



HAL
open science

Automatisation du spermogramme-spermocytogramme : caractérisation de la performance et validation de méthode du SQA-Vision®

Julie Kasprzak

► **To cite this version:**

Julie Kasprzak. Automatisation du spermogramme-spermocytogramme : caractérisation de la performance et validation de méthode du SQA-Vision®. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-04126715

HAL Id: dumas-04126715

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04126715>

Submitted on 13 Jun 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES :
DE BIOLOGIE MEDICALE

Tenant lieu de

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

KASPRZAK Julie, épouse TURNER

Présentée et soutenue publiquement le 02 Avril 2020

**AUTOMATISATION DU SPERMOGRAMME-SPERMOCYTOGRAMME :
CARACTERISATION DE LA PERFORMANCE ET
VALIDATION DE METHODE DU SQA-VISION®**

Directrice de thèse : Madame **PONS Hanae**, Maître de conférences, Laboratoire de Biologie de la Reproduction CHU Clermont-Ferrand.

Présidente du jury : Madame **BRUGNON Florence**, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Membres du jury : Madame **LIVRELLI Valérie**, Professeur, Laboratoire de mycologie-parasitologie, UFR de Pharmacie de Clermont-Ferrand

Madame **MESTRES Stéphanie**, Docteur, Laboratoire de Biologie de la Reproduction CHU Clermont-Ferrand.

Monsieur **VEYRAT-MASSON Richard**, Docteur, Laboratoire d'Hématologie Biologique CHU Clermont-Ferrand



N°

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES
MEMOIRE POUR LE DIPLÔME D'ETUDES SPECIALISEES :
DE BIOLOGIE MEDICALE

Tenant lieu de

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

KASPRZAK Julie, épouse TURNER

Présentée et soutenue publiquement le 02 Avril 2020

**AUTOMATISATION DU SPERMOGRAMME-SPERMOCYTOGRAMME :
CARACTERISATION DE LA PERFORMANCE ET
VALIDATION DE METHODE DU SQA-VISION®**

Directrice de thèse : Madame **PONS Hanae**, Maître de conférences, Laboratoire de Biologie de la Reproduction CHU Clermont-Ferrand.

Présidente du jury : Madame **BRUGNON Florence**, Professeur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Membres du jury : Madame **LIVRELLI Valérie**, Professeur, Laboratoire de mycologie-parasitologie, UFR de Pharmacie de Clermont-Ferrand

Madame **MESTRES Stéphanie**, Docteur, Laboratoire de Biologie de la Reproduction CHU Clermont-Ferrand.

Monsieur **VEYRAT-MASSON Richard**, Docteur, Laboratoire d'Hématologie Biologique CHU Clermont-Ferrand

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE D'AUVERGNE

: **JOYON** Louis
: **DOLY** Michel
: **TURPIN** Dominique
: **VEYRE** Annie
: **DULBECCO** Philippe
: **ESCHALIER** Alain

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE BLAISE PASCAL

: **CABANES** Pierre
: **FONTAINE** Jacques
: **BOUTIN** Christian
: **MONTEIL** Jean-Marc
: **ODOUARD** Albert
: **LAVIGNOTTE** Nadine

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT
VICE-PRESIDENT DU CONSEIL D'ADMINISTRATION
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE
VICE PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA
FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

: **BERNARD** Mathias
: **DEQUIEDT** Vianney
: **WILLIAMS** Benjamin
: **HENRARD** Pierre
: **PEYRARD** Françoise
: **PAQUIS** François



UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES

: **DETEIX** Patrice
: **CHAZAL** Jean

DOYEN
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

: **CLAVELOU** Pierre
: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BOUCHER Daniel - BOURGES Michel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques - CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard - DAUPLAT Jacques - DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - ESCANDE Georges -Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - GLANDDIER Gérard - Mme GLANDDIER Phyllis - M. JACQUETIN Bernard - Mme LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LESOURD Bruno - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MALPUECH Georges - MARCHEIX Jean-Claude - MICHEL Jean-Luc - MOLINA Claude - MONDIE Jean-Michel - PERI Georges - PETIT Georges - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mle VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. - BEYTOUT Jean - BOITEUX Jean-Paul - BOMMELAER Gilles - CHAMOIX Alain - DETEIX Patrice - DUBRAY Claude - ESCHALIER Alain - IRTHUM Bernard - KEMENY Jean-Louis - LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène - MM. LEMERY Didier - LUSSON Jean-René - RIBAL Jean-Pierre

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PROFESSEURS DE CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M. AUMAITRE Olivier	Médecine Interne
M. LABBE André	Pédiatrie
M. AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M. DURIF Franck	Neurologie
M. BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M. POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M. CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M. BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M. BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M. CLAVELOU Pierre	Neurologie
M. DUBRAY Claude	Pharmacologie Clinique

M. GILAIN Laurent	O.R.L.
M. LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M. CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M. LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes
M. PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M. SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M. BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme DUCLOS Martine	Physiologie
M. SCHMIDT Jeannot	Thérapeutique
M. BERGER Marc	Hématologie
M. GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M. ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie

**PROFESSEURS DE
1ère CLASSE**

M. CAILLAUD Denis	Pneumo-physiologie
M. VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M. CITRON Bernard	Cardiologie et Maladies Vasculaires
M. D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénérologie
Mme JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
Mle BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M. GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M. TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M. MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M. RICHARD Ruddy	Physiologie
M. RUIVARD Marc	Médecine Interne
M. SAPIN Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M. COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. ABERGEL Armando	Hépatologie
M. LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M. CHIAMBARETTA Frédéric	Ophthalmologie
M. FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M. GUY Laurent	Urologie
M. TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M. ANDRE Marc	Médecine Interne
M. BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M. CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. COSTES Frédéric	Physiologie
M. FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M. MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M. RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique

**PROFESSEURS DE
2ème CLASSE**

Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M. TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
M. CORNELIS François	Génétique
M. DESCAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale
M. CANAVESE Fédérico	Chirurgie Infantile
M. LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M. BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
M. BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M. CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M. LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
M. AZARNOUSH Kasra	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
Mme BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
Mme HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M. ESCHALIER Romain	Cardiologie
M. MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme TOURNADRE Anne	Rhumatologie
M. DURANDO Xavier	Cancérologie
M. DUTHEIL Frédéric	Médecine et Santé au Travail
Mme FANTINI Maria Livia	Neurologie
M. SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M. BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIEZE Romain	Hématologie
M. POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M. SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie
M. EVRARD Bertrand	Immunologie
M. POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. CLEMENT Gilles	Médecine Générale
Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne	Nutrition Humaine
M. VORILHON Philippe	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme BOTTET-MAULOUBIER Anne	Médecine Générale
M. CAMBON Benoît	Médecine Générale
M. TANGUY Gilles	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

Mme CHAMBON Martine	Bactériologie Virologie
Mme BOUTELOUP Corinne	Nutrition

MAITRES DE CONFERENCES DE 1ère CLASSE

M. MORVAN Daniel	Biophysique et Traitement de l'Image
Mle GOU MY Carole	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Mme FOGLI Anne	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle GOUAS Laetitia	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. MARCEAU Geoffroy	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme MINET-QUINARD Régine	Biochimie Biologie Moléculaire
M. ROBIN Frédéric	Bactériologie
Mle VERONESE Lauren	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. DELMAS Julien	Bactériologie
Mle MIRAND Audrey	Bactériologie Virologie
M. OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. LIBERT Frédéric	Pharmacologie Médicale
Mle COSTE Karen	Pédiatrie
Mle AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
Mme CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. LEBRETON Aurélien	Hématologie
M. BUISSON Anthony	Gastroentérologie

MAITRES DE CONFERENCES DE 2ème CLASSE

Mme PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
M. BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. COLL Guillaume	Neurochirurgie
Mme SARRET Catherine	Pédiatrie
M. MAQDASY Salwan	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques
Mme NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire
M. BAILLY Jean-Luc	Bactériologie Virologie
Mle AUBEL Corinne	Oncologie Moléculaire
M. BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle GUILLET Christelle	Nutrition Humaine
M. BIDET Yannick	Oncogénétique
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
M. DALMASSO Guillaume	Bactériologie
M. SOLER Cédric	Biochimie Biologie Moléculaire
M. GIRAUDET Fabrice	Biophysique et Traitement de l'Image
Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène	Médecine Générale
Mme LAPORTE Catherine	Médecine Générale
M. LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences – Neuropharmacologie
Mme MARTEIL Gaëlle	Biologie de la Reproduction
M. PINEL Alexandre	Nutrition Humaine
M. PIZON Frank	Santé Publique

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

M. BERNARD Pierre	Médecine Générale
Mme ESCHALIER Bénédicte	Médecine Générale
Mme RICHARD Amélie	Médecine Générale
M. TESSIERES Frédéric	Médecine Générale

PROFESSEURS des UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS (HDR)

Mme SAUTOU Valérie (pharmacien)

M. WALRAND Stéphane

PROFESSEURS des UNIVERSITES (HDR)

Mme ALRIC Monique

Mme BARTHOMEUF Chantal (pharmacien)

M. BEYSSAC Eric (pharmacien)

Mme CALDEFIE-CHEZET Florence (pharmacien)

M. CARDOT Jean-Michel (pharmacien)

M. CHAVIGNON Olivier

M. CHEZAL Jean-Michel

M. COUDERT Pascal (pharmacien)

Mme COURTEIX Christine

Mme FORESTIER Christiane (pharmacien)

M. GAUMET Vincent

Mme GUEIRARD Pascale (pharmacien)

Mme LIVRELLI Valérie (pharmacien)

M. MAUNIT Benoît

Mme RANCHON-COLE Isabelle (pharmacien)

Mme SAUVANT-ROCHAT Marie-Pierre (pharmacien)

Mme TERRAIL Laurence (pharmacien)

Mme VENNAT Brigitte (pharmacien)

MAITRES DE CONFERENCES

Mme ALBA DELGADO Cristina

Mme ARCHIMBAUD Christine (pharmacien)

M. AUZELOUX Philippe (pharmacien)

M. BALAYSSAC David (HDR) (pharmacien)

M. BALESTRINO Damien (HDR)

Mme BEGOU Melina (pharmacien)

Mme BLANQUET-DIOT Stéphanie (HDR)

M. BONNET Jean-Louis

Mme BOYER Anne (pharmacien)

M. CIA David

Mme CIVIALE Marie-Ange (HDR) (pharmacien)

M. CHENNELL Philip (pharmacien)

M. CLUZEL Jacques (HDR)

Mme COLLIN Aurore (pharmacien)

Mme COUDERT Catherine (HDR) (pharmacien)

M. DEBITON Eric

Mme DECOMBAT Caroline (pharmacien)

Mme DELORT Laetitia

M. DOLY Stéphane

Mme FARGES Marie-Chantal

Mme FELGINES Catherine (HDR) (pharmacien)

Mme GALMIER Marie-Josèphe (HDR) (pharmacien)

M. GARRAIT Ghislain (HDR)

M. GONCALVES-MENDES Nicolas

Mme HENNEQUIN-ROBIN Claire (pharmacien)

Mme LAINE Emmanuelle

Mme MAISONIAL Aurélie

M. MALLET Christophe

Mme MIQUEL Sylvie

M. MOREAU Emmanuel (HDR)

Mme PEYRODE Caroline (pharmacien)

Mme QUINTANA DA INES Mercedes

M. ROMOND Pierre-Charles (pharmacien)

M. ROSSARY Adrien (HDR) (pharmacien)

M. ROUZAIER Paul (pharmacien)

Mme SAPIN Anne-Françoise (pharmacien)

Mme SAVANOVITCH Chantal

M. SENEJOUX François (pharmacien)

M. SION Benoit (pharmacien)

M. TALVAS Jérémie

Mme TY Nancy (pharmacien)

Mme VAREILLE Marjolaine

Mme VIVIER Magali (pharmacien)

Mme WEBER Valérie

M. WERSINGER Eric

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIES

Mme BEDHOMME Sabrina (pharmacien)

Mme BERNARD Lise (pharmacien)

Mme VAN LANDER Axelle

Mme LAFARGE Elodie (pharmacien)

Mme PESTRE Odile (pharmacien)

REMERCIEMENTS

A mon jury de thèse

Madame le Professeur Florence Brugnon, Présidente du jury

Veillez trouver ici l'expression de ma plus profonde reconnaissance pour m'avoir permis de réaliser ce travail. Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de présider ce jury ainsi que pour votre bienveillance tout au long de cette année dans votre service. Apprendre à vos côtés fut un plaisir. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de mes remerciements et de mon respect.

Madame le Docteur Hanae Pons, Directrice de thèse

Je tiens à te remercier pour toute la confiance et l'autonomie que tu m'as accordées dans la réalisation de ce travail. Je te suis très reconnaissante de l'intérêt et de l'accompagnement que tu as apporté à ce travail. Tes connaissances, tes conseils et ton aisance à synthétiser m'ont été d'une aide précieuse. C'est avec un profond respect que je te remercie.

Madame le Docteur Stéphanie Mestres

Merci d'avoir accepté de juger mon travail et de me faire l'honneur de faire partie de ce jury. Je te remercie pour ton enseignement et ton soutien tout au long de cette année passée à tes côtés.

Madame le Professeur Valérie Livrelli

Pour l'honneur que vous me faites en apportant à ce travail votre jugement, veuillez accepter l'expression de ma plus profonde gratitude.

Monsieur le Docteur Richard Veyrat-Masson

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce mémoire. J'ai apprécié travailler à vos côtés, soyez assuré de mes plus sincères et respectueux remerciements.

A tous ceux qui ont participé

A Bruno Pereira, merci pour vos conseils et vos connaissances en statistiques qui m'ont aidée dans la construction de cette étude. Je vous remercie également pour votre sympathie et votre disponibilité.

A Sandra M., pour m'avoir aidée dans le vaste domaine de la qualité. Merci pour ton implication dans ce projet.

A Solène, Laure, Charlène, merci pour votre soutien, et d'avoir toujours répondu à mes nombreuses questions. Merci pour cette année à vos côtés, votre dynamisme et bonne humeur quotidienne !

Aux techniciennes, Marion et Marina pour avoir été à l'écoute de mes rêves les plus loufoques, Aurélie, Sandrine et Gaëlle pour votre bonne humeur et votre aide quotidienne auprès du SQA ; Carole, Lydia et Momo pour avoir eu la patience de me faire découvrir votre passion ; Isabelle, je te l'ai dit, tu as été comme une mère pour moi. Merci pour cette année merveilleuse à vos côtés.

A toute l'équipe recherche, Sandra, Aurélie, Gaëlle et Cyril, merci de m'avoir fait découvrir une autre facette de la recherche qui donnerait presque envie ! Merci pour tous ces bons moments partagés, surtout les pauses thé et les pauses twix !

Aux pétillantes secrétaires du service, Sabine et Sylvie, merci pour votre bonne humeur quotidienne et votre bienveillance envers moi tout le long de cette année.

A Sandrine, pour ton énergie communicative et pour ces bons moments passés à tes côtés.

A toute l'équipe de l'AMP-FIV, c'était un plaisir de travailler avec vous !

A mes proches

A mes co-internes et plus, Popo, Soso, Marion et Mailys, merci pour ces merveilleux moments passés ensemble qui ont rendu ces années d'internat magiques : le Maroc et Zwina, les courses à pieds, les Los Dos, les coups de soleil à Marseille et les cookies dans le sac.... Et surtout merci pour cette merveilleuse chorale à jamais gravée dans ma mémoire !

A tous les internes de biologie, Chachou, Lucie, Cloclo, Vincent, William, Samy ..., la liste est longue mais vous vous reconnaitrez ! Des raclettes au ski, en passant par tragédie, les petites soirées au 2B... Merci pour tous ces moments partagés !

A mes amies de toujours, mes sœurs de cœur, Léa et Fabie, merci de m'avoir suivie tout au long de cette aventure et encouragée quand cela a été le plus difficile. Déjà 13 ans depuis notre rencontre et tellement de fous rires partagés, notre amitié est éternelle !

A tous les patients et les aides-soignantes que j'ai croisés tout au long de ce parcours, qui m'ont montré que la différence était une force et qui ont participé à me faire grandir en tant qu'être humain.

A ma belle-famille, Marielle, David et Loïs, merci de m'avoir accepté dans votre famille et merci pour votre soutien tout au long de mes études.

A ma famille, Papa, Maman, merci pour tout. Vous m'avez toujours soutenue dans mes choix et c'est grâce à votre soutien inconditionnel que je suis ici aujourd'hui. Lucie et Jordan, merci pour votre humour qui m'a toujours déstressée, même dans les situations critiques ! Merci d'avoir cru en moi.

Et enfin à Tom, qui partage ma vie depuis 7 ans. Tu as réussi à comprendre mes études et les angoisses qui vont avec, alors merci pour ce soutien quotidien qui m'a poussée à dépasser tous les obstacles. Merci de suivre mes folies et d'en assurer leur sécurité. J'ai tellement hâte de continuer cette aventure avec toi, je t'aime !

Table des matières

INTRODUCTION :	15
MATERIEL ET METHODES :	19
1. Population et plan expérimental :	19
2. Traitement des échantillons :	21
2.1 Méthode de référence :	21
2.2 Méthode à valider :	22
3. Evaluation des performances de l'automate :	24
3.1 Mesure de la répétabilité :	24
3.2 Mesure de la fidélité intermédiaire :	25
4. Evaluation inter-méthodes :	25
4.1 Concentration en spermatozoïdes :	26
4.2 Mobilité des spermatozoïdes :	27
4.3 Forme typique des spermatozoïdes :	28
4.4 Concentration de PNN :	29
5. Analyses statistiques :	31
6. Arbre décisionnel :	32
7. Validation de méthodes :	33
RESULTATS :	34
1. Evaluation de la performance intrinsèque de l'automate :	34
1.1. Répétabilité :	34
1.2. Fidélité intermédiaire :	35
2. Comparaison SQA-Vision® et méthode manuelle :	36
2.1. Population étudiée :	36
2.2. Concentrations de spermatozoïdes :	36
2.3. Mobilité spermatique totale :	38
2.4. Mobilité spermatique progressive :	39
2.5. Morphologie spermatique : pourcentage de formes typiques	40
3. Comparaison de la mesure de la leucospermie :	42
4. Arbre décisionnel :	43
DISCUSSION :	47
CONCLUSION:	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:	55
Annexe I : Normes du spermogramme - spermocytogramme	59
Annexe II : Table de Ricos	60
Annexe III: SH FORM Concentration de spermatozoïdes	61
Annexe IV: SH FORM Mobilité spermatique	73
Annexe V : SH FORM Morphologie spermatique	86

Liste des tableaux et des figures

TABLEAUX :

Tableau I : Données de Répétabilité.....	34
Tableau II : Données de fidélité intermédiaire.....	35
Tableau III : Résumé des résultats de la comparaison de méthodes.....	41
Tableau IV : Résumé de la performance diagnostique des bandelettes.....	43

FIGURES :

Figure 1 : Plan expérimental de l'étude.....	20
Figure 2 : Automate SQA-Vision®.....	22
Figure 3 : Capillaire de mesure.....	24
Figure 4 : Mesure optoélectronique du SQA-Vision®.....	26
Figure 5 : Mobilité des spermatozoïdes.....	27
Figure 6 : Morphologie des spermatozoïdes.....	29
Figure 7 : Cellules rondes positives à la peroxydase.....	30
Figure 8 : Bandelette QwickCheck™ Test strips et photographie du nuancier.....	31
Figure 9 : Comparaison des méthodes de mesure de la concentration de spermatozoïdes.....	37
Figure 10 : Comparaison des méthodes de mesure de la mobilité spermatique totale.....	38
Figure 11 : Comparaison des méthodes de mesure de la mobilité spermatique progressive.....	39
Figure 12 : Comparaison des méthodes de mesure de la forme typique des spermatozoïdes.....	40
Figure 13 : Photographie des nuances de couleurs des bandelettes de mesure des PNN.....	42
Figure 14 : Arbre décisionnel.....	46
Figure 15 : Schéma résumé de l'incertitude de mesure du spermogramme-spermocytogramme.....	47

Liste des abréviations

- AMP : Assistance Médicale à la Procréation
- CASA : Computer-assisted sperm analysis
- CECOS : Centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme
- CHU : Centre hospitalier Universitaire
- CIQ : contrôle de qualité interne
- COFRAC : Comité français d'accréditation
- CV : Coefficient de variation
- DO : Densité optique
- EEQ : Contrôle qualité externe
- H : Heure
- ICC : Corrélacion intra-classe
- LED : Light emitting diode
- Min : Minutes
- mL : Millilitre
- μ L : Microlitre
- M/mL : Million par millilitre
- n : Nombre
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé
- PNN : Polynucléaire neutrophile
- SMI : Index de mobilité des spermatozoïdes
- SQA : Sperm quality analyzer
- SPZ : Spermatozoïdes
- TZI : Index de teratozoospermie
- vs. : *Versus*

INTRODUCTION :

L'organisation mondiale de la santé (OMS) définit l'infertilité par l'absence de grossesse après plus de 12 mois de rapports sexuels réguliers sans contraception (1). La prévalence de l'infertilité a considérablement augmenté au cours des dernières décennies. Elle touche entre 8 et 12 % des couples en âge de procréer dans le monde. Dans 20 à 30 % des cas, il s'agit d'une cause exclusivement masculine (2,3). On sait que la qualité du sperme est en relation directe avec la fertilité d'un homme. Or une baisse de la qualité du sperme a été observée au cours des 50 dernières années avec une diminution de la concentration de spermatozoïdes et du volume éjaculé (4) ainsi qu'une altération de la mobilité et du pourcentage de spermatozoïdes ayant une morphologie normale chez les hommes fertiles quel que soit leur âge (5,6).

Pour explorer l'infertilité masculine, l'examen de première intention est un spermogramme-spermocytogramme. Il permet d'établir des valeurs pour les paramètres spermatiques conventionnels dont les plus importants sont la concentration, la mobilité, la vitalité et la morphologie des spermatozoïdes dans l'éjaculat (7). Les normes de cet examen sont définies par le manuel de l'OMS (1). En plus d'être un examen rapide et non invasif, il permet d'orienter rapidement le médecin sur une potentielle cause masculine de l'infertilité du couple et aussi vers une technique d'assistance médicale à la procréation (AMP) (8). Cependant, cette prise en charge semble insuffisante pour qualifier et expliquer une infertilité masculine (9). En effet, certains patients ayant une concentration de spermatozoïdes inférieure aux valeurs normales arrivent à concevoir (10). A l'inverse, un grand nombre de patients présentant un examen spermiologique standard sans anomalie n'arrive pas à procréer (11). Cette discordance repose en partie sur la méthode de réalisation du spermogramme-spermocytogramme qui est liée à une variabilité intra et inter-laboratoires (12,13).

La méthode de référence pour réaliser l'examen de sperme est la méthode manuelle. L'étude de Keel *et al.* en 2000 qui a recensé plus d'une centaine de laboratoires des Etats-Unis, a montré que 79 % des laboratoires utilisaient cette méthode (12). Pour limiter la variabilité dans le rendu de résultats du spermogramme – spermocytogramme, les dernières recommandations de l'OMS de 2010 ont mis l'accent sur la standardisation de cet examen. En effet, en plus de détailler avec précision les procédures techniques, le référentiel de l'OMS a développé des procédures « qualité » avec la mise en place de contrôles internes et externes (12,14,15). Par ailleurs dans ce contexte de standardisation et d'objectivité de l'analyse du sperme, l'introduction de l'automatisation était une voie d'amélioration à développer.

