



Cerballiance

# Expérience d'accréditation en spermologie

Laboratoire CERBALLIANCE PARIS SUD

Centre AMP du Bois de Verrières ( hôpital privé d'Antony 92160)

GUIDICELLI Laurence

# 1 : Savoir précisément ce qu'on accréдите



La Portée de la demande d'accréditation est l'énoncé formel et précis des activités pour lesquelles le laboratoire demande l'accréditation :

- **Domaine Biologie médicale**
- **Famille hématologie-immunologie – biologie de la reproduction**
- **Sous-domaine** : Biologie de la Reproduction
- **Sous-famille** : Spermologie diagnostique (SPERMIOBM)

Code	Nature de l'échantillon biologique	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode	Référence de la méthode	Remarques (Limitations, paramètres critiques, )
SP1	Échantillons biologiques d'origine humaine	Recherche et identification des spermatozoïdes, volume, pH, viscosité, agglutination, <b>mobilité</b> , concentration, cellules rondes	Méthode manuelle Examen direct macro- et microscopique, avec ou sans traitement (centrifugation, gradient,...)  sur échantillon frais ou après décongélation	Méthodes reconnues (A) Méthodes reconnues, adaptées ou développées (B) (**)	<b>Spermogramme</b> Test de migration-survie

## 1.2 Les référentiels normatifs



### SH REF.02 (COFRAC)

Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 - 2012

### SH REF.08 (COFRAC)

expression et évaluation des portées d'accréditation.

### SH GTA 14

Guide technique d'accréditation  
(évaluation des incertitudes de mesure en biologie médicale).

### SH GTA 06

Guide technique d'accréditation  
(contrôle de qualité en biologie médicale).

### SH GTA 05

Guide technique d'accréditation en  
biologie de la reproduction.

(applicable au 1<sup>er</sup> Octobre 2016)

Les référentiels pour la réalisation des examens en spermologie diagnostique

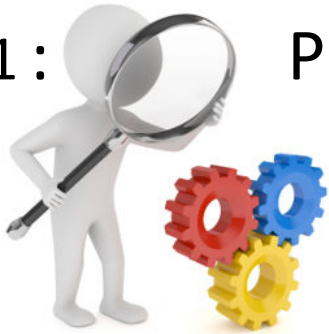
WHO 2010  
5<sup>ème</sup> édition (OMS/WHO 2010)

cahier de formation n°42 BIOFORMA  
exploration de la fonction de la  
reproduction versant masculin

