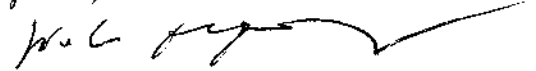


**COMPARAÇÃO ENTRE DUAS TÉCNICAS DE CAPACITAÇÃO
DE ESPERMATOZÓIDES PARA REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

*Este exemplar corresponde à versão
final da Dissertação de Mestrado apre-
sentada à Faculdade de Ciências Médicas da
UNICAMP, pelo médico Paulo Augusto Neves.
Campinas, 18 de setembro de 1991.*



*Prof. Dr. Nelson Rodrigues Netto Jr.
- Orientador -*

PAULO AUGUSTO NEVES

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Médicas - UNICAMP - para obtenção do
Título de Mestre em Cirurgia**

**COMPARAÇÃO ENTRE DUAS TÉCNICAS DE CAPACITAÇÃO
DE ESPERMATOZÓIDES PARA REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

PAULO AUGUSTO NEVES

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Médicas - UNICAMP - para obtenção do Título de
Mestre em Cirurgia**

Orientador : Nelson Rodrigues Netto Jr. 
**Professor Titular de Urologia do Departamento de
Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas UNICAMP**

Campinas, 1991



PÁGINA

ÍNDICE	3
- Agradecimentos	4
- Resumo - Summary	5
- Lista de Tabelas.....	6
1 - INTRODUÇÃO	7
2 - MATERIAL E MÉTODOS	8
3 - RESULTADOS	15
4 - DISCUSSÃO	19
5 - CONCLUSÕES	26
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
7 - ANEXO I: Doadores incluídos no estudo (aprovados)	37
8 - ANEXO II: Doadores Recusados :-alteração de motilidade	
e/ou concentração inicial	42
uma só coleta	46
falha técnica - erro laboratorial	47

AGRADECIMENTOS

Aos meus colegas do Laboratório de Genética da Reprodução Humana - CAISM - UNICAMP: Francisco A.T. Fazano, Mara Liza Burmeister, Mara A. Lucio e Fátima A.B. Luiz, por sua diligência e entusiasmo na realização dos exames.

Ao Dr. Luis Bahamondes, pelo auxílio na organização do Laboratório de Genética da Reprodução Humana - CAISM - UNICAMP.

Aos Drs. Neil Ferreira Novo e Yara Juliano, professores adjuntos da disciplina de bioestatística do Departamento de Medicina Preventiva da Escola Paulista de Medicina, pelo auxílio na análise estatística.

Ao Prof. Dr. Nelson Rodrigues Netto Jr., meu mestre, amigo e maior incentivador, meu profundo afeto e gratidão.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi o de comparar duas técnicas de capacitação - técnica de "swim-up" e técnica de Percoll, em uma população de pacientes candidatos à vasectomia. Quarenta indivíduos, com espermograma dentro da normalidade, forneceram duas amostras de sêmen para serem submetidas às técnicas de capacitação. Ambos os procedimentos foram igualmente eficazes em recuperar um número mínimo de 5 milhões de espermatozóides com motilidade A e B. A técnica de Percoll foi mais eficaz quanto à taxa de recuperação. Conclui-se que a técnica de Percoll é a que deve ser utilizada de rotina para esta população de pacientes.

SUMMARY

The objective of this study was to compare two techniques of capacitation - the "swim-up" and the Percoll procedures - in a group of patients that were going to be submitted to vasectomy. Two samples of semen obtained from forty patients were analysed for the capacitation techniques. Both procedures were equally adequate in the obtaining of 5 million of sperms with motility A and B. However, the Percoll technique was superior to the "swim-up" in terms of the percentage of recuperation of A and B spermatozoa. It is concluded that the Percoll technique must be used for this population due to its efficiency.

LISTA DE TABELAS:**PÁGINA**

TABELA I: Recuperação de pelo menos 5 milhões de espermatozóides A e B de acordo com a técnica de capacitação	16
TABELA II: Porcentagem de recuperação de espermatozóides A e B de acordo com a técnica de capacitação	17
GRÁFICO I: Porcentagem de recuperação das duas técnicas de capacitação	18

1 - INTRODUÇÃO

O advento das técnicas de fertilização assistida e manuseio de gametas possibilitou novas opções de tratamento de casais inférteis, outrora com poucas possibilidade de êxito. Dessa feita, indivíduos com oligoastenospermia severa puderam se beneficiar da inseminação intrauterina, intraperitoneal, transferência intratubárea de gametas (GIFT) ou mesmo fertilização "in vitro" (39,52).

Os espermatozóides, durante sua permanência no trato genital feminino, sofrem uma série de alterações bioquímicas e estruturais que coletivamente recebem o nome de "capacitação" (4,5,8,32,60). Estas modificações capacitam-os a fecundar os óvulos, e o laboratório tenta "in vitro" reproduzir este processo através das técnicas de beneficiamento (4,5,32).

As técnicas de capacitação basicamente envolvem a remoção do plasma seminal e adição de meio de cultura rico em nutrientes e cálcio (36). Até o momento, não existe nenhum consenso sobre qual técnica é a melhor ou qual é a mais indicada para uma determinada população de pacientes (19,24,58). O objetivo deste estudo é o de comparar duas técnicas amplamente difundidas - a técnica de "swim-up" (3,24,36,37) e a técnica de gradiente descontínuo de Percoll (40) - em um dado grupo de pacientes, para verificar:

1 - se ambas as técnicas são capazes de fornecer espermatozóides móveis em número adequado para serem utilizados em inseminação intra-uterina ou intraperitoneal, transferência intratubárea de gametas ou mesmo fertilização "in vitro" ; e

2 - vantagem de determinada técnica e, portanto, indicação preferencial em programas de inseminação intra-uterina ou fertilização "in vitro".

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Como população a ser estudada, elegeu-se os pacientes que procuraram o serviço de Urologia da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP - com o intuito de serem submetidos à vasectomia, no período de maio de 1990 a abril de 1991 (38). Estes pacientes enquadraram-se nos critérios de elegibilidade para esterilização cirúrgica, como a presença de pelo menos dois filhos, último filho com mais de um ano de vida e mais de 30 anos de idade (38). Os pacientes forneceram duas amostras de sêmen colhidas com intervalo de uma semana e com abstinência sexual de 3 a 5 dias. As amostras foram obtidas por masturbação em ambiente adequado e próximo ao laboratório e cada uma foi submetida às técnicas de capacitação propostas: técnica de "swim-up" (1ª coleta) e de gradiente descontínuo de Percoll (2ª coleta). As amostras foram analisadas de acordo com a orientação proposta pela Organização Mundial da Saúde (59). Os critérios de normalidade são: liquefação completa em até 1 hora, concentração igual ou superior a 20 milhões/ml, motilidade graus A e B igual ou superior a 50% (respectivamente motilidade linear progressiva rápida e lenta), vitalidade igual ou superior a 50% de formas vivas, 50% ou mais formas normais (morfologia), menos de 1 milhão de leucócitos/ml e ausência de aglutinação espontânea. Somente foram incluídos para estudo os pacientes que apresentaram as duas amostras com características de normalidade. Caso uma ou ambas as amostras apresentassem algum item anormal ou algum problema técnico laboratorial, o paciente era rejeitado e não era incluído no estudo.

Durante os 12 meses do período de coleta, oitenta indivíduos que haviam sido aceitos previamente para o programa de vasectomias concordaram em participar deste estudo. Destes, apenas 40 foram considerados aptos para a análise (50%), já que 40 foram recusados devido à coleta de uma só

amostra (7 ou 17,5%), 29 apresentaram em uma ou ambas as amostras alteração de concentração e/ou motilidade (72,5%) e em 4 ocorreram problemas laboratoriais que invalidaram a análise (10%). O Anexo I apresenta a tabela com todos os dados dos doadores aceitos e o Anexo II os dados dos doadores rejeitados.

