

ESPERMOTESTE

FINALIDADE:

Conjunto de reagentes para a complementação do Espermograma.
Somente para diagnóstico de uso in vitro.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C.

Reagentes:

CVI - Corante Vital: Eosina amarela a 1%

CONT - Contraste: Nigrosina 6%

BUF - Tampão de Hipoosmolaridade: Cloreto de Sódio a 0,9%,

PIR - Piridina: Piridina 100%

AAC - Anidrido Acético: Anidrido Acético a 100%

STD - Padrão: Frutose 300 mg/dL, Ácido Cítrico 300 mg/dL, Ácido Benzóico 0,1%

RGT - Reagente de Cor: Resorcinol a 0,1%, Tiouréia a 0,1%, Etanol a 100%

RAC - Reagente Ácido: Ácido Clorídrico 55%

PREPARO DO REAGENTE DE USO:

Todos os reagentes se encontram prontos para uso.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até o vencimento da data de validade quando armazenados a 2º - 8°C.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMO E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original

PRECAUÇÕES:

- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e não transmitem infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança.
- Todo material contaminado com amostras dos pacientes ou padrão do kit deve ser inativado por autoclavagem (60 min. a 120º) ou por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 10% por no mínimo 60 minutos;
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. O PIR é tóxico e facilmente inflamável; Nocivo por inalação, em contato com a pele e por ingestão. O AAC é inflamável; nocivo por inalação e ingestão; provoca queimaduras. O RGT pode ser tóxico em caso de ingestão; facilmente inflamável; pode causar irritações nos olhos e na pele em contato prolongado.
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.

COLETA E PREPARO DA AMOSTRA:

- O material deverá ser coletado no laboratório por automasturbação. O paciente deverá ser instruído para evitar perda de material.
- Transporte: Se a coleta não puder ser realizada no laboratório, a amostra deverá ser enviada em no máximo 30 minutos após o recolhimento. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada (15-25°C) desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica. O primeiro procedimento no laboratório deverá ser a incubação do material em estufa a 37°C para que se possa observar o tempo de liquefação.
- O período de abstinência deverá ser de 2 a 5 dias, mas deve-se levar em conta a atividade sexual do paciente. Devem ser registrados o período de abstinência, data e hora da coleta, período de intervalo entre a coleta e o exame, medicamentos usados.
- O frasco utilizado para a coleta deve ser estéril e, se possível de plástico não espermática.
- Os testes serão realizados com o produto de uma única ejaculação.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Pipetas
- Cronômetro
- pHmetro
- Microscópio
- Câmara de Neubauer
- Tubos de ensaio
- Lâmina e lamínula
- Banho-Maria
- Fotômetro UV/VIS

PROCEDIMENTOS:

A- EXAME MACROSCÓPICO

VOLUME:

Em condições normais varia de 2 a 5 mL.

Hipospermia: volume < 2 mL

Hiperespermia: volume > 6 mL

Aspermia: ausência total de ejaculado

Consistência/Viscosidade:

Com uma pipeta de 0,1 mL com 11 cm de coluna de esperma, gotejar cronometrando 3 gotas.

4,8 a 5,2 segundos: normal

Maior que 5,2 segundos: viscosidade elevada

Menor que 4,8 segundos: baixa viscosidade

Cor:

Cinza claro, tornando-se translúcido após a liquefação.

Piócitos conferem coloração amarelada, e hemácias uma coloração avermelhada.

Aspecto:

Opalescência acinzentada. Quando a concentração de espermatozoides estiver muito baixa a aparência ficará menos opaca.

Odor:

Odor sui generis, que pode ser comparado ao do suco de castanhas.

Reação (pH):

O pH deve ser determinado 1 hora após a ejaculação.

Deve variar de 7,2 a 8.

pH > 8: deficiência prostática

pH < 7 em amostra azoospermica: disgenesia dos canais deferentes, vesículas seminais ou epidídimos.

Liquefação:

A liquefação normal ocorre de 6 a 30 minutos à temperatura ambiente.

A liquefação pode ser primária, parcial ou secundária.

