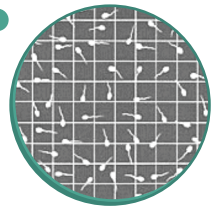
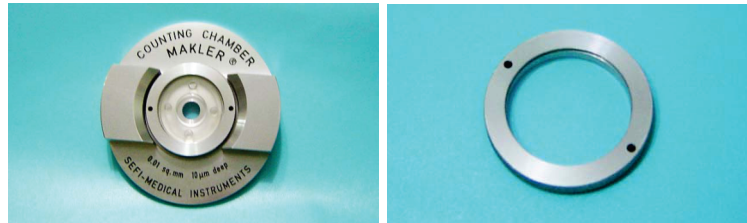


CÂMARA PARA CONTAGEM MAKLER

Marca: Sefi Medical



Específica para análise de sêmen, a câmara de Makler apresenta muitas vantagens em sua utilização, em comparação as demais opções existentes no mercado:

- Os espermatozoides são distribuídos uniformemente e em monocamadas e são observados em um plano focal;
- A diluição da amostra é desnecessária, mesmo com espécimes concentradas.
- Todos os espermatozoides adquirem a fricção livre, e são sempre analisados sob condições constantes;
- A precisão da análise é reforçada através da eliminação das várias etapas. Além disso, o fato de que a motilidade espermática é sempre examinada em condições idênticas, conseqüentemente, a precisão aumenta. Erros incorridos pela pressão descontrolada aplicada à lamínula são, portanto, evitados.

A profundidade de 10 microns da Câmara de Makler é ideal para fotomicrografia ou ainda câmera de cinema, uma vez que corresponde aproximadamente a profundidade de campo da objetiva utilizada na análise do sêmen.

Esta Câmara possui uma característica essencial ainda fotográfica de múltipla exposição (MEP) para a análise do sêmen, desenvolvido pelo Prof. A. Makler. Esta técnica permite a determinação objetiva da motilidade dos espermatozoides a partir de fotografias de espermatozoides vivos. Estas fotos são tiradas por uma câmera fotográfica com o auxílio de pulsos de luz, produzidas por um mecanismo estroboscópico.

A câmara acompanha uma lamínula, podendo ser adquirida separadamente.

Código	Descrição
KN00070	Câmara de Contagem Makler, com lamínula reticulada - Ref. 665020
KN00041	Câmara de Contagem Makler, com lamínula para microscópio invertido - Ref. 665030
KN00043	Câmara de Contagem Makler, com lamínula lisa - Ref. 665040
KN00039	Lamínula reticulada para câmara de contagem Makler - Ref. 665021
KN00060	Lamínula sem retículo para câmara de contagem Makler - Ref. 665022

INSTRUÇÕES DE USO

DESCRIÇÃO:

A câmara de contagem Makler é um dispositivo simples de usar e realiza uma contagem rápida e precisa de espermatozoides, avaliação da motilidade e morfologia a partir de amostras não diluídas.

A câmara é composta por duas partes (Fig. 1):

1. A parte principal inferior tem uma base de metal (A) e duas alças (H). No centro da base, há um disco plano (D) feito de vidro óptico no qual a amostra (S) é colocada. Ao redor do disco existem quatro pinos (P). Suas pontas estão 10 microns acima do nível da superfície do disco.

2. A parte superior é composta por uma lamínula de vidro (C) circundada por um anel de metal. No centro há uma grade (retículo) de 1 mm², subdividida em 100 quadrantes, cada um com 0,1x0,1mm. Quando a lamínula é colocada nas quatro pontas, o espaço delimitado em uma linha de 1 quadrante é exatamente um milionésimo de mL. Portanto, o número de espermatozoides em 10 quadrantes indica sua concentração em milhões/mL.