Após a realização do espermograma e a amostra ter sido aceita, a mesma era submetida à técnica de "swim-up" (1ª coleta) ou à técnica de gradiente de Percoll (2ª coleta). O objetivo de ambas é a capacitação do sêmen e a obtenção de espermatozóides móveis e férteis em número suficiente para serem utilizados nos diferentes métodos de reprodução assistida: inseminação intra-uterina, intraperitoneal, transferência intratubárea de gametas (GIFT) ou fertilização "in vitro". Considerou-se como recuperação adequada a obtenção de pelo menos 5 milhões de espermatozóides das categorias de motilidade A e B (24).

Ambas as técnicas foram comparadas quanto à capacidade em obter pelo menos 5 milhões de espermatozóides de formas A e B, e a porcentagem de recuperação. Para este fim, determinou-se a relação de recuperação, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{relação (\%)} = \frac{\text{recuperação}}{\text{número inicial}} \times 100$$

sendo:

relação (%) = porcentagem de recuperação de espermatozóides A e B, recuperação = número total de espermatozóides A e B obtido pelas diferentes técnicas (concentração x % A e B) em 1 ml de meio de cultura, e número inicial = número total inicial de formas A e B (volume x concentração x % de formas A e B)

TÉCNICA DE "SWIM-UP"

O princípio desta técnica consiste em fazer com que os espermatozóides migrem em direção a um meio de cultura rico em nutrientes e cálcio, em ambiente com tensão de gás carbônico e temperatura controladas. Durante esta migração, os espermatozóides sofrem capacitação e tornam-se aptos à fertilização (3,24,36,37,43).

Após a realização do espermograma, o sêmen é misturado com igual volume de meio de cultura Ham's F10 (cujo pH é 7,4 e a osmolaridade 280 mOsm) e com 5% de albumina humana. Essa mistura é a seguir centrifugada a 300 g por 10 minutos. O sobrenadante assim obtido é descartado e o botão formado pelos espermatozóides é ressuspenso com 5 ml do mesmo meio de cultura para nova lavagem e centrifugação. A seguir, adiciona-se cuidadosamente sobre o botão de espermatozóides 1 ml do meio de cultura, colocando-se o tubo em estufa de CO₂ a 5% e a 37°C. para que ocorra migração dos espermatozóides móveis do botão para o meio. Após 60 minutos, o sobrenadante é recolhido e analisado quanto à presença e qualidade dos espermatozóides recuperados (concentração e motilidade). Todo o procedimento consome em média 120 minutos. O sobrenadante com os espermatozóides é utilizado para inseminação ou para qualquer outra técnica de reprodução assistida.

TÉCNICA DE GRADIENTE DESCONTÍNUO DE PERCOLL

A técnica de Percoll baseia-se no princípio de fazer com que os espermatozóides percorram um gradiente descontínuo através da força centrífuga, de modo que os espermatozóides móveis atinjam uma determinada

densidade, possibilitando sua separação. Durante esta migração, os espermatozóides são capacitados e preparados para a fertilização (36,40,53).

Para a realização da técnica, inicialmente preparam-se as diversas diluições de Percoll. A solução de Percoll a 100% é preparada adicionando-se 6 ml de meio de cultura Ham's F10 concentrado 10 vezes com 75 ml de Percoll. O pH da solução é acertado para 7,35 com solução estéril de bicarbonato de sódio a 7,5% e a osmolaridade ajustada para 278 mOsm.

Preparo do meio Ham's F 10:

1 pacote de Ham's F10 (9,81 g) + 30 ml de água destilada

15 ml de solução estreptomicina/penicilina (30.000 UI de cada
antibiótico)

308 mg de lactato de cálcio em 10 ml de água destilada

Completar o volume para 1000 ml com água destilada

Acertar o pH para 7,35 com solução de HCl 1,0 N/NaOH 1,0 N

Acertar a osmolaridade para 280 mOsm

Preparo do meio Ham's F10 concentrado 10 vezes:

1 pacote de Ham's F10 (9,81 g) + 30 ml de água destilada

15 ml de solução de estreptomicina/penicilina (30.000 UI de
cada antibiótico)

308 mg de lactato de cálcio em 10 ml de água destilada

Completar o volume para 100 ml com água destilada

O meio Ham's F10 normal e o concentrado 10 vezes são filtrados em membrana esterilizante de 0,22 micra^{*}.

^{*} Millex^(R), Millipore, Brasil.

Preparo dos gradientes de Percoll:

	Ham's F10	Percoll 100%
GRADIENTE 90%	1,0 ml	9,0 ml
GRADIENTE 65%	3,5 ml	6,5 ml
GRADIENTE 35%	6,5 ml	3,5 ml

Para a realização da técnica, coloca-se em um tubo de centrífuga 1,5 ml de solução a 90%, 1,5 ml de solução a 65% e 1,5 ml do gradiente a 35% nesta ordem. Uma vez montada a coluna, após a análise do sêmen o mesmo é colocado sobre a coluna, sobre o gradiente de menor densidade (35%), e o tubo é centrifugado por 15 minutos a 300g. Após a centrifugação, retira-se cuidadosamente com pipeta o sêmen restante e as duas primeiras camadas de Percoll (diluuição de 35% e 65%). O gradiente restante (90%) contém os espermatozoides capacitados. Para recuperação dos mesmos, adiciona-se 5 ml de meio de cultura Ham's F10 à diluição restante, submetendo-se a mistura a nova centrifugação a 300g por 15 minutos. O sobrenadante é desprezado e o botão formado é ressuspenso com 1 ml de meio Ham's F10. Retira-se uma alíquota para análise da concentração e motilidade dos espermatozoides recuperados e o restante é utilizado para inseminação ou outra técnica de reprodução assistida. Todo o procedimento consome em média 60 minutos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos resultados foram aplicados testes não paramétricos, levando-se em consideração a natureza da distribuição da variável estudada. Foram utilizados os seguintes testes:

1. Teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes (49) com o objetivo de comparar as técnicas de "swim-up" e gradiente de Percoll em relação à porcentagem de recuperação de espermatozóides A e B. Em razão do tamanho da amostra, este teste foi aplicado com aproximação à curva normal.
2. Teste exato de Fisher para tabelas 2x2 (49), quando comparou-se as duas técnicas em relação à recuperação de menos de 5 milhões ou de 5 ou mais milhões de espermatozóides A e B.

Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% (alfa menor ou igual a 0,05) o nível para a rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com um asterisco os valores significantes.

3 - RESULTADOS

O Anexo I apresenta as tabelas com todos os dados referentes aos 40 pacientes considerados. A análise dos 40 casos estudados revelou:

1). Em relação à obtenção de pelo menos 5 milhões de espermatozóides A e B, houve recuperação em 37/40 amostras submetidas a "swim-up" (92,5%) e em 40/40 casos submetidos à coluna de gradiente de Percoll (100%) (Tabela 1). De acordo com o teste exato de Fisher, com o tamanho da amostra estudada não foi possível rejeitar a hipótese de igualdade entre as recuperações observadas nas duas técnicas. Ambas foram igualmente eficazes em recuperar pelo menos 5 milhões de espermatozóides A e B.

2). Em relação à porcentagem de recuperação final de espermatozóides móveis (relação %), a técnica de Percoll foi igual ou superior à técnica de "swim-up" em 32/40 ocasiões (80%) e inferior em 8/40 casos (20%) (Tabela 2). A técnica de "swim-up" recuperou em média 18,0% dos espermatozóides A e B presentes na amostra, enquanto a técnica de Percoll recuperou em média 34,1%. O gráfico I apresenta a comparação das duas técnicas em relação à porcentagem de recuperação. De acordo com a análise estatística através do teste de Mann-Whitney, a porcentagem de recuperação pela técnica de Percoll foi significativamente maior do que a porcentagem observada com a técnica de "swim-up".

