

Perspectives de l'analyse de la mobilité des spermatozoïdes

AUGER J.

*Service d'Histologie-Embryologie / Biologie de la Reproduction et CECOS,
Groupe Hospitalier Cochin Port-Royal, 123, Bd de Port-Royal, 75014 Paris.*

RESUME

Aucune des méthodes objectives d'évaluation de la mobilité et du mouvement, CASA et méthodes basées sur des principes physiques, dans leur état de développement actuel ne remplace les données apportées par l'évaluation classique de la mobilité des spermatozoïdes au microscope à condition que celle-ci soit fondée sur une bonne expérience et des contrôles réguliers de sa validité (contrôles de qualité interne et externe). D'un autre côté, les méthodes objectives permettent d'aborder l'évaluation de la fertilité masculine par des approches objectives et reproductibles fournissant des mesures originales de plusieurs aspects du potentiel fécondant qui par définition sont impossibles par une approche visuelle. De plus, du fait de la technologie sur laquelle elles reposent, elles présentent un intérêt potentiel pour une approche plus détaillée de la fécondance du sperme.

Mots clés : *Sperme humain ; Spermatozoïdes ; Mobilité ; Mouvement ; CASA ; Contrôle de qualité.*

INTRODUCTION

Plusieurs études ont montré que la mobilité ou pourcentage de spermatozoïdes mobiles,

est l'une des caractéristiques du sperme la mieux corrélée avec la fertilité [12, 10]. Pourtant, l'évaluation visuelle de la mobilité au microscope est particulièrement subjective [16], cette subjectivité étant illustrée par la grande variabilité des évaluations faites d'un technicien à l'autre. Aussi depuis une vingtaine d'années, diverses méthodes objectives ont été proposées pour tenter de pallier le caractère imprécis et /ou subjectif de l'analyse classique du sperme et notamment pour améliorer l'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes. Dans ce domaine, on distingue deux grands types d'approches : celles reposant sur l'analyse d'images obtenues par microphotographie, microcinématographie ou microvidéographie et celles reposant sur des principes physiques. Parmi les premières, la microvidéographie assistée par ordinateur [1] (le terme "CASA" des anglo-saxons pour Computer Aided Sperm Analysis est actuellement le plus utilisé) qui permet, outre l'évaluation de la concentration et de la mobilité, la mesure d'un certain nombre de caractéristiques du mouvement, a fait l'objet du développement de systèmes intégrés très utilisés actuellement dans les laboratoires de biologie de la reproduction. Par contre, la plupart des méthodes basées sur des principes physiques, généralement considérées comme moins intéressantes car les données qu'elles fournissent se rapportent à l'ensemble de la population cellulaire - en d'autres termes, elles ne permettent pas

d'accéder aux paramètres individuels de la cellule - ont été supplantées par les méthodes basées sur l'analyse des images vidéos dès l'apparition sur le marché de systèmes fondés sur ce principe. Cependant, l'AQS (Analyseur de la Qualité du Sperme), un système récemment développé et fondé sur ce principe, nous semble constituer un outil supplémentaire intéressant pour l'évaluation de la fécondance du sperme [2]. Le présent article passe en revue l'intérêt, les limites et les progrès à attendre des différentes approches actuellement utilisées pour étudier la mobilité et le mouvement des spermatozoïdes.

L'ANALYSE DE ROUTINE DE LA MOBILITE : NECESSITE D'UN CONTROLE DE QUALITE

A cause du caractère subjectif de son évaluation, il est important d'effectuer l'analyse de la mobilité de la manière la plus standardisée possible. Des procédures standardisées ont été proposées par l'OMS [15]. Elles concernent la préparation de l'échantillon, les conditions d'observation et d'évaluation. En résumé, deux gouttes calibrées de sperme bien mélangé sont déposées sur une lame de verre et recouvertes par des lamelles de verre de 22mm x 22mm. L'observation est faite aux grossissements x20 puis au x40, en contraste de phase et à 37°C (platine thermostatée). L'OMS a proposé un système de classification en 4 catégories [15] qui permet de grossièrement tenir compte de la qualité du mouvement des spermatozoïdes, car il a été montré qu'outre l'aspect quantitatif (% de spermatozoïdes mobiles), la qualité du mouvement est tout aussi fondamentale pour l'expression de la fécondance. Ces 4 catégories (Figure 1) sont :

1) "a" : trajectoires rectilignes, "mouvement dit fléchant" : les spermatozoïdes traversent très rapidement le champ microscopique observé au grossissement x40 (déplacement > 2 longueurs de tête par seconde*),

