



Centro Universitário Campo Limpo Paulista
Curso de Biomedicina

Trabalho de Conclusão de Curso

ESPERMOGRAMA NA ATUALIDADE

Aluna: Roseli Coutinho Lopes
Orientadora: Dra. Simone Manzolli

2021
Campo Limpo Paulista - SP

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. OBJETIVO GERAL.....	5
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	5
3. METODOLOGIA.....	5
4. ANÁLISE DO ESPERMA.....	7
4.1. ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	7
4.1.1 COAGULAÇÃO E LIQUEFAÇÃO.....	7
4.1.2. COR E ASPECTO.....	7
4.1.3. VOLUME.....	8
4.1.4. MEDIÇÃO DO PH.....	9
4.1.5. VISCOSIDADE.....	9
4.2. ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	9
4.2.1. MORTALIDADE ESPERMÁTICA.....	9
4.2.2. CONTAGEM DE ESPERMATOZOIDES.....	11
4.2.3. CONTAGEM DE LEUCÓCITOS.....	12
4.2.4. DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE HEMÁCIAS.....	12
4.2.5. VITALIDADE ESPERMÁTICA.....	13
4.2.6. MORFOLOGIA.....	14
4.2.7. CÉLULAS GERMINATIVAS.....	14
5. ESPERMOGRAMA E TRATAMENTO COMPLEMENTARES.....	14
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	15
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

TÉCNICA PARA DETECÇÃO DA INFERTILIDADE MASCULINA

1. INTRODUÇÃO

A infertilidade é definida com a incapacidade de conceber após um ano de relações sexuais não protegidas e acomete cerca de 8 a 15% de casais no Brasil. A infertilidade masculina, um dos fatores de insucesso na gestação, é uma entidade multifatorial que pode ocorrer isoladamente ou no contexto de várias síndromes complexas.

Um dos fatores de insucesso na gestação, é uma entidade multifatorial que pode ocorrer isoladamente ou no contexto de várias síndromes complexas. O fator masculino tem definição pela incapacidade de conceber devido a um baixo número ou por incapacidade funcional dos espermatozoides. Este fator está envolvido em 55% dos casos de infertilidade conjugal, sendo o responsável exclusivo por aproximadamente 35% dos casos. Estudos evidenciam que as alterações genéticas, incluindo aberrações cromossômicas e mutações gênicas, são responsáveis por 15% dos casos de infertilidade masculina. As causas genéticas da infertilidade masculina são de grande importância uma vez que essas alterações podem ser passadas à prole caso os indivíduos com algum tipo de infertilidade submetam-se a técnicas de reprodução, já que por meios naturais não é possível ter filhos. Podemos agrupar em três classes as lesões genéticas que causam infertilidade: aneuploidias cromossômicas e rearranjos, microdeleções e um único gene defeituoso. Aneuploidia é um tipo de anomalia cromossômica que altera a quantidade normal dos cromossomos. Rearranjos, também denominados arranjos cromossômico estruturais, são por definição qualquer alteração na estrutura dos cromossomos, ocasionado por quebras cromossômica, seguidas ou não de reconstituição de maneiras anômala. As Microdeleções ocorrem quando é realizado o exame de cariótipo e não detectado a perda de uma pequena parte do DNA de um cromossomo. Para a sua detecção são necessárias outras técnicas, tais como cariótipo com bandas em alta resolução, como PCR (proteína C reativa) ou FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). É uma anomalia de cromossomos rara definida por alterações cromossômicas relacionadas às características clínicas da pessoa. Existe ainda o Único gene defeituoso que se é quando se recebe um determinado gene com

mutação, um defeito, tornando-o portador de alguma anomalia. (SIGMAN M. *et al.*, 2009; BRASIL C. 2010; SAMPLASKI M.K. *et al.*, 2010; STAHL P.J. *et al.*, 2011; FRANKEN & OEHNINGER 2012; CENTOLA GM 2014; WANG & SWERDLOFF 2014)

A análise do sêmen é obrigatória na investigação diagnóstica da infertilidade, desde o início dos anos 1930. A análise do sêmen fornece informações valiosas para a investigação de distúrbios e patologias que afetam o trato genital masculino, como varicocele, infecções e distúrbios hormonais, que muitas vezes afetam negativamente a capacidade reprodutiva masculina. A esse respeito, estudos anteriores revisaram e discutiram extensivamente os principais atributos e limitações da análise do sêmen. (Andrade-Rocha, F.T., 2017)