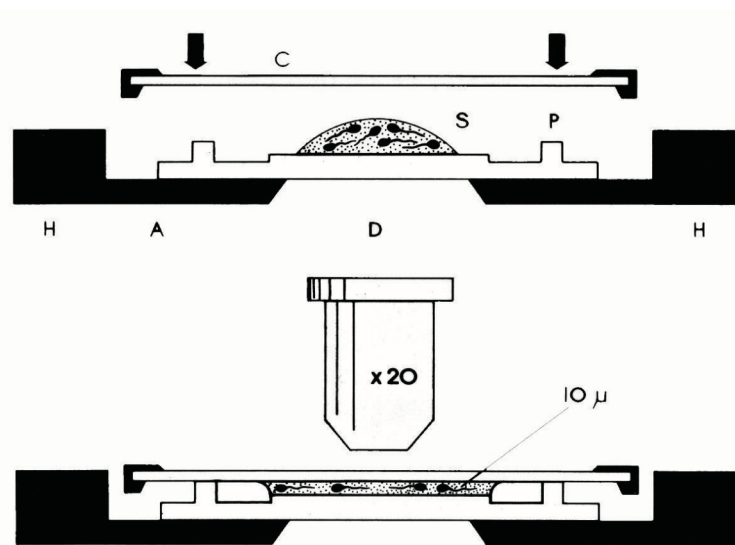


Figure 1.

ACESSÓRIOS:

1. Pincel para limpeza;
2. Lenço de papel para lentes;
3. Grade (retículo) da câmara - este dispositivo deve ser colocado na mesa do microscópio durante a análise do esperma. Ele se agarra a câmara firmemente e permite uma manipulação suave dela durante o procedimento.

Quando a análise de esperma estiver concluída, segure a alça e deslize a câmara para fora. Deslize a câmara novamente para uma nova análise de esperma.

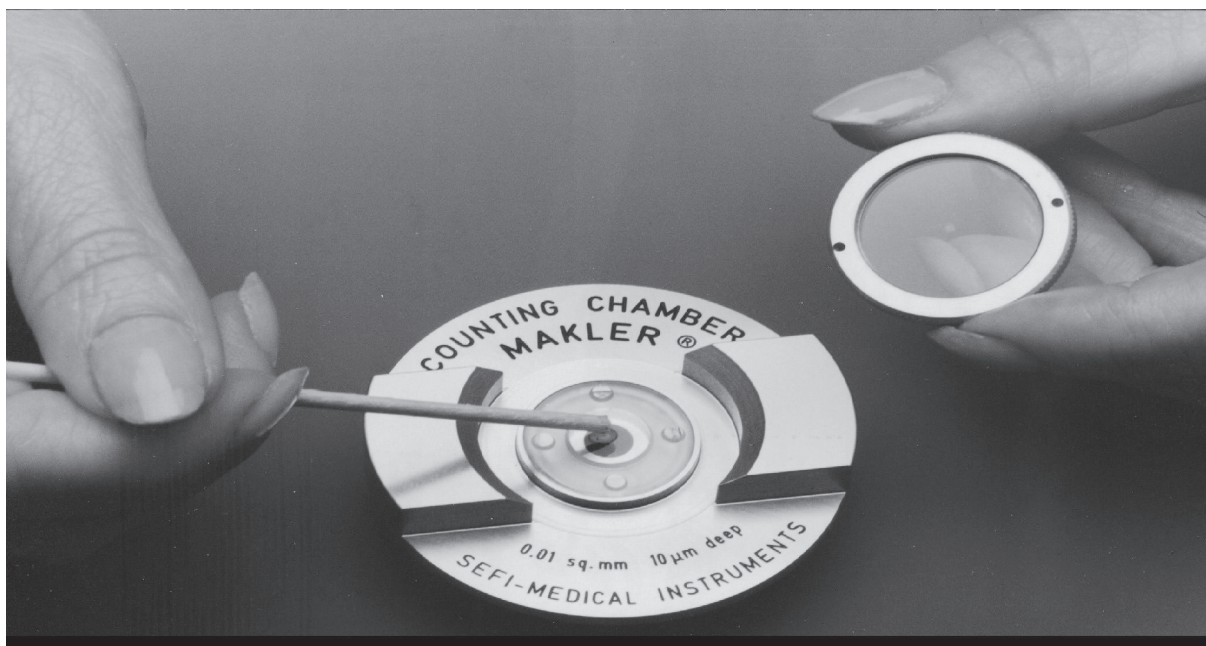
PREPARAÇÃO DA CÂMARA:

Antes de colocar a amostra no disco, verifique se as superfícies opostas estão absolutamente limpas e livres de poeira, visto que o tamanho da maioria das partículas é maior que o fino espaço entre as partes de vidro. Para isso, basta usar o lenço de papel para limpar ambas as superfícies.

