

Valutazione del materiale seminale di cane



La valutazione del materiale seminale del cane rappresenta lo step fondamentale per la valutazione della fertilità nel maschio. Questa procedura prevede la determinazione, da parte del medico veterinario, del volume, del colore, del PH, della ALP (Fosfatasi Alcalina),

della percentuale di spermatozoi progressivamente mobili, della concentrazione e del numero totale di spermatozoi nell'eiaculato, della percentuale di spermatozoi morfologicamente normali e l'allestimento di un esame citologico e colturale.

La qualità del seme è influenzata da diversi fattori, quali ad esempio l'ambiente di raccolta, la presenza di patologie proprie dell'apparato riproduttivo e/o sistemiche, l'età, la razza e la stagione dell'anno. Gli esemplari molto giovani, ad esempio, o quelli anziani hanno generalmente un seme di bassa qualità.

La differenza nella qualità del seme tra razze si manifesta con un numero diverso di spermatozoi totali. Proprio come evidenziato in medicina umana questa difformità è dovuta alla quantità di parenchima testicolare, maggiore nelle taglie grandi con testicoli più sviluppati, rispetto le razze più piccole. È stato dimostrato che i meticci hanno un seme di qualità superiore rispetto ai cani di razza pura. Anche la stagione dell'anno sembra giocare un ruolo importante nell'emisfero boreale. Sembrerebbe, infatti, che nei mesi primaverili il seme abbia migliori caratteristiche rispetto al resto dell'anno e che nei mesi estivi avvenga invece una diminuzione nella concentrazione totale e nella motilità degli spermatozoi.

Nella valutazione del materiale seminale è bene tener presente che la qualità del seme è influenzata dai periodi di riposo sessuale. La qualità dell'eiaculato è migliore se i prelievi sono effettuati ad una distanza di circa 2-5 giorni l'uno dall'altro. Così come, lunghi periodi di riposo possono apportare un elevato numero di anomalie secondarie a carico degli spermatozoi, rappresentate da una diminuzione della percentuale di spermatozoi mobili con difetti morfologici, allo stesso modo, un'attività sessuale troppo intensa, cioè più di un accoppiamento ogni 48 ore, può giocare un ruolo determinante riducendo sensibilmente il

numero totale di spermatozoi per eiaculato.

Il seme canino è considerato di bassa qualità quando la percentuale di spermatozoi normali è inferiore al 60% ed inferiore al 70% è la percentuale di spermatozoi progressivamente mobili con una produzione spermatica totale minore di 300 milioni di spermatozoi.

VALUTAZIONE MACROSCOPICA

Volume: Si considera normale il volume tra 1 e 80 ml, anche se esso non è indicativo della qualità del seme essendo dipendente dalla quantità del liquido prostatico che viene raccolto dall'operatore. Sono riportati dei casi in cui alcuni cani hanno eiaculato liquido prostatico per 20 minuti. Il volume è importante, però, al fine del calcolo del numero totale degli spermatozoi.



Colore: Si considera normale un colore da bianco a opalescente. Un campione torbido va analizzato con cura, perché questa colorazione potrebbe essere data da goccioline di lipidi, batteri o da cellule infiammatorie. Il colore tendente al giallo potrebbe indicare una contaminazione con le urine o la presenza di essudato infiammatorio; il verde potrebbe indicare la presenza di materiale purulento; il colore rosso, la presenza di emazie (fenomeno recente), mentre il bruno, contaminazione con sangue meno recente, in genere di origine prostatica. Un campione trasparente indica azoospermia.

PH: Il PH della terza frazione è fisiologicamente compreso tra 6.3 e 6.7.

ALP: Si considera normale un valore di Fosfatasi Alcalina (enzima prodotto a livello epididimale) non inferiore a 5000 U/L

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

L'esame del materiale seminale deve essere realizzato il più presto possibile dopo la raccolta, ad una temperatura vicina a quella corporea ed è consigliato, per evitare shock termici pregiudizievoli per gli spermatozoi, lavorare a temperature vicine ai 37°C.