Le premier système d'automatisation pour l'analyse du spermogramme, le système Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), est apparu dans les années 80 grâce au développement de l'informatique et des techniques d'imagerie (16). Ce système consiste en l'acquisition d'images successives d'un échantillon de sperme à l'aide d'un microscope équipé d'une caméra reliée à un ordinateur. Le logiciel permet ensuite de calculer la concentration de spermatozoïdes en les identifiant par leur taille et leur luminosité. Il permet également d'évaluer la mobilité des spermatozoïdes en suivant leur déplacement ainsi que la vitalité et la morphologie à l'aide d'une coloration adaptée. A ses débuts, même si le CASA promettait une mesure rapide et objective des différents paramètres spermatiques conventionnels (17), il n'a pas su répondre aux attentes des laboratoires. En effet, plusieurs travaux ont montré les biais et les limites de ce système. Le guide de bonnes pratiques définit par l'ESHRE en 1998 sur l'application du CASA pour le spermogramme considère son utilisation limitée (18). Johnson *et al.* ont mis en évidence que le système CASA n'était précis et comparable avec la méthode manuelle que pour des concentrations en spermatozoïdes comprises entre 20 et 150 millions par millilitre (M/mL) (19) et que des variations de mesure existaient au sein d'une même chambre de comptage (20). Davis *et al.* n'obtenaient pas

de résultats comparables entre la mobilité mesurée manuellement et la mobilité mesurée par le CASA, lié en partie à la densité de spermatozoïdes présents dans la chambre de lecture du CASA qui influence la mesure (21). De plus, l'analyse n'est pas entièrement automatisée, car un opérateur est nécessaire pour adapter les conditions de réglage et d'acquisition des images, ce qui entraîne donc des variabilités inter-opérateurs et une subjectivité dans les résultats (22). Enfin, une autre limite de ce système est liée au fait que sa détection est basée sur la taille et la luminosité des têtes des spermatozoïdes. Le sperme contenant généralement des cellules rondes et des débris cellulaires, ces derniers peuvent être confondus avec des têtes spermatiques et engendrer des erreurs de mesure, notamment une surestimation du nombre de spermatozoïdes et une sous-estimation de la mobilité (23). Depuis, le système CASA a évolué, mais l'introduction de cet automate dans les laboratoires reste faible et lente (24). De plus, une étude récente (25) qui a comparé le système CASA à la technique manuelle a mis en évidence des différences significatives de mesures pour la concentration, la mobilité progressive et la morphologie des spermatozoïdes, concluant que le CASA ne pourrait être utilisé que comme un outil de dépistage pour des laboratoires non spécialisés en spermologie. Son coût important a aussi été un frein pour sa mise en place dans la plupart des laboratoires (26). Au final, malgré le fait que son utilisation soit encadrée par les recommandations de l'OMS 2010, son développement reste limité.

Plus récemment, un deuxième système s'est développé, le système Sperm Quality Analyser (SQA). Il repose sur l'analyse spectrophotométrique d'un signal lumineux transmis à travers un capillaire contenant l'échantillon de sperme à étudier. La mesure des paramètres spermatiques est rapide, moins de 2 minutes, et l'analyse d'un plus grand nombre de cellules par rapport à la méthode manuelle, permet de gagner en précision et de limiter la variabilité liée à la subjectivité de l'opérateur. Dans un premier temps, ce système a été développé pour la médecine vétérinaire. En effet, l'augmentation des inséminations artificielles chez les bovins a nécessité le besoin d'un outil

rapide et objectif pour mesurer la concentration et la mobilité des spermatozoïdes (27–29). Une amélioration continue de ce système a permis des évolutions de versions pour la médecine, permettant de mesurer la concentration, la mobilité totale et la morphologie des spermatozoïdes humains (30–36). Les deux dernières versions de l'automate, le SQA-V Gold® puis le SQA-Vision®, distinguent la mobilité totale et progressive des spermatozoïdes et sont discriminantes quant à la présence de débris et de cellules rondes. Toutefois des questions persistent quant à l'utilisation de ce système en spermiologie diagnostique humaine. L'équipe de Lammers *et al.* (2014) qui a étudié le SQA-V Gold®, a conclu que celui-ci pouvait être utilisé comme un outil à part entière dans un laboratoire mais sans statuer sur son utilisation pratique. Engel *et al.* (2019) ont montré des résultats peu satisfaisants de la dernière version de l'automate, le SQA-Vision® en le comparant avec la technique manuelle, les conduisant à ne pas indiquer son utilisation au laboratoire. Ainsi d'autres études sont nécessaires pour évaluer la mise en place d'un tel système dans un laboratoire diagnostique, tout en respectant les exigences requises par les normes en vue de l'accréditation.

Ainsi, l'objectif de cette étude était de caractériser les performances de l'automate SQA-Vision® en comparaison à la méthode manuelle de référence. Pour cela, nous avons réalisé une vérification de méthode selon les recommandations élaborées par le Comité Français d'accréditation (COFRAC). Enfin, la mise en place d'un arbre décisionnel et le bilan des avantages et des inconvénients de l'automate nous ont permis de définir sa place au sein du laboratoire de spermiologie diagnostique humaine.

MATERIEL ET METHODES :

1. Population et plan expérimental :

Cette étude s'est déroulée au laboratoire de spermologie diagnostique, dans le service de Biologie de la Reproduction, Assistance Médicale à la procréation (AMP) – CECOS (Centre d'Etude et de Conservation des Œufs et du Sperme) de l'Hôpital Estaing du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Clermont-Ferrand, entre juin et septembre 2019. Tous les patients se présentant au laboratoire pour réaliser un spermogramme-spermocytogramme à visée diagnostique étaient inclus dans l'étude (**Figure 1**). Les échantillons issus du recrutement des patients ont été anonymisés à *posteriori*. Les patients ont été informés et ont exprimé leur consentement oral pour justifier leur non opposition (Article L 1211-2 du Code la Santé Publique). Cette étude a été approuvée par le comité scientifique « Germethèque »(CPP Sud-Est 6, DC2008-DC58).

Les prélèvements s'effectuaient directement au laboratoire pour la réalisation d'un spermogramme-spermocytogramme dans l'heure suivant le prélèvement, selon les normes de l'OMS 2010. La méthode de référence était l'analyse manuelle des paramètres spermatiques. Les paramètres évalués dans l'étude étaient : la concentration de spermatozoïdes, la mobilité progressive et totale (le pourcentage de spermatozoïdes progressifs et le pourcentage total de spermatozoïdes mobiles), la morphologie des spermatozoïdes (le pourcentage de spermatozoïdes de forme typique), ainsi que la concentration de polynucléaires neutrophiles (PNN). Les critères d'exclusion étaient : les échantillons avec un volume inférieur à 1 millilitre (mL), les patients qui présentaient une azoospermie et les recueils incomplets.

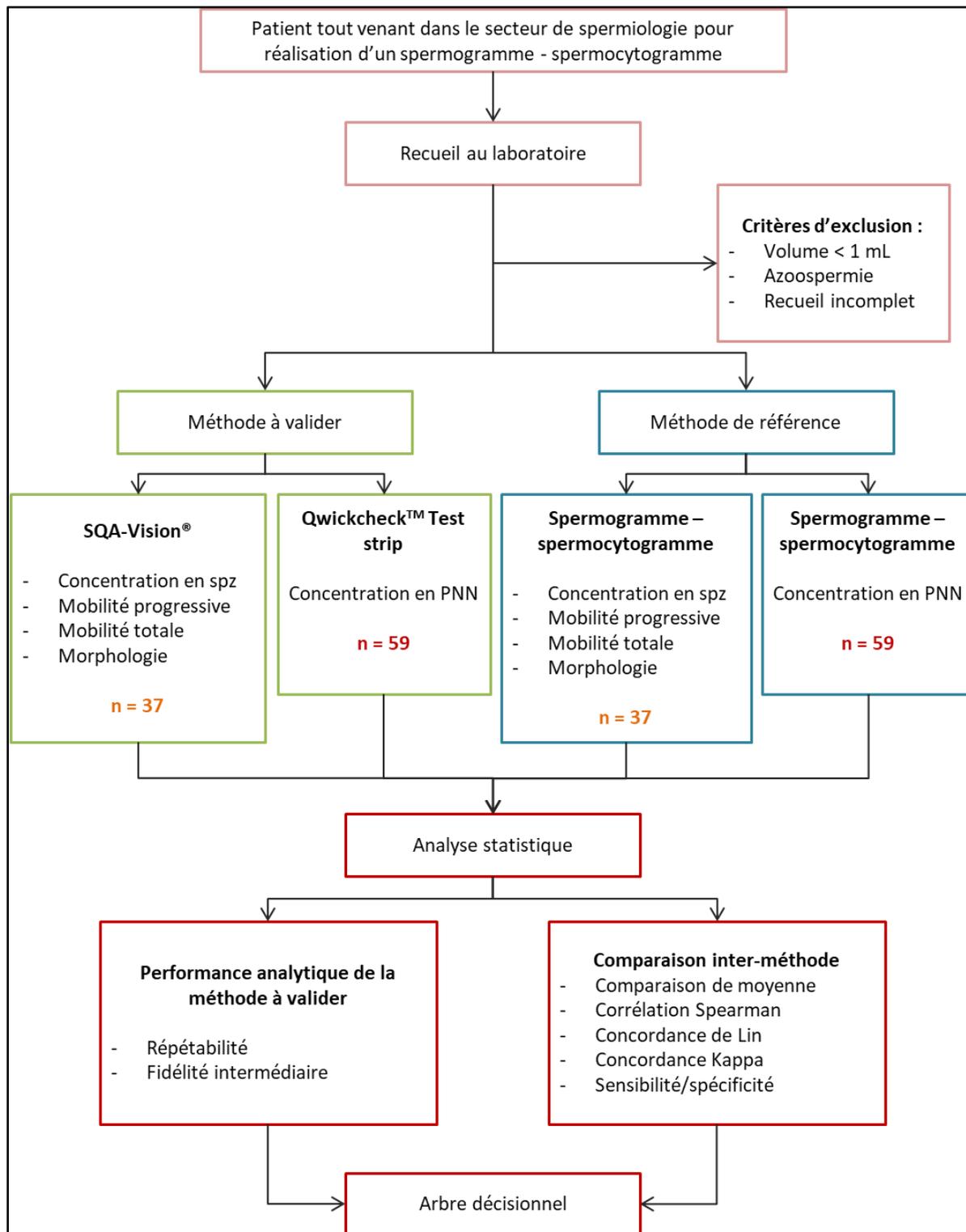


Figure 1 : Plan expérimental de l'étude

Les sujets inclus dans l'étude sont des patients se présentant dans le service de Biologie de la Reproduction pour réaliser un spermogramme – spermocytogramme par méthode manuelle (référence). Les reliquats d'éjaculats non exclus étaient analysés par le SQA-Vision® pour la mesure de la concentration, de la mobilité progressive et totale et de la morphologie des spermatozoïdes et par les bandelettes Qwickcheck™ pour la concentration de PNN. La performance intrinsèque de l'automate et la comparaison inter- méthodes ont été analysées statistiquement afin de définir un arbre décisionnel. n : nombre ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; spz : spermatozoïdes.

Dans l'heure suivant le prélèvement, un opérateur indépendant a réalisé les analyses à valider sur les reliquats d'éjaculat. Trente-sept patients ont été inclus pour comparer la concentration de spermatozoïdes, la mobilité progressive et totale, et la morphologie spermatique par la méthode de référence *versus (vs.)* par l'automate SQA-Vision®. Cinquante-neuf patients ont été inclus pour comparer la concentration de PNN obtenue par la méthode de référence vs. les bandelettes QwickCheck™ Test strips (réf. 0700, Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie). Les reliquats d'échantillons ont été aussi utilisés pour l'évaluation des performances de l'automate SQA-Vision®.

Les données obtenues ont été analysées statistiquement pour évaluer les performances intrinsèques de l'automate par la mesure de la répétabilité et la fidélité intermédiaire et pour comparer les deux méthodes entre elles. Les résultats obtenus à partir de ces analyses nous ont permis de déterminer les limites analytiques de l'automate par rapport à notre méthode de référence. Un arbre décisionnel a pu être défini quant à l'utilisation de cet automate au sein du laboratoire.

2. Traitement des échantillons :

Les échantillons ont été obtenus par masturbation, après un délai d'abstinence de 2 à 7 jours. Le recueil s'effectuait dans un pot de prélèvement stérile, et un membre du laboratoire s'assurait du recueil complet ou non de l'éjaculat. Ils étaient ensuite placés dans une étude sèche à 37°C au moins 20 minutes (min) jusqu'à maximum 1 heure (h) pour atteindre la liquéfaction.

2.1 Méthode de référence :

Un spermogramme-spermocytogramme a été réalisé manuellement par les techniciens habilités selon les normes du guide de l'OMS 2010 (1) et la classification morphologique internationale de

Kruger (39). Cette analyse comprenait une mesure du volume, du pH et de la viscosité de l'éjaculat ; une estimation de la présence d'agglutinats et d'agglomérats ; une mesure de la concentration en spermatozoïdes, en cellules rondes et en PNN ; la mobilité à 1h et 3h ; la vitalité ; et la morphologie des spermatozoïdes. Les valeurs normales avec la définition des anomalies décrites par le guide de l'OMS sont présentées en **annexe I**. Toutes les analyses du spermogramme-spermocytogramme sont accréditées depuis 2015. Le maintien des compétences des techniciens est soumis à l'évaluation de leurs performances à l'aide des contrôles de qualité externes (EEQ) et internes (CIQ).

2.2 Méthode à valider :

Le SQA-Vision® combine des analyses spectrophotométriques, une observation microscopique et des algorithmes (**Figure 2**). La gamme de mesures de l'automate déclarée par le fournisseur était pour la concentration de spermatozoïdes de 2 à 400 M/mL, pour la mobilité spermatique de 0 à 100 % et pour la morphologie spermatique de 2 à 30 % selon la classification de Kruger.

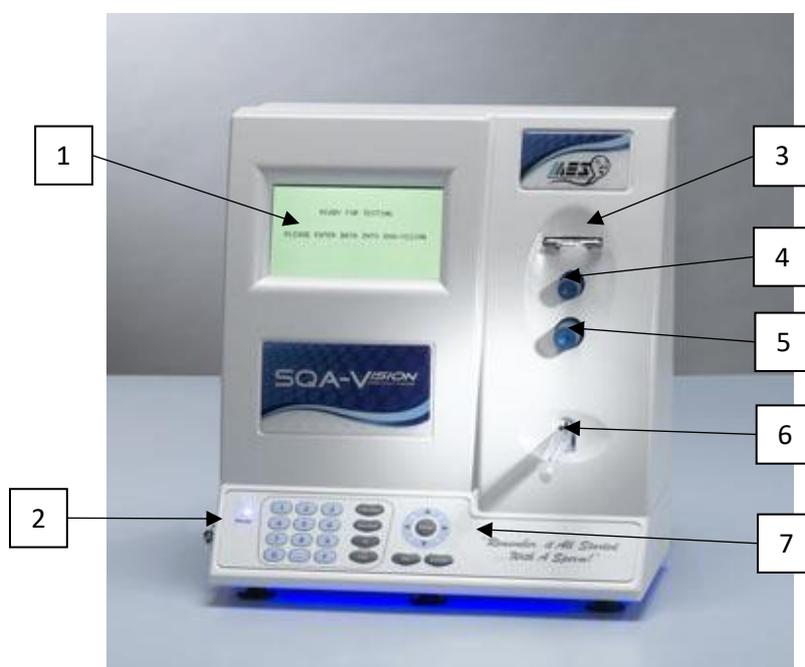


Figure 2 : Automate SQA-Vision® (Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie)

Photographie issue du guide d'utilisation SQA-Vision® version 105.13.6.

1 : Ecran d'affichage ; 2 : Port I-Button ; 3 : Compartiment de visualisation pour lames avec un grossissement x400 ; 4 : Molette pour réglage du champ de visualisation ; 5 : Molette pour réglage de la netteté ; 6 : Compartiment de mesure du capillaire ; 7 : Zoom grossissement x1118-x1725.

Après avoir renseigné dans le logiciel les informations du patient et de l'échantillon (identité, délai d'abstinence, heure du recueil), il était nécessaire d'indiquer les paramètres spermatiques non mesurés par l'automate, à savoir le volume, le pH et la présence ou non d'une leucospermie, c'est-à-dire une concentration de PNN dans le sperme supérieure à 1 M/mL. Pour cette dernière, le fournisseur proposait les bandelettes QwickCheck™ Test strips (réf. 0700, Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie). Si la concentration de PNN était supérieure à 1 M/ml, le liquide séminal absorbait différemment la lumière ce qui pouvait entraîner une analyse erronée.

De plus, l'automate possède un scan des débris cellulaires qui se déclenche pendant l'analyse selon des paramètres définis, pour estimer la proportion de cellules rondes et de débris par rapport au nombre de spermatozoïdes. Cette estimation qualitative se faisait en déposant 20 microlitres (μ l) d'échantillon entre lame et lamelle, suivi d'une observation sur l'automate. Celui-ci permet cette analyse grâce à un compartiment de visualisation avec un grossissement x400. Cette estimation et la détermination de la présence ou non d'une leucospermie étaient indispensables pour adapter le programme d'analyse.

L'analyse s'effectuait avec un volume total de 500 μ L d'éjaculat, après homogénéisation rigoureuse, à l'aide d'un capillaire composé de 2 chambres : la première correspondait à une cuvette de 450 μ L et la seconde à une partie plus fine acceptant un volume de 20 μ L (**Figure 3**).

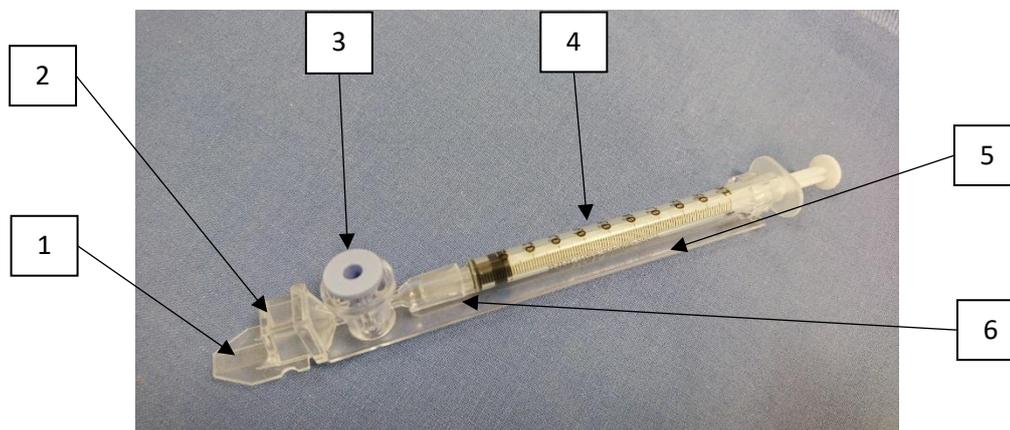


Figure 3 : Capillaire de mesure (Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie)

1 : Canal de mobilité pour mesurer la mobilité (20 μ l d'échantillon) ; 2 : Cuvette pour mesurer la concentration (450 μ l d'échantillon) ; 3 : Valve bleue de séparation ; 4 : Seringue ; 5 : Glissière ; 6 : Adaptateur.

L'absence de bulles d'air était primordiale lors du remplissage du capillaire. Les résultats étaient obtenus après 72 secondes. Des contrôles qualité internes utilisant des solutions contenant des billes de latex Qwick Check™ Beads (réf. 0200, Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie) étaient passés de manière hebdomadaire selon les recommandations du fournisseur. Le coffret comprenait deux flacons de suspensions aqueuses de billes de latex de concentrations connues, 25 et 50 M/mL et un flacon de diluant sans billes pour servir de contrôle négatif.

3. Evaluation des performances de l'automate :

Etant donné la nature de l'échantillon et l'altération rapide des paramètres spermatiques avec le temps, le nombre de mesures était limité tant pour la répétabilité que pour la fidélité intermédiaire et notamment pour les mesures de mobilité spermatique.

3.1 Mesure de la répétabilité :

La répétabilité correspond à l'analyse d'un « *même échantillon dans les conditions suivantes : même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage dans un délai le plus court possible. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions*

optimales et de vérifier le bon fonctionnement du système (instrument/réactif) pour l'analyte concerné. » (40).

La répétabilité a été analysée sur 10 mesures pour la concentration et 4 pour la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes. Les mesures ont été réalisées, pour un même échantillon, avec le même capillaire pour la concentration, la mobilité progressive et totale, et la morphologie spermatique. Des niveaux «bas», «moyen» et «haut» pour chaque paramètre ont été sélectionnés selon les valeurs définies dans le guide de l'OMS 2010 (1). Le référentiel retenu pour les critères d'acceptabilité était la table de Ricos *et al.* (41) présentée en **annexe II**.

3.2 Mesure de la fidélité intermédiaire :

La fidélité intermédiaire, correspondant à la reproductibilité intra-laboratoire, correspond à l'analyse d'un « *même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs : l'opérateur, le temps, le lot de réactifs, les étalonnages...* » (40)

Pour notre validation de méthode, nous avons effectué 3 mesures sur un même échantillon, avec un capillaire différent et un membre du laboratoire différent. Des échantillons avec des niveaux «moyen» et «haut» ont été analysés pour couvrir différents niveaux de mesure pour chaque paramètre.

Les fidélités intermédiaires mesurées ont permis le calcul de l'incertitude de mesure (pour plus de détails voir paragraphe 5 Analyses statistiques).

4. Evaluation inter-méthodes :

Dans le cadre de la validation de la méthode, nous avons comparé les méthodes manuelles de dosage utilisées par les membres du laboratoire à celles de l'automate pour 37 prélèvements de qualité aléatoire. La mesure semi-quantitative de la leucospermie des bandelettes du fournisseur a été comparée à la mesure en méthode manuelle pour 59 prélèvements aléatoires.

4.1 Concentration en spermatozoïdes :

4.1.1 *Méthode de référence :*

La concentration des spermatozoïdes a été mesurée à l'aide d'une cellule de Thoma. Une dilution de l'échantillon était effectuée par une solution de fixation avant dénombrement sous microscope au grossissement x400. Pour chaque mesure, 2 comptages ont été réalisés et la différence entre les 2 mesures était calculée pour déterminer si elle était acceptable, tel que préconisé par l'OMS 2010. Dans le cas contraire, un 3^{ème} compte par un second membre du laboratoire était réalisé. En parallèle, les cellules rondes étaient comptées selon les mêmes modalités.

4.1.2 *Méthode à valider :*

La concentration spermatique était mesurée dans la cuvette de 450 µl qui était traversée par un faisceau émis par une diode électroluminescente (LED) à une longueur d'onde spécifiquement absorbée par les spermatozoïdes. Un détecteur optique mesurait la quantité de lumière absorbée et la convertissait en densité optique (DO) qui était ensuite transformée en concentration de spermatozoïdes à l'aide d'un algorithme (**Figure 4**, représenté en bleu sur la figure).

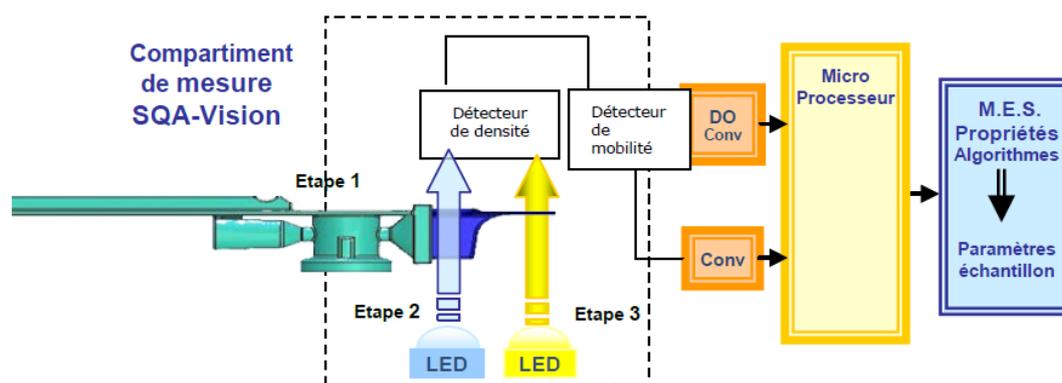


Figure 4 : Mesure optoélectronique du SQA-Vision® (Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie)

Image issue du guide d'utilisation SQA-Vision® version 105.13.6.