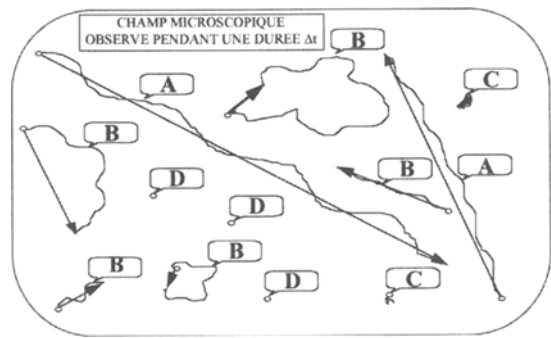


Figure 1 : Représentation de quelques aspects de trajectoires de spermatozoïdes présents dans un champ microscopique observé pendant quelques secondes illustrant la grande plasticité du mouvement des spermatozoïdes humains et par conséquent, la difficulté de l'évaluation visuelle de la mobilité. Les lettres correspondent aux catégories de mobilité définies par l'OMS [15].

- 2) "b" : le mouvement est linéaire mais lent ou non linéaire mais faiblement progressif (mouvement lent = trajectoires rectilignes mais faible vitesse; mouvement faiblement progressif = trajectoires non rectilignes ou sinueuses avec vitesse plus ou moins grande; dans les 2 cas le mouvement est dit progressif car le déplacement cellulaire est > 2 longueurs de tête par seconde*),
- 3) "c" : aucun déplacement: oscillations de la tête sur place et/ou simples mouvements flagellaires (déplacement < 2 longueurs de tête en 1 seconde*) et.
- 4) "d" : immobile : aucun déplacement: tête et flagelle immobiles. *(avec cette méthode, on dispose d'un "étalon" d'application simple pour classer les spermatozoïdes progressifs).

Bien que la standardisation soit un pré-requis indispensable, celle-ci ne suffit pas pour obtenir une faible variabilité inter-individuelle car, il existe des variations dans le niveau d'expérience et probable-

ment aussi dans le pouvoir discriminatoire visuel et les stratégies “de poursuite oculaire” d’un technicien à un autre. De plus, les capacités de ségrégation visuelle peuvent être notablement influencées par la particularité de l’échantillon de sperme examiné (concentration, quantité de débris, d’agglomérats, de cellules, etc ...). Un contrôle de qualité interne (CQI) mis en place dans notre Service a objectivé les fortes variations inter-individuelles pour l’évaluation des catégories OMS (Figure 2) et montré les difficultés au niveau individuel. Cependant, pour l’essentiel, ce sont des inexactitudes et non des imprécisions qui ont été observées : pour chacune des catégories de mobilité, un ou plusieurs observateurs ayant tendance à systématiquement surévaluer ou, à l’inver-

se, sous-évaluer par rapport à la moyenne observée sur le groupe (moyenne qui n’est pas la référence absolue !). Aussi, de tels résultats nous ont conduit à discuter les méthodologies détaillées d’évaluation de la mobilité de chaque technicien afin d’identifier toutes les étapes techniques et méthodologiques sujettes à variation d’un technicien à l’autre dans le but de définir des méthodes de préparation et d’analyse plus standardisées que celles actuellement utilisées. A partir des résultats et des discussions qui ont suivi, nous nous sommes proposé de définir une “stratégie de poursuite oculaire” logique et de l’appliquer immédiatement et systématiquement. Après discussion générale l’approche suivante a été proposée : 1ère étape : estimation du % d’im-

