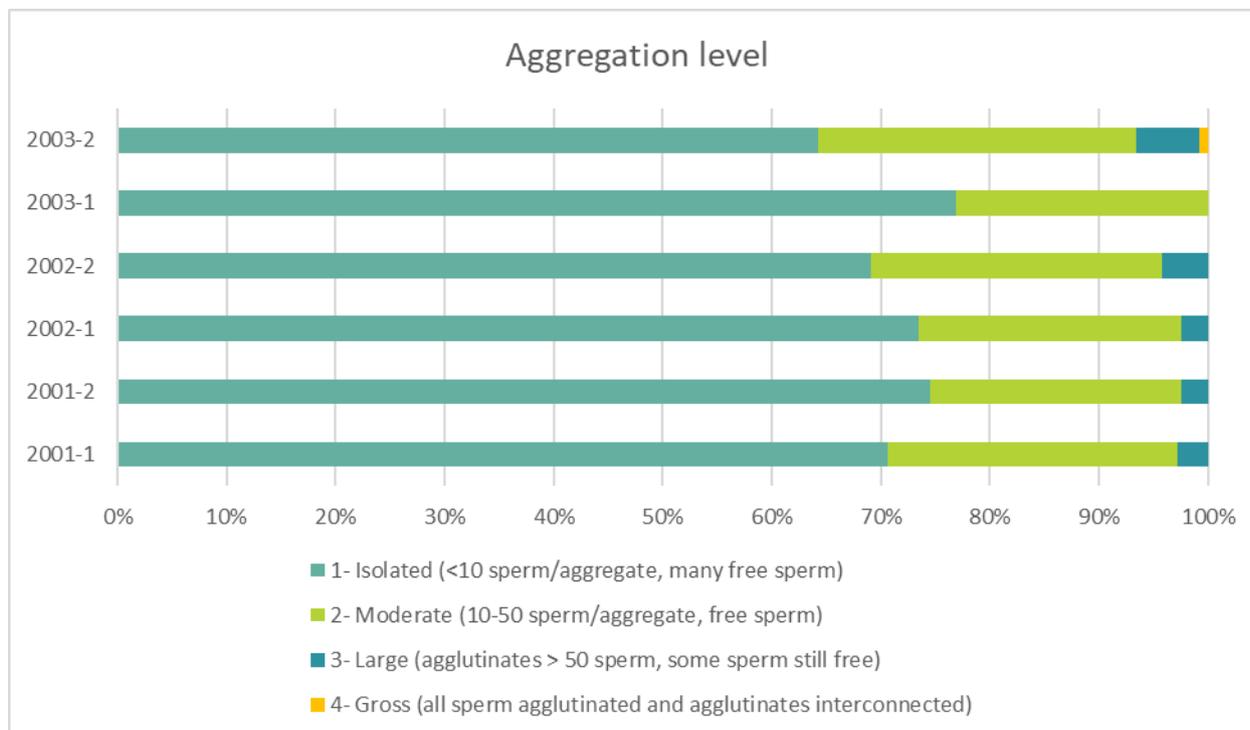


Figure 1 : Taux d'agrégation présent dans les échantillons pour le dénombrement

La majorité des échantillons ne montraient que peu d'agrégats. Sur la base de l'évaluation des participants, une analyse statistique (ANOVA) est réalisée pour vérifier si le taux d'agrégation influence le comptage. Aucune différence n'a été observée sur les différents échantillons.

3. Dénombrement

Le premier paramètre qui a été étudié est le dénombrement des spermatozoïdes. Pour ce faire, les laboratoires utilisent différents types de chambre de comptage (tableau 2).

3.1. Chambres de comptage utilisées

La chambre de comptage recommandée est « improved Neubauer » qui était en effet la plus utilisée par les participants (tableau 2).

Tableau 2. Chambres de comptages utilisées en fonction des enquêtes.

