



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,
“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFECTIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI P9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

BIOTEHNOLOGIA ÎNSĂMÂNȚĂRILOR ARTIFICIALE LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,
“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFECTIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI P9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

P9 C12.1. IMPORTANȚA ÎNSĂMÂNȚĂRILOR ARTIFICIALE LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Însămânțările artificiale (ÎA) la animalele de companie = biotehnologie de reproducție de generația I ce permite multiplicarea descendenței unui mascul valoros dincolo de limitele biologice ale acestuia.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

1780 - Prima ÎA a fost realizată de Lazzaro Spallanzani la specia canină, utilizând material seminal proaspăt. În urma inseminării au rezultat 3 pui.

1950 – Harrop, Bendorf și Chung expediază spermă din Londra către New York și Noua Zeelandă canină diluată cu un mediu pe bază de lapte pasteurizat; în urma inseminărilor se obțin mai multe gestații.

1969 – Seager obține primul cuib utilizând spermă canină congelată.
Din 1980, respectiv 1981 - Marea Britanie și S.U.A. Recunosc puii proveniți din ÎA.

În România – ÎA la animalele de companie nu este reglementată de lege.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

ÎA la animalele de companie conferă avantaje de ordin economic, zootehnic și medical.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Avantajele economice ale ÎA la animalele de companie:

- Creșterea numărului de femele inseminate per mascul și per ejaculat.
- Elimină costurile, riscurile și timpul legate de transportul femelei.
- D.p.d.v. al proprietarului masculului, dacă acesta are un an expozițional foarte bun, inseminarea artificială permite recoltarea spermei și însămânțarea femelelor fără întreruperea activităților curente.
- Materialul seminal congelat permite reproducerea unui mascul de mare valoare o lungă perioadă de timp după moartea sa.
- Reducerea numărului de masculi per canisă/felisă (reducerea costurilor legate de întreținerea acestora).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Indicațiile clinice/medicale ale ÎA la animalele de companie:

- Deficiența anatomică la unul dintre parteneri ce nu permite monta naturală (angustia vulvară, diferența mare de greutate sau talie etc.).
- Masculul refuză monta deoarece actul montei îi provoacă durere (afecțiuni osteo-articulare etc.).
- Sunt cazuri în care masculul și femela nu se acceptă reciproc din pură antipatie, în timp ce cu alți parteneri ar fi dispuși să se monteze.
- Caracterul dominant puternic al femelei ce atrage după sine inhibarea masculului.
- Lipsa de experiență a unuia dintre parteneri poate face imposibilă monta naturală.
- Momentul nepotrivit – responsabil de 70% din cazurile de infertilitate la cățea (*Grundy, 2002*).
- Profilaxia bolilor transmisibile prin monta naturală (cum ar fi bruceloza, herpesviroza), dar și a bacteriilor comensale sau a altor boli infecțioase (de exemplu, tusea de canisă).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Avantajele zootehnice ale ÎA la animalele de companie:

- ÎA permit ameliorarea raselor prin valorificarea optimă a potențialului genetic.
- Canidele domestice reprezintă un model pentru speciile de canide sălbatice aflate în pericol de extincție.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

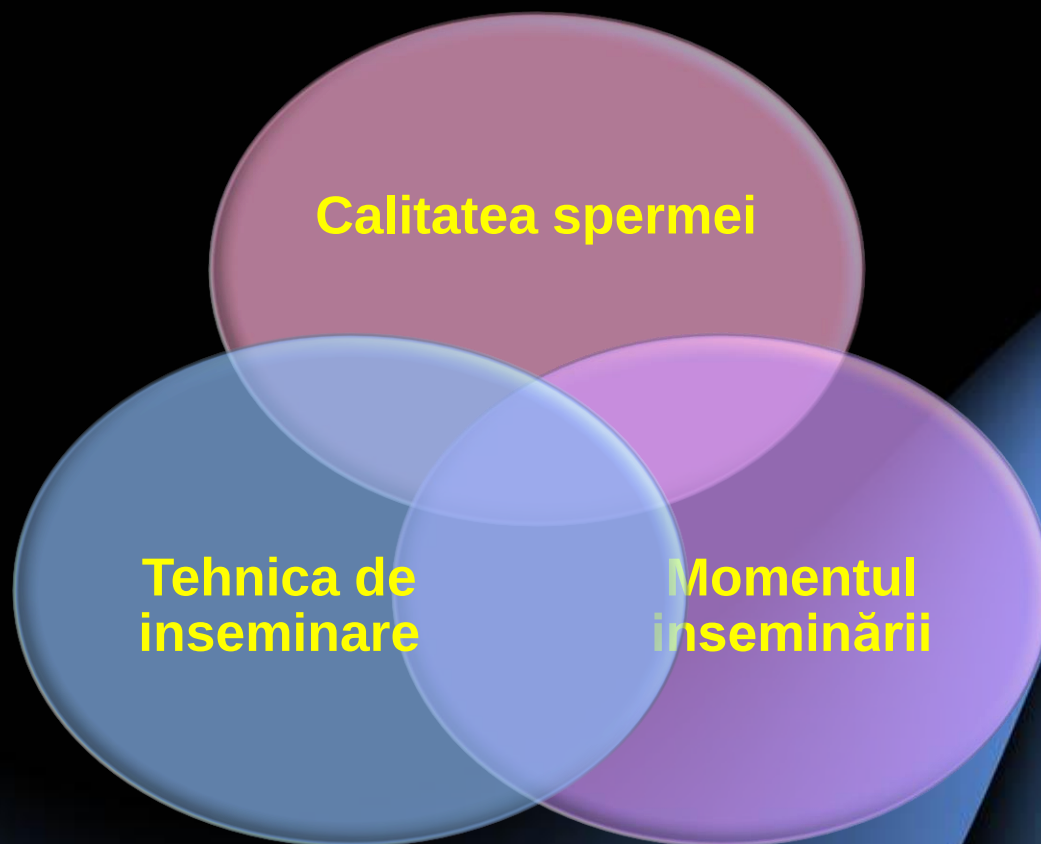


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

**Reușita ÎA depinde de
3 elemente esențiale:**





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,

“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFECTIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI 9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

P9 C12.2. METODOLOGIA RECOLTĂRII MATERIALULUI SEMINAL DE LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Ejacularea la câine se produce în trei timpi distincți :

- a. faza uretrală prespermatică (0,5 – 5 ml) – are aspect apos, limpede și este acelulară. Are natură prostatică;
- b. faza epididimară spermatică (1 – 4 ml) – este opalescentă; conține între 300×10^6 și 2×10^7 spermatozoizi;
- c. faza prostatică postspermatică (1 – 80 ml) – nu conține spermatozoizi; are origine prostatică (*Senger, 2005*).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Recoltarea materialului seminal la câine se poate face prin:

- a. Metoda manuală (masturbării) – cea mai frecvent utilizată;
- b. Metoda vaginului artificial;
- c. Electroejacularea.

Indiferent de metoda de recoltare utilizată, aceasta **trebuie** să fie precedată de examenul general al masculului, inclusiv al aparatului genital, cu efectuarea de teste specifice (ex.: examen serologic pentru bruceloză).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul clinic al câinelui de reproducție

a. Anamneza:

- Istoric complet al stării de sănătate a câinelui
- Regimul de viață (ex.: câine de expoziție, de vânătoare etc.)
- Experiența reproductivă și rezultate obținute (a montat natural?, a obținut gestații?, a mai fost recoltat?)
- Statusul vaccinărilor, deparazitărilor
- Medicația curentă (dacă este cazul)

b. **Aprecierea reflexelor sexuale:** apropierea, erecția, saltul, intromisiunea și ejacularea



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul clinic al câinelui de reproducție

c. **Examenul fizic general** pe aparate și sisteme prin termometrie, inspecție generală și locală, ascultație și palpare

d. **Examenul aparatului genital mascul:**

- examinarea testiculelor și a învelitorilor testiculare prin palpație
- examinarea penisului (pe toată lungimea porțiunii sale libere) și a furoului prin inspecție și palpație
- examinarea prostatei prin tușeu rectal

e. **Examen ecografic al testiculelor și prostatei**

f. **Examene serologice speciale** pentru bolile cu transmitere sexuală (bruceloza canină)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

a. Metoda masturbării

Prezența unei femele în călduri în sala de recoltare NU este obligatorie!

Avantajele folosirii căței în timpul recoltării sunt:

- răspunsul mai rapid al masculului la recoltare,
- volumul ejaculatului mai mare și
- o concentrație a spermei crescută.

Recoltarea se face într-o sală liniștită, în prezența unui număr minim necesar de persoane pentru a evita stresarea masculului.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

a. Metoda masturbării – tehnica de realizare

- Inițial se masează viguros penisul prin traversul furoului până la obținerea unei erecții parțiale.
- Se retrage prepuțul în spatele bulbilor penieni și se prinde penisul între degetul mare și arătător, exercitând o presiune fermă și constantă.
- Se orientează penisul ventral la un unghi de 45° folosind celelalte trei degete pentru a aplica presiune pulsatilă asupra bulbilor. Acest procedeu mimează presiunea exercitată de vagin în cazul montei naturale și permite perceperea pulsațiilor uretrei și diferențierea momentului eliminării fracțiunilor ejaculatului. Se pot observa și contracții ritmice ale anusului (*Kutzler, 2005; Linde-Forsberg, 2005; Blendinger, 2007*).
- Odată recoltarea manuală încheiată, penisul câinelui trebuie protejat de vătămări până la dispariția erecției. Câinele nu trebuie niciodată trimis acasă până când penisul nu este retras complet în prepuț.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

!! Paharele, tuburile de recoltare, pâlniile etc. trebuie să fie preîncălzite la 37°C deoarece spermatozoizii sunt sensibili la șocul termic.





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

c. Metoda masturbării

Avantaje:

- Nu necesită echipament special → este ieftină
- Ușor de realizat și în condiții de teren
- Nu este traumatizantă pentru mascul



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Electroejacularea (*Ohl și col., 1994,2001; Santos și col., 2012*)

Principiu de funcționare = Stimularea centrilor nervoși ai erecției și ejaculării din măduva lombo-sacrală, cu ajutorul unui curent electric de joasă tensiune

Echipament necesar:

- Electroejaculator cu electrod endorectal bipolar
- Pahar colector





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Electroejacularea

Tehnica de lucru:

- Anestezie generală
- cateterizarea vezicii urinare și golirea ei, precum și golirea rectului prin efectuarea unei clisme
- Se introduce electrodul în rect, în cavitatea pelvină
- Se utilizează curent electric de 60Hz, 30V și 140mA, stimularea realizându-se în cicluri de câte 10 secunde până la obținerea ejaculării

(Rouge M., 2002)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Electroejacularea

Avantaj: poate fi folosită la masculii cu impotență de copulație

Dezavantaje: - câinele trebuie anesteziat

- ejaculatul este inferior d.p.d.v. cantitativ și calitativ celui obținut prin metoda masturbării;

- uneori se poate produce ejacularea în furou sau retrogradă (spermatozoizii ajung în vezica urinară)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

c. Metoda vaginului artificial

! Imită condițiile de temperatură, presiune și lubrifiere din vaginul femelei în estru.