TABELA 1: Recuperação de pelo menos 5 milhões de espermatozóides A e B de acordo com a técnica de capacitação

técnica	recuperação				total	
	< 5 milhões		> 5 milhões			
	N	%	N	%	N	%
"swim-up"	3	7,5	37	92,5	40	100
Percoll	0	0,0	40	100,0	40	100
TOTAL	3	3,8	77	96,2	80	

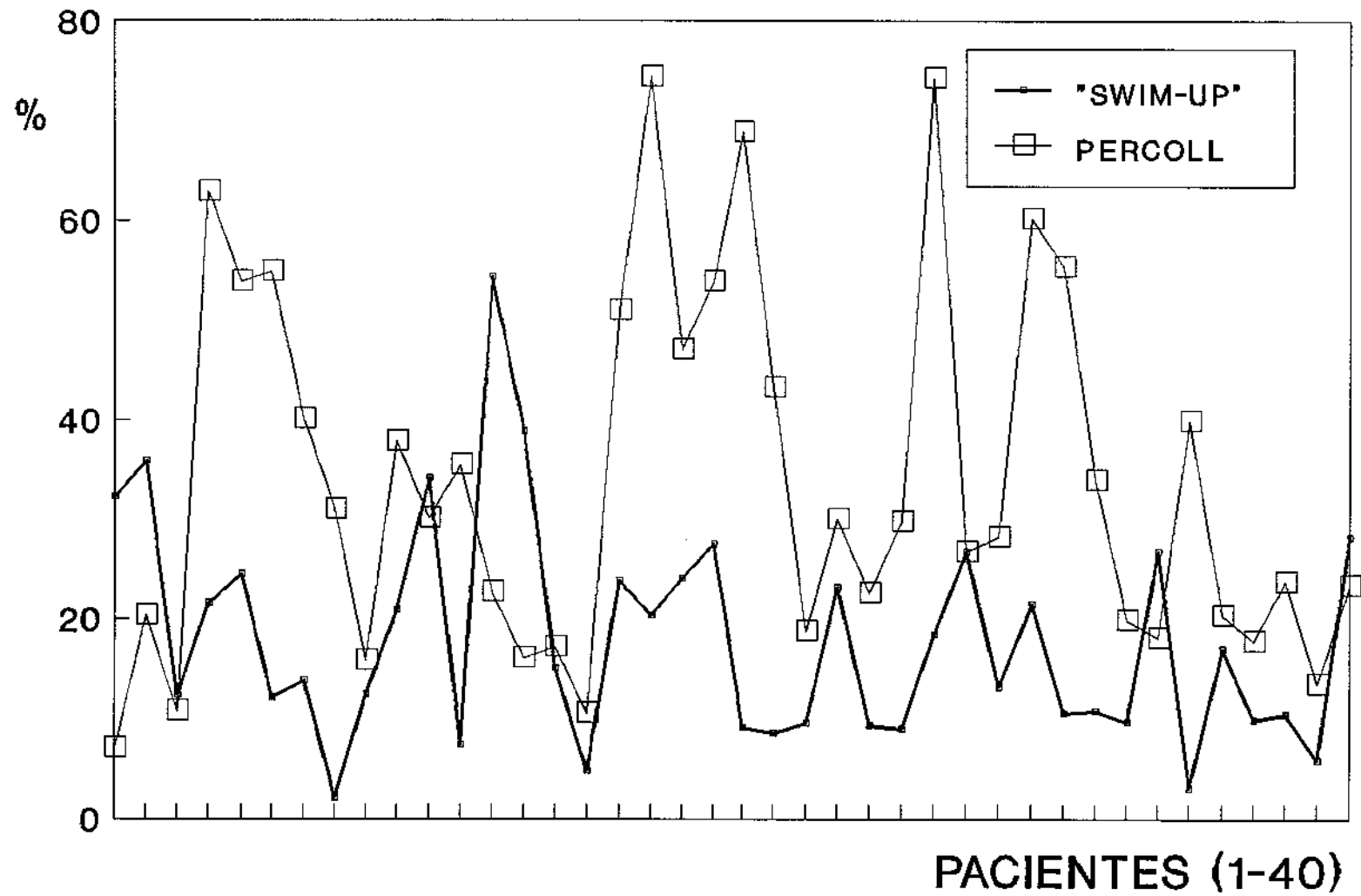
TESTE EXATO DE FISHER

P = 0,1203 OU 12,03%

TABELA 2: Porcentagem de recuperação de espermatozóides A e B de acordo com a técnica de capacitação

PACIENTE	TÉCNICA DE CAPACITAÇÃO	
	percentagem de recuperação	
	"SWIM-UP"	PERCOLL
1	32,3	7,1
2	35,9	20,4
3	12,4	10,8
4	21,6	63,0
5	24,5	54,0
6	12,1	55,0
7	13,8	40,1
8	2,1	31,0
9	12,5	15,9
10	20,9	37,9
11	34,2	30,1
12	7,4	35,5
13	54,4	22,7
14	38,9	16,1
15	15,1	17,2
16	4,8	10,6
17	23,8	51,0
18	20,3	74,4
19	24,1	47,1
20	27,5	53,9
21	9,1	68,9
22	8,6	43,3
23	9,6	18,8
24	23,2	30,0
25	9,3	22,6
26	9,0	29,8
27	18,4	74,3
28	26,8	26,8
29	13,2	28,2
30	21,5	60,3
31	10,6	55,4
32	10,8	34,0
33	9,7	19,9
34	26,8	18,1
35	3,0	39,9
36	17,0	20,4
37	9,9	17,8
38	10,4	23,7
39	5,9	13,5
40	28,2	23,4
MÉDIA	18,0	34,1
TESTE DE MANN-WHITNEY COM APROXIMAÇÃO A CURVA NORMAL:		
Z CALCULADO = 4,17*		
Z CRÍTICO = 1,96		

GRAFICO I
PORCENTAGEM DE RECUPERACAO



4 - DISCUSSÃO

Nos últimos 20 anos, a comunidade científica viveu uma grande revolução no campo da infertilidade com o surgimento das técnicas de reprodução assistida e manuseio de gametas. O urologista passou a dispor em seu arsenal terapêutico de técnicas laboratoriais de beneficiamento do sêmen, que se somaram ao tratamento clínico e cirúrgico tradicionais da infertilidade masculina. A introdução destas técnicas propiciou o tratamento de casais inférteis outrora sem perspectivas de procriação, mas, por outro lado, gerou a necessidade do médico dominar o emprego destas técnicas em seus pacientes oligoastenozoospermicos. A magnitude da evolução técnico-científica experimentada nesse período pode ser percebida pelo número de técnicas que foram descritas para capacitar o espermatozóide e torná-lo apto a interagir com o gameta feminino (24,42,58).

ESCOLHA DA TÉCNICA

Este estudo foi proposto com o intuito de analisar um dos inúmeros aspectos do tratamento laboratorial da infertilidade masculina, ou seja, o uso de técnicas de beneficiamento ou capacitação. É sabido que para os espermatozóides tornarem-se aptos a fertilizar óvulos (12,46), é preciso que eles sofram uma série de modificações bioquímicas e estruturais no organismo feminino, que coletivamente recebem o nome de capacitação (4,5,8,27,57). Estas técnicas procuram reproduzir "in vitro" o processo e, basicamente, envolvem a remoção do plasma seminal e a adição de meio de cultura rico em nutrientes e cálcio, íon este

fundamental para o processo (27). Inúmeras técnicas foram propostas, desde uma simples lavagem e centrifugação (42), até o uso de técnicas de migração, como o "swim-up" (3,28,36,37,43,55), ou filtração em colunas de gradiente de albumina (26), de Percoll (40,53), Ficol (42), lã de vidro (41) ou Sephadex (50), coletivamente conhecidas como "swim-down". Estes procedimentos objetivam em comum a obtenção de espermatozóides móveis e férteis (capacitados) para serem utilizados nas técnicas de reprodução assistida, desde as mais simples, como inseminação intra-uterina (2,6,7,11,18,31,35) ou intraperitoneal (10,29,44), até as mais complexas, como "GIFT" ("gamete intrafallopian transfer") (56) ou fertilização "in vitro" (1,20). Na técnica de "swim-up", os espermatozóides migram em direção ao meio de cultura, enquanto que nas técnicas de "swim-down" os espermatozóides são forçados pela força centrífuga a atravessar gradientes de concentração distintos de substâncias diversas.

Estas técnicas também são utilizadas para separar espermatozóides móveis da urina de pacientes com ejaculação retrógrada e permitir posterior inseminação intra-uterina, GIFT ou FIV (48,54,56).

