

Analyse automatique de la concentration en spermatozoïdes du sperme humain

Performance analytique de la méthode

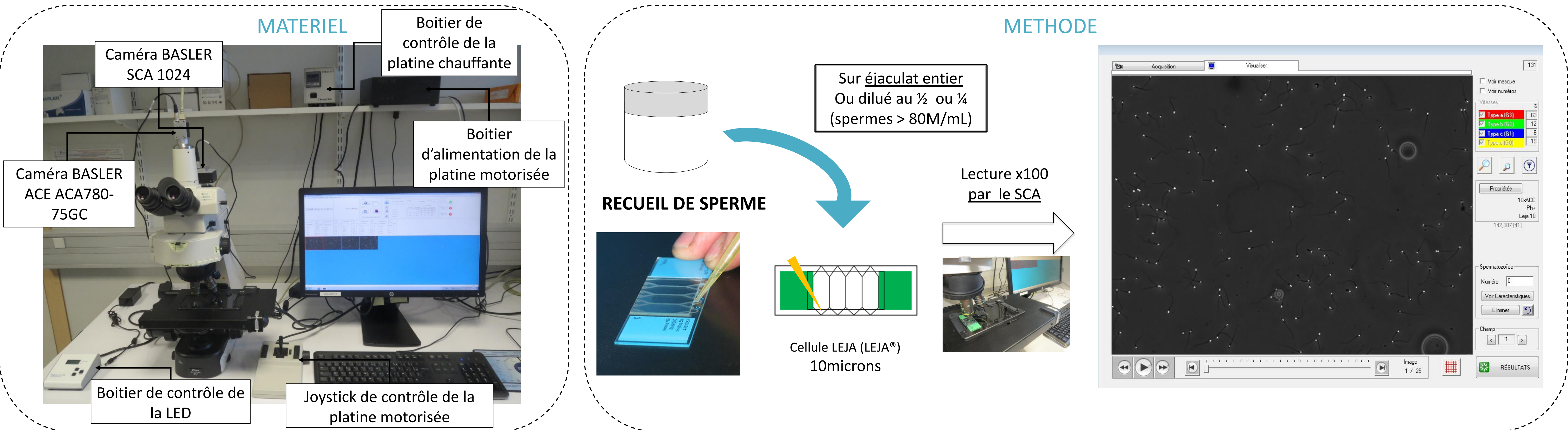
André FORCE, Mélanie BADIOU et Benoit SCHUBERT

