

siams

Società Italiana di Andrologia
e Medicina della Sessualità

news
Letter
Special Edition

Aprile 2017

Cari Soci,

Ci sembra doveroso dedicare una “special edition” della newsletter SIAMS all’analisi critica di un lavoro recentemente apparso sulla rivista **Science Translational Medicine** che descrive la ‘performance’ di un analizzatore *Point of Care* per l’esame a fresco domiciliare del liquido seminale, ideato e sperimentato da un gruppo di ricercatori dell’ Harvard Medical School di Boston¹ e che ha destato interesse nei mass media e ricevuto molti commenti anche da non esperti e altre società scientifiche.

Il sistema utilizzato è costituito da un microchip in cui viene aspirato, mediante una pipetta incorporata nello stesso, una piccola aliquota di campione seminale (<35µl) e da un adattatore ottico che consente il collegamento ad unosmartphone di cui si utilizza il sistema ottico ed il software. Una app dedicata consente di eseguire l’indagine e di registrarne i risultati.

Lo strumento sarebbe in grado di fornire, nel giro di pochi secondi e in modo automatizzato, informazioni su concentrazione, motilità, velocità lineare e velocità curvilinea degli spermatozoi con un’accuratezza diagnostica, secondo le conclusioni degli autori, prossima al 98%.

Alcuni aspetti critici, tuttavia, rilevabili ad un attenta lettura dei dati presentati, meritano particolare attenzione, limitando fortemente l’utilità di tale strumento e la qualità dei risultati da esso derivanti.

Il confronto iniziale proposto dagli autori tra l’esame del liquido seminale eseguito con lo smartphone e la valutazione microscopica tradizionale è stato condotto analizzando 56 campioni seminali criopreservati con concentrazione nemaspermica massima di circa 45×10^6 /mL. Un’analisi di regressione di Passing-Bablok, approccio statistico non parametrico che consente di definire il grado di concordanza analitica tra 2

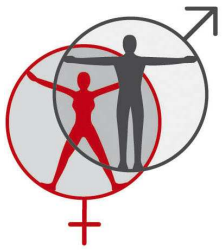
metodi che valutano una stessa variabile, ha evidenziato un buon livello di concordanza statistica ma, come evidenziabile dal grafico di correlazione, metteva in evidenza la possibilità di incorrere in risultati grossolanamente discrepanti tra i due metodi analitici: in un caso, per esempio, ad una concentrazione di circa 30×10^6 spermatozoi/mL alla valutazione al microscopio ottico, corrispondeva una concentrazione di circa 60×10^6 /mL alla lettura mediante smartphone. In effetti, per ammissione degli stessi autori, le differenze nei risultati prodotti dai due metodi tendevano ad essere maggiormente evidenti all’aumentare della concentrazione nemaspermica. Una possibile spiegazione, a nostro avviso, va ricercata in uno dei principali limiti delle analisi computerizzate del liquido seminale, ribadito anche nell’ultima edizione del manuale del WHO²: l’impossibilità di ottenere

stime accurate della concentrazione nemaspermica (in assenza di specifiche marcature fluorescenti del DNA e senza l’utilizzo di algoritmi per l’individuazione del flagello), a causa della difficoltà del computer nel distinguere gli spermatozoi dai detriti, con conseguente possibilità di sovrastimare al computer la concentrazione³. Da qui probabilmente la decisione degli autori di “validare” la loro metodica confrontandola con il CASA,

considerata nel paper tecnica di riferimento, nonostante, come è noto, quest’ultima, pur contemplata nell’ultima edizione del manuale WHO², sia in esso confinata al capitolo “procedure facoltative”, di completamento, quindi, nell’esame quantitativo della cinetica nemaspermica ma assolutamente non sostitutiva dell’esame standard microscopico del liquido seminale.