Vaginul artificial folosit la recoltarea spermei la câine:

- 19-20cm lungime și 5cm în diametru,
- are o diafragmă din cauciuc la extremitatea liberă care exercită o presiune similară celei vulvare
- este încălzit la temperatura de 40-42°C

Tehnica de lucru este asemănătoare cu cea de la metoda masturbării, doar că penisul în erecție este orientat în vaginul artificial.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Dezavantajele utilizării vaginului artificial :

- mărimea acestuia care nu este potrivită tuturor raselor canine
- spermotoxicitatea cauciucului din compoziție

Con colector (vagin artificial) utilizat la câine





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,

“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFEȚIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI 9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

P9 C12.3. METODE ȘI APARATURĂ MODERNĂ FOLOSITE PENTRU EXAMENUL MATERIALULUI SEMINAL LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Evaluarea materialului seminal = componentă importantă în evaluarea fertilității masculilor

Trebuie realizată :

- Ca element de rutină pentru evaluarea reproductivă a masculilor
- Înainte de inseminarea artificială
- Înainte de conservarea materialului seminal

!! Sperma trebuie evaluată cât mai repede după recoltare și manipulată corespunzător (atenție la temperatura recipientelor și soluțiilor utilizate în timpul evaluării – trebuie menținută la 37°C) (Feldman și Nelson, 1996).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Evaluarea unui câine de reproducție NU trebuie să se bazeze pe o singură evaluare/spermogramă deoarece:

- Montele/recoltările frecvente pot reduce temporar calitatea ejaculatului
- După o perioadă de repaus sexual îndelungată câinele poate ejacula numeroși spermatozoizi morți, imobili sau cu anomalii morfologice
- La masculii neexperimentați, proba recoltată poate conține doar cea de-a doua fracțiune a ejaculatului



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

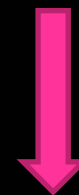
Spermograma

Ex. macroscopic



- Volum
- Culoare
- Miros
- pH

Ex. microscopic



- Mobilitate
- Concentrație
- Morfologie
- Viabilitate



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul macroscopic

- a. **Volumul** – se apreciază direct în tubul de recoltare sau se măsoară imediat după colectare pentru fiecare fracțiune a ejaculatului
- variază foarte mult (1-3 ml) în funcție de rasă, individ, greutate corporală, vârstă, frecvența ejaculărilor etc. (*Linde-Forsberg, 2005*)

Reducerea volumului ejaculatului se observă în:

- hiperplazia benignă prostatică
- chiști prostatici
- prostatite
- orhiepididimite
- uretrite



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul macroscopic

- b. Culoarea** – se evaluează subiectiv pentru fiecare fracțiune a ejaculatului
- Frațiunea prostatică – limpede, transparentă
 - Frațiunea 2 (spermatică) - alb-sidefiu spre cenușiu-translucid, este strâns corelată cu concentrația în spermatozoizi
- Prezența sângelui în ejaculat → roșu = traumatism din timpul recoltării sau proces patologic existent la nivelul aparatului genital (prostatită, balanopostită, neoplasme etc.)
- Puroiul sau urina → galben – ambele sunt nocive pentru spermatozoizi
- Absența spermatozoizilor (azoospermie) conferă un aspect apos, clar fracțiunii spermatică



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul macroscopic

c. **Mirosul** normal al spermei este caracteristic proteinei proaspete. În cazuri anormale poate căpăta miros de urină, când aceasta a pătruns în spermă în momentul ejaculării sau poate avea un miros putrid în cazul prezenței puroiului (*Davol, 2001*).

! Unele medicamente pot modifica mirosul ejaculatului

d. pH-ul

Imediat după recoltare, fracțiunea spermatică are un pH mediu de $6,27 \pm 0,3$



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul microscopic

a. Mobilitatea

- se apreciază subiectiv prin examenul microscopic (x20 sau x40) al unei picături de spermă depusă între lamă și lamelă (preîncălzite la 37-38°C): mobilitate totală și progresivă

Sperma canină normală = minimum 70% mobilitate progresivă (*Feldman și Nelson, 1996*)

Reducerea mobilității ejaculatului (astenozoospermie) se întâlnește în:

- șoc termic
- contaminarea ejaculatului cu apă, urină, sânge sau lubrifianți
- abstenență sexuală
- boli sistemice sau infecțioase (bruceloza)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Examenul microscopic

b. Concentrația = parametru utilizat pentru calcularea dozelor corecte necesare inseminării artificiale sau pentru stabilirea gradului de diluție în cazul conservării materialului seminal

La câine: $200-600 \times 10^6$ spermatozoizi/ml în fracțiunea a 2-a a ejaculatului



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



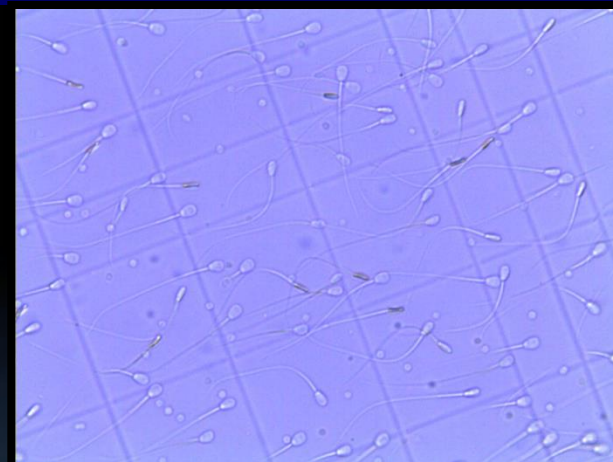
ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Concentrația

Metoda hemocitometrică presupune utilizarea camerelor de numărare Thoma și Burkert-Turk. Într-o pipetă Potain se aspiră spermă până la diviziunea 0,5, peste care se aspiră o soluție de clorură de sodiu 3% până la diviziunea 101. Se omogenizează amestecul, după care primele picături se îndepărtează, apoi se eliberează o mică cantitate în șanțul lamei, pentru a difuza prin capilaritate în spațiul grilat dintre lamă și lamelă. Citirea se realizează la microscop, prin numărarea spermatozoizilor din 80 de pătrate mici sau 5 pătrate mari. Se numără patru pătrate mari la diagonală, iar al 5-lea la întâmplare.





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Concentrația

Metoda fotolorimetrică este o metodă rapidă de numărare care se bazează pe diferitele grade de opacitate pe care le are sperma pusă în fața unui fascicol de lumină ce trece prin dreptul unei celule fotoelectrice.





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIER
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

b. Concentrația

Metoda electronică se bazează pe modificarea de către spermatozoizi a câmpului electric creat de doi electrozi din platină, plasați într-un capilar de pasaj al spermei. (Rijsselaere și col., 2002)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

În funcție de concentrația sa în spermatozoizi, sperma de câine poate fi:

- **Spermă deasă** = peste un miliard de spermatozoizi/ml - se caracterizează prin apropierea spermatozoizilor la o distanță mai mică decât lungimea capului spermatozoidului.
- **Spermă mijlocie** = 0,5-1,0 miliarde spermatozoizi/ml - distanța între spermatozoizi este egală cu lungimea capului.
- **Sperma rară** = sub 0,5 miliarde spermatozoizi/ml - distanța între spermatozoizi este mai mare decât lungimea capului, ajungând până la lungimea unui spermatozoid (*Groza și col., 2002*).
- **Oligospermia** prezintă în câmpul microscopic 5-10 spermatozoizi.
- **Azoospermia** sau lipsa spermatozoizilor în câmpul microscopic.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

c. Viabilitatea spermatozoizilor = este echivalentă cu integritatea membranei plasmatică

- Colorații intravitale (eozină-negrozină):
 - eozina penetrează doar membrana plasmatică lezionată (spermatozoid mort) colorând celula în roz, pe fundalul cenușiu furnizat de negrozină (*Peña Martinez, 2004*)
 - spermatozoizii vii apar albi pe un fundal negru, cu un contur apical bine delimitat
 - spermatozoizii care și-au pierdut acrozomul au un contur apical pătat cu negru, fără o punte clar delimitată





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

c. Viabilitatea spermatozoizilor

- Testul hipoosmotic: Proprietatea cozii spermatozoidului de a se balona în mediu hipoosmotic este un semn al desfășurării normale a transportului transmembranal al apei (*England și Plummer, 1993; Kumi Diaka, 1993*)
=> fenomenul de balonare poate fi considerat un semn al integrității funcționale a membranei spermatice

Tehnica de lucru:

- 100 μl de soluție hipoosmotică de 100 mmol de sucroză + 10 μl spermă se incubează la 37°C timp de 1 minut
- se examinează imediat la microscopul în contrast de fază cu obiectiv 400x un număr de 200 de spermatozoizi și se clasifică în patru categorii:
 1. Spermatozoizi cu coada curbată/răsucită și cu mișcare flagelară de orice tip;
 2. Spermatozoizi cu coada curbată/răscusită, imobili;
 3. Spermatozoizi cu coada dreaptă, imobili;
 4. Spermatozoizi cu coada dreaptă, mobili.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