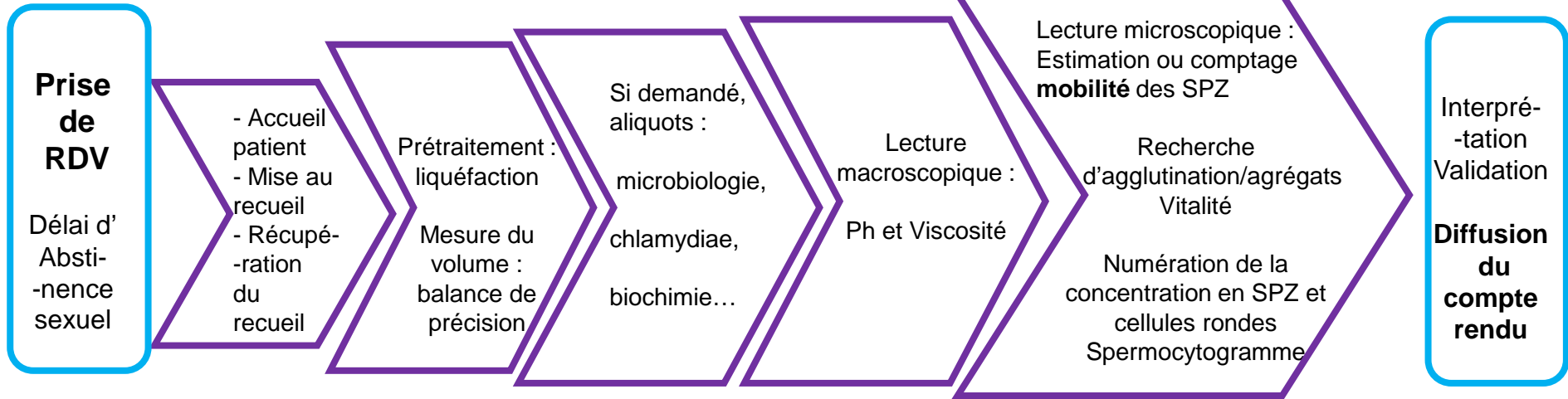




# 2.1 : Processus spermogramme

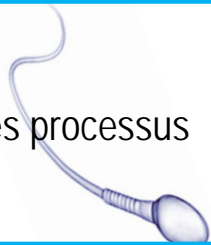


- Pilote
- Références normatives
- But et finalité



- Documentation associée : gestion électronique documentaire
- Procédure générale
- Instructions
- Enregistrements
- Mode opératoire

- Indicateurs
- Risques
- Interactions avec autres processus



# 3 : Décrire les méthodes pour chaque sous processus du spermogramme

SOUS-PROCESSUS : Mobilité

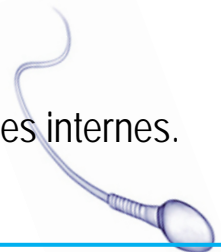
Portée A ; Méthode OMS

## DESCRIPTION DE LA METHODE

Analyte / Mesurande :	Mobilité des spermatozoïdes
Principe de la Méthode :	<p>Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes selon les 3 catégories préconisées par l'OMS 2010 et quantifiée en pourcentage .Détermination effectuée au microscope contraste de phase et platine chauffante à 37°C objectif x20 et x40</p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ Mobilité de type AB ou P : spermatozoïdes progressifs</li><li>➤ Mobilité de type C ou NP : spermatozoïdes non progressifs (ou mobiles sur place)</li><li>➤ Mobilité de type C ou I : spermatozoïdes immobiles</li></ul> <p>Méthode de lecture :Cf.MO-295-PRS SPERMOGRAMME</p>
Type d'échantillon primaire :	Sperme