Atualmente, a análise do sêmen é baseada nas recomendações da quinta edição do Manual da Organização Mundial da Saúde (OMS) para o Exame e Processamento do Sêmen Humano (Björndahl L., 2013) que fornece tecnologias e os valores de referência para avaliar os parâmetros do sêmen. Eles incluem procedimentos padrão (exame macroscópico, exame microscópico inicial, contagem de espermatozoides, motilidade, vitalidade, morfologia, integridade da membrana, avaliação de leucócitos, células germinativas imaturas e teste para revestimento de anticorpos de espermatozoides), testes opcionais (índices de defeitos de espermatozoides múltiplos, coloração imunocitoquímica pan-leucocitária [CD45], interação entre espermatozoides e muco cervical, análise de esperma auxiliada por computador e análise bioquímica) e procedimentos de pesquisa (espécies reativas de oxigênio, testes de interação espermatozoide-oócito humano, testes de ligação da zona pelúcida humana, avaliação do reação acrossômica, teste de penetração em oócitos de hamster zona-livre e avaliação da cromatina do esperma). Tornou-se cada vez mais difundido em todo o mundo desde a publicação da primeira edição do manual da OMS em 1980. (OMS, 1980, 2010)

Portanto a análise seminal ou espermograma é o primeiro teste e o mais importante a ser solicitado quando o homem está sendo avaliado quanto à infertilidade. Dependendo dos resultados, deve-se solicitar outros testes para

identificar mais claramente onde está o problema e as possíveis soluções existentes. Avanços recentes no campo da infertilidade masculina, em particular a capacidade para usar poucos espermatozoides para estabelecer gravidez por meio da fertilização in vitro (injeção intracitoplasmática de espermatozoides), expandiram o conhecimento sobre reprodução humana. Este desenvolvimento tem permitido a ginecologistas oferecerem ajuda quando anteriormente não havia esperança. A maioria dos homens inférteis não requer utilização de técnicas avançadas de reprodução. É necessário ter um conhecimento completo sobre os vários testes laboratoriais disponíveis para estes homens e quando cada um deles deve ser solicitado. O ginecologista deve estar alerta sobre os vários problemas que podem afetar o sistema reprodutor masculino e como melhor identificar a causa e a possível solução.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é orientar os homens da importância do exame Espermograma, mostrando que ele vai além de um teste de fertilidade.

2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Identificar métodos de análise do exame;
- Detectar tratamentos complementares ao exame;
- Classificar os possíveis diagnósticos.

3. METODOLOGIA

O princípio do método para avaliação amostra de líquido seminal compreende o estudo das características físicas e morfológicas à fresco e por pós coloração dos espermatozoides. O sêmen será definido segundo a quantidade de espermatozoides:

- Hipospermia: quando ocorrer diminuição do volume do sêmen.
- Zoospermia: quando ocorrer ausência total de espermatozoides na ejaculação.
- Oligozospermia: quando ocorrer redução na quantidade total de espermatozoides.

- Astenospermia: quando os valores de motilidade (progressiva ou não progressiva) e vitalidade são menores do que o padrão (menos de 58%).
- Teratozoospermia ou técnica de Kruger (estrita) teste de morfologia (estudo da forma): são espermatozoides de má formação com alterações morfológicas.
- Necrospermia: a porcentagem de espermatozoides vivos está abaixo de 58%.
- Leucocitospermia: caso de alta concentração de leucócitos na amostra seminal.
- Crisptozoospermia: após centrifugação do volume ejaculado são encontrados raros espermatozoides.

Devem ser tomados alguns cuidados especiais e algumas precauções já que as amostras de líquido seminal assim como outras amostras biológicas podem conter agentes infecciosos nocivos.

Para o preparo do paciente a amostra deverá ser coletada após um período mínimo de 2 dias e um máximo de 7 dias de abstinência sexual (OMS, 2010). Deve-se preencher um questionário de anamnese e seguir as instruções de preparo para a coleta de espermograma.

