

Paula Renata Cortat de Souza, André Luís Rios Rodrigues, Carlos Otávio de Paula Vasconcelos, Felipe Zandonadi Brandão, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan, Luiz Altamiro Garcia Nogueira
Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, Brasil;

1º passo - Contagem da concentração espermática na Câmara de Neubauer

A concentração espermática é o número de espermatozoides por mililitro de sêmen. Existem três formas para avaliação desse parâmetro (CBRA, 2013):

1º Espectrofotometria;

2º Método computadorizado;



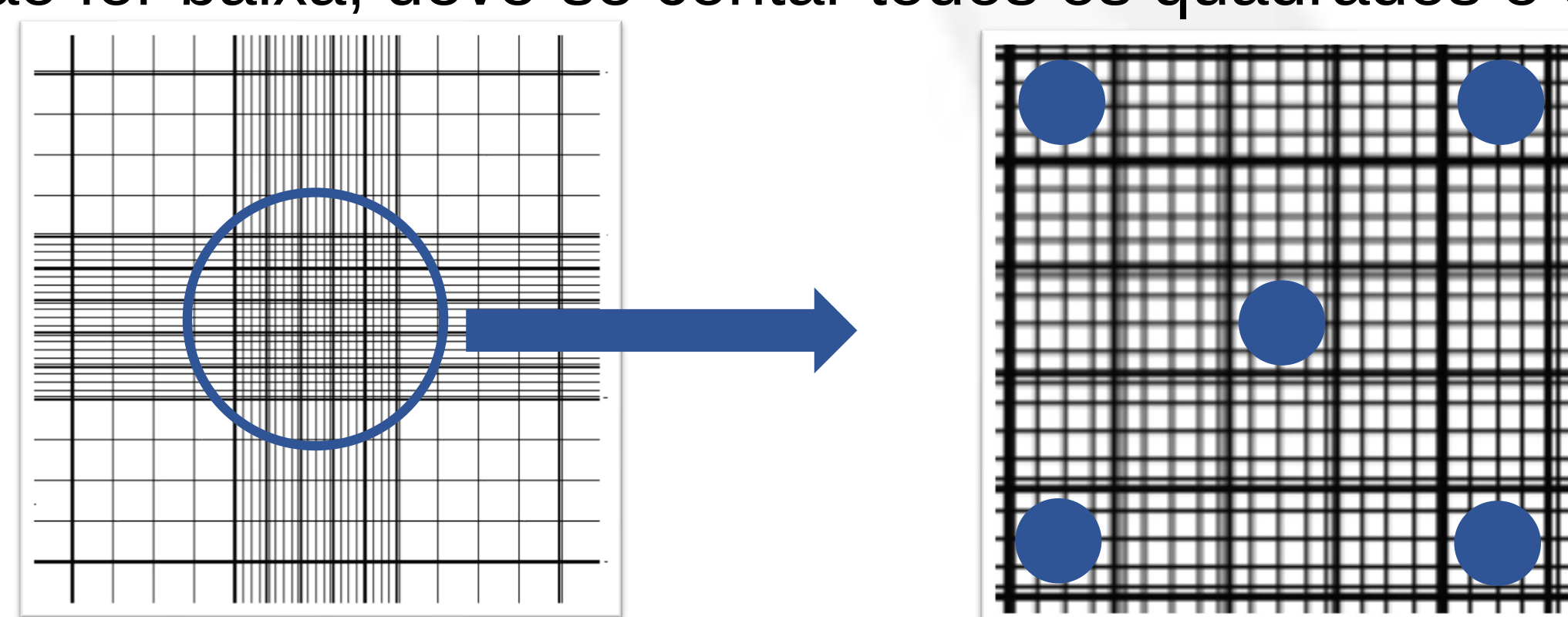
3º Contagem de células realizada ao microscópio óptico ou de contraste com auxílio da câmara de Neubauer

Preparo para contagem na Câmara de Neubauer:

- 1 Homogeneizar o sêmen coletado;
- 2 Pipetar 10 µL de sêmen em 2 mL de água destilada em tubo Falcon – diluição de 1/200 (variando de acordo com a espécie);
- 3 Limpar ponteira externamente para não adicionar células advindas do lado exterior da mesma;
- 4 Homogeneizar a amostra diluída para retirar a alíquota, pipetar e adicionar em um lado da câmara e repetir o procedimento para o outro lado da câmara de Neubauer;
- 5 Retirar o excesso com papel filtro;
- 6 Deixar decantar por 5 minutos;
- 7 Levar ao microscópio

Contagem no Microscópio:

Cada lado da câmara possui 25 quadrados, dos quais no mínimo, 5 deverão ter os espermatozoides contados, como na imagem abaixo. Deve ser feito para os dois lados da câmara e depois fazendo uma média aritmética dessa contagem. Caso a diferença da contagem dos dois lados seja maior que 10% refazer a diluição. Entretanto, se a concentração for baixa, deve-se contar todos os quadrados e considerar na fórmula.



Cálculos:

$$\text{Concentração} = N \times 5 \times 200 \times 10 \times 1000$$

Onde:

N = média dos espermatozoides contados nos dois lados da câmara;
5 = número de quadrados contados dos 25 quadrados disponíveis em 1 mm³;
200 = fator de diluição (pode variar de acordo com a espécie);
10 = fator de profundidade da câmara;
1000 = fator de correção para transformar mm³ em mL.