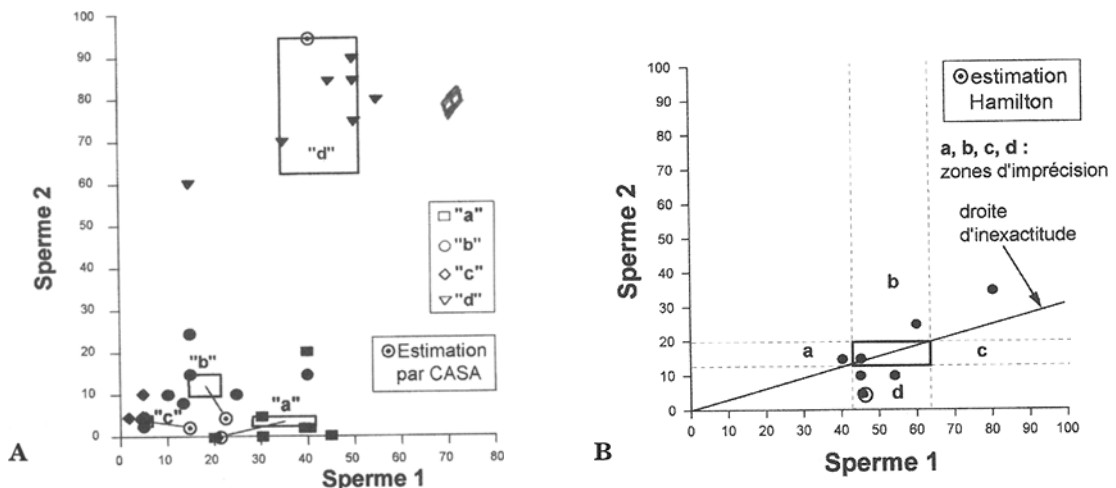


Figure 2 : Diagramme de Youden montrant les résultats d’un contrôle de qualité interne de l’évaluation de la mobilité. Chaque symbole présent dans le plan correspond à l’évaluation de chaque observateur pour les 2 spermes étudiés. Les rectangles représentent les zones cibles définies autour de la valeur moyenne de l’évaluation par le groupe. A) Résultats en fonction des 4 catégories OMS [15]. Seule l’évaluation de la proportion de spermatozoïdes immobiles (“d”) est assez homogène. Les évolutions les plus dispersées concernent la catégorie “b”. L’estimation conjointe par CASA des proportions respectives des différentes catégories basée sur des valeurs seuils des paramètres CASA (J. Auger, données non publiées) montre une cohérence pour l’estimation des spermatozoïdes immobiles, une surestimation des formes “a” et une sous-estimation des formes “c” par les observations en comparaison des évaluations faites par la machine. B) Evaluation du mouvement progressif (catégories “a” + “b”). Les évaluations de différents observateurs sont beaucoup plus groupées (en dehors d’un point correspondant à un observateur novice et proches de l’évaluation faite par CASA. La comparaison avec la situation observée dans le diagramme supérieur indique les difficultés rencontrées par l’œil humain pour faire la ségrégation entre les catégories “a” et “b”.

mobiles "d", 2ème étape : estimation ou compte de la proportion de spermatozoïdes non progressifs "c", 3ème étape: estimation de la proportion de spermatozoïdes bien progressifs "a" et 4ème étape : calcul par différence de la proportion de spermatozoïdes de la classe "b", cette classe étant la plus hétérogène. Il est encore trop tôt pour évaluer les bienfaits de cette stratégie.

En définitive, la généralisation de la mise en application des procédures de standardisation de l'analyse de la mobilité proposées par l'OMS devrait permettre de réduire la variabilité des évaluations fournies par différents observateurs et différents laboratoires. Cependant, ces procédures ne suffisent pas pour réduire de manière significative cette variabilité car l'évaluation visuelle de la mobilité fait intervenir de nombreux facteurs qui sont difficiles à contrôler. Il est donc très important d'essayer de préciser les stratégies d'analyse, de mettre en place des contrôles de qualité internes et externes réguliers [6, 14] visant à évaluer la variabilité et de définir les mesures correctives nécessaires.

VIDEOGRAPHIE ASSISTEE PAR ORDINATEUR

L'intérêt principal des systèmes CASA est leur possibilité de mesure de paramètres du mouvement fondés sur la cinématique des têtes des spermatozoïdes [1]. Ces systèmes se sont imposés grâce à leurs possibilités de mesures en temps réel et leur simplicité relative d'emploi. Un système CASA comprend typiquement un microscope équipé d'optiques de contraste de phase permettant le meilleur contraste des têtes des spermatozoïdes présents dans le champ microscopique à partir desquelles va reposer l'analyse. Les images captées par la caméra vidéo en ligne sont enregistrées sur bande vidéo pour une analyse ultérieure ou directement traitées par le système composé d'un micro-ordinateur de forte capacité doté de logiciels et matériels dédiés à l'ana-

lyse d'images séquentielles. De tels systèmes permettent la détection des seules têtes des spermatozoïdes présentes dans le champ, à une fréquence prédéterminée (généralement, 50 ou 60 Hz). Les coordonnées successives des têtes sont stockées, un algorithme sophistiqué permettant ensuite la reconstruction des différentes trajectoires présentes dans le champ microscopique. A partir de ces trajectoires différents paramètres standardisés liés à la vitesse et à la forme des trajectoires sont calculés au niveau de chaque cellule et de la population spermatique étudiée (Figure 3).