Para o armazenamento e a estabilidade da amostra, o frasco contendo a esta amostra deverá ser mantido à temperatura ambiente, entre 20°C e 37°C, para evitar grandes variações de temperatura que possam afetar a estabilidade dos espermatozoides, sendo estável em até 60 minutos. A análise do líquido seminal consiste em duas etapas analíticas macroscópica e microscópica, onde são observados os parâmetros descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros avaliados nas análises macro e microscópicas do sêmen.

Analise macroscópica	Analise microscópica
Liquefação	Motilidade espermática
Cor, aspecto	Concentração de espermatozoides
Viscosidade	Concentração de leucócitos
Volume	Contagem de hemácias (qualitativo)
pH	Vitalidade
	Morfologia
	Células germinativas (qualitativo)

4. ANÁLISE DO ESPERMA

4.1. ANÁLISE MACROSCÓPICA

4.1.1 COAGULAÇÃO E LIQUEFAÇÃO:

Observar a presença de coágulo assim que receber a amostra (figura 1); O tempo de liquefação média do líquido seminal é de 30 a 60 minutos, por isso, as amostras recebidas geralmente já estarão liquefeitas e prontas para a análise.



Figura 1: Espermacoagulado.

Em cada avaliação relatar no laudo, na amostra da figura 1, Liquefação: NORMAL.

Caso a amostra esteja coagulada mesmo após 60 minutos, período máximo para a análise, a mesma deverá ser manipulada de forma a dissolver o coágulo: Utiliza-se uma seringa de 10 ml para a quebra do coágulo aspirando todo material uma única vez lentamente: pressão negativa e positiva com o êmbolo.

A liquefação do coágulo seminal é um processo enzimático e a principal enzima envolvida é o antígeno prostático específico. A liquefação incompleta sugere alterações prostáticas. (FEIJÓ *et al.*, 2010)

4.1.2. COR E ASPECTO:

Alterações na cor pode indicar doenças locais ou sistêmicas (infecção, hepatite) ou ainda uso de medicamentos (antibióticos, antissépticos urinários ou vitaminas). A

coloração avermelhada, em razão da presença de hemácias, é conhecida por hematospermia e pode resultar de um processo inflamatório, obstrução ou cistos nos ductos ejaculatórios, neoplasias e anormalidades vasculares (ESTEVES E NAKAZATO, 2002). As cores são Branco opalescente (A), Amarelo opalescente (B) e Avermelhado ou marrom (C).



Figura 2: Cor e aspecto

4.1.3. VOLUME:

O volume deverá ser medido em tubo cônico graduado de 12mL.

O volume ideal da amostra é de 1,5 a 5mL (OMS, 2010).

Para a realização do exame por completo é necessário o volume mínimo de 0,8mL.

Caso a amostra apresentar o volume inferior a 0,8 ml deverá ser realizado os exames de:

- Análise macroscópica;
- Motilidade;
- Total de espermatozoides;
- Contagem de leucócitos e hemácias;

O baixo volume de sêmen (hipospermia) sugere obstrução do ducto ejaculatório ou ausência congênita bilateral dos vasos deferentes (OMS, 2010).

4.1.4. MEDIÇÃO DO PH:

O pH deverá ser analisado logo após a abertura do frasco da amostra, pois o mesmo poderá sofrer alterações caso a amostra fique por muito tempo destampada devido à evaporação do CO₂ e alteração do sistema tampão.

- pH de 7,2 a 8,0: Normal. (OMS,2010)
- pH > de 9,0: sugestivo de problema prostático.

O pH seminal é resultado da mistura das secreções das vesículas seminais (pH alcalino) e da próstata (pH ácido) (OMS, 2010).

4.1.5. VISCOSIDADE:

Deverá ser analisada transferindo amostra do frasco para um tubo cônico; Na Viscosidade normal observamos gotejamento do sêmen; na viscosidade Aumentada forma-se um fio contínuo. (Figura 3) sugerindo possível excesso de abstinência.

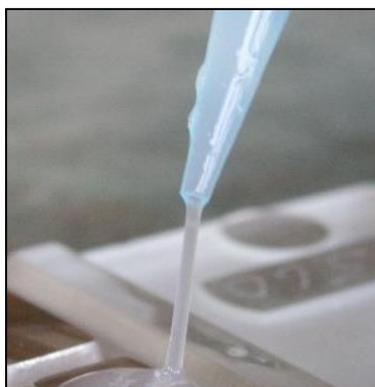


Figura 3: Viscosidade Aumentada

Relatar na observação do laudo a análise morfológica e vitalidade espermática não realizados devido a hipospermia, sugere-se nova coleta a critério médico.

