



L'automatisation du
spermogramme est-elle
envisageable et à quel prix?



Les Jeudis de Fleurus

Automatiser le spermogramme,
ce n'est pas ça!!!



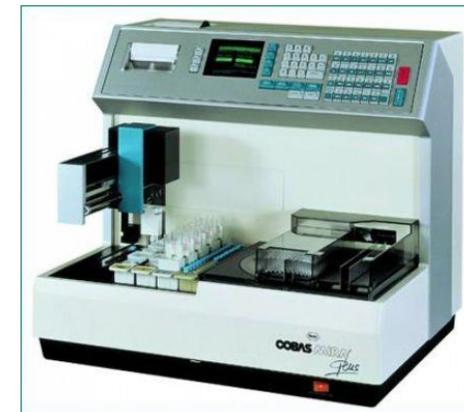


- L'automatisation en général: Réflexion
- Que peut-on appliquer à l'analyse du sperme ?
- Problématique propre au sperme
- Quels sont les paramètres essentiels ?
- Quels paramètres tout de suite et quels paramètres en différé ?
- Quels sont les freins à l'automatisation du spermogramme ?
- Et le contrôle interne et externe ?



L'automatisation, ça date de quand?

- Chimie clinique: 1965-1970
- Hématologie: Fin des années 70
- Immunoassay: par phases de 92 vers 2000
- Bactériologie: par phases de 95 à ce jour.
- Intégration de la chimie, des immunoassays et de l'hématologie: De 2000 à ce jour