### SH FORM 43 Mobilité des SPZ BDV

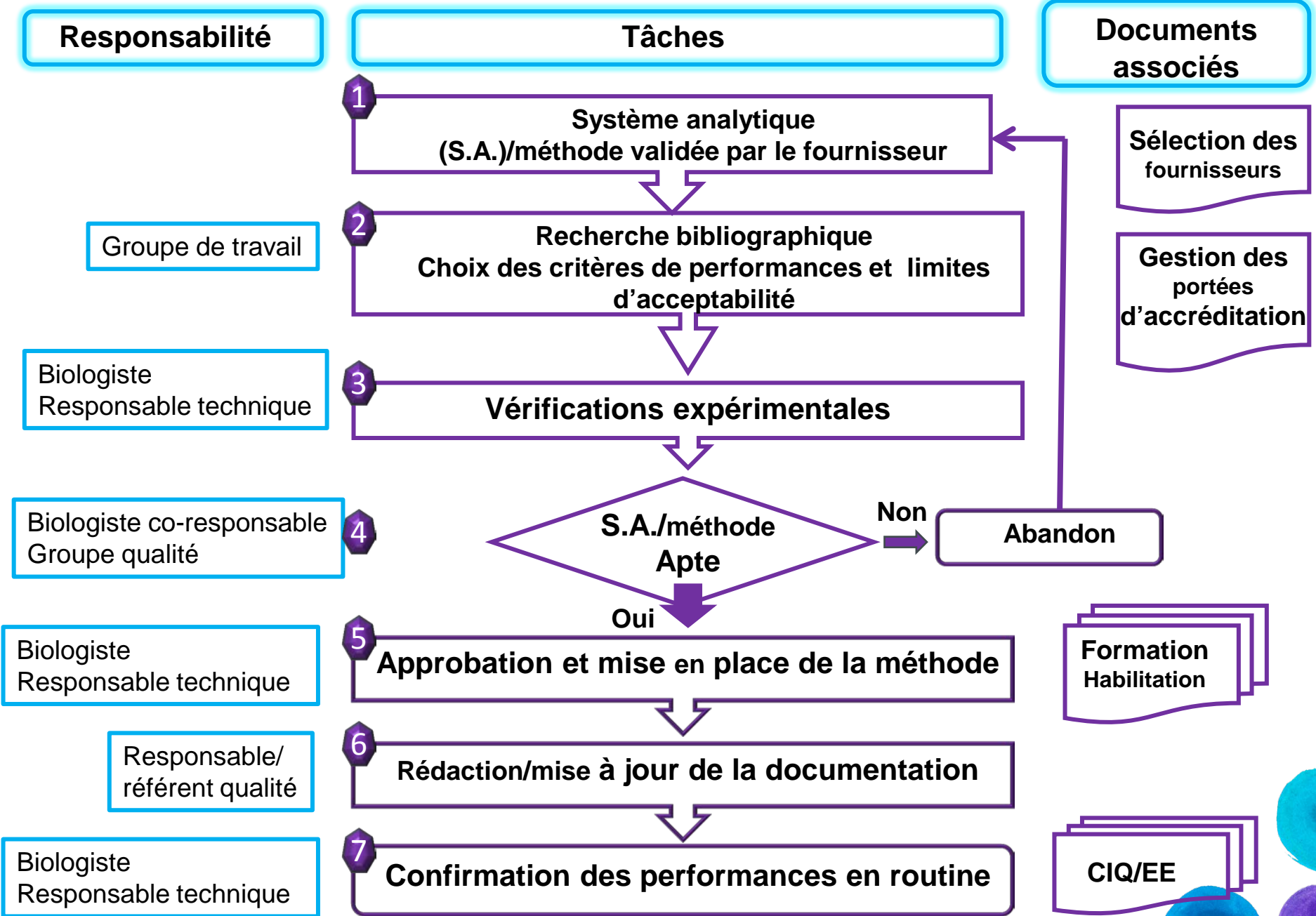
- Expliquer le choix des méthodes
- Méthode qualitative ou quantitative ?
- Fonction du niveau de performance désirée : référentiel, littérature, société savante, études internes.
- Faisabilité, coût, délai de rendu des résultats...



### 3.1 : Choix des méthodes pour chaque sous processus du spermogramme

				Performance	
Paramètre sperme	Portée	Méthodologie	Source	Performance désirée : Variation maximale inter-opérateur	Performance obtenue : Variation maximale inter-opérateur
Volume	A	Balance	OMS/ 2010/BIOFORMA	0,1 ml	
pH	A	Papier pH	OMS /2010/BIOFORMA		
Viscosité	A	Ecoulement libre	OMS 2010/BIOFORMA		
Agglutination	A	Lame/lamelle	OMS/2010		
Mobilité SPZ	A	Lame/lamelle	Article/Ricos	Mobilité totale cv acceptable 9,2 % Mobilité progressive 7,6%	
Numération SPZ	A/B	Malassez/Makler	Article/Ricos OMS/2010	13,4%	
Numération Cellules rondes	A/B	Malassez/Makler		13,4%	
Vitalité	A	Eosine/nigrosine	Article/ Ricos	5,2%	
Leucocytes	A	Péroxydase			
Spermocytogramme	A	OMS 2010	EEQ/comparaison groupe expert	9,8%	

### 3.2 : Vérification/Validation de méthodes et évaluation des incertitudes de mesure



### 3.3 Les critères vérifiés dépendent du paramètre et de la portée considérée : (cf : **SH GTA 05**)

Paramètres à vérifier sur site	Portée A		Portée B	
	Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode quantitative	Méthode qualitative
Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire)	essai	essai	essai	essai
Justesse /exactitude (approche)	essai	essai	essai	essai
Incertitude/facteurs de variabilité et évaluation	essai	Maitrise des facteurs de variabilités	essai	Maitrise des facteurs de variabilités
Comparaison avec méthode déjà utilisée ou autre méthode (appareil en miroir) et analyse des discordances	essai	essai	essai	essai
Intervalles de mesure : Limite de quantification et limites de linéarité	Bibliographie	-	essai	-
Interférences ...	Bibliographie	Bibliographie	essai	essai
.....				
.....				



