

Comparação entre o teste de diagnóstico caseiro SwimCount com o espermograma convencional

Damia Castello ¹, Virginia Garcia-Laez ¹, Faruk Buyru ², Emre Bakircioglu ³, Thomas Ebbesen ⁴, Anette Gabrielsen ⁵, Marcos Meseguer ¹

¹ Departamento de Clínica de embriologia Instituto Valenciano de Infertilidade da Universidade de Valência, Valência, Espanha

² Acibadem Fulya Hospital, FIV laboratório, Istambul, Turquia

³ Unimed Center, Hakki Yeten, Kat Fulya-Istambul, Turquia

⁴ Nordik Cryobank, Andrology Laboratory, Copenhaga, Dinamarca

⁵ Fertility Clinic Ciconia, FIV laboratório, Aarhus, Dinamarca

* **Autor correspondente:** Damia Castello, Valencian Instituto de infertilidade, Universidade de Valência, Valência, Espanha. Tel: +34662919463; Email: damia.castello@ivirma.com

Citação: Castello D, Garcia-Laez V, Buyru F, Bakircioglu E, Ebbesen T, et al. (2018) Comparação do Teste DIAGNÓSTICO SwimCount Início diag- com Convencional análise de esperma. Adv Androl Gynecol: AAG-101. DOI: 10,29011 / AAG-101. 000001

Data de recebimento: 28 de maio de 2018; **Aceitado Data:** 26 de junho de 2018; **Data de Publicação:** 28 de junho de 2018

Abstrato

O objetivo deste estudo foi utilizar um kit de teste caseiro (SwimCount[®]) quanto ao teste de qualidade do esperma para a medida da fertilidade masculina. Um total de 324 amostras de sêmen foram incluídos e analisados utilizando câmaras de contagem Makler e comparado com o teste casa kit de leitura. Antes da contagem do número de células de esperma Motile Progressiva (PMSC) utilizando Makler câmara de contagem, 0,5 mL da amostra de esperma foram adicionados ao SwimCount[®] (SC) do dispositivo de teste. Os resultados do teste foram lidos e classificados como baixa, normal ou elevada concentração PMSC. A concentração média da amostra foi de 15,5 milhões de PMSC por mL. Aproximadamente 23% das amostras tinha um PMSC sêmen contagem por ml abaixo do limiar de 5 moinho / mL, considerado por concentração subnormais por Organização Mundial de Saúde (OMS). Uma área sob a curva de 0,95 foi obtido quando o desempenho do teste casa foi comparada com a análise de sêmen tradicionais realizada em laboratório padrão de fertilização in vitro. Uma precisão de 95% está na faixa de excelente concordância. Um bom equilíbrio entre a sensibilidade e especificidade foram obtidos com um valor de corte de 10,6 moinho PMSC por mL, o que deu uma sensibilidade e especificidade do 88,1% e 93,3%, respectivamente. O corte de valor de 10,6 milhões PMSC por mL Obteve-se neste estudo, correlacionam-se com 10,6 / 1,6 = 6,6 moinho PMSC por mL, que é muito próximo do moinho 5 mL de corte / de valor proposto pela OMS. Os resultados confirmaram a capacidade de utilização do teste como um dispositivo de rastreio para casa kit macho factor de infertilidade.

Palavras-chave: fertilidade masculina; Semi-quantitativa; análise de esperma; contagem de espermatozoides; teste caseiro de esperma; motilidade espermática

Introdução

Fertilidade masculina é determinada medindo diversos parâmetros de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS 5^a ed., 2010), no entanto, a concentração de espermatozoides móveis progressivos foi estabelecida como parâmetro preditivo para estimar a fertilidade em casais sub-fértil e [1,2]. De acordo com os critérios da OMS, a par de que conseguir uma gravidez, no máximo 1 ano, amostra de sêmen deve conter, pelo menos, 15mill meis e imotile, espermatozoides por mL, e que 32% destes espermatozoides devem ser móveis progressiva (WHO 2010). Hoje em dia, a análise do sêmen é uma ferramenta básica para investigar fator de infertilidade masculina. Com base no espermograma, os casais recebem informações sobre a gestão do