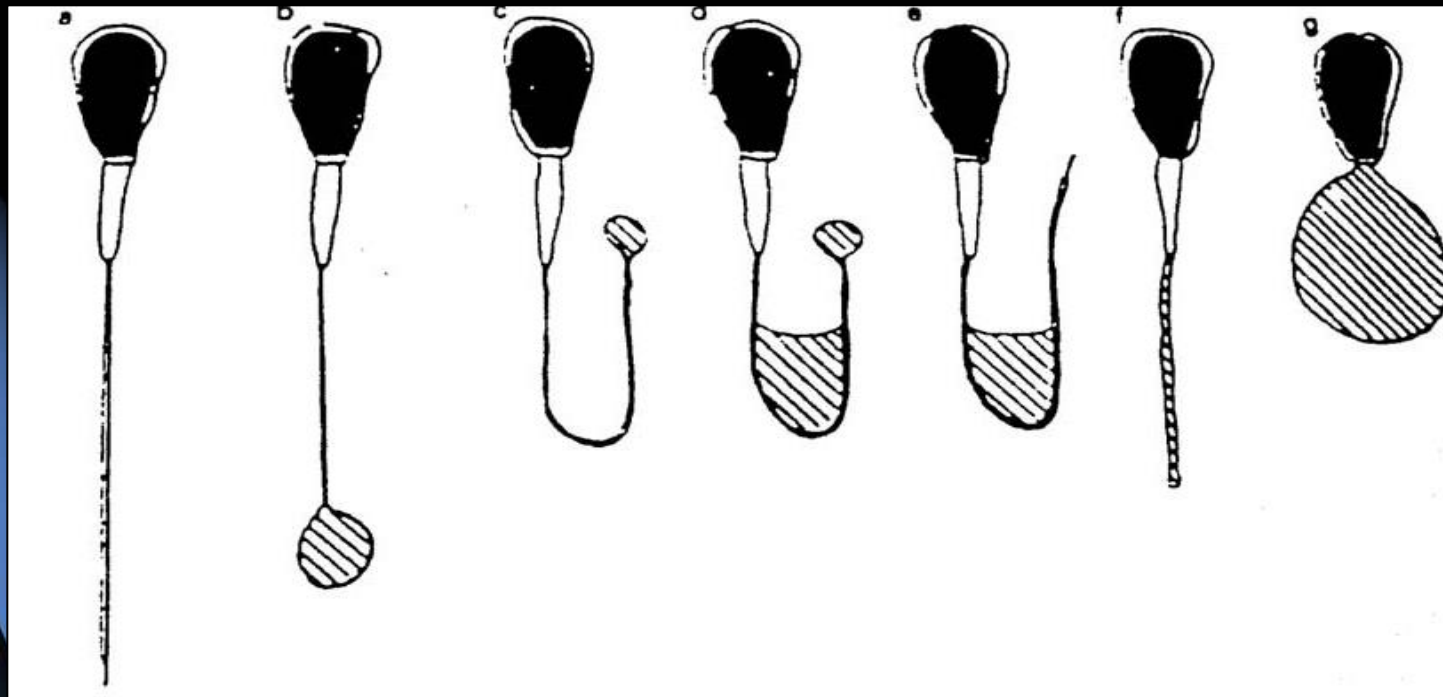


ORGANISMUL INTERMEDIER
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Reprezentarea morfologiei spermatozoizilor care au reacționat pozitiv la testul hipoosmotic (b – g) și a celor cu răspuns negativ (a) (*după England și Plummer, 1993*)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

d. Morfologia spermatozoizilor

- se apreciază imediat după recoltare prin examen microscopic, cu sau fără colorare prealabilă și oferă indicii importante referitoare la capacitatea fecundantă a spermatozoizilor din ejaculat
- La ora actuală există mai multe tehnici de colorare pentru evaluarea morfologiei spermatice (metoda Diff Quick, Wright, albastru de metilen, violet de gențiană, tuș de China, eozină-negrozină etc.), dar se preferă colorațiile care permit și evidențierea acrozomului: colorația Spermac® (*Jacquet, 2003*), albastru tripan-Giemsa etc.

✓ În funcție de localizare:

- anomalii ale capului
- anomalii ale gâtului
- anomalii ale cozii

✓ În funcție de originea lor:

- anomalii primare – au originea în timpul spermatogenezei
- anomalii secundare - apar în timpul tranzitului epididimar al spermatozoizilor sau în urma preparării materialului seminal



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

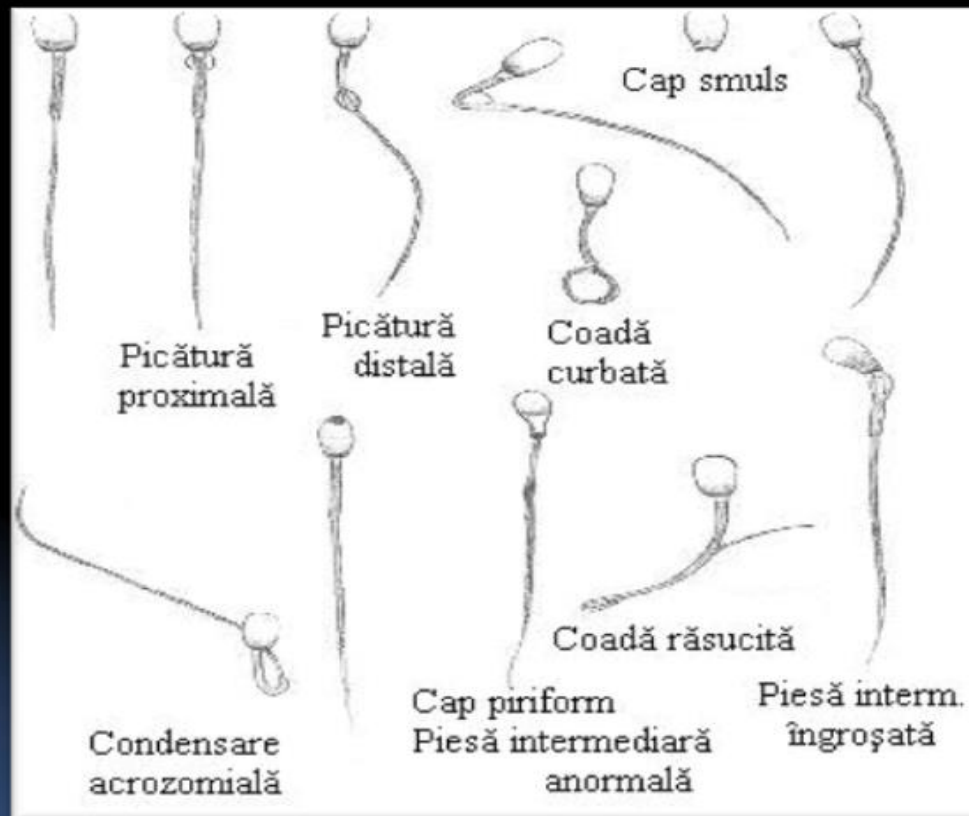


ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Exemple de anomalii spermaticice (adaptare după *Nelson și Couto, 2003*)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

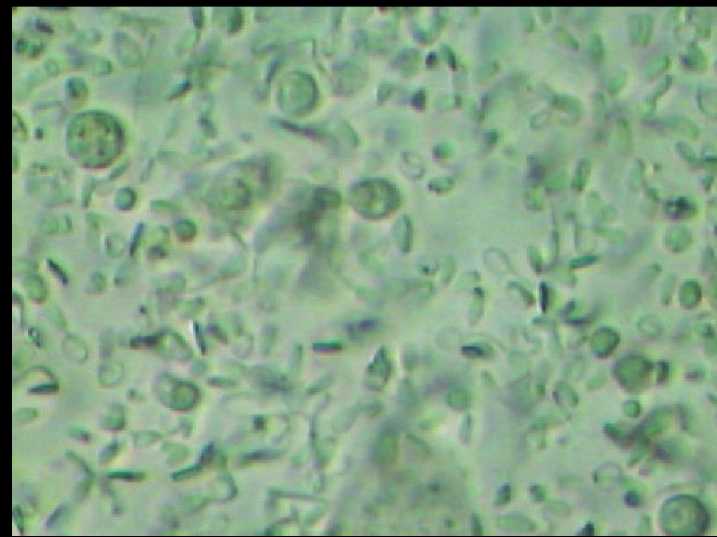
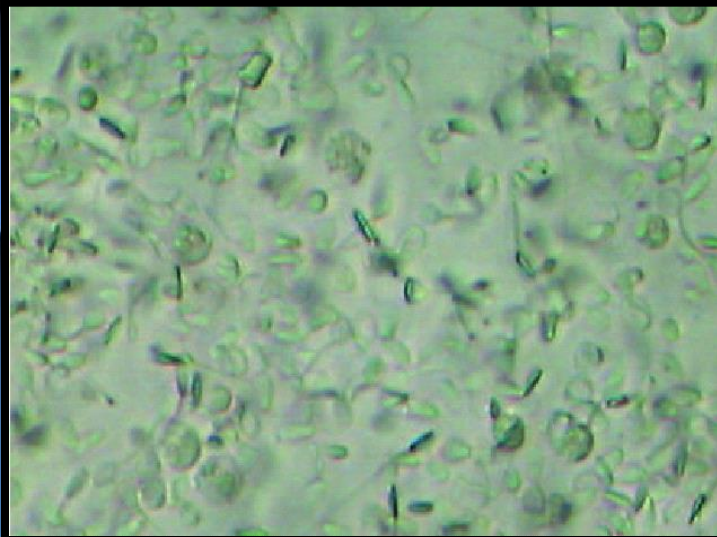


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Frotiu direct spermă (10x) – spermatozoizi morți, cu capete detașate și coadă în bici. Se observă multă celularitate în frotiu (original)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Sistemele de analiză computerizată a spermei (CASA)

CASA sunt bazate pe captura succesivă de imagini care provin de la un microscop, digitalizarea lor, identificarea celulelor spermatice pe care le conțin primele imagini, urmărirea acestor celule în imagini succesive, stabilirea traiectoriilor și în final, expunerea rezultatelor. Aceste rezultate reflectă o serie de măsurători derivate din analiza deplasării în două planuri ale capului spermatozoidului (*Rijsselaere și col., 2005; Schäfer-Somi S., Aurich C., 2007*).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

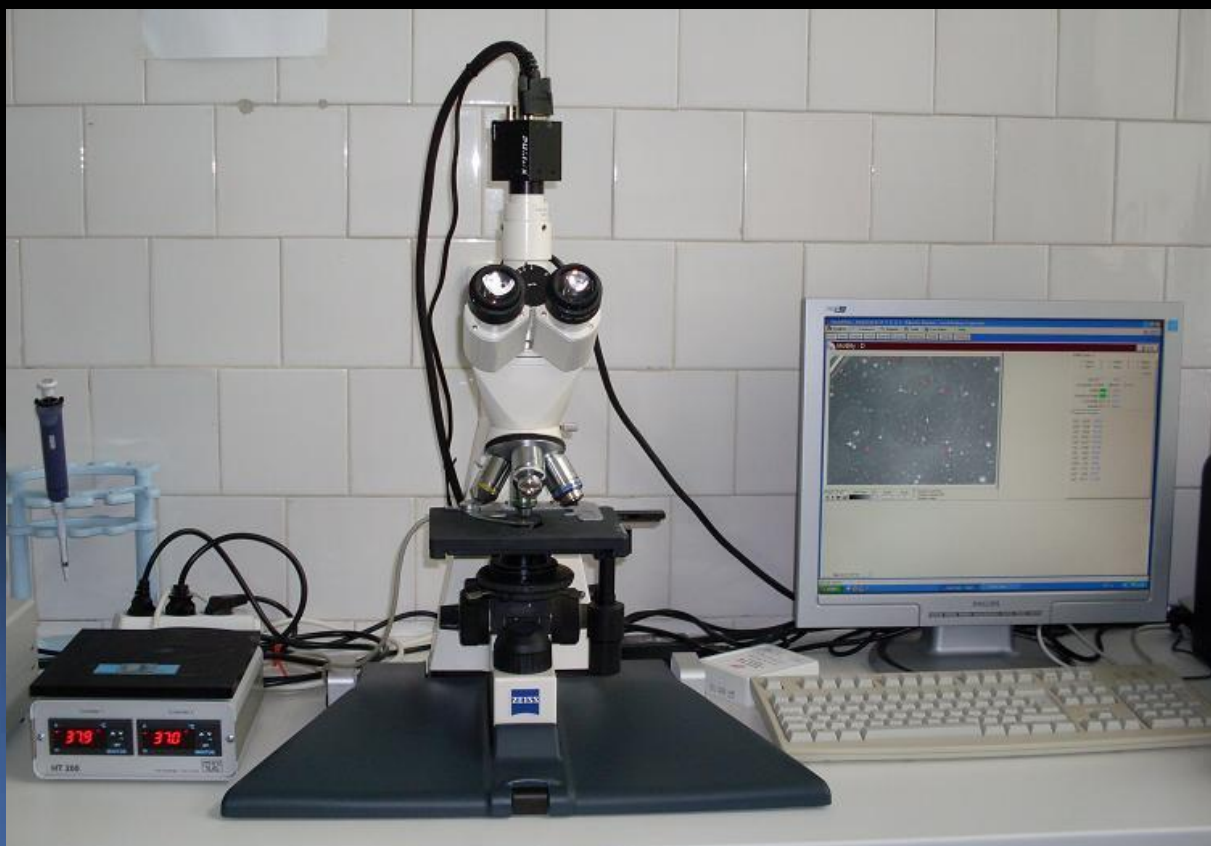


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Sperm Vision[®] (CASA, Minitube) – de remarcat sistemul de încălzire asociat





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

CASA permit obținerea de informații cât mai precise și obiective cu privire la proporția de celule spermatozoare motile și calitatea mișcărilor acestora.