Habituellement, toute population de spermatozoïdes présente une grande hétérogénéité fonctionnelle. Ceci signifie que probablement seule une sous population de spermatozoïdes est capable d'exprimer l'ensemble des propriétés nécessaires à la fécondation. Cette hétérogénéité fonctionnelle existe également au niveau de la mobilité des spermatozoïdes. Aussi lorsqu'il existe des troubles de la mobilité, le problème est de savoir quelle fraction de l'ensemble de la population représente les cellules aptes à la fécondation, dans un but diagnostique et pronostique, voire thérapeutique. Le plus souvent la perturbation de la mobilité n'est pas isolée comme c'est le cas dans l'oligo-asthénospermie. La prise en compte de l'ensemble des facteurs en cause permet de préciser le pronostic. Ainsi dans l'infertilité auto-immune où coexistent souvent des anomalies du mouvement, la prédiction du résultat de la fécondation *in vitro* est dépendante des paramètres du mouvement [17].

La valeur pronostique des caractéristiques du mouvement ne peut être montrée avec certitude qu'en étudiant la relation entre ces caractéristiques et l'établissement de grossesses *in vivo* au cours d'analyses prospectives multiparamétriques chez des couples pour lesquels il n'existe pas de facteurs féminins notables d'infécondité ou bien *in vitro* dans le modèle de la fécondation *in*

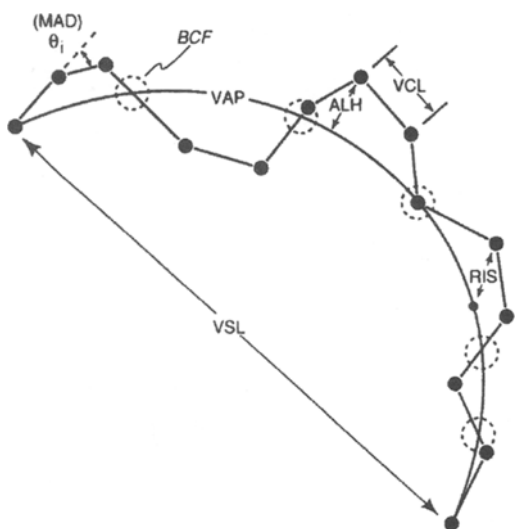


Figure 3 : Représentation d'une trajectoire de spermatozoïde reconstruite par CASA et terminologie standard [15] des paramètres mesurés. VCL : vitesse curvilinéaire ($\mu\text{m/s}$) : vitesse moyenne de déplacement de la tête le long de la trajectoire reconstruite en fonction de la fréquence d'acquisition du système. VSL : vitesse de progression linéaire (mm/s) : vitesse moyenne selon une ligne droite joignant la première et la dernière position détectée de la tête. VAP : vitesse selon la trajectoire moyenne ($\mu\text{m/s}$) : vitesse moyenne du déplacement de la tête suivant sa trajectoire moyenne. Cette trajectoire est calculée par lissage de la trajectoire curvilinéaire selon un algorithme spécifique du système. ALH : amplitude de débattement latéral de la tête par rapport à la trajectoire moyenne (μm). BCF : fréquence de croisement de trajectoire (battements/s) : fréquence moyenne avec laquelle la trajectoire curvilinéaire croise la trajectoire moyenne. BCF reflète la fréquence de battement flagellaire. MAD : déplacement angulaire moyen (degrés) : moyenne des valeurs absolues des angles successifs décrits par la tête le long de la trajectoire curvilinéaire. Enfin, la linéarité de trajectoire (LIN ; %) est égale au rapport VSL/VCL .

vitro. Dans le premier cas, il a été montré que c'est le nombre de spermatozoïdes, la vitesse de progression moyenne (VAP) et le nombre total de spermatozoïdes progressifs qui sont les paramètres les plus discriminants [3] (Tableau 1). En fécondation in vitro, une relation significative a été trouvée entre les taux de fécondation et l'amplitude de déplacement latéral de la tête [8].

Parfois la mobilité est la seule des caractéristiques du sperme à être altérée. En fait, cette situation regroupe des anomalies diverses du mouvement, quantitatives et/ou qualitatives, pouvant être en relation avec des anomalies structurales variées (comme l'indique l'examen en microscopie électronique à transmission) et/ou probablement des déficits métaboliques. Dans certains cas assez rares, l'anomalie du mouvement concerne l'immense majorité des spermatozoïdes mobiles. Certaines dyskinésies d'origine structurale, axonémales et périaxonémales, ont été caractérisées. L'absence de bras externes de dynéine (ABED) résulte en une perturbation du mouvement spermatique qui devient lent malgré une efficacité de battement correcte. La migration dans le mucus cervical est perturbée, nulle ou retardée. L'absence ou la maldisposition des structures périaxonémales peut être à l'origine de dyskinésies : c'est le cas des spermatozoïdes glissants [7] qui sont incapables de migrer au travers du mucus cervical. Leur vitesse de progression est normale mais le déplacement latéral de la tête (ALH) est très étroit. La courbure se développe peu mais se propage rapidement le long du flagelle provoquant des modifications de la trajectoire et de la rotation cellulaire. De tels spermatozoïdes pénètrent peu ou pas les ovocytes dépellucidés de hamster et ne fécondent pas in vitro. Dans les deux situations, ABED et glissants, lorsque l'anomalie du mouvement concerne l'immense majorité des spermatozoïdes, les hommes sont stériles. L'examen de microscopie électronique et l'analyse objective du mouvement par CASA permettent le diagnostic.