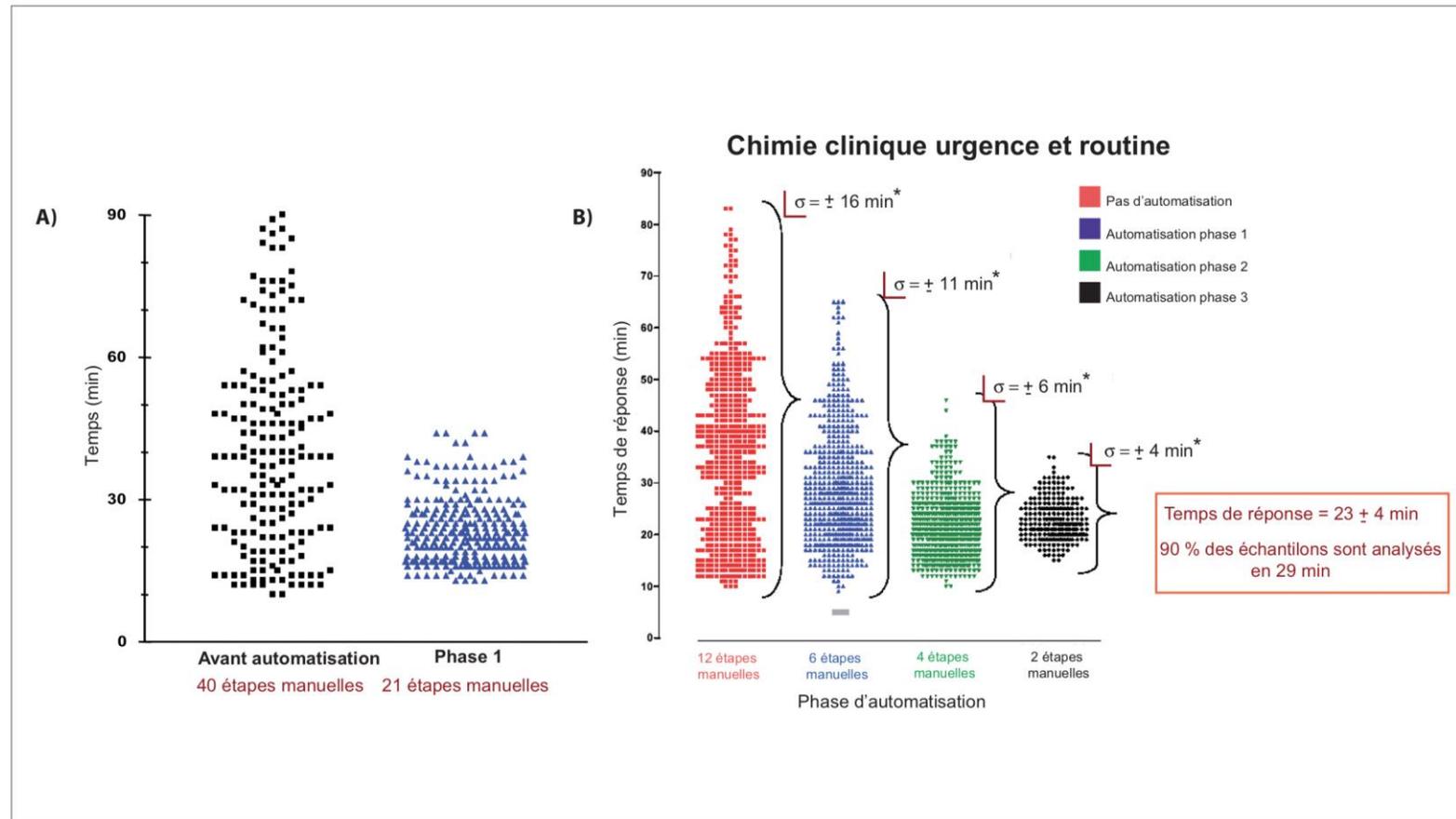


- **Extrait d'une conférence intitulée: «Automatisation et gain de productivité au laboratoire»**
- L'article fait référence à la norme ISO 15189
- L'article insiste sur:
 - Les progrès techniques et l'arrivée de nouveaux paramètres
 - L'augmentation des performances (en terme de qualité, de répétabilité et de sécurité des données)
 - La diminution de délai dans la réalisation des analyses
 - La limitation du nombre d'interventions manuelles
 - Le renforcement de la sécurité biologique pour le personnel





Graphique illustrant l'article





C'est quoi automatiser? Que cherche-t-on?

Est-ce applicable au sperme?

- Quel est le but réel de l'automatisation?
 - Rapidité? 
 - Facilité de travail?  
 - Capacité en terme d'échantillons? 
 - Random access?
 - Traçabilité?   
 - Reproductibilité?   
 - Dépendance à l'utilisateur?   
 - Interactions entre les tests à effectuer?
 - Transfert des données?   
 - Etablir un système de management de qualité?   



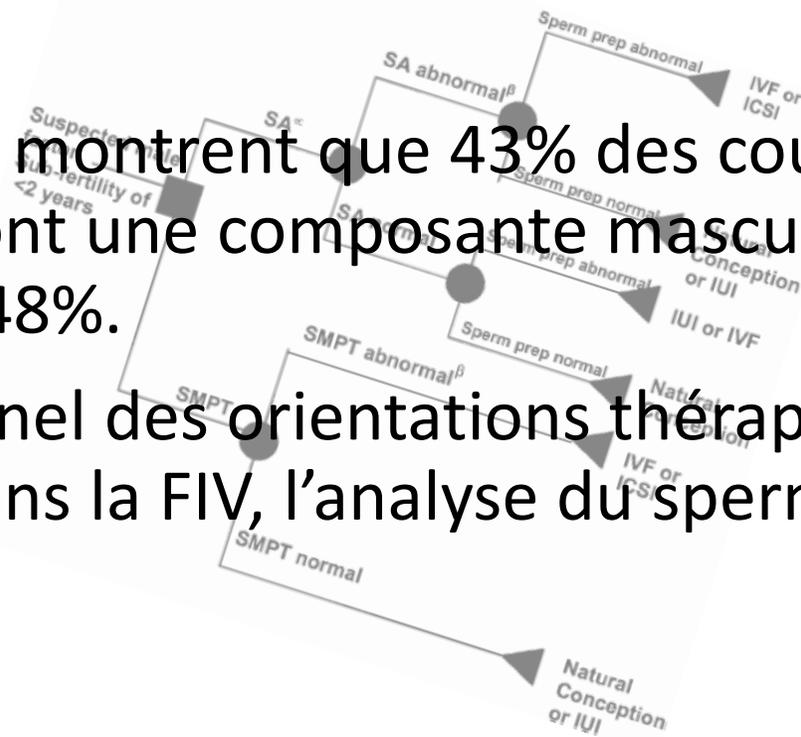
Situation des principaux laboratoires

- Difficulté d'homogénéiser les résultats et de contrôler l'évolution de cette tentative d'harmonisation dans le temps. L'expérience est pourtant parlante...
- Tout le monde sait que les résultats des QC inter-laboratoires sont alarmants mais personne n'a de soucis... 🙄 « Chez nous, nous sommes toujours dans les clous... »
- Beaucoup de délais sont nécessaires à l'obtention d'un rendez-vous pour une spermiologie dans nombre de centres car les plages horaires offertes sont restreintes.
- Tout le monde prend la normes WHO (5 en général, parfois 4, parfois un mix) en référence mais en prenant des raccourcis ou des aménagements considérés sans conséquences... hélas en réalité...