Pode-se verificar se a limpeza foi realizada corretamente colocando a lamínula nos quatro pinos e procurando por feixes coloridos nos quatro pontos de contato (fenômeno de Newton). Pode ser visto melhor contra luz fluorescente.

MÉTODO DE REALIZAÇÃO DA ANÁLISE DE SÊMEN:

Misture bem a amostra, tomando cuidado para evitar a formação de bolhas. Com o auxílio de uma haste de madeira ou uma pipeta, coloque uma pequena gota no campo central da câmara (Fig. 2). Segure a lamínula com os dedos opostos aos pontos pretos e coloque-a imediatamente nos quatro pinos. Pressione suavemente, procurando, novamente, a aparência dos feixes coloridos. A gota se espalhará por toda a área do disco com uma espessura de até 10 microns.



Eventuais excessos de amostra não interferem na análise adequada, desde que os pinos não sejam inundados.

Uma vez encaixada no seu devido lugar, evite tocar na lamínula, removê-la e recolocá-la novamente, pois isso pode alterar a disseminação uniforme de espermatozoides dentro da Câmara.

Levante a câmara pelas alças e coloque-a na base do microscópio. Você pode usar garra da câmara para ajustá-la corretamente.

IMPORTANTE:

Nunca use uma objetiva de 40x com esta câmara, pois a lamínula pode ser danificada ao tentar focalizar. Mesmo utilizando uma objetiva de 20x (que é a mais adequada), é necessário ter cuidado para pressioná-la sobre a lamínula. A imagem terá uma visibilidade melhor se o pino da objetiva medir cerca de 1 mm acima da superfície. Não nos responsabilizamos por quaisquer danos causados a lamínula provenientes do uso impróprio do microscópio.

Recomenda-se o uso de uma objetiva de 20x e uma ocular de 10x nesta câmara. A objetiva de 10x não tem seu uso recomendado porque o esperma terá uma visualização muito pequena, a menos que se utilize uma ocular de 20x. A objetiva de 40x não pode ser utilizada devido a espessura da lamínula.

CONTAGEM DE ESPERMA:

Se o esperma estiver muito denso e vívido/brilhante, é necessário imobilizá-lo primeiro. Isso é feito facilmente transferindo-se uma parte da amostra para outro tubo de ensaio. O tubo de ensaio é, então, inserido em água quente – a uma temperatura entre 50°C e 60°C – por, aproximadamente, 5 minutos. Uma gota da amostra pré-aquecida e bem misturada é colocada na câmara e coberta com a lamínula. Os espermatozóides são contados dentro dos quadrantes da grade (retículo) da mesma que as células sanguíneas são contadas no hemacitômetro (Fig. 3).

