

**EXPERTISE EN DIENSTVERLENING
KWALITEIT VAN LABORATORIA**

**COMMISSIE VOOR KLINISCHE BIOLOGIE
EXPERTENCOMITE**

**EXTERNE KWALITEITSEVALUATIE VOOR
ANALYSES KLINISCHE BIOLOGIE**

DEFINITIEF GLOBAAL JAARRAPPORT

Andrologie

2019

Sciensano/Andrologie/71-NL

Expertise en dienstverlening
Kwaliteit van laboratoria
J. Wytsmanstraat, 14
1050 Brussel | België

www.sciensano.be

AD HOC EXPERTENCOMITE

Sciensano					
Secretariaat		TEL:	02/642.55.22	FAX:	02/642.56.45
Sandra Wathlet	Enquêtecoördinator	TEL:	02/642.50.91		
		e-mail:	Sandra.Wathlet@sciensano.be		
Bernard China	Vervanger enquêtecoördinator	TEL:	02/642.53.58		
		e-mail:	Bernard.China@sciensano.be		
Experten/	Instelling				
Usha Punjabi	UZA				
Kelly Tilleman	UZ Gent				
Anne Vansteenbrugge	CHIREC Delta				
Greta Verheyen	UZ Brussel				
Christine Wyns	Cliniques universitaires St-Luc, Université Catholique de Louvain				

Een voorlopige versie van dit rapport werd voorgelegd aan de experten op: 17/03/2020.

Dit rapport werd besproken in de vergadering van het expertencomité van: de vergadering werd geannuleerd omwille van het Coronavirus. De experten hebben hun opmerkingen via email doorgegeven.

Een samenvatting van dit rapport werd voorgesteld in de vergadering van de Commissie voor klinische biologie/ van: NVT

Autorisatie verspreiding rapport: Door Sandra Wathlet, enquêtecoördinator, op 03/11/2020.

Handtekening van de enquêtecoördinator.

Alle rapporten zijn tevens te raadplegen op onze website:

https://www.wiv-isp.be/QML/activities/external_quality/rapports/_nl/rapports_annee.htm

INHOUDSTAFEL

A. DEELNAME	4
B. KWALITEIT VAN DE STALEN	4
1. HOMOGENITEIT	4
2. STABILITEIT	4
3. VEILIGHEID	4
4. AGGREGATIEGRAAD	4
C. TELLING	5
1. GEBRUIKTE TELKAMERS	5
2. POSITIVE DISPLACEMENT PIPETTE	6
3. EVALUATIE	6
4. EVALUATIE PER LABORATORIUM.....	7
D. MORFOLOGIE	7
1. KLEURINGEN	7
2. CRITERIA.....	8
3. CUT OFF.....	8
4. EVALUATIE	8
5. KLINISCHE INTERPRETATIE	9
E. MOTILITEIT	9
F. VITALITEIT	10
G. BESLUIT	10

A. Deelname

In 2019 werden 3 enquêtes georganiseerd voor de bepaling van de kwaliteit van spermastalen. In de enquêtes 2019-1, 2019-2 en 2019-3 hebben de deelnemers telkens twee suspensies ontvangen voor de bepaling van de zaadcelconcentratie en 2 glaasjes voor de bepaling van de morfologie. Hiernaast hebben de deelnemers voor enquête 2019-2 een gekleurd glaasje ontvangen voor de bepaling van de vitaliteit en voor enquête 2019-3 een DVD met 4 video-opnames voor de bepaling van de motiliteit.

Tabel 1. Percentage deelname

Enquête	Parameter	Inschrijvingen	Antwoorden	%
2019-1	Telling	124	121	97,6
	Morfologie	108	103	95,4
2019-2	Telling	123	122	99,2
	Morfologie	104	103	99,0
	Vitaliteit	88	79	89,8
2019-3	Telling	124	122	98,4
	Morfologie	103	100	97,1
	Motiliteit	117	109	93,2
Totaal		891	859	96,4

Het antwoord percentage was voor 2019 (96.4) hoger dan 2018 (90.3%) waar er voor één rondzending problemen waren geweest met B-post. Het percentage voor 2019 ligt in de lijn van het antwoordpercentage van 2017 dat 95.1% bedroeg.