L'analyse du sperme, c'est important?

- Les chiffres de l'OMS montrent que 43% des couples présentant un soucis de fécondité ont une composante masculine, les estimations récentes montent à 48%.
- Dans l'arbre décisionnel des orientations thérapeutiques (ou du trajet suivi par le couple dans la FIV, l'analyse du sperme joue un rôle essentiel)





- Difficultés du prélèvement – Sur site ou pas?
- Difficulté et variabilité lors du transport du prélèvement (si prélèvement hors site)
- Impératif de réaliser les analyses rapidement, donc de disposer du personnel qualifié au bon moment
- Variabilité de l'échantillon (viscosité, préparation, normes).
- Respect des normes (WHO 4 ou 5) – Imprécision
- Aspect humain du patient – donner son sperme, ce n'est pas donner son sang...



- Paramètres macroscopiques:
 - Volume, pH, Viscosité, Liquéfaction
- Paramètres microscopiques:
 - Concentration, mobilité, mobilité progressive, % de formes normales, Concentration en leucocytes,...
 - Spermocytogramme détaillé, Vitalité, Fragmentation de l'ADN, Intégrité acrosomique,...
 - Zinc, Fructose, Carnitine,...



Paramètres principaux et difficulté

Paramètre	Urgence	Durée	Relativité d'observation	Difficulté pré-analytique ou analytique
Volume	-	+	+	+
pH	+	+	+	+
Viscosité	+++	+	++	+
Liquéfaction	+++	+	++	+++
Concentration en leucocytes	+	+ / ++	++	++
Concentration en spermatozoïdes	+	+++	+++	+++
Mobilité totale des spermatozoïdes	+++	++	+++++	+++
Mobilités relatives des spermatozoïdes	+++	++	+++++	+++
Classement ABCD	+++	++	Hors échelle	+++
Spermocytogramme (Kruger ou David)	++	++++	+++++	+++
Vitalité	+++	++	++	+++
Fragmentation ADN	+++	++	++	+++
Intégrité acrosome	+++	++	+++	+++
Zinc	++	+	+	+
Fructose	++	+	+	+



Illustration des difficultés d'analyse du sperme

- Présentation du Dr Fabrice Guerif, CHRU Bretonneau Tours. Article M. Blanchard, et al. Intl Journal of Andrology, Fev 2011
- La morphologie en question: Faut-il quitter la classification de David pour aller vers le standard international de Kruger ou même quitter le spermocytogramme détaillé?
- Première constatation: la variabilité inter-opérateur, les diverses normes mises en place et surtout, la manière dont celles-ci sont appliquées rend presque inaccessible le consensus sur la valeur diagnostique et les répercussions cliniques de la morphologie.
- L'étude montre aussi que la distribution des formes normales dans les groupes définis intitulés Low Fert, Interm. Fert et High fertility est peu probante et les seuils presque impossibles à définir aussi bien en David qu'en Kruger.



Quelques cas concrets





Evolution du WHO 4 au WHO 5 – Mobilité relative

- WHO 4 : Classification de la mobilité en A, B, C, D (4 classes)
- WHO 5; Classification de la mobilité en: Mobilité progressive, mobilité non progressive, immobilité (3 classes)
- Article de Cooper et Yeung conclut à la corrélation pauvre des évaluations des grades de mobilité de technologues expérimentés.
- Conduit le WHO à revoir sa classification et supprime les classes A, B, C et D mais...





- Le vortex en question...

Note 1: Some chambers are constructed with ground-glass pillars: in these. New-

Box 2.3 Thorough mixing of semen

Before removing an aliquot of semen for assessment, mix the sample well in the original container, but not so vigorously that air bubbles are created. This can be achieved by aspirating the sample 10 times into a wide-bore (approximately 1.5 mm diameter) disposable plastic pipette (sterile when necessary). Do not mix with a vortex mixer at high speed as this will damage spermatozoa.

mixing is delayed by 5–10 seconds. In these cases, vortex the diluted sample for 10 seconds immediately after adding the semen to the fixative.





Préparation d'une lame-Lamelle

- Cover it with a coverslip, e.g. 22 mm × 22 mm for 10 μ l, to provide a chamber approximately 20 μ m deep (see Box 2.4). The weight of the coverslip spreads the sample.
- Take care to avoid the formation and trapping of air bubbles between the coverslip and the slide.
- Assess the freshly made wet preparation as soon as the contents are no longer drifting.



