

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.6790642>

FILIPPO SPADOLA, MANUEL MORICI, MATTEO OLIVERI, MARCO DI GIUSEPPE,
EMANUELE LUBIAN, VERONICA CRISTINA NEVE
& GIOVANNA LUCREZIA COSTA

APPROCCIO CLOACOSCOPICO PER IL SESSAGGIO DEI RETTILI: STATO DELL'ARTE E PROSPETTIVE PER IL FUTURO

RIASSUNTO

Il nostro studio raccoglie le ricerche e le indagini endoscopiche effettuate negli ultimi vent'anni, su rettili di specie diverse, presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie di Messina e presso Centri di recupero della fauna selvatica, parchi zoo ed allevamenti privati. In particolare lo scopo di questa raccolta dati è quella di comprendere al meglio le reali possibilità d'impiego della tecnica endoscopica per il sessaggio precoce di cheloni, sauri ed ofidi. Inoltre, ci si pone l'obiettivo di standardizzare la tecnica come procedura di routine anche nei progetti di conservazione e riproduzione delle specie ad alto rischio di estinzione. Il numero degli animali sottoposti ad indagini cloacoscopiche ha superato le trecento unità, con una prevalenza sui cheloni. I soggetti sono stati sottoposti ad indagine per motivazioni differenti, o per attività cliniche di diagnostica e terapia oppure per il sessaggio.

Parole chiave. Endoscopia, rettili, sessaggio.

SUMMARY

Cloacoscopic approach for reptile sex determination: state of the art and perspectives for the future. Our study collects the research and endoscopic investigations carried out in the last twenty years, on reptiles of different species, at the Department of Veterinary Sciences of Messina and at wildlife recovery centers, zoo parks and private farms. In particular, the purpose of this data collection is to better understand the real possibilities of using the endoscopic technique for the early sexing of chelonians, sauria and snakes. In addition, the aim is to standardize the technique as a routine procedure even in conservation and reproduction projects for species at high risk of extinction. The number of animals subjected to cloacoscopic investigations exceeded three hundred units, with a prevalence of chelonians. The subjects were subjected to investigations for differential reasons, or for clinical diagnostic or therapy activities or for sexing.

Key words. Endoscopy, reptiles, sexing.

INTRODUZIONE

La conservazione *Ex situ* e i programmi di riproduzione in cattività sono oggi diventati strumenti fondamentali per la salvaguardia dei rettili (WITZENBERGER & HOCHKIRCH, 2011): in questo contesto le tecniche di sessaggio e inseminazione artificiale sembrano essere pratiche quasi indispensabili. Le conoscenze morfologiche del tratto riproduttivo nonché le tecniche diagnostiche sul riconoscimento del sesso dovrebbero essere il punto di partenza per l'attuazione di progetti di monitoraggio e riproduzione dei rettili (MATTSON *et al.*, 2007; SPADOLA & INSACCO, 2009, 2010; MOLINA *et al.*, 2010; SPADOLA *et al.*, 2010; OLIVERI, 2016, 2018; MORICI, 2017). Le avanzate tecniche cloacoscopiche potrebbero oggi favorire il sopraddetto scopo permettendo precocemente il sessaggio degli individui, anche molto piccoli, e le successive pratiche di accoppiamento artificiale e non (SPADOLA *et al.*, 2001, 2009; OLIVERI *et al.*, 2016, 2018; MORICI *et al.*, 2017). L'endoscopia è una delle metodiche più sicure e meno invasive per visualizzare le strutture anatomiche e patologiche della cloaca. Inoltre non va sottovalutata la possibilità di lavorare senza grandi difficoltà anche in campo, infatti i nuovi strumentari a disposizione in commercio possono essere collegati ad uno *smartphone* e, viste le dimensioni, sono facilmente trasportabili (SPADOLA *et al.*, 2001, 2009; DIVERS *et al.*, 2010, 2015; SELLERI *et al.*, 2013; KNOTEK *et al.*, 2015; MARTÍNEZ-SILVESTRE *et al.*, 2015; OLIVERI *et al.*, 2016). La tecnica endoscopica applicata alla cloaca di rettili, anfibi e pesci, offre degli indiscutibili vantaggi, non soltanto legati al sessaggio precoce, ma anche per formulare velocemente delle diagnosi, valutare l'entità delle patologie e nella stessa seduta effettuare pratiche terapeutiche. Le operazioni diagnostiche si possono effettuare in sedazione, in maniera ambulatoriale e il recupero post esame è veloce (SPADOLA *et al.*, 2000, 2001, 2003).