DO : densité optique ; LED : light-emitting diode.

4.2 Mobilité des spermatozoïdes :

4.2.1 *Méthode de référence :*

La mobilité des spermatozoïdes a été appréciée entre lame et lamelle en déposant 20 μl d'échantillon. L'évaluation était réalisée avec un microscope au grossissement x400, sur platine chauffante. La mobilité était effectuée en 2 fois sur au moins 100 spermatozoïdes, et chaque spermatozoïde était classé dans la catégorie a, b, c ou d selon la mobilité observée (**Figure 5**). La catégorie « a » regroupait les spermatozoïdes avec une trajectoire rectiligne et un mouvement dit fléchant (rapide et progressif). Les spermatozoïdes lents ou faiblement progressifs étaient classés dans la catégorie « b ». Les spermatozoïdes mobiles mais non progressifs, c'est-à-dire oscillant sur place, étaient comptés dans la catégorie « c ». Enfin les spermatozoïdes immobiles étaient classés dans la catégorie « d ». La mobilité progressive regroupe les catégories a et b, tandis que la mobilité totale regroupe les catégories a, b et c. Si la différence entre 2 comptes n'était pas acceptable selon les normes de l'OMS, un 3^{ème} compte en aveugle par un 2nd membre du laboratoire était effectué.

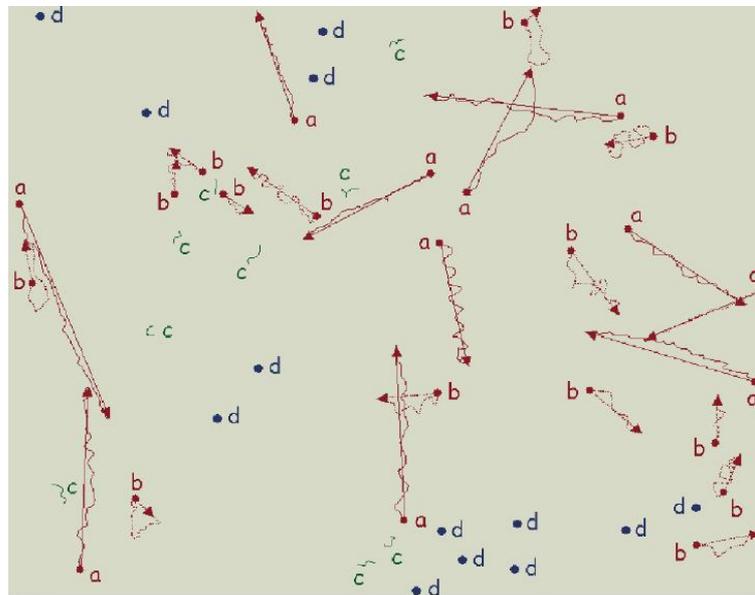


Figure 5 : Mobilité des spermatozoïdes

Trajectoires/traces de spermatozoïdes dans un champ microscopique après un intervalle de temps Δt . Trajectoires de spermatozoïdes à progression rapide et linéaire (a) ; à progression lente ou peu linéaire (b) ; non progressifs (c) ; spermatozoïdes immobiles (d). Image issue du Cahier Bioforma n°42 (42).

4.2.2 *Méthode à valider :*

La mobilité spermatique était mesurée grâce à un deuxième canal LED qui envoyait un faisceau lumineux traversant la partie fine du capillaire. Le déplacement des spermatozoïdes créait des perturbations lumineuses qui étaient transformées en signaux électriques, ensuite analysés par un logiciel pour les convertir en pourcentage de mobilité spermatique progressive et totale (**Figure 4**, représenté en jaune sur la figure).

4.3 Forme typique des spermatozoïdes :

4.3.1 *Méthode de référence :*

Le spermocytogramme a été réalisé sur des cellules fixées sur une lame, après coloration selon la méthode modifiée de Harris-Shorr (**Figure 6**). La lecture des lames a été faite au microscope au grossissement x1000 sous huile à immersion et la morphologie des spermatozoïdes a été étudiée selon la classification de Kruger (39). Elle était répartie en 4 classes d'anomalies de la morphologie des spermatozoïdes : les formes atypiques A regroupaient les anomalies de la tête, les formes atypiques B regroupaient les anomalies de la pièce intermédiaire, les formes atypique C regroupaient les anomalies du flagelle et les formes atypique D regroupaient les spermatozoïdes avec présence de résidus cytoplasmiques. Cela a permis d'obtenir l'index de tératozoospermie (TZI) (correspondant à la somme des anomalies constatées sur chaque spermatozoïde par le nombre de spermatozoïdes observés). Les spermatozoïdes qui présentaient une morphologie normale étaient classés en forme typique. Deux comptages sur 100 spermatozoïdes ont été effectués et si la différence n'était pas acceptable selon les normes de l'OMS, un 3^{ème} comptage en aveugle par un 2nd membre du laboratoire était réalisé.

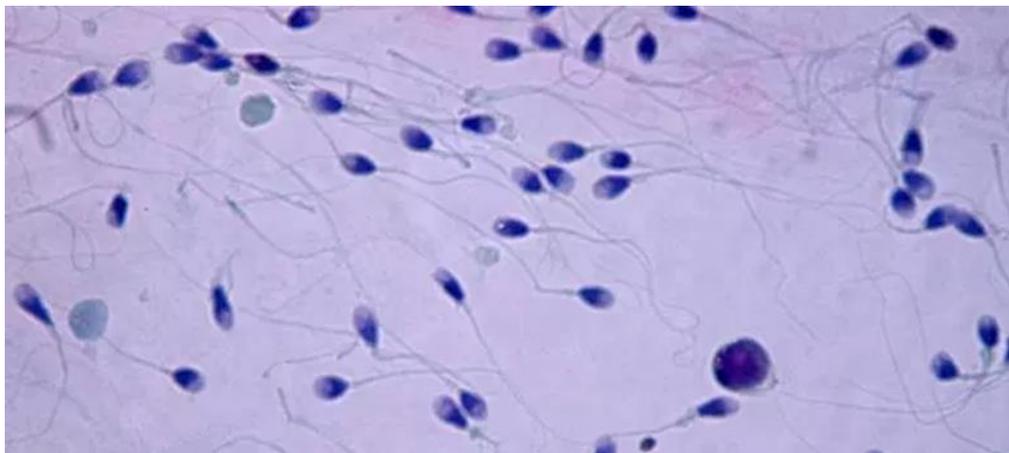


Figure 6 : Morphologie des spermatozoïdes

Coloration de spermatozoïdes selon Harris-Shorr modifiée pour analyse de la morphologie des spermatozoïdes, grossissement x1000.

4.3.2 *Méthode à valider :*

L'automate permettait de rendre le pourcentage de forme typique du sperme selon la classification de Kruger, mais il ne s'agissait pas d'une mesure directe. Le pourcentage était obtenu à l'issu d'une corrélation entre la morphologie et la mobilité progressive. Le SQA-Vision® ne fournissait donc pas de TZI.

4.4 Concentration de PNN :

4.4.1 *Méthode de référence :*

Le pourcentage de PNN a été apprécié après une coloration à la benzidine-cyanosine (Kit Leucoscreen, Fertipro, N.V. Belgique) à partir de la numération des cellules rondes réalisée en cellule de Thoma sous les mêmes modalités et même temps que la numération des spermatozoïdes. Il s'agissait d'une mesure histochimique semi-quantitative pour déterminer les leucocytes positifs à la peroxydase dans le sperme : les granules des PNN contiennent de la peroxydase. Celle-ci catalyse le peroxyde d'hydrogène dans l'eau et des ions d'oxygènes libres vont à leurs tours oxyder la benzidine, qui prend une couleur marron. Les cellules rondes positives à la peroxydase qui prennent donc une couleur marron sont des PNN (**Figure 7**). Un comptage a été réalisé sur 100 cellules en différenciant

les cellules positives à la peroxydase des autres cellules rondes. Le pourcentage de cellules rondes positives à la peroxydase a été déterminé puis la concentration en PNN calculée à partir de la numération en cellules rondes.

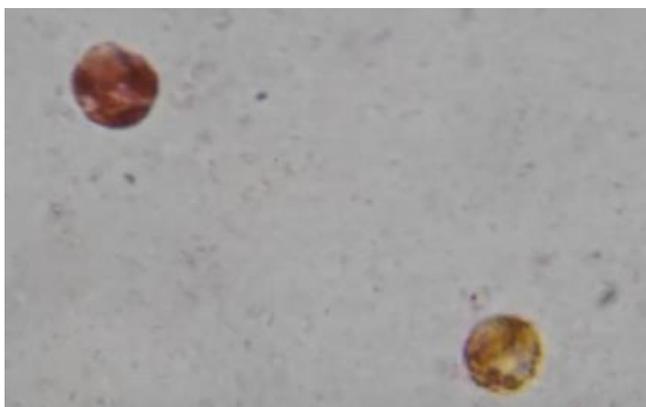


Figure 7 : Cellules rondes positives à la peroxydase
Deux cellules rondes positives à la peroxydase (Kit Leucoscreen, Fertipro, N.V. Belgique)

4.4.2 Méthode à valider :

Les bandelettes QwickCheckTM Test strips (Ref 0700, Medical Electronic Systems, Los Angeles, Californie) détectaient la présence ou non d'une leucospermie (**Figure 8**). Lorsqu'il y avait des PNN à plus de 1 million/mL dans le sperme, la bandelette, incolore au départ, se colorait en violet. Ce changement de couleur était dû à une réaction chimique/enzymatique provoquée par la présence de l'estérase dans les granulocytes. L'estérase hydrolyse l'acide ester indoxylcarbonique pour produire l'indoxyl, qui va réagir avec le sel de diazonium pour produire une coloration violette. Si la concentration était inférieure à 1 M/mL, la bandelette ne changeait pas de couleur. Après homogénéisation du prélèvement, une goutte était déposée à l'aide d'une pipette sur la zone de la bandelette. La lecture avait lieu une minute après avoir déposé la goutte. La couleur obtenue était comparée au nuancier présent sur l'étiquette du flacon (**Figure 8**).

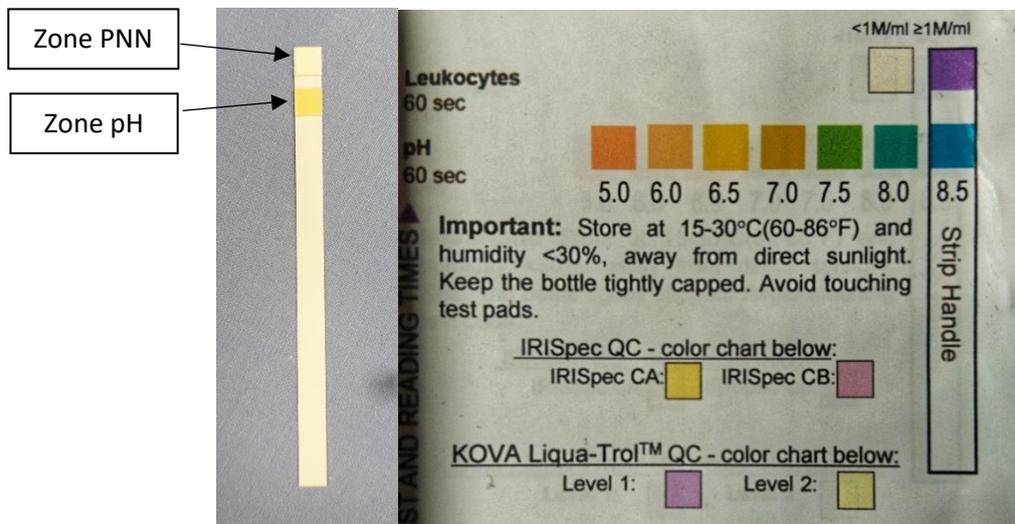


Figure 8 : Bandelette QwickCheck™ Test strips et photographie du nuancier.
PNN = Polynucléaires neutrophiles

5. Analyses statistiques :

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Stata (version 13, StataCorp, College Station, USA). Tous les tests statistiques ont été considérés pour un risque d'erreur de 1^{ère} espèce bilatéral de 5 %. Les données catégorielles étaient exprimées en effectifs et fréquences tandis que les données quantitatives étaient présentées par la moyenne \pm l'écart-type à la moyenne (SEM), au regard de la distribution statistique. La normalité a été étudiée par le test de Shapiro-Wilkes.

La performance de l'automate, en termes de répétabilité et de fidélité intermédiaire, a été mesurée par le coefficient de variation (CV) et comparée à la table de Ricos. Quand les effectifs n'étaient pas adaptés pour calculer le CV, le coefficient de corrélation intra-classe (ICC) était estimé par le modèle mixte, prenant en compte l'effet échantillon comme aléatoire.

La comparaison inter-méthodes (automate et technique manuelle) a été analysée par estimation du coefficient de corrélation (Spearman, au regard de la distribution statistique) et coefficient de concordance de Lin pour les variables de nature quantitative, et par calcul du coefficient de concordance Kappa, en complément du taux de concordances, lorsque les paramètres ont été considérés comme catégoriels à partir des seuils définis par les normes de l'OMS 2010. L'interprétation de ces résultats a été réalisée au regard des recommandations rapportées

habituellement dans la littérature à savoir : $<0,2$ (concordance négligeable), $0,2-0,4$ (concordance faible), de $0,4$ à $0,6$ (concordance modérée), $0,6-0,8$ (concordance bonne) et $\geq 0,8$ (concordance excellente) (43,44). Par ailleurs, pour les variables quantitatives, des tests appariés (Student ou le cas échéant Wilcoxon) ont été considérés afin de comparer les valeurs moyennes obtenues par les deux méthodes. Les résultats ont été représentés par méthode de Bland et Altman, avec présentation du biais moyen (différence entre méthodes) et de l'intervalle de confiance à 95% associé sous la forme d'un diagramme des différences. La différence a été comparée entre groupes indépendants par le t-test de Student ou le test de Mann-Whitney si les conditions du t-test n'étaient pas respectées. L'homoscédasticité a été étudiée par le test de Fisher-Snedecor. Pour les données catégorielles, les valeurs de sensibilité et de spécificité ont été calculées et décrites avec leur intervalle de confiance à 95%. L'incertitude de mesure a été calculée en prenant la racine carrée de la somme quadratique des composantes issues de l'incertitude relative aux résultats des fidélités intermédiaires d'une part, et de l'étalon fournisseur d'autre part (45). Les limites de suivi ont été rapportées sur le diagramme des différences et calculées en prenant la racine carrée de la somme du triple de l'écart type de la fidélité intermédiaire de l'automate et du triple de l'écart-type de la fidélité intermédiaire de la méthode manuelle obtenue à partir des CIQ (40).

Une analyse en sous-groupes a été proposée en reprenant les analyses décrites précédemment selon la concentration des échantillons et le biais observé. Au vu des effectifs, ces résultats étaient principalement exploratoires, et leur interprétation doit rester prudente.

6. Arbre décisionnel :

Les résultats obtenus ont permis de définir les performances de l'automate ainsi que les limites de celui-ci par rapport à la méthode utilisée en routine. Un des objectifs de ce travail était d'établir d'une part les seuils limites par rapport aux résultats obtenus pour chaque paramètre rendu par le SQA-Vision®, et d'autre part de réorganiser les analyses non réalisées par l'automate pour obtenir un

spermogramme-spermocytogramme complet. Un arbre décisionnel a été mis en place pour définir l'utilisation de l'automate.

7. Validation de méthodes :

L'objectif final de ce travail était d'accréditer l'automate dans le service pour les examens de spermiologie diagnostique. Concernant le spermogramme-spermocytogramme réalisé par le SQA-Vision®, la méthode était de type quantitatif car elle fournissait un résultat chiffré à partir de la mesure d'un signal en relation direct avec la quantité. La demande d'accréditation correspondait dans ce contexte à une demande de portée flexible standard A pour une méthode de dosage quantitatif. La justesse et l'exactitude de mesures seront effectuées lors du suivi de validation de méthodes compte tenu de l'absence respectivement de CIQ externalisés et d'EEQ lors de la validation initiale.

RESULTATS :

1. Evaluation de la performance intrinsèque de l'automate :

1.1. Répétabilité :

La répétabilité a été évaluée pour chaque paramètre mesuré par le SQA-Vision® et les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau I**. Les CV obtenus pour les trois niveaux des paramètres concentration, mobilité totale et morphologie spermatique étaient conformes par rapports aux CV définis par la table de Ricos (41). Concernant la mobilité spermatique progressive, les CV des niveaux « moyen » et « haut » étaient également conformes. Le CV du niveau « bas » (76,6 %, **Tableau I**) pour une mobilité progressive moyenne de 1,3 %, était fortement supérieur au CV acceptable défini par la table de Ricos, et donc non conforme. Le coefficient de corrélation intra-classe (ICC) mesuré à partir de toutes les répétabilités réalisées pour chaque analyse, tous niveaux confondus, était à 0,96, ce qui signifiait que les données pour un même échantillon se ressemblaient à 96 %. Au final, étant donné que la valeur de 1,3 % du niveau « bas » de la mobilité progressive était très inférieure au seuil de normalité de 32 % et sans ambiguïté quant à l'interprétation clinique malgré son CV, et que l'ICC était acceptable, la méthode était jugée conforme pour le paramètre mobilité progressive.

L'automate SQA-Vision® était donc répétable pour l'ensemble des paramètres mesurés.

	Niveau « bas »		Niveau « moyen »		Niveau « haut »		Ricos
	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	CV (%)
Concentration de spz (million/mL)	7,4	11,6	22,4	2,5	88,0	1,6	13,4
Mobilité totale (%)	16,5	6,1	34,8	2,8	52,5	3,3	9,2
Mobilité progressive (%)	1,3	76,6	32,3	3,9	37,3	2,6	7,8
Forme typique (%)	2,0	0,0	6,3	8,0	8,8	5,7	9,8

Tableau I : Données de répétabilité

Présentation des mesures de répétabilité pour chaque paramètre spermatique (concentration, mobilité progressive et totale et forme typique) pour 3 niveaux (« bas », « moyen », « haut ») sous forme de coefficient de variation (CV). Les CV de référence sont définis par la table de Ricos.

1.2. Fidélité intermédiaire :

La fidélité intermédiaire a été évaluée pour chaque paramètre mesuré par le SQA-Vision® et les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau II**. Les CV obtenus pour les deux niveaux des paramètres concentration de spermatozoïdes, mobilité totale et progressive étaient conformes par rapports au CV définis par la table de Ricos. Pour la morphologie spermatique, le CV de niveau « haut » était également conforme. Le CV de niveau « moyen » (10,8 %, **Tableau II**) pour un pourcentage moyen de 5,3 % de spermatozoïdes typique était supérieur au CV de la table de Ricos et n'était donc pas conforme. Toutefois cette valeur est sans ambiguïté quant à l'interprétation clinique malgré son CV élevé, toutes les mesures réalisées étant supérieures au seuil de 4 % défini par l'OMS 2010. La méthode était également jugée reproductible pour le paramètre forme typique. **L'automate SQA-Vision® était donc reproductible pour l'ensemble des paramètres mesurés.**

	Niveau « moyen »		Niveau « haut »		Ricos
	Moyenne	CV (%)	Moyenne	CV (%)	CV (%)
Concentration de spz (million/mL)	22,2	0,7	71,5	1,9	13,4
Mobilité totale (%)	49,7	4,2	68,0	2,5	9,2
Mobilité progressive (%)	43,3	3,5	48,7	1,2	7,8
Forme typique (%)	5,3	10,8	11,0	0,0	9,8

Tableau II : Données de fidélité intermédiaire

Présentation des mesures de fidélité intermédiaire pour chaque paramètre spermatique (concentration, mobilité progressive et totale, et forme typique) pour 2 niveaux (« moyen » et « haut ») sous forme de coefficient de variation (CV). Les CV de référence sont définis par la table de Ricos.

Concernant l'incertitude de mesure de la concentration de spermatozoïdes, nous avons calculé une incertitude relative de 0,7 M/mL. Celle du fournisseur étant de 1,4 M/mL, l'incertitude de mesure était mesurée à 3,1 M/mL (SH FORM Concentration de spermatozoïdes, **Annexe III**). Pour la mobilité spermatique totale, l'incertitude relative de la fidélité intermédiaire étant de 2,1 % et celle du fournisseur étant de 2,75 %, l'incertitude était mesurée à 6,9 % (SH FORM Mobilité spermatique, **Annexe IV**). Pour la mobilité spermatique progressive, l'incertitude de la fidélité intermédiaire étant de 1,5 % et celle du fournisseur étant de 2,75 %, l'incertitude était mesurée à 6,2 % (SH FORM Mobilité spermatique, **Annexe IV**). Enfin, pour la morphologie spermatique, l'incertitude de la

fidélité intermédiaire étant de 0,6 % et celle du fournisseur étant de 0,75 %, l'incertitude était mesurée à 1,9 % (SH FORM Morphologie spermatique, **Annexe V**).

2. Comparaison SQA-Vision® et méthode manuelle :

Pour comparer les résultats obtenus par la méthode manuelle et par la méthode automatisée, différents tests ont été réalisés :

- Une comparaison des moyennes et différences statistiques,
- Une analyse de concordance avec définition du biais entre les deux méthodes et de la limite de suivi,
- Une analyse de corrélation avec la détermination de la sensibilité et la spécificité.

Les résultats sont résumés dans le **tableau III**.

2.1. Population étudiée :

Trente-sept échantillons ont été inclus pour comparer les résultats du spermogramme-spermocytogramme obtenu par le SQA-Vision® vs. les techniques manuelles. La moyenne d'âge des hommes était de $34,97 \pm 1,23$ ans. Le volume moyen pour les prélèvements de sperme était de $4,29 \pm 0,33$ mL. Parmi ces échantillons, d'après l'analyse par techniques manuelles, 7 patients (18,92 %) étaient oligozoospermiques, dont 3 (8,11 %) avaient une concentration inférieure à 5 M/mL, 6 patients (16,22 %) étaient asthénozoospermiques et enfin 18 (48,65 %) patients avaient une térazoospermie.

2.2. Concentrations de spermatozoïdes :

Les moyennes des concentrations en spermatozoïdes mesurées par la méthode de référence et le SQA-Vision® étaient respectivement de $87,6 \pm 16,1$ M/mL et $75,67 \pm 10,8$ M/mL. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée ($p = 0,13$, **Tableau III**).

Le coefficient de concordance de la concentration de spermatozoïdes, mesuré à 0,84, était excellent (**Tableau III**). Le diagramme des différences montrait une sous-estimation de 11,91 M/ml

du SQA-Vision® par rapport à la méthode manuelle (**Figure 9A.** et **Tableau III**). Pour des concentrations de spermatozoïdes inférieures à 150 M/ml, la concordance était meilleure avec un coefficient de Lin mesuré à 0,94, et le biais entre les deux méthodes était diminué à 2,30 M/mL montrant une surestimation du SQA-Vision®. Pour des concentrations supérieures à 150 M/mL, la concordance mesurée était diminuée à 0,63 et le biais moyen mesuré était de 63,41 M/mL. Nous avons observé 8 points en dehors des limites de suivi : 3 sous-estimations et 5 surestimations (**Figure 9A**). Dans le même sens, la corrélation, avec un coefficient de corrélation à 0,93, était excellente (**Figure 9B**).