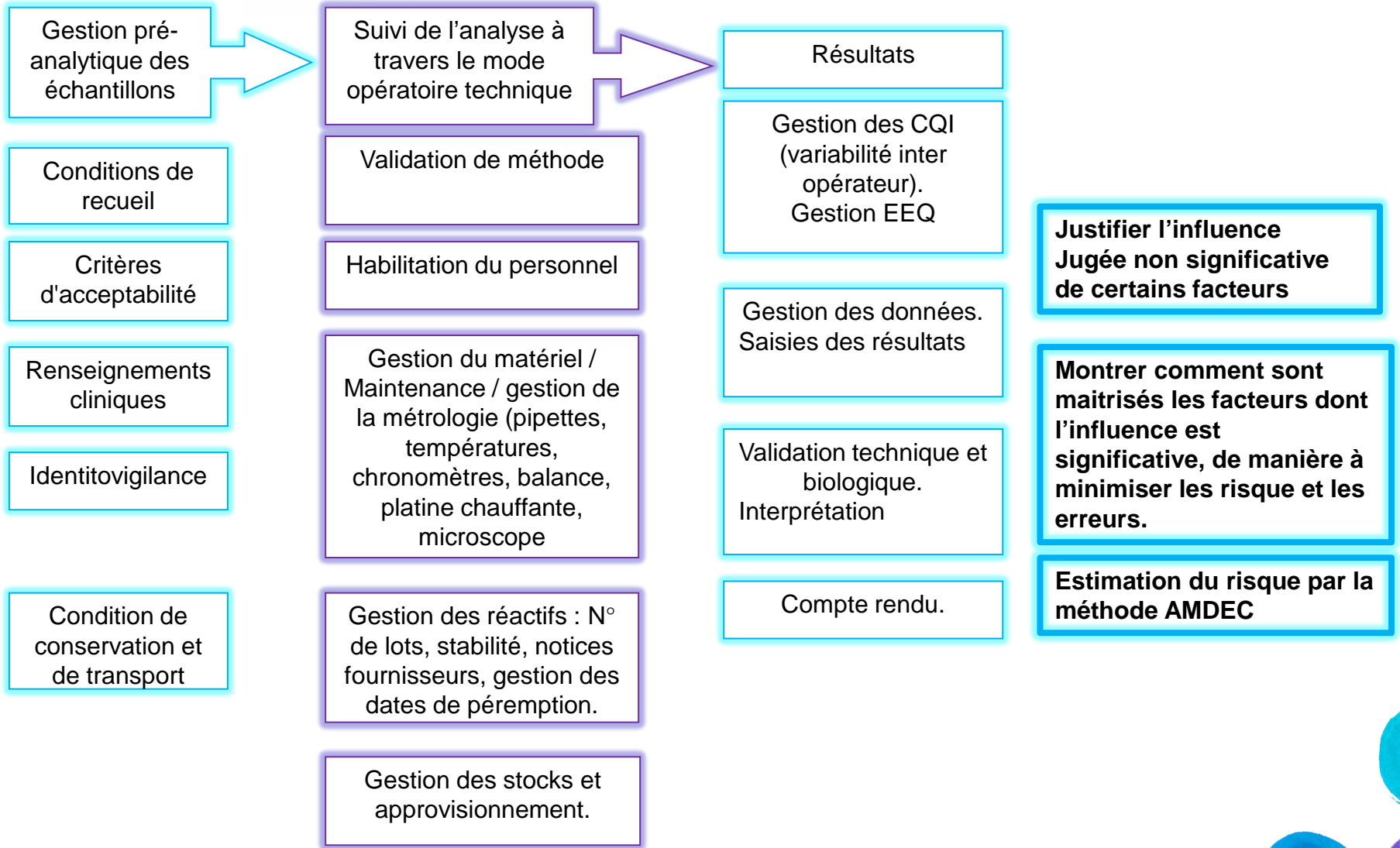
## 4: Analyser les points critiques



L'identification des points critiques pré per et post analytiques du processus est réalisé  
Par l'analyse des **5M** (**M**atériel, **M**ilieu, **M**éthode, **M**ain d'œuvre, **M**atière) sur le  
formulaire SHFORM 43