o tratamento da infertilidade. Aproximadamente 10-15% dos casais sofrem de infertilidade, e análise do sêmen se tornou a primeira abordagem para o diagnóstico fator de infertilidade masculina. Muitos homens acham que é experiência estressante e desagradável para fazer uma amostra de sêmen na clínica ea possibilidade de uma avaliação teste caseiro do fator de infertilidade masculina pode ser uma alternativa interessante para muitos homens. Além disso, a possibilidade de testar a qualidade do sêmen em casa, possivelmente, levar mais homens para testar a sua qualidade do sêmen em casa e ignorando assim o tempo de espera, se a qualidade do sêmen é comprometida. O casal poderia entrar em contato com uma clínica de fertilidade para obter ajuda imediatamente e ser tratado enquanto a mulher ainda é jovem de idade. Muitas pessoas tentam engravidar em casa por muito tempo e se o teste da qualidade do sêmen em casa com resultados confiáveis está disponível, isso iria inevitavelmente reduzir o tempo de gravidez. Má qualidade do esperma é um fator chave por trás dos problemas muitos casais enfrentar ao tentar engravidar. Desde a

pode ser inconveniente e embaraçoso para visitar hospital ou clínica de fertilidade para fazer o teste, muitos homens optam por comprar testes de esperma em casa.

Na verdade, várias qualidades de esperma têm sido desenvolvidos nos últimos anos para teste de avaliação da qualidade do esperma. a qualidade do esperma poderia ser medido com Babystart FertilCount®, Babystart Ltd., Tipton-Londres), ou SpermCheck Fertilidade®, Charlottesville, EUA), oferecendo informações rápidas só sobre a concentração total de espermatozoides na amostra de sêmen. Outro teste em casa como teste-Point fertilidade masculina®, Imhotep Medical Group, Holanda), determinar normal ou inferior a actividade normal. Uma abordagem diferente poderia ser Micra Início Semen Analysis (ZeraGrowing Ltd, Coreia do Sul), que consiste de um microscópio para medir a concentração ea motilidade, mas subjetiva para uma quantificação da análise da qualidade do esperma.

No entanto, os testes de casas existentes não avaliar com precisão a infertilidade masculina, uma vez que só medem a qualidade total contagem de esperma e espermatozoides não. SwimCount®, MotilityCount ApS, Dinamarca) é o primeiro teste caseiro que lhe permite obter uma resposta confiável sobre sua chance de fazer uma mulher grávida. SwimCount® (SC) funciona medindo a concentração de PMSC, que é o factor chave mais importante na obtenção de gravidez [3]. O objetivo do teste em casa para o fator de infertilidade masculina nunca foram para substituir a avaliação completa da fertilidade masculina que tem que ser realizada por profissionais da fertilidade / andrologia. Qualquer resultado anormal terá que ser ainda analisada por um profissional, mas utilizando SC poderia permitir que os homens para ser mais investigada por especialistas, se a concentração é baixa PMSC.

Com base nos parâmetros de padrão de análise da qualidade do esperma, a casa de teste adaptado para dar informação direita tem para medir a concentração e a motilidade, ao mesmo tempo. SC é um quantitativo (Conformité Européenne) CE semi-marcada kit de teste caseiro para a fertilidade masculina. medidas SC-teste e informa o utilizador final o

células de espermatozoides móveis progressivos na amostra de sêmen. células de espermatozoides móveis progressivos são o melhor preditor forma fertilidade masculina [3].

O presente estudo retrospectivo de multi-centro, que descrevem a validação clínica de SC, sêmen casa teste de qualidade para análise da motilidade e concentração de PMSC na amostra de sêmen.

Material e métodos

Princípios do ensaio

Amostra esperma é teste casa rápida desenvolvido para a detecção da qualidade do esperma com base no número de PMSC amostra é recolhida pelo paciente em casa ou na clínica, mantendo-se à temperatura ambiente (22 °C - 24 °C) não mais de 1 hora até que a preparação da amostra. O dispositivo SC-teste utiliza a técnica de base do procedimento de contagem crescente. O dispositivo é composto de dois macro-câmaras por exemplo, um colocado em cima do outro. As duas câmaras estão separadas por um filtro com um tamanho de poro de 10? M. O PMSC, com ADN e morfologia intactas passar activamente através deste filtro [4].