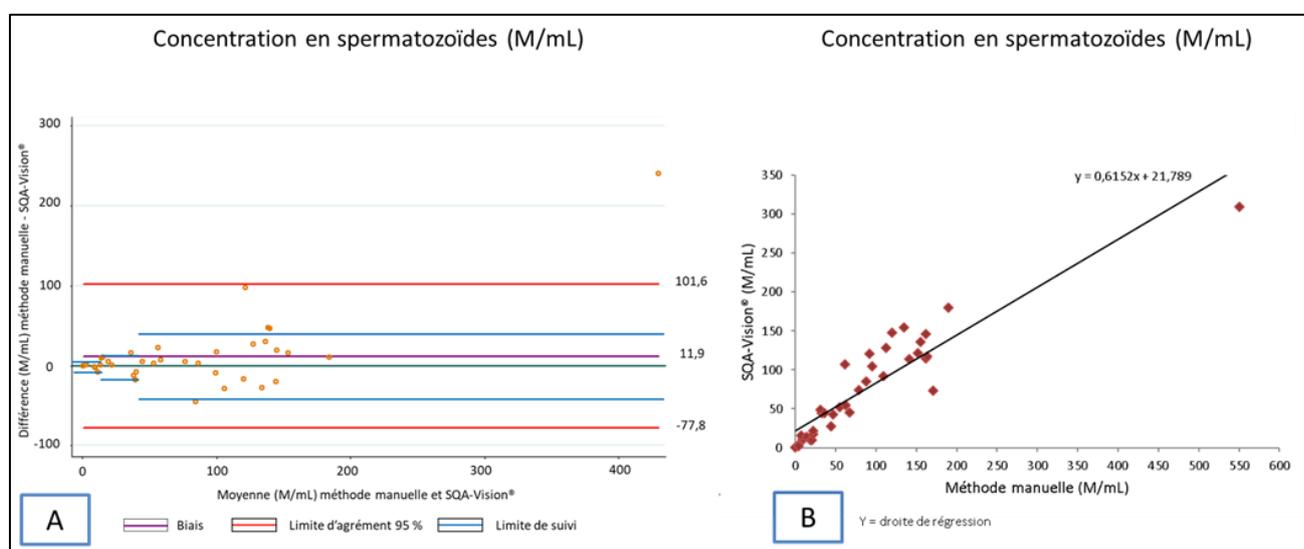


Figure 9 : Comparaison des méthodes de mesure de la concentration de spermatozoïdes. Représentations graphiques de la concordance (A) et de la corrélation (B) de mesures de la concentration en spermatozoïdes en M/mL par la méthode SQA-Vision® vs. la technique manuelle (référence) pour 37 prélèvements. En A, le diagramme des différences selon Bland et Altman (ligne verte : niveau zéro, ligne violette : biais moyen, lignes rouges : intervalle de confiance, lignes bleues : limites de suivi). En B, le diagramme de corrélation.

Le pourcentage d'accord entre les deux méthodes pour la concentration de spermatozoïdes était de 91,9 % avec un coefficient Kappa à 0,75 (**tableau III**). Seulement 1 point en dehors des limites de suivi présentait un désaccord entre le diagnostic rendu par l'automate et la méthode manuelle. Les 7 autres points en dehors des limites n'impactaient en aucun cas le rendu final. En effet, la sensibilité de la mesure du SQA-Vision® était de 85,7 % et la spécificité de 93,3 % (**Tableau III**).

2.3. Mobilité spermatique totale :

Les moyennes des pourcentages de mobilité spermatique totale mesurées par la méthode de référence et le SQA-Vision® étaient respectivement de $48,0 \pm 2,2\%$ et $49,2 \pm 1,9\%$. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée ($p=0,73$, **Tableau III**).

Le coefficient de concordance de la mobilité totale, mesuré à 0,52, était modéré (**Tableau III**). Le diagramme des différences montrait une surestimation de 1,19% du SQA-Vision® par rapport à la méthode manuelle (**Figure 10A** et **Tableau III**). Nous avons observé 13 points en dehors des limites de suivi : 6 surestimations et 7 sous-estimations (**Figure 10A**). Dans le même sens, la corrélation, avec un coefficient de corrélation à 0,40, était modérée (**Figure 10B**).

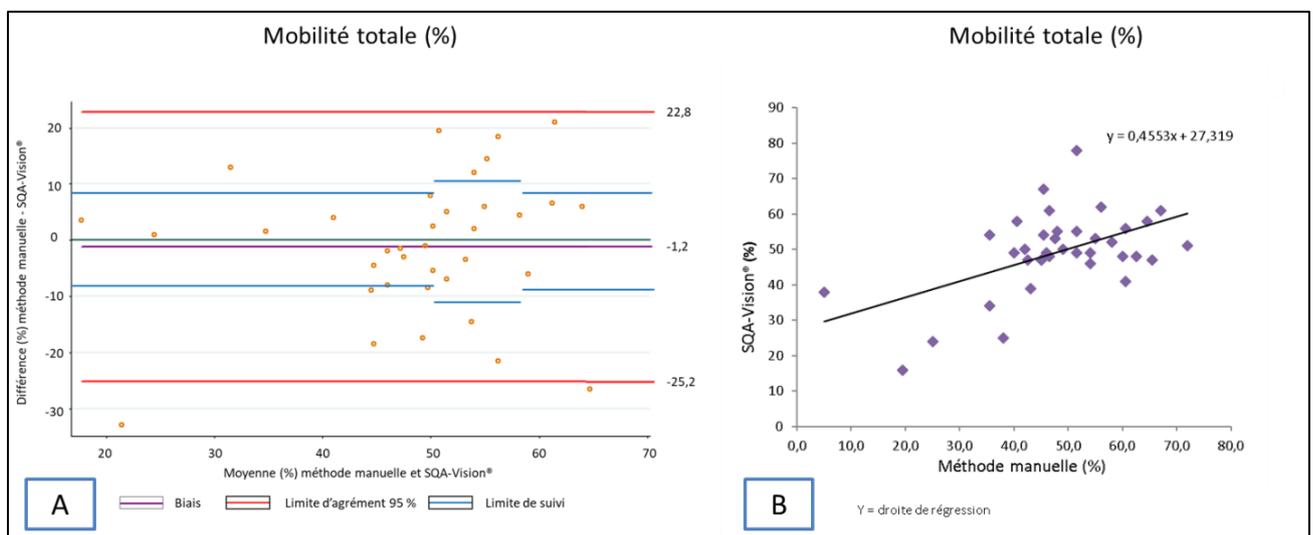


Figure 10 : Comparaison des méthodes de mesure de la mobilité spermatique totale. Représentations graphiques de la concordance (A) et de la corrélation (B) de mesures du pourcentage de spermatozoïdes mobiles en % par la méthode SQA-Vision® vs. la technique manuelle (référence) pour 37 prélèvements. En A, le diagramme des différences selon Bland et Altman (ligne verte : niveau zéro, ligne violette : le biais moyen, lignes rouges : intervalle de confiance, lignes bleues : limites de suivi). En B, le diagramme de corrélation.

Le pourcentage d'accord entre les deux méthodes pour la mobilité totale était de 94,6 % avec un coefficient Kappa à 0,80 (**Tableau III**). Seulement 2 points en dehors des limites de suivi présentaient un désaccord entre le diagnostic rendu par l'automate et la méthode manuelle. Les 11 autres points en dehors des limites n'impactaient pas le rendu final. En effet, la sensibilité de la mesure du SQA-Vision® était de 83,3 % et la spécificité de 96,8 % (**Tableau III**).

2.4. Mobilité spermatique progressive :

Les moyennes des pourcentages de mobilité spermatique progressive mesurées par la méthode de référence et le SQA-Vision[®] étaient respectivement de $40,1 \pm 2,04$ % et $36,11 \pm 2,17$ % avec une différence statistiquement significative mesurée ($p = 0,04$, **Tableau III**).

Le coefficient de concordance de la mobilité progressive, mesuré à 0,55, était modéré (**Tableau III**). Le diagramme des différences montrait une sous-estimation de 4,08 % du SQA-Vision[®] par rapport à la méthode manuelle (**Figure 11A**. et **Tableau III**). Nous avons observé 18 points en dehors des limites de suivi : 13 surestimations et 5 sous-estimations (**Figure 11A**). La corrélation, avec un coefficient de corrélation à 0,53, était également modérée (**Figure 11B** et **Tableau III**).

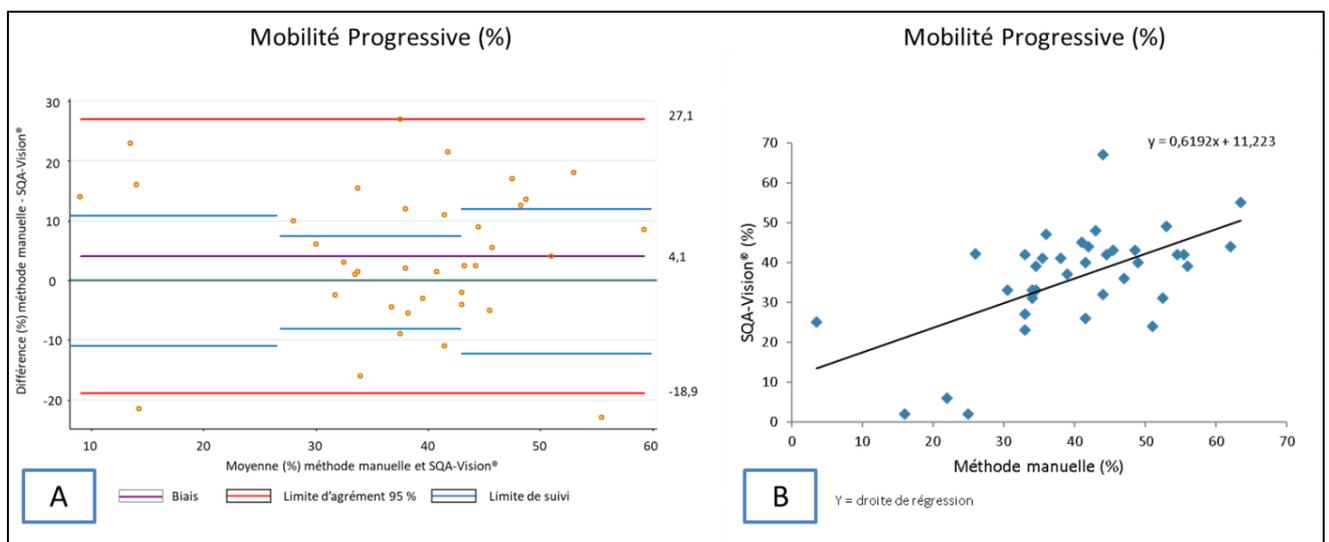


Figure 11 : Comparaison des méthodes de mesure de la mobilité spermatique progressive

Représentations graphiques de la concordance (A) et de la corrélation (B) de mesures du pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs (%) par la méthode SQA-Vision[®] vs. la technique manuelle (n=37). En A, le diagramme des différences selon Bland et Altman (ligne verte : niveau zéro, ligne violette : le biais moyen, lignes rouges : intervalle de confiance, lignes bleues : limites de suivi). En B, le diagramme de corrélation.

Le pourcentage d'accord entre les 2 méthodes était de 78,4 % avec un coefficient Kappa à 0,37 (**Tableau III**). Sur les 18 points observés en dehors des limites de suivi, 5 points étaient en désaccord sur le diagnostic rendu entre les 2 méthodes dont 4 valeurs étaient rendues anormales (asthénozoospermie) par le SQA-Vision[®] et normales en méthode manuelle. Au final, la sensibilité de la mesure de l'automate était donc de 66,7 % et la spécificité de 80,6 % (**Tableau III**).

2.5. Morphologie spermatique : pourcentage de formes typiques

Les moyennes des pourcentages de spermatozoïdes de forme typique mesurés par la méthode de référence et le SQA-Vision® étaient respectivement de $6,21 \pm 0,88$ % et $8,5 \pm 0,61$ % avec une différence statistiquement significative mesurée ($p=0,003$, **Tableau III**).

Le coefficient de concordance, mesuré à 0,52, était modéré (**Tableau III**). Le diagramme des différences montrait une surestimation de 2,30 % du SQA-Vision® par rapport à la méthode manuelle (**Figure 12A**. et **Tableau III**). Nous avons observé 19 points en dehors des limites de suivi : 15 valeurs étaient une surestimation de l'automate (**Figure 12A**). Dans le même sens, la corrélation, avec un coefficient de corrélation à 0,71, était bonne (**Figure 12B**. et **Tableau III**).

Le pourcentage d'accord entre les 2 méthodes était de 64,7 % avec un coefficient Kappa à 0,22 (**Tableau III**). Sur les 19 points observés en dehors des limites de suivi, 11 points étaient en désaccord avec le diagnostic rendu par l'automate par rapport au diagnostic rendu par la méthode manuelle. L'ensemble de ces points était une surestimation de l'automate. La sensibilité de la mesure du SQA-Vision® était de 16,7 % et la spécificité de 100 % (**Tableau III**).

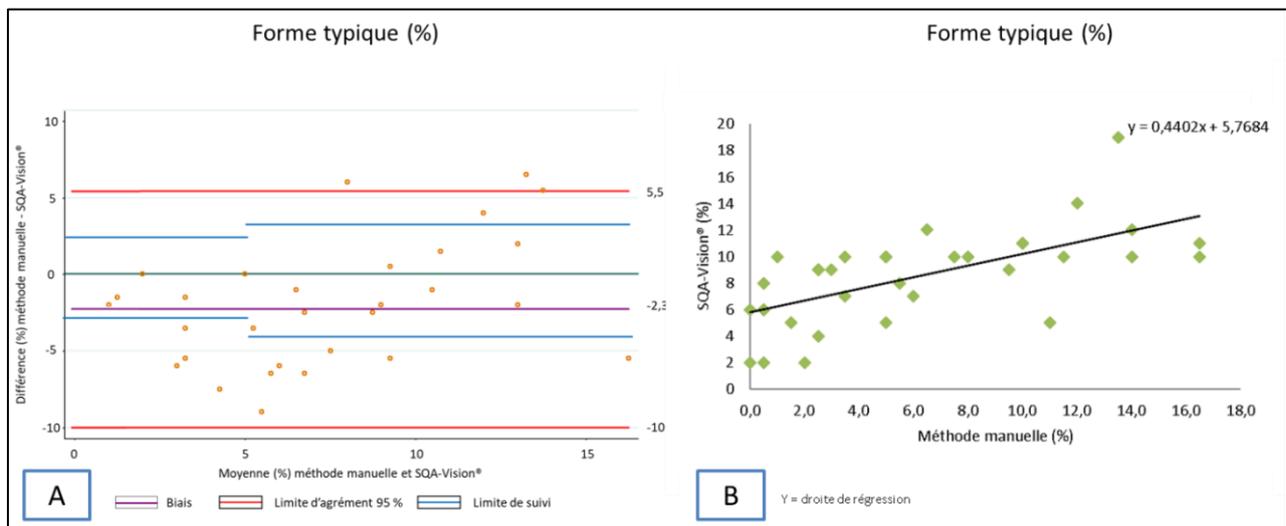


Figure 12 : Comparaison des méthodes de mesure de la morphologie des spermatozoïdes. Représentations graphiques de la concordance (A) et de la corrélation (B) de mesures du pourcentage de spermatozoïdes de forme typique en % par la méthode SQA-Vision® vs. la technique manuelle (n=37). En A, le diagramme des différences selon Bland et Altman (ligne verte : niveau zéro, ligne violette : le biais moyen, lignes rouges : intervalle de confiance, lignes bleues : limites de suivi). En B, le diagramme de corrélation.

	Tech Manuel	SQAV	Diff moy et des variances	Concordance		Corrélation	Diagnostic	
	Moy SEM	Moy SEM	Test Wilcoxon p	Bland et Altman Biais [I.C.]	Coef Lin	Coef Spearman r	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Concentration de spz (M/ml)	87,6 ± 16,1	75,7 ± 10,8	0,13	+11,9 [-77,8. 101,6]	0,84	0,93	85,7 (42,1-99,6)	93,3 (77,9-99,2)
Mobilité Totale (a+b+c %)	48,0 ± 2,2	49,2 ± 1,9	0,73	-1,2 [-25,2. 22,8]	0,52	0,40	83,3 (35,9-99,6)	96,8 (93,3-99,9)
Mobilité Progressive (a+b %)	40,2 ± 2,0	36,1 ± 2,2	0,04	+4,1 [-18,9. 27,1]	0,55	0,53	78,4% (22,3-95,7)	80,6 (62,5-92,5)
Formes Typiques (%)	6,2 ± 0,9	8,5 ± 0,6	0,003	-2,3 [-10,0. 5,5]	0,52	0,71	64,7% (3,58-41,4)	100 (82,4-100)

Tableau III : Résumé des résultats de la comparaison de méthodes

Les valeurs obtenues pour chaque paramètre par les deux méthodes, techniques manuelles (tech manuel) et SQA-Vision® (SQAV), représentées par des moyennes (moy) ± écart-type à la moyenne (SEM) ont été comparées par le test de Wilcoxon, les valeurs étaient significativement différentes si p (p-value) < 0.05.

Les paramètres quantitatifs ont été analysés par des analyses de concordance avec le calcul du biais moyen, des intervalles de confiance (IC) et du coefficient de concordance (coef lin), ainsi que des analyses de corrélation avec le calcul du coefficient de corrélation de Spearman (r).

Les paramètres ont été ensuite considérés comme des variables catégorielles avec la définition de valeur seuil pour la normalité selon les normes de l'OMS 2010 pour calculer le coefficient de concordance kappa en complément du taux de concordances de diagnostique (Accord, %) et mesurer la sensibilité et spécificité.

3. Comparaison de la mesure de la leucospermie :

Nous avons comparé les résultats semi-quantitatifs de 59 bandelettes avec la concentration de PNN mesurée par la méthode manuelle (**Figure 13**). Nous avons observé 8 bandelettes « positives », c'est-à-dire, qui se coloraient en violet. Nous avons observé 45 bandelettes « négatives », c'est-à-dire, qui ne prenaient pas de coloration au bout d'une minute. De plus, nous avons observé 6 bandelettes qui changeaient légèrement de couleur sans obtenir une couleur violette comparable à celle du nuancier. Nous avons classé ces bandelettes en « douteuses » puis regardé pour chaque patient les résultats obtenus avec la méthode manuelle. Deux patients n'avaient pas de leucospermie mais la concentration de PNN était mesurée à 0,8 et 0,9 M/mL. Ces taux étant proches du seuil clinique de 1 M/mL, cela pourrait expliquer le faible changement de couleur de la bandelette. Pour les 4 autres bandelettes « douteuses », les concentrations de PNN étaient supérieures à 1 M/mL en méthode manuelle. Deux échantillons avaient aussi une concentration proche du seuil clinique, mesurée à 1,3 et 1,9 M/mL, mais les deux autres échantillons avaient des concentrations élevées à 5,0 et 9,5 M/mL. Dans ces cas, les échantillons ont été testés à nouveau avec la méthode à comparer et la méthode manuelle mais les résultats étaient identiques.



Figure 13 : Photographie des nuances de couleurs des bandelettes de mesure des PNN

A droite, une bandelette « positive », au milieu une bandelette « négative » et à gauche une bandelette de coloration intermédiaire « douteuse ».

Dans un premier temps, nous avons considéré les bandelettes « douteuses » comme « négatives » comme recommandé dans la notice d'utilisation. La sensibilité calculée était alors de 50 % et la spécificité de 100% (**Tableau IV**). Nous avons une chance sur deux de passer à côté d'un

patient présentant une leucospermie. Nous avons donc considéré les bandelettes «douteuses» comme «positives» et la sensibilité était alors mesurée à 83,3 % et la spécificité de 95,7% (**Tableau IV**).

	Sensibilité		Spécificité	
	Valeur (%)	IC (%)	Valeur (%)	IC(%)
Bandelette « douteuse » = « négative »	50	(21,1 – 78,9)	100	(92,5 – 100)
Bandelette « douteuse » = « positive »	83,3	(51,6 – 97,9)	95,7	(85,5 – 99,5)

Tableau IV : Résumé de la performance diagnostique des bandelettes

Mesure de la sensibilité et la spécificité selon l'interprétation des bandelettes à coloration « douteuse ». n = 59 ; IC = intervalle de confiance.

4. Arbre décisionnel :

A partir des résultats obtenus lors de la comparaison de méthodes, nous avons défini un arbre décisionnel pour utiliser l'automate lorsque la comparaison était possible (**Figure 14**). Un des premiers points limitant l'utilisation de l'automate est le volume nécessaire pour lancer une analyse de sperme. Le capillaire de mesure nécessite un volume de 0,5 mL. Mais si une analyse bactériologique est prescrite en plus du spermogramme ou si l'analyse doit être rajoutée lorsque le patient présente une leucospermie, alors 0,6 mL sont nécessaires pour effectuer la spermoculture. Ainsi, nous avons défini que les échantillons de sperme avec un volume inférieur à 1,5 mL ne seraient pas analysés par le SQA-Vision®.

Si le volume est suffisant pour être analysé sur l'automate, une bandelette Qwick-Chek™ test strip du fournisseur sera testée pour détecter la présence ou non d'une leucospermie. Si la bandelette est « positive » ou « douteuse », le spermogramme ne sera pas analysé par l'automate. La concentration en PNN sera déterminée en méthode manuelle pour s'assurer de la leucospermie. S'il n'y a pas de leucospermie, l'analyse de sperme sera lancée sur le SQA-Vision®.

La concentration en spermatozoïdes mesurée par le SQA-Vision® est comparable avec notre méthode manuelle. Néanmoins, compte-tenu de la surestimation de l'automate de 2,3 M/mL pour la concentration en spermatozoïdes dans les valeurs inférieures à 150 M/mL, ainsi que de l'incertitude de l'automate calculée à 3,1 M/mL, l'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité de 15 M/mL additionnée de l'incertitude de mesure et de la surestimation de 2,3 M/mL, c'est-à-dire à 20,4 M/mL. Ce seuil nous permet d'obtenir une sensibilité de 100 % et une spécificité de 90 %. Au-dessus de cette valeur, les deux méthodes sont comparables. En dessous, le spermogramme sera réalisé manuellement.

Malgré une concordance modérée, la mesure de la mobilité spermatique totale montre un bon coefficient d'accord diagnostique et ne nécessite pas de vérification. Pour la mobilité spermatique progressive, la concordance était modérée et le pourcentage d'accord plus faible par rapport à la mobilité spermatique totale. La spécificité étant plus forte que la sensibilité et compte-tenu de la sous-estimation du SQA-Vision® de 4 %, l'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité de 32 % additionnée de l'incertitude mesurée à 6,2 % et de la sous-estimation de 4 %, soit 34,2 %. Le SQA-Vision® ne donnant que des valeurs entières, le seuil est arrondi à 34 %. Ce seuil nous permet d'obtenir une sensibilité de 83 % et une spécificité de 70 %. En dessous de ce seuil, la mobilité sera recontrôlée manuellement et au-dessus de ce seuil, les deux méthodes sont comparables.