B. Kwaliteit van de stalen

1. Homogeniteit

Voor elke enquête worden 10 exemplaren van de stalen (suspensie en glaasjes) voor de telling en de bepaling van de morfologie in het dubbel geanalyseerd en wordt homogeniteit bepaald met de methode van Fearn and Thomson (2001). Tijdens de enquêtes van 2019 werden de stalen als homogeen beschouwd. Voor enquête 2019-3 werd de homogeniteit eveneens bepaald volgens de nieuwe methode van Coucke et al. en werden de stalen eveneens als homogeen beschouwd.

2. Stabiliteit

Een validatiedossier werd opgesteld op basis van de resultaten van de voorbije jaren (2009 tot 2014) voor de telling en de morfologie. Hierin werd nagegaan of het interval tussen het versturen van de stalen en het moment van analyse een impact had op het resultaat. Een regressieanalyse heeft aangetoond dat de medianen van de antwoorden identiek waren ongeacht de dag van analyse. De stalen worden dus als stabiel beschouwd tijdens de 15 dagen van de enquête.

Voor de vitaliteit werden analyses uitgevoerd voor en na de enquête op dezelfde glaasjes om de stabiliteit te bepalen. De staaltjes werden als stabiel beschouwd na statistische analyse.

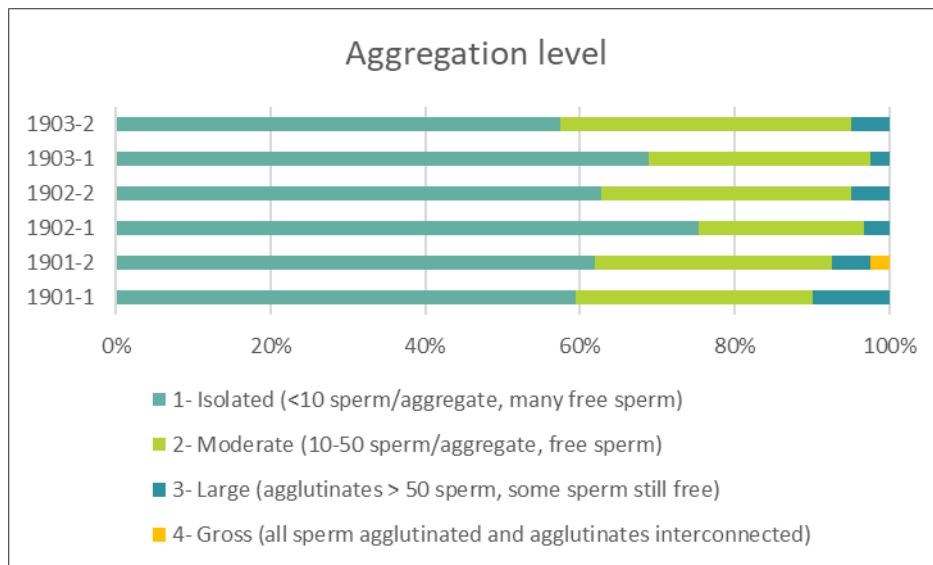
3. Veiligheid

De donoren werden getest op HCV, HBV en HIV. De resultaten waren negatief.

4. Aggregatiegraad

Voor de telling van de zaadcellen werd aan de deelnemers gevraagd om de aggregatiegraad te evalueren. Vier niveaus zijn mogelijk, nl. van 1 t.e.m. 4 met stijgend percentage aggregatie. (figuur 1).

Figuur 1 : Aggregatiegraad in de stalen voor de telling



In de meeste stalen waren er weinig aggregaten aanwezig. Op basis van de evaluatie van de deelnemers wordt een ANOVA analyse uitgevoerd om na te gaan dat de aggregatiegraad de telling niet beïnvloed. Er werd geen invloed van de aggregatiegraad gevonden op de telling.

C. Telling

De eerste parameter die bestudeerd wordt, is de telling van de zaadcellen. De laboratoria gebruiken verschillende telkamers om deze analyse uit te voeren (zie tabel 2).