Cada um desses procedimentos apresenta inúmeras variantes e sua comparação é bastante difícil. São utilizados diferentes meios de cultura, relação sêmen/meio diversa e tempos de incubação distintos. Para o urologista, importa conhecê-los, saber indicá-los e eleger o mais simples e que não necessite de equipamento sofisticado para sua realização, como, por exemplo, estufa de tensão controlada de gás carbônico.

Ainda, alguns aspectos básicos são comuns a todas as técnicas de beneficiamento:

- a) devem ser capazes de fornecer no mínimo 5 milhões de espermatozóides móveis capacitados, número este considerado mínimo para o uso em inseminação intra-uterina (39). Alguns estudos citam o uso de 1 a 3 milhões em inseminação intra-uterina, com 14% de gestação obtidos ao longo de 6 ciclos (52). Outros apontam como valor mínimo o de 5 milhões, devendo-se ter em conta para a escolha da técnica a melhoria da qualidade do sêmen obtido versus o número total perdido, em geral ao redor de 90% (39). O valor de 5 milhões é considerado limítrofe para a indicação de inseminação intra-uterina em alguns centros de fertilização assistida. Caso este número seja inferior, indicam fertilização "in vitro" (24). O número de espermatozóides recuperados também é fator prognóstico nos casos de FIV. Quanto maior o número, maior a chance de fertilização (15). A fecundidade por ciclo nos esquemas de inseminação intra-uterina parece ser dependente de um número mínimo de espermatozóides móveis inseminados. Não se observa gravidez quando se utiliza menos de 1 milhão, havendo melhores resultados quando este número é superior a 5 milhões (14). Para as técnicas mais refinadas como GIFT e FIV, este número reduz-se significativamente, além de necessitar laboratório especializado e equipe multidisciplinar para sua utilização em casos de infertilidade masculina grave;
- b) Não existe consenso sobre qual técnica é a mais simples ou qual é a mais indicada para uma situação clínica particular. Talvez a melhor técnica seja aquela que o médico esteja mais habituado e, portanto, que melhor domine. Comparando-se aleatoriamente as técnicas de "swim-up" e gradiente descontínuo de Percoll em um programa de inseminação intra-uterina, não se observou diferença de fecundidade por ciclo (45). Já a técnica de Percoll pareceu ser especialmente útil nos casos de oligoastenospemia severa (40).

Assim, para a realização deste trabalho, escolheu-se para comparação as técnicas de "swim-up" e a de gradiente descontínuo de Percoll, pelos seguintes motivos:

- a) a técnica de "swim-up" é extensamente discutida na literatura, apresenta inúmeras variantes e é a de maior aceitação e objeto de estudo (9,11,25,51);
- b) a técnica de Percoll é extremamente simples de ser realizada (40,53), pois não necessita de equipamento sofisticado, como por exemplo estufa de gás carbônico controlado, e pode ser utilizada em consultório, bastando ter a mão os gradientes previamente preparados e uma centrífuga simples (17,30,47); alguns estudos apontam esta técnica como especialmente útil para casos de oligoastenozoospermia severa, quando o "swim-up" não apresenta sucesso (23); da mesma forma, seu tempo de execução é bastante inferior ao do "swim-up" (24), fato este verificado neste estudo (60 minutos ao invés de 120 minutos, tempo necessário para realização do "swim-up");
- c) caso nesta comparação a técnica de Percoll fosse igual ou superior a de "swim-up", ela poderia ser indicada rotineiramente para inseminação intra-uterina em casos de oligoastenospermia não responsíveis aos métodos tradicionais de tratamento. A inseminação intra-uterina tem sua principal indicação o tratamento dos casos de infertilidade idiopática e masculina (13,14), não leva à imunização da parceira (33,34) e apresenta como variante a inseminação intraperitoneal (22). Apesar destes conceitos, ainda apresenta resultados controversos, não havendo consenso quanto a sua utilização (21,31).

POPULAÇÃO A SER ESTUDADA

Basicamente as técnicas laboratoriais de tratamento de casais inférteis destinam-se a casos de oligoastenozoospermia severa, esterilidade sem causa aparente ou fator feminino definido. É necessário estabelecer uma população alvo a ser estudada, para que a comparação das duas técnicas seja fidedigna e utilize dados superponíveis. Assim, escolheu-se a população de pacientes que procuraram o serviço de Urologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP para vasectomia, por tratar-se de população homogênea, que preenchia critérios comuns como a presença de pelo menos 2 filhos, último filho com 1 ou mais anos de vida e mais de 30 anos de idade (38). Apesar desta aparente homogeneidade, surpreende o fato de quase 40% dos pacientes estudados apresentarem análises seminais fora dos parâmetros da normalidade propostos pela Organização Mundial da Saúde (59). Observou-se valores de motilidade e/ou concentração de espermatozóides abaixo da normalidade em 36,3% dos pacientes estudados (29 casos) em uma ou em ambas as amostras de sêmen (anexo II). Na população incluída no estudo, a concentração de espermatozóides variou de 21 a 384 milhões/ml, com média de 101,1 milhões/ml e a porcentagem de formas com motilidade A e B variou de 50 a 80%, em média 63,3%. O número total de formas A e B inicial variou de 17,9 a 539,6 milhões, em média 178,3 milhões (anexo I). Assim, restringindo-se a coleta de dados aos pacientes que se enquadraram nos critérios de normalidade, foi possível obter uma população de amostras uniformes para serem submetidas às duas técnicas de capacitação e que continham espermatozóides A e B em número teoricamente suficiente para serem capacitados. O ideal teria sido utilizar pacientes inférteis, e esta situação será objeto de estudo posterior, quando

além dos resultados da técnica aplicada, estudar-se-ão os resultados referentes a taxa de fertilização e de gestação a termo. Neste momento, pareceu-nos importante restringir o estudo à definição de uma técnica que fosse aplicável à rotina diária do urologista.

RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados obtidos com ambas as técnicas estão de acordo com os dados de literatura (2,3,40). Houve recuperação de pelo menos 5 milhões de espermatozóides A e B em 80% dos casos de "swim-up" e em 100% dos casos submetidos à coluna de Percoll. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as técnicas.

Quanto à porcentagem de recuperação, verificou-se a superioridade da técnica de Percoll (34,1%) em relação a de "swim-up" (18,0%). Este fato tem bastante importância ao se utilizar um processo de beneficiamento em amostras oligoastenozoospermicas, já que a de maior eficácia terá maior chance de recuperar o maior número possível de espermatozóides móveis e férteis. Os melhores índices obtidos com a técnica de Percoll, aliados à sua simplicidade (menor tempo de execução e não necessidade de equipamento especializado, como estufa de tensão controlada de gás carbônico), oferecem maior credencial na escolha para o tratamento do fator masculino em relação à técnica de "swim-up".

Alguns estudos na literatura já citaram o uso das duas técnicas em diferentes situações clínicas em uma população de pacientes inférteis: para inseminação intraperitoneal, utilizou-se "swim-up" quando o sêmen apresentava viscosidade normal e a técnica de Percoll quando este era muito

viscoso ou com oligoastenospermia severa (10); para amostras oligoastenozoospérmicas, a técnica de Percoll tem sido preferida (40).

PERSPECTIVAS FUTURAS

Uma vez estabelecido que a técnica de Percoll é mais eficiente quanto à porcentagem de recuperação de formas móveis, a mesma deverá ser utilizada em uma série de pacientes oligoastenozoospérmicos para verificar sua eficácia quanto aos índices de gestação obtidos através de, por exemplo, inseminação intra-uterina ou FIV.

5 - CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo permitiram concluir:

1. A técnica de Percoll e a técnica de "swim-up" são igualmente capazes de recuperar pelo menos 5 milhões de espermatozóides móveis na população estudada;
2. A técnica de Percoll é estatisticamente superior à técnica de "swim-up" em relação à porcentagem de recuperação de formas móveis. Assim, pode-se inferir a maior possibilidade de escolha da técnica de Percoll em programas de, por exemplo, inseminação intra-uterina ou fertilização "in vitro".