Identifier et inventorier tous les facteurs susceptibles d'influencer le résultat

# 4.1 maîtriser les risques



## 4.2 : Extrait SHFORM 43 mobilité des Spermatozoïdes

### MAITRISE DES RISQUES

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

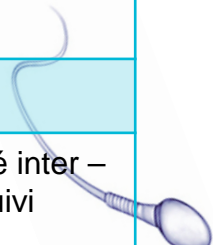
5M	Points critiques	Echelle de criticité *	Éléments à maîtriser	Moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...) / Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
<b>Matière (échantillons)</b>	Identito vigilance	<b>5</b>	Correspondance entre l'identité du patient et l'identification de l'échantillon	Etiquetage du réceptacle par la secrétaire ayant accueilli le patient. Traçabilité de la vérification de l'étiquetage par le patient PR-021-PRS Prise en charge du patient PR-034-PRS Procédure de gestion et de traitement des échantillons
	Préparation du patient	<b>4</b>	Information du patient des conditions à respecter pour le recueil Abstinence de 2-7 jours	IN-213-PRS Spermiologie-Recueil de sperme au laboratoire IN-212-PRS Spermiologie-Recueil de sperme à domicile (Exceptionnel et dérogatoire) Rappel des instructions de recueil données oralement au patient EN-155-PRS Certificat sur l'honneur de recueil à domicile Entretien clinique avec un biologiste ou un technicien AMP IN-124-PRS- Prise de RDV AMP IN-294-PRS Préconisation pour le patient

\*1 non critique – 2 peu critique – 3 moyennement critique – 4 critique - 5 très critique .

# 5 : Mise en place CQI EEQ



Contrôle	Méthode	Support d'enregistrement
<b>pH</b>		
CQI	Etalon pH 7 et 9 à chaque changement de boîte /à chaque chgt de lot	Fichier Excel CQI spermio
EEQ	N.A	
Variabilité inter-opérateur	1 Fois par mois	Fichier Excel suivi variabilité inter - opérateur
<b>Vitalité</b>		
CQI	N.A	
EEQ	Oui biologie prospective	Classeur EEQ
Variabilité inter-opérateur	1 fois par semaine (échantillon patient)	Fichier Excel suivi variabilité inter – opérateur et fichier Excel suivi
Etude des moyennes mobiles	Etude des moyennes mobiles	moyenne mobile spermio
<b>Numération SPZ</b>		
CQI	Oui sur billes de latex titrées a 3 concentrations différentes	Fichier Excel CQI spermio
EEQ	Oui biologie prospective	Classeur EEQ
Variabilité inter-opérateur	1 fois par semaine (échantillon patient)	Fichier Excel suivi variabilité inter – opérateur et fichier Excel suivi
Etude des moyennes mobiles	Etude des moyennes mobiles	moyenne mobile spermio