MATERIALI E METODI

Il nostro studio vuole dare un contributo sulla attuale possibilità di utilizzare, e soprattutto standardizzare, le tecniche di sessaggio endoscopico precoce nei rettili domestici e selvatici. Questo studio è stato eseguito in conformità con le direttive 2010/63/EU del Parlamento Europeo e il consiglio dell'Unione Europea.

Il lavoro prende in considerazione le ricerche e le procedure attuate negli ultimi vent'anni in cheloni, sauri ed ofidi presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università degli Studi Messina, presso Centri di Recupero della Fauna Selvatica Siciliani e Calabresi, parchi zoologici e in allevamenti di privati. Tutti i proprietari hanno firmato un consenso informato per le procedure attuate. Le specie sottoposte ad esame cloacoscopico e il rispettivo nume-

ro di soggetti, sono riportati nella Tabella 1 (SPADOLA *et al.*, 2000, 2001, 2003, 2009; KNOTEK *et al.*, 2015; OLIVERI *et al.*, 2016, 2018; MORICI *et al.*, 2017).

Tabella 1

Elenco e numeri delle specie sottoposte ad esame cloacoscopico. *List and numbers of species subjected to cloacoscopic examination*

Specie	Numero soggetti
CHELONI	268
<i>Emys spp.</i>	51
<i>Graptemys spp.</i>	10
<i>Pelodiscus sinensis</i>	12
<i>Pseudemys spp.</i>	6
<i>Testudo spp</i>	45
<i>Trachemys spp.</i>	113
<i>Caretta caretta</i>	31
SAURI	31
<i>Dracaena guianensis</i>	2
<i>Salvador merianae</i>	25
<i>Tiliqua gigas</i>	4
OFIDI	39
<i>Acrantophis dumerili</i>	7
<i>Boa constrictor</i>	4
<i>Eryx jaculus</i>	3
<i>Eunectes murinus</i>	1
<i>Lampropeltis getula</i>	6
<i>Morelia spilota</i>	1
<i>Orthriophis taeniura</i>	2
<i>Pantherophis guttata</i>	5
<i>Pituophis melanoleucus</i>	1
<i>Python curtus</i>	1
<i>Python molurus</i>	4
<i>Python regius</i>	1
<i>Python reticulatus</i>	2
<i>Python sebae</i>	1
TOTALE	338

I soggetti vengono posti in decubito dorsale, sedati, contenuti manualmente su un tappetino riscaldato (Bosch PFP 1031; Bosch, Germany) e mantenuti a circa 30°C durante l'intera procedura.

Per la cloacoscopia è stato utilizzato un endoscopio rigido con visione lineare 0° (Olympus medical, Japan 8.5 cm di lunghezza, 4 mm o 1,4 mm di diametro in base alle dimensioni dell'animale sottoposto a procedura). L'ottica è stata inserita in una camicia protettiva sterile. L'endoscopio è stato collegato ad una videocamera (Telecam DX-II, Karl Storz, Germany) e connesso al sistema portatile per l'acquisizione delle immagini e sorgente luminosa Karl Storz TELE PACK (Germany). La cloacoscopia è stata eseguita introducendo l'endoscopio nell'apertura cloacale del rettile, ed è stato visualizzato in sequenza: il proctodeo, l'urodeo, il coprodeo e il retto di ogni esemplare, nelle specie ove presenti la vescica urinaria e le vesciche accessorie. Durante le procedure cloacoscopiche, una continua infusione è stata mantenuta attraverso il canale di servizio, usando soluzione salina sterile (0.9% NaCl, S:A:L:F:, Italy) calda (circa 30°C), insieme a 3 ml /L lidocaina cloridrata (2% lidocaine, Esteve, Italy); il leggero *flushing* è stato effettuato usando una siringa (60 ml, Pic solution/Artsana, Italy) connesso con un deflussore al canale di servizio, permettendo la dilatazione delle pareti della cloaca, e una migliore visualizzazione. Dopo la cloacoscopia tutti i soggetti sono stati scrupolosamente monitorati per le successive 24 h.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Inserito l'endoscopio attraverso l'apertura cloacale, è stato visualizzato il proctodeo (Fig. 1). Il proctodeo è estremamente piccolo in sauri ed ofidi, e difficoltoso da esplorare. Diversamente nei cheloni le dimensioni permettono di ispezionare, nei soggetti maturi, gli organi copulatori. Avanzando ulteriormente cranialmente, si visualizza dorsalmente nei sauri e ofidi e ventralmente nei cheloni, l'urodeo (nelle immagini, considerato il decubito del paziente, è in posizione ventrale in sauri e ofidi e in posizione dorsale nei cheloni). Nei sauri e negli ofidi il coprodeo e l'urodeo sono suddivisi da una plica orizzontale al di sotto della quale (quindi in posizione dorsale) sono presenti o delle papille genitali o delle vere e proprie tasche che conducono agli ovidutti nelle femmine (Fig. 9-14). Nei maschi, sempre di sauri ed ofidi, al di sotto della plica non è presente nessuna tasca o papilla genitale, bensì esclusivamente la o le papille urinarie (sbocchi degli ureteri presenti in entrambi i sessi), questi solitamente sboccano in cloaca congiunti ai deferenti nei maschi (Fig. 9-14). Nelle tartarughe l'urodeo, visualizzato nella porzione dorsale delle immagini (e quindi ventralmente rispetto al corpo dell'animale) è protetto da due grossi fasci muscolari con andamento dorso-ventrale, che proteggono lo sbocco della vescica (uretra) e lo sbocco degli ureteri, deferenti