O resultado final, então é a concentração de espermatozoides por mL de sêmen

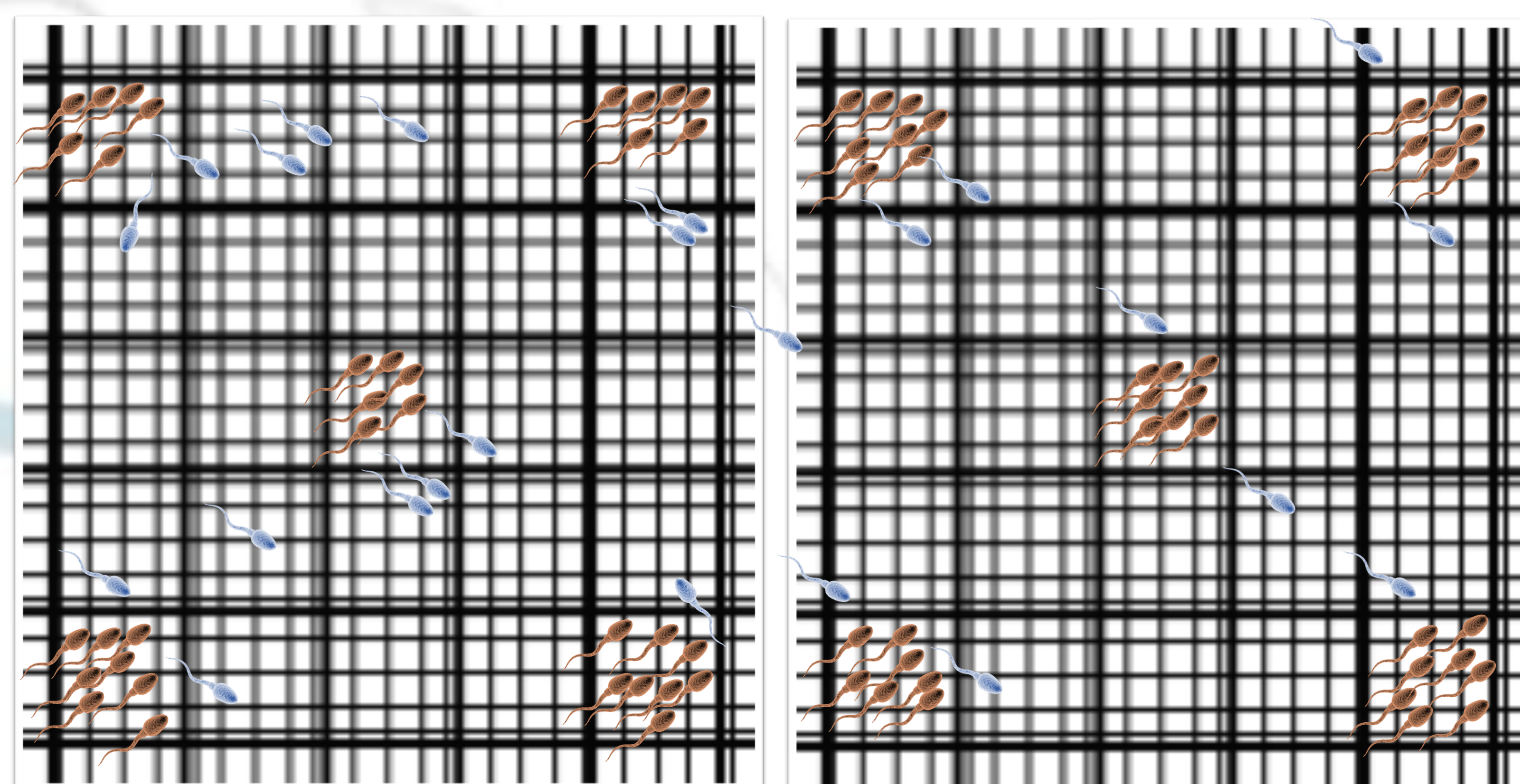
Exemplo em bovinos



Contáveis



Não contáveis



Lado 1: Contagem 34 sptz

Lado 2: Contagem 38 sptz

- ➔ Média dos dois lados da câmara: $(34 + 38)/2 = 36$
- ➔ Concentração = $36 \times 5 \times 200 \times 10 \times 1000$
- ➔ **360×10^6 sptz/mL**

2º passo – exemplo de cálculo das doses e volume do diluente para congelação sêmen bovino

1. Determinação dos espermatozoides vivos por mL (70% motilidade)

Multiplicar a concentração de sptz por mL encontrada pela motilidade
 $360 \times 0,7 = 252 \times 10^6$ sptz/mL

2. Determinação dos espermatozoides vivos no ejaculado total

Multiplicar a concentração viva de sptz por mL pelo volume do ejaculado
 $252 \times 10^6 \times 7 = 1764 \times 10^6$ sptz em 7 mL

3. Número de doses inseminantes (dose 20×10^6 vivos e 50% congelabilidade)

Dividir a concentração espermática do ejaculado pela dose inseminante
 $1764 \times 10^6 / 20 = 88,20$ doses (Aproximadamente 88 doses)

4. Determinar volume total

Multiplicar o volume da palheta pelo total de número de doses
 $88 \times 0,25 = 22$ mL

5. Determinar volume do diluente

Subtrair do volume total pelo volume do ejaculado
 $22 - 7 = 15$ mL diluente

Dados para exercício:

Dose inseminante:
20 Milhões de sptz por mL
Palheta de 0,25 mL
Volume do ejaculado: 7 mL
Motilidade: 70%

Doses de diluição sêmen para contagem para diferentes espécies (CBRA,2013):

1:10 ou 1:100 = equinos
1:200 = bovinos e bubalinos
1:100 = suínos
1:400 = pequenos ruminantes
1:20 a 1:100 = cão
1:1000 = aves
1:10000 = peixes