Coagulação:

Imediatamente após a emissão o esperma transforma-se em gel. Em temperatura ambiente o gel se transforma em sol de 15 a 30 minutos após a emissão.

B- EXAME MICROSCÓPICO

Contagem:

Concentração espermática: Igual ou superior a 20 milhões/mL.

Câmara de Neubauer: a diluição depende da concentração espermática. Diluir com solução salina a 0,5% em formol

Alta: 1:50 a 1:100

Baixa: 1:20 a 1:30

Muito baixa: 1:5 a 1:10

Espermatozoides/mL: (número contado x diluição x 10.000) / 4

4 = número de quadrantes da câmara (contagem de leucócitos).

Normozoospermia: acima de 20 milhões/mL

Oligozoospermia: de 1 a 20 milhões/mL

Criptozoospermia: menor que 1 milhão/mL

Azoospermia: ausência de espermatozoides

Polizoospermia: acima de 250 milhões/mL

Grau de motilidade:

O Grau de Motilidade pode ser classificado em:

Grau A: Motilidade rápida, progressiva e linear

Grau B: Motilidade lenta e/ou não linear

Grau C: Motilidade não progressiva

Grau D: Sem Motilidade

Pacientes normais apresentam no mínimo 25% dos espermatozoides com grau A.

Aglutinação:

Verificar a aderência dos espermatozoides móveis uns nos outros.

A aderência pode ser: cabeça-cabeça, peça intermediária-peça intermediária, cauda-cauda ou mista.

Pacientes normais apresentam até 5% dos espermatozoides com aderência.

Vitalidade:

Reflete a proporção de espermatozoides vivos e espermatozoides mortos.

O corante Vital penetra no espermatozoide morto resultando em uma cor vermelha, enquanto que o espermatozoide vivo não se cora.

Em um tubo de hemólise pipetar:

CVI	10 µL
Esperma	10 µL
Misturar bem e aguardar 1 minuto.	
CONT	20 µL
Misturar, fazer esfregaços e a microscopia por imersão contando os espermatozoides vivos e os mortos.	

$$\% \text{ Espermatozoides vivos} = \frac{n^{\circ} \text{ espermatozoides vivos} \times 100}{n^{\circ} \text{ total de espermatozoides}}$$

Pacientes normais: Acima de 70% de formas vivas

OBS: Esta lâmina poderá ser usada para estudo de morfologia.

Morfologia:

Devem ser contados no mínimo 200 espermatozoides, sendo o resultado relatado em porcentagem.

Pode-se encontrar até 30% de espermatozoides atípicos dentre os espermatozoides analisados.

As anormalidades são classificadas em alterações de cabeça, da peça intermediária e da cauda.

As seguintes colorações podem ser utilizadas:

- Coloração pelo método de Papanicolau

- Coloração pelo método de May-Grünwald-Giemsa

- Coloração pelo método de Vital

C- ANÁLISES COMPLEMENTARES

Teste de Hipoosmolaridade

Este teste oferece informação adicional sobre a integridade e a funcionalidade da membrana celular da cauda do espermatozoide.

Procedimento:

• Em um tubo de ensaio colocar 0,5 mL de reagente BUF e 0,5 mL de água deionizada. Deixar em banho-maria a 37°C por 10 minutos.

• Adicionar 0,100 mL de esperma. Agitar e esperar 30 minutos em banho-maria a 37°C.

• Pipetar 20 µL do sedimento formado em uma lâmina, colocando uma lamínula por cima. Observar no microscópio, com objetiva de 400x, 10 campos. Contar o número de espermatozoides com edema em relação ao número total de espermatozoides.

Valor de referência: igual ou maior a 60% de espermatozoides com edema.

REV. 06/12

InVitro

Determinação do Ácido Cítrico:

Este método se baseia no desenvolvimento de uma coloração amarelada originada quando o ácido cítrico reage com a piridina e anidrido acético.

Procedimento:

- Centrifugar o esperma a 3.000 rpm durante 10 minutos.