Concernant le pourcentage de spermatozoïdes de forme typique rendu par l'automate, la méthode était très spécifique mais peu sensible, avec une surestimation du SQA-Vision® de 2,3 %. Compte tenu de la forte spécificité, de la surestimation de 2,3 % et d'une incertitude calculée à 1,9 %, l'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité de 4 % additionnée à la surestimation de 2,3 % et de l'incertitude à 2,8 %, soit 8,2 %. Le SQA-Vision®

ne donnant que des valeurs entières, le seuil est arrondi à 9 %. Ce seuil nous permet d'obtenir une sensibilité de 89 % et une spécificité de 77 %. Le spermocytogramme doit dans tous les cas être réalisé par un membre du laboratoire afin de classer les anomalies morphologiques observées et de calculer un TZI. En routine, deux comptes sont effectués : un compte pour déterminer le nombre de spermatozoïdes de forme typique et un deuxième compte pour déterminer les anomalies et calculer le TZI. Si le SQA-Vision® rend un pourcentage de forme typique inférieur au seuil de 9 %, le spermocytogramme sera refait entièrement par un membre du laboratoire. Si la valeur rendue par l'automate est supérieure ou égale à ce seuil, un seul compte sera effectué pour calculer le TZI.

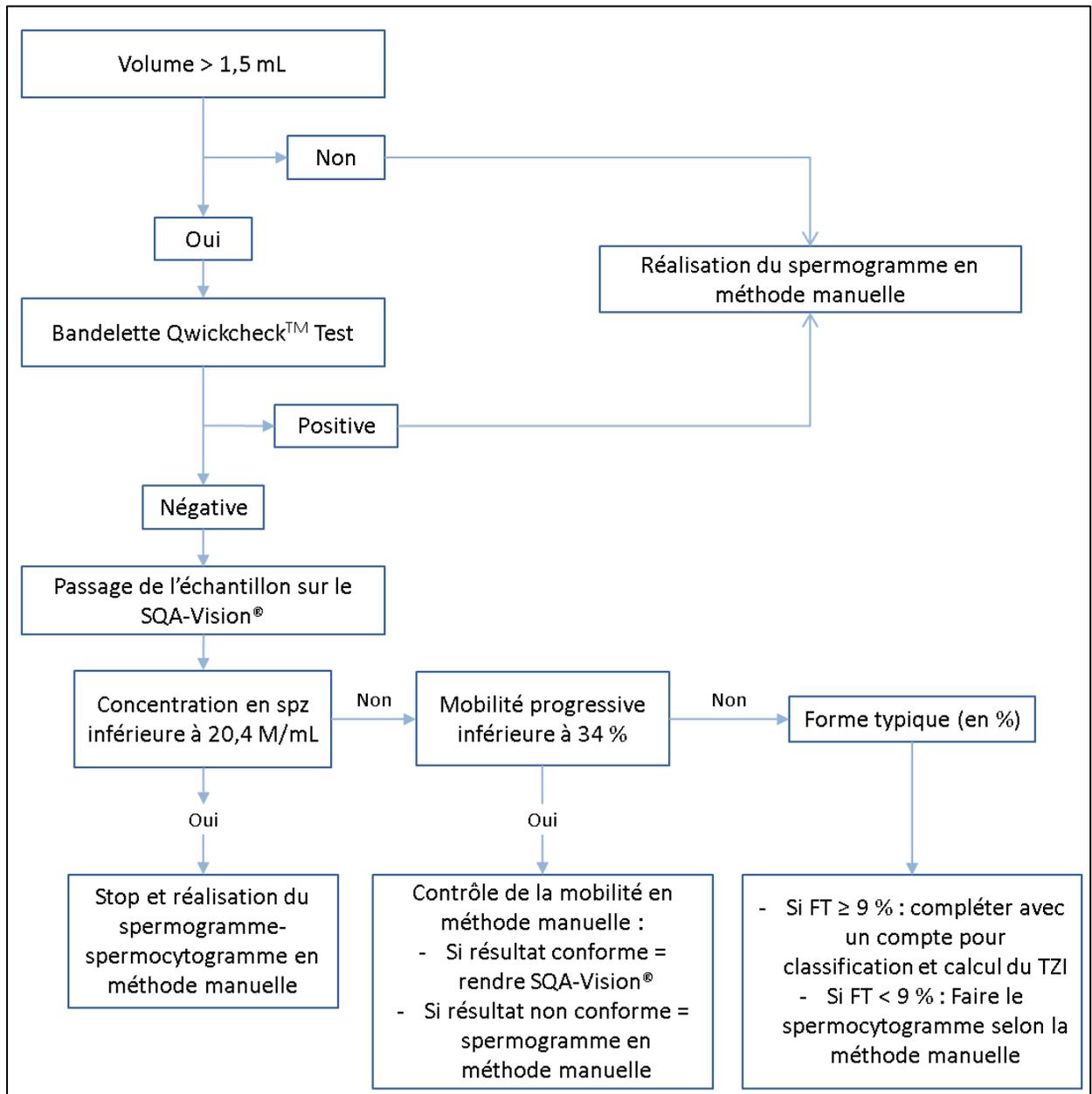


Figure 14 : Arbre décisionnel

L'utilisation de l'automate a été bornée pour une concentration de spermatozoïdes de 20,4 M/mL, une mobilité progressive à 34 %, et une morphologie spermatique normale à 9 %.

DISCUSSION :

L'examen manuel de sperme comprend une évaluation macroscopique de l'échantillon, puis une évaluation microscopique avec mesure de la concentration, mobilité, vitalité puis de la morphologie des spermatozoïdes après une étape de coloration. Tomlinson *et al* ont illustré que toutes les étapes de réalisation du spermogramme peuvent être à l'origine d'une variation dans le rendu de résultat final (**Figure 15**) (8). Les étapes les plus critiques sont, entre autres, l'évaluation subjective de la mobilité et de la morphologie spermatique sur un faible nombre de cellules et les erreurs de comptage liées aux erreurs de dilution et d'homogénéisation de l'éjaculat pour la mesure de la concentration de spermatozoïdes (1). Ainsi, il est important pour les laboratoires de maîtriser les risques liés à ces variations dans l'interprétation du spermogramme-spermocytogramme, en particulier depuis l'exigence de l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO 15189.

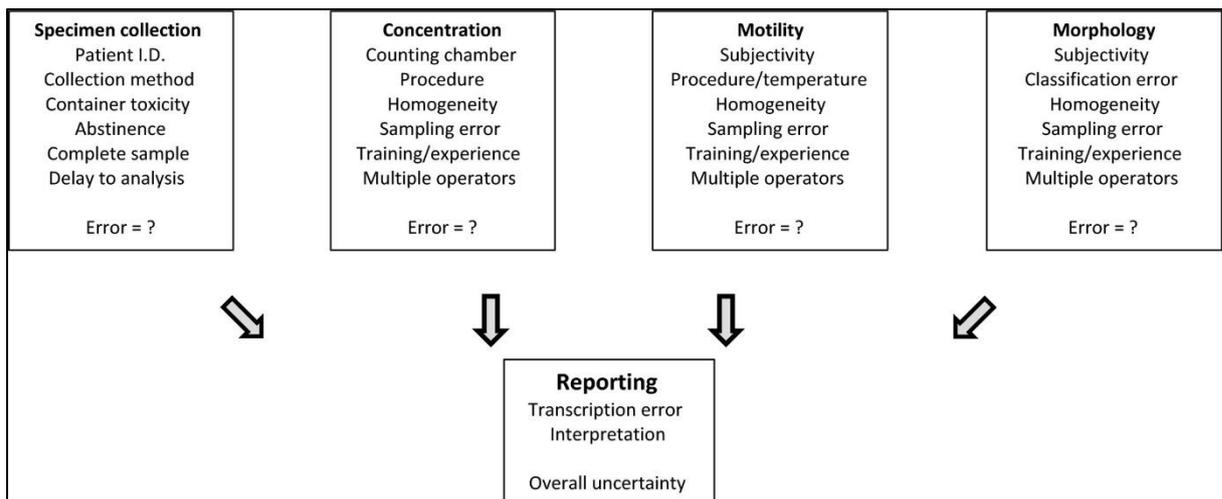


Figure 15 : Schéma résumé de l'incertitude de mesure du spermogramme-spermocytogramme
Schéma résumé décrivant où les erreurs de mesures peuvent se présenter dans le processus d'analyse de sperme, contribuant à l'incertitude globale liée à l'analyse de n'importe quel paramètre spermatique (8).

L'introduction de l'automatisation du spermogramme-spermogramme s'est révélée être un moyen intéressant pour pallier les limites de la méthode manuelle. Nous avons étudié la dernière version du système SQA, le SQA-Vision®, avec comme objectif de caractériser ses performances et d'assurer la comparabilité avec la méthode manuelle de référence, selon les recommandations élaborées par le COFRAC. Nous avons montré que l'automate avait une répétabilité et une fidélité

intermédiaire conformes aux valeurs définies dans la table Ricos (40). A notre connaissance, une seule étude de Martínez *et al.* en 2000 avait caractérisé la répétabilité et la fidélité intermédiaire d'un automate de spermologie en effectuant plusieurs analyses répétées d'un même échantillon sur un ancien modèle de SQA, le SQA-IIB® (32). Les CV obtenus sur le SQA-IIB® pour la répétabilité étaient similaires à ceux de notre étude, et acceptables selon les normes de la table de Ricos. Seuls les CV pour le paramètre morphologie étaient plus faibles que les nôtres, mais la classification morphologique était celle de David qui a un seuil clinique de 30 %, et donc plus élevé par rapport à la classification internationale de Kruger que nous avons utilisée. En revanche, nos CV de fidélité intermédiaire étaient meilleurs par rapport à cette étude. La précision du système SQA mesurée par les études récentes a été calculée à partir de duplicata de mesure de chaque échantillon et non sur des mesures répétées comme le recommande le COFRAC. Toutefois ces études concluent à la bonne précision du SQA (37,38,46).

Nous avons ensuite comparé les paramètres spermatiques mesurés par l'automate, c'est-à-dire la concentration, la mobilité et la morphologie typique, avec ceux mesurés par les méthodes manuelles accréditées au sein du laboratoire. Les corrélations et concordances mesurées pour la concentration de spermatozoïdes étaient excellentes ($r = 0,93$ et coefficient de Lin = $0,84$), ce qui est en accord avec les autres études ayant comparé la technologie SQA à la méthode manuelle (35,37,38,46). La corrélation et la concordance étaient modérées pour la mobilité spermatique totale ($r = 0,40$ et coefficient de Lin = $0,52$) telles que mesurées dans l'étude d'Akashi *et al.* en 2005 (35). Elles étaient aussi modérées pour la mobilité spermatique progressive ($r = 0,53$ et coefficient de Lin = $0,55$) mais l'accord diagnostique était largement inférieur à celui de la mobilité spermatique totale, avec une différence significative des moyennes entre la méthode automatisée et la méthode manuelle. Ces résultats diffèrent des études d'Engel *et al.* et Lammers *et al.* (37,38) qui ne retrouvaient pas de différence sur la mobilité spermatique progressive.

Pour la morphologie typique des spermatozoïdes, nous avons mesurée une concordance modérée (coefficient de Lin = 0,52) et un coefficient kappa mesurant l'accord diagnostique très faible à 0,22. Les études des anciennes versions avaient déjà mis en avant l'amélioration nécessaire sur la mesure de la morphologie spermatique (32,33,36,47). Nos résultats concordent aussi avec les études des versions récentes du système SQA (37,38). Les principaux défauts limitant la corrélation entre la méthode automatisée et la méthode manuelle sont le fait que la limite inférieure de détection de l'automate est à 2 % de spermatozoïdes de forme typique. De plus l'automate n'analyse pas directement la morphologie, mais le déduit d'un algorithme basé sur la mobilité spermatique progressive. Enfin, la morphologie analysée au microscope permet de voir plus de détails et selon l'OMS 2010, tous spermatozoïdes ayant une morphologie borderline doivent être considérés comme atypiques (1,19). L'étude de la morphologie par l'automate reste encore à améliorer.

L'utilisation de cet automate a présenté plusieurs avantages par rapport à la méthode manuelle. Tout d'abord, la rapidité d'analyse pour rendre des résultats de spermogramme-spermocytogramme est un atout majeur. Une étude comparative entre la méthode manuelle et la méthode automatisée par le SQA-Vision® a mis en évidence un gain de temps de 19 minutes lorsque le sperme était analysé sur l'automate suivi d'une lecture manuelle du spermocytogramme. Ce gain peut aller jusqu'à 51 minutes si l'analyse de l'échantillon est complètement automatisée (48). La rapidité de cette analyse permettrait en pratique de passer davantage de temps sur les échantillons anormaux et de pouvoir augmenter le nombre d'examens réalisables au laboratoire. Le SQA-Vision® est un automate facile d'utilisation. Le temps de formation est beaucoup moins important que pour la méthode manuelle. Cela permet de faciliter l'habilitation du personnel du laboratoire et le maintien des compétences et d'habiliter un plus grand nombre d'opérateurs. La mise en place des bandelettes pour détecter une leucospermie s'est montrée très intéressante du fait de sa rapidité et facilité d'utilisation. Enfin, l'automatisation permet une mesure objective et plus représentative de

l'échantillon à analyser par rapport à la méthode manuelle car un plus grand nombre de cellules est mesuré.

Mais ces avantages sont contrecarrés par plusieurs points négatifs. Le volume important requis pour remplir le capillaire est un premier frein à son utilisation en pratique, par rapport à la méthode manuelle qui nécessite environ 200 µl. Sur un échantillon de sperme, il peut être demandé des examens supplémentaires tels qu'une spermoculture, une biochimie du liquide séminal, ou bien un test de migration de survie. Tous ces examens nécessitent un volume conséquent de sperme et combinée à un volume d'échantillon faible, l'analyse automatisée devient alors impossible. De plus, les échantillons très visqueux sont difficiles à analyser car le capillaire de mesure ne se remplit pas de manière homogène. La formation du personnel sur le remplissage du capillaire est très importante car s'il n'est pas correct, le risque d'erreur est élevé. Même si l'automate est facile d'utilisation, le personnel se doit de posséder les connaissances adéquates pour permettre d'avoir un esprit critique sur les résultats rendus par l'automate. La principale difficulté dans l'automatisation en spermologie réside dans le fait de devoir analyser un échantillon hétérogène fait de cellules vivantes mobiles, les spermatozoïdes, avec des cellules rondes et des débris cellulaires présents en plus ou moins grande quantité. La dernière version du système SQA possède un scan débris automatique permettant à l'utilisateur de notifier la présence ou non de débris et de le quantifier. Mais il s'agit d'une mesure subjective et semi-quantitative. Le personnel nécessite d'être formé sur l'utilisation de ce scan débris et de savoir garder un œil critique sur les résultats rendus lorsqu'il s'agit d'échantillons atypiques, visqueux ou présentant d'importants débris cellulaires.

La mise en place du SQA-Vision® a soulevé plusieurs questions concernant son accréditation dans le service, dont la plus importante est le compte rendu du spermogramme rendu par l'automate seul. En effet, l'analyse du spermogramme telle qu'elle est définie dans la nomenclature,

comprend plusieurs analyses (numération des cellules rondes, une mesure de la vitalité et une analyse des différents défauts spermatiques permettant de calculer le TZI) que l'automate ne permet pas de mesurer. Au mieux, elles peuvent être réalisées grâce à l'interface de visualisation de l'automate qui prend le rôle de microscope, mais l'automate perd son intérêt car la mesure est de nouveau liée à la subjectivité et la formation du technicien.

L'analyse des performances intrinsèques du SQA-Vision® et la comparaison avec la méthode manuelle de référence nous a permis de constater que celui-ci se révèle être un outil rapide de dépistage. En effet, à partir des résultats obtenus, nous avons borné son utilisation pour chaque paramètre afin de gagner en sensibilité et spécificité. Nous avons choisi de ne pas réaliser d'analyse automatisée lorsque la bandelette revenait positive pour la leucospermie pour plusieurs raisons. Une analyse bactériologique est nécessaire et donc une partie de l'échantillon doit être envoyée au laboratoire de bactériologie. De plus, comme nous l'avons vu précédemment, la présence de cellules rondes et de débris liée à l'inflammation peut engendrer des erreurs dans l'analyse automatisée. Dans ce cas, une analyse manuelle permet de mesurer de manière quantitative le pourcentage de PNN et de garder un volume satisfaisant nécessaire à l'analyse bactériologique. La concentration et la mobilité progressive des spermatozoïdes sont les paramètres les plus indicatifs sur l'état de fertilité du patient et permettent de choisir la technique d'AMP. Nous avons trouvé une faible concordance pour la mesure de la mobilité progressive et même si la concordance et la corrélation étaient satisfaisantes pour le paramètre concentration, Engel *et al.* ont montré que l'analyse de la mobilité était plus variable pour une concentration en dessous de 15 millions de spermatozoïdes. Nous avons ainsi borné l'utilisation pour ces deux paramètres aux seuils critiques diagnostiques en tenant compte de l'incertitude mesurée afin de gagner en sensibilité. De même pour la morphologie spermatique, nous avons défini un seuil à 9 % de formes typiques, comme dans l'étude réalisée par Wittemer *et al.*(48) qui ont fixé un seuil à 10 %. Ces limites à l'utilisation de l'automate peuvent

sembler restrictives et peuvent amener à se questionner sur le réel intérêt de l'automatisation au laboratoire de spermologie diagnostique. Sur l'ensemble des spermogrammes réalisés en 2019, avec les bornes définies plus haut, la moitié aurait pu être rendue par l'automate.

L'investissement dans un automate est à adapter à l'activité du laboratoire et à la formation de son personnel. La mise en place de cet automate dans un laboratoire polyvalent pourrait se révéler intéressante pour dépister une anomalie du spermogramme et orienter le patient vers un centre spécialisé tout en ayant une formation du personnel plus simple par rapport à la méthode manuelle. L'utilisation du SQA-Vision® serait également avantageuse dans le secteur d'AMP. Les hommes des couples pris en charge en insémination intra-utérine (IIU) présentent des paramètres spermatiques normaux. L'automate étant conforme pour des valeurs normales, il permettrait d'analyser 100 % de l'activité. Le jour de la tentative d'AMP, la qualité du sperme est contrôlée en mesurant la concentration et la mobilité des spermatozoïdes avant et après sélection sur un gradient de densité. Le nombre de spermatozoïdes mobiles progressifs à inséminer doit être d'au moins 1 million. L'automate possède un mode «test migration de survie» permettant d'analyser sur uniquement 20 µL de préparation, la concentration en spermatozoïdes mobiles progressifs. En plus d'avoir déjà un regard critique sur la qualité attendue, car les antécédents du patient sont déjà connus, l'automate permettrait une analyse rapide des paramètres pertinents pour les IIU de manière précise et ainsi de pouvoir alléger une technicienne spécialisée. Une étude est en cours dans le laboratoire d'AMP afin d'en mesurer la faisabilité.

Enfin le développement de nouvelles technologies pourrait remettre en considération le spermogramme dans sa globalité. En effet, certains automates CASA permettent de détecter les flagelles des spermatozoïdes et de détecter automatiquement la chambre de lecture pour améliorer la précision et l'objectivité des mesures. Ils sont aussi capables d'effectuer une lecture automatique

pour mesurer la vitalité après coloration et d'intégrer de nouveaux tests qui ont fait leurs essors ces dernières années tels que l'analyse de la fragmentation de l'ADN spermatique. Ainsi, l'analyse combinée de toutes les mesures réalisées pourrait permettre d'apprécier au mieux la qualité spermatique (23). En parallèle, des dispositifs adaptables sur smartphone ont vu le jour pour permettre au patient de dépister lui-même un trouble de la fertilité. Ces dispositifs ont montré de bonnes performances en comparaison avec la technique manuelle et les systèmes automatisés, ce qui permettrait de motiver le patient à consulter mais aussi de réaliser un suivi après la mise en place d'un traitement (49,50).

CONCLUSION:

Le développement de l'automatisation est une alternative pour standardiser le spermogramme – spermocytogramme. Notre étude a démontré que les performances intrinsèques de l'automate SQA-Vision® étaient conformes à la littérature et aux besoins du secteur de Spermiologie diagnostique du service AMP – CECOS. La comparaison de méthodes a montré que les mesures réalisées par l'automate et la méthode manuelle (méthode de référence) étaient concordantes pour la concentration de spermatozoïdes et la mobilité spermatique totale mais pas pour la mobilité progressive et la morphologie spermatiques. Ainsi, nous avons redéfini les seuils de son utilisation et élaboré un arbre décisionnel quant à l'automatisation des analyses spermiologiques. Seuls les échantillons de sperme qui présentent des paramètres normaux seront analysés par l'automate. Il permettra également de dépister rapidement les anomalies des paramètres spermatiques et de libérer du temps de travail pour analyser manuellement les échantillons anormaux. Sa mise en place dans le service permettra d'augmenter le nombre d'examens réalisés par jour mais son utilisation reste à combiner avec la méthode manuelle. Au final, l'automatisation est à adapter à l'activité du laboratoire. Pour notre centre, une étude est en cours dans le secteur d'AMP afin de valider son utilisation dans l'analyse du nombre de spermatozoïdes mobiles lors de la préparation de spermes en vue d'une IUI.

Le doyen de l'UFR de Médecine,



La présidente du Jury,

A blue ink signature, likely belonging to the Jury President, written in a cursive style.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

1. World Health Organization, éditeur. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010. 271 p.
2. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 26 avr 2015;13(1):37.
3. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*. 1 déc 2018;62:2-10.
4. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 12 sept 1992;305(6854):609-13.
5. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in Semen Quality among Fertile Men in Paris during the Past 20 Years. *New England Journal of Medicine*. 2 févr 1995;332(5):281-5.
6. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update*. 01 2017;23(6):646-59.
7. Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med*. 8 nov 2001;345(19):1388-93.
8. Tomlinson MJ. Uncertainty of measurement and clinical value of semen analysis: has standardisation through professional guidelines helped or hindered progress? *Andrology*. 2016;4(5):763-70.
9. Lefièvre L, Bedu-Addo K, Conner SJ, Machado-Oliveira GSM, Chen Y, Kirkman-Brown JC, et al. Counting sperm does not add up any more: time for a new equation? *Reproduction*. avr 2007;133(4):675-84.
10. Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjollund NH, Kolstad H, Henriksen TB, et al. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *Lancet*. 10 oct 1998;352(9135):1172-7.
11. Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl*. mars 2004;6(1):59-65.
12. Keel BA, Quinn P, Schmidt CF, Serafy NT, Schalue TK. Results of the American Association of Bioanalysts national proficiency testing programme in andrology. *Hum Reprod*. 1 mars 2000;15(3):680-6.
13. Auger J, Eustache F, Ducot B, Blandin T, Daudin M, Diaz I, et al. Intra- and inter-individual variability in human sperm concentration, motility and vitality assessment during a workshop involving ten laboratories. *Hum Reprod*. nov 2000;15(11):2360-8.
14. Franken DR, Aneck-Hahn N, Lombaard C, Kruger TF. Semenology training programs: 8 years' experience. *Fertil Steril*. déc 2010;94(7):2615-9.

