

**Descrição e Indicações** - Diluidor para congelamento de sêmen de cães, testado em diferentes raças. Produto é composto por solução tamponada de TRIS e Ácido Cítrico (pH 6.85 ±0.25), com osmolaridade controlada (1200±50 mmOsm/kg) agregada de açúcares, lecitina de soja, glicerol e *mix* de antibióticos de amplo espectro (Gentamicina, Estreptomicina, Lincospectin e Tilosina). Solução preparada com água ultra-pura.

A lecitina de soja é produto de origem vegetal, substituído da gema de ovo na manutenção da viabilidade espermática durante o resfriamento. A gema de ovo traz benefícios porém é composta por proteínas de origem animal trazendo riscos de transmissão de doenças ao seu animal. Com uso da lecitina esses riscos são nulos e por isso tem sido utilizada na composição de diluidores de sêmen de diferentes espécies. Facilita a avaliação seminal devido limpidez e clareza do campo microscópico. Tem como crioprotetor, o Glicerol, que protege as membranas de espermatozoides de crioinjúrias ocasionadas pela congelamento e descongelamento do sêmen. Produzido sob rígidas normas de “Boas Práticas de Fabricação”, garantindo **Qualidade e Padronização** do produto.

**Apresentação** - Solução pronta para uso em bolsa estéril de 30 mL.

### Modo de usar

Recomenda-se seguir os passos descritos abaixo

- Aquecer a bolsa de **DC-CRIO** e **DC-R** à temperatura de 25°C em banho-maria por mínimo de 15 minutos antes do uso; Cuidado para não molhar o cone de injeção (local onde injeta a agulha);
- Coletar o sêmen do animal pelo método da mão enluvada, preocupando-se com higienização de pênis e prepúcio. Manter o tubo de coleta sempre sob aquecimento das mãos enquanto o manipula. Após o término da coleta, colocar o tudo em estante dentro do banho-maria a 25°C;
- Diluir o sêmen colhido com **DC-R** a **25°C** na proporção de 1:3 (para cada 01 mL de sêmen adicione gentilmente 03mL de **DC-R** a **25°C**);
- Centrifugar o sêmen previamente diluído em DC-R a 700g por 10 minutos a temperatura ambiente; Desprezar o sobrenadante;
- Diluir o pellet de espermatozoides com 01mL de **DC-CRIO** a **25°C** e manter o tubo no banho-maria a 25°C enquanto realiza a Avaliação seminal (motilidade/vigor/concentração e morfologia espermática); observar o volume obtido com a mistura do pellet + diluidor (=V1). Vide padrões mínimos recomendados para submeter um ejaculado a congelamento.
- De posse da C1 (concentração espermática por mL x10<sup>6</sup>), calcular o volume final (V2) de sêmen diluído para concentração ideal (C2) de 100 x 10<sup>6</sup> espermatozoides/mL – considerar o volume útil para palheta final de 0,25ml e para palheta média de 0,50ml. (por dose, se utilizar palheta média). Utilize a fórmula  $V1 \times C1 = V2 \times C2$ .
- Adicionar o volume de **DC-CRIO (Vf)** a 25°C necessário para atingir V2, sendo  $Vf = V2 - V1$ ; a adição de **DC-CRIO** pode ser realizada em uma única fração. Avaliar novamente
- Identificar as palhetas com Nome do Animal, RG, Raça, Data da partida (informações mínimas)
- Envasar as palhetas previamente identificadas com o sêmen diluído – **ATENÇÃO** – manipular o sêmen, palhetas e utensílios sempre sob superfície de mesma temperatura (próxima aos 25°C);
- Lacrar as palhetas (utilize álcool polivinílico)
- Transferir as palhetas envasadas para geladeira a 5°C – as palhetas devem estar bem distribuídas em uma bandeja de alumínio, forrada com papel toalha, na posição horizontal. Cobrir as palhetas com papel toalha. Manter as palhetas na geladeira por 1 hora;
- Após esse período de resfriamento, transferir as palhetas para rack de congelamento, mantendo as palhetas sob refrigeração. As racks são suportes vasados que mantêm as palhetas separadas entre si e na posição horizontal. Rack de congelamento deve ser de tamanho factível com caixa de congelamento;
- Preparar a caixa de congelamento – colocar volume de nitrogênio líquido suficiente para formar 4cm de lâmina de líquido dentro da caixa. Tampar a caixa e aguardar 10 minutos para que o ambiente interno da caixa se estabilize.
- Transferir a rack com as palhetas dentro da caixa de congelamento. **IMPORTANTE** – as palhetas devem estar a 6cm de distância do filme de nitrogênio líquido. A congelamento se dará no ambiente do vapor de nitrogênio dentro da caixa.
- Tampar a caixa de congelamento e aguardar EXATAMENTE 20 minutos.
- Imediatamente após, imergir as palhetas no nitrogênio líquido;
- Transferir as doses para o botijão armazenamento.
- Após 48hs da congelamento, descongelar no mínimo 03 doses para avaliação do sêmen congelado/descongelado.
- Descongelar as doses a 35°C por 30 segundos em água, ou 46°C por 20 segundos ou 70°C por 8 segundos.