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- 01 - Acosta,A.A., Chillik, C.F., Brugo, S., Ackerman, S., Swanson, R.J., Pleban,P., Yuan, J., Haque, D.: In vitro fertilization and the male factor. Urology, 28:1, 1986.

- 02 - Allen, N.C., Herbert, C.M., Maxon, W.S., Rogers, B.J., Diamond, M.P., Wentz, A.C.: Intrauterine insemination: a critical review. Fertil. Steril., 44:569, 1985.

- 03 - Arny, M., Quagliarello, J.: Semen quality before and after processing by a swim-up method: relationship to outcome of intrauterine insemination. Fertil. Steril., 48:643, 1987.

- 04 - Austin, C.R. The "capacitation" of the mamalian sperm. Nature, 170:326, 1952.

- 05 - Austin, C.R. Fertilization. In: Austin, C.R., and Short, R.V. (eds). Reproduction in mamals. Book 1. Germ cells and fertilization. London, Cambridge University Press, 1972, p. 103.

- 06 - Barwin, B.N.: Intrauterine insemination of husband's semen. J. Reprod. Fertil., 36:101, 1974.

- 07 - Byrd, W., Ackerman, G.E., Carr, B., Eldman, C.D.: Treatment of refractory infertility by transcervical intrauterine insemination of washed spermatozoa. Fertil. Steril., 48:921, 1987.

- 08 - Clegg, E.D. Mechanisms of mammalian sperm capacitation. In: Hartman, J.F.(ed). Mechanism and Control of Animal Fertilization. New York, Academic Press, 1983, p. 177.
- 09 - Comfino, E., Friberg, J., Dudkiewicz, A.B., Gleicher, N. Intrauterine inseminations with washed human spermatozoa. Fertil.Steril., 46:55, 1986.
- 10 - Crosignani, P.G., Ragni, G., Finzi, G.C.L., De Lauretis, L., Olivares, M.D., Perotti, L.: Intraperitoneal insemination in the treatment of male and unexplained infertility. Fertil. Steril., 55:333, 1991.
- 11 - Cruz, R.I., Kemman, E., Brandeis, V.T., Becker, K.A., Beck, M., Beardsley, L., Shelden, R.: A prospective study of intrauterine insemination of processed sperm from men with oligoasthenospermia in superovulated women. Fertil. Steril., 46:673, 1986.
- 12 - De Jorge, C.J., Rawlins, R.G., Zaneveld, C.: Induction of the human sperm acrosome reaction by human oocytes. Fertil.Steril., 50:949, 1988.
- 13 - Deaton, J.L., Gibson, M., Blackmer, K.M., Nakajima, S.T., Badger, G.J., Brumsted, J.R.: A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained infertility or surgically corrected endometriosis. Fertil. Steril., 54:1083, 1990.

- 14 - Dodson, W.C., Haney, A.F.: Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. Fertil. Steril., 55:457, 1991.
- 15 - Fisch, B., Kaplan-Kraicer, R., Amit, S., Zukerman, Z., Ovadia, J., Tadir, Y.: The relationship between sperm parameters and fertilizing capacity in vitro: a predictive role for swim-up migration. J.in_vitro Fert. Embryo Transfer, 7:38, 1990.
- 16 - Forster, M.S., Smith, W.D., Lee, W.I., Berger, R.E., Karp, L.E., Stenchever, W.A. Selection of human spermatozoa according to their relative motility and their interaction with zona-free hamster eggs. Fertil. Steril., 40:655, 1983.
- 17 - Francavilla, F., Romano, R., Santucci, R., Poccia, G.: Effect of sperm morphology and motile sperm count on outcome of intrauterine insemination in oligozoospermia and/or asthenozoospermia. Fertil. Steril., 53:892, 1990.
- 18 - Franco Jr., J.G., Tognotti, E., Cornicelli, J., Azoubel, R., Mauri, A.L., Baruffi, R., Cavenha Neto, M., Miranda, D.S.A., Abrantes, A.S.: Inseminação tubárea indireta com alto volume de esperma humano capacitado. Reprodução, 4:88, 1989.
- 19 - Gould, J.E., Overstreet, J.W., Hanson, F.W. Assessment of human sperm function after recovery from the female reproductive tract. Biol. Reprod., 31:888, 1981.

- 20 - Hirsch, I., Gibbons, W.E., Lipshultz, L.I., Rossavick, K.K., Young, R.L., Poindexter, A.N., Dodson, M.G., Findley, W.E. In vitro fertilization in couples with male factor infertility. Fertil. Steril., 45:659, 1986.
- 21 - Hoing, L.M., Devroy, P., van Steirteghen, A.C.: Treatment of infertility because of oligoasthenospermia by transcervical intrauterine insemination of motile spermatozoa. Fertil. Steril., 45:388, 1986.
- 22 - Hovatta, O., Kurunmaki, H., Tiitinen, A., Lahteenmaki, P., Koskimies, A.I.: Direct intraperitoneal or intrauterine insemination and superovulation in infertility treatment: a randomized study. Fertil. Steril., 54:339, 1990.
- 23 - Iizuka, R., Kaneks, S., Kobanawa, K., Kobayashi, T.: Washing and concentration of human semen by Percoll density gradients and its application to AIH. Arch. Androl., 20:117, 1988.
- 24 - Irianni, F., Acosta, A.A., Oehninger, S., Acosta, M.R.: Evaluation and preparation of spermatozoa for intrauterine insemination. In: Acosta, A.A., Swanson, R.J., Ackerman, S.B., Kruger, T.F., van Zyl, J.A., Menkveld, R.(eds): Human spermatozoa in Assisted Reproduction. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990, p. 265.
- 25 - Kerin, J.F.P., Peek, J., Warnes, G.M., Kirby, C., Jeffrey, R., Mathews, C.D., Cox, L.W.: Improved conception rate after intrauterine insemination of washed spermatozoa from men with poor quality semen. Lancet, 1:533, 1984.

- 26 - Koper, A., Evans, P.R., Witherow, R., Flynn, J.T., Bayliss, M., Blandy, J.P.: A technique for selecting and concentrating the motile sperm from semen in oligozoospermia. Br. J. Urol., 51:587, 1979.
- 27 - Lambert, H., Overstreet, J.W., Morales, P., Hanson, F.W., Yanagimachi, R.: Sperm capacitation in the human female reproductive tract. Fertil. Steril., 43:325, 1985.
- 28 - Leong, J., Haddad, Y., Osborn, R.A.: An improved method for preparation of semen for artificial insemination by husband. Med. J. Aust., 2:274, 1982.
- 29 - Livi, C., Coccia, E., Versani, L., Pratesi, S., Buzzoni, P.: Does intraperitoneal insemination in the absence of prior sensitization carry with it a risk of subsequent immunity to sperm? Fertil. Steril., 53:137, 1990.
- 30 - Martinez, A.R., Bernardes, R.E., Voorhorst, F.J., Vermeiden, J.P.W., Schoemaker, J.: Intrauterine insemination does and clomiphene citrate does not improve fecundity in couples with infertility due to male or idiopathic factors: a prospective, randomized, controlled study. Fertil. Steril., 53:847, 1990.
- 31 - Moghissi, K.S.: Some reflections on intrauterine insemination. Fertil. Steril., 46:13, 1986.
- 32 - Monesi, V.: Spermatogenesis and the spermatozoa. In: Austin, C.R., and Short, R.V.(eds). Reproduction in Mammals. Book 1. Germ Cells and Fertilization. London, Cambridge University Press, 1972, p.46.