e ovidutti nelle femmine. Nei cheloni le strutture anatomiche maschili e femminili, sono evidentemente differenti ma di difficile interpretazione nei soggetti troppo piccoli (Fig.1-4, 7), nei sauri e negli ofidi queste differenze sono facilmente evidenziabili già da neonati. In sauri e ofidi la plica orizzontale che divide l'urodeo dal coprodeo, grazie alle contrazioni cloacali, copre la parte "genitale" dell'urodeo e connette direttamente il coprodeo al proctodeo. Nel coprodeo lo sfintere anale è attraversabile facilmente. Nelle tartarughe, alla base dei muscoli che proteggono l'urodeo, vi è l'apertura anale che si continua con il retto (Fig. 2-4, 7). È giusto precisare che questi due muscoli, nei cheloni, si continuano fino a collegarsi con il dotto seminale aperto del pene. La struttura del retto e del tratto terminale del colon, in ofidi e sauri, è molto simile e si evince chiaramente la funzione di accumulo di feci ma anche della poltiglia di acido urico. Alla fine del retto è presente la valvola retto-colica. Nelle tartarughe palustri, lateralmente all'urodeo, nella porzione dorsale della cloaca, sono presenti le vesciche accessorie, anch'esse esplorabili. In tutti i cheloni, infine è ispezionabile la vescica che presenta le pareti più o meno trasparenti, soprattutto nelle palustri, permettendo la visualizzazione degli organi celomatici (Fig. 2, 5). Per quanto concerne le *Caretta*, non vi sono particolari differenze con l'anatomia degli altri cheloni, se non la mancanza delle vesciche accessorie e la difficoltà nelle procedure a causa delle grandi dimensioni dell'organo (Fig. 8). Raramente abbiamo notato, sugli animali trattati, segni di disagio durante e dopo la cloacoscopia.