Il confronto tra l’esame del liquido seminale eseguito con lo smartphone e con il CASA è stato effettuato su 164 campioni seminali di pazienti





siams

Società Italiana di Andrologia
e Medicina della Sessualità

news
Letter
Special Edition

afferenti all'ambulatorio andrologico del Massachusetts General Hospital. In realtà, anche da tale confronto, relativo esclusivamente alla concentrazione nemaspermiche e alla percentuale di motilità totale, i grafici di correlazione documentavano evidenti discrepanze tra le due metodiche. Per la concentrazione, il sistema di analisi mediante smartphone mostrava un chiaro punto di saturazione a 100×10^6 spermatozoi/mL, oltre il quale si perdeva completamente la corrispondenza con la lettura al CASA: a concentrazioni CASA di 300 o 400×10^6 spermatozoi/mL corrispondeva sempre una concentrazione di 100×10^6 /mL allo smartphone. Anche il confronto delle valutazioni della motilità mostrava delle criticità. La distribuzione (estremamente dispersa) dei valori denunciava grossolane differenze tra i due metodi sia alla lettura di eiaculati con adeguata motilità (ad una motilità totale del 60% al CASA poteva corrispondere un valore del 25% allo smartphone) sia in caso di franca astenozoospermia (ad una motilità totale dello 0% al CASA poteva corrispondere un valore del 35% allo smartphone). Discutibile appare anche la scelta degli autori di utilizzare ai fini della validazione metodologica la motilità totale (progressiva e non progressiva), piuttosto che la progressiva, considerato che, in accordo alle raccomandazioni WHO², la corretta diagnosi di astenozoospermia è suggerita dall'osservazione di motilità progressiva $<32\%$ e non da motilità totale $<40\%$ ². Inoltre, risulta superfluo ribadire che tale valore, arbitrariamente settato come valore di riferimento del WHO, non è da considerare un valore 'normale' o 'soglia', ma rappresentante esclusivamente il 5° percentile della popolazione di riferimento.

Altra importante criticità riguarda l'impossibilità del sistema in questione di fornire informazioni essenziali per un esame standard del liquido seminale indispensabili per guidare l'iter diagnostico del maschio con riduzione del potenziale fertile: il sistema non consente infatti di

stimare la morfologia nemaspermica, la percentuale di spermatozoi vitali, di valutare la componente non nemaspermica (leucociti, eritrociti, cellule della spermatogenesi) e di fornire informazioni circa il volume dell'eiaculato, pH, viscosità, fluidificazione ed aspetto. Al di là delle limitazioni tecniche evidenziate sopra, è pertanto ovvio che dal punto di vista della possibile applicazione clinica tale sistema non soddisfa i requisiti minimi e non è adeguato ad una valutazione diagnostica.

Pur nell'impossibilità di verificare a pieno alcune potenziali criticità tecniche insite nel funzionamento e assemblaggio delle varie componenti del sistema proposto, è verosimile che la tipologia di smartphone utilizzato, la qualità del relativo sistema ottico, l'autofocus ed il sistema operativo possano rendere l'esame operatore-dipendente nel senso che, su larga scala, la diversità degli smartphone dei soggetti che decidessero di sottoporsi all'autovalutazione del seme potrebbe influenzarne i risultati. Esistono peraltro forti dubbi sulla possibilità stessa di una autodiagnosi del potenziale di fertilità.

Infine, risultano scontate perplessità circa il mantenimento 'domiciliare' di condizioni di sterilità e di adeguato riconoscimento di una fluidificazione completa.

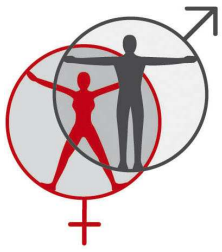
Auspichiamo che l'FDA, alla cui approvazione il sistema dovrebbe essere sottoposto nelle prossime settimane, tenga conto delle tante ed irrisolte criticità che anche questo nuovo sistema presenta, così come i suoi predecessori, nell'esecuzione "automatizzata" di un esame tanto complesso come quello del liquido seminale, e che non consentono ancora oggi, in piena era hi-tech, al seminologo di sostituire la sua perizia e il suo microscopio con un computer e un telefono cellulare.

Arcangelo Barbonetti e Mariano Galdiero

Commissione Aggiornamento Clinico-Scientifico
(Massimiliano Caprio, Andrea Delbarba, Andrea Di Nisio,
Giuseppe Grande e Roberto Vita)

Riferimenti Bibliografici

1. Kanakasabapathy MK, Sadasivam M, Singh A, et al. An automated smartphone-based diagnostic assay for point-of-care semen analysis. *Sci Transl Med* 2017;9:eaai7863.



siams

Società Italiana di Andrologia
e Medicina della Sessualità

news
Letter

Special Edition

2. World Health Organization, WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (World Health Organization, ed. 5, 2010).
3. ESHRE. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. Hum Reprod 1998;13:142-145.