



Fotômetros da Minitube

Precisão na avaliação da concentração espermática

Rudolf Grossfeld, PhD

A Minitube oferece diferentes dispositivos para avaliar em laboratório a concentração espermática de ejaculados de várias espécies. Entre estes dispositivos estão o SDM 1 e o SDM 6. O princípio de avaliação dos dois fotômetros é baseado na análise da turbidez de uma amostra de ejaculado. A turbidez de um ejaculado se eleva com o aumento da concentração espermática.

Princípio de funcionamento dos fotômetros

Os equipamentos SDM 1 e SDM 6 da Minitube consistem de uma fonte de luz, um filtro óptico, um suporte para a amostra e um detector de luz. Esta configuração é típica para um fotômetro.

A luz emitida pela fonte é reduzida a um determinado comprimento de onda no filtro óptico e é então enviada através da amostra de sêmen. A quantidade de luz que chega ao detector depois de passar pela amostra, é então mensurada.

Quando a luz passa através da amostra, parte dela é absorvida. Essa absorção está diretamente ligada à turbidez da amostra, o que é explicado pela lei de Beer-Lambert. Assim, uma amostra de sêmen mais concentrada irá absorver mais luz do que uma amostra menos concentrada. Essa redução na luz é chamada de extinção. A precisão da redução da luz em dependência da turbidez de uma amostra é baseada nas características da amostra e no comprimento de onda da luz. Para a avaliação da concentração espermática, foi comprovado que um comprimento de onda de 546nm resulta na mensuração mais precisa.

Se a quantidade de luz que atinge o sensor óptico sem ter nenhuma fração absorvida (valor zero) for conhecida, então um fotômetro pode calcular a perda de luz, ao comparar o valor zero e o valor para a amostra. A turbidez está correlacionada com o valor de extinção. Se a turbidez e o valor de extinção de uma amostra de sêmen for conhecido, é possível calcular a concentração espermática da amostra com base na turbidez da mesma. Felizmente, podemos calibrar estes valores no fotômetro.



Calibrando a curva subjacente dos fotômetros

Para este fim, a concentração espermática de vários ejaculados de uma espécie é mensurada utilizando, por exemplo, um hemocítometro. A mesma amostra de sêmen é avaliada com o fotômetro SDM 1 e/ou SDM 6 e o valor de extinção é registrado. Este procedimento de calibração é repetido diversas vezes com diferentes ejaculados até que exemplos suficientes estejam disponíveis em todas as faixas de concentração para esta espécie. De acordo com estes valores, é calculada uma correlação. Um gráfico de exemplo e uma curva de correlação são mostrados no Gráfico 1.



Estes testes requerem um trabalho significativo, que a Minitube atribui a institutos independentes e especializados de Universidades ou outras instituições de pesquisa. Para cada espécie, as curvas individuais precisam ser calibradas.

Com base na correlação, pode ser determinada uma equação matemática que é programada no SDM 6. A partir desta equação, o SDM 6 calculará o valor da concentração espermática com base na leitura mensurada da extinção. O procedimento para o SDM 1 é exatamente o mesmo.