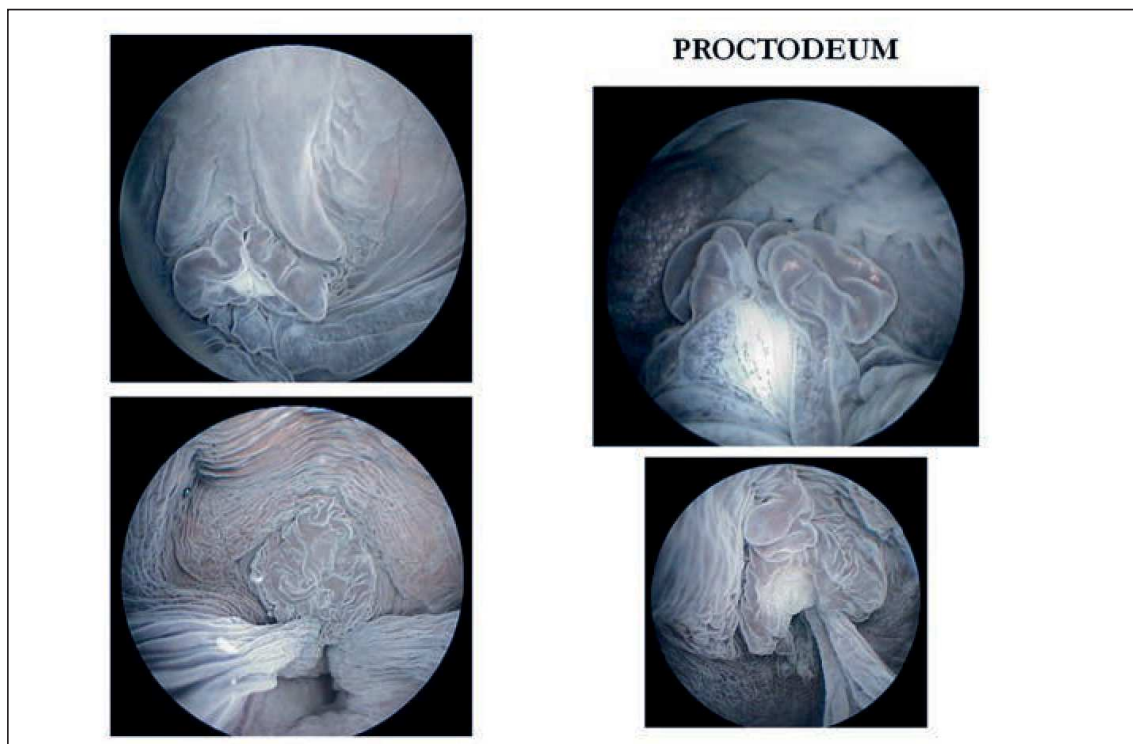


Fig. 1 — Tipico aspetto del proctodeo in *Emys* spp./Typical look of proctodeum in *Emys* spp.

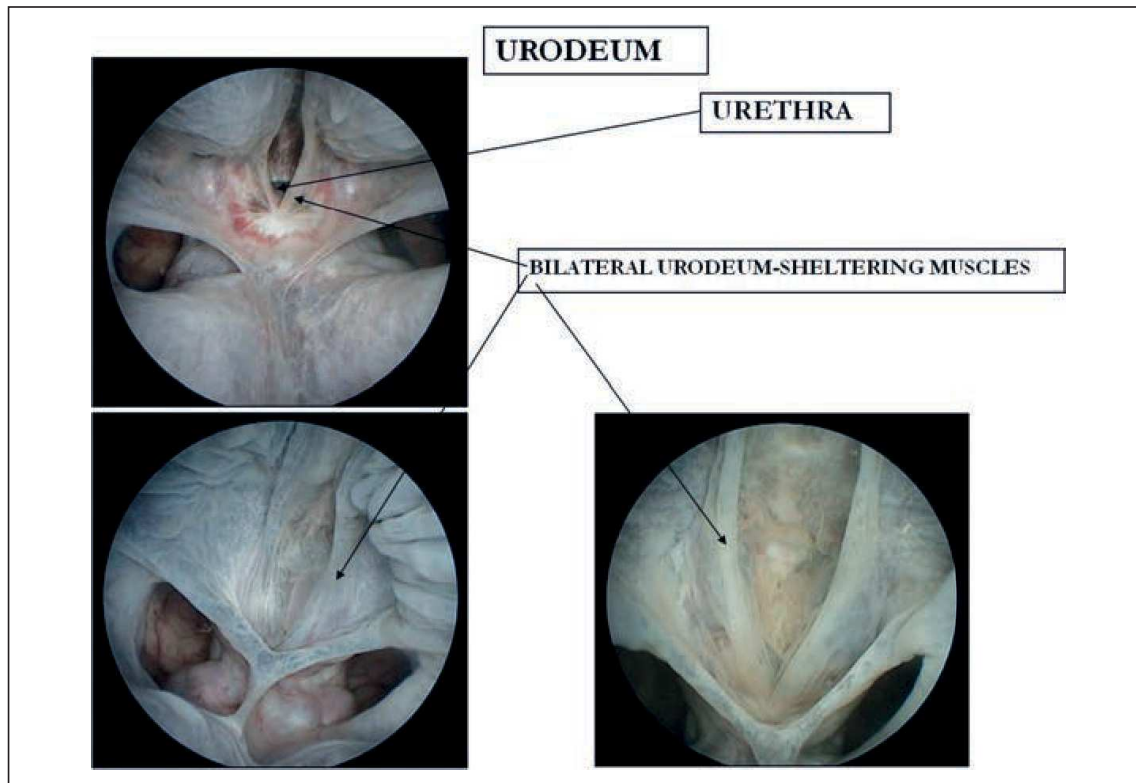


Fig. 2 — Emididae, porzione centrale della cloaca/*Emididae, central portion of cloaca.*