15. Franken DR, Barendsen R, Kruger TF. A continuous quality control program for strict sperm morphology. *Fertil Steril.* oct 2000;74(4):721-4.
16. Holt WV, Cummins JM, Soler C. Computer-assisted sperm analysis and reproductive science; a gift for understanding gamete biology from multidisciplinary perspectives. *Reprod Fertil Dev.* 15 juin 2018;30(6):iii-v.
17. Farrell P, Trouern-Trend V, Foote RH, Douglas-Hamilton D. Repeatability of measurements on human, rabbit, and bull sperm by computer-assisted sperm analysis when comparing individual fields and means of 12 fields. *Fertil Steril.* juill 1995;64(1):208-10.
18. PMC E. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. ESHRE Andrology Special Interest Group. European Society for Human Reproduction and Embryology. *Hum Reprod.* 1 janv 1998;13(1):142-5.
19. Johnson JE, Boone WR, Blackhurst DW. Manual versus computer-automated semen analyses. Part II. Determination of the working range of a computer-automated semen analyzer. *Fertil Steril.* janv 1996;65(1):156-9.
20. Johnson JE, Boone WR, Blackhurst DW. Manual versus computer-automated semen analyses. Part III. Comparison of old versus new design MicroCell Chambers. *Fertil Steril.* févr 1996;65(2):446-7.
21. Davis RO, Rothmann SA, Overstreet JW. Accuracy and precision of computer-aided sperm analysis in multicenter studies**Presented at the Annual Meeting of the American Society of Andrology, Montreal, Quebec, Canada, April 27 to 30, 1991.††Supported in part by grants RO1-HD25907 and RO1-ES03614 from the National Institutes of Health, Bethesda, Maryland. *Fertility and Sterility.* 1 mars 1992;57(3):648-53.
22. Clements S, Cooke ID, Barratt CLR. Andrology: Implementing comprehensive quality control in the andrology laboratory. *Hum Reprod.* 1 août 1995;10(8):2096-106.
23. Mortimer ST, van der Horst G, Mortimer D. The future of computer-aided sperm analysis. *Asian J Androl.* août 2015;17(4):545-53.
24. Tomlinson MJ, Naeem A. CASA in the medical laboratory: CASA in diagnostic andrology and assisted conception. *Reprod Fertil Dev.* juin 2018;30(6):850-9.
25. Talarczyk-Desole J, Berger A, Taszarek-Hauke G, Hauke J, Pawelczyk L, Jedrzejczak P. Manual vs. computer-assisted sperm analysis: can CASA replace manual assessment of human semen in clinical practice? *Ginekol Pol.* 2017;88(2):56-60.
26. Yu S, Rubin M, Geevarughese S, Pino JS, Rodriguez HF, Asghar W. Emerging technologies for home-based semen analysis. *Andrology.* 2018;6(1):10-9.
27. Zavos PM, Correa JR, Zarmakoupis-Zavos PN. Measurement of the sperm motility index via the sperm quality analyzer and its relationship to other qualitative sperm parameters. *Theriogenology.* 1 août 1996;46(3):421-7.
28. Bartoov B, Kalay D, Mayevsky A. Sperm Motility Analyzer (SMA), a practical tool of motility and cell concentration determinations in artificial insemination centers. *Theriogenology.* 1981;15(2):173-82.

29. Iguer-Ouada M, Verstegen JP. Validation of the sperm quality analyzer (SQA) for dog sperm analysis. *Theriogenology*. 15 mars 2001;55(5):1143-58.
30. Bartoov B, Ben-Barak J, Mayevsky A, Sneider M, Yogev L, Lightman A. Sperm motility index: a new parameter for human sperm evaluation. *Fertil Steril*. juill 1991;56(1):108-12.
31. Mahmoud AM, Gordts S, Vereecken A, Serneels A, Campo R, Rombauts L, et al. Performance of the sperm quality analyser in predicting the outcome of assisted reproduction. *Int J Androl*. févr 1998;21(1):41-6.
32. Martínez C, Mar C, Azcárate M, Pascual P, Aritzeta JM, López-Urrutia A. Sperm motility index: a quick screening parameter from sperm quality analyser-IIB to rule out oligo- and asthenozoospermia in male fertility study. *Hum Reprod*. août 2000;15(8):1727-33.
33. Shibahara H, Suzuki T, Obara H, Hirano Y, Onagawa T, Taneichi A, et al. Accuracy of the normal sperm morphology value by Sperm Quality Analyzer IIC: comparison with the strict criteria. *Int J Androl*. févr 2002;25(1):45-8.
34. Fuse H, Akashi T, Nozaki T, Nishio R, Mizuno I. Assessment of sperm quality analyzer II B: comparison with manual semen analysis and CASA. *Arch Androl*. févr 2005;51(1):65-7.
35. Akashi T, Mizuno I, Okumura A, Fuse H. Usefulness of sperm quality analyzer-V (SQA-V) for the assessment of sperm quality in infertile men. *Arch Androl*. déc 2005;51(6):437-42.
36. Singh S, Sharma S, Jain M, Chauhan R. Importance of papanicolaou staining for sperm morphologic analysis: comparison with an automated sperm quality analyzer. *Am J Clin Pathol*. août 2011;136(2):247-51.
37. Lammers J, Spingart C, Barrière P, Jean M, Fréour T. Double-blind prospective study comparing two automated sperm analyzers versus manual semen assessment. *J Assist Reprod Genet*. janv 2014;31(1):35-43.
38. Engel KM, Grunewald S, Schiller J, Paasch U. Automated semen analysis by SQA Vision® versus the manual approach—A prospective double-blind study. *Andrologia*. 2019;51(1):e13149.
39. Menkveld R, Rhemrev JP, Franken DR, Vermeiden JP, Kruger TF. Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis: relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro. *Fertil Steril*. mars 1996;65(3):637-44.
40. COFRAC. Document SH GTA 04 : Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale. Révision 01 - Avril 2015.
41. Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. nov 1999;59(7):491-500.
42. Cahier Bioforma n°42. Exploration de la fonction de la reproduction versant masculin. 2009.
43. Altman DG. Statistics in medical journals: Developments in the 1980s. *Statistics in Medicine*. 1991;10(12):1897-913.

44. Terwee CB, Bot SDM, de Boer MR, van der Windt DAWM, Knol DL, Dekker J, et al. Quality criteria were proposed for measurement properties of health status questionnaires. *J Clin Epidemiol.* janv 2007;60(1):34-42.
45. COFRAC. Document SH GTA 14 : Guide technique d'accréditation pour l'évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale. Révision 00 - octobre 2011.
46. Agarwal A, Sharma RK. Automation is the key to standardized semen analysis using the automated SQA-V sperm quality analyzer. *Fertil Steril.* janv 2007;87(1):156-62.
47. Fuse H, Akashi T, Nozaki T, Nishio R, Mizuno I. Assessment of sperm quality analyzer II B: comparison with manual semen analysis and CASA. *Arch Androl.* févr 2005;51(1):65-7.
48. Wittemer , C. ; Fraselle , C. ; Wasels, R. Les avantages d'une analyse automatisée du sperme. [FFER 2018]; 2018.
49. Agarwal A, Panner Selvam MK, Sharma R, Master K, Sharma A, Gupta S, et al. Home sperm testing device versus laboratory sperm quality analyzer: comparison of motile sperm concentration. *Fertil Steril.* 2018;110(7):1277-84.
50. Cheon WH, Park HJ, Park MJ, Lim MY, Park JH, Kang BJ, et al. Validation of a smartphone-based, computer-assisted sperm analysis system compared with laboratory-based manual microscopic semen analysis and computer-assisted semen analysis. *Investig Clin Urol.* 2019;60(5):380-7.

Annexe I : Normes du spermogramme - spermocytogramme : Valeurs de référence des normes du spermogramme – spermocytogramme et définition des anomalies selon les recommandations de l’OMS 2010 (1).

Paramètre	Seuil de référence	Nomenclature des anomalies
Volume séminal	≥ 1,5 mL	< 1,5 mL : hypospermie
Concentration totale de spermatozoïdes	≥ 39 millions/éjaculat	< 39 M/éjaculat et/ou < 15M/mL : oligozoospermie Absence de spermatozoïdes après centrifugation : azoospermie
Concentration en spermatozoïdes	≥ 15 millions/mL	
Mobilité totale (a+b+c)	≥ 40 %	a+b+c < 40 % et/ou a+b < 32 % : asthénozoospermie
Mobilité progressive (a+b)	≥ 32 %	
Vitalité	≥ 58 %	< 58 % : nécrozoospermie
Morphologie typique	≥ 4 %	< 4% : tératozoospermie
Concentration en polynucléaires neutrophiles	< 1,0 %	≥ 1 M/mL : leucospermie

Annexe II : Table de Ricos : Valeurs de référence de la table de Ricos pour le spermogramme-spermocytogramme (41).

	Analyte	Number of papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CV _I	CV _g	I(%)	B(%)	TE(%)
Semen-	Spermatozoa, concentration	1	26.8	56.4	13.4	15.6	37.7
Semen-	Spermatozoa, morphology	1	19.6	44.0	9.8	12.0	28.2
Semen-	Spermatozoa, progressive motility	1	15.2	32.8	7.6	9.0	21.6
Semen-	Spermatozoa, fast progressive motility	1	18.8	51.8	9.4	13.8	29.3
Semen-	Spermatozoa, total motility	1	18.4	29.8	9.2	8.8	23.9
Semen-	Spermatozoa, vitality	1	10.3	25.8	5.2	6.9	15.4

CVI : variation intra-individuelle ; CVg : variation inter-individuelle ; I : estimation de la fidélité ; B : estimation du biais ; TE : estimation de l'erreur totale

Annexe III: SH FORM Concentration de spermatozoïdes

1. Objectifs : compiler les résultats d'une vérification/ validation des méthodes dans le but d'émettre une conclusion.

Domaine d'application : Processus Analytique

Responsable de l'application : Biologiste responsable qualité du service

2. Documents de référence :

SH FORM 43 Indice de révision : 01 FICHE TYPE - Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Guide d'utilisation SQA-Vision® version 105.13.6.

3. Définitions et abréviations : /

Note : le laboratoire se réfèrera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Concentration des spermatozoïdes
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)

DESCRIPTION DES PROCESSUS			
Processus	Éléments à vérifier	Essai Biblio NA	Modalités de vérification/validation ¹ :
Concentration des spermatozoïdes	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	Pas de CQI externalisé	NA	<input type="checkbox"/> 4. Justesse
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude
	Réalisé	B/E	<input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences
	NA	NA	<input type="checkbox"/> 11. Contamination
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procédera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire (le cas échéant) : Portée A

¹ Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.

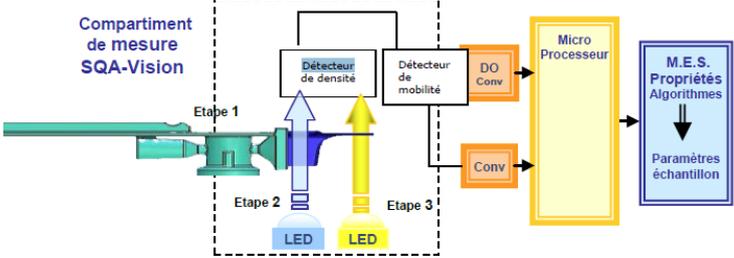
Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.

L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.

SOUS-PROCESSUS : Concentration des spermatozoïdes

Portée A ; Portée B (à justifier)

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Concentration de spermatozoïdes
Principe de la Méthode :	 <p>Canal spectrophotométrique : un détecteur de densité optique mesure la quantité de lumière absorbée par les spermatozoïdes et la convertie en densité optique (DO). La DO est transformée en concentration de spermatozoïdes par un micro-processeur sur la base d'algorithmes développés par le fournisseur.</p>
Type d'échantillon primaire :	Sperme
Type de récipient, additifs :	flacon de prélèvement stérilisé par ionisation (gamma) de sperme 15ML réf. CLINISPERM30DM (CML).
Prétraitement de l'échantillon :	Traitement de l'échantillon avant analyse AMP-ANA-SPE-MO-002 : - Liquéfaction à 37°C (au maximum 1H). - Attendre le retour à température ambiante avant analyse. Le délai pour exécuter l'ensemble des traitements ne doit pas excéder 1 heure.
Unités :	Spermatozoïdes en million / ml
Critères d'interprétation² :	Valeur normale seuil supérieure ou égale à 15 millions de spermatozoïdes/ml (IC 12-16)
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	Non disponible
Equipement (instrument, analyseur, etc.) :	SQA-Vision référence MES 01051V n°5230
Référence du réactif :	MS 0200 Qwik Check Beads MS 0700 QwickCheck Test strip MS 4021 Capillaires MS 0115 Kit de nettoyage
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Système de stabilisation et d'autocalibration à chaque mise sous tension et avant chaque analyse d'échantillon

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Julie Kasprzak / Hanae Pons
Procédure de validation/mode opératoire :	DQLAB-ANA-PRO- 001 vérification validation de méthodes de biologie médicale AMP-ANA-COM-IN-001 VERIFICATION ET VALIDATION DE METHODES
Procédure de gestion de la portée flexible :	DQLAB-ANA-PR-004 Gestion portée flexible : examen biologie médicale
Période d'étude :	Du : 14/06/2019 au 19/08/2019
Date de 1^{ère} utilisation :	A définir

MAITRISE DES RISQUES

(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)

5M	Points critiques	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)	Voir DQLAB-SMQ-FO-28-38-ANALYSE DES RISQUES – SUIVI DES PORTEES		
Milieu			
Matériel (équipements)			
Matériel (réactifs)			
Méthode			
Main d'œuvre (Personnel)			

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) : **Contrôle et échantillon de sperme**

Protocole : même essai, même opérateur, même lot de capillaire (070818) et même instrument (SQAV n°5230)

Pour évaluer la répétabilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 3 niveaux de contrôles de qualité internes (Niveau 1 et niveau 2 : numération normale > 15 M/ml et 1 niveau avec une numération anormale < 15 M/ml).
- 3 échantillons de patients (couvrant 3 niveaux de concentration).

Le nombre de répétabilité a été défini en raison de la rareté et de l'altération de la qualité des échantillons et de la disponibilité limitée en tests/réactifs :

- Chaque échantillon a été quantifié 10 fois dans les mêmes conditions standardisées sur l'automate.
- Chaque contrôle a été quantifié 20 fois dans les mêmes conditions standardisées sur l'automate.

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ³
CQ Billes de contrôle MES 0200 Lot 100219	20	0	0	0	/	13,4	Conforme
CQ Billes de contrôle MES 0200 Lot 100219	20	48,63	0,77	1,58	/	13,4	Conforme
CQ Billes de contrôle MES 0200 Lot 100219	20	25,62	0,33	1,31	/	13,4	Conforme
Echantillon 1900300978 Niveau Bas	10	7,41	0,86	11,58	5,2	13,4	Conforme
Echantillon 1900367983 Niveau moyen	10	22,36	0,56	2,52	5,2	13,4	Conforme
Echantillon 1900305823 Niveau Haut	10	87,97	1,40	1,59	2,1	13,4	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Les critères de conformités utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux proposés dans la littérature. Ils sont toutefois présentés à titre indicatif. **Résultats conformes.**

³ Conforme/non conforme

FIDELITE INTERMEDIAIRE
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Protocole utilisé : Dates différentes, opérateurs différents, même lot de capillaires (lot : 070818) et même instrument (SQUAV n°5230).

Pour évaluer la reproductibilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 2 niveaux de contrôles de qualité interne (Niveau 1 et niveau 2 : numération normale > 15M/ml).
- 2 échantillons de patient (2 niveaux de concentration, 3 opérateurs et capillaires différents)

Chaque contrôle a été quantifié 20 fois dans les mêmes conditions standardisées sur l'automate sur différents jours.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ⁵
CQ Billes de contrôle MES 0200 Lot 100219	20	48,71	1,98	4,07	/	13,4	<u>Conforme</u>
CQ Billes de contrôle MES 0200 Lot 100219	20	24,87	2,43	9,76	/	13,4	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900367983 Niveau moyen	3	22,20	0,69	3,12	3,4	13,4	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900339226 Niveau Haut	3	71,47	1,33	1,86	3,4	13,4	<u>Conforme</u>

Argumentaire de la conclusion : Etant donné que le volume d'un éjaculat est limité et que les paramètres spermatiques s'altèrent dans le temps, seulement 3 mesures ont été effectuées. Les critères de conformité utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux de la littérature. **Résultats conformes.**

VARIABILITE INTER-OPERATEURS
 Applicable ; non applicable

Argumentaire de la conclusion : La variabilité inter-opérateur est évaluée par le biais de la fidélité intermédiaire (cf ci-dessus).

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Argumentaire de la conclusion : absence de CQI externalisé

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)
 Contrôles quantitatifs ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
				A renseigner pour les contrôles quantitatifs			

Argumentaire de la conclusion : EEQ biologie prospective fait en octobre 2019, en attente des résultats. Une vérification mensuelle de la concentration est effectuée sur 1 patient en comparaison avec la technique de référence (technique manuelle) afin de valider le bon fonctionnement de l'appareil. De même, des billes de contrôles qualité interne sont passées 1 fois par semaine.

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Vrais positifs	Données Fournisseurs : Spécificités : 85 % Sensibilité : 90 % Données mesurées en comparaison avec méthode de référence : Spécificité : 93 % Sensibilité : 86 % Afin d'améliorer la sensibilité, la concentration en spermatozoïdes est bornée à un seuil de 20,4 M/mL (valeur seuil normal selon l'OMS 15 M/mL + incertitude 3,1M/mL + surestimation de l'automate 2,3 M/mL) Spécificité : 90 % Sensibilité : 100 %
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Bibliographie : guide d'utilisateur SQA-Vision et étude expérimentale : résultats conformes avec une concentration en spermatozoïdes bornée à un seuil de 20,4 M/mL afin d'assurer la sensibilité de mesure. Conforme aux besoins du service

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	« CIQ + étalon fournisseur »	RICOS Souhaitable : 37,7 %
Quantification de l'incertitude (niveau moyen) : [22,2 spz/ml]	22,2 M/mL ± 3,1 soit 14,1 %	Conforme
Quantification de l'incertitude (niveau haut) : [71,5 spz/ml]	71,5 M/mL ± 3,8 soit 5,3 %	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Incertitude acceptable pour l'interprétation biologique. **Conforme aux besoins du service**

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>																					
Limite de détection :	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Type d'échantillon</th> <th>Conc.Sperm. M/ml</th> <th>Mobilité %</th> <th>Morph %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Frais</td> <td><2 - 400</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Lavé</td> <td><2 - 200+</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Swim-up, Gradient de Densité, Congelé</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Post-Vasectomie</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	Post-Vasectomie	-	-	-
	Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %																	
	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30																	
	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30																	
	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-																	
Post-Vasectomie	-	-	-																		
Etude bibliographique																					

Argumentaire de la conclusion : bibliographie (guide d'utilisateur SQA-Vision. La limite de détection est pertinente par rapport au besoin du service.

COMPARAISON DE METHODES :
Applicable ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :

Guide d'utilisateur SQA-Vision

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :

Les résultats obtenus avec l'automate SQA-Vision ont été comparés avec les résultats obtenus par la méthode manuelle de référence.

Nombre de mesures :

37 échantillons ont été testés

Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :

Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision

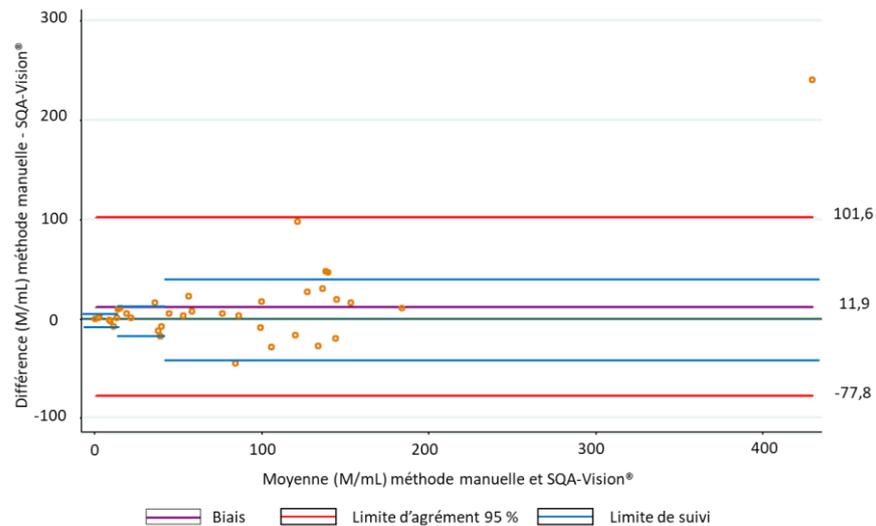
Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-
Post-Vasectomie	-	-	-

Méthode d'exploitation des résultats :

Régression linéaire et diagramme des différences

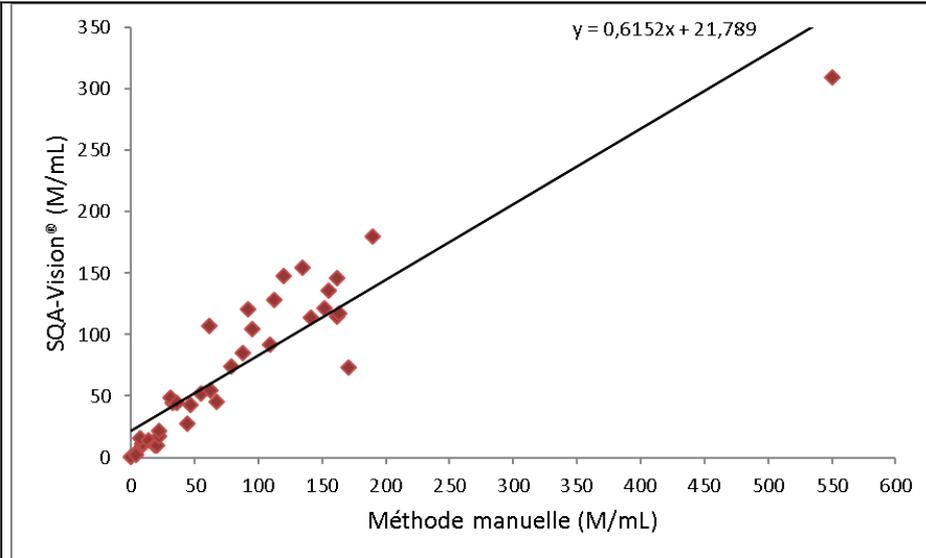
Biais = 11,91 M/mL pour les valeurs totales
= -2,30 M/mL pour les valeurs < 150 M/ml

Concentration ≤ 14,2 spz/ml LIMITE DE SUIVI num bas = ± 6,114
14,2 < concentration ≤ 37,8 spz/ml LIMITE DE SUIVI num moy = ± 12,979
37,8 < concentration ≤ 71,5 spz/ml LIMITE DE SUIVI num haute = ± 34,782



Equation de la droite de régression :

$Y = 0,6152x + 21,789$
 $R = 0,93$ (Spearman)
Coefficient Kappa = 0,75 avec 91,89% d'accord diagnostic


Diagramme des différences et/ou des rapports :

Sous-estimation moyenne avec un biais = 11,91 M/mL du SQA-Vision par rapport à la méthode de référence pour les valeurs ≥ 150 M/ml
 Surestimation de l'automate avec un biais = - 2,30 M/mL du SQA-Vision par rapport à la méthode de référence pour les valeurs < 150 M/ml

8 points hors limites de suivi :

- 5 correspondent à une sous-estimation du SQA-Vision, toutes les valeurs sont au-dessus du seuil de normalité de l'OMS 2010 et n'ont pas d'impact diagnostique sur le rendu de résultats
- 3 correspondent à une surestimation dont 1 avec un impact sur le diagnostic.

Compte tenu de :

- La surestimation du SQA-Vision de 2,3 M/mL pour une concentration < 150 M/mL
- L'incertitude mesurée à 3,1 M/mL

L'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité à 15 M/mL additionnée à la sous-estimation de l'automate et de son incertitude de mesure, ce qui correspond à un seuil à 20,4 M/mL %.

Ce seuil nous permet de gagner en sensibilité (100 %).