Após a adição da amostra para a cavidade de entrada (abaixo do filtro de separação), o dispositivo é activado ao empurrar a frente deslizante do dispositivo de teste. Ao fazer assim uma solução que consiste em tampão fosfato salino (PBS) e MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) - 2,5-difeniltetrazólio) na parte superior do filtro, permitindo que o PMSC a migrar a partir da amostra de sêmen em bruto através do filtro e para dentro da câmara de análise. Ao activar o dispositivo que empurra a pega para a frente, o substrato (PBS e MTT combinado) é libertado para dentro da câmara aquático. Na câmara de análise o corante entra no PMSC e para a mitocôndria enzima cliva o corante para um produto insolúvel púrpura / azul. Um total de 30 minutos, é necessário para o tingimento completa de PMSC, então esta reacção de cor é utilizado para identificar o número de PMSC no interior da amostra (Figura 1).

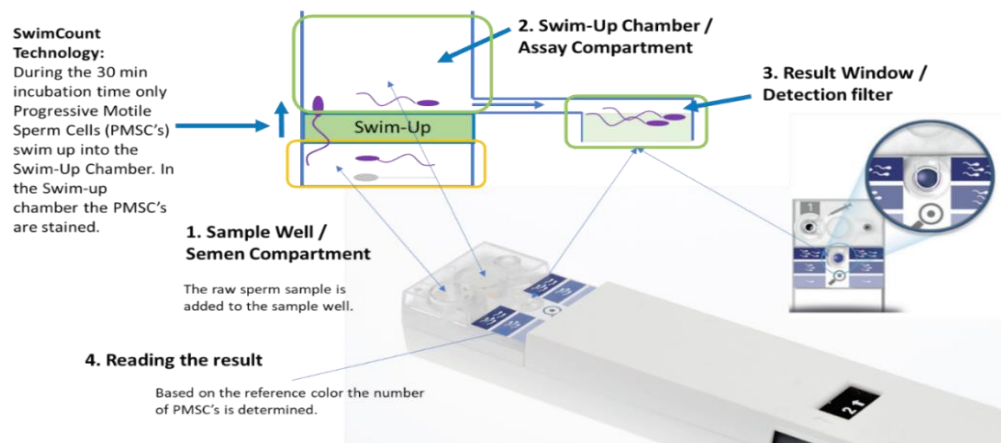


Figura 1: Imagens dos componentes do dispositivo de SC. 1. bem Amostra 2. Swim-Up Câmara / Ensaio Compartimento 3. Resultado Filtrar janela / Detecção. 4 resultado da leitura.

Puxando para trás o cursor do dispositivo de teste, os manchado PMSC são removidos da câmara de aquático e preso no filtro de detecção para. As células corantes de substrato que está vivo (MTT é reduzido nas mitocôndrias de células vivas e mudança de cor de amarelo para azul / púrpura). Exclusivamente PMSC pode nadar na câmara aquático, e subsequentemente sendo preso na janela de resultado, a separação de células com motilidade de espermatozoides móveis e não apenas progressivos. A intensidade da cor é directamente proporcional à concentração do PMSC (Figura 2). Quanto mais escura a cor o mais PMSC estão presentes na amostra. Esses espermatozoides com motilidade superior irá adquirir mais profunda cor azul, detectando o gol para a cor da amostra. Esta informação é marcado nas janelas de resultados, em um fácil de ler a exposição.

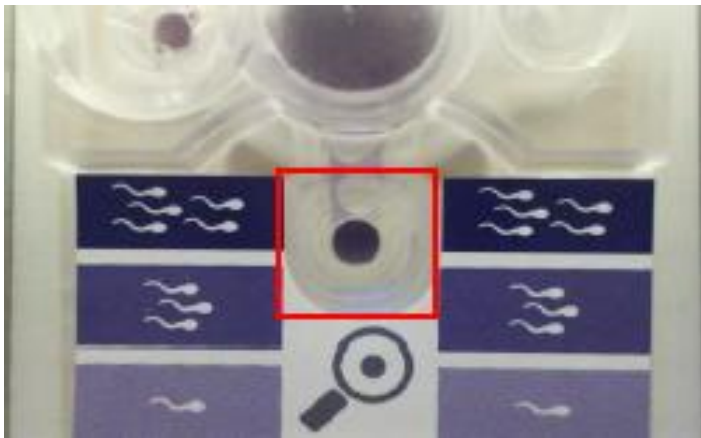


Figura 2: Janela de Resultado; classificação de cor que indica a concentração de PMSC por mL.