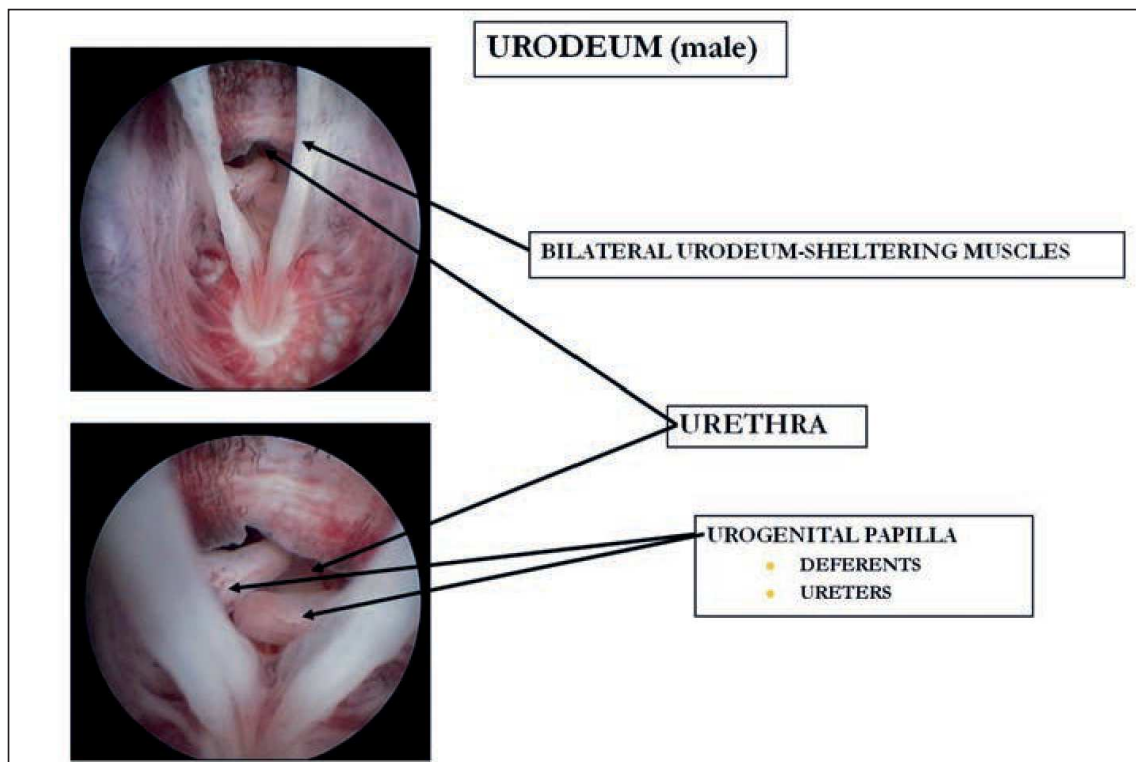


Fig. 3 — Emididae, maschio subadulto/*Emididae, subadult male.*

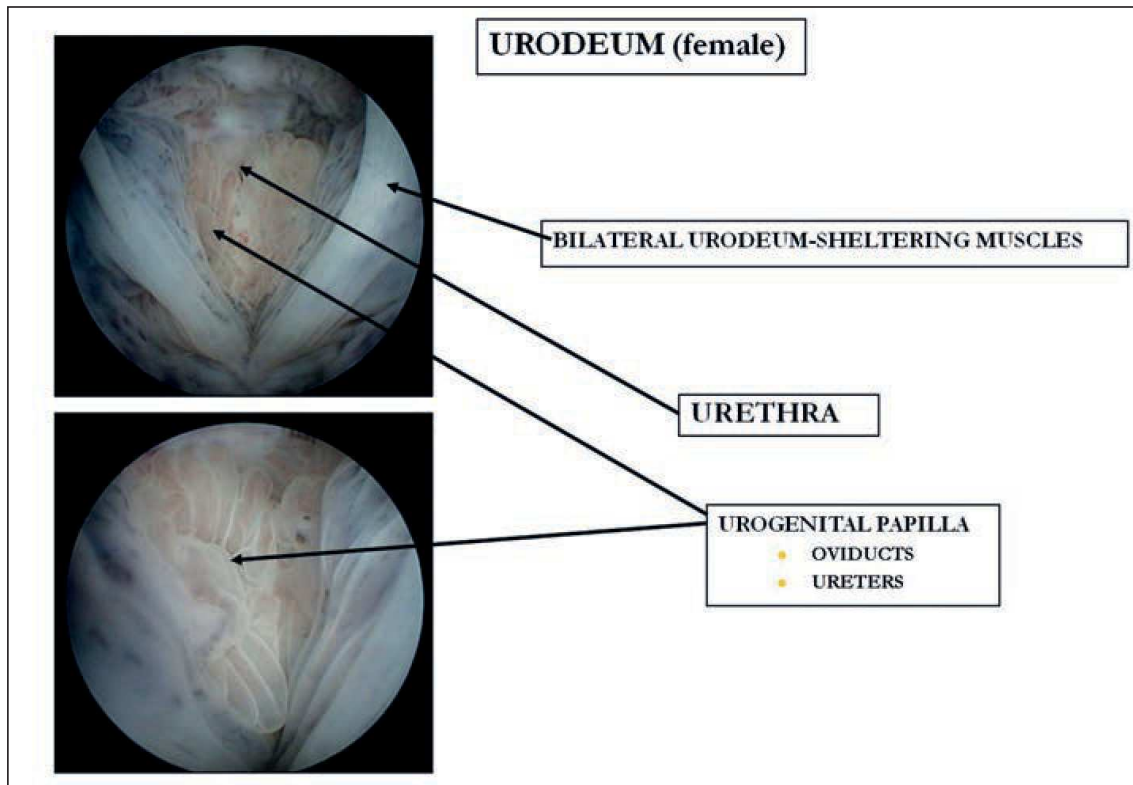


Fig. 4 — Emididae, femmina subadulto/ *Emididae, subadult female.*

