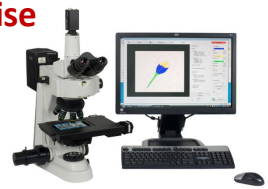


Analyse automatisée du sperme : Une grande fiabilité rapidement acquise

Application à 2 paramètres du spermogramme : la numération et la vitalité



Mélanie BADIOU, André FORCE et Benoit SCHUBERT

Laboratoire Biomnis, Centre AMP - clinique du Val d'Ouest Médicentre
39 chemin de la Vernique 69130 Ecully, andre.force@biomnis.com

Introduction

Le spermogramme reste l'examen essentiel pour apprécier la fertilité masculine. Dans la majorité des laboratoires, ses méthodes d'analyse encore majoritairement manuelles conduisent à des résultats très dépendants de l'expérience des opérateurs et leur relative imprécision peut rendre leur interprétation difficile. Nous avons donc grand intérêt à utiliser des systèmes d'analyse qui permettent d'évaluer de manière automatique, objective et standardisée les paramètres du spermogramme, afin de nous rapprocher le plus possible de la précision des autres analyses de biologie médicale. L'objectif de ce travail est de comparer la méthode manuelle à une méthode assistée par ordinateur (Sperm Class Analyseur, SCA) pour 2 paramètres du spermogramme, la concentration et la vitalité.

Nous évaluerons ainsi l'apport de l'analyse automatisée et son éventuelle intégration dans une activité de spermologie diagnostique.

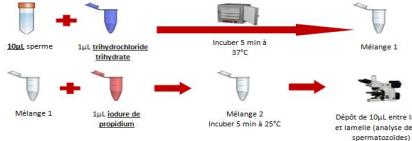
Matériels et méthodes

TECHNIQUE AUTOMATISEE (SCA)

Matériel : Microscope NIKON® ECLIPSE Ci à contraste de phase et avec fluorescence (objectif x10, et x20) équipé d'une caméra numérique BASLER® Ace, une platine motorisée PRIOR® OptiScan II, une platine chauffante Tokai hit Thermo Plate® et le système d'exploitation SCA® Microptic S.L.

NUMERATION : sur éjaculat entier ou après dilution au 1/2 au 1/4 (pour les spermes > 80 M/mL), dépôt de 2µL sur cellule LEJA (Leja®) : lecture de 200 spermatozoïdes.

VITALITE : utilisation du kit de coloration : Fluovit (Microptic S.L.)



TECHNIQUE MANUELLE

Matériel : Microscope classique droit équipé d'un objectif x40.

NUMERATION : sur éjaculat dilué du 1/2 au 1/80 dans du formol, dépôt sur une cellule de Thoma et lecture de l'ensemble de la grille de comptage par 2 opérateurs différents.

VITALITE : utilisation du kit de coloration : VitalScreen (FertiPro®).

- 50µL de sperme + 1 goutte d'éosine (1%) → vortexer doucement (attente 30s)
- Ajout 2 gouttes de nigrosine (1%) → vortexer doucement
- Réalisation du frottis et lecture sur frottis sec : lecture 200 spermatozoïdes par 2 opérateurs.

Résultats

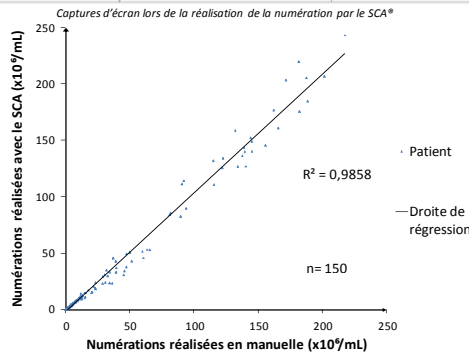
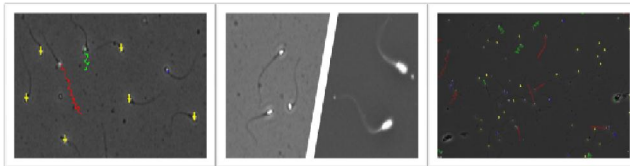


Figure 1. Comparaison de la technique manuelle avec le SCA sur 150 patients (valeurs extrêmes mesurées : 0,1 M/mL à 243,70 M/mL).