1. Gebruikte telkamers

De "improved Neubauer" telkamer is de aanbevolen telkamer en wordt tevens het meest gebruikt door de deelnemers (zie tabel 2)

Tabel 2. Gebruikte telkamers in functie van de enquête

Telkamer	2019-1		2019-2		2019-3	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Improved Neubauer	77	63,6	78	63,9	77	63,1
Makler	5	4,1	6	4,9	6	4,9
Fuch-Rosenthal	4	3,3	4	3,3	4	3,3
Bürker	7	5,8	6	4,9	6	4,9
Thoma	5	4,1	5	4,1	4	3,3
Disposable	18	14,9	18	14,8	20	16,4
SQA	1	0,8	2	1,6	3	2,5
Not defined	4	3,3	3	2,5	2	1,6
Totaal	121		122		122	

Het percentage laboratoria dat aangeeft een improved Neubauer telkamer te gebruiken is lichtjes gedaald ten opzichte van 2018 (66%), maar blijft wel de meest gebruikte kamer zoals aanbevolen door de richtlijnen van de WHO 2010.

2. Positive displacement pipette

De richtlijnen van de WHO2010 raden aan om een “positive displacement pipette” te gebruiken om de suspensie voor concentratiebepaling te pipetteren. Tabel 3 toont aan dat 72 tot 79% van de deelnemers dit type pipet gebruiken. Dit is in dezelfde lijn als in 2018 waar 72 à 80% van de deelnemers meegeven een positive displacement pipet te gebruiken.

Tabel 3. Gebruik van een positive displacement pipette in functie van de enquête

Positive displacement pipette	2019-1		2019-2		2019-3	
	N	%	N	%	N	%
Ja	96	79	91	75	88	72
Neen	25	21	31	25	34	28
Totaal	121		122		122	

3. Evaluatie

De targetwaarde is de mediaan van de gebruikers van de referentiemethode. De referentiemethode is de “improved Neubauer” telkamer in combinatie met het gebruik van een “positive displacement pipette”. Op basis van deze targetwaarde en voor elk staal wordt een Z-score berekend.

$$Z\text{-score} = |R - M| / SD$$

R= te evalueren resultaat

M= mediaan van de referentiemethode

SD= standaarddeviatie van de referentiemethode

Een laboratorium wordt geciteerd (Z-citatie) indien zijn absolute Z-score groter dan of gelijk aan 3 is, wat wil zeggen dat het resultaat meer dan 3SD afwijkt van de targetwaarde.

In 2019 werden 724 resultaten voor de telling geëvalueerd en 44 (6,06%) weken af (absolute Z-score ≥ 3) (zie tabel 4).

Tabel 4. Z-citatie per staal

Staal	Geëvalueerde resultaten	$ Z \geq 3$	%
1901-1	120	2	1,67
1901-2	120	6	5,00
1902-1	120	5	4,17
1902-2	120	8	6,67
1903-1	122	13	10,66
1903-2	122	10	8,20
Totaal	724	44	6,06

Tabel 5 geeft het aantal citaties weer in functie van de gebruikte methode. Men kan vaststellen dat de referentiemethode (cursief) 1.82% Z-citatie heeft. Dit percentage is significant lager ($p < 0.01$) dan volgende methodes: “disposable”, Fuchs-Rosenthal of Makler.

Tabel 5 : citaties per methode

Methode	Z	≥3	z < 3	ztot	Z (%)	P*
A chamber with a fixed depth disposable	22	95	117	18,80	<0.0001	
Bürker - A chamber with a fixed depth reusable	2	36	38	5,26	0.1895	
Fuchs-Rosenthal - A chamber with a fixed depth reusable	4	20	24	16,67	0.0023	
Improved Neubauer –No positive displacement	2	79	81	2,47	0.6589	
Improved Neubauer - Positive disp	7	378	385	1,82	/	
Makler - A chamber with a fixed depth reusable	6	28	34	17,65	0.0002	
Not defined	1	17	18	5,56	0.3085	
Thoma - A chamber with a fixed depth reusable	0	27	27	0,00	1	
Totaal	44	680	724	6,08	/	