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

Introduction

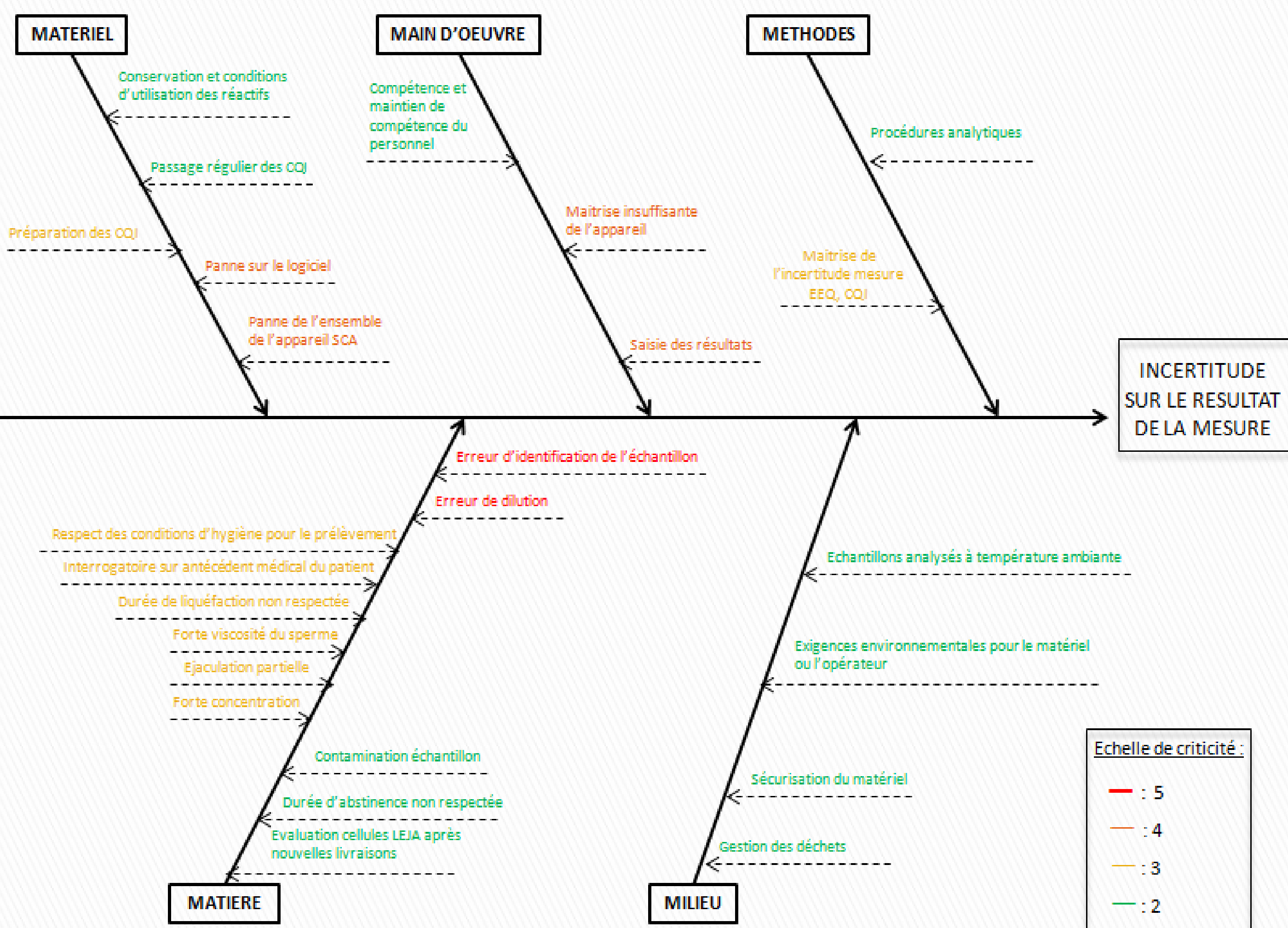
La lecture automatique permet une analyse rapide sur un grand nombre de cellules et réduit ainsi les erreurs de lecture, améliore la reproductibilité des analyses par rapport à la technique manuelle qui fait intervenir plusieurs techniciennes. Dans ce travail après une phase de validation technique de l'appareil dans notre laboratoire qui nous a permis notamment d'évaluer la praticabilité de l'appareil et sa fiabilité par rapport à la technique manuelle, nous vous présentons un dossier de validation de méthode de la technique automatisée pour le paramètre concentration construit selon le nouveau SHFORM43 du Comité Français d'Accréditation (COFRAC).