Tableau 1 : Valeur pronostique des caractéristiques spermatisques, des paramètres du mouvement par CASA et fertilité in vivo (d'après Barratt et al, Fertil, Steril, 1993).

Variable	χ^2	P
Nombre total de spermatozoïdes, NT ($\times 10^6$)*	13,85	< 0,0005
NT mobiles progressifs ($\times 10^6$)	8,63	< 0,005
Spermatozoïdes immobiles (%)	6,39	0,01
Concentration de spermatozoïdes, C ($\times 10^6/\text{ml}$)	6,19	0,01
Vitesse moyenne, VAP ($\mu\text{m/s}$)**	5,49	< 0,02
C mobiles progressifs ($\times 10^6/\text{ml}$)	5,34	0,02
Mobilité progressive (%)	4,73	< 0,05
Vitesse curvilinéaire, VCL ($\mu\text{m/s}$)	4,64	< 0,05

Le mouvement des spermatozoïdes se modifie de manière importante lors de la remontée dans le tractus génital féminin. Il est clair que la qualité du mouvement spermatique joue un rôle déterminant pour la pénétration du mucus cervical et il existe un consensus sur les caractéristiques ayant un rôle significatif pour cette étape préalable à la fécondation : l'amplitude de déplacement latéral de la tête doit être suffisamment grande ($\geq 3 \mu\text{m}$, dans le plasma séminal) et la vitesse de progression linéaire au moins égale à 25-30 $\mu\text{m/s}$.

Au cours du transit dans les voies génitales féminines, les spermatozoïdes subissent un ensemble de modifications morpho-fonctionnelles regroupées sous le terme de capacitation. Parmi celles-ci s'opèrent des changements de leur dynamique flagellaire responsables d'un mouvement dit "hyperactivé". Selon Katz et collaborateurs [11], l'hyperactivation est certainement déterminante pour le développement des forces nécessaires pour détacher les spermatozoïdes ayant adhéré au revêtement épithélial, la facilitation des échanges métaboliques par une agitation du fluide composant le microenvironnement local du spermatozoïde, la prévention du piégeage des spermatozoïdes dans les portions étroites et contournées du tractus par une migration facilitée, l'augmentation de la probabilité de rencontre avec le complexe cumulus-ovocyte par un volume balayé plus

important et la pénétration au travers de la masse du cumulus et de la zone pellucide par une poussée accrue au niveau de la tête du spermatozoïde. Il est généralement admis que le mouvement hyperactivé concerne la majorité des spermatozoïdes qui ont quitté la région de l'isthme et migrent vers le site de la fécondation. Chez l'homme on ne voit apparaître ce mouvement qu'après plusieurs heures de capacitation in vitro et pour seulement 10 à 20% des spermatozoïdes. Aussi, il apparaît très utile de pouvoir évaluer la proportion de spermatozoïdes présentant ce mouvement. D'après plusieurs auteurs, notamment Burkman [5], le mouvement hyperactivé peut être caractérisé par les systèmes CASA. Cependant il semble actuellement que la combinaison de valeurs seuils de différents paramètres issus de l'analyse CASA ne permette pas de discriminer correctement le mouvement hyperactivé car jusqu'à présent, cette méthode n'a pas permis de mettre en évidence une relation entre le pourcentage de spermatozoïdes hyperactivés et la fertilité in vivo et in vitro. La technologie sur laquelle repose les systèmes CASA permet de développer de nouveaux paramètres qui seraient plus caractéristiques du mouvement et notamment du mouvement hyperactivé que les paramètres actuellement disponibles : de ce point de vue, l'approche recourant à la géométrie fractale [13] semble particulièrement intéressante (Figure 4).