Principalii parametrii care se evaluează sunt:

- VSL (viteza rectilinie);
- VCL (viteza curbilinie);
- VAP (viteza traiectoriei medii);
- AHL (amplitudinea deplasării laterale a capului);
- STR (rectitudinea);
- LIN (linearitatea);
- WOB (oscilația);
- BCF (frecvența bătailor cozii).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Avantajele CASA:

- Evaluare obiectivă și rapidă a ejaculatului
- Precizie mare a determinărilor (rezultatele se bazează pe evaluarea unui număr mare de celule spermaticice)
- Permit detectarea unor schimbări subtile în mișcarea spermatozoizilor care nu ar putea fi identificate de analizele convenționale

Dezavantajele CASA:

- Costul ridicat al echipamentelor și consumabilelor
- Nevoia de standardizare și validare al sistemului înainte de folosire



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Colorațiile fluorescente și citometria în flux

Metodele de colorare clasice utilizate în microscopia optică nu sunt adecvate pentru evaluarea spermei congelate-decongelate, deoarece glicerolul și gălbenușul de ou, componente esențiale ale mediilor de crioconservare utilizate pentru sperma de câine, interferă cu majoritatea fixatorilor utilizați în cadrul colorațiilor diferențiale



S-au dezvoltat numeroase colorații fluorescente pentru a evalua diferite caracteristici ale spermei de mamifere (diacetatul de carboxifluoresceină – CFDA, iodura de propidiu – PI, Hoechst 33256), putându-se analiza prin flow citometrie sau microscopie fluorescentă:

- proporția de celule vii și moarte,
- funcția mitocondrială,
- integritatea membranei spermatice și a acrozomului,
- statusul capacitării,
- concentrația de calciu intraspermatozoidal,
- structura cromatinei spermatice sau conținutul în AND (*Peña Martinez, 2004*).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



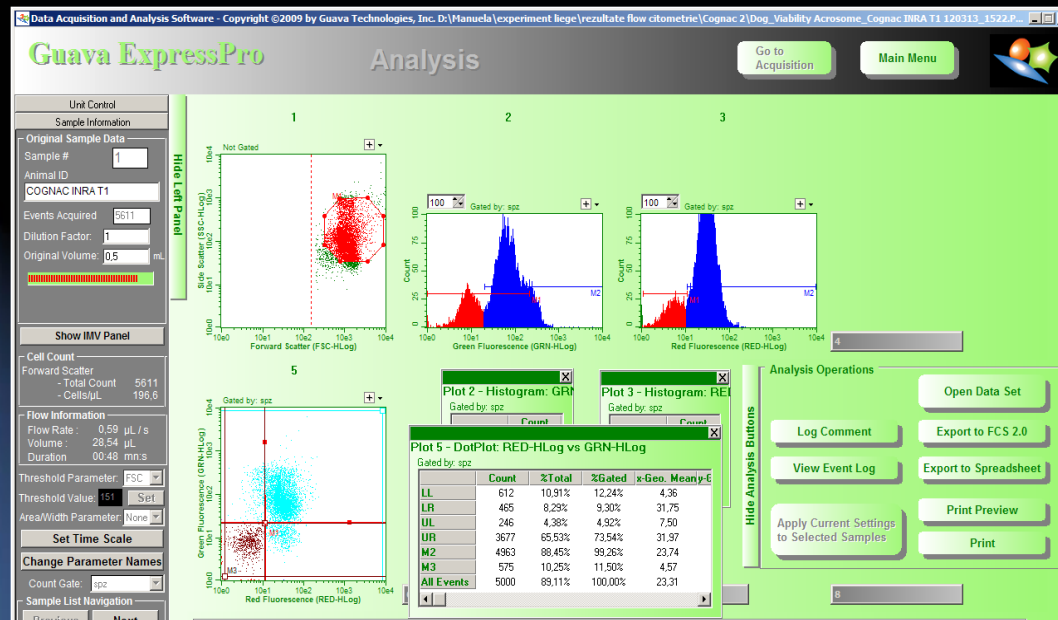
ORGANISMUL INTERMEDIER
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citometria în flux continuu a devenit metoda cea mai utilizată deoarece permite examinarea simultană, obiectivă și precisă a mai multor caracteristici dintr-o singură probă de spermă, mii de celule fiind analizate într-un interval scurt de timp.

Ecran de rezultate furnizat de citometrul de flux Guava EasyCyte® (original) – colorație PI-PNA (viabilitate și status acrozom)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Colorația cu antibioticul fluorescent clortetraciclină

(CTC) = probă utilă pentru stabilirea statusului acrozomului + observarea progresului capacitării spermatozoizilor.

CTC se leagă de calciul ionic intracelular formând un complex CTC-Ca cu o emisie crescută a fluorescenței, astfel producând o secvență caracteristică care permite identificarea a trei subpopulații de spermatozoizi:

- necapacitați și cu acrozom intact (modelul F),
- capacitați și cu acrozom intact (modelul B),
- capacitați și cu acrozom reacționat (modelul AR) (*Jacquet, 2003*).

• CTC + Hoechst 33258 = se testează simultan și viabilitatea spermei, asigurându-ne că statusul capacitării este determinat doar pentru spermatozoizii viabili.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Spermatozoizi de câine colorați cu clortetraciclină și Hoechst 33258 demonstrând (A) modelul F, (B) modelul B și (C) modelul AR (după Hewitt și England, 2001)



A



B



C



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,
“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFECTIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI 9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

P9 C12.4. METODE ȘI APARATURĂ MODERNĂ IMPLICATE ÎN CONSERVAREA MATERIALULUI SEMINAL LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Principiul conservării spermei = reducerea temperaturii determină o scădere a activității metabolice a spermatozoizilor permițând stocarea lor

La ora actuală, conservarea spermei se realizează prin:

✓ **congelare** = asigură păstrarea pe termen lung, practic infinit a materialului seminal

✓ **refrigerare** = modalitate de conservare pe termen scurt, mergând de la câteva ore la 4 – 7 zile

În cadrul protocoalelor de conservare a spermei se utilizează doar cea de a doua fracțiune a ejaculatului. Se conservă doar sperma de bună calitate: mobilitate totală peste 70 – 80% și maximum 20 – 30% anomalii.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Refrigerarea spermei canine

Protocol de lucru:

- sperma se centrifughează (eliminarea completă a fluidului prostatic)
- se diluează materialul seminal

Diluantul protejează membranele spermatozoizilor de șocul provocat de modificarea de temperatură și de transport, asigurând în același timp rezerva energetică și menținerea constantă a pH-ului și presiunii osmotice.

Există mai mulți diluanți comerciali pentru refrigerarea spermei, majoritatea necesitând adăugarea gălbenușului de ou.

!!! Înainte de a dilua materialul seminal, trebuie să ne asigurăm că sperma și diluantul se găsesc la aceeași temperatură (de regulă, temperatura camerei).

- sperma diluată este răcită și menținută la 4°C 30-60 de minute
- poate fi transportată într-un termos sau într-o ladă frigorifică. Fiola în care se află materialul seminal diluat trebuie izolată de contactul direct cu gheața pentru a preveni o răcire accentuată a acesteia
- Înainte de inseminare, sperma refrigerată se încălzește lent la temperatura camerei



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Refrigerarea spermei canine

Avantaje:

- ✓ rată de fertilitate similară spermei proaspete,
- ✓ tehnica de lucru este mai puțin complicată,
- ✓ costurile totale sunt mai mici față de sperma congelată

Dezavantaje:

- ✓ poate ajunge moartă sau congelată la destinație, fie datorită ambalării improprie, fie din cauza lipsei de control asupra temperaturii pe parcursul drumului
- ✓ necesită o bună coordonare și planificare între proprietari și medicul veterinar determinată de durata sa mai scurtă de viață



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Congelarea spermei canine

Avantaje:

- ✓ stocare pe termen nelimitat, practic infinit
- ✓ permite schimbul internațional, condițiile de transport și de utilizare a sa fiind bine reglementate

Dezavantaje:

- ✓ rezultate variabile obținute după decongelare chiar și în cazul aceluiași individ
- ✓ cost ridicat al echipamentelor utilizate
- ✓ necesitatea realizării congelării doar în centrele specializate (pentru ca monta să fie recunoscută)

(Rijsselaere și Rodriguez, 2002; Rota și col., 1998; Stănescu și Bîrțoiu, 2010; Tulcan, 2005)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Etapele congelării spermei canine

1. Centrifugarea

- eliminarea fluidului prostatic
- standardizarea concentrației finale
- 600-700 g 5-10 minute

2. Diluarea

Diluantul trebuie să fie :

- izoton cu sperma,
- să aibă un pH cuprins între 6,9-7,1,
- să asigure suportul nutritiv pentru spermatozoizi (glucoză, fructoză),
- să conțină agenți crioprotectori (glicerol),
- să aibă o acțiune stabilizatoare, să aibă acțiune antioxidantă și antibacteriană (penicilină, streptomycină)

3. Ambalarea

- Paiete de 0,25 sau 0,5 ml

4. Echilibrarea

- permite spermatozoizilor să dezvolte o rezistență mai mare față de șocul termic asociat congelării
- 1-4 h la 4°C sau la t° camerei

5. Congelarea

- Protocol automat dinamic
- Protocol manual static
- Ultrafreezere

6. Decongelarea

- în baie de apă la temperatura și pentru intervalul de timp recomandat în protocolul de congelare utilizat, deoarece s-a descoperit o corelație între vitezele de congelare și de decongelare
- paielele de 0,5 ml în baie de apă la 70°C timp de 8 secunde



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

La ora actuală există mai multe metode de congelare, fiecare cu setul său de substanțe tampon, crioprotectoare și protocol de congelare.