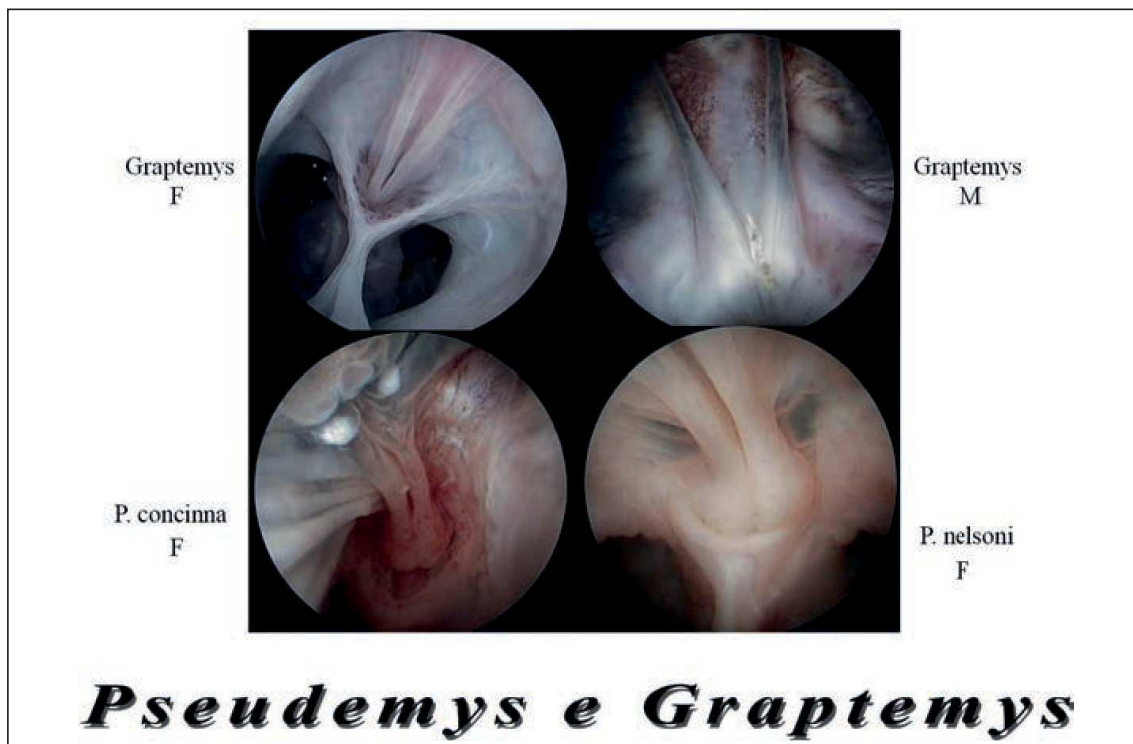


Fig. 5 — Alcuni esempi di cloaca in varie specie di Emididae, *Graptemys* sp. e *Pseudemys* sp./Some examples of cloaca in various species of Emididae, *Graptemys* sp. and *Pseudemys* sp.