* : homogeniteitstest (Fisher exact test) ten opzichte van de pZ waarde van de referentiemethode. De pZ-methode geeft een globale evaluatie van de kwaliteit van het laboratorium op basis van het totaal van de resultaten gerapporteerd over een jaar. De verhouding van het aantal Z -scores buiten de limieten ($IZI \geq 3$) wordt berekend ten opzichte van alle resultaten die door een specifiek laboratorium werden gerapporteerd. Een Z-score buiten de limieten houdt in dat het resultaat meer afwijkt van de centrale waarde dan bij de overgrote meerderheid van de laboratoria die dezelfde techniek hebben gebruikt. Een hoge pZ-waarde houdt dan in dat het laboratorium relatief gezien veel waardes heeft gerapporteerd die verder lagen van de centrale waarde dan bij de overgrote meerderheid van de laboratoria die dezelfde techniek hebben gebruikt. Een hoge pZ-waarde van een laboratorium duidt zo op een mogelijke verbetering van de toepassing van de gebruikte techniek in het laboratorium. Een lage pZ waarde duidt erop dat het laboratorium de techniek minstens even goed toepast als de overgrote meerderheid van de andere laboratoria.

4. Evaluatie per laboratorium

Van de 124 deelnemende laboratoria voor de telling in 2019 hebben 115 (92,74%) laboratoria resultaten ingegeven voor elk staal (n=6). Op de 115 laboratoria zijn er 93 (80,87%) die nooit geciteerd werden (pZ=0%), 11 (9,57%) die één keer geciteerd werden (pZ=16.7%), 6 (5,22%) die twee keer geciteerd werden (pZ=33.3%) en 5 (4,35%) die drie keer geciteerd werden (pZ:50%)

D. Morfologie

De deelnemers hebben bij elke enquête 2 te kleuren glaasjes ontvangen voor de bepaling van de morfologie van de zaadcellen.

1. Kleuringen

Tabel 6 geeft een overzicht van de verschillende kleuringen die gebruikt worden door de deelnemers tijdens de verschillende enquêtes van 2019. De aanbevolen kleuringen door de WHO 2010 richtlijnen zijn (modified) Papanicolaou, Shorr en Diff Quick (cursief in tabel 6). Deze kleuringen worden het meest gebruikt nl. door 72 à 75.7% van de laboratoria doorheen de verschillende enquêtes.

Tabel 6. Kleuringen gebruikt door de deelnemers tijdens de verschillende enquêtes

Kleuring	2019-1		2019-2		2019-3	
	N	%	N	%	N	%
<i>Papanicolaou/modified</i>	30	29,1	31	30,1	31	31,0
<i>Papanicolaou</i>	27	26,2	25	24,3	22	22,0
<i>Diff-Quick</i>	14	13,6	17	16,5	15	15,0
<i>Shorr</i>	5	4,9	5	4,9	4	4,0
<i>Spermac</i>	16	15,5	16	15,5	15	15,0
<i>Giemsa</i>	2	1,9	1	1,0	4	4,0
<i>Other</i>	9	8,7	8	7,8	9	9,0
Totaal	103		103		100	

2. Criteria

Om na te gaan of een staal als normaal of abnormaal beschouwd dient te worden, refereren de deelnemers naar internationale richtlijnen. De meest gevolgde richtlijnen zijn deze van de WHO 2010 en worden gevolgd door 86 à 91% van de deelnemers, gevolgd door Tygerberg met 9 à 12% (zie tabel 7).

Tabel 7. Gevolgde criteria voor de interpretatie van de resultaten in de enquêtes van 2019.

Criteria	2019-1 (%)	2019-2 (%)	2019-3 (%)
WHO 2010 en Tygerberg (Aanbevolen criteria)	101 (98)	102 (99)	100 (100)
Other	2 (2)	1 (1)	0 (0)

3. Cut off

Ondanks dat de overgrote meerderheid van de laboratoria meegeven de WHO 2010 richtlijn of Tygerberg te gebruiken (98%-100%), worden nog steeds verschillende cutoff-waarden gebruikt (zie tabel 8). Volgens de WHO 2010 en Tygerberg is de geadviseerde cut-off 4% normale cellen voor de morfologie bepaling.