- *metode marcă înregistrată* = necesită cumpărarea unei francize pentru a fi utilizate (Canine Cryobank, CLONE, International Canine Semen Bank (ICSB), Synbiotics și altele)
- *metode publicate în literatura de specialitate* (diluantul norvegian, diluanții Uppsala-Equex system 1 and 2, diluantul CERREC, diluantul CERCA).

Compoziția diluantului	Diluare-echilibrare	Congelare	Decongelare	Motilitate postdecongelare (%)
Metoda norvegiană (Andersen)				
Tris, fructoză, acid citric, gălbenuș de ou	Centrifugare 6 min la 700g	4 cm deasupra azotului lichid (NL)10 min, imersare în NL	8 sec. la 70°C	69±3,2
Metoda England				
Tris, fructoză, acid citric, gălbenuș de ou, penicilină, streptomycină	Diluare 1:4, echilibrare 4h la 5°C	4 cm deasupra NL timp de 10 min	70°C, 6 sec	
Metoda Uppsala				
Uppsala I: Tris, acid citric, glucoză, gălbenuș de ou, streptomycină, benzilpenicilină Uppsala II: Tris, fructoză, acid citric, gălbenuș de ou, streptomycină, benzilpenicilină Mediu de decongelare: varianta I fără G și gălbenuș de ou	Diluție 1:1 fr. A: sperma, 40min la 15°C; 30 min la 4°C Adăugare fr. B	20, 13, 7 cm deasupra NL timp de 2, 2, respectiv 1 min imersare în NL	1 min. 38°C	53,4±5,6
Metoda CERCA				
Tris, fructoză, acid citric, gălbenuș de ou, penicilină, dihidrostreptomycină	Echilibrare 30 min 4°C	10 min. la -70°C imersare în NL	45 sec. 37°C	>40%



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007 -2013,

“Investește în oameni!”

Titlu Proiect: **PERFEȚIONAREA RESURSELOR UMANE DIN MEDICINA VETERINARĂ**

ID Proiect: **POSDRU/81/3.2./S/58833**

DENUMIREA PROGRAMEI 9: **APARATURĂ MODERNĂ UTILIZATĂ ÎN PATOLOGIA REPRODUCȚIEI,
AMELIORARE ȘI SELECȚIE ANIMALĂ**

P9 C12.5. METODE ȘI APARATURĂ MODERNĂ FOLOSITE PENTRU INOCULAREA MATERIALULUI SEMINAL LA ANIMALELE DE COMPANIE

Formator: Prof. univ. dr. Alexandru ȘONEA
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ BUCUREȘTI



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Inocularea materialului seminal constă în depunerea materialului seminal în căile genitale femele.

Principii care trebuie respectate la inocularea materialului seminal:

- inocularea să se realizeze în *momentul optim* pentru specie
- depunerea materialului seminal să se facă la *locul de elecție* caracteristic speciei și tipului de material seminal utilizat
- instrumentarul folosit la inseminare să fie *steril* și *încălzit* la 38°C
- să se *evite traumatizarea* mucoasei vestibulo-vaginale, cervicale sau uterine în timpul inoculării.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Indiferent de tipul de material seminal utilizat (spermă proaspătă, refrigerată sau congelată) și de metoda de inseminare, momentul ales pentru realizarea IA este crucial pentru reușita demersului și a obținerii fertilității maxime.

!!!! Cea mai frecventă cauză a infertilității la cățea este reprezentată de monta/inseminarea la momentul nepotrivit



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIER
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Date fiziologice – cățea

- *Pubertatea* apare în medie la vârsta de 6-12 luni
 - Femelele din rasele de talie mică ajung la pubertate mai devreme
- La cățea, dezvoltarea foliculară conduce la apariția primei ovulații la pubertate. Se pare că începe în mod brusc, fără valurile anovulatorii ale creșterii foliculare prezente la alte specii.
- *Viața reproductivă* durează până la 7-9 ani
- *Femelă diestrică* (prezintă 2 cicluri sexuale pe an), existând și rase monoestrice (ex.: Basenji), dar și femele care prezintă 3 cicluri sexuale pe an
- *Ciclul sexual*: proestru (3-20 zile), estru (3-21 zile), metestru/diestru (30-90 zile) și anestru (2-4 luni).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Ciclul sexual la cățea

- În timpul proestrului femela se află sub influența estrogenilor, dar nu și a progesteronului.
- Prima creștere a concentrației serice a progesteronului este corelată cu peak-ul LH-ului. Valul de LH (hormon luteinizant) este fenomenul care va declanșa ovulația în 30-48 ore.
- În mod particular, ovocitele la cățea sunt eliberate într-un stadiu prematur (ovocite primare) și nu pot fi fertilizate imediat. Este nevoie de încă 48 de ore pentru desfășurarea celei de a doua diviziuni meiotice și eliberarea primului globul polar, fenomen în urma căruia rezultă ovocitele secundare mature.
- Ovocitele rămân viabile 4-5 zile în tractul genital femel, după care suferă fenomene de degenerare și nu mai sunt fecundabile.

Perioada fertilă la cățea începe la 2 zile după ovulație și durează 3-4 zile



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Monitorizarea ciclului sexual la cățea

- Citologie vaginală
- Dozarea progesteronemiei
- Vaginoscopie
- Examen ecografic
- Măsurarea rezistenței electrice a secreției vaginale

Ideal = combinarea a cel puțin 2 metode de monitorizare a ciclului sexual la cățea



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală

Variațiile hormonale care se produc în cursul diferitelor stadii ale ciclului sexual au repercusiuni asupra multiplicării și diferențierii celulelor epiteliului vaginal .

- Examenul citovaginal trebuie urmărit în dinamică (examinări repetate la interval de 2-3 zile)
- Nu oferă suficientă exactitate în stabilirea momentului optim pentru montă sau înșămânțare artificială ➡ se recomandă completarea examenului citologic cu alte examene



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală

Tehnica de realizare:

- se introduce un tampon de vată printre labiile vulvare în vagin. Tamponul se orientează cranio-dorsal pentru a evita recoltarea celulelor din fosa clitoridiană. Odată tamponul ajuns cranial de orificiul uretral, acesta este rotit lent pentru a exfolia și recolta celulele.
- După retragerea tamponului din vagin, celulele sunt transferate pe o lamă de microscop curată prin rularea tamponului pe suprafața acesteia.
- lamele se usucă la aer, se colorează (May-Grünwald Giemsa (MGG) sau Giemsa rapidă, Harris-Shorr, Papanicolau, hematoxină-eozină, Romanowsky etc.) și se examinează la microscop.
- Interpretarea frotiului vaginal constă în clasificarea celulelor întâlnite, evaluarea aspectului și cantității de mucus, stabilirea indicilor citovaginali și corelarea tuturor acestor date în vederea stabilirii fazei ciclului sexual



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



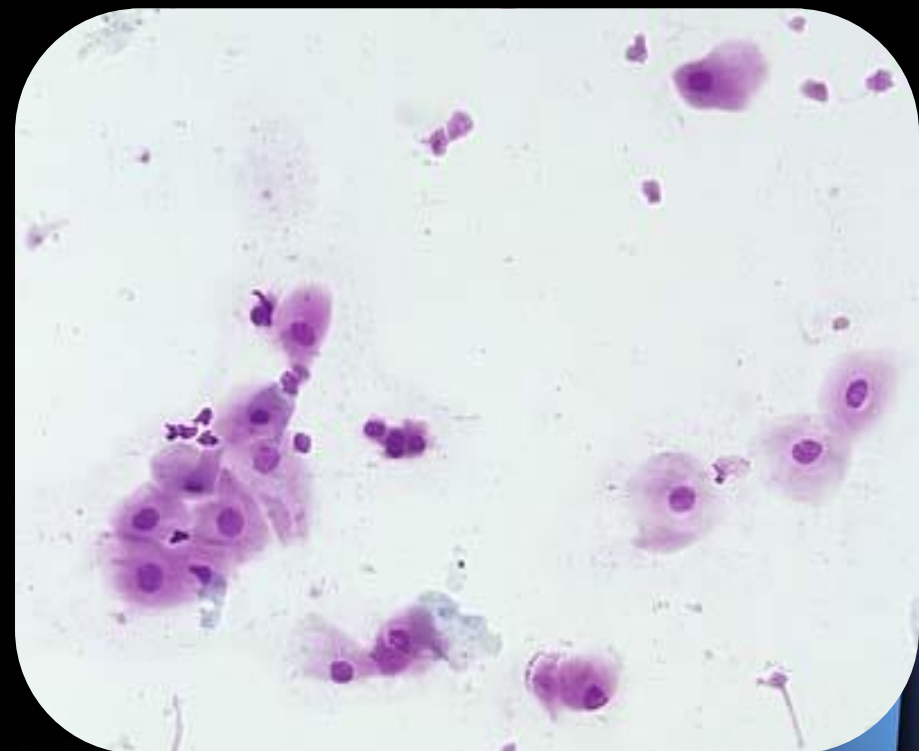
ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală - anestru

- Sărac în celule
- Celule parabazale mici, rotunde, cu nucleu mare
- Celule intermediare mici
- Nuclei izolați
- Leucocitele polimorfonucleare sunt în număr redus
- Eritrocitele lipsesc
- Fond neclar





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



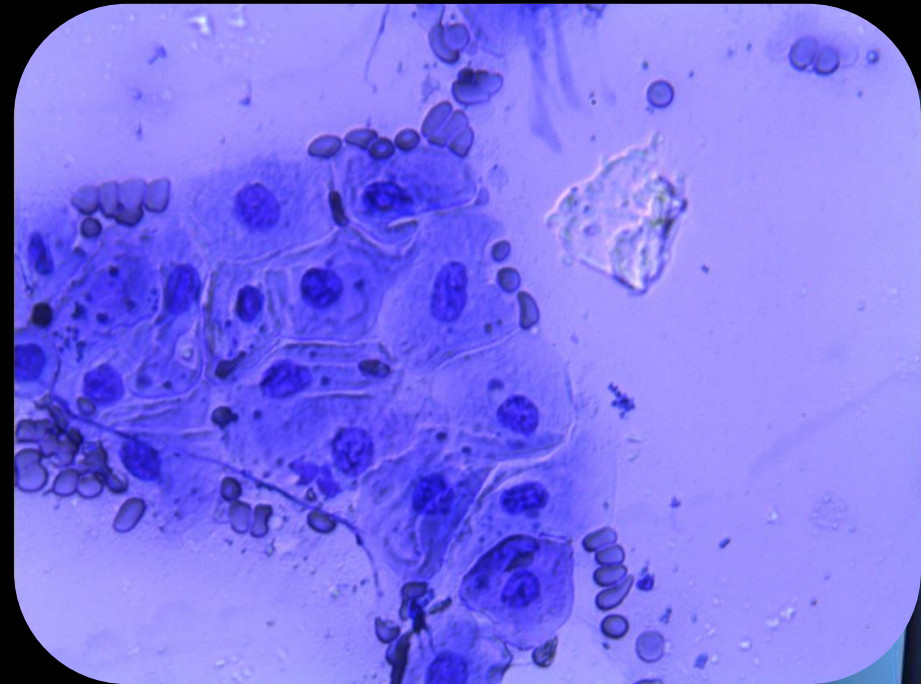
ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală – proestru timpuriu

