

Doel:

Gebruikersinformatie SKML semenanalyse.

Toepassingsgebied:

Deze gebruikersinstructie is van toepassing op de semenanalyse rondzending van de SKML, die viermaal per jaar gehouden wordt. Er wordt een voorstel gedaan voor een correcte handelwijze en afwikkeling van deze rondzending. Belangrijk hierbij is de vergelijking van de eigen resultaten met expertwaarde, landelijke consensus en eigen IQC-resultaten. Het is raadzaam om hierover te rapporteren in de reguliere managementreview van het laboratorium.

Nieuwe ontwikkeling:

Het is mogelijk om alle deelnemers aan te melden via een cluster waardoor de rondzending tevens als IQC te gebruiken is.

Voor het verloop van de rondzending is het belangrijk dat er afspraken worden gemaakt over de uitvoering van de analyses en de referentiewaarden. Inmiddels is het bij veel laboratoria gebruikelijk dat de analyse door de dienstdoende medewerker wordt uitgevoerd en dat de SKML-monsters aansluitend voor IQC worden gebruikt. (Zie ook: resultaat verwerking door lokale organisator van deze instructie).

Referentie/expert laboratorium: Tot 2024 werd alleen de groepsconsensus als referentiewaarde gebruikt voor de kwantitatieve bepalingen. Per ronde 2024-1 is een expertwaarde als referentie geïntroduceerd. Dit heeft als voordeel dat er beter gestuurd kan worden op de uitkomsten, vooral bij de morfologiebepaling en het percentage A-motiliteit. De expertwaarde komt als volgt tot stand:

De rondes worden voor verstreken aan de deelnemers gescoord door 3 analisten uit twee verschillende laboratoria. Zij beschikken over een ruime ervaring m.b.t. semenanalyse (routine bepaling, onderwijs en onderzoek).

Deze uitslagen worden besproken met de coördinator van de sectie semen bediscussieerd en zo nodig wordt een bepaling herhaald.

De groepsconsensus kan nog steeds worden ingezien in de tabel onder de histogrammen.

Na afloop van elke ronde wordt door SKML een rapport aangeleverd en ook een vakinhoudelijke bespreking van de resultaten. Het is de bedoeling dat het rapport gedeeld wordt met de medewerkers van het laboratorium. De vakinhoudelijke bespreking kan daarbij extra informatie verschaffen.

Definities:

EQC = externe kwaliteitscontrole door SKML

IQC = interne kwaliteitscontrole door het eigen laboratorium

Werkwijze:

Vorbereiding, door lokale organisator:

Het is organisatorisch handig om lokaal een organisator aan te stellen die het proces coördineert (zie verantwoordelijkheden).

SKML levert 1 maal per jaar alle rondzendingen aan. U dient zelf in de gaten te houden wanneer de rondzendingen gedurende het jaar geopend worden. Deze data zijn vooraf te vinden op de site van de SKML (www.skml.nl) onder rondzendingen/agenda/semen. Tip: regel zelf een trigger voor de start van de ronde zodat er geen deelname aan een ronde gemist wordt.

Elke rondzending bestaat uit:

- Bijsluiter (Lees deze goed)
 - Twee buisjes geconserveerd semen ter bepaling van de concentratie
 - Twee filmpjes voor het beoordelen van de motiliteit (link naar YouTube via Q-Base)
 - Een buisje met geconserveerd semen voor het maken van een uitstrijkje volgens de procedure op het eigen laboratorium ter bepaling van de morfologie
 - Een digitaal preparaat Papanicolaou gekleurd ter bepaling van de morfologie (link naar digitaal microscopie platform)
 - Drie uitsneden van het digitaal preparaat zaadcellen (link naar digitaal microscopie platform)
- Rapporteer de uitslagen in het rapportageformulier in Q-base.

Neem in het geval van afwijkingen of vragen contact op met de SKML. Zie voor contactgegevens op de site van de SKML en in de bijsluiter bij het EQC-materiaal.

- Bewaar de buisjes met semen voor de concentratiebepaling in de koelkast.

Werkwijze door uitvoerende medewerker:

Concentratiebepaling monsters A en B:

- Laat de buisjes met semen op kamertemperatuur komen;
- Meng ze goed; bij voorkeur minstens 30 minuten op een rollerbank of door enkele malen kort te vortexen op matige stand;
- Bepaal de concentratie volgens de procedure op het laboratorium. Stel vast of er agglutinatie aanwezig is;

- Advies: als er een verdunning gemaakt moet worden volgens de procedure op het lab dan is het beter om was medium gebruiken ter vermindering van de aggregatie;
- Beoordeel de concentratie van de twee semenmonsters;
- Experts gebruiken de haemocytometer met improved Neubauer raster (voorgeschreven door ISO23162 (of WHO6)).