estudo da População

Este estudo incluiu um total de 324 amostras de esperma a partir de homens assistir três clínicas de fertilidade diferentes ou um banco de esperma para análise de esperma, entre Setembro de 2016 e Março de 2017. O processo e protocolo para a análise foram aprovados por um Institutional Review Board (IRB referência 1610-VLC -077-DC), que controla e aprova banco de dados de análises e procedimentos de fertilização in vitro clínicas para pesquisa. A amostra de sêmen inteiro foi recolhido por masturbação num estéril frascos de plástico ou de recolha de copos depois de 4 dias de abstinência sexual. A utilização de um preservativo foi evitado, uma vez que a possível lubrificante poderia prejudicar a qualidade das células de esperma.

A coleta de sêmen e Processamento

A amostra de sêmen tenha sido produzida nas clínicas ou transportadas para o laboratório de sêmen e mantida à temperatura ambiente (entre 22 C-24 C) não mais do que uma hora, até que a preparação da amostra. Para a recolha da amostra de sêmen, um recipiente asséptico de

do tipo utilizado em procedimentos de andrologia foi usada (copo de colheita de 80 mL de esperma, Oosafe-Sparmed, Farum, Dinamarca). Antes de analisar a amostra de sêmen, que foi deixada para liquefazer durante pelo menos 30 minutos e um máximo de 1 hora depois de produzir a amostra. No laboratório, as amostras foram analisadas macroscopicamente avaliar o sêmen odor, cor, viscosidade, acidez e volume. A análise microscópica foi realizada para avaliar a concentrao, motilidade e morfologia da aglutinação da amostra.

Análise de amostras de esperma

A concentração de espermatozoides foi avaliada por uma câmara de Makler (Instrumentos Sefi-Medical Ltd., Israel), tornando-se o método de referência para a comparação com SC-Test [5,6]. Um volume de 10 L foi adicionado à contagem de câmara e esperma Makler foi determinada de acordo com as instruções do fabricante.

A motilidade dos espermatozoides foi estimada como qualquer mutilar progressiva, mutila ou imotile de acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde, 2010) [7], 0,5 mL da amostra de sêmen foi depositado no dispositivo SC-teste. Seguindo as instruções de fabrico fornecida utilizado, dispositivo era activo e à espera de 30 minutos. Resultado foi lido a partir da janela de teste e foi fotografado. O CL foi lida dentro de 5 min após a finalização do resultado do teste. A intensidade da cor indica se a contagem de espermatozoides móveis está acima ou abaixo do limiar da OMS para o esperma normal (5 milhões de espermatozoides móveis por mililitro). A cor mais escura do resultado do teste, quanto maior a concentração de espermatozoides móveis progressivos na amostra de sêmen.

Os resultados obtidos com a avaliação da qualidade do esperma convencional (microscopia) foi comparada com a forma ler o dispositivo de teste SwimCount e analisados utilizando o Statistical Software MedCalc versão 14.12.0 (MedCalc Software bvba, Ostend; <http://www.medcalc.org/>) 2014). Utilizando a análise de curva receiver operating characteristic (ROC), o SC fornece 95% de precisão (AUC, área sob a curva) quando se comparam os resultados de SC com que de microscopia convencional.

Resultados

Um total de 324 amostras foram recolhidas nos três centros participantes neste estudo multicêntrico. Destas amostras, 1 teste foi excluído da análise devido a problemas técnicos do Teste SC-.

Cada uma destas amostras foi analisada por duplicado usando Makler câmara de contagem, um resumo da concentração total de espermatozoides móveis (o principal variável deste estudo) é fornecido na tabela 1.

Tamanho da amostra	
Significar	20,97 (IC95% 18,74-23,19)
Mediana	16,12
variação	413,46
Desvio padrão	20,33

Tabela 1: estatística descritiva das 323 amostras de sêmen incluídos no estudo. Dados para a concentração da concentração de espermatozoides móveis progressivos (PMSC) por mL medido com câmara de Makler é mostrado.

A distribuição da concentração de espermatozoides móveis progressivos é apresentado na figura 3, que tinha uma média de 16,1 milhões por ml. Cerca de 23,5% das amostras de sêmen tinha uma contagem de espermatozoides móveis progressivos por ml abaixo do limiar de 5 milhões / ml, o que é considerado como subnormal pela OMS [7]. Este talvez mais provavelmente explicado pelo fato de que a maioria das amostras de sêmen eram de homens que procuram tratamento de fertilidade.