- 33 - Monroe, J.R., Altembern, D.C., Mathur, S.: Changes in sperm antibody test when spermatozoa are subjected to capaciting conditions. Fertil. Steril., 54:1114, 1990.
- 34 - Moretti-Rojas, I., Rojas, F.J., Leisure, M., Stone, S.G., Asch, R.H.: Intrauterine inseminations with washed human spermatozoa does not induce formation of antisperm antibodies. Fertil. Steril., 53:180, 1990.
- 35 - Nachtigall, R.D., Faure, N., Glass, R.H.: Artificial insemination of husband's sperm. Fertil. Steril., 32:141, 1979.
- 36 - Neves, P.A.: O papel do laboratório no tratamento da infertilidade masculina. J.Bras.Urol., 15:153, 1989.
- 37 - Neves, P.A., Luiz, F.A.B., Fazano, F.A.T., Lucio, M.A., Burmeister, M.L.M.B., Rodrigues Netto Jr., N.: Relação entre os parâmetros do espermograma e a recuperação de espermatozóides pela técnica de "swim-up". J.Bras.Urol., 16:33, 1990.
- 38 - Neves, P.A., Santos, J.K., Palma, P.C.R., Correa Filho, A.M.D., Rodrigues Netto Jr., N.: Análise do programa de vasectomias em uma instituição universitária. J.Bras.Urol., 16:146, 1990.

- 39 - Overstreet, J.W.: Sperm processing and artificial insemination. **In:** Twenty-third Annual Postgraduate Course - Basic and clinical aspects of male infertility, Washington D.C., American Fertility Society, 1990, p.276.
- 40 - Pardo, M., Barri, P.N., Bancells, N., Coroleu, B., Bruxaderas, C., Pomerol Jr., J.M., Sabater, J.: Spermatozoa selection in discontinuous Percoll gradients for use in artificial insemination. Fertil. Steril., 49:505, 1988.
- 41 - Paulson, J.D., Polakoski, K., Leto, S.: Further characterization of glass wool column filtration of human semen. Fertil. Steril., 32:125, 1979.
- 42 - Paulson, J.D., Karson, E.: Sperm manipulation for use in artificial insemination. **In:** Paulson, J.D., Negro-Vilar, A., Lucena, E., Martini, L. (eds). Andrology: Male Fertility and Sterility. London, Academic Press, 1986, p. 475.
- 43 - Paz, G.F., Kogonowski, A., Yogev, L., Homonnai, Z.T.: The use of laboratory techniques in improvement of sperm quality. **In:** Paulson, J.D., Negro-Vilar, A., Lucena, E., Martini, L.(eds). Andrology: Male Fertility and Sterility. London, Academic Press, 1986, p. 377.
- 44 - Ragni, G., Lambrosi, G.C., De Lauretis, L., Olivares, M.D., Wyssling, H., Cavioni, V., Cristiani, C., Crosignani, P.G.: Direct intraperitoneal insemination combined with superovulation in severe male infertility. Abstracts, 45th Annual Meeting of the American Fertility Society, 1989, p.549.

- 45 - Remohi, J., Gastaldi, C., Patrizio, P., Gerli, S., Ord, T., Asch, R.H., Balmaceda, J.P.: Intrauterine insemination and controlled ovarian hyperstimulation in cycles before GIFT. Hum. Reprod., 4:918, 1989.
- 46 - Rogers, B.J., Bentwood, B.J.: Capacitation, acrosome reaction and fertilization. In: Zaneveld, L.J.D., Chatterton, R.T., (eds). Biochemistry of Mammalian Reproduction. New York, John Wiley & Sons, 1982, p. 203.
- 47 - Serafini, P., Blank, W., Tran, C., Mansourian, M., Tan, T., Batzofin, J.: Enhanced penetration of zona-free hamster ova by sperm prepared by Nycodenz and Percoll gradient centrifugation. Fertil. Steril., 53:551, 1990.
- 48 - Shangold, G.A., Cantor, B., Schreiber, J.R.: Treatment of infertility due to retrograde ejaculation: a simple, cost-effective method. Fertil. Steril., 54:175, 1990.
- 49 - Siegel, S. Estadística no paramétrica. México, Ed. Trillas, 1975.
- 50 - Steeno, O., Adimoelja, A., Steeno, J.: Separation of X and Y bearing human spermatozoa with the Sephadex gel-filtration method. Andrologia, 7:95, 1975.
- 51 - te Velde, E.R., van Kooy, R.J., Wateneus, J.J.H.: Intrauterine insemination of washed husband's spermatozoa: a controlled study. Fertil. Steril., 51:182, 1989.

- 52 - Thomas, A.J.: Assisted methods of fertilization in male factor infertility. Useful or a waste of the patient's resources? In: Twenty-Second Annual Postgraduate Course - The Subfertile Male: diagnosis and management, San Francisco, American Fertility Society, 1989, p. 348.
- 53 - Tredway, D.R., Chan, P., Hemig, I., Gullett, A., Cheatwood, M.: Effectiveness of stimulated menstrual cycles and Percoll sperm preparation in intrauterine insemination. J.Reprod.Med., 35:103, 1990.
- 54 - Urry, R.L., Middleton, R.G., McGavin, S.: A simple and effective technique for increasing pregnancy rates in couples with retrograde ejaculation. Fertil.Steril., 46:1124, 1986.
- 55 - Urry, R.L., Middleton, R.G., Jones, K., Poulson, M., Worley, R., Keye, W.: Artificial insemination: a comparison of pregnancy rates with intrauterine versus cervical insemination and washed sperm versus swim-up sperm preparations. Fertil.Steril., 49:1036, 1988.
- 56 - Vernon, M., Wilson, E., Muse, K., Estes, S., Curry, T.: Successful pregnancies from men with retrograde ejaculation with the use of washed sperm and gamete intrafallopian tube transfer (GIFT). Fertil. Steril., 50:822, 1989.
- 57 - Warte, S., Montagnon, D., Luchhetta, G., Cranz, C., Clavert, A., Raupler, Y. Semen parameters and capacitation. Andrologia, 17:570, 1985.

- 58 - Windt, M.L., Menkveld, R., Kruger, T.F.: Spermatozoa separation. **In:** Acosta, A.A., Swanson, R.J., Ackerman, S.B., Kruger, T.F., van Zyl, J.A., Menkveld, R.(eds): Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990, p. 85.
- 59 - World Health Organization. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.
- 60 - Yanagimachi, R. Capacitation. **In:** Mastroianni, L., Biggers, J.D., (eds). Fertilization and Embryonic Development in Vitro. New York, Plenum Press, 1981, p.81.

* As normas de editoração das referências bibliográficas seguiram as determinações da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) - 14001 - NBR 6023 - agosto, 1989.

7 - ANEXO I : DOADORES INCLUIDOS NO ESTUDO (APROVADOS)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
1.JAA. 120	24/07/90	2,5	124,0	60	50	72	186,0	SWIM-UP	75,0	80	60,0	32,3
JAA. 139	19/07/90	2,5	116,0	70	64	76	203,0	PERCOLL	16,0	90	14,4	7,1
2.MMR. 148	02/08/90	3,0	58,5	60	87	72	105,3	SWIM-UP	42,0	90	37,8	35,9
MMR. 122	24/07/90	3,5	128,0	50	70	85	224,0	PERCOLL	57,0	80	45,6	20,4
3.LCG. 142	01/07/90	4,2	90,5	80	65	74	304,1	SWIM-UP	42,0	90	37,8	12,4
LCG. 123	25/07/90	4,0	200,0	60	60	76	480,0	PERCOLL	57,5	90	51,8	10,8
4.PRA. 145	02/08/90	3,0	51,0	60	83	80	91,8	SWIM-UP	22,0	90	19,8	21,6
PRA. 124	25/07/90	1,8	40,0	60	64	71	43,2	PERCOLL	34,0	80	27,2	63,0
5.HNB. 164	24/08/90	3,6	112,0	50	80	66	201,6	SWIM-UP	55,0	90	49,5	24,5
HNB. 175	31/08/90	1,2	54,0	70	90	51	45,4	PERCOLL	35,0	70	24,5	54,0
6.FJT. 196	30/10/90	2,0	89,0	80	70	70	142,4	SWIM-UP	18,2	95	17,3	12,1
FJT. 199	06/11/90	1,8	46,0	60	75	61	49,7	PERCOLL	39,0	70	27,3	55,0
7.AHO. 213	13/11/90	6,8	62,0	80	73	75	337,3	SWIM-UP	49,0	95	46,5	13,8
AHO. 202	08/11/90	2,6	53,0	70	82	71	96,5	PERCOLL	43,0	90	38,7	40,1
8.JFTC.211	13/11/90	1,4	35,0	60	70	61	29,4	SWIM-UP	0,7	90	0,6	2,1
JFTC.217	27/11/90	2,0	58,0	70	68	63	81,2	PERCOLL	36,0	70	25,2	31,0
9.OJB. 212	13/11/90	4,2	96,0	70	79	60	282,2	SWIM-UP	44,0	80	35,2	12,5
OJB. 215	22/11/90	4,2	146,0	60	60	73	367,9	PERCOLL	73,0	80	58,4	15,9