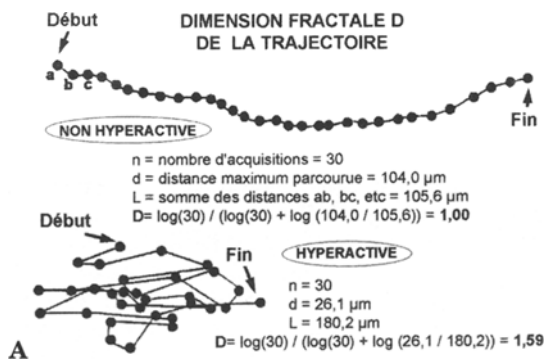
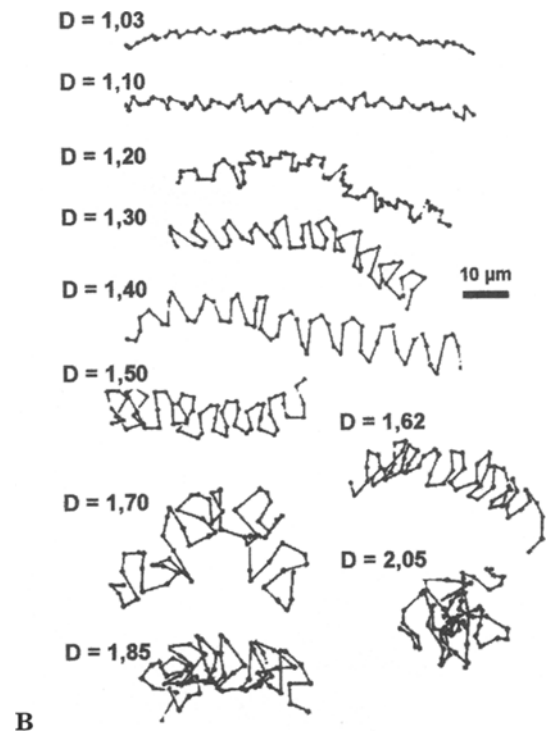


Figure 4 : Caractérisation des trajectoires de spermatozoïdes humains par la géométries fractale (d'après Mortimer et al. [13]).
A) Deux exemples de trajectoires de spermatozoïdes présentant un mouvement non hyperactif et hyperactif reconstruites par système CASA et principe de calcul de la dimension fractale caractérisant les trajectoires. On notera que cette dimension est indépendante du facteur temps. **B) Représentation de différents types de trajectoires et dimensions fractales correspondantes.** Des écarts relativement importants de la dimension fractale correspondent à de faibles modifications de l'aspect des trajectoires et une dimension fractale supérieure à 1,5 caractérise les spermatozoïdes présentant un mouvement hyperactif.

En résumé, une standardisation de l'analyse, des notions de base de la technologie des systèmes utilisés, une bonne connaissance de la physiologie spermatique et, une rigueur dans toutes les étapes de l'analyse sont des pré-requis essentiels pour garantir une analyse fiable car ces systèmes ne sont pas des automates "prêt à l'emploi". Sous ces conditions, l'analyse du mouvement des spermatozoïdes assistée par ordinateur est un complément indispensable pour l'évaluation fonctionnelle du sperme humain, d'un point de vue diagnostique et pronostique.

L'AQS, UN NOUVEL OUTIL POUR L'EVALUATION DE LA MOBILITE

Le Sperm Quality Analyzer ou "Analyseur de la Qualité du Sperme" (AQS ; EMS



France, Morangis) dispositif récemment proposé pour l'évaluation objective de la qualité du sperme humain repose sur un principe différent de celui des systèmes CASA : il s'agit de mesures physiques simples qui évaluent d'une manière globale la mobilité de l'ensemble des spermatozoïdes présents au sein d'un échantillon. Ce système très simple effectue la mesure des variations de densité optique (DO) résultant du mouvement des spermatozoïdes. La figure 5 présente un schéma du principe de l'appareil. Brièvement, les variations de DO sont mesurées à l'aide d'un capteur électro-optique. Les signaux analogiques produits sont convertis en signaux numériques et analysés par un microprocesseur. Le résultat de cette analyse est synthétisé sous la forme d'une valeur unique appelée index de mobilité du sperme (IMS). Cet index combine la concentration spermatique, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et à un certain degré, la qualité du mouvement. Aussi, l'IMS est bien corrélé avec la concen-