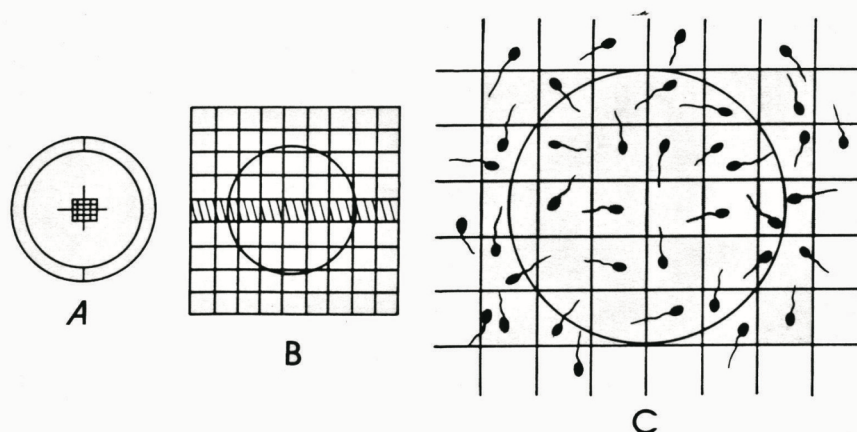
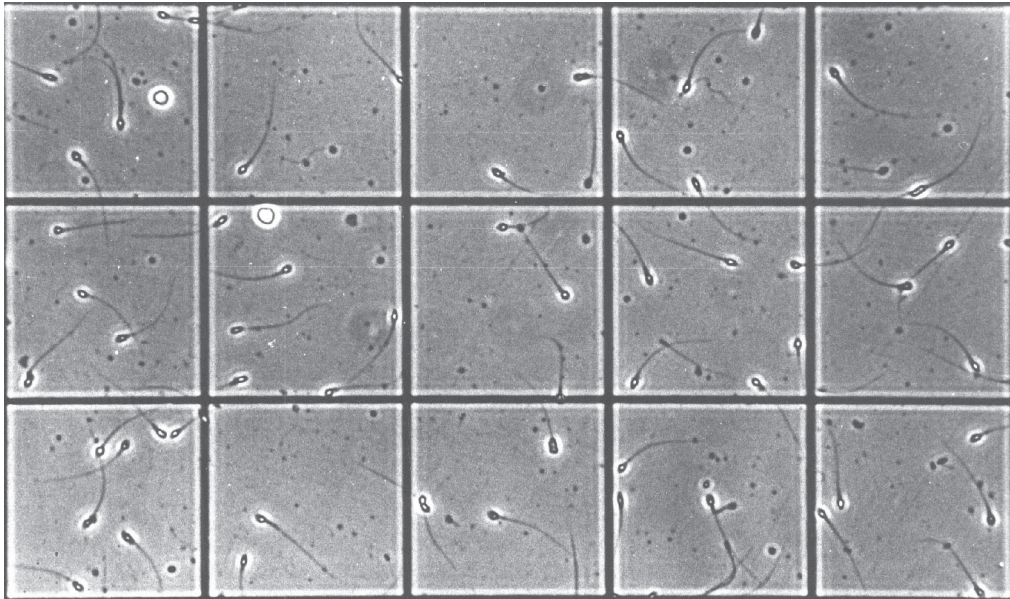


Figure 3.

Caso o número de espermatozóides seja substancial, faz-se necessário que a contagem ocorra em uma faixa de 10 quadrantes. Esse número representa sua concentração em milhões por mL. Repita essa contagem em mais uma ou duas faixas para determinar a taxa.

Alternativamente – ou opcionalmente - recomenda-se que a contagem seja feita com 2 ou 3 outras gotas da amostra para aumentar a confiabilidade da determinação da contagem. No caso de amostra de oligospermia, sugere-se a contagem de espermatozóides em toda a área da grade (retículo). Cinco zeros são, então, adicionados ao número contado e o resultado é a concentração em milhões por mL.



Após o espermatozoide ser colocado em foco, mova o base do microscópio e localize a grade (retículo) no centro da área de visualização. Então, ajuste a câmara até que os retículos apareçam na vertical e na horizontal.

Enquanto isso, é possível observar:

- a) Os espermatozoides espalharam-se uniformemente? Caso a resposta seja não, a amostra não foi bem misturada o suficiente.
- b) É possível visualizar todos os espermatozoides em um plano focal, sem embaçar? Caso a resposta seja não, talvez as superfícies não estejam limpas e partículas maiores tenham interferido entre as duas superfícies da Câmara.

Em ambos os casos repita este breve procedimento desde o começo.