Normalmente gli spermatozoi si muovono grazie ai movimenti del flagello e nel medesimo tempo subiscono un movimento sul proprio asse longitudinale, di modo che, la loro progressione sia rettilinea.

L'esame della motilità permette di valutare tramite l'utilizzo di un vetrino a goccia pendente (vetrino di Kock) osservato ad alto ingrandimento, 100 X, la "motilità di massa",

apprezzabile alla periferia della goccia come delle vere e proprie “onde” di spermatozoi: movimenti di flusso degli spermatozoi provocati dalla loro riunione seguita dalla loro dispersione. L'esistenza di queste onde è considerata indice di buona vitalità dei gameti e di buona concentrazione degli spermatozoi.

Tuttavia l'esame della “motilità individuale”, permette di valutare con più precisione la percentuale di spermatozoi mobili e il tipo di movimento da essi compiuto. Quando ci troviamo a lavorare con del seme particolarmente concentrato è necessario effettuare una diluizione per permettere l'osservazione della motilità individuale.

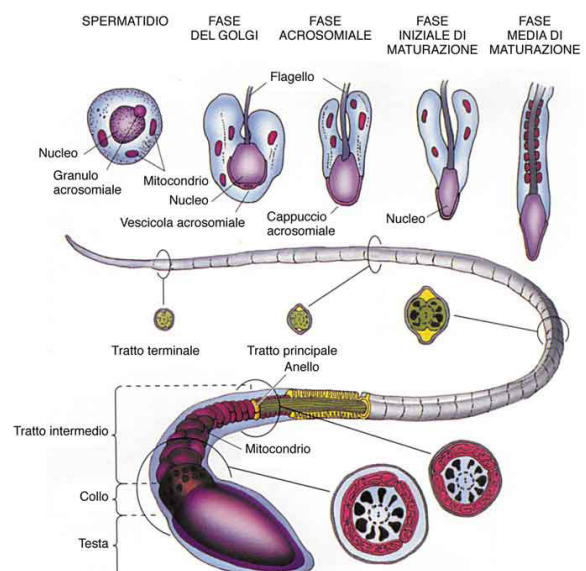
A questo scopo utilizziamo una camera contaglobuli del modello Neubauer, che come vedremo in seguito sarà necessaria anche per effettuare il conteggio degli spermatozoi nell'eiaculato. L'utilizzo della camera contaglobuli ci permette di analizzare con dei parametri oggettivi la linearità del movimento compiuto dagli spermatozoi. In questa sede è possibile valutare anche la velocità di movimento degli spermatozoi, classificandola come bassa, moderata o veloce. Proprio come avviene nella valutazione del materiale seminale della specie umana il giudizio sulla velocità e riguardo la linearità dei movimenti degli spermatozoi è ritenuta un fattore prognostico positivo nello spermioγραμμα.

CONCENTRAZIONE

La concentrazione è data dal numero di spermatozoi per ml. (millilitro) ed è dipendente dalla quantità di liquido prostatico che viene raccolto. Nella specie canina la concentrazione varia in un range che oscilla da 4 a 400 milioni per millilitro. La concentrazione può essere calcolata utilizzando uno spettrofotometro oppure, più comunemente, si utilizza una camera conta globuli del modello Neubauer. È considerato un buon eiaculato nella specie canina quel seme che ha un numero totale di spermatozoi tra i 300 milioni e i 2 miliardi per eiaculato.

MORFOLOGIA E VITALITA' DEGLI SPERMATOZOI

La percentuale di spermatozoi normali in un buon eiaculato di cane deve essere maggiore o uguale all'80 % delle cellule presenti. La valutazione morfologica e della vitalità del materiale seminale richiede il ricorso a delle colorazioni citologiche. Alcune colorazioni hanno semplicemente la funzione di far apparire meglio la morfologia



degli spermatozoi, altre, dette colorazioni vitali, permettono di differenziare i gameti morti da quelli vivi.