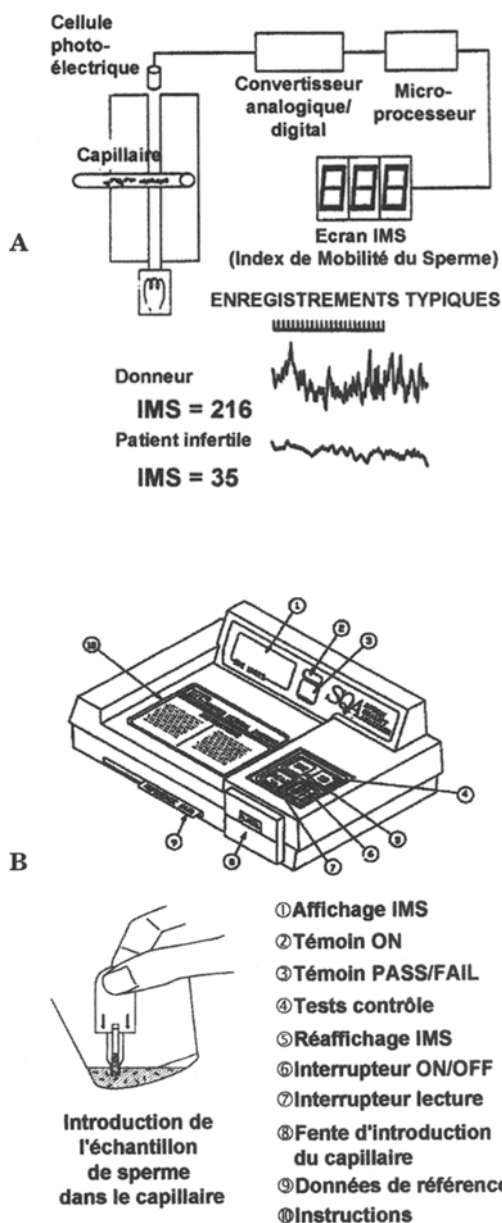


Figure 5 : L'analyseur de la qualité du sperme (AQS). A) Schéma de principe de l'appareil. B) Représentation de l'appareil. Contrairement aux systèmes CASA, l'interaction observateur-système est minime entraînant moins de risques de biais de mesure. L'observateur n'intervient que pour le remplissage du capillaire avec le sperme à tester. Le capillaire est ensuite introduit dans l'appareil et la mesure est faite en 4 points différents. L'index de mobilité du sperme affiché (IMS), caractéristique très corrélée à la concentration de spermatozoïdes bien mobiles, correspond à la moyenne de ces 4 mesures.

nir la méthode adéquate de préparation du sperme en vue d'une AMP et présente une valeur prédictive assez bonne du rendement des méthodes de sélection des spermatozoïdes en terme de mobilité. La mesure de l'IMS à partir de spermatozoïdes congelés est également reproductible. Elle est très corrélée avec le nombre de spermatozoïdes mobiles par paillette (NSMP) mais présente l'avantage d'être une mesure objective et donc plus précise. L'IMS mesuré sur le sperme frais présente une valeur prédictive de la tolérance à la congélation.

Deux études ont suggéré que la mesure de l'IMS serait bien corrélée avec la fertilité [4,9]. Cependant, des études prospectives in vivo et dans le modèle de la fécondation in vitro doivent être menées pour pouvoir véritablement tirer des conclusions. Il faut finalement noter que par sa simplicité d'emploi, son faible encombrement et son coût modique, ce système pourrait être très utile pour des études "sur le terrain", en se souvenant que la mesure fournie par l'AQS ne se substitue en aucun cas à l'évaluation classique des caractéristiques du sperme.

CONCLUSIONS

En résumé, aucune des méthodes objectives d'évaluation de la mobilité et du mouvement dans leur état de développement actuel ne remplace les données apportées

tration de spermatozoïdes très mobiles [2]. Nous avons étudié la reproductibilité des mesures et évalué l'intérêt potentiel de l'AQS pour le laboratoire de biologie de la reproduction et les activités de congélation des spermatozoïdes humains [2]. Brièvement, il est apparu que la mesure de l'IMS est simple, reproductible et très utile pour juger de la qualité globale d'un sperme. Elle peut apporter une aide précieuse pour défi-

par une analyse classique du sperme à condition que celle-ci soit fondée sur une bonne expérience et des contrôles réguliers de sa validité. D'un autre côté, les méthodes objectives permettent d'aborder l'évaluation de la fertilité masculine par des approches objectives et reproductibles fournissant des mesures originales de plusieurs aspects du potentiel fécondant qui par définition sont impossibles par une approche visuelle. De plus, du fait de la technologie sur laquelle elles reposent, elles présentent un intérêt potentiel pour une approche plus détaillée de la fécondance du sperme.

