

Université Pierre et Marie Curie - Sorbonne Universités

DU « Assurance Qualité au Laboratoire de Biologie Médicale »

VALIDATION D'UNE METHODE QUANTITATIVE DE PORTEE FLEXIBLE B

**Application à la CONCENTRATION DES SPERMATOZOÏDES
dans le secteur Spermologie au Laboratoire de Biologie de la Reproduction
du centre hospitalo-universitaire d'Amiens.**

17- 18 Octobre 2016

Vincent PUY

INTRODUCTION



- **Interne en BDR** au CHU d'Amiens
- **Avancement vers l'Accréditation du CBH :**
 - Demande d'accréditation partielle : Octobre 2012
 - Obtention : Novembre 2014
- **Avancement du service de BDR :**
 - Extension de l'accréditation initiale :
 - ✓ spermogramme (SP1)
 - ✓ recueil des complexes cumulo-ovocytaires (AP3)
 - Visite du COFRAC : Février 2016 > 13 écarts (8 critiques)

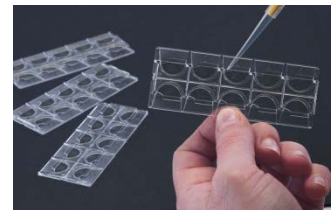
Objectif : Répondre aux exigences du COFRAC avant début septembre 2016

Justification de la validation de méthode

- Spermogramme = processus **COMPLEXE** (concentration & mobilité des spermatozoïdes ; viscosité & volume du **sperme éjaculé**).
- Mesure de la concentration en spermatozoïdes = méthode quantitative
- Méthode de référence :
 - Cellule de Neubauer modifiée (WHO, 2010, 5^{ème} édition) ;
 - **Cellule de Malassez** (Cahier de formation biologie médicale n° 42, bioforma, 2009)



VS



 Cellule de Kova = validation d'un sous-processus en **portée B**

METHODOLOGIE

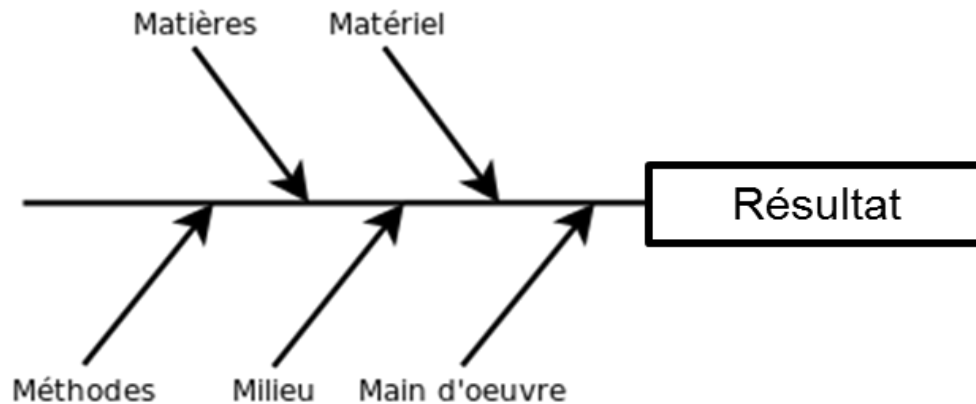
- **Référentiels normatifs :**
 - NF EN ISO 15189 : 5.3 et 5.5
 - SH GTA 04, procédure générale du LBM et SH FORM 43

- **Déroulement de la validation :**
 - contexte de la méthode : étude bibliographique
 - protocole de validation : critères de performance & limites acceptables
 - expérimentation
 - analyse des résultats
 - rapport de validation : validation opérationnelle ?