Chambre de comptage	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<i>Improved Neubauer</i>	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
Total	122		122		122	

Le pourcentage de laboratoires indiquant utiliser une chambre de comptage improved Neubauer (62.8%) était comparable à 2019 (63.5 %).

3.2. Positive displacement pipette

Les experts recommandent également l'usage d'une pipette à déplacement positif pour pipeter la suspension pour l'analyse de la concentration. Le tableau 3 montre que de 73 à 78% des participants utilisent ce type de pipette. Ceci est dans le même ordre que 2019 où 72 à 79% des participants renseignaient utiliser une pipette à déplacement positif.

Tableau 3. Utilisation d'une pipette à déplacement positif suivant les enquêtes.

Positive displacement pipette	2020-1		2020-2		2020-3	
	N	%	N	%	N	%
Oui	89	73.0	92	75.4	95	77.9
Non	33	27.0	30	24.6	27	22.1
Total	122		122		122	

3.3. Evaluation

La valeur cible est la médiane des utilisateurs de la méthode de référence. La méthode de référence est l'utilisation d'une chambre de comptage « improved Neubauer » et d'une « positive displacement pipette ». Sur la base de cette valeur cible et pour chaque échantillon, on calcule un Z score.

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

R= résultat à évaluer

M= médiane de la méthode de référence

SD= la déviation standard de la méthode de référence

Un laboratoire est cité si la valeur absolue de son Z-score est supérieure ou égale à 3. Ce qui signifie que le résultat s'écarte de la valeur cible de plus de 3 SD.

En 2020, 732 résultats de comptage ont été évalués et 44 soit 6.01 % étaient déviants (Z-score en valeur absolue ≥ 3) (voir tableau 4).

Tableau 4. Citations Z par échantillon

Echantillon	Résultats évalués	Z ≥ 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
Total	732	44	6.01

Le tableau 5 présente le nombre de citations en fonction de la méthode utilisée. On constate que la méthode de référence (en italique) montre 3.44 % de citations Z. Ce pourcentage de citations est significativement différent ($p < 0.01$) des méthodes « Fuchs-Rosenthal ».

Tableau 5. Citations par méthode

Méthode	Z ≥ 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
Total	44	688	732	6.01	/

* : test d'homogénéité de proportion (Chi carré) par rapport à la valeur de pZ de la méthode de référence.
pZ : La méthode des pZ donne une évaluation globale de la qualité du laboratoire sur la base de la totalité des résultats fournis sur une année. On calcule la proportion des Z-scores hors limites ($|Z| \geq 3$) par rapport à l'ensemble des résultats qui ont été rapportés par un laboratoire spécifique.

Un Z-score en dehors des limites signifie que le résultat s'écarte davantage de la valeur centrale que dans la grande majorité des laboratoires ayant utilisé la même technique. Une valeur pZ élevée signifie alors que le laboratoire a rapporté relativement beaucoup de valeurs qui étaient plus éloignées de la valeur centrale que dans la grande majorité des laboratoires qui ont utilisé la même technique. Une valeur pZ élevée d'un laboratoire peut indiquer qu'une amélioration peut s'avérer nécessaire dans l'application de la technique utilisée dans le laboratoire. Une faible valeur de pZ indique que le laboratoire applique la technique au moins aussi bien que la grande majorité des autres laboratoires.

3.4. Evaluation par laboratoire

Sur les 122 laboratoires ayant encodé des résultats de concentration en 2020, 117 (96%) ont encodé des résultats pour chaque échantillon (n= 6). Sur les 117 laboratoires, 94 (80.34%) n'ont jamais été cités (pZ=0%), 9 (7.69 %) ont été cités une fois (pZ= 16.7 %), 9 (7.69%) ont été cités deux fois (pZ=33.3%), 3 (2.56%) ont été cités 3 fois (pZ=50%) et 2 (1.71) ont été cités 4 fois (pZ=66.67).

4. Morphologie

Les participants ont reçu à chaque enquête deux frottis à colorer pour déterminer le pourcentage de cellules dont la morphologie est normale.