REFERENCES

1. AUGER J : Mouvement des spermatozoïdes et analyse automatisée : rappels technologiques, biais méthodologiques possibles et conditions de mesure. *Andrologie* 1995 ; 5 : 37-45.
2. AUGER J : L'AQS (Analyseur de la Qualité du Sperme) : Evaluation de son intérêt pour l'analyse, la sélection et la congélation des spermatozoïdes. *Andrologie* 1996 ; 6 : 320-329.
3. BARRATT CLR, TOMLISON MJ, COOKE ID : Prognostic significance of computerized motility analysis for in vivo fertility. *Fertil Steril* 1993 ; 60 : 520-525.
4. BARTOOV B, BEN-BARAK J, MAYEVSKY A et al. : Sperm motility index : a new parameter for human sperm evaluation. *Fertil Steril* 1991 ; 56 : 108-112.
5. BURKMAN LJ : Discrimination between nonhyperactivated and hyperactivated motility patterns in human sperm using computerized analysis. *Fertil Steril* 1991 ; 55 : 363-371.
6. COOPER TG, NEUWINGER J, BAHRS S, NIESCHLAG E : Internal quality control of semen analysis. *Fertil Steril* 1992 ; 58 : 172-178.
7. FENEUX D, SERRES C, JOUANNET P : Sliding spermatozoa : a dyskinesia responsible for human infertility ? *Fertil Steril* 1985 ; 44 : 508-511.
8. JEULIN C, FENEUX D, SERRES C, JOUANNET P, GUILLET-ROSSO F, BELAISCH-ALLART J, FRYDMAN R, TESTART J : Sperm factors related to failure of human in vitro fertilization. *J Reprod Fertil* 1986 ; 6 : 735-744.
9. JOHNSTON RC, CLARKE GN, LIU DY et al. : Assessment of the Sperm Quality Analyser. *Fertil Steril* 1995 ; 63 : 1071-1076.

10. JOUANNET P, DUCOT B, FENEUX D et al. : Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples. I. Study of sperm characteristics. *Int J Androl* 1988 ; 11 : 379-394.
11. KATZ DF, DROBNIS EZ, OVERSTREET JW : Factors regulating mammalian sperm migration through the female reproductive tract and oocyte vestments. *Gamete Res* 1989 ; 22 : 443-469.
12. MAC LEOD J, GOLD RZ. : The male factor in fertility and infertility. *Fertil Steril* 1953 ; 4 : 10.
13. MORTIMER ST, SWAN MA, MORTIMER D : Fractal analysis of capacitating human spermatozoa. *Hum Reprod* 1996 ; 11 : 1049-1054.
14. NEUWINGER J, BEHRE HM, NIESCHLAG E : External quality control in the andrology laboratory : an experimental multicenter trial. *Fertil Steril* 1990 ; 54 : 308-314.
15. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. : Manuel de laboratoire de l'OMS pour l'analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical. Paris, Editions INSERM, 1993.
16. WALKER JS, WINET H, FREUND M. : A comparison of subjective and objective sperm motility evaluation. *J Androl* 1982 ; 3 : 184-192.
17. ZOUARI R, DE ALMEIDA M, RODRIGUES D, JOUANNET P : Localization of antibodies on spermatozoa and sperm movement characteristics are good predictors of in vitro fertilization success in cases of male autoimmune infertility. *Fertil Steril* 1993 ; 59 : 602-616.

ABSTRACT

Subjective and objective evaluation of human sperm motility : present and future

AUGER J.

Several studies have shown a good correlation between sperm motility and fertility though the microscopic evaluation of the percentage of motile sperm is highly subjective by nature. Therefore in the last decade, various objectives methods have been proposed to overcome this problem. Two types of methods were developed : The methods based on the analysis of images obtained by microphotography, microcinematography and microvideography and the global, undirect

methods based on physical principles. Several systems based on video and image analysis (Computer Aided Sperm Analysis, CASA) have been developed and are used in numerous laboratories of reproductive biology. CASA technology offers the possibility to analyse some characteristics of sperm motion which are related to the fertilization potential and to develop new parameters related to some important aspects of sperm behavior such as hyperactivation. However, there is a large amount of interactions between the operator and the CASA machine. CASA instruments are not "ready-to-use" robots : the reliability of CASA depends largely on the expertise and training of the user and the application of standardized procedures and quality control schemes. By contrast, there is only minimal interaction between the operator and the Sperm Quality Analyser which is a new device measuring and index of sperm motility highly correlated to the concentration of progressively motile sperm. The device uses light passed through a

small sample of semen introduced in a capillary tube to detect variations in optical density that result from moving particles. The reproducibility of the measurements is excellent, the device is easy to use and this is a potentially useful tool for field-work studies. Further investigations of this device in the management of male infertility is warranted. Finally, both types of objectives approaches are complementary to the conventional analysis of sperm motility and they will not replace it. Standardized procedures have been proposed by the World Health Organization for the subjective evaluation of sperm motility. Such procedures are very useful to reduce significantly the intra- and interlaboratory variations but internal and external quality controls schemes indicate that they are not sufficient to achieve acceptable levels of variation and regular quality controls followed by the definition and the application of corrective procedures are required.

Key words : *Sperm motility evaluation ; CASA ; Standardization ; Quality control.*