Aan de deelnemers die een andere cut-off waarde gebruiken, maar meedelen de WHO2010 richtlijnen of de richtlijnen van Tygerberg te volgen wordt gevraagd om hun procedure te herzien of aan te geven welke andere richtlijnen het laboratorium volgt voor de keuze van de cut-off waarde. Tabel 8 herneemt de verschillende cut-off waardes die de laboratoria gebruiken.

Tabel 8. Gebruikte Cut offs door de deelnemers aan de enquêtes van 2019.

Cut off (%)	2019-1		2019-2		2019-3	
	N	%	N	%	N	%
4	94	91,3	96	93,2	92	92,0
3	2	1,9	1	1,0	0	0,0
5	1	1,0	2	1,9	3	3,0
7	1	1,0	1	1,0	1	1,0
10	1	1,0	1	1,0	1	1,0
14	2	1,9	1	1,0	1	1,0
15	2	1,9	1	1,0	2	2,0

4. Evaluatie

Evaluatie per staal

De target waarde is de globale mediaan per staal.

Tabel 9 toont dat 20 resultaten van de 612 (3,27%) afwijken

Tabel 9. Percentage Z-citaties per staal en globaal

Staal	$ Z \geq 3$	N	%
1901-3	2	103	1,94
1901-4	4	103	3,88
1902-3	2	103	1,94
1902-4	2	103	1,94
1903-3	5	100	5,00
1903-4	5	100	5,00
Totaal	20	612	3,27

Evaluatie per kleuringsmethode

Tabel 10 toont aan dat het percentage Z-citaties varieert van 0,00% (Shorr) tot 11,54% (other). Enkel de volgende kleuringen worden aanbevolen door de WHO 2010 richtlijnen : Papanicolaou, Modified Papanicolaou, Shorr en Diff Quick. Voor het geheel van deze aanbevolen kleuringen is het percentage Z-citaties 1,14% (7 op 612).

Tabel10. Percent Z-citaties per kleuringsmethode in 2019

Kleuring	Z ≥3	N	%
<i>Papanicolaou</i>	4	148	2,70
<i>Modified Papanicolaou</i>	2	184	1,09
<i>Shorr</i>	0	28	0,00
<i>Diff Quick</i>	1	92	1,09
<i>Giemsa</i>	1	14	7,14
<i>Spermac</i>	6	94	6,38
<i>Other coloration</i>	6	52	11,54
Totaal	20	612	3,27

Evaluatie per laboratorium

105 laboratoria hebben resultaten ingegeven voor morfologie in 2019. Hiervan hebben 98 laboratoria (93,33%) resultaten ingegeven voor alle stalen (n=6). 87 van deze 98 laboratoria (88,78%) werden niet geciteerd (pZ=0%), 8 laboratoria (8,16%) werden 1 keer geciteerd (pZ= 16.7%), 1 laboratorium (1,02%) werd 2 keer geciteerd (pZ=33.3%), 1 laboratorium werd 4 (1,02%) keer geciteerd (pZ=66,67) en 1 laboratorium (1,02%) werd 6 keer geciteerd (pZ=100%).

5. Klinische interpretatie

Voor de morfologie is de Z-score niet het enige aandachtspunt. Op basis van het percentage normale cellen, moet immers besloten worden of het staal normaal of abnormaal is. Indien de consensus <60% normaal/abnormaal wordt het staal beschouwd als 'borderline'.

Tabel 11 herneemt de interpretatie van de deelnemers voor de verschillende stalen van 2019.

Tabel 11. Status (Normaal of Abnormaal) van elk staal

Staal	Normaal (≥4%)	Abnormaal (<4%)	Besluit
1901-3	84	16	Normaal
1901-4	82	18	Normaal
1902-3	54	46	Borderline
1902-4	49	51	Borderline
1903-3	74	26	Normaal
1903-4	58	42	Borderline

E. Motiliteit

Voor enquête 2019-3 hebben de laboratoria een DVD ontvangen met 4 video-opnames van beweeglijke zaadcellen. Op basis van deze opnames werd de motiliteit geëvalueerd.