ANEXO I : DOADORES INCLUIDOS NO ESTUDO (APROVADOS) (Cont.)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
10.FDT. 220	30/11/90	3,0	84,0	70	78	72	176,4	SWIM-UP	41,0	90	36,9	20,9
FDT. 230	14/12/90	3,0	95,0	60	80	66	171,0	PERCOLL	81,0	80	64,8	37,9
11.APR. 221	30/11/90	2,8	276,0	60	90	70	463,7	SWIM-UP	198,0	80	158,4	34,2
APR. 216	23/11/90	3,5	168,0	70	80	77	411,6	PERCOLL	155,0	80	124,0	30,1
12.JSS. 231	18/12/90	3,1	92,0	60	70	62	171,1	SWIM-UP	14,0	90	12,6	7,4
JSS. 248	08/01/91	1,5	110,0	60	80	70	99,0	PERCOLL	39,0	90	35,1	35,5
13.JAC. 233	18/12/90	2,4	95,0	70	75	71	159,6	SWIM-UP	124,0	70	86,8	54,4
JAC. 246	08/01/91	3,0	88,0	70	78	64	184,8	PERCOLL	52,5	80	42,0	22,7
14.EAG. 235	18/12/90	1,0	21,0	60	70	68	12,6	SWIM-UP	6,1	80	4,9	38,9
EAG. 252	10/01/91	2,2	55,0	70	81	72	84,7	PERCOLL	17,0	80	13,6	16,1
15.MU. 238	19/12/90	6,5	156,0	50	75	65	507,0	SWIM-UP	96,0	80	76,8	15,1
MU. 244	08/01/91	6,0	68,0	80	65	60	326,4	PERCOLL	62,5	90	56,3	17,2
16.AA. 239	20/12/90	5,5	80,0	80	78	69	352,0	SWIM-UP	19,0	90	17,1	4,8
AA. 251	10/01/91	3,9	76,0	60	65	65	177,8	PERCOLL	21,0	90	18,9	10,6
17.VAS. 242	21/12/90	2,5	43,0	50	71	70	53,8	SWIM-UP	14,2	90	12,8	23,8
VAS. 255	11/01/91	2,2	47,0	70	75	80	72,4	PERCOLL	41,0	90	36,9	51,0
18.DCS. 259	15/01/91	2,8	141,0	80	75	77	315,8	SWIM-UP	80,0	80	64,0	20,3
DCS. 245	08/01/91	1,2	113,0	70	85	65	94,9	PERCOLL	78,5	90	70,6	74,4

ANEXO I : DOADORES INCLUIDOS NO ESTUDO (APROVADOS) (Cont.)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
19.JCES.267	17/01/91	1,2	60,0	60	70	85	43,2	SWIM-UP	13,0	80	10,4	24,1
JCES.250	10/01/91	1,4	91,0	60	60	75	76,4	PERCOLL	45,0	80	36,0	47,1
20.JBS. 269	17/01/91	2,2	71,0	80	69	74	125,0	SWIM-UP	43,0	80	34,4	27,5
JBS. 253	10/01/91	1,8	102,0	80	60	69	146,9	PERCOLL	88,0	90	79,2	53,9
21.JAR. 273	22/01/91	2,9	126,5	50	86	83	183,4	SWIM-UP	17,5	95	16,6	9,1
JAR. 257	14/01/91	2,2	58,0	60	85	63	76,6	PERCOLL	66,0	80	52,8	68,9
22.PRL. 276	22/01/91	3,2	40,0	50	73	61	64,0	SWIM-UP	5,8	95	5,5	8,6
PRL. 261	15/01/91	2,8	30,0	50	68	72	42,0	PERCOLL	26,0	70	18,2	43,3
23.AGS. 272	22/01/91	4,8	53,0	70	85	67	178,1	SWIM-UP	18,0	95	17,1	9,6
AGS. 260	15/01/91	8,0	48,0	60	60	83	230,4	PERCOLL	54,0	80	43,2	18,8
24.ACD. 280	24/01/91	2,8	32,0	60	89	71	53,8	SWIM-UP	13,9	90	12,5	23,2
ACD. 263	15/01/91	2,2	26,5	80	75	84	46,6	PERCOLL	20,0	70	14,0	30,0
25.ES. 268	17/01/91	2,5	72,5	50	73	50	90,6	SWIM-UP	12,0	70	8,4	9,3
ES. 278	24/01/91	1,8	43,0	60	78	56	46,4	PERCOLL	21,0	50	10,5	22,6
26.TRL. 302	21/02/91	4,6	186,0	50	79	77	427,8	SWIM-UP	43,0	90	38,7	9,0
TRL. 294	19/02/91	3,1	117,0	70	80	68	253,9	PERCOLL	84,0	90	75,6	29,8
27.FAS. 301	26/02/91	2,1	93,0	70	78	84	136,7	SWIM-UP	28,0	90	25,2	18,4
FAS. 296	19/02/91	2,0	29,0	70	80	70	40,6	PERCOLL	33,5	90	30,1	74,3

ANEXO I : DOADORES INCLUIDOS NO ESTUDO (APROVADOS) (Cont.)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
28.EPS. 309	28/02/91	1,0	149,0	50	77	81	74,5	SWIM-UP	21,0	95	19,9	26,8
EPS. 300	21/02/91	1,5	189,0	70	85	75	198,5	PERCOLL	76,0	70	53,2	26,8
29.OLS. 303	26/02/91	1,8	384,0	70	90	81	483,8	SWIM-UP	80,0	80	64,0	13,2
OLS. 319	08/03/91	1,6	373,0	50	63	80	298,4	PERCOLL	105,0	80	84,0	28,2
30.AAN. 306	28/02/91	2,2	104,0	60	64	80	137,3	SWIM-UP	31,0	95	29,5	21,5
AAN. 297	21/02/91	1,5	54,5	60	80	71	49,1	PERCOLL	37,0	80	29,6	60,3
31.IES. 308	28/02/91	1,5	113,0	60	88	80	101,7	SWIM-UP	12,0	90	10,8	10,6
IES. 299	21/02/91	2,0	127,0	50	93	73	127,0	PERCOLL	88,0	80	70,4	55,4
32.RJD. 307	28/02/91	5,8	96,0	60	70	64	334,1	SWIM-UP	38,0	95	36,1	10,8
RJD. 316	08/03/91	2,5	28,0	60	75	61	42,0	PERCOLL	20,5	70	14,3	34,0
33.ADS. 311	01/03/91	4,1	188,0	70	75	74	539,6	SWIM-UP	55,0	95	52,2	9,7
ADS. 315	08/03/91	3,4	116,0	70	80	83	276,1	PERCOLL	78,5	70	54,9	19,9
34.FSC. 312	01/03/91	1,3	199,0	60	65	69	155,2	SWIM-UP	52,0	80	41,6	26,8
FSC. 317	08/03/91	1,8	193,0	60	76	80	208,4	PERCOLL	54,0	70	37,8	18,1
35.VR. 313	01/03/91	1,7	21,0	50	71	60	17,9	SWIM-UP	0,6	90	0,5	3,0
VR. 318	08/03/91	1,7	21,5	60	75	74	21,9	PERCOLL	12,5	70	8,7	39,9
36.PBF. 335	21/03/91	2,0	132,0	70	63	85	184,8	SWIM-UP	35,0	90	31,5	17,0
PBF. 345	02/04/91	2,4	106,0	80	75	83	203,5	PERCOLL	52,0	80	41,6	20,4