Argumentaire de la conclusion : L'utilisation de l'automate pour la concentration est bornée à un seuil de 20,4 M/mL. Au-dessus de ce seuil, les deux méthodes sont comparables.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)

(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :

troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)

Applicable ; non applicable (à justifier)

Limite de détection :
Limite de quantification :
Limite supérieure de linéarité :
Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision

Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	MSC M/ml	PMSC M/ml	Mobile / Immobile / Sperm Total M/ml
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	<0,2 - 400	0 - 400	-
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	<0,2 - 200+	0 - 200+	-
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	<0,2 - 200+	0 - 200+	-
Post-Vasectomie	-	-	-	-	-	0 - 400

Argumentaire de la conclusion : Guide d'utilisateur SQA-Vision.

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)
 (Étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Leucospermie

Une détection de la leucospermie est indispensable avant de lancer l'analyse sur l'automate SQA-Vision® pour adapter l'algorithme de mesure.

Argumentaire de la conclusion : Les échantillons avec une leucospermie ne seront pas testés sur l'automate.

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)
 (Étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG, ...):

NA

Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):

NA

Argumentaire de la conclusion : NA, pas de contamination inter échantillon possible avec le système de capillaire à usage unique et pas de distribution de réactif

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS
 (étude expérimentale indispensable en portée B)
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)

NA

Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...

Notice fournisseur

Argumentaire de la conclusion : bibliographie guide utilisateur SQA-Vision

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)
Applicable ; non applicable

Valeurs de référence

ANNEXE 6: Valeurs de référence

PARAMETRE DU SPERME	VALEUR DE REFERENCE*	SOURCE
Concentration (Compte)	≥15 M/ml	Manuel WHO 5 th
Total Mobile (PR+NP)	≥40 %	Manuel WHO 5 th
Motilité Progressive (PR)	≥32 %	Manuel WHO 5 th
Non-progressive (NP)	-	-
Immobile (IM)	-	-
Formes Normales (morphologie)	≥4%	Manuel WHO 5 th
Concentration Spermatozoïdes Mobiles (MSC)	≥6 M/ml	MES
Concentration Spermatozoïdes Mobiles Progressifs (PMSC)	≥5 M/ml	MES
Concentration en Spermatozoïdes Fonctionnels (FSC)	-	-
Vitesse Moyenne Spermatozoïdes Mobiles (VAP)	≥5 mic./sec.	MES
Indice Mobilité Spermatozoïdes (SMI)	≥80	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes	≥39 M	Manuel WHO 5 th
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles	≥16 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles Progressifs	≥12 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Fonctionnels	-	-
Total de spermatozoïdes morphologiquement normaux	≥2 M	MES

* Les valeurs de références établies ci-dessus sont basées sur le Manuel de l'OMS : WHO 5th ou sur les recommandations de MES (pour les paramètres propriétaires).

Argumentaire de la conclusion : Les valeurs de référence sont celles définies par les normes de l'OMS 2010.

DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme, date d'utilisation à définir

Autorisée par : H. Pons
Signature H. Pons



Annexe IV: SH FORM Mobilité spermatique

1. Objectifs : compiler les résultats d'une vérification/ validation des méthodes dans le but d'émettre une conclusion.

Domaine d'application : Processus Analytique

Responsable de l'application : Biologiste responsable qualité du service

2. Documents de référence :

SH FORM 43 Indice de révision : 01 FICHE TYPE - Vérification (portée A) / Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale

Guide d'utilisation SQA-Vision® version 105.13.6.

3. Définitions et abréviations : /

Note : le laboratoire se réfèrera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :
Mobilité des spermatozoïdes (mobilité totale et mobilité progressive)

Processus simple ; **Processus complexe** (nombre de sous-processus : ...)

DESCRIPTION DES PROCESSUS

Processus	Éléments à vérifier	Essai Bibliographique NA	Modalités de vérification/validation ¹ :
Mobilité des spermatozoïdes (totale et progressive)	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	Pas de CQI externalisé	NA	<input type="checkbox"/> 4. Justesse
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude
	Réalisé	B/E	<input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences
	NA	NA	<input type="checkbox"/> 11. Contamination
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procèdera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire (le cas échéant) : Portée A

¹ Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.

Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.

L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.

SOUS-PROCESSUS : Mobilité des spermatozoïdes

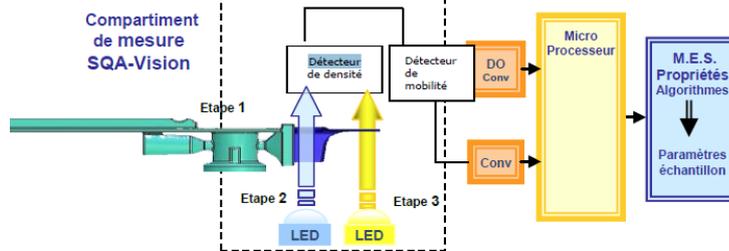
Portée A ; Portée B (à justifier)

DESCRIPTION DE LA METHODE

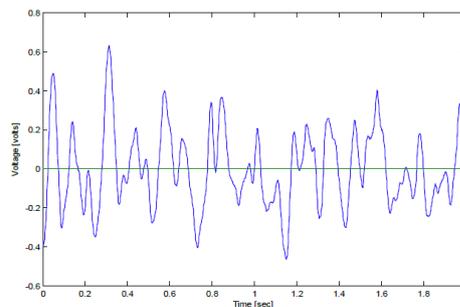
Analyte / Mesurande :

Mobilité des spermatozoïdes

Principe de la Méthode :



Canal de mobilité : le déplacement des spermatozoïdes à travers le faisceau provoquent des perturbations lumineuses. Ces perturbations sont transformées en signaux électriques sous la forme de pics et creux. Les pics des signaux électriques sont analysés et transformés par le logiciel en résultats de mobilités.



Signal électronique de la mobilité des spermatozoïdes

Type d'échantillon primaire :

Sperme

Type de récipient, additifs :

flacon de prélèvement stérilisé par ionisation (gamma) de sperme 15ML réf. CLINISPERM30DM (CML).

Prétraitement de l'échantillon :

Traitement de l'échantillon avant analyse AMP-ANA-SPE-MO-002 :
 - Liquéfaction à 37°C (au maximum 1H).
 - Attendre le retour à température ambiante avant analyse.
 Le délai pour exécuter l'ensemble des traitements ne doit pas excéder 1 heure.

Unités :

Mobilité (progressive et non-progressive) en pourcentage :
 4 catégories de mobilité des spermatozoïdes sont distinguées (selon le cahier 42, bioforma 2009 et OMS 2010) :
 - mobiles progressifs (a + b) : mobilité sinusoïdale bien rectiligne (a) et trajectoire irrégulière, plus courte, faiblement/ lentement progressif (b)
 - mobiles sur place ou non progressifs (c)
 - immobiles (d).

Critères d'interprétation² :

Mobilité totale (a+b+c) ≥ 40 %
 Mobile progressive (a+b) ≥ 32 %

Marquage CE (Oui/Non) :

OUI

Codage C.N.Q. (s'il existe) :

Non disponible

Équipement (instrument, analyseur, etc.) :

SQA-Vision référence **MES 01051V n°5230**

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...



MOBILITE DES SPERMATOZOIDES

DQLAB-ANA-FO-4
V4

Date d'application:

Référence du réactif :	MS 0700 QwickCheck Test strip MS 4021 Capillaires MS 0115 Kit de nettoyage
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Système de stabilisation et d'autocalibration à chaque mise sous tension et avant chaque analyse d'échantillon

MISE EN ŒUVRE

Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Julie Kasprzak / Hanae Pons
Procédure de validation/mode opératoire	DQLAB-ANA-PRO- 001 vérification validation de méthodes de biologie médicale AMP-ANA-COM-IN-001 VERIFICATION ET VALIDATION DE METHODES
Procédure de gestion de la portée flexible :	DQLAB-ANA-PR-004 Gestion portée flexible : examen biologie médicale
Période d'étude :	Préciser Du : 14/06/2019 au 19/08/2019
Date de 1^{ère} utilisation :	A définir

MAITRISE DES RISQUES

(le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)

5M	Points critiques	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)			Voir DQLAB-SMQ-FO-28-38-ANALYSE DES RISQUES – SUIVI DES PORTEES
Milieu			
Matériel (équipem)			
Matériel (réactifs)			
Méthode			
Main d'œuvr			

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Préciser le type et référence d'échantillon (échantillon contrôle, pool de sérum, ...) : **Contrôle et échantillon de sperme**

Protocole : même essai, même opérateur, même lot de capillaire (070818) et même instrument (SQAV n°5230)

Pour évaluer la répétabilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 3 échantillons de prélèvement de patients (couvrant 3 niveaux de mobilité).

Le nombre de répétabilité a été défini en raison de la rareté et de l'altération de la qualité des échantillons :

- Chaque échantillon a été quantifié 4 fois dans les mêmes conditions standardisées sur l'automate.

REPETABILITE MOBILITE TOTALE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ³
Echantillon 1900377056 Niveau Bas	4	16,5	1,0	6,1	5	9,2	<u>Conforme</u>
Echantillon 2199787 Niveau moyen	4	34,8	1,0	2,8	5	9,2	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900367983 Niveau Haut	4	52,5	1,7	3,3	5	9,2	<u>Conforme</u>

REPETABILITE MOBILITE PROGRESSIVE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ⁴
Echantillon 1900377056 Niveau Bas	4	1,3	1,0	76,6	7,5	7,8	<u>Non conforme</u>
Echantillon 1900367983 Niveau Haut	4	32,3	1,3	3,9	7,5	7,8	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900305823 Niveau Haut	4	37,3	1,0	2,6	7,5	7,8	<u>Conforme</u>

Argumentaire de la conclusion : Les critères de conformités utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux proposés dans la littérature (préconisation du fournisseur). Ils sont toutefois présentés à titre indicatif. Un résultat non-conforme pour l'échantillon 1900377056 (niveau bas). Les valeurs étant très basses et éloignées du seuil de normalité, le calcul du CV n'était pas adapté. Une corrélation intra-classe a été réalisée à partir de toutes les données de répétabilités réalisées pour chaque échantillon. Le coefficient de corrélation intra-classe (ICC) est à 0,96, ce qui signifiait

³ Conforme/non conforme

⁴ Conforme/non conforme

que les données pour un même échantillon se ressemblaient à 96 %. Au final, étant donné que la valeur de 1,3% du niveau bas de mobilité progressive était très inférieure au seuil de normalité de 32 % et sans ambiguïté quant à l'interprétation clinique malgré son CV, et que l'ICC était acceptable, la méthode est jugée conforme pour la mobilité progressive. Pas d'incidence sur l'interprétation biologique. **Résultats conformes.**

FIDELITE INTERMEDIAIRE
Applicable ; non applicable (à justifier)

Protocole utilisé : Dates différentes, opérateurs différents, même lot de capillaires (lot : 070818) et même instrument (SQAV n°5230).

Pour évaluer la reproductibilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 2 échantillons de patient (2 niveaux de mobilité, 3 opérateurs et capillaires différents)

FIDELITE INTERMEDIAIRE MOBILITE TOTALE							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ⁵
Echantillon 1900363097 Niveau moyen	3	49,7	2,1	4,2	5	9,2	Conforme
Echantillon 1900329745 Niveau Haut	3	68,0	1,7	2,5	5	9,2	Conforme

FIDELITE INTERMEDIAIRE MOBILITE PROGRESSIVE							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ⁵
Echantillon 1900363097 Niveau moyen	3	43,3	1,5	3,5	7,5	7,8	Conforme
Echantillon 1900329745 Niveau Haut	3	48,7	0,6	1,2	7,5	7,8	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Etant donné que le volume d'un éjaculat est limité et que les paramètres spermatiques s'altèrent dans le temps, seulement 3 mesures ont été effectuées. Les critères de conformités utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux de la littérature. Ils sont toutefois présentés à titre indicatif. **Résultats conformes.**

VARIABILITE INTER-OPERATEURS
Applicable ; non applicable

Argumentaire de la conclusion : La variabilité inter-opérateur est évaluée par le biais de la fidélité intermédiaire (cf ci-dessus).

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Argumentaire de la conclusion : absence de CQI externalisé

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ) Contrôles quantitatifs <input checked="" type="checkbox"/> ; Contrôles qualitatifs <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de paires)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de paires	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
				A renseigner pour les contrôles quantitatifs			

Argumentaire de la conclusion : Les EEQ proposées sont sous la forme de lames virtuelles non exploitables par le SQA-Vision. Une vérification mensuelle de la mobilité est effectuée sur 1 patient en comparaison avec la technique de référence (technique manuelle) afin de valider le bon fonctionnement de l'appareil. De même, des billes de contrôles qualité interne sont passées 1 fois par semaine.

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Vrais positifs	Données Fournisseurs : Spécificités : • Mobilité: 80 % • Mobilité progressive: 80 % Sensibilité : • Mobilité: 85 % • Mobilité progressive: 80 % Données mesurées en comparaison avec méthode de référence : Spécificité : • Mobilité totale: 97 % • Mobilité progressive: 81 % Sensibilité : • Mobilité totale: 83 % • Mobilité progressive: 67 % Afin d'améliorer la sensibilité, la <u>mobilité progressive</u> est borné à un seuil de 34 % (valeur seuil normal selon l'OMS 32 % + incertitude 6,2 % + sous-estimation de l'automate 4 %) Spécificité : 70 % Sensibilité : 83 %
Faux positifs	
Vrais négatifs	
Faux négatifs	

Argumentaire de la conclusion : Bibliographie : guide d'utilisateur SQA-Vision et étude expérimentale : **résultats conformes** avec un pourcentage mobilité progressive borné à un seuil de 34 % afin d'assurer la sensibilité de mesure. En dessous de 34 %, la mobilité sera contrôlée par la méthode manuelle.

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : MOBILITE TOTALE Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	« CIQ + étalon fournisseur »	RICOS souhaitable : 23,9 %
Quantification de l'incertitude (niveau moyen) : [49,7 %]	49,7 % ± 6,9 soit 13,8 %	Conforme
Quantification de l'incertitude (niveau haut) : [68,0 %]	68,0 % ± 6,5 soit 9,5 %	Conforme

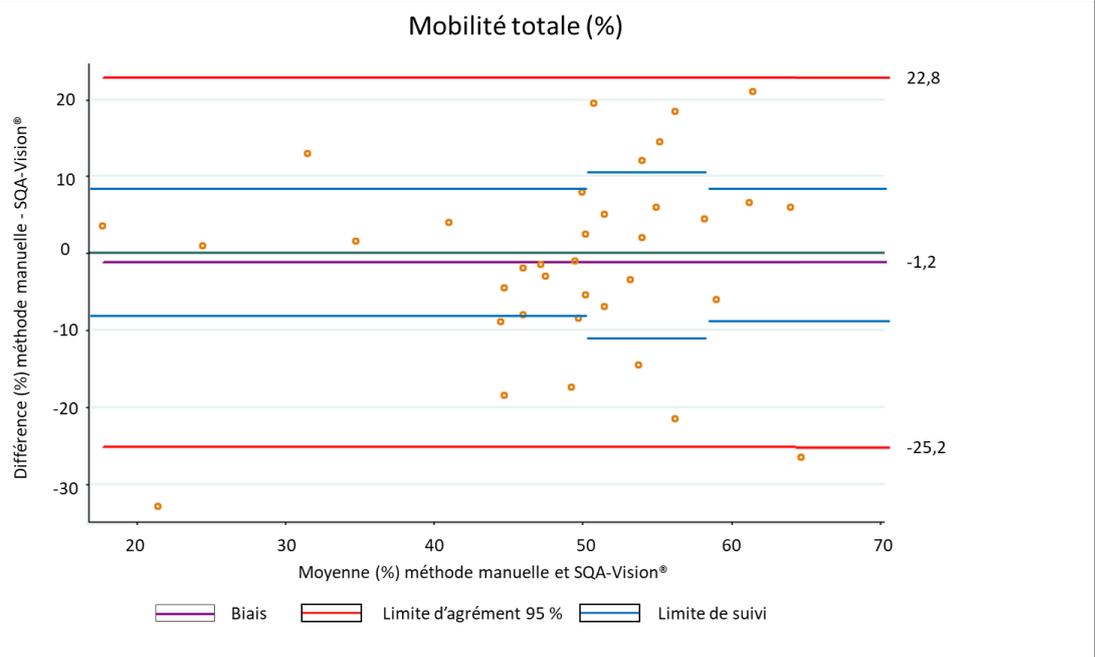
INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) : MOBILITE PROGRESSIVE		
Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) <input type="checkbox"/> ; calcul <input checked="" type="checkbox"/>		
	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	« CIQ + étalon fournisseur »	RICOS Souhaitable : 21,6 %
Quantification de l'incertitude (niveau moyen) : [43,3 %]	43,3 % ± 6,2 soit 14,3 %	Conforme
Quantification de l'incertitude (niveau haut) : [48,7 %]	48,7 % ± 5,6 soit 11,5 %	Conforme

Argumentaire de la conclusion : Incertitude acceptable pour l'interprétation biologique. **Conforme aux besoins du service**

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>																									
Limite de détection :	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="4">Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision</th> </tr> <tr> <th>Type d'échantillon</th> <th>Conc.Sperm. M/ml</th> <th>Mobilité %</th> <th>Morph %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Frais</td> <td><2 - 400</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Lavé</td> <td><2 - 200+</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Swim-up, Gradient de Densité, Congelé</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Post-Vasectomie</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision				Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	Post-Vasectomie	-	-	-
	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision																								
Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %																						
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30																						
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30																						
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-																						
Post-Vasectomie	-	-	-																						
	Etude bibliographique																								

Argumentaire de la conclusion : bibliographie (guide d'utilisateur SQA-Vision. La limite de détection est pertinente par rapport au besoin du service.

COMPARAISON DE METHODES : MOBILITE TOTALE Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>																									
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Guide d'utilisateur SQA-Vision																								
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Les résultats obtenus avec l'automate SQA-Vision ont été comparés avec les résultats obtenus par la méthode manuelle de référence.																								
Nombre de mesures :	37 échantillons ont été testés																								
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="4">Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision</th> </tr> <tr> <th>Type d'échantillon</th> <th>Conc.Sperm. M/ml</th> <th>Mobilité %</th> <th>Morph %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Frais</td> <td><2 - 400</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Lavé</td> <td><2 - 200+</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Swim-up, Gradient de Densité, Congelé</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Post-Vasectomie</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision				Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	Post-Vasectomie	-	-	-
Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision																									
Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %																						
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30																						
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30																						
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-																						
Post-Vasectomie	-	-	-																						
Méthode d'exploitation des résultats :	<p>Régression linéaire et diagramme des différences Biais = -1,2 % pour les valeurs totales</p> <p>Mobilité totale ≤ 49,7 % LIMITE DE SUIVI % bas = ± 8,660 49,7 <concentration ≤ 57,3 % LIMITE DE SUIVI % moy = ± 10,356 57,3 <concentration ≤ 68 % LIMITE DE SUIVI % haut = ± 9,487</p>																								



Equation de la droite de régression :

Y = 0,4553x + 27,319
R = 0,40 (Spearman)
Coefficient Kappa = 0,80 avec 94,6 % d'accord diagnostique

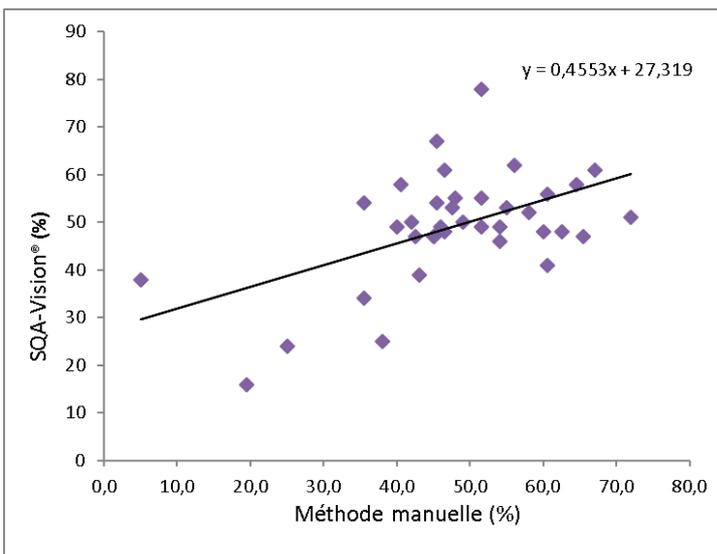


Diagramme des différences et/ou des rapports :

13 points hors limites de suivi :

- 7 points sous-estimés par le SQA-Vision
- 6 points surestimés par le SQA-Vision dont deux points en désaccord diagnostique

Il n'y a pas d'impact diagnostique sur le rendu de résultats en dehors de 2 valeurs (sensibilité 83 % et spécificité 97 %).
Les deux méthodes sont comparables, et la mobilité progressive sera bornée.

COMPARAISON DE METHODES : MOBILITE PROGRESSIVE

Applicable ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :

Guide d'utilisateur SQA-Vision

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :

Les résultats obtenus avec l'automate SQA-Vision ont été comparés avec les résultats obtenus par la méthode manuelle de référence.

Nombre de mesures :

37 échantillons ont été testés

Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :

Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision

Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-
Post-Vasectomie	-	-	-

Méthode d'exploitation des résultats :

Régression linéaire et diagramme des différences
Biais = 4,1 % pour les valeurs totales

Mobilité progressive ≤ 27 %

LIMITE DE SUIVI % bas = ± 11,057

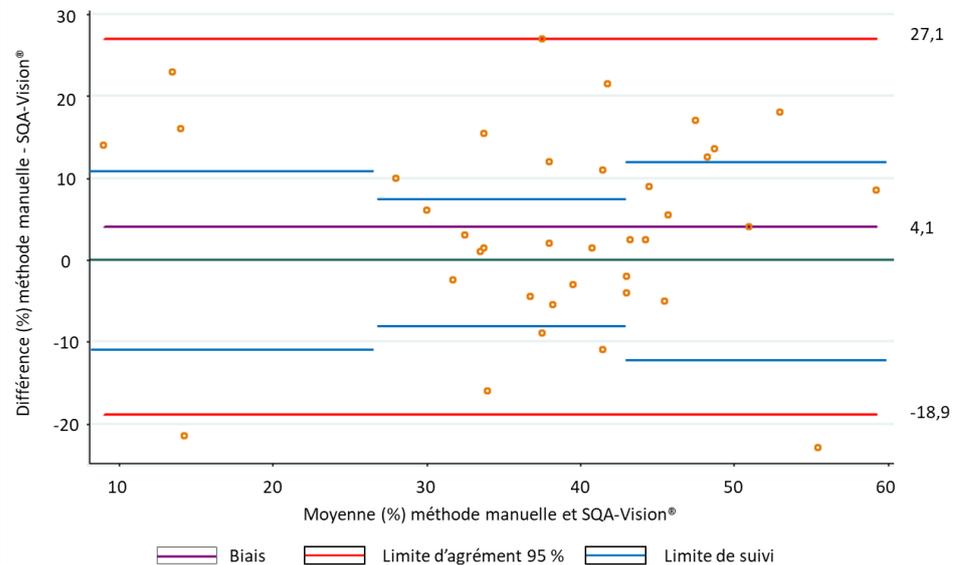
27 <concentration ≤ 43,3 %

LIMITE DE SUIVI % moy = ± 7,746

43,3 <concentration ≤ 55,6 %

LIMITE DE SUIVI % haut = ± 12,247

Mobilité progressive (%)



Equation de la droite de régression :

$$Y = 0,6192x + 11,223$$

$$R = 0,53 \text{ (Spearman)}$$

Coefficient Kappa = 0,37 avec 78,4 % d'accord diagnostique

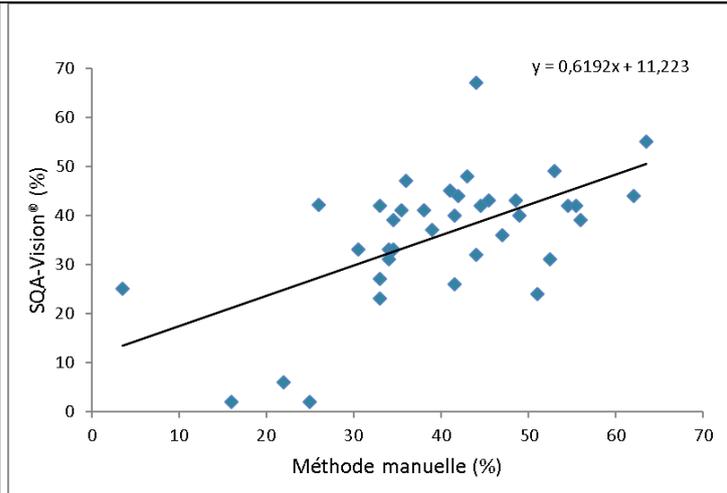


Diagramme des différences et/ou des rapports :

18 points hors limites de suivi :

- 5 points sous-estimés par le SQA-Vision dont 4 désaccords diagnostic
- 13 points surestimés par le SQA-Vision dont 1 désaccord diagnostic

Compte tenu de :

- La surestimation du SQA-Vision de 4 %
- L'incertitude mesurée à 6,2 %

L'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité à 34 % additionnée à la sous-estimation de l'automate et de son incertitude de mesure, ce qui correspond à un seuil à 34 %. Ce seuil nous permet de gagner en sensibilité (83 %).