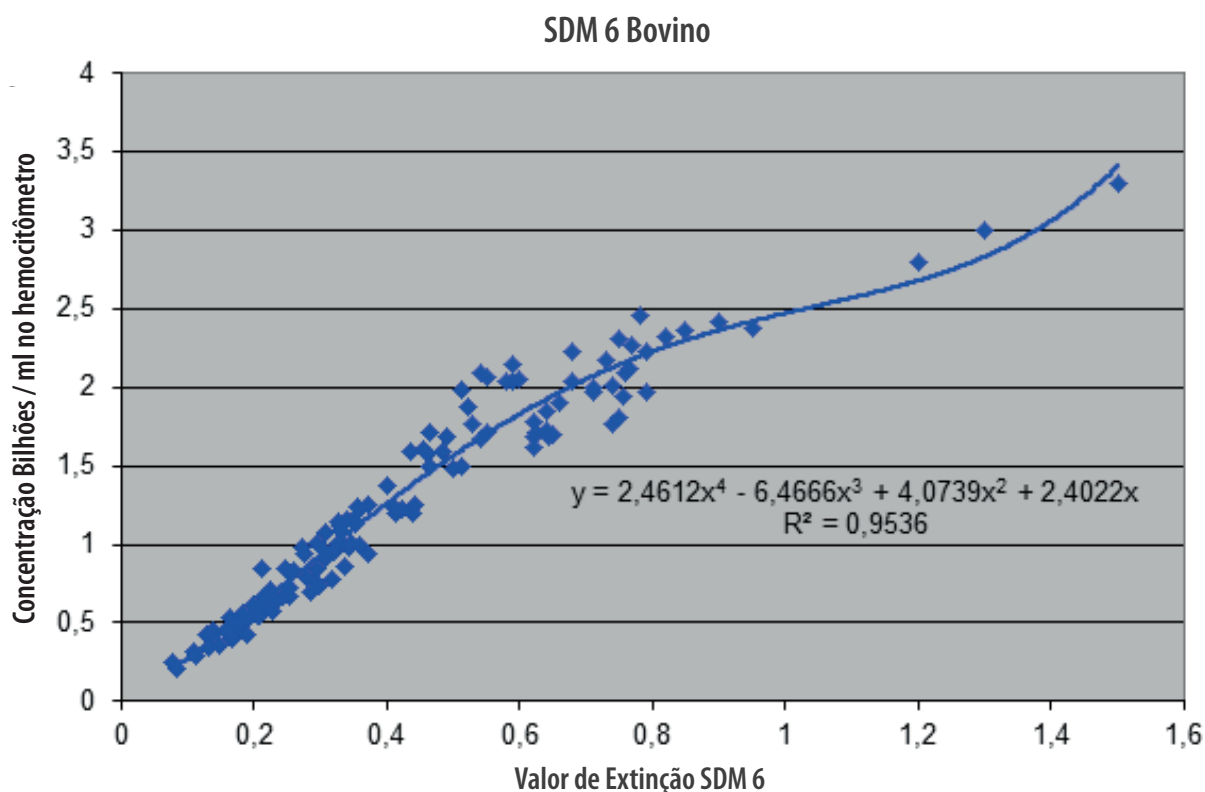


Gráfico 1: Exemplo de Calibração do SDM 6

Exatidão da correlação

Após a calibração inicial do SDM 6 ou SDM 1, o dispositivo pode calcular a concentração espermática exclusivamente com base na extinção de uma amostra de sêmen, usando a equação. A correlação da extinção e a correspondente concentração de sêmen não é linear. Isso significa que uma amostra com turbidez duas vezes maior não será duas vezes mais concentrada. Portanto, o cálculo do SDM 6 é baseado em uma equação de quarto grau. Esta equação é mostrada como fórmula e curva no Gráfico 1 e representa a correlação de extinção e concentração espermática correspondente muito melhor do que uma correlação linear.

Um valor estatístico, o chamado coeficiente de determinação (R^2) indica como os valores dos dados se encaixam em uma linha ou curva. Uma correspondência de 100% resultaria em um valor de $R^2 = 1$. O R^2 da curva do SDM 6 para bovinos, por exemplo, é 0,9536 (Gráfico 1).

Termos técnicos importantes

Turbidez: Turvação ou nebulosidade de um fluido causada pelas características do fluido.

Extinção: A perda de luz (absorção), quando um feixe de luz passa por uma amostra em um fotômetro. Provocada pela turbidez de um fluido.

Correlação: Dependência estatística de duas variáveis. Ou seja, a turbidez e a concentração espermáticas de uma amostra são altamente correlacionadas.

R^2 : Valor estatístico que descreve como os pontos de dados se ajustam a uma linha ou curva. O valor é usado para descrever o grau de uma correlação. Quanto mais próximo de 1, melhor a correlação de uma curva calculada com os pontos de dados.

Conclusão

Os fotômetros SDM 1 e SDM 6 da Minitube são calibrados por institutos especializados independentes. As amostras de ejaculados utilizadas para calcular a base para a mensuração da concentração espermática compreendem toda a faixa de concentrações de uma espécie. Equações mais elevadas são a base para mensurações de concentração a fim de obter a maior correlação possível entre a extinção e a mensuração da concentração espermática. Tudo isso resulta em uma precisão muito alta dos resultados de concentração mensurados com o SDM 1 e SDM 6.