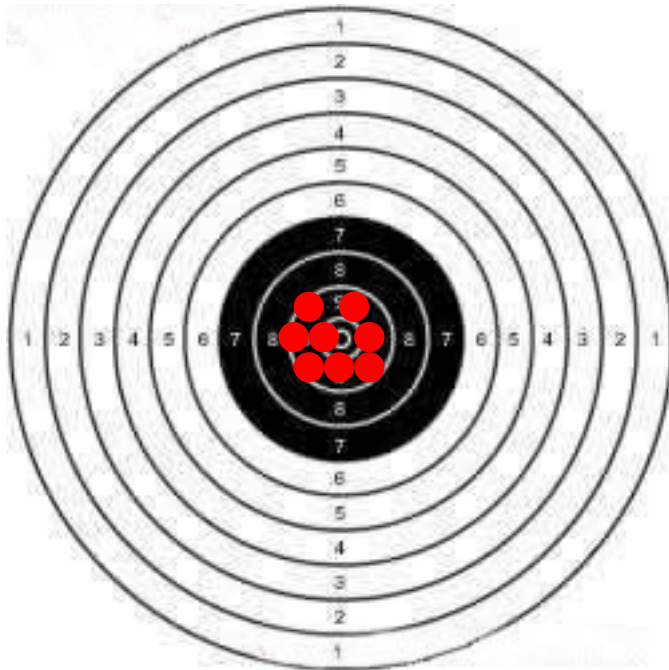
# 5.1 : Suivi CQI EEQ



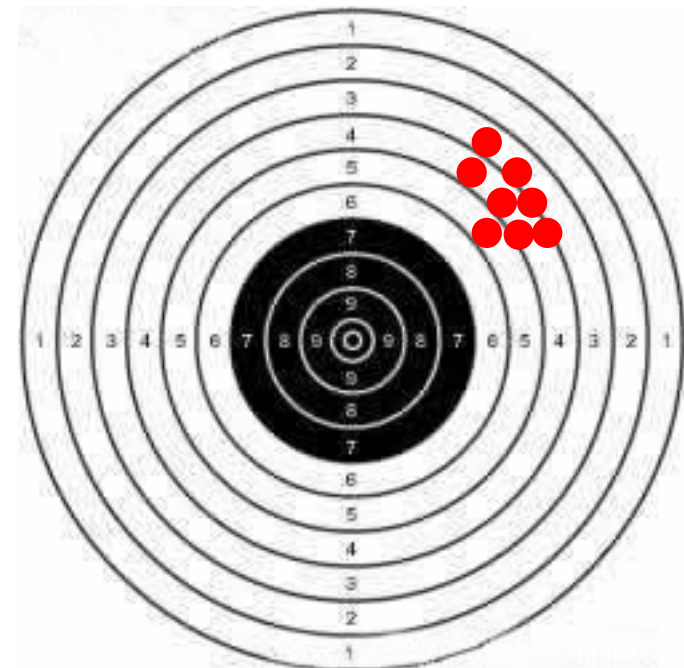
Contrôle	Résultat conforme	Conduite à tenir sinon conforme
<b>pH</b>		
CQI	Résultat égal à la solution étalon testée	NC Problème de papier pH ?? Ou solution étalon??....
EEQ	N.A	
Variabilité inter-opérateur		
<b>Vitalité</b>		
CQI	N.A	
EEQ	Voir Z score et biais / fournisseur et groupe de pairs	NC/ erreur systématique ?? Quel impact clinique ??
Variabilité inter-opérateur	Voir CV acceptable /différence limite acceptable	Respect M.O / formation habilitation / maitrise des risques ...
Etude des moyennes mobiles	Outil de suivi sur les comparaisons entre techniciens	
<b>Numération SPZ</b>		
CQI	Compris dans les bornes du fournisseur	NC/ Respect M.O / formation, habilitation / maitrise des risques...
EEQ	Voir Z score et biais / fournisseur et groupe de pairs	NC / erreur systématique ?? Quel impact clinique ??
Variabilité inter-opérateur Etude des moyennes mobiles	Voir CV acceptable /différence limite acceptable Outil de suivi sur les comparaisons entre techniciens	Respect M.O / formation , habilitation / maitrise des risques...

## 5.2: Variabilité inter-opérateur (garantir la fidélité)

- En spermologie : pas ou peu de CQI ou d'EEQ valeur vraie difficile à définir
- Exactitude et justesse difficile à garantir



- Variabilité inter-opérateur +++
- Définir une différence limite
- Se comparer à une méthode de référence pour maîtriser le biais
- Maîtriser les points critiques qui affectent la méthode
- Maîtriser la fidélité (procédure interne)