4.1. Colorations

Le tableau 6 reprend les différentes colorations utilisées par les participants au cours des enquêtes de 2020. Les colorations conseillées par l'OMS2010 sont le (modified) Papanicolaou, Shorr et Diff Quick (italique dans tableau 6). Ces colorations sont utilisées majoritairement c.a.d. par 72% à 74% des laboratoires durant les différentes enquêtes

Tableau 6. Colorations utilisées par les participants dans les différentes enquêtes

Coloration	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
Total	99		100		98	

4.2. Critères

Pour déterminer si l'échantillon est normal ou non, les participants se réfèrent à des critères faisant partie de lignes directrices internationales. Les critères les plus suivis sont ceux du manuel 2010 de l'OMS avec de 92 à 95% des participants suivi par les critères de Tygerberg utilisées par 3 à 8% des participants (tableau 7).

Tableau 7. Critères suivis pour l'interprétation des résultats dans les enquêtes

Critères	2020-1 (%)	2020-2 (%)	2020-3 (%)
OMS 2010 et Tygerberg (critères recommandées)	100 (92+8)	97 (92+5)	98 (95+3)
Other	0	3	2

4.3. Cut off

Malgré le fait que la grande majorité des laboratoires déclarent utiliser la ligne directrice de l'OMS 2010 ou Tygerberg (98%-100%), différents cut-offs sont encore utilisés (voir tableau 8). Selon l'OMS 2010 et Tygerberg, le seuil recommandé est de 4 % de cellules normales pour la détermination de la morphologie. Les participants qui utilisent une valeur seuil différente, mais qui déclarent suivre les directives de WHO2010 ou les directives de Tygerberg, sont priés de revoir leur procédure ou d'indiquer quelles autres directives le laboratoire suit pour la sélection de la valeur seuil. Le tableau 8 reprend les différents cut-off utilisés par les laboratoires.

Tableau 8. Cut offs utilisés par les participants dans les 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. Evaluation

Evaluation par échantillon

La valeur cible est la médiane globale par échantillon.

Le tableau 9 indique que 20 résultats sur 494 soit 4.04% des résultats sont déviants.

Tableau 9. Pourcentage de citations Z par échantillon et globalement

Echantillon	$ 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
Total	20	494	4.04

* Pour l'échantillon 2002-4, aucun Z-score n'a été calculé en raison de la nature de l'échantillon (0% de cellules normales), ce qui n'a pas permis un calcul fiable de l'écart type et par conséquent du Z-score.

Evaluation par méthode de coloration

Le tableau 10 indique que le pourcentage de citations varie de 0,00% (Shorr) à 13.21% (other). Seules les colorations Papanicolaou, Modified Papanicolaou, Shorr et Diff Quick sont recommandées par les lignes directrices 2010 de l'OMS. Pour l'ensemble de ces colorations recommandées, le pourcentage de citations Z est de 9 sur 362 soit 2.49%.

Tableau 10. Pourcentage de citations Z par méthode de coloration

Coloration	$ 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
Total	20	494	4.05

Evaluation par laboratoire

100 laboratoires ont encodé des résultats en 2020 pour la morphologie. Parmi ceux-ci, 96 (96%) ont encodé des résultats pour tous les échantillons (N=5 après exclusion de l'échantillon 2002-4 pour l'évaluation des pZ; voir explication sous le tableau 9). 86 des 96 laboratoires soit 89.58% n'ont pas été cités (pZ=0%), 5 laboratoires (5.21%) ont été cités une fois (pZ=20%), 2 laboratoires (2.08%) a été cités deux fois (pZ=40%), 2 laboratoires (2.08%) ont été cité 3 fois (pZ=60%) et un laboratoire (1.04%) a été cité 5 fois (pZ=100%).