### Recomendações

- Manusear a bolsa com higiene - **IMPORTANTE** – ao retirar o volume desejado da bolsa, sempre utilize seringa e agulha descartáveis, conectados no cone de injeção da mesma, evitando-se contaminação do meio e prejudicando seu prazo de validade.
- Não devolver o diluidor não utilizado para o interior da embalagem.
- A manipulação do ejaculado deve ser realizada sob condições de higiene e sob condições de temperatura estável – em fase de coleta e avaliação (escolher se ira trabalhar com 33 ou 25°C e evitar oscilações.; em fase de resfriamento manter no 4°C;
- O uso de pinças para manipulação das palhetas é imprescindível para evitar oscilações de temperatura indesejáveis no sêmen envasado
- **Os procedimentos de coleta, avaliação, diluição e criopreservação de sêmen devem ser sempre realizados por médico veterinário com experiência em andrologia.**
- Recomenda-se a descongelamento das palhetas em água a 35°C por 20 segundos. Água deve ser suficiente para manter palhetas na posição vertical enquanto são descongeladas e sempre com a bucha direcionada para baixo.
- **PADRÕES MÍNIMOS RECOMENDADOS PARA SE SUBMETER EJACULADOS À CONGELAMENTO:** Mot/vigor  $\geq 70/4$  e máximo de 30% de defeitos totais e 20% de defeitos menores.
- **PADRÕES MÍNIMOS RECOMENDADOS PARA SÊMEN DESCONGELADO:** Mot/vigor  $\geq 50/4$  A 0h;
- **NÃO SUBMETER A CONGELAMENTO EJACULADOS COM PLASMA SEMINAL.** RECOMENDA-SE A REMOÇÃO DO PLASMA SEMINAL POR CENTRIFUGAÇÃO – fazer diluição previa com DC-R.

### Benefícios e Diferenciais

- Solução QUIMICAMENTE DEFINIDA e pronta para uso (garantindo padronização, devido qualidade da água)
- Fácil manuseio e praticidade para uso.
- Pode ser transportado por curto período (até 7 dias) em temperatura ambiente, porém recomenda-se armazená-lo em temperatura de geladeira (0 a 8°C).
- Mix de antibióticos de amplo espectro garantindo qualidade contra crescimento microbiológico (Gentamicina, Estreptomicina, Tilosina e Lincospectin). Gentamicina atua em bactérias *gram-negativas*; Estreptomicina em *leptospiras*, Tilosina é um antibiótico macrolídeo ativo contra bactérias *gram-positivas* e algumas *gram-negativas*, porém com ação principalmente bacteriostática. Lincospectin um composto de Espectinomicina e Lincomicina para atuar sobre *Micoplasmas* e coliformes suscetíveis a essa associação como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Mycoplasma spp*, *Treponema* e bactérias anaeróbicas, bem como *Escherichia* e *Salmonella*.
- Seguro para inseminação e para quem o manipula.

### Características

- Produto de ótimo custo benefício, com rígido controle de qualidade e padronização das partidas, conferindo bom desempenho na inseminação artificial.
- Produzido em Laboratório moderno, envasado em sala limpa (Classificação ISO 08) em bolsa de polipropileno e poliestireno estéril (óxido de etileno), garantindo perfeitas condições de armazenamento.
- Fabricado com matéria-prima de alta qualidade, incluindo água ultrapura certificada.
- Confiabilidade e Conveniência.

### Advertências

- **O uso do produto não garante 100% de eficácia no processo de congelamento de sêmen. O sucesso do procedimento é dependente de vários fatores, sendo o diluidor, apenas um deles.**
- Considere a individualidade do animal como fator importante para a eficácia de aproveitamento de ejaculados. A espécie canina não vem sendo trabalhada com seleção para fertilidade e por isso muitos indivíduos não apresentam boa congelabilidade.
- Embalagens vazias devem ser destruídas e nunca reaproveitadas.
- Seguir as recomendações de uso do produto, evitando que erros de procedimento interfiram no resultado desejado.
- **Manter este e outros medicamentos fora do alcance de crianças e animais domésticos.**

### Prazo de Validade e Armazenamento

6 MESES após a data de fabricação e se mantidos entre 0- 8°C e mantendo a bolsa inviolada – Não congelar o produto enquanto estiver na bolsa.