Fig. 6 — Cloaca di *Pelodiscus sinensis* femmina, si noti l'aspetto a sei punte del clitoride e la tipica struttura dell'urodeo con muscoli molto esili/Cloaca of *Pelodiscus sinensis* female, note the six-pointed aspect of the clitoris and the typical urodeum structure with very thin muscles.

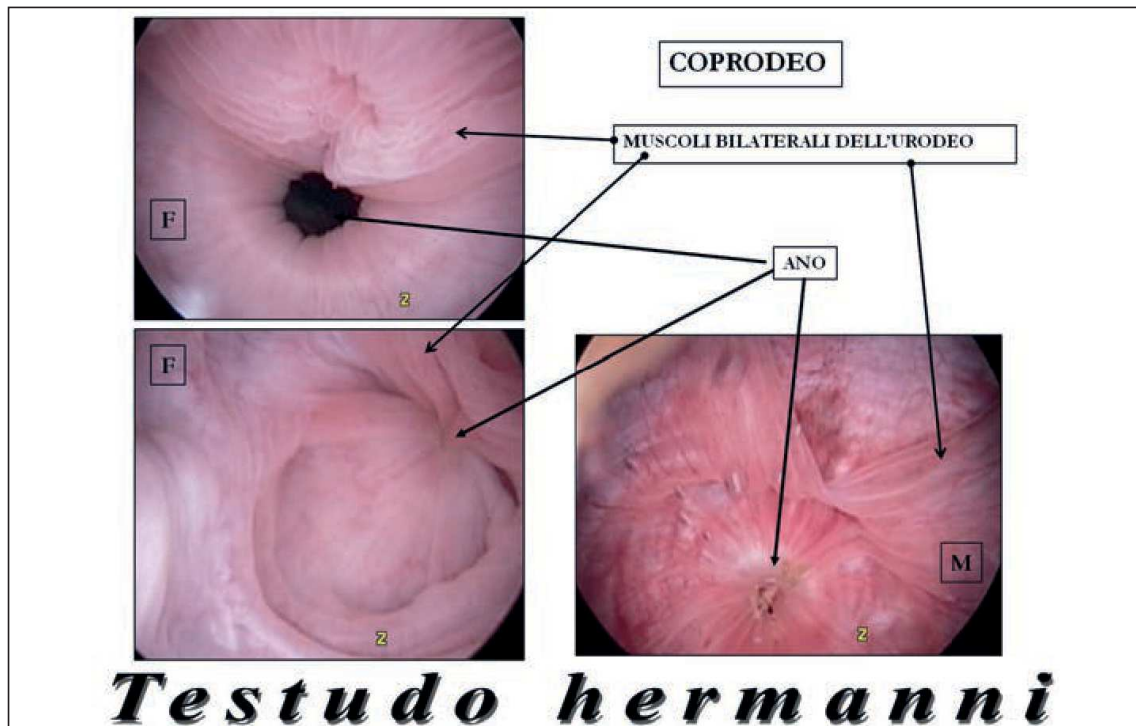


Fig. 7 — Aspetto della cloaca in *Testudo hermanni*, a sinistra una femmina a destra un maschio/Look of cloaca in *Testudo hermanni*, on the left a female on the right a male.