Matériels et méthodes



Résultats

Analyse de risques – Méthode des 5M – diagramme d'Ishikawa



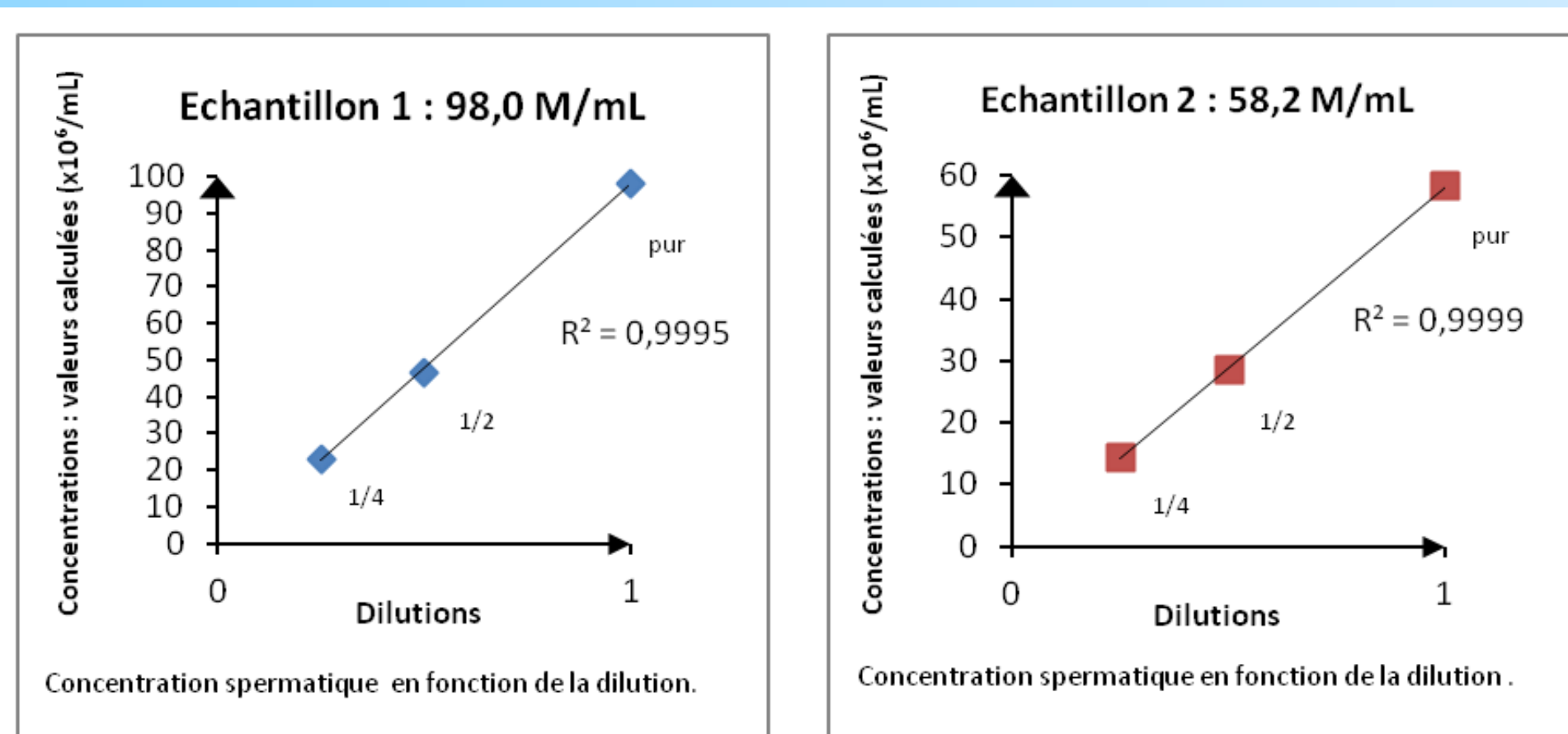
Limite de détection

DONNEES BRUTES ETUDE DE LIMITE DE DETECTION

Dilution	Pur	Dilué au 1/2	Dilué au 1/4	Dilué au 1/8	Dilué au 1/16	Dilué au 1/32	Dilué au 1/64	Dilué au 1/128
Concentration (M/mL)	10,5	5,6	2,7	1,4	0,6	0,3	0,2	0

La limite de détection est fixée à 0,2M/mL.

Limite supérieure de linéarité



La linéarité pour les fortes concentrations est vérifiée (R² tous supérieurs à 0,990).

Discussion - Conclusion

L'analyse automatisée pour la concentration spermatique répond à l'ensemble des critères de performance attendus pour une accréditation de ce paramètre. La comparaison de méthode a montré l'équivalence de l'analyse automatisée avec la technique manuelle. L'analyse automatisée apporte une amélioration de la répétabilité et de la reproductibilité (CV bien inférieurs aux données Ricos). Elle permet de plus d'estimer avec précision les limites de quantification et de détection. Cette technique présente également l'avantage de diminuer les erreurs liées à la dilution (pas de dilution pour les concentrations <80M/mL, dilution au plus au 1/2 ou au 1/4 pour des concentrations supérieures). L'analyse automatisée de la concentration complétée par au moins 3 paramètres du bilan spermatiques (mobilité, vitalité, morphologie) devrait devenir la technique de référence pour l'activité de spermologie diagnostique.

Performance de la méthode

Répétabilité

Le CV de la méthode pour la répétabilité est plus de 6 fois plus faible que les données Ricos (26,8%) pour les concentrations de 37 à 92 M/ml (3 niveaux) et est plus de 4 fois plus faible pour les concentrations de 7 et 30 M/ml (3 niveaux).

Fidélité intermédiaire

La technique est reproductible sur une analyse quotidienne pendant 15 jours (sur 2 niveaux : 10M/mL et 57 M/mL). Le coefficient de variation (<10%) est inférieur aux données de la littérature (CV=29%; Dearing *et al.*, 2014)

Comparaison de méthode

L'analyse automatisée est comparable à l'analyse manuelle pour le paramètre concentration (R² = 0,93 pour 150 spermatozoïdes analysés, p<0,01) et quel que soit le niveau de concentration (5 niveaux) étudié (R² toujours supérieur à 0,8 pour 30 spermatozoïdes analysés par niveau, p<0,05).