AVALIAÇÃO DE MOTILIDADE:

Sugere-se realizar a avaliação da motilidade dentro de 3-5 minutos após a aplicação da amostra para evitar erros devido à tendência do esperma migrar para as extremidades.

Deve-se contar todos os espermatozoides não móveis entre 9 ou 16 quadrantes. Em seguida, conte os espermatozoides móveis na mesma área e estime o grau de motilidade de +1 a +4. Repita esse procedimento em outra área da grade (retículo), bem como de outras 3 a 4 gotas e calcule a taxa.

A estimativa é muito mais precisa do que a realizada a partir de lâminas comuns, onde os espermatozoides podem ser comprimidos pela lamínula, prejudicando seu movimento.

A Câmara de contagem fornece condições padrão para todas as amostras analisadas, onde os espermatozoides podem se mover livremente em um plano horizontal sem atrito.

MORFOLOGIA:

A avaliação rápida da morfologia dos espermatozoides pode ser realizada a partir de uma amostra úmida e sem manchas contendo espermatozoides imobilizados, utilizando-se, preferencialmente, um microscópio com contraste de fase.

Deve-se contar todos os espermatozoides normais e anormais em uma certa área do retículo e repetir o procedimento com outras amostras até atingir uma contagem total de 200.

Em casos de amostra de oligospermia, o número de espermatozoides examinados pode ser menor.

A câmara não é adequada para determinação da morfologia a partir de amostra seca manchada.

CASOS ESPECIAIS:

Bolhas: Se aparecerem bolhas na área da grade (retículo), é recomendável que a gota seja substituída por outra, a menos que as bolhas sejam pequenas demais para interferir na análise.

Grandes partículas, como fios de poeira, entre outros, também podem interferir na contagem, alterando a profundidade do espaço. Nesse caso, a gota deve ser substituída também.

As principais variações nas contagens entre gotas da mesma amostra ocorrem quando as amostras não foram bem misturadas, em casos de alta viscosidade ou quando a área da superfície da Câmara não estiver limpa (com partículas ou poeira).

Aglomerações: Às vezes, o esperma pré-aquecido se acumula na câmara se passar muito tempo até serem contados. Nesse caso, substitua a gota por uma nova amostra devidamente bem misturada.

Em alguns casos, aglomerações aglutinadas podem estar presentes na área e, nesse caso, a gota deve ser substituída.

Cristais: As amostras deixadas por um período prolongado podem conter cristais que podem não interferir na contagem, mas dificultam.

Algumas vezes, esse cristais podem ser muito grandes e danificar a área da superfície. Portanto, deve-se ter um cuidado especial quando amostras contendo cristais forem analisadas.

LIMPEZA E PREPARAÇÃO PARA REÚSO:

Não lave ou molhe a câmara em água corrente. Mergulhe o pincel na água ou na solução antisséptica não corrosiva e, simplesmente, passe nos dois lados do vidro. Em seguida, aperte o pincel para escorrer a água excedente. Por fim, segure a superfície com o lenço de papel, evitando – ao máximo – tocar nas pontas dos pinos.

A câmara está pronta para ser usada novamente. No geral, não há necessidade de alterar os focos, uma vez fixados para o exame. Simplesmente deslize a câmara para dentro ou para fora da alça da câmara sem elevar a objetiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Makler A. The Improved 10 mic. Chamber for rapid sperm count and motility evaluation.
Fertil Steril 33:337-338, 1980.
2. Ludwig G. and Frick J. (eds) Spermatology – Atlas and Manual, Springer-Verlog.
Berlin, Heidelberg. New York etc. 1990.
3. Annes M. Jequier: Male Infertility, a Guide for the Clinician. Blackwell Science Ltd.
Oxford U.K. 2000 p.9-58.
4. Makler A. Human Seminology. Chapter 7: 115-130,
In: Biotechnology of Human Reproduction,
Editors: A. Ravelli, I. Tur-Kaspa, JG Holte, M. Massobrio,
Parthenon Publishing Group, 2003.



Rua Lorenzo Ghiberti, 162
Jaguará - São Paulo - SP
CEP: 05329-010