4.2. ANÁLISE MICROSCÓPICA

A análise microscópica só poderá ser realizada após liquefação completa da amostra.

4.2.1. MORTALIDADE ESPERMÁTICA:

Sempre homogeneizar a amostra; utilizando a pipeta automática, colocar 10 microlitros da amostra na câmara de Neubauer; A análise deverá ser realizada em

microscópio óptico comum na objetiva de aumento 400x; Observar a motilidade dos espermatozoides no retículo central da câmara (área amarela figura, para evitar os efeitos de secagem da amostra sobre a motilidade e, para facilitar a contagem devido a área reduzida do campo.

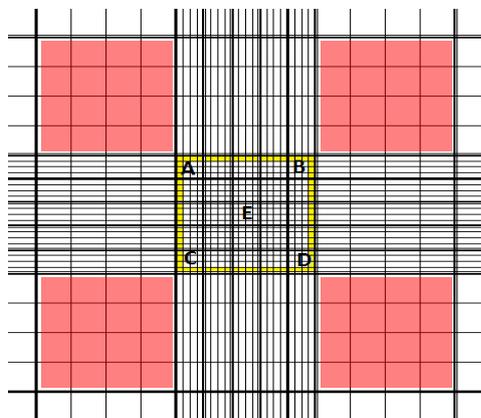
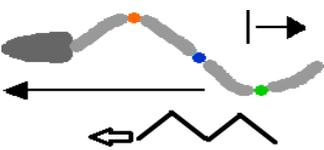
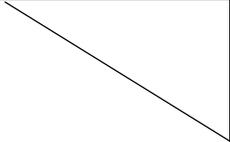


Figura 4: Câmara de Neubauer

Com o auxílio do contador automático, contar 100 espermatozoides e distribuí-los em porcentagem classificando-os em graus de motilidade conforme Tabela 2 abaixo:

Tabela 2. Classificação dos espermatozoides segundo o GRAU AB.

Grau A	Grau B	Grau C	Grau D
Progressão linear rápida	Progressão linear lenta ou não linear	Não progressivos	Imóveis
Quando o movimento é de maneira linear e corta rapidamente o campo de visão.	Movimento constante, em zigue e zague, ida e volta.	Não se locomove (apenas batimentos da calda ou cabeça), ou giros em torno de si mesmo.	Totalmente parados.
			

A contagem deverá ser realizada em duplicata e, ao final, a média é utilizada para estabelecer o percentual de espermatozoides conforme graus de motilidade para ser relatado no laudo; Os graus A e B deverão ser contados juntamente como mostra o exemplo na Tabela 3 abaixo;

Tabela 3. Exemplo de contagem em duplicata da motilidade dos espermatozoides de uma amostra.

Graus	1ª contagem	2ª contagem	Média
Graus A+B	75%	70%	73%
Grau C	10%	10%	10%
Grau D	15%	20%	17%

A segunda contagem não deverá diferir mais que 10% da primeira, caso isso ocorra homogeneizar a amostra e realizar novamente a contagem.

Caso a quantidade de espermatozoides for muita, impossibilitando assim a contagem, deve-se diluir a amostra 1:10 em solução fisiológica (sugestão: 10 microlitros da amostra + 90 microlitros de solução fisiológica).

4.2.2. CONTAGEM DE ESPERMATOZOIDEOS:

Inicialmente deve-se fazer um a fresco colocando 10 microlitros da amostra na câmara de Neubauer para observar a quantidade aproximada de espermatozoides, Fazer uma diluição de 1:40 com água destilada (sugestão: 25 microlitros da amostra e 975 microlitros de água destilada);

A contagem dos espermatozoides deverá ser realizada por meio da câmara de Neubauer, em 5 quadrados do retículo central da câmara de Neubauer (Figura 4, A+B+C+D+E), deve-se colocar a amostra diluída nos dois compartimentos da câmara, a contagem deverá ser realizada em duplicata e a contagem média calculada, levando-se em conta que a diferença entre as duas contagens não deverá exceder a 10%;

Caso as contagens se diferenciarem em mais de 10% é necessário homogeneizar novamente a diluição e repetir o procedimento;

- Cálculo do número de espermatozoides:

- Obtêm-se o cálculo da média das câmaras lidas e multiplicar o resultado por 5 e depois multiplicar o resultado por 400.000 o resultado é a concentração espermática por mililitros (mL),
- Exemplo: Média de 10 espermatozoides contados nos 5 quadrados em uma diluição de 1:40 ($10 \times 5 \times 400.000 = 20.000.000/\text{mL}$).