4.5. Interprétation clinique

Mais bien sûr, pour la morphologie le Z score n'est pas tout. En effet, sur base du pourcentage de cellules normales observé, il faut se prononcer sur le caractère normal ou anormal de l'échantillon. Si le consensus pour l'évaluation de la morphologie entre les participants est de <60%, l'échantillon est considéré comme étant « borderline ».

Le tableau 11 résume les résultats obtenus en 2020 pour les différents échantillons par les participants.

Tableau 11. Statut (Normal ou Anormal) de chaque échantillon

Echantillon	Normal (≥4%) %	Anormal (<4%) %	Conclusion
2001-3	67.7	32.3	Normal
2001-4	68.7	31.3	Normal
2002-3	95.0	5.0	Normal
2002-4	1.0	99.0	Anormal
2003-3	73.5	26.5	Normal
2003-4	65.3	34.7	Normal

5. Motilité

Lors de l'enquête 2020-3, les laboratoires ont reçu 2 vidéos reprenant des cellules en mouvement. Sur la base de ces vidéos, la motilité devait être évaluée.

Selon l'OMS 2010, on classe les spermatozoïdes en progressive (PR), non progressive (NP) et immotile (IM). Les spermatozoïdes motiles regroupent les « progressive » et les « non progressive » (PR+NP).

L'évaluation s'est faite en utilisant comme valeur cible, la médiane de tous les participants (tableau 12).

Tableau 12. Valeur cible déterminée par paramètre et par échantillon

Echantillon	Paramètre	Médiane (%)	SD	N	Conclusion*
2003-5	PR	56	7	109	Normal
2003-6	PR	40	7	109	Normal
2003-5	PR+NP	61	8	109	Normal
2003-6	PR+NP	49	7	109	Normal

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

Au niveau des citations Z, respectivement 3.32% et 2.75% des résultats ont été cités pour les caractères « motile » et « progressive » (Tableau 13).

Tableau 13. Citations Z par paramètre et par échantillon

Echantillon	Paramètre	Z ≥3	Z <3	N	pZ
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

Si on considère les citations par laboratoire, pour le caractère Progressive, 104 des 109 laboratoires soit 94.41% n'ont pas été cités (pZ=0%), 4 laboratoires (3.67) ont obtenu une citation (pZ=50%), 1 laboratoire (0.92%) a obtenu 2 citations (pZ=100%). Pour le caractère « motile » 103 des 109 laboratoires soit 94.50% n'ont pas été cités (pZ=0%), 5 laboratoires (4.59%) ont obtenu 1 citation (pZ=50%) et 1 laboratoire (0.92%) a été cité 2 fois (pZ=100%).

6. Vitalité

Pour la vitalité, une lame fixée et colorée (éosine nigrosine) a été envoyée lors de l'enquête 2020-2 pour évaluer la vitalité. Il s'agissait de compter le nombre de cellules viables et d'en indiquer le pourcentage. 81 laboratoires ont encodé des résultats. L'OMS 2010 préconise l'utilisation de 58% comme seuil. 80% des laboratoires indique utiliser cette valeur. La valeur cible était de 63% de cellules viables avec une déviation standard de 7%. Un laboratoire sur 81 soit 1.24% a été cité (valeur absolue du Z score > 3).

7. Conclusion

Le tableau 14 reprend les valeurs pZ par paramètre et par année sur un période de 6 ans.

Tableau 14 : aperçu des citations par année et par paramètre

	Concentration (%)	Morphologie – Normal (%)	Motilité – Progressive (%)	Motilité – Motile (%)	Vitalité (%)
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

Le nombre de citations (tableau 14) reste stable au cours des 6 dernières années (3 années pour la vitalité).

FIN

© Sciensano, Bruxelles 2021.

Ce rapport ne peut pas être reproduit, publié ou distribué sans l'accord de Sciensano. Les résultats individuels des laboratoires sont confidentiels. Ils ne sont transmis par Sciensano ni à des tiers, ni aux membres de la Commission, des comités d'experts ou du groupe de travail EEQ.