8 - ANEXO II : DOADORES RECUSADOS
(ALTERACAO DE MOTILIDADE E/OU CONCENTRACAO INICIAL)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
1.JLM. 118	24/07/90	2,3	13,5	40	53	68	12,4	SWIM-UP	0,9	80	0,7	5,6
JLM. 137	31/07/90	2,5	42,0	60	65	60	63,0	PERCOLL	8,5	40	3,4	5,4
2.BFB. 119	24/07/90	4,2	362,0	60	80	71	912,2	SWIM-UP	18,1	80	14,5	1,6
BFB. 138	31/07/90	2,5	173,5	40	63	75	173,5	PERCOLL	12,0	80	9,6	5,5
3.RFS. 125	25/07/90	1,8	11,5	70	53	63	14,5	PERCOLL	1,5	70	1,1	7,6
RFS. 143	01/08/90	1,7	13,0	20	50	58	4,4	SWIM-UP	1,7	30	0,5	11,3
4.NMN. 128	25/07/90	3,0	75,0	80	78	72	180,0	SWIM-UP	30,5	90	27,5	15,3
NMN. 144	01/08/90	2,5	11,0	50	66	54	13,8	PERCOLL	8,0	80	6,4	46,5
5.VAC. 129	25/07/90	4,0	35,0	50	64	70	70,0	SWIM-UP	2,2	90	2,0	2,9
VAC. 146	02/08/90	3,7	13,0	50	72	59	24,1	PERCOLL	5,0	30	1,5	6,2
6.BAL. 156	21/08/90	4,0	62,0	70	80	70	173,6	SWIM-UP	41,0	70	28,7	16,5
BFB. 169	28/08/90	3,2	55,0	40	79	71	70,4	SWIM-UP	8,0	90	7,2	10,2
7.ACM. 157	21/08/90	2,5	50,0	60	80	50	75,0	SWIM-UP	7,7	80	6,2	8,3
ACM. 170	28/08/90	6,7	37,0	40	79	60	99,2	SWIM-UP	3,0	80	2,4	2,4
8.JS. 160	23/08/90	3,2	109,0	50	80	57	174,4	SWIM-UP	9,4	90	8,5	4,9
JS. 173	30/08/90	2,2	38,0	30	72	62	25,1	PERCOLL	6,0	40	2,4	9,6
9.HOR. 161	23/08/90	4,8	137,0	30	85	69	197,3	SWIM-UP	9,5	60	5,7	2,9
HOR. 171	30/08/90	3,6	68,0	50	85	61	122,4	PERCOLL	13,2	60	7,9	6,5

ANEXO II : DOADORES RECUSADOS
(ALTERACAO DE MOTILIDADE E/OU CONCENTRACAO INICIAL) (Cont.)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
10.JA. 162	23/08/90	1,0	81,5	20	70	65	16,3	SWIM-UP	3,3	90	3,0	18,4
JA. 172	30/08/90	1,0	126,0	40	63	NR	50,4	NR	-	-	-	-
11.RAC. 163	24/08/90	2,6	28,0	40	75	54	29,1	SWIM-UP	1,2	80	1,0	3,4
RAC. 176	31/08/90	2,5	16,5	50	79	55	20,6	PERCOLL	10,5	50	5,3	25,7
12.MM. 165	24/08/90	1,8	32,0	40	67	53	23,0	SWIM-UP	10,9	60	6,5	28,2
MM. 174	31/08/90	1,2	57,0	40	69	54	27,4	PERCOLL	9,0	20	1,8	6,6
13.EFP. 197	01/11/90	3,0	13,0	30	68	70	11,7	SWIM-UP	1,4	70	1,0	8,6
EFP. 205	08/11/90	2,0	30,0	50	80	70	30,0	PERCOLL	15,5	80	12,4	41,3
14.FAF. 198	01/11/90	1,0	20,5	25	80	NR	5,1	SWIM-UP	0,9	90	0,8	15,6
FAF. 201	06/11/90	0,6	82,5	50	77	NR	24,8	PERCOLL	6,0	30	1,8	7,3
15.FAC. 206	08/11/90	3,0	6,0	40	75	53	7,2	PERCOLL	3,0	80	2,4	33,3
FAC. 236	18/12/90	3,5	19,0	40	60	52	26,6	SWIM-UP	0,9	70	0,6	2,3
16.JLS. 209	13/11/90	5,3	16,0	50	65	70	42,4	SWIM-UP	0,3	95	0,3	0,7
JLS. 224	04/12/90	5,0	10,0	40	50	60	20,0	PERCOLL	5,5	50	2,8	14,0
17.AAP. 234	18/12/90	1,5	48,0	40	70	59	28,8	SWIM-UP	0,8	80	0,6	2,1
AAP. 247	08/01/91	2,5	5,0	30	NR	NR	3,8	PERCOLL	1,0	80	0,8	21,3
18.PRO. 240	20/12/90	12,3	0,3	60	NR	NR	2,2	SWIM-UP	0,3	20	0,1	2,7
PRO. 249	08/01/91	8,2	0,3	20	NR	NR	0,5	PERCOLL	0,2	30	0,1	12,2

OBS: NR = NAO REALIZADO

ANEXO II : DOADORES RECUSADOS
(ALTERACAO DE MOTILIDADE E/OU CONCENTRACAO INICIAL) (Cont.)

DOADOR Nº	DATA	VOLUME (ml)	CONCENTRACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	VITALIDADE (% vivos)	MORFOLOGIA (% normais)	NUMERO INICIAL (A e B) (x10 ⁶)	TECNICA	RECUPERACAO (x10 ⁶)	MOTILIDADE A e B (%)	NUMERO TOTAL RECUPERADO	RELACAO (%)
19.ALS. 241	21/12/90	3,5	8,0	20	60	40	5,6	SWIM-UP	0,7	30	0,2	3,6
ALS. 256	11/01/91	4,0	41,0	60	80	72	98,4	PERCOLL	60,0	80	48,0	48,8
20.ACB. 262	15/01/91	1,8	29,5	50	NR	62	26,6	PERCOLL	5,5	70	3,9	14,7
ACB. 277	24/01/91	1,1	24,0	40	78	71	10,6	SWIM-UP	2,2	70	1,5	14,2
21.VGS. 265	17/01/91	3,7	22,0	35	84	71	28,5	SWIM-UP	8,0	90	7,2	25,3
VGS. 281	25/01/91	5,5	25,0	50	73	96	68,8	PERCOLL	9,0	50	4,5	6,6
22.CSSO.266	17/01/91	2,0	82,0	30	85	86	49,2	SWIM-UP	21,0	90	18,9	38,4
CSSO.279	24/01/91	2,3	69,5	40	68	69	63,9	PERCOLL	21,2	70	14,8	23,2
23.SMS. 274	22/01/91	1,9	40,0	30	64	65	22,8	SWIM-UP	3,0	90	2,7	11,8
SMS. 286	29/01/91	3,2	77,0	20	57	83	49,3	PERCOLL	33,8	30	10,1	20,5
24.CAF. 282	25/01/91	3,7	26,0	40	74	63	38,5	PERCOLL	4,0	50	2,0	5,2
CAF. 288	29/01/91	2,5	12,5	30	53	78	9,4	SWIM-UP	3,5	50	1,8	19,2
25.EDG. 295	19/02/91	1,5	27,5	50	81	67	20,6	PERCOLL	2,4	50	1,2	5,8
EDG. 304	26/01/91	2,1	18,0	60	65	73	22,7	SWIM-UP	1,5	95	1,4	6,2
26.ELS. 298	21/02/91	5,1	33,0	25	30	71	42,1	PERCOLL	7,0	50	3,5	8,3
ELS. 305	28/02/91	4,1	88,5	55	75	68	199,6	SWIM-UP	5,5	95	5,2	2,6
27.SEA. 327	19/03/91	3,5	87,5	30	58	75	91,9	SWIM-UP	27,5	95	26,1	28,4
SEA. 346	02/04/91	2,8	108,0	60	57	82	181,4	PERCOLL	56,0	80	44,8	24,7

OBS : NR = NAO REALIZADO

(Cont.)

45

(Cont.)

OBS: NR = NAO REALIZADO

(Cont.)

OBS: NR = NAO REALIZADO