4.2.3. CONTAGEM DE LEUCÓCITOS:

Diluir o esperma 1:10 com solução fisiológica (sugestão: 25 microlitros da amostra + 225 microlitros de solução fisiológica), efetuar a leitura em duplicata em câmara de Neubauer no retículo central (contar os 25 campos), calcular a média e dividir o resultado por 10 e depois multiplicar por 1.000.000; Valor de referência: até 1.000.000/mL (OMS, 2010).

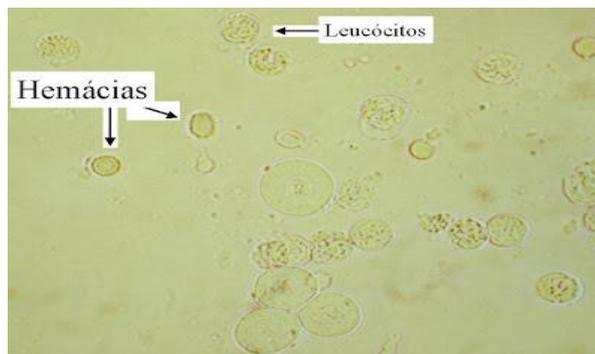


Figura 5: Leucócitos/hemácias

4.2.4. DETERMINAÇÃO QUALITATIVA DE HEMÁCIAS:

Utilizar a mesma solução preparada para a contagem de leucócitos: diluir o esperma 1:10 com solução fisiológica (sugestão: 25 microlitros da amostra + 225 microlitros de solução fisiológica), efetuar a leitura em duplicata em câmara de Neubauer no retículo central (contar os 25 campos), calcular a média e determinar qualitativamente as hemácias;

Tabela 4. Critérios para determinação qualitativa de hemácias visualizadas no retículo central da câmara de Neubauer:

0 hemácias	Ausentes
De 1 a 5 hemácias	Raras
De 6 a 15 hemácias	Moderadas
Acima de 16 hemácias	Numerosas

4.2.5. VITALIDADE ESPERMÁTICA:

Determina a proporção de espermatozoides vivos e mortos;

Este teste pode fornecer uma verificação na avaliação da motilidade, uma vez que a percentagem de células mortas não deve exceder a percentagem de espermatozoides imóveis (exemplo: Grau D=10%, espermatozoides mortos=30%);

Em um tubo de ensaio adicione 100 microlitros de eosina aquosa a 1% e 100 microlitros da amostra, homogeneizar e adicionar mais 100 microlitros de negrosina, homogeneizar novamente;

Aliquotar 10 a 20 microlitros da solução em uma lâmina limpa e correr o esfregaço levemente.

Deixar a lâmina secar em temperatura ambiente ou em estufa a 37°C;

Contar os espermatozoides em objetiva de imersão (1000x) um total de 100 espermatozoides entre vivos (brancos) e mortos (rosa);

Os espermatozoides vivos apresentam membrana plasmática íntegra e não permite a passagem da eosina para o interior da célula (espermatozoide não corado). O mesmo não ocorre com espermatozoides mortos, cujas membranas não estão intactas (espermatozoide corado de rosa) (Figura 5);

Valor de referência: o limite mínimo de referência para a vitalidade (espermatozoides com membrana intacta) é de 58% (OMS, 2010).



Figura 6: Vitalidade espermática pelo método eosina/negrosina

4.2.6. MORFOLOGIA

É um tipo de análise da qualidade dos espermatozoides. É um dos parâmetros de avaliação no exame de espermograma, um dos principais testes realizados no homem quando há suspeita de infertilidade conjugal.



Figura 7: morfologia dos espermatozoides.