I difetti degli spermatozoi sono classificati in base al tratto colpito in:

- **difetti primari:** avvengono durante la spermatogenesi;
- **difetti secondari:** avvengono durante lo stoccaggio a livello epididimale o durante la preparazione del campione.

Una ulteriore classificazione è effettuabile in:

- **Difetti minori:** non associati ad infertilità.
- **Difetti maggiori:** correlati ad una diminuzione del potere fecondante.

Nella specie canina le anomalie che determinano maggiormente infertilità sono quelle che si sviluppano a carico del tratto intermedio e della sua inserzione.

CLASSIFICAZIONE DELLE ANOMALIE:

Anomalie della testa: anomalie di forma e di dimensioni, di duplicazione, di disposizione o di struttura dell'acrosoma, di affinità tintoriale.

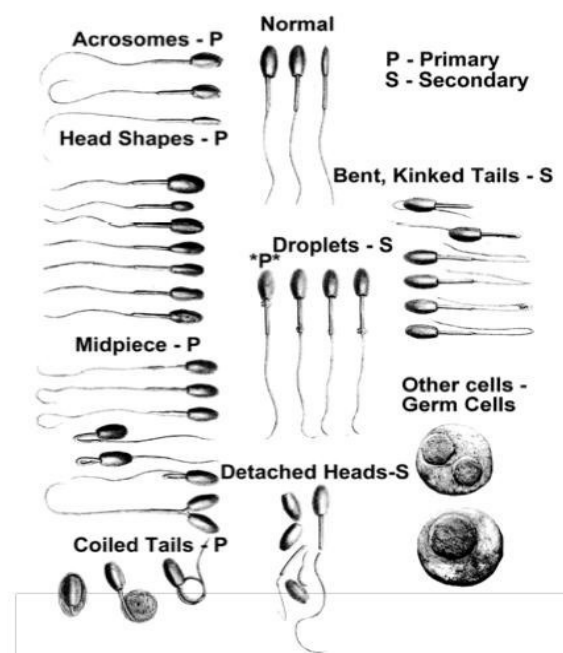
- teste doppie
- macrocefalia
- microcefalia
- testa piriforme
- testa staccata
- testa affusolata
- acrosoma granulare
- acrosoma protudente

Anomalie del collo: interessano l'impianto della testa o della coda e la persistenza della goccia protoplasmatica.

Gli spermatozoi immaturi sono provvisti della goccia protoplasmatica. Questa struttura racchiude un materiale glucidico-

lipidico residuo citoplasmatico dello spermatide. La sparizione della goccia protoplasmatica è espressione di un processo di condensazione e di disidratazione progressiva del citoplasma che accompagna la spermatogenesi e la maturazione.

- Goccia prossimale
- Goccia distale
- Collo ripiegato
- Collo doppio



Anomalie della parte intermedia: questa struttura può essere allargata, schiacciata, accorciata, doppia, mal inserita a livello della testa,.

Anomalie del tratto principale: anomalie di lunghezza, di struttura, di calibro. Questa parte può presentarsi arrotolata su se stessa, sulla testa, o essere duplicata o triplicata.

VALUTAZIONE DELLO STATO ACROSOMIALE

Il potere fecondante degli spermatozoi dipende dalla loro motilità, dall'integrità della membrana plasmatica, dallo stato di attivazione dell'acrosoma e dalla funzionalità dei mitocondri.

A tale scopo le metodiche utilizzate sono:

- Colorazione con Clortetraciclina (CTC).
- Colorazione a fluorescenza coniugata lectina agglutinina (PNA-FITC).
- Anticorpi monoclonali
- Fluorocromi specifici per ciascun settore dello spermatozoo.

L'attività mitocondriale, così come, è stato provato per gli spermatozoi di ratto, anche nel cane sembra non essere l'unica fonte di ATP. A questa funzione assolve anche un importante sistema di enzimi glicolitici posto nella guaina fibrosa del flagello.

Futuravet Srl

Largo '815, n. 10/11
62029 Tolentino (MC)

www.futuravet.it