- Creștere numărul de celule epiteliale vaginale.
- Predomină celulele intermediare
- Eritrocitele sunt prezente în număr mare
- Leucocitele lipsesc
- Colorația este bazofilă





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



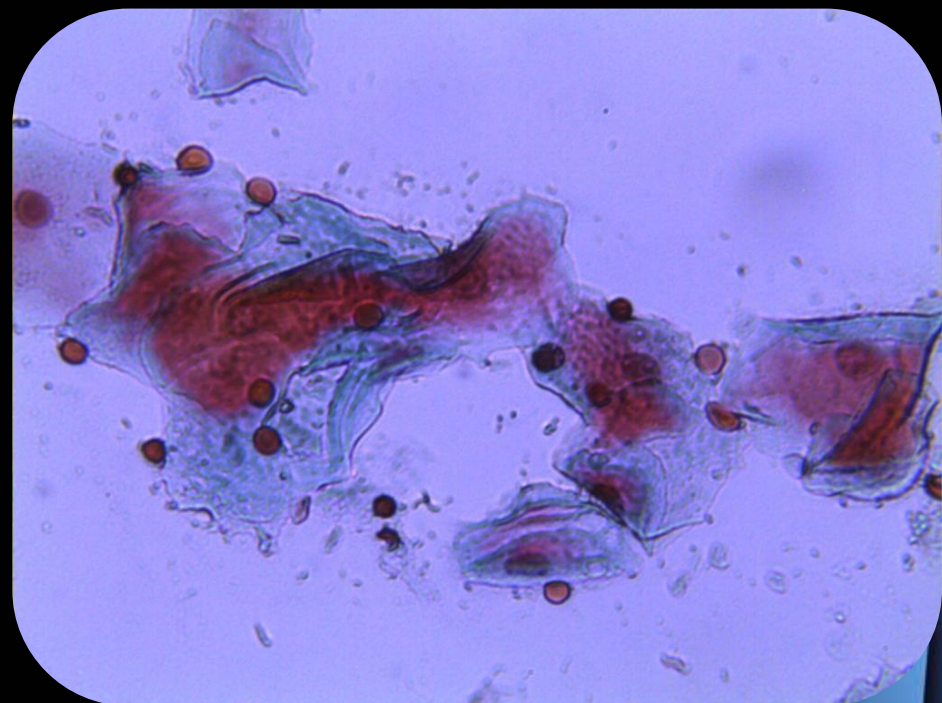
ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală – proestru mijlociu și târziu

- Prezență marcată a celulelor superficiale anucleate sau cu nucleu picnotic = celule keratinizate (Schollen)
- Colorația predominantă este cea acidofilă
- Numărul eritrocitelor este în descreștere evidentă





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



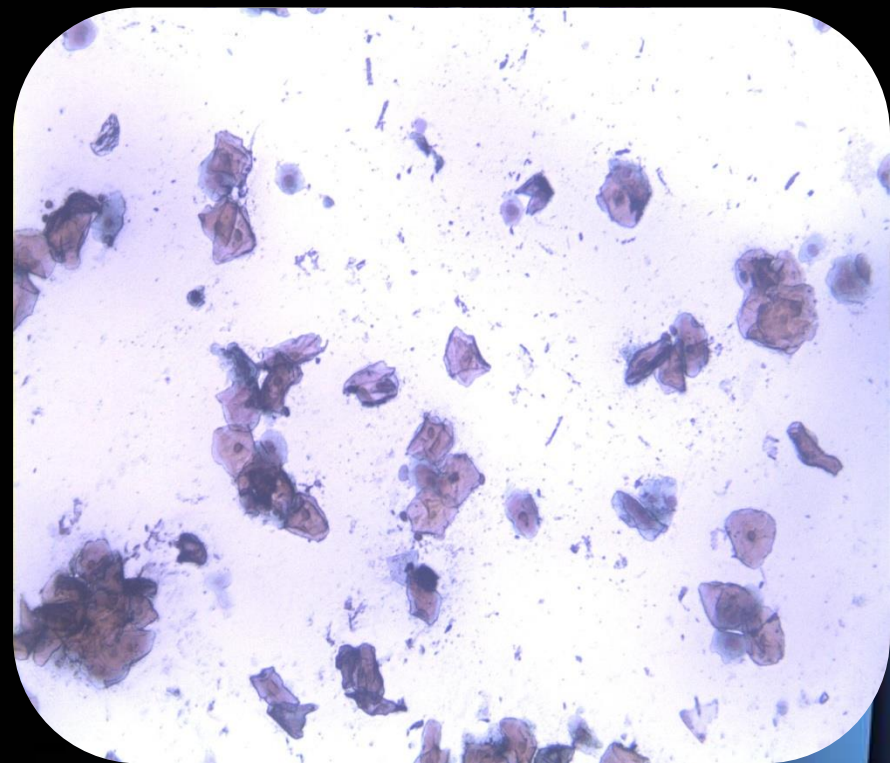
ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală – estru

- frotiul vaginal este bogat în celule superficiale cheratinizate, anucleate, grupate în ciorchine = peste 80% celule keratinizate
- Colorația acidofilă este maximă în această fază (50 - 90 % din frotiu).
- Eritrocitele sunt rare sau chiar absente și este posibil ca modificările mucusului vaginal după vârful de LH să accelereze liza acestora.
- Fondul frotiului este curat lipsit de mucus și detritusuri celulare





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



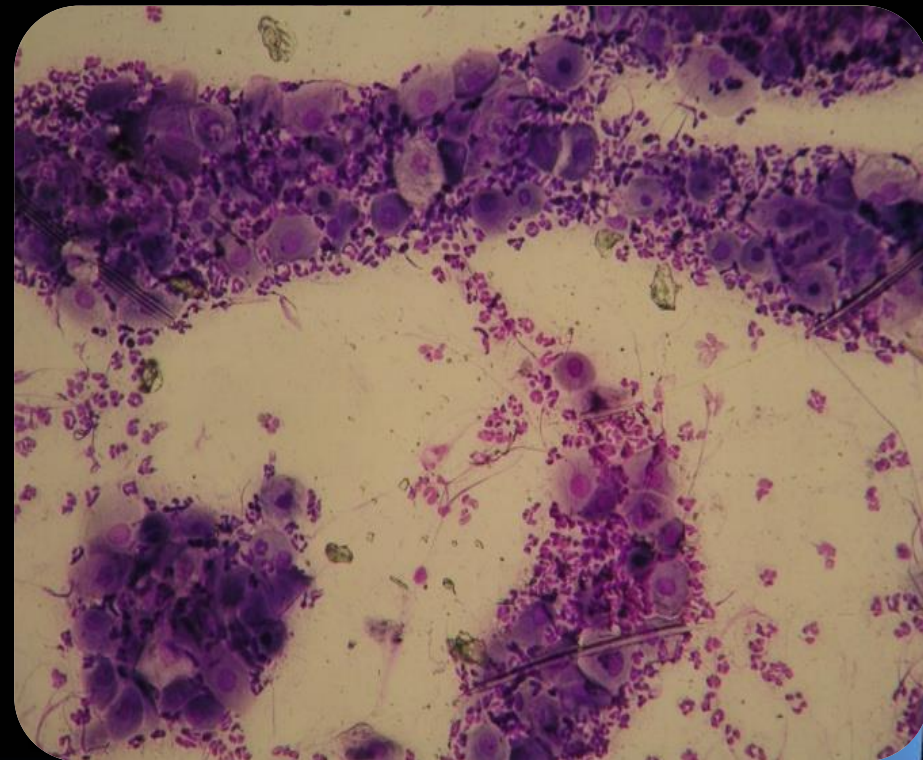
ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Citologia vaginală – metestru

- Celularitate bogată
- Reapariția celulelor parabazale
- Dispariția celulelor keratinizate
- Aflux marcat de leucocite polimorfonucleare
- Celule de metestru
- Celule spumoase





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Determinarea progesteronemiei (P4)

Progesteronul poate fi măsurat cu precizie prin radioimunoanaliză (RIA), test ELISA sau prin imunochemoluminiscentă și este exprimat în ng/ml sau nmol/l (1 ng/ml = 3,17 nmol/l).

Faza ciclului sexual	Eveniment	Progesteron (ng/ml)	Semne clinice
Proestru	Peak LH	2 (1 – 3)	Edem vulvar, scurgeri vaginale hemoragice; fluturarea cozii; femela nu acceptă masculul
Estru	Ovulație	6 (4 – 8)	Scurgeri vaginale clare, transparente; femela acceptă masculul
	Perioada fecundabilă	10 - 25	
Metestru	Sfârșitul perioadei fertile	25 – 50	
	Închiderea colului uterin	30	
Anestru		< 1	



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Vaginoscopia = examinarea mucoasei vaginale cu ajutorul unui endoscop rigid sau flexibil sau al unui proctoscop pediatric

Endoscopul trebuie să aibă un diametru de maxim 8 – 15 mm, cel puțin 10 – 20 cm lungime și o sursă adecvată de lumină.

Procedura este bine tolerată de femelă și nu necesită sedarea acesteia.





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV

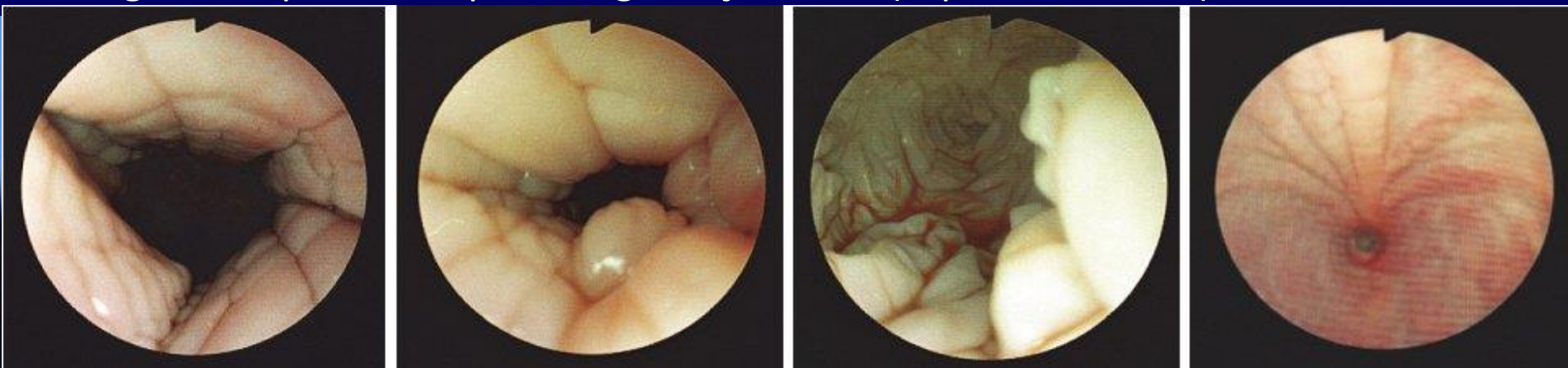


COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Vaginoscopia

În timpul examinării se urmăresc culoarea mucoasei, prezența faldurilor și a secrețiilor.