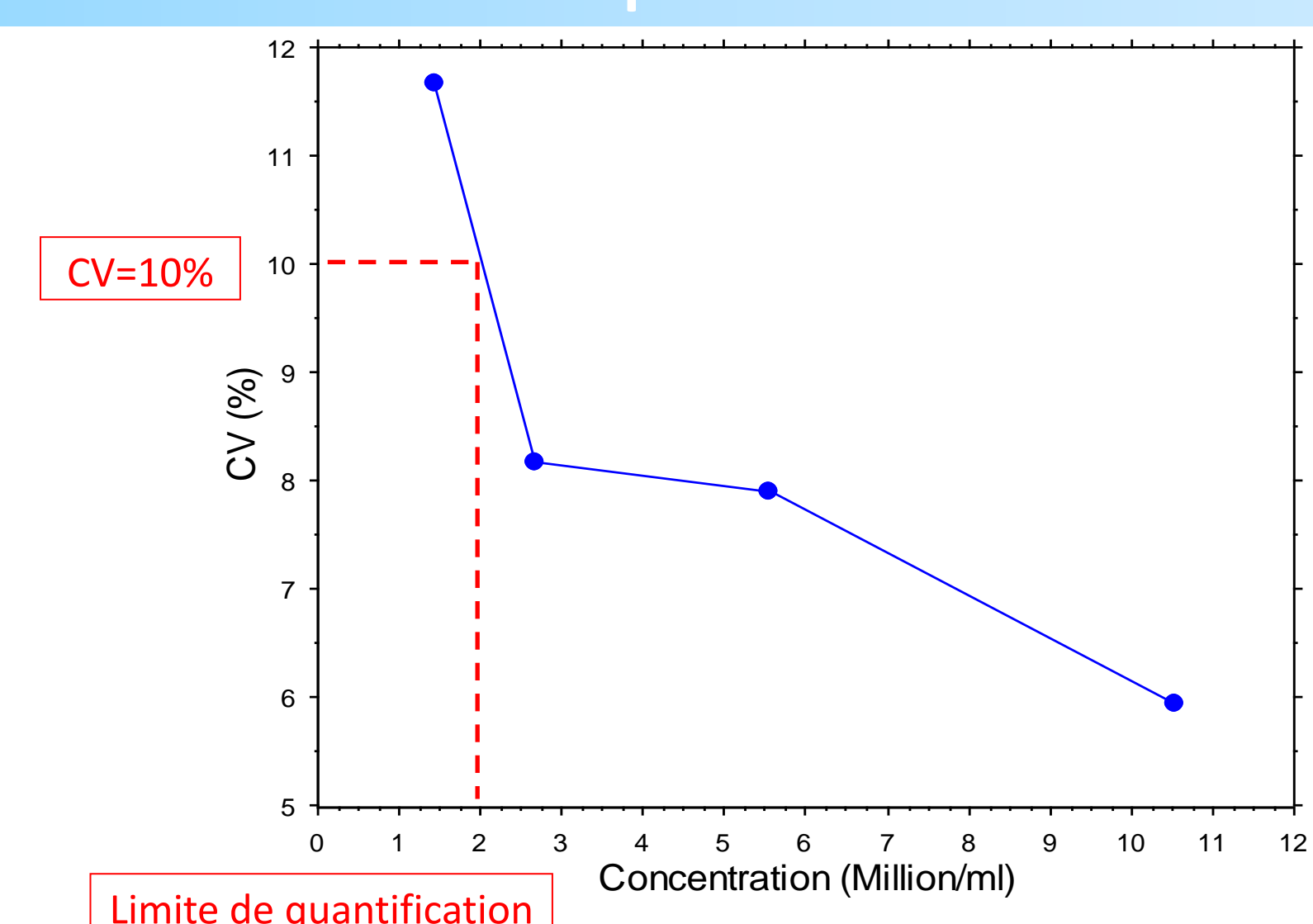
Incertitude de mesure

	Incertitudes calculées	Exigence de performances
Mode de calcul	$U(C) = \sqrt{u^2(CIQ) + u^2(EEQ)}$	Pas de données de la littérature
Incertitude résumée dans le tableau ci-joint		

Composante de l'incertitude	Source de l'information	Incertitude type (M/ml)	Incertitude élargie
Incertitude due à la dispersion intra labo(CIQ)	Dispersion calculée à partir CQI	1,35	5,76
Incertitude liée à la justesse	Ecart type EEQ	2,33	
	Ecart moyen EEQ	1,75	1,01

La méthode présente une incertitude élargie de 5,76 M/mL.

Limite de quantification



La limite de quantification est fixée à 2M/mL.