Box 2.4 Depth of wet preparations

The depth of a preparation (D , μ m) is obtained by dividing the volume of the sample (V , μ l = mm^3) by the area over which it is spread (A , mm^2): $D = V/A$. Thus, a volume of 10 μ l of semen delivered onto a clean glass slide and covered with a 22 mm × 22 mm coverslip (area 484 mm^2) provides a chamber of depth of 20.7 μ m; a 6.5 μ l sample covered with an 18 mm × 18 mm coverslip (area 324 mm^2) provides a depth of 20.1 μ m; an 11 μ l sample covered by a 21 mm × 26 mm coverslip (area 546 mm^2) provides a depth of 20.1 μ m. Occasionally, a deeper chamber may be required: a 40 μ l sample covered by a 24 mm × 50 mm coverslip (area 1200 mm^2) provides a depth of 33.3 μ m.

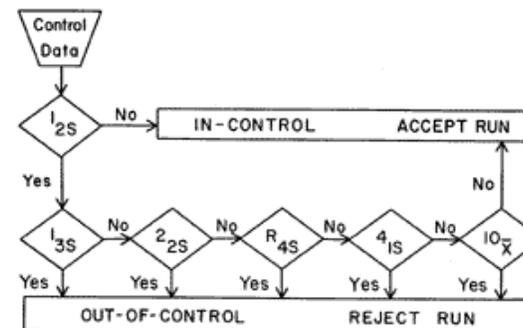


- L'automatisation d'une technique favorise les possibilités d'accréditer ou de normer un process à condition de:
 - Présenter des règles strictes et avec peu de possibilités de déroger aux conditions analytiques
 - Eviter de laisser l'utilisateur devoir prendre une décision sans disposer d'outils de mesure fiables et bien documentés
 - Permettre une excellente reproductibilité des résultats obtenus et un canevas de travail quotidien aussi précis que possible
 - Permettre un QC optimal de l'exactitude des valeurs et de leurs dérives dans le temps.





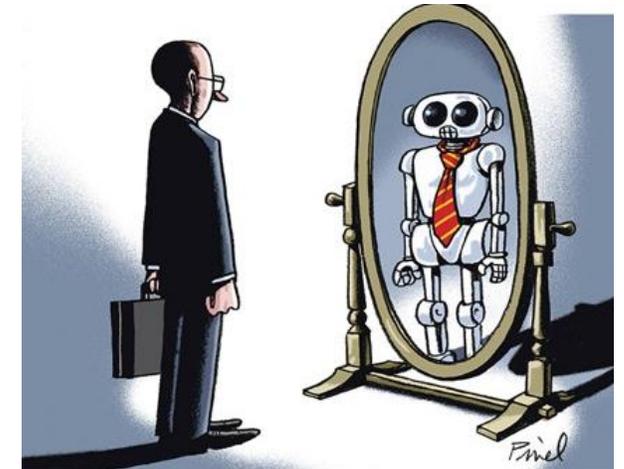
- Il est intéressant de mettre en place un modèle de QC interne sur le sperme mais sans doute aujourd'hui limité à la concentration.
- Le QC interne du sperme devrait respecter des règles de validation statistique proche des autres QC journaliers.
- Le QC externe doit pouvoir s'adapter aux exigences de l'automatisation:
 - Type d'échantillon
 - Constance dans la préparation
 - Création de pear-groupes





Freins à l'automatisation

- Facteur humain important: légitime ou pas
- Le manque de standardisation réelle des laboratoires face à une norme pourtant bien décrite.
- Les objectifs poursuivis par les différents acteurs du bilan de spermologie: routine/IVF.
- Le prix s'il n'est pas mis en équation avec le temps et l'apport technique / sécurité / rapidité / flexibilité.





Et l'analyse du sperme en dehors du laboratoire?

- Le concept du POC ou délocalisation de la spermologie a-t-elle un intérêt?
- La pression subie par de nombreux hommes pour réaliser l'analyse doit-elle être prise en compte?
- De nombreuses approches sont réalisées en ce sens, mais cela nuit-il au laboratoire?
- Les analyses hors laboratoire n'ont jamais diminué le nombre de tests au laboratoire, il s'agit plutôt d'un concept global d'approche du patient et s'intègre très bien dans le principe de l'automatisation.
- Quel rapprochement avec les troussees disponibles en pharmacie pour les pré-diagnostiques « féminins »?





Les Jeudis de Fleurus

Merci à tous