	Branco	Amostra	STD
Água deionizada	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Esperma	-	25 µL	-
STD	-	-	25 µL
Deixar em banho de gelo por 2 minutos. Deixar no banho e pipetar.			
PIR	0,6 mL	0,6 mL	0,6 mL
Homogeneizar.			
AAC	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Homogeneizar bem e manter por mais 2 minutos no banho de gelo. Depois deste tempo transferir os tubos para o banho-maria a 37°C e incubar por 5 minutos. Efetuar as leituras em 420 nm (filtro azul). Caso ocorra turvação no tubo TESTE, filtrar a solução em papel qualitativo e efetuar a leitura.			

Cálculo:

$$\text{Ácido Cítrico (mg/dL)} = \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{STD}}} \times 300$$

Valor de referência: 350 a 450 mg/dL

Linearidade: 1000 mg/dL

Determinação da Frutose:

Este método se baseia na reação de Selivanoff, que provoca a transformação da frutose em furfural, que junto com o resorcinol produz uma coloração rosa.

Procedimento:

Após a liquefação fazer a determinação da frutose imediatamente. Não sendo possível, armazenar uma alíquota em congelador (abaixo de 0°C) para evitar a frutólise.

	Branco	Amostra	STD
Água deionizada	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Esperma	-	25 µL	-
STD	-	-	25 µL
RGT	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
RAC	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL
Homogeneizar bem e colocar em banho fervente por 5 minutos. Esfriar. Realizar as leituras do TESTE e do PADRÃO em 530 nm (filtro verde).			

$$\text{Frutose (mg/dL)} = \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{STD}}} \times 300$$

Valor de referência: 150 a 300 mg/dL

Linearidade: 1500 mg/dL

Determinação da Frutólise:

Fazer a determinação da Frutose. Incubar outra alíquota de esperma em estufa a 37°C por 5 horas. Após este período determinar a Frutose nesta alíquota.

Valor de referência: O valor da frutose após a incubação deve ser 50% inferior ao valor da frutose inicial.

$$\text{Frutose (mg/dL)} = \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{STD}}} \times 300$$

D- CARACTERÍSTICAS E DESEMPENHO

Repetitividade:

Foram realizadas 10 dosagens sucessivas com 2 amostras obtendo-se os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE:

	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Amostra 1			
Frutose	302,5	4,1	1,04
Ácido Cítrico	381,2	2,7	0,53
Amostra 2			
Frutose	175,7	3,1	1,4
Ácido Cítrico	420,1	2,9	0,5

REPRODUTIBILIDADE:

	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Amostra 1			
Frutose	151,1	3,5	1,8
Ácido Cítrico	364,7	4,0	0,9
Amostra 2			
Frutose	280,7	4,1	1,15
Ácido Cítrico	401,8	2,8	0,6

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
022	CVI	1 x 0,5 mL	20
	CONT	1 x 1,0 mL	
	BUF	1 x 10 mL	
	PIR	1 x 15 mL	
	AAC	1 x 50 mL	
	STD	1 x 2 mL	
	RGT	1 x 10 mL	
RAC	1 x 50 mL		
022-E	CVI	1 x 1,0 mL	40
	CONT	1 x 2,0 mL	
	BUF	1 x 20 mL	
	PIR	1 x 30 mL	
	AAC	1 x 100 mL	
	STD	1 x 4 mL	
	RGT	1 x 20 mL	
RAC	1 x 100 mL		

BIBLIOGRAFIA:

- WHO: Manual of basic techniques for a health laboratory.
- Cançado, J. Romeu; Greco, J. B; Galizzi, João; et al.: Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica, Sexta Edição, 1985. Ed. Guanabara.
- Piva, S. "Espermograma", Livraria Editora Santos, São Paulo, 1988.
- Janini J. B. M., Pereira O. S.. Atlas de Morfologia Espermática. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 2001.

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:

Telefone: (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br

N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda

Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053

Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401

e-mail: invitroms@invitro.com.br

Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463

Reg. M.S. 10303460313

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO



O conteúdo é suficiente para <n> testes



Data limite de utilização



Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Tóxico



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Inflamável



Corrosivo



Data de Fabricação