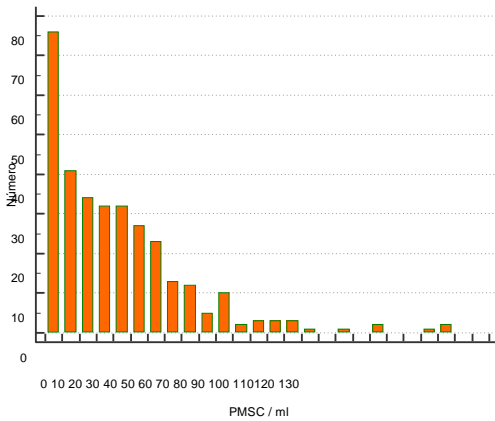


Figura 3: Distribuição da percentagem de PMSC no estudo, 76 dos 323 amostras incluídos tinha a PMSC por mL abaixo de 5 milhões / mL.

Após o SC-Test, operador classificada como a pontuação baixa ou normal, dependendo do gradiente de cor observadas. Das 323 amostras de sêmen, um total de 219 (67,8%) foi classificada como normal, e 104 (32,2%) foi classificada como pobres. O melhor equilíbrio entre a sensibilidade e a especificidade foi obtido com um valor de corte em torno de 10,6 milhões de PMSC por mL (Figura 4), o qual deu uma sensibilidade final e especificidade de 88,1% e 93,2%, respectivamente.

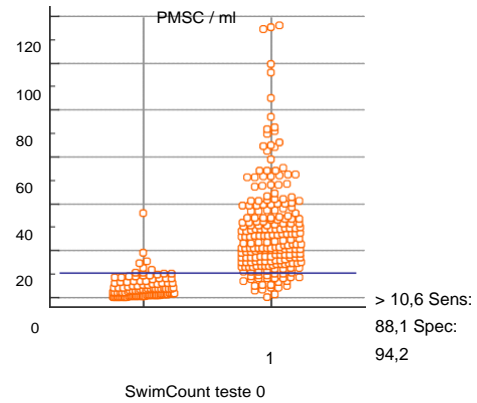


Figura 4: diagrama ponto interativo da lidos a partir do SC (eixo x) em comparação com a concentração de espermatozoides móveis progressivos (eixo y).

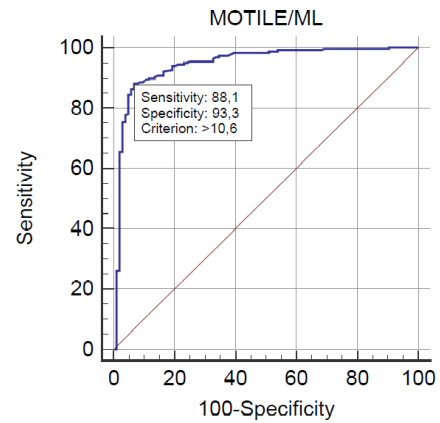


Figura 5: ROC análise da curva da comparação entre a análise de esperma convencional usando para Makler câmara de contagem e a leitura a partir do dispositivo SC-teste.

Nós representada uma análise da curva ROC para a comparação entre a análise de esperma convencional (câmara Makler) realizada em

um laboratório de fertilização in vitro e o dispositivo de SC-teste, uma área sob a curva (AUC) de 0,95 foi obtido (Figura 5). De acordo com este valor, o acordo entre a análise do sêmen tradicionais e SC-Test foi excelente.

Discussão

O objetivo média deste estudo foi validar e avaliar a eficácia do dispositivo de SC como teste caseiro para análise do sêmen em um ambiente estressante confortável e não. Para isso, um aspecto essencial do nosso estudo foi aplicar a análise estatística robusta para comparar o método tradicional para avaliação de esperma utilizado no laboratório de fertilização in vitro, com o teste de SC em casa. De acordo com as diretrizes da OMS (5. ed. 2010) [7], a concentração de esperma progressivamente mais consistentemente demonstrou ser o factor mais preditiva no que diz respeito ao resultado. Cerca de 64% dos estudos sugerem que a razão de probabilidade de sucesso da inseminação artificial com requer, pelo menos, cinco milhões de espermatozoides móveis e este é suportado por intervalo de referência revista da OMS para a concepção natural. Outro teste casa estava disponível no mercado, mas que só medir a concentração de espermatozoides na amostra, mas não não-móveis, morto ou outras células (por exemplo células brancas do sangue) [8]. Então, estes testes informar apenas parcialmente sobre parâmetros-chave para o conhecimento completo do status de fertilidade masculina.