- **Choix des critères d'acceptabilité :**
 - table de Ricos et al.
 - résultats CIQ & EEQ
 - avis du biologiste responsable = pertinence clinique +++

Résultats : Maîtrise des risques (1/2)

- **Analyse des risques :**
 - Méthode des 5 M
 - Diagramme d'Ishikawa



- **Tableau de maîtrise des risques :**
 - général (applicable au processus complexe)
 - spécifique à la concentration des spermatozoïdes

Résultats : Maîtrise des risques (2/2)

Tableau spécifique :

5M	Points critiques	Échelle de criticité	Éléments à maîtriser	Moyens de maitrise
Matière	Imprécision sur faibles numérations	2	Calcul de la concentration pour les faibles numérations. Imprécision de l'évaluation en cas d'oligospermie / <u>cryptozoospermie</u> .	- Formation (CHU-FO1486 , CHU-FP0096) et habilitation (CHU-FO1010) du personnel - Fiche analyse spermogramme (CHU-FAN0131)
Milieu	Cf. tableau de maîtrise des risques commun du processus complexe.			
Matériel	Cellule Kova	3	Cellule de Kova déjà utilisée	Cellule à usage unique.
Méthode	Dilution du sperme	2	Dilution du sperme non adaptée	- Formation (CHU-FO1486 , CHU-FP0096) et habilitation (CHU-FO1010) du personnel - Fiche analyse spermogramme (CHU-FAN0131)
	Remplissage cellule de Kova	2	Dépôt d'un volume insuffisant dans la cellule	
Main d'œuvre	Cf. tableau de maîtrise des risques commun du processus complexe.			

Résultats : critères de performance

- Fidélité :

Méthode
répétable

Méthode
reproductible

✓ Reproductibilité :

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Écart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) de la table RICOS	Conclusion
1	5	10.8	0.79	7.38	NA	13.4	Conforme
2	5	135.4	7.57	5.59	NA	13.4	Conforme

- Variabilité inter-opérateur :

Acceptée

Evaluation selon le Z-score		
Niveau	Bas	Haut
Opérateur évalué 1	-0.89	1.35
Opérateur évalué 2	0.16	0.98
Opérateur évalué 3	0.37	1.16
Opérateur évalué 4	-0.66	1.47

Evaluation par chaque opérateur d'une numération basse (<15.10⁶/ml) et haute (>15.10⁶/ml) comparée à la valeur cible EEQ.
Critère d'interprétation pour opérateurs :
Numération des spermatozoïdes en aveugle.
Comparaison à la valeur cible sur le Z-score.

Résultats : critères de performance

- **Exactitude** :

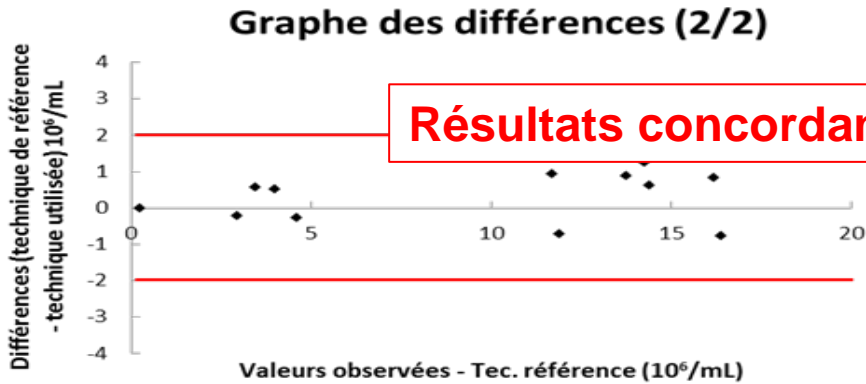
Niveau	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Cible (toutes techniques)	Biais (%) / groupe de pairs	Biais (%) / toute technique	Biais (%) limite	Conclusion
Niveau 1	5.4	6.2	6	12.9	10	NA	Conforme
Niveau 2	30.5	21.1	18	44.5	69.4	NA	Conforme

- **Incertitude de mesure** : (maîtrise des risques + méthode CIQ/EEQ)