4.2.7. CÉLULAS GERMINATIVAS

São todas as células que dão origem aos gametas de um organismo que se reproduz de maneira sexuada. Nos organismos multicelulares, as células germinativas primordiais dão origem às células germinativas, e estas, à linhagem germinativa (gametas, que, no caso dos animais, são o espermatozoide e o óvulo).

5. ESPERMOGRAMA E TRATAMENTO COMPLEMENTARES

Vale lembrar que o espermograma é um dos primeiros exames solicitados na investigação da fertilidade e da saúde masculina. Outros exames complementares podem ser necessários para se chegar a um diagnóstico preciso, tais como a Fragmentação de DNA (FIV, Fertilização in Vitro) que identifica áreas fragmentadas no DNA que podem ser responsáveis por má qualidade dos embriões, pela dificuldade de gravidez ou abortos de repetição. Além do Espermograma sob magnificação (ICSI, Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides) que é um exame realizado por microscópio que aumenta em até mil vezes a visualização do espermatozoide. Identifica parâmetros como vacúolos ou buraco associados à piora da fertilização. Na FIV clássica, os espermatozoides são colocados em contato com os óvulos e a fecundação ocorre naturalmente no laboratório. Já na ICSI, é feita a injeção de um espermatozoide dentro do óvulo para que haja a fecundação. Pode ser

realizado ainda o FISH (Fluorescent In Situ Hybridization), que analisa alterações no número de cromossomos presentes nos espermatozoides, como as dissomias (quando existem alguns cromossomos a mais) ou diplóides (duplicação de todos os cromossomos no espermatozoide).

Já o exame da Carga Viral é indicado para pacientes com sorologias alteradas, como HIV, Hepatite, HTLV (vírus T-linfotrópico humano), para que no dia da fertilização seja utilizado um sêmen testado previamente e livre de quaisquer contaminações.

Estudos apontam que as causas da infertilidade são 30% femininas e 30% masculinas. Em 25% dos casos, o problema atinge ambos os sexos e em 15% dos casais, a causa é desconhecida, casos esses chamados de infertilidade ou esterilidade sem causa aparente (ISCA ou ESCA). Nas mulheres, os motivos mais comuns estão relacionados ao útero, ovários e às trompas, ou à idade avançada. Já nos homens, a causa mais comum é a varicocele. A Varicocele é o processo de dilatação das veias que drenam o sangue dos testículos, devido a inabilidade das válvulas venosas.

Outro fator é a azoospermia não obstrutiva, em que há uma falha de produção de espermatozoides, devido a distúrbios hormonais genéticos ou, ainda, danos no tecido testicular, seja traumático, cirúrgico ou infeccioso. Fatores nutricionais, metabólicos, estresse e doenças crônicas podem afetar ambos os sexos. Quando identificada a causa e o grau da infertilidade, as possibilidades de tratamento serão avaliadas pelo médico. Se o problema for provocado por infecção, esta deverá ser tratada. Se os hormônios estiverem desregulados, o primeiro passo será sua estabilização. Se o tratamento não for efetivo, os métodos de reprodução assistida (inseminação artificial e fertilização in vitro) têm obtido ótimos resultados.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise da qualidade do sêmen é geralmente feita em um laboratório especializado. O homem colhe o sêmen em um recipiente adequado, o sêmen deve ser analisado dentro de algumas horas (1-2 horas), para resultados precisos e confiáveis.

Dessa forma os dados encontrados nos espermogramas podem ajudar a diagnosticar as possíveis causas da infertilidade masculina, bem como sugerir outros problemas de saúde do homem, como por exemplo, problemas na próstata, já que a análise da viscosidade e acidez do sêmen podem indicar problemas com a próstata. Exames complementares, como toque retal ou biópsia podem ser solicitados pelo médico para confirmar ou descartar possíveis diagnósticos.

A zoospermia geralmente é decorrente de infecções bacterianas, DSTs (doenças sexualmente transmissíveis), ou obstrução nos canais seminais.

A Oligospermia e a Crisptozoospermia são muitas vezes originadas por infecções no sistema reprodutor, varicocele, IST (Infecções Sexualmente Transmissíveis, anteriormente denominadas DST). No entanto pode acontecer também como efeito colateral do uso de certos medicamentos, como cetoconazol e ou metotrexato.