Motiliteitbepaling monsters A en B:

- Beoordeel de motiliteit van zaadcellen in de video's op YouTube (link in Q-Base). In de video is een raster zichtbaar. Elk hok in het raster is 100 x 100 µm (lengte x breedte).
- Een zaadcel is al snel-progressief als binnen 2 sec zijn eigen zaadcellengte (25 µm) in een min of meer rechte lijn wordt afgelegd. Een hok in het weergegeven raster is 100 µm, een "A-zaadcel" mag daar dus 4 sec over doen (zie ISO 23162 blz. 17 of WHO6 (2021) blz. 24);
- Advies: bepaal de motiliteit bij voorkeur in de 4 categorieën, A B C en D. In QBase worden A en B samengevoegd tot "Progressief motiel" en kan het percentage A motiliteit als aparte bepaling worden toegevoegd.

In de video's zijn, volgens ISO 23162, steeds vier gezichtsvelden opgenomen die elk 40 seconden duren. Bepaal in totaal minimaal 200 zaadcellen verdeeld over deze vier gezichtsvelden. Herhaal de bepaling daarna op dezelfde video en doe een controle op de overeenstemming van de twee duplo's.

Morfologiebepaling monsters A t/m E:

Monster Morf A:

- Gebruik het geconserveerd semen om een uitstrijkje te maken.
- Kleur het uitstrijkje volgens de procedure op het laboratorium.
- Beoordeel tenminste 1 x 200 zaadcellen op morfologie en rapporteer het percentage zaadcellen met normale morfologie in QBase;
- De experts gebruiken de Papanicolaou kleuring (voorgeschreven door ISO23162 (of WHO6)).

Monster Morf B:

- Gebruik het digitaal preparaat Papanicolaou gekleurd om de morfologie te bepalen en rapporteer het percentage morfologisch normale zaadcellen in Q-Base. (Advies: gebruik de handteller op je lab voor het scoren en neem dit over in Q-Base. *Het is ook mogelijk om binnen het digitale preparaat zaadcellen te markeren als normaal en abnormaal. Deze gegevens blijven bewaard. Dat is handig als je in een eigen cluster werkt (pilot SKML).*)

Monsters C, D en E:

- Beoordeel de morfologie op 3 uitsneden van het digitale preparaat van de zaadcellen in de monsters C, D en E m.b.v. een tabel bestaande uit 14 criteria zoals gedefinieerd in WHO5 (2010) en rapporteer in Q-Base.

Opmerking: de normale morfologie wordt ook wel ideale of typische morfologie genoemd. SKML gebruikt alleen de term "normaal".

Tip: In het WHO5 (2010) *) is op blz. 72 (plate 1) door middel van voorbeelden duidelijk gemaakt dat er variatie is tussen morfologisch normale koppen en middenstukken. Op blz 78 (plate 4) zijn afwijkingen geïllustreerd. De sectie semen van SKML hanteert deze voorbeelden bij het vaststellen van de expertwaarde.

*) Naar mening van SKML-sectie semen is het WHO5 (2010) handboek in dit opzicht beter bruikbaar voor de morfologiebepaling dan WHO6 (2021).

Resultaatverwerking door lokale organisator:

- Voer de resultaten van dienstdoende analist in via Q-Base;
- Noteer eventueel commentaar op de monsters of analyses in QBase. Dit helpt mee om de kwaliteit van de rondzending te verbeteren;
- Laat (als dit gewenst is) alle andere betrokken analisten de SKML beoordelen voor de interne kwaliteitscontrole.

Eindrapportage:

- Als de coördinator van de sectie semen de rapportage heeft vrijgegeven stuurt bureau SKML deze per e-mail naar de deelnemers, tezamen met de vakinhoudelijk bespreking;
- Advies: bespreek de resultaten met de verantwoordelijke en betrokken medewerkers en onderneem zo nodig actie ter verbetering van het resultaat (zie "Mogelijke oorzaken van afwijkingen voor suggesties"). Betrek hierbij ook de resultaten van IQC en eerdere rondzendingen;
- Maak een korte rapportage van alle bevindingen en acties en bespreek deze rapportages tijdens de managementreview.