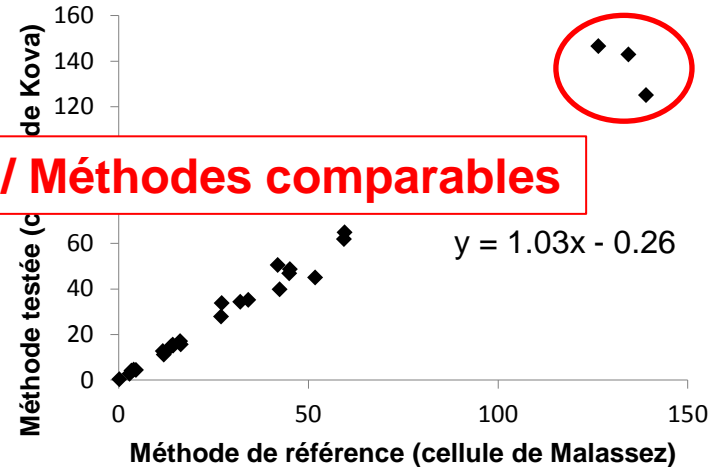
Référence (Ricos)	U = 37.7 %
Quantification de l'incertitude (niveau 1) : Niveau bas	2.78 ± 0.44 millions Spz / mL soit ± 15.9% (k=2)
Quantification de l'incertitude (niveau 2) : Niveau haut	27.1 ± 2.48 millions Spz / mL soit ± 9.2% (k=2)
Interprétation	Conforme

Résultats : critères de performance

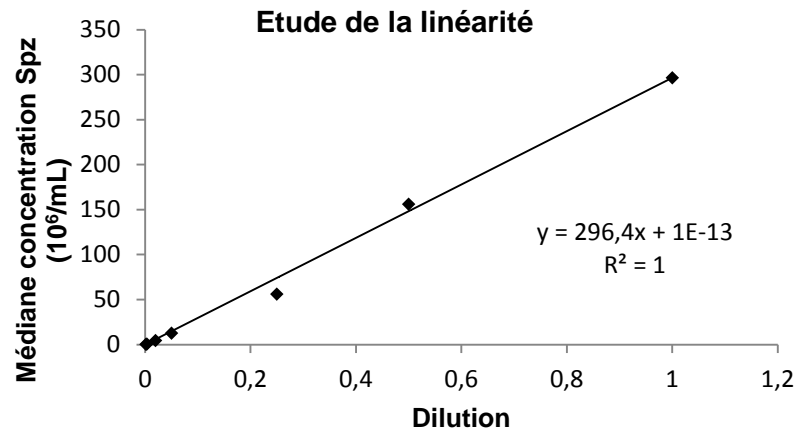
- Comparaison de méthode :



Comparaison Kova / Malassez pour la concentration des spermatozoïdes



- Etendue de mesure :



Discussion

- **Autres critères de performance** : non adaptés
- **Limites de l'étude** :
 - méthode manuelle
 - absence de consensus / pas de référence
 - table de Ricos et al. : pertinence ?
 - pas de CIQ stricto sensu
- **Assurance qualité & AMP** :
 - Maîtrise des risques +++
 - Pertinence clinique +++
 - Evaluation intra-laboratoire : CIQ / mois
 - Evaluation inter-laboratoires : EEQ / 6mois

Conclusion

- **Validation de la méthode concentration en spermatozoïdes :**
 - méthode **validée par la biologiste responsable**
 - en attente du retour du COFRAC
 - mise à jour avec nouveaux résultats CIQ/EEQ



- **Véritable CIQ :** Microbeads ?

- **Assurance qualité & BDR :**

- SH GTA 05
- Critères d'acceptabilité ?

- **Assurance qualité et professions médicales :**

- Qualité adaptée : pertinence clinique +++
- Quid de la formation des internes ?



Merci pour



votre attention