Com o objectivo de comparar o SC com o método de rotina para espermiograma utilizado em parte principal de laboratórios andrologia, Makler câmara de contagem foi utilizado, apesar de não ser tão preciso quanto câmara de Neubauer. No entanto, é um método rápido e usual utilizada em parte principal de laboratórios para medir a qualidade do esperma. De acordo com os resultados, a concordância entre a câmara de Makler e SC-teste foi estabelecido através de curva ROC, e a AUC apresentado uma precisão de 0,95, classificando-a como um excelente valor (> 0.90). Outras tentativas para estabelecer a testar para a medida PMSC por mL foi tentado no passado [9], mas apenas SC pode ser usado facilmente em casa.

A boa precisão (AUC = 0,95), SC indica teste de acordo poderia ser usado como auto-diagnóstico da fertilidade masculina fornecer informações razoavelmente precisas sobre a qualidade do esperma. Ao mesmo tempo, o teste pode fornecer um teste fácil, sem o stress causado por uma visita a um centro de fertilidade. Em outro caso, como não conhecimento ou curiosidade sobre o seu estado de fertilidade SC representa uma boa ferramenta.

Apesar de teste em casa representa uma inovação respeitar os métodos tradicionais para análise do sêmen, quaisquer limitações ainda estão presentes. De facto, este dispositivo não podem medir todos os parâmetros de uma análise de esperma, como a espermiograma convencional [10]. Uma completa

análise da amostra de esperma é necessário para um diagnóstico fértil ou não fértil, oferecendo uma descrição detalhada dos parâmetros do esperma. No entanto, a casa-teste tornou-se uma ferramenta rápida para a avaliação do potencial de fertilidade na privacidade e conforto de casa, dando uma aproximação da situação fértil.

Reconhecimento

Os autores agradecem a todo o embriologista e técnicos do laboratório de FIV do IVI Valencia, Fulya Acibadem Hospital, Nordic Cryobank e Fertility Clinic Ciconia por seu apoio clínico neste estudo.

Referências

1. Ayala C, Steinberger E, Smith DP (1996) A influência de sêmen-anal-parâmetros ysis sobre o potencial de fertilidade dos casais inférteis. J Androl 17: 718-725.
2. Zinaman MJ, Brown CC, Selevan SG, Clegg ED (2000) a qualidade do sêmen e fertilidade humana: um estudo prospectivo com casais saudáveis. J Androl 21: 145-153.
3. Tomlinson H, Lewis S, Morroll D, British Fertility Society (2013) Sperm qualidade e sua relação com a concepção natural e assistida: diretrizes British Fertility Society para a prática. Hum Fertil (Camb) 16: 175-193.
4. Seleção de Spermatozoides, King, S, et al. (2014) número de espécies reactivas de oxigénio. ADV healthc Mater 3: 1671-1679. Cardona-Maya W, Berdugo
5. Cadavid A (2008) Comparando o esperma concentração determinada pela Makler três câmara de Neubauer. AEU 32: 443-445.
6. Makler A (1980) A câmara de dez micrómetros melhorada para rápida contagem de espermatozoides ea avaliação da motilidade. Fertil Steril 33: 337-338. Organização Mundial da
7. Saúde (2010) WHO manual de laboratório para a ex- aminação e processamento de sêmen humano, 5 -Edição. In: Genebra: Organização Mundial de Saúde, editor.
8. Klotz KL, Coppola MA, Labrecque H, Brugh VM III, Ramsey K, et al. (2008) Clinical desempenho e julgamento do consumidor de um teste sensível casa imunodiagnostic que detecta qualitativamente baixas concentrações de esperma seguintes vasectomia. J Urol 180: 2569-2576. Bjørndahl G, Kirkman-Brown J., Hart L, S Rattle, Barratt
9. Desempenho de teste de esperma casa nova. Hum Reprod 21: 145-149. Yu S, Rubin H, Cullen
10. As características de testes de esperma em casa. Andrologia 6: 10-19.