Mogelijke foutbronnen in de uitkomsten:

1. Resultaat concentratiebepaling wijkt te veel af:

- Wat te doen als het semen klontert?
 - Altijd het aangeleverde monster goed mengen bv 30 minuten op een rollerbank of door enkele malen kort te vortexen op matige stand
 - Klontering na verdunnen met bicarbonaat: dan was medium gebruiken als verdunningsvloeistof
- Verkeerde verdunning gemaakt bij het bepalen van de concentratie volgens WHO (improved Neubauer telkamer)
 - Wordt er bij het maken van verdunningen een positieve displacement pipet (op de juiste manier) gebruikt?
- Wordt het juiste volume in de telkamer gebracht?
 - Over- of onder- vulling kan tot afwijkende resultaten leiden;
 - Voor een Makler telkamer is het aan te raden 5 μ l met een pipet (dit hoeft geen positieve displacement pipet te zijn) op te brengen en niet de methode volgens Makler (met stokje, zie gebruiksaanwijzing op bv internet) te gebruiken;
- Wordt er een telfout gemaakt?
 - Verifieer of de medewerkers de rekentabellen volgens WHO juist hanteren;
 - Gebruik zo nodig een handteller om telfouten te voorkomen;
 - Ga na of de medewerkers het principe van de gebruikte telkamer kennen en juist toepassen (volume telgedeelte, opgebracht volume, etc.);
 - Controleer de gebruikte telkamer op beschadigingen/afwijkingen.

2. De waarde van de motiliteitmeting wijkt te veel af:

- Wat te doen bij schokkend beeld motiliteit?

Het bekijken van filmpjes in een Cloud leidt vaak tot problemen. Bekijk de filmpjes op een eigen device of een stand alone opstelling.

- Bij bepaling progressief niet progressief (volgens WHO-5th edition, 2010):
 - Het is handig om de progressief motiele zaadcellen eerst te bepalen en daarna, over hetzelfde microscopisch veld, de niet-progressief motiele en immotiele zaadcellen. Bij de rondzending kan dit gedaan worden door het filmpje meerdere malen af te spelen;
 - Kijk na de bepaling nog even terug en ga na of het algemene beeld correspondeert met de meting.
- Bij bepaling ABCD (WHO-6th edition, 2021):
 - Te grote verschillen tussen A- en B- motiliteit zijn vaak het gevolg van een te strenge beoordeling. Een zaadcel is al snel progressief als een zaadcel binnen

2 sec zijn eigen zaadcellengte (25 μm) in een min of meer rechte lijn afgelegd. Een hok in het weergegeven raster is 100 μm , een "A-zaadcel" mag daar dus 4 sec over doen;

- Het is handig om de zaadcellen met motiliteitsklasse A en B eerst te tellen en daarna, over hetzelfde microscopisch veld, de C en D zaadcellen. Bij de rondzending kan dit gedaan worden door het filmpje meerdere malen af te spelen;
- Kijk na de bepaling nog even terug en ga na of het algemene beeld correspondeert met de meting.

3. De morfologie uitslag correspondeert niet met de landelijke resultaten:

- Ga na of er een adequate kleurmethode wordt gebruikt.

Verschillende kleurmethodes geven een verschillend beeld van de zaadcel. De WHO schrijft de modified-papanicolaou (mod-PAP) kleuring voor. Deze kleuring wijkt af van de standaard-PAP en geeft als resultaat een significant kleinere zaadcelkop dan bijvoorbeeld een DiffQuick (Giemsa) kleuring. Bij de modified-PAP zijn vooral middenstuk, staart en cytoplasmatische druppel goed zichtbaar, terwijl deze bij DiffQuick vaak slecht gekleurd zijn. Verder levert DiffQuick vaak artefacten op, zoals een enigszins rechthoekige basis van de zaadcelkop.

- Bekijk uw eigen morfologie-jaarresultaten en ga na wat de spreiding is in de uitslagen. Als meer dan 80% onder 4% normaal zit, kunt u ervan uitgaan dat er te streng wordt beoordeeld, waardoor de bepaling in uw laboratorium zinloos is.

Veiligheid:

- De geconserveerde semenmonsters bevatten "Hayem's reagens". I.v.m. het bestanddeel kwikdichloride zijn hierop de volgende gevarenaanduidingen van toepassing:
 - H302 Schadelijk bij inslikken.
 - H412 Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
 - Voor verdere informatie: zie website leverancier (www.boomlab.nl). En kijk voor meer info in DDS.

- Semenmonsters kunnen infectieus zijn, zodat deze met inachtneming van de gebruikelijke voorzichtigheid moeten worden verwerkt.

Verantwoordelijkheden:

Geadviseerd wordt om een medewerker verantwoordelijk te maken voor het uitvoeren van deze procedure, de “lokale organisator”. Stel ook de overige verantwoordelijkheden vast in een SOP, bijvoorbeeld:

- De dienstdoende medewerker is verantwoordelijk voor een juiste uitvoering van de analyses;
- De lokale organisator is verantwoordelijk voor het beschikbaar maken van de rondzending, deze aan te bieden aan de dienstdoende medewerker en het digitaal invullen van de uitslag via Q-Base;
- De aangewezen eindverantwoordelijke of de lokale organisator is verantwoordelijk voor verslaglegging en eventueel te ondernemen acties.

Literatuur/bronnen:

WHO(5) 2010
WHO(6) 2021
ISO 23162
ISO 15189
Website SKML