A Astenospermia pode ser causada por stress, alcoolismo ou doenças auto-imunes, como HIV, entre outras.

Na Teratozoospermia as principais causas são varicocele, uso de drogas ou inflamação no sistema reprodutor.

A Hipospermia é o caso que pode estar relacionada com problemas de próstata e alterações nas vesículas seminiais ou pelo não preparo do paciente anteriormente ao exame, (tempo de abstinência correto).

Necrospermia são casos bem raros, que têm como possíveis causas problemas hormonais, câncer prévio nos testículos, infecções nos testículos, uso de drogas e álcool, longos períodos sem ejaculação, idade avançada entre outros.

Leucocitospermia é causada por Orquite, Prostatite, Cistite, Uretrite, Vesiculite, IST.

O espermograma é um exame muito antigo e o mais preciso na questão de diagnóstico de infertilidade masculina. Por tanto, é importante que as pessoas tenham o conhecimento da eficácia e necessidade deste exame.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-ROCHA, F. T. Sobre as origens da análise do sêmen: uma estreita relação com a história da medicina reprodutiva. *J Hum Reprod Sci.* Out-Dez 10 (4): 242–255, 2017.

BJÖRNDAHL, L. Métodos para determinação da concentração de esperma. *Methods Mol Biol.* 927: 3-12, 2013.

Brasil C. Análise prática do sêmen: De A a Z. *Asian J Androl.* 12: 14–20. 2010.

Centola GM. Avaliação de sêmen. *Urol Clin North Am.* 41: 163–7, 2014

CRIOGENESIS. MEDICINA REPRODUTIVA / INFERTILIDADE / FATORES MASCULINOS / ALTERAÇÕES GENÉTICAS, 2015. Disponível em: <http://criogenesis.com.br/medicina-reprodutiva/infertilidade/fatores-masculinos/alteracoesgeneticas>. Acesso dia 09 11 2021

CRUZ, J.C. Factores genéticos na infertilidade masculina. 2010. 29f. Dissertação (mestrado), Faculdade de Medicina Universidade do Porto, Viana do Castelo, 2010. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/53484/2/Factores%20genticos%20na%20infertilidade%20masculina.pdf> Acesso dia 09 11 2021.

De JONGE C. Análise do sêmen: Procurando um upgrade nas aulas. *Fertil Steril.* 97: 260–6, 2012.

FEIJÓ et al. Espermograma. In: SOARES, JLM; ROSA, DD; LEITE, VRS; PASQUALOTTO, AC. *Métodos Diagnósticos - Consulta rápida*. 2ed. Porto Alegre: Artmed, pg 45-53, 2012.

FRANKEN DR, OEHNINGER S. Semen analysis and sperm function testing. *Asian J Androl.* 14: 6–13, 2012.

JOLY MATTOS, SÍLVIA. A diferença entre fiv e icsi. 15 de outubro de 2019. Disponível em: <https://drasilviajolyattos.com.br/2019/10/15/a-diferenca-entre-fiv-e-icsi/> acesso dia 09 11 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Manual de Laboratório da OMS para Exame de Sêmen Humano e Interação Sêmen-Muco Cervical*. Singapura: Press Concern; 1980.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. *Manual de laboratório da OMS para o exame de processamento do sêmen humano*, 5ªed. 2010.

SAMPLASKI MK, AGARWAL A, SHARMA R, SABANEGH E. Nova geração de testes de diagnóstico para infertilidade: Revisão de testes de sêmen especializados. *Int J Urol.* 17, 839–47, 2010.

SIGMAN M, BAAZEEM A, ZINI A. Análise do sêmen e ensaios da função espermática: o que eles significam? *Semin Reprod Med.* 27: 115–23, 2009.

STAHL PJ, STEMBER DS, Schlegel PN. Interpretação da análise do sêmen e gestão inicial do fator masculino. *Clin Obstet Gynecol.* 54: 656–65, 2011.

STRASINGER, S.K. *Uroanálise e Fluidos Biológicos.* 3ª Edição. São Paulo: Editora Premier, 1996.

WANG C, SWERDLOFF RS. Limitações da análise de sêmen como um teste de fertilidade masculina e necessidades antecipadas de testes mais recentes. *Fertil Steril.* 102: 1502–7, 2014.