Volgens de richtlijnen van de WHO 2010 dienen de zaadcellen geëvalueerd te worden als progressive (PR), non progressive (NP) en immotile (IM). De motiele zaadcellen omvatten de "progressive" en de "non progressive" (PR+NP).

Om deze parameter te evalueren werd als targetwaarde de mediaan van alle deelnemers gebruikt (zie tabel 12)

Tabel 12. Targetwaarde per parameter en per staal

Staal	Parameter	Mediaan (%)	SD	N	Besluit*
SP/1921	Progressive (PR)	53	7	109	Normaal
SP/1922	Progressive (PR)	53	7	108	Normaal
SP/1923	Progressive (PR)	70	9	109	Normaal
SP/1924	Progressive (PR)	53	7	109	Normaal
SP/1921	Motile (PR+NP)	66	7	108	Normaal
SP/1922	Motile (PR+NP)	62	7	107	Normaal
SP/1923	Motile (PR+NP)	85	5	108	Normaal
SP/1924	Motile (PR+NP)	60	7	108	Normaal

* : Normal if PR>32% and PR+NP>40%

Op niveau van de Z-citaties werden respectievelijk 1,86% en 2,99% van de resultaten geciteerd voor de interpretatie "motile" en "progressive" (zie tabel 13).

Tabel 13. Z-citaties per parameter en per staal

Staal	Parameter	Z ≥3	Z <3	N	Z %
SP/1921	Motile	2	106	108	1,85
SP/1922	Motile	2	105	107	1,87
SP/1923	Motile	2	106	108	1,85
SP/1924	Motile	2	106	108	1,85
Total	Motile	8	423	431	1,86
SP/1921	Progressive	5	104	109	4,59
SP/1922	Progressive	3	105	108	2,78
SP/1923	Progressive	2	107	109	1,83
SP/1924	Progressive	3	106	109	2,75
Total	Progressive	13	422	435	2,99

Voor de parameter "progressive" werden 98 laboratoria van de 108 (90,74%) niet geciteerd (pZ=0%), werden 8 laboratoria (7,41%) 1 maal geciteerd (pZ=25%), werd 1 laboratorium (0,93%) 2 keer geciteerd (pZ=50%) en 1 laboratorium (0,93%) 3 keer (pZ=75%). Voor de parameter "motile" werden 102 van de 108 laboratoria (94,44%) niet geciteerd (pZ=0%), werden 5 laboratoria (4,63 %) 1 maal geciteerd (pZ=25%) en werd 1 laboratorium (0,93%) 3 maal geciteerd (pZ=75%).

F. Vitaliteit

Voor de evaluatie van de vitaliteit werd een gekleurd glaasje (eosine nigrosine) verstuurd tijdens enquête 2019-2. Hierbij diende het aantal levende cellen geteld te worden en in een percentage uitgedrukt te worden. 79 laboratoria hebben een resultaat ingegeven. De cut-off waarde is volgens de WHO 2010 richtlijnen 58%. 83% van de deelnemers geeft mee deze cut-off waarde te gebruiken. De targetwaarde was 71% levende cellen met een standaarddeviatie van 5.2%. 1 laboratorium op de 79 (1.27%) werd geciteerd (absolute waarde van de Z-score >3).

G. Besluit

Tabel 14 herneemt het percentage pZ waardes per parameter en per jaar over een periode van 5 jaar.

Tabel 14: overzicht citaties per jaar en per parameter

	Concentratie (%)	Morfologie – Normaal (%)	Motiliteit – Progressive (%)	Motiliteit – Motile (%)
2015	4,05	6,13	3,83	2,22
2016	6,52	4,56	2,10	3,92
2017	4,47	6,13	1,07	1,50
2018	5,49	5,88	1,17	2,78
2019	6,06	3,27	2,99	1,86

De parameters zijn stabiel naar het aantal citaties toe (tabel 14) tijdens de voorbije 5 jaar.

EINDE

© Sciensano, Brussel 2020.

Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van Sciensano. De individuele resultaten van de laboratoria zijn vertrouwelijk. Zij worden door sciensano niet doorgegeven aan derden, noch aan de leden van de Commissie, de expertencomités of de werkgroep EKE.