

## TÉCNICA DA COLETA E CONTAGEM DE ESPERMATOZÓIDES EM ROEDORES

Renato Macedo Marques\*, Leonardo Toshio Oshio\*\*

Os roedores utilizados em experimentação animal como os ratos (*Rattus norvegicus*) e camundongos (*Mus musculus*), principalmente para avaliação de toxicologia reprodutiva de novos fármacos, necessitam de técnicas específicas para coleta e contagem de espermatozóides. Esses animais, devido principalmente ao tamanho reduzido, apresentam dificuldades na coleta do material a ser analisado em comparação com outras espécies animais, como as domésticas e silvestres, cuja coleta é obtida facilmente pela técnica de eletroejaculação.

A aferição da concentração de espermatozóides fornece subsídios para avaliação do estado e desempenho reprodutivo animal. A execução e padronização da técnica conforme a espécie animal é importante para a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados obtidos.

Para a execução da técnica, coleta-se uma amostra de secreção espermática, através de pequenas secções realizadas na cauda de um dos epidídimos com auxílio de tesoura de ponta fina. O material remanescente na ponta da tesoura é transferido para o 50µl de solução fisiológica em placa de Petri previamente aquecida a cerca de 36°C. O material homogeniza-se após alguns minutos e então, a motilidade espermática é verificada em microscópio óptico. Uma alíquota de 20µl é tomada dessa mistura e transferida para o volume de 6ml de água destilada para imobilização dos espermatozóides. Em seguida, as áreas superiores e inferiores da câmara de Neubauer são preenchidas com essa amostra. Adquire-se o número de espermatozóides pela média dos valores encontrados nos quatro quadrantes laterais de cada área. Pode-se realizar média da contagem das duas áreas para aumento de confiabilidade de análise.

Considerando o volume de um dos quadrantes laterais da câmara de 0,1mm<sup>3</sup> (1mmx1mmx0,1mm), o número de espermatozóides é obtido em 0,1µl. Como a unidade preferencial do espermograma é número de espermatozóides/ml, multiplica-se o valor encontrado por 10<sup>4</sup>. Esse valor é multiplicado novamente pelo fator dilucional de 300 para obtenção do valor final.

Resume-se pela fórmula descrita abaixo:

$$\text{Concentração de spz/ml} = \text{Média obtida} \times 300 \times 10^4$$

Esta técnica é rotineiramente utilizada pelo Centro de Biologia da Reprodução (CBR/UFJF) como parte da metodologia das pesquisas realizadas.

### REFERÊNCIAS

MORAES, G. E. S., **Espermocitograma**. Porto Alegre: Ed. Médica Missau, cap. 2, p. 61-93, 1994.

SÁ, R. C. S.; LIRDI, L. C.; NASCIMENTO, A. A., Morfometria do Sistema Reprodutor e Concentração de Espermatozóides na Cauda do Epidídimo de Camundongos BALB/C NA e C57 BL/6 Adultos. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 18, p. 53-56, 1998.

SÁ, R. C. S.; PETERS, V. M.; GUERRA, M. O., Concentração de espermatozóides na cauda do epidídimo de roedores utilizados em pesquisas biológicas. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 16, p. 71-78, 1997.

Correspondence Author: Leonardo T. Oshio. Adress: Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora, Caixa Postal 328, CEP 36001-970, Juiz de Fora, MG – Brazil.

\* Bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG. Tel.: 55-32-2102-3251.

\*\* Estagiário Pós-graduação – CBR/UFJF.

Recebido em: Outubro de 2008.

Aceito em: Dezembro de 2008.