## 5.3 : Suivi de variabilité inter-opérateur

DATE	PARAMETRE CONTRÔLE SUR PATIENT		RESULTAT OPERATEUR no 1		RESULTAT OPERATEUR no 2		CONCLUSION	
	Viscosité		forte		forte		comparable	
	Mobilité progressive spermatozoïdes		60%		65%		comparable	
	Vitalité spermatozoïdes							
	Concentration spermatozoïdes	cellules rondes						
	Formes typiques %	IAM						
	Identification leucocytes							
	Agglutination		présence		absence		Non comparable	

### Exemple pour la mobilité progressive des spermatozoïdes

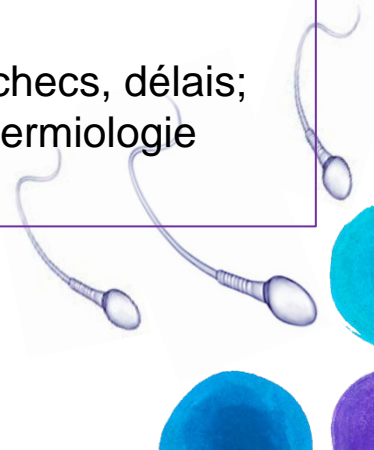
- La différence limite inter-opérateur = 2,77 (valeur statistique) x Ecart Type de reproductibilité pour un niveau de mobilité donné.
- E.T de reproductibilité = CV Ricos (7,6 %) x 32% (normale mobilité progressive A+B au 5<sup>ème</sup> percentile).

	Analyte	Number of papers	Biological Variation		Desirable specification		
			CV <sub>i</sub>	CV <sub>g</sub>	I(%)	B(%)	TE(%)
Semen-	Spermatozoa, progressive motility: (A+B)	1	15.2	32.8	7.6	9.0	21.6

## 6 : En les points clefs

- Gestion pré-analytique des échantillons
- Conditions de recueil
- Critères d'acceptabilité
- Renseignements cliniques
- Identitovigilance
- Condition de conservation et de transport

- Prise de RDV : consignes/comment ?
- Habilitation spécifique des secrétaires (test de mise au recueil, par qui ?, questions pièges, pratiques homogènes )
- Instructions de recueil ( transport/t°)
- Flacon ?
- Recueil information clinique
- Délai abstinence accepté
- NC Pré-analytique ? : échecs, délais; recueil à domicile en spermologie



## 6.1 : En les points clefs (suite)

Habilitation du personnel

- Dossier du personnel : qualification, Habilitation, maintien de compétences

Gestion du matériel / Maintenance / gestion de la métrologie (pipettes, températures, chronomètres, balance, platine chauffante, microscope, PSM)

- Suivi des enceintes : en fonction de l'EMT
- Suivi balance : contrôle métrologique
- Suivi pipettes : pipettes à déplacement positif = pipettes critiques? En fonction de la méthode de mesure
- Suivi microscope : température platine chauffante
- Suivi température ambiante
- Suivi des maintenances/procédure dégradée des pannes

Gestion des réactifs : N° de lots, stabilité, notices fournisseurs, gestion des dates de péremption.

- Suivi des fiches fournisseurs : bonne version en cours
- Reconstitution réactif : dilution gradient
- Respect des protocoles fournisseurs

Gestion des stocks et approvisionnement.

- Température salle de stock
- Circuit abonnement, approvisionnement

## 6.2: En les points clefs (suite)

Gestion des CQI  
(variabilité inter opérateur).  
Gestion EEQ

- Inscription
- Exploitation +++ , suivi à long terme, vérification continue et confirmation des performances
- Discussion avec les équipes

Gestion des données.  
Saisies des résultats

- Saisi des résultats
- Vérification des saisies
- Scanbac
- Vérification si des calculs sont effectués par le **SIL**

Validation technique  
et biologique.  
Interprétation

- Qui valide?
- Interprétation des résultats en fonction des renseignements clinique

Compte rendu  
Diffusion compte rendu.

- Système informatique du laboratoire
- Circuit de diffusion

Cerballiance



**POUR CONCLURE**

- **Vérifier la cohérence du rendu de résultat et interpréter en fonction du contexte.**
- **N'oubliez pas le besoin clinique, le but de la prescription.**