Argumentaire de la conclusion : L'utilisation de l'automate pour la mobilité progressive est bornée à un seuil de 34 %. Au-dessus de ce seuil, les deux méthodes sont comparables.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Limite de détection : Limite de quantification : Limite supérieure de linéarité :	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision						
	Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	MSC M/ml	PMSC M/ml	Mobile / Immobile / Sperm Total M/ml
	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	<0,2 - 400	0 - 400	-
	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	<0,2 - 200+	0 - 200+	-
	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	<0,2 - 200+	0 - 200+	-
Post-Vasectomie	-	-	-	-	-	0 - 400	

Argumentaire de la conclusion : Guide d'utilisateur SQA-Vision.

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>	
Leucospermie	Une détection de la leucospermie avant de lancer l'analyse sur l'automate SQA-Vision pour adapter l'algorithme de mesure.

Argumentaire de la conclusion : Les échantillons avec une leucospermie ne seront pas testés sur l'automate.

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, β HCG, ...):	NA
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):	NA

Argumentaire de la conclusion : NA, pas de contamination inter échantillon possible avec le système de capillaire à usage unique et pas de distribution de réactif

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS
(étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t° , pH, position sur un support, ...)	NA
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Notice fournisseur

Argumentaire de la conclusion : bibliographie guide utilisateur SQA-Vision

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)
Applicable ; non applicable

Valeurs de référence

ANNEXE 6: Valeurs de référence

PARAMETRE DU SPERME	VALEUR DE REFERENCE*	SOURCE
Concentration (Compte)	≥ 15 M/ml	Manuel WHO 5 th
Total Mobile (PR+NP)	≥ 40 %	Manuel WHO 5 th
Motilité Progressive (PR)	≥ 32 %	Manuel WHO 5 th
Non-progressive (NP)	-	-
Immobile (IM)	-	-
Formes Normales (morphologie)	$\geq 4\%$	Manuel WHO 5 th
Concentration Spermatozoïdes Mobiles (MSC)	≥ 6 M/ml	MES
Concentration Spermatozoïdes Mobiles Progressifs (PMSC)	≥ 5 M/ml	MES
Concentration en Spermatozoïdes Fonctionnels (FSC)	-	-
Vitesse Moyenne Spermatozoïdes Mobiles (VAP)	≥ 5 mic./sec.	MES
Indice Mobilité Spermatozoïdes (SMI)	≥ 80	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes	≥ 39 M	Manuel WHO 5 th
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles	≥ 16 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles Progressifs	≥ 12 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Fonctionnels	-	-
Total de spermatozoïdes morphologiquement normaux	≥ 2 M	MES

* Les valeurs de références établies ci-dessus sont basées sur le Manuel de l'OMS : WHO 5th ou sur les recommandations de MES (pour les paramètres propriétaires).

Argumentaire de la conclusion : Les valeurs de référence sont celles définies par les normes de l'OMS 2010.

DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme, date d'utilisation à définir

Autorisée par : H. Pons
Signature H. Pons



Annexe V : SH FORM Morphologie spermatique

1. Objectifs : compiler les résultats d'une vérification/ validation des méthodes dans le but d'émettre une conclusion.

Domaine d'application : Processus Analytique

Responsable de l'application : Biologiste responsable qualité du service

2. Documents de référence :

SH FORM 43 Indice de révision : 01 FICHE TYPE - Vérification (portée A) / Validation (portée B)
d'une méthode de biologie médicale

Guide d'utilisation SQA-Vision® version 105.13.6.

3. Définitions et abréviations : /

Note : le laboratoire se réfèrera au tableau du § 9 du document Cofrac SH GTA 04 rev 01 pour connaître les paramètres à déterminer dans le cadre d'une vérification sur site (portée A) ou d'une validation (portée B) et complètera **une fiche par examen de biologie médicale**

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE
Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) : Morphologie des spermatozoïdes
Processus simple <input checked="" type="checkbox"/> ; Processus complexe <input type="checkbox"/> (nombre de sous-processus : ...)

DESCRIPTION DES PROCESSUS			
Processus	Éléments à vérifier	Essai Biblio NA	Modalités de vérification/validation ¹ :
Morphologie des spermatozoïdes	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs
	Pas de CQI externalisé	NA	<input type="checkbox"/> 4. Justesse
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 5. Exactitude
	Réalisé	B/E	<input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 7. Incertitudes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure
	Réalisé	E	<input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences
	NA	NA	<input type="checkbox"/> 11. Contamination
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	Réalisé	B	<input checked="" type="checkbox"/> 13. Intervalle de référence

Pour chaque étape, le laboratoire procédera à la vérification / validation des items attendus, et dupliquera autant que de besoin les pages 2 à 8 (évaluation des performances de la méthode) du présent document. Si un autre élément du processus lui semble critique, il devra vérifier / valider cette étape et le préciser dans la conclusion argumentée. C'est cette vérification qui lui permettra de maîtriser ce point critique.

Argumentaire (le cas échéant) : Portée A

¹ Note : Pour la vérification/validation de méthodes quantitatives, le renseignement des items 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu a minima. Pour la vérification/validation de méthodes qualitatives, le renseignement des items 3, 6, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 est attendu, a minima.

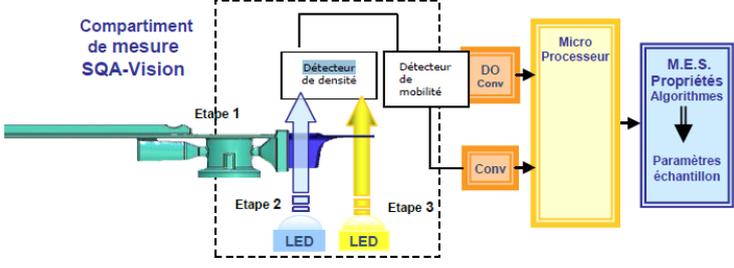
Le types de vérification (bibliographique ou essais) est à indiquer.

L'absence d'applicabilité de certains items (NA) doit être justifiée dans le corps du document.

SOUS-PROCESSUS : Concentration des spermatozoïdes

 Portée A ; Portée B (à justifier)

DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Morphologie des spermatozoïdes
Principe de la Méthode :	 <p>Etude automatique de la morphologie : Possibilité d'obtenir le % de formes anormales (selon la méthode Kruger) à partir d'une corrélation avec la mobilité progressive.</p>
Type d'échantillon primaire :	Sperme
Type de récipient, additifs :	Flacon de prélèvement stérilisé par ionisation (gamma) de sperme 15ML réf. CLINISPERM30DM (CML).
Prétraitement de l'échantillon :	Traitement de l'échantillon avant analyse AMP-ANA-SPE-MO-002 : - Liquéfaction à 37°C (au maximum 1H). - Attendre le retour à température ambiante avant analyse. Le délai pour exécuter l'ensemble des traitements ne doit pas excéder 1 heure.
Unités :	pourcentage
Critères d'interprétation² :	Formes typiques ≥ 4%
Marquage CE (Oui/Non) :	OUI
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	Non disponible
Equipement (instrument, analyseur, etc.) :	SQA-Vision référence MES 01051V n°5230
Référence du réactif :	MS 0700 QwickCheck Test strip MS 4021 Capillaires MS 0115 Kit de nettoyage
Matériau d'étalonnage (références) :	NA
Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs :	Système de stabilisation et d'autocalibration à chaque mise sous tension et avant chaque analyse d'échantillon

² Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	Julie Kasprzak / Hanae Pons
Procédure de validation/mode opératoire :	DQLAB-ANA-PRO- 001 vérification validation de méthodes de biologie médicale AMP-ANA-COM-IN-001 VERIFICATION ET VALIDATION DE METHODES
Procédure de gestion de la portée flexible :	DQLAB-ANA-PR-004 Gestion portée flexible : examen biologie médicale
Période d'étude :	Préciser Du : 14/06/2019 au 19/08/2019
Date de 1^{ère} utilisation :	A définir

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera les points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous pour chaque paramètre vérifié/validé)			
5M	Points critiques	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...) avec les références du SMQ du laboratoire
Matière (échantillons)			Voir DQLAB-SMQ-FO-28-38-ANALYSE DES RISQUES – SUIVI DES PORTEES
Milieu			
Matériel (équipements)			
Matériel (réactifs)			
Méthode			
Main d'œuvre (Personnel)			

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Protocole utilisé : Dates différentes, opérateurs différents, même lot de capillaires (lot : 070818) et même instrument (SQAV n°5230).

Pour évaluer la reproductibilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 2 échantillons de prélèvements de patients (2 niveaux de forme typique, 3 opérateurs et capillaires différents)

Le nombre de répétabilité a été défini en raison de la rareté et de l'altération de la qualité des échantillons :

- Chaque échantillon a été quantifié 4 fois dans les mêmes conditions standardisées sur l'automate.

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ³
Echantillon 1900377056 Niveau bas	4	2,0	0,0	0,0	6,5	9,8	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900367983 Niveau moyen	4	6,3	0,5	8,0	6,5	9,8	<u>Conforme</u>
Echantillon 1900305823 Niveau haut	4	8,8	0,5	5,7	6,5	9,8	<u>Conforme</u>

Argumentaire de la conclusion : Les critères de conformités utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux proposés dans la littérature. Ils sont toutefois présentés à titre indicatif. Résultats conformes

FIDELITE INTERMEDIAIRE

Applicable ; non applicable (à justifier)

Protocole utilisé : Dates différentes, opérateurs différents, même lot de capillaires (lot : 070818) et même instrument (SQAV n°5230).

Pour évaluer la reproductibilité de la méthode, le laboratoire a choisi :

- 2 échantillons de prélèvements de patients (2 niveaux de forme typique, 3 opérateurs et capillaires différents)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire (RICOS)	Conclusion ⁵
Echantillon 1900367983 Niveau Moyen	3	5,3	0,6	10,8	6,5	9,8	<u>Non conforme</u>
Echantillon 1900339226 Niveau Haut	3	11,0	0,0	0,0	6,5	9,8	<u>Conforme</u>

Argumentaire de la conclusion : Etant donné que le volume d'un éjaculat est limité et que les paramètres spermatiques s'altèrent dans le temps, seulement 3 mesures ont été effectuées. Les critères de conformités utilisés sont ceux proposés par la référence RICOS, les CV du fabricant étant plus sévères que ceux de la littérature. Ils sont toutefois présentés à titre indicatif. Le CV de niveau moyen de 10,8 % pour un pourcentage moyen de 5,3% de spermatozoïdes de forme typique est supérieur au CV RICOS et n'est donc pas conforme. Toutefois cette valeur est sans ambiguïté quant à l'interprétation clinique malgré son CV élevé, toutes les mesures réalisées étant supérieures au seuil de 4% défini par l'OMS 2010. Résultats conformes.

³ Conforme/non conforme

VARIABILITE INTER-OPERATEURS

 Applicable ; non applicable

Argumentaire de la conclusion : La variabilité inter-opérateur est évaluée par le biais de la fidélité intermédiaire (cf ci-dessus).

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)
 Applicable ; non applicable (à justifier)

Argumentaire de la conclusion : absence de CQI externalisé

EXACTITUDE (à partir des contrôles externes ponctuels : EEQ/CNQ)

 Contrôles quantitatifs ; Contrôles qualitatifs

Echantillons	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite ⁴	Conclusion ⁵
				A renseigner pour les contrôles quantitatifs			

Argumentaire de la conclusion : Les EEQ proposées sont sous la forme de lames virtuelles ou réelles non exploitables par le SQA-Vision. Une vérification mensuelle de la morphologie est effectuée sur 1 patient en comparaison avec la technique de référence (technique manuelle) afin de valider le bon fonctionnement de l'appareil. De même, des billes de contrôles qualité interne sont passées 1 fois par semaine.

SENSIBILITE et SPECIFICITE ANALYTIQUE
 (étude expérimentale indispensable en portée B)
 (étude expérimentale possible si pertinente en portée A)
 Applicable ; non applicable (à justifier)
Vrais positifs
Faux positifs
Vrais négatifs
Faux négatifs

Données Fournisseurs :

Spécificités : 90 %

Sensibilité : 80 %

Données mesurées en comparaison avec la méthode de référence :

Spécificité : 100 %

Sensibilité : 17 %

Afin d'améliorer la sensibilité, le pourcentage de spermatozoïdes typiques est borné à un seuil de 9 % (valeur seuil normal selon l'OMS 4% + incertitude 1,9 %+ surestimation de l'automate 2,3 %)

Spécificité : 77%

Sensibilité : 89%

Argumentaire de la conclusion : Bibliographie : guide d'utilisateur SQA-Vision et étude expérimentale : résultats conformes avec un pourcentage de spermatozoïdes typiques borné à un seuil de 9 % afin d'assurer la sensibilité de mesure. Une vérification systématique est réalisée en méthode manuelle pour le calcul du TZI.

INCERTITUDE DE MESURE (niveaux, choix du mode de calcul, interprétation) :

 Méthodologie choisie : analyse des risques (absence d'interférence résiduelle) ; calcul

	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul (cf. SH GTA 14) :	« CIQ + étalon fournisseur »	RICOS souhaitable : 28,2 %
Quantification de l'incertitude (niveau moyen) : [5,3 %]	5,3 % ± 1,9 soit 35,8 %	Non conforme
Quantification de l'incertitude (niveau haut) : [11,0 %]	11,0 ± 1,5 soit 13,6 %	Conforme

Argumentaire de la conclusion: L'utilisation de l'automate est bornée pour un seuil à 9 %. Incertitude acceptable pour l'interprétation biologique **Conforme aux besoins du service.**

**LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A)
Applicable ; non applicable**

Limite de détection :

Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision

Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-
Post-Vasectomie	-	-	-

Argumentaire de la conclusion : bibliographie (guide d'utilisateur SQA-Vision). La limite de détection est pertinente par rapport au besoin du service.

COMPARAISON DE METHODES :

Applicable ; non applicable (à justifier)

Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Guide d'utilisateur SQA-Vision																				
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Les résultats obtenus avec l'automate SQA-Vision ont été comparés avec les résultats obtenus par la méthode manuelle de référence.																				
Nombre de mesures :	37 échantillons ont été testés																				
Intervalle de comparaison adaptée à l'étendue des mesures du laboratoire :	<p>Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Type d'échantillon</th> <th>Conc.Sperm. M/ml</th> <th>Mobilité %</th> <th>Morph %</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Frais</td> <td><2 - 400</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Lavé</td> <td><2 - 200+</td> <td>0 - 100</td> <td>2 - 30</td> </tr> <tr> <td>Swim-up, Gradient de Densité, Congelé</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Post-Vasectomie</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	Post-Vasectomie	-	-	-
Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %																		
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30																		
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30																		
Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-																		
Post-Vasectomie	-	-	-																		
Méthode d'exploitation des résultats :	<p>Régression linéaire et diagramme des différences Biais = -2,3 % pour les valeurs totales</p> <p>Forme typique ≤ 5,3 % LIMITE DE SUIVI % moy = ± 2,449 5,3 < forme typique ≤ 10,3 % LIMITE DE SUIVI % haut = ± 3,464</p>																				

	<p style="text-align: center;">Forme Typique (%)</p> <p style="text-align: center;"> Biais Limite d'agrément 95 % Limite de suivi </p>
<p>Equation de la droite de régression :</p>	<p> $Y = 0,6152x + 21,789$ $R = 0,71$ (Spearman) Coefficient Kappa = 0,22 avec 64,7 % d'accord diagnostique </p>
<p>Diagramme des différences et/ou des rapports :</p>	<p>19 points hors limites de suivi :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 4 points sous-estimés par le SQA-Vision - 15 points surestimés par le SQA-Vision dont 11 points en désaccords avec le diagnostic rendu par la méthode manuelle de référence <p>Compte tenu de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - La surestimation du SQA-Vision de 2,3 % - L'incertitude mesurée à 1,9 % <p>L'utilisation de l'automate sera bornée pour une valeur basse correspondant au seuil de normalité à 4 % additionnée à la surestimation de l'automate et de son incertitude de mesure, ce qui correspond à un seuil à 9 %.</p> <p>Ce seuil nous permet de gagner en sensibilité (89 %).</p>

Argumentaire de la conclusion : L'utilisation de l'automate pour la morphologie est bornée à un seuil de 9 %. Au-dessus de ce seuil, les deux méthodes sont comparables.

ETENDUE DE MESURE (étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour :
troponine, micro albumine, plaquettes, PSA, TSH, ...)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Limite de détection : Limite de quantification : Limite supérieure de linéarité :	Résultat de la gamme obtenu sur SQA-Vision						
	Type d'échantillon	Conc.Sperm. M/ml	Mobilité %	Morph %	MSC M/ml	PMSC M/ml	Mobile / Immobile / Sperm Total M/ml
	Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	<0.2 - 400	0 - 400	-
	Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	<0.2 - 200+	0 - 200+	-
	Swim-up, Gradient de Densité, Congelé	-	-	-	<0.2 - 200+	0 - 200+	-
Post-Vasectomie	-	-	-	-	-	0 - 400	

Argumentaire de la conclusion : Guide d'utilisateur SQA-Vision.

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B)
(Étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour : Hémolyse, turbidité, bilirubine, médicaments, ... - à prendre en compte dans les facteurs de variabilité - à évaluer si nécessaire)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Leucospermie	Une détection de la leucospermie avant de lancer l'analyse sur l'automate SQA-Vision pour adapter l'algorithme de mesure.
---------------------	---

Argumentaire de la conclusion : Les échantillons avec une leucospermie ne seront pas testés sur l'automate.

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Inter échantillon pour les paramètres sensibles (par exemple Ag HBS, βHCG, ...):	NA
Inter réactif si nécessaire (par exemple : LDH et ALAT, cholestérol et phosphate, lipase et triglycérides, ...):	NA

Argumentaire de la conclusion : NA, pas de contamination inter échantillon possible avec le système de capillaire à usage unique et pas de distribution de réactif

ROBUSTESSE et STABILITE des REACTIFS
(étude expérimentale indispensable en portée B)
(étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles)
Applicable ; non applicable (à justifier)

Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	NA
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Notice fournisseur

Argumentaire de la conclusion : bibliographie guide utilisateur SQA-Vision

INTERVALLES de REFERENCE et/ou valeurs seuils en fonction des données démographiques (étude expérimentale indispensable en portée B)
Applicable ; non applicable

Valeurs de référence

ANNEXE 6: Valeurs de référence

PARAMETRE DU SPERME	VALEUR DE REFERENCE*	SOURCE
Concentration (Compte)	≥15 M/ml	Manuel WHO 5 th
Total Mobile (PR+NP)	≥40 %	Manuel WHO 5 th
Motilité Progressive (PR)	≥32 %	Manuel WHO 5 th
Non-progressive (NP)	-	-
Immobile (IM)	-	-
Formes Normales (morphologie)	≥4%	Manuel WHO 5 th
Concentration Spermatozoïdes Mobiles (MSC)	≥6 M/ml	MES
Concentration Spermatozoïdes Mobiles Progressifs (PMSC)	≥5 M/ml	MES
Concentration en Spermatozoïdes Fonctionnels (FSC)	-	-
Vitesse Moyenne Spermatozoïdes Mobiles (VAP)	≥5 mic./sec.	MES
Indice Mobilité Spermatozoïdes (SMI)	≥80	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes	≥39 M	Manuel WHO 5 th
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles	≥16 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Mobiles Progressifs	≥12 M	MES
Quantité Totale Spermatozoïdes Fonctionnels	-	-
Total de spermatozoïdes morphologiquement normaux	≥2 M	MES

* Les valeurs de références établies ci-dessus sont basées sur le Manuel de l'OMS : WHO 5th ou sur les recommandations de MES (pour les paramètres propriétaires).

Argumentaire de la conclusion : Les valeurs de référence sont celles définies par les normes de l'OMS 2010.

DECLARATION d'APTITUDE

Conclusion : méthode conforme, date d'utilisation à définir

Autorisée par : H. Pons
Signature H. Pons



(Conseil national de l'ordre des médecins)

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTE et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les HOMMES m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'OPPROBRE et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Automatisation du spermogramme-spermocytogramme : caractérisation de la performance et validation de méthode du SQA-Vision®

Introduction : L'infertilité masculine s'explique par un spermogramme-spermocytogramme. Mais cet examen est lié à une variabilité intra et inter-laboratoire qui amène à s'intéresser à l'automatisation.

Objectif de l'étude : Caractérisation des performances de l'automate SQA-Vision® et validation de la méthode d'automatisation du spermogramme-spermocytogramme.

Matériels et méthodes : Après avoir caractérisé la performance de l'automate par la mesure de répétabilité et de la fidélité intermédiaire sur plusieurs niveaux, une vérification de méthode a été réalisée par comparaison avec la méthode manuelle de référence accréditée depuis 2015. Pour cela 37 échantillons ont été analysés pour la concentration de spermatozoïdes, les mobilités spermatique totale et progressive, et la morphologie typique spermatique (automate *versus* technique manuelle) et 59 ont été inclus pour l'analyse de la leucospermie (bandelette *versus* technique manuelle).

Résultats : Les coefficients de variations de la répétabilité et de la fidélité intermédiaire de l'automate étaient conformes aux besoins du service. Nous avons mesuré une concordance excellente pour la concentration ($\text{Lin}=0,84$), moyenne pour la mobilité totale ($\text{Lin}=0,52$) et progressive ($\text{Lin}=0,55$). L'accord diagnostique était acceptable pour la mobilité totale ($\text{Kappa}=0,75$) mais non pour la mobilité progressive ($\text{Kappa}=0,37$). Quant à la morphologie, elle présentait une concordance moyenne ainsi qu'un accord diagnostique faible ($\text{Kappa}=0,22$). Les bandelettes ont montré une bonne sensibilité (83,3%) et spécificité (95,7%) pour détecter une leucospermie. L'utilisation du SQA-Vision® a été bornée pour les échantillons de spermes présentant un test de bandelette négatif, une concentration de spermatozoïdes supérieure à 20,4 M/mL, une mobilité spermatique progressive supérieure à 34 % et une morphologie spermatique typique supérieure à 9%.

Discussion/Conclusion : Le SQA-Vision® peut être utilisé en Spermiologie Diagnostique dans les limites définies par notre validation de méthode. Sa mise en place est, toutefois, à combiner avec la méthode manuelle.

Mots clés : Spermogramme-spermocytogramme, méthode automatisée, méthode manuelle, SQA-Vision®, technologie