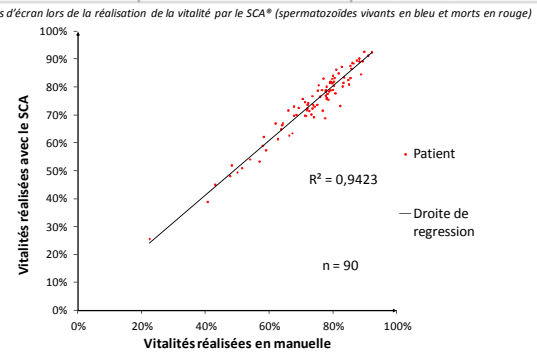
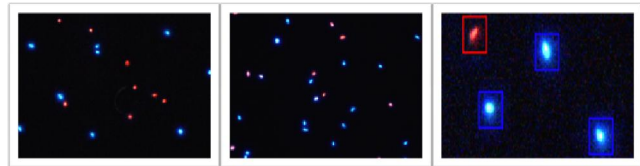


Figure 2. Comparaison de la technique manuelle avec le SCA sur 90 patients (valeurs extrêmes mesurées : 25,60% à 92,70%).

Caractéristique des SPERMES	NUMERATION				NUMERATION	
	Répétabilité SCA n= 10 lectures		Répétabilité technique manuelle n= 10 lectures		Variation inter opérateur (technique manuelle) n= 5 opérateurs	
	Moyenne	CV	Moyenne	CV	Moyenne	CV
ANORMAL	7,32 M/mL	5,9%	7,23 M/mL	8,5%	7,01 M/mL	6,9%
NORMAL	36,53 M/mL	4,4%	33,33 M/mL	9,0%	36,45 M/mL	15,5%

Tableau I. Répétabilité effectuée à partir de 10 lectures d'une même cellule par un même opérateur. Variation inter-opérateur (réalisée en technique manuelle) mesurée à partir d'une dilution et effectuée par 5 opérateurs ayant chacun réalisé leur dépôt.

La comparaison technique manuelle versus automatique sur 150 patients de concentrations spermatiques comprises entre 0,1 et plus de 244 millions/ml montre une forte corrélation entre les 2 techniques ($r = 0,993, p < 0,0001$). La technique SCA présente un coefficient de variation de répétabilité plus faible que la technique manuelle quel que soit les caractéristiques du sperme. Les variations entre techniciens sont plus élevées pour les spermes normaux (3 fois plus élevés que le CV du SCA pour ces mêmes spermes).

Caractéristique des SPERMES	VITALITE				VITALITE	
	Répétabilité SCA n= 10 lectures		Répétabilité technique manuelle n= 10 lectures		Variation inter opérateur (technique manuelle) n= 5 opérateurs	
	Moyenne	CV	Moyenne	CV	Moyenne	CV
ANORMAL	53,5%	3,4%	55,9%	7,4%	55,5%	11,1%
NORMAL	65,7%	2,4%	65,3%	7,3%	62,1%	5,6%

Tableau II. Répétabilité effectuée à partir de 10 lectures d'une même lame par un même opérateur. Variation inter-opérateur (réalisée en technique manuelle) effectuée par 5 opérateurs, lecture réalisée sur une même lame.

La comparaison technique manuelle versus automatique sur 90 patients de vitalités comprises entre 23 et 93% de spermatozoïdes vivants montre une corrélation très significative entre les 2 techniques ($r = 0,971, p < 0,0001$). La technique SCA présente un coefficient de variation de répétabilité plus faible que la technique manuelle quel que soit les caractéristiques du sperme. Les variations entre techniciens sont plus élevées dans le groupe de patients présentant une nécrozoospermie (3 fois plus élevés que le CV du SCA pour ces mêmes spermes).

Discussion - Conclusion

L'analyse automatisée du sperme est parfaitement corrélée à la méthode de référence qu'est la technique manuelle pour deux paramètres : la concentration et la vitalité. La technique automatisée choisie ici (SCA) montre des CV toujours inférieurs à la technique manuelle quel que soit les caractéristiques du sperme et le paramètre étudié. De plus la variabilité inter-techniciens observée avec la méthode de référence n'existe plus avec la technique automatisée. Ces premiers résultats en faveur d'une supériorité de l'analyse automatique nous laissent espérer dans un avenir très proche de pouvoir réaliser la quasi-totalité du spermogramme en analyse automatique. Cette technique permet aussi de réduire le temps d'analyse et le temps de formation en comparaison au temps de qualification d'un technicien. Elle présente aussi l'avantage d'estimer la concentration sans avoir besoin de diluer le sperme. Le SCA, malgré l'investissement de départ, peut permettre très rapidement de libérer du temps technicien polyvalent pour des activités à plus forte rentabilité.



Sincères remerciements à la société NIKON, Alexandre CAUCHON et Christian LAINE pour leur collaboration et leur soutien technique et à la société MICROPTIC, Eduard SANCHEZ pour sa disponibilité et son soutien logistique.