- Sub influența estrogenilor, faldurile vaginale devin edemațiate, umede și de culoare roz.
- Pe măsură ce femela avansează de la proestru spre estru aceste falduri încep să își piardă din aspectul edemațiat, devenind cutate (pliuri primare și secundare).
- Când cățeaua este în deplin estru faldurile vaginale prezintă cute cu margini bine definite.
- La trecerea din estru spre diestru faldurile vaginale se aplatizează, iar mucoasa vaginală capătă un aspect vărgat roșu cu alb (aspect de rozetă).





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Metode de inseminare la cățea

1. Inseminare intravaginală – pentru sperma proaspătă
2. Inseminare intrauterină
 - a. Transcervicală
 - b. Chirurgicală

(Linde-Forsberg, 2005)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

1. Inseminarea intravaginală *(Nizanski, 2006)*

Instrumentar necesar: cateter simplu de plastic (de genul celui folosit pentru bovine, dar tăiat la o lungime adecvată) sau cu dispozitive speciale (cateterul Osiris).

Tehnica de realizare:

- cu femela în poziție patrupodală, pipeta de inseminare este introdusă pe la comisura superioară a vulvei și se avansează cât mai mult posibil
- se aspiră sperma în seringă
- seringă se atașează direct sau prin intermediul unui tub scurt de cauciuc la pipeta de inseminare. Prin refularea conținutului pipetei în vagin se realizează practic inseminarea
- 10 – 15 minute după inseminare cățeaua se menține cu trenul posterior ridicat astfel încât coloana vertebrală este sub un unghi de 45 – 60° și se masează clitorisul (stimulează contracțiile vaginale antiperistaltice) pentru a facilita pasajul spermatozoizilor spre uter
- după ce membrele posterioare sunt eliberate, cățeaua nu trebuie lăsată să se așeze sau să sară timp de încă 10 – 15 minute



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

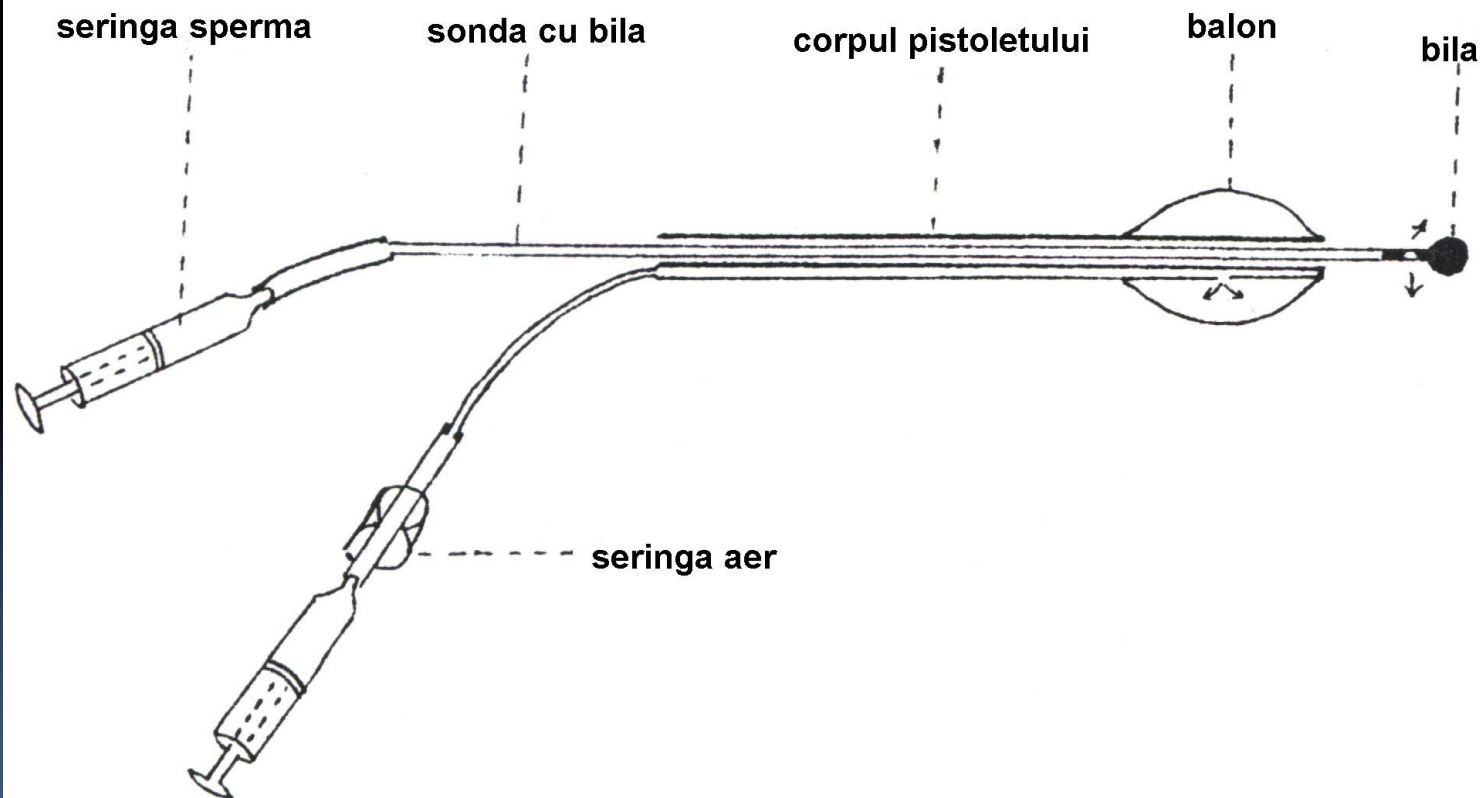


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Cateterul Osiris





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Depunere vaginală a spermei la cățea cu ajutorul unui cateter pentru bovine





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Avantajele inseminării intravaginale:

- necesită echipament și pregătire minime
- este relativ non-invazivă, cu risc redus pentru cățea



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

2.a. Inseminarea intrauterină – transcervicală

(Root Kustritz, 2010)

Tehnici de realizare:

- cu ajutorul cateterului norvegian
- Endoscopic

Ambele tehnici se pot realiza chiar și fără sedarea femelei

! volum inseminat mic pentru a se evita refluxul spermei în vagin

- 1 ml la rasele de talie mică
- 2ml la rasele de talie medie
- 3-4ml pentru rasele de talie mare



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Tehnica norvegiană

Echipament:

cateter norvegian format din: sondă metalică, un tub de plastic folosit pentru ghidaj și o seringă.

Tehnica de realizare:

- operatorul introduce ghidul tubular prin vagin până la extremitatea posterioară a pseudocervixului
- prin tubul de ghidaj se introduce sonda metalică sau un cateter rigid de plastic care se dirijează prin palpație transabdominală prin canalul cervical
- plasarea sondei în apropierea deschiderii cervixului este percepută de operator ca o senzație de crepitație asemănătoare palpării unui cartilaj

Dezavantaje:

- necesită mult exercițiu și o bună manualitate
- neaplicabilitatea metodei la cățelele de talie mare, obeze sau cu temperament nervos



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

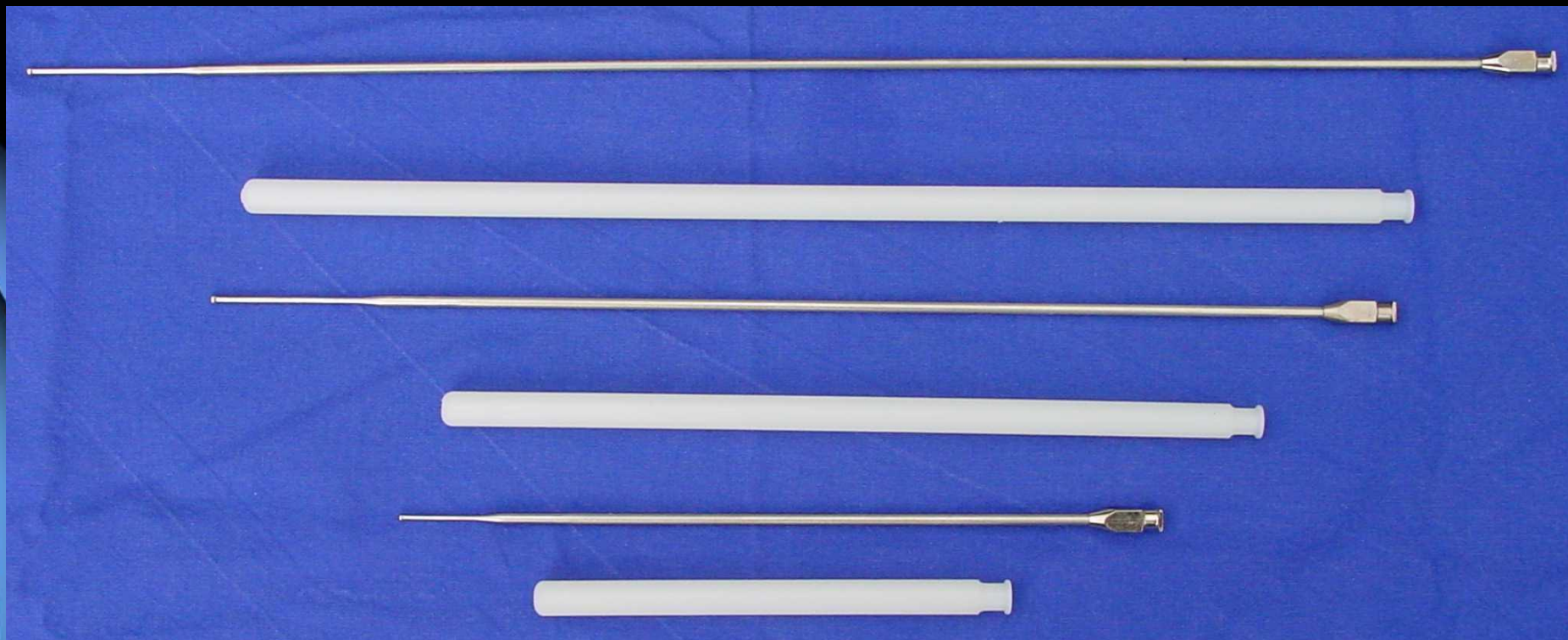


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Catetere norvegiene





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Tehnica endoscopică

Tehnica de realizare:

- un endoscop rigid se introduce în vagin pentru a vizualiza cervixul
- cateterizarea cervixului se realizează cu un cateter rigid din polipropilenă

Avantaje:

- tehnica propriu-zisă este mai facilă față de cea norvegiană

Dezavantaje:

- echipament scump
- risc de traume sau infecție



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

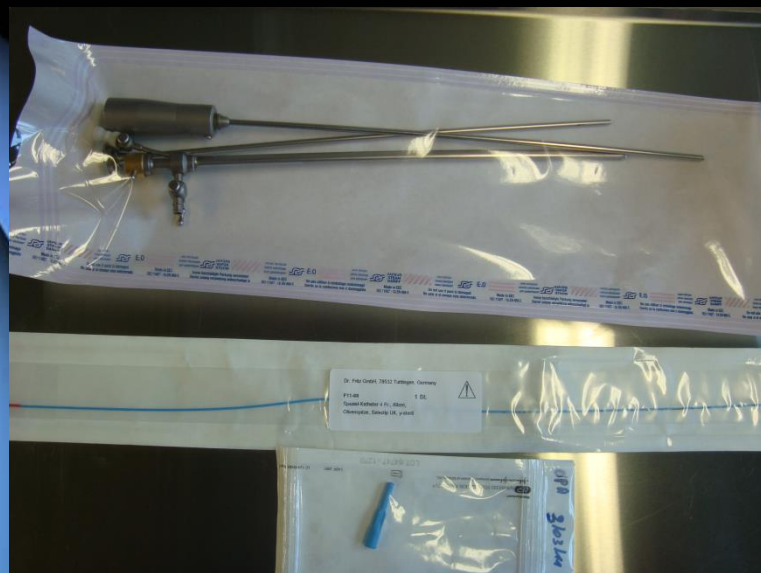


ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Inseminare intrauterină endoscopică - transcervicală (original)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

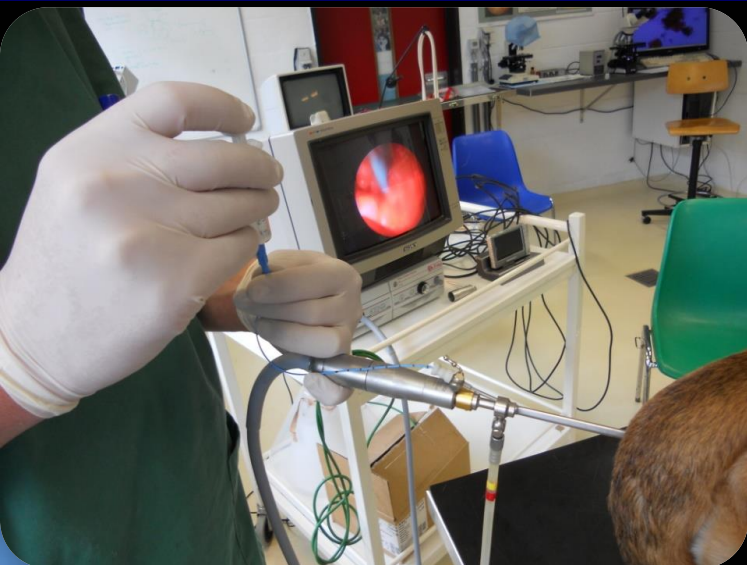


ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Inseminare intrauterină endoscopică - transcervicală (original)





UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

2.b. Inseminarea intrauterină chirurgicală

- utilizată în cazul obstrucțiilor vaginului sau cervixului care nu permit cateterizarea acestuia prin metodele mai sus menționate.

Tehnica de realizare: Inseminarea prin laparotomie

- pregătire de rutină a abdomenului posterior
- incizia pielii și a peretelui abdominal
- se exteriorizează uterul
- sperma este injectată folosind o seringă cu ac de 20 G sau un cateter intravenos



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

2.b. Inseminarea intrauterină chirurgicală

(Manafi, 2011)

Avantaje:

- procedura se realizează cu instrumentar steril, astfel că riscul introducerii bacteriilor din vaginul nesteril este eliminat
- tehnica este simplă și rapidă
- tehnica chirurgicală permite accesul la uter, astfel că depozitarea materialului seminal se face corect

Dezavantaje:

- necesită anestezie generală, cu riscurile asociate acesteia și unei intervenții chirurgicale
- număr limitat de inseminări care se pot realiza pe această cale
- metoda este costisitoare și cronofagă



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Doza de inseminare

150 -200 milioane spermatozoizi normali cu motilitate progresivă

(Linde Forsberg, 2002; Thomassen și col., 2006)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Metoda utilizată	Rata de gestație obținută
Monta naturală	80 – 90%
Însămânțare intravaginală cu spermă proaspătă	62,3 – 100%
Însămânțare intravaginală cu spermă refrigerată	59 – 80%
Însămânțare intravaginală cu spermă congelată	52,6 – 60%
Însămânțarea intrauterină cu spermă congelată	0 – 80%

(Linde Forsberg, 2002; Thomassen și col., 2006)



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

Bibliografie

1. Axner, E., Forsberg, L (2002). *Semen collection and assessment, and artificial insemination in the cat*. In: Concannon et al. (Editors). Recent Advances in Small Animal Reproduction. International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, p.1-9.
2. Blendinger, K. (2007). *Collection and evaluation of semen in the dog*. Proceedings of the SCIVAC Congress, Rimini, Italy, 2007.
3. Davol, A.P. (2001). *Reproduction and the male dog*. <http://www.labbies.com/reproduction4.htm>
4. England, GCW, Plummer, JM (1993). *Hypo-osmotic swelling of dog spermatozoa*. J.Reprod.Fertil.Suppl. 1993, 47:261-270.
5. Feldman, E.C., Nelson, R.W. (1996). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. W.B. Saunders Comp., ISBN 978-0721636344, Philadelphia.
6. Groza, I., Morar, I. (2004). *Andrologie veterinară*. Ed. Gryphon, Brașov.
7. Grundy SA, Feldman EC, Davidson AP. (2002). *Evaluation of infertility in the bitch*. Clin Tech in Sm Anim Pract.; **17**(3): 108-115.
8. Hewitt, D.A., England, G.C.W. (2001). *Manipulation of canine fertility using in vitro culture techniques*. J. Reprod. Fertil. Suppl., **57**: 111-125.
9. Jacquet, M. (2003). *Contribution à l'étude des protocoles de capacitation in vitro et de congélation des spermatozoïdes chez le chien*. Teză de doctorat, Lyon.
10. Kumi-Diaka, J. (1993). *Subjecting canine semen to the hypo-osmotic test*. Theriogenology, **39**: 1279-1289.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

11. Kutzler, M.A. (2005). *Semen collection in the dog*. Theriogenology 64: 747-754.
12. Linde-Forsberg, C. (2002). *What Can Be Learned From 2500 AIs in the Dog?* Proc. 27th WSAVA Congress, Granada, Spain.
13. Linde-Forsberg, C. (2005). *Artificial insemination*. Proc. ESAVS-EVSSAR-ENVN Congress, Nantes, France.
14. Manafi, M. (2011). *Artificial insemination in farm animals*. Ed. InTech, Rijeka, Croatia.
15. Nelson, R.W., Couto, C.G. (2003). *Small Animal Internal Medicine*. Ed. Mosby, SUA.
16. Nizański, W. (2006). *Intravaginal insemination of bitches with fresh and frozen-thawed semen with addition of prostatic fluid: Use of an infusion pipette and the Osiris catheter*. Theriogenology, **66**:470-483.
17. Ohl, D.A., Denil, J., Cummins, C., Menge, A.C., Seager, S.W. (1994). *Electroejaculation does not impair sperm motility in the beagle dog: a comparative study of electroejaculation and collection by artificial vagina*. J. Urol.; **215** (3): 1034-1037.
18. Ohl, D.A., Sonksen, J., Wedemeyer, G., Zaborniak, M.C., Dam, T.N., Menge, A.C., Putzi, M.J., Papadopoulos, S.M. (2001). *Canine model of infertility after spinal cord injury: time course of acute changes in semen quality and spermatogenesis*. J. Urol.; **166**(3): 1181-1184.
19. Peña Martinez, A.I. (2004). *Canine fresh and cryopreserved semen evaluation*, An.Rep.Sci. **82-83**:209-224.
20. Rijsselaere, T., Rodriguez, JL (2002). *Effect of centrifugation on in vitro survival of fresh diluted canine spermatozoa*. Theriogenology , **57**(6) : 1669-1681.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTERMEDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

21. Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., De Kruif, A. (2002). *Use of the Sperm Quality Analyzer (SQAI-C) for the assessment of dog sperm quality*. Reprod Domest Anim, **37**: 158-163.
22. Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., Tanghe, S., Corzn, M., Maes, D., De Kruif, A. (2005). *New techniques for the assessment of canine semen quality: A review*. Theriogenology, **64**: 706-719.
23. Root-Kustritz, M. (2010). Clinical canine and feline reproduction: evidence-based answers. Ed. Wiley-Blackwell, USA, ISBN-13: 978-0-8138-1584-8.
24. Rota, A., Linde-Forsberg, C., Vannozzi, J., Romagnoli, S., Rodriguez-Martinez, H. (1998). *Cryosurvival of dog spermatozoa at different glycerol concentrations and freezing / thawing rates*. Reprod.Dom.Anim., **33**: 355-361.
25. Rouge, M. (2002). *Semen collection from dogs*. www.ivis.org
26. Santos, I.P., Oliveira, R.F., Ramos, C.L.F.G., Ramos, J.L.G., Cunha, I.C.N. (2012). *Combination of ketamine and xylazine to reduce pain during electroejaculation in dogs*. Proc. 7th International Congress on Canine and Feline Reproduction, Whistler, Canada.
27. Schafer-Somi, S., Aurich, C. (2007). *Use of a new computer-assisted sperm analyzer for the assessment of motility and viability of dog spermatozoa and evaluation of four different semen extenderfor predilution*. Anim. Reprod. Sci., **102**: 1-13.
28. Senger, P. (2005). *Pathways to pregnancy and parturition*, ediția a 2-a revizuită. Ed. Current Conceptions Inc., Pullman (WA), SUA.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



ORGANISMUL INTEREDIAR
REGIONAL PENTRU POSDRU
REGIUNEA BUCUREȘTI ILFOV



COLEGIUL MEDICILOR
VETERINARI
DIN ROMANIA

29. Stănescu (Pascal), M., Bîrțoiu, A.I. (2010). *Comparative studies of canine semen freezing protocols*. Bulletin UASVM, Vet.Med.**67**(2)/2010: 209-211.
30. Thomassen, R., Sanson, G., Krogenæs, A., Fougner, JA, Andersen Berg, K., Farstad, W. (2006). *Artificial insemination with frozen semen in dogs: A retrospective study of 10 years using a non-surgical approach*. Theriogenology, **66**:1645-1650.
31. Tulcan, C. (2005). *Crioconservarea materialului seminal canin*. Ed. Brumar, Timișoara.