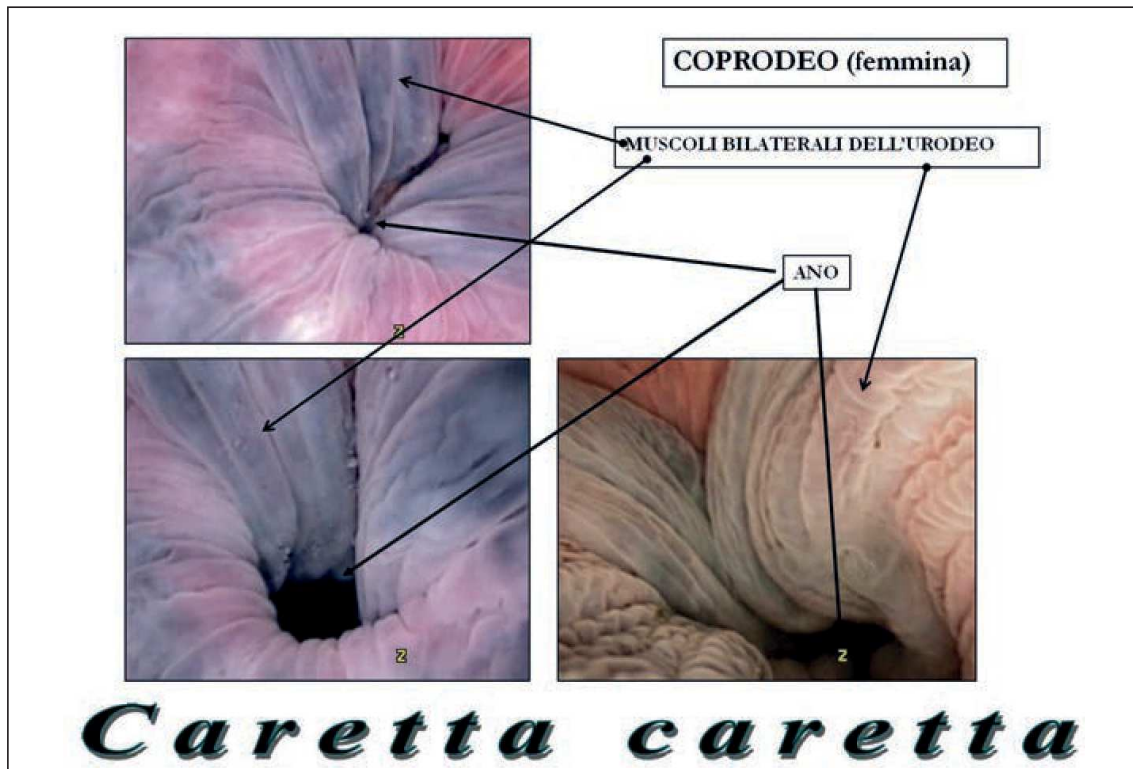


Fig. 8 — Cloacosopia in una *Caretta caretta* femmina/Cloacoscopy in a female of *Caretta caretta*.

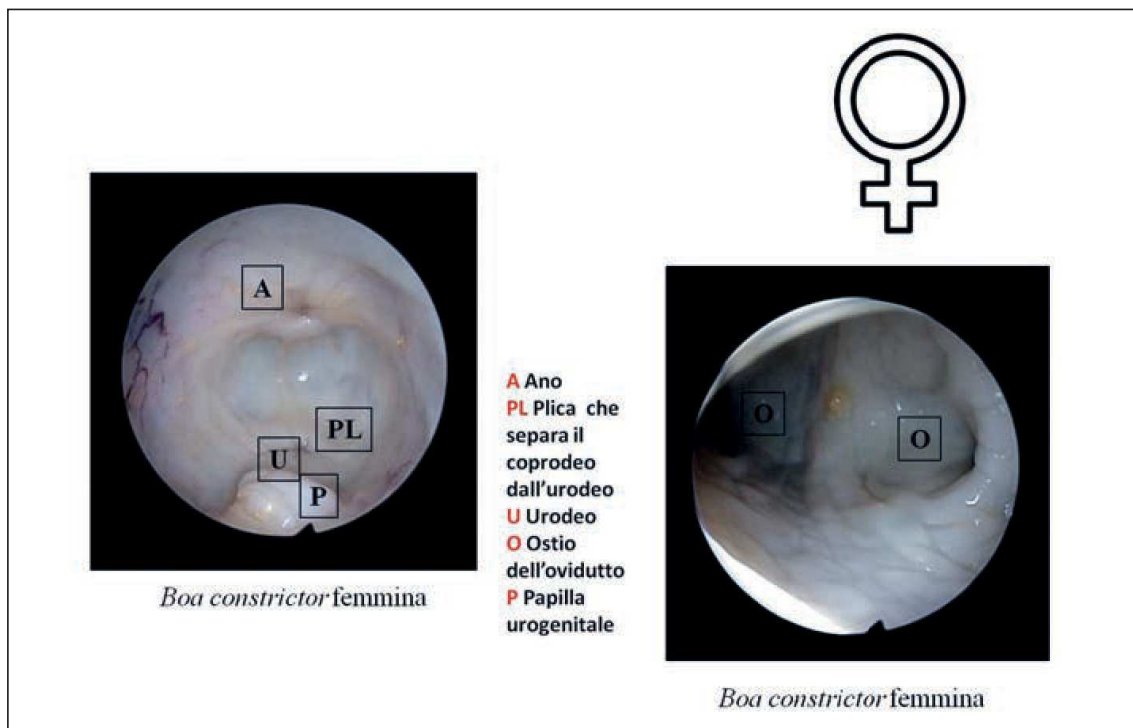


Fig. 9 — Aspetti endoscopici nei boidi, si noti l'aspetto a fondo cieco nel maschio/Endoscopic aspects in the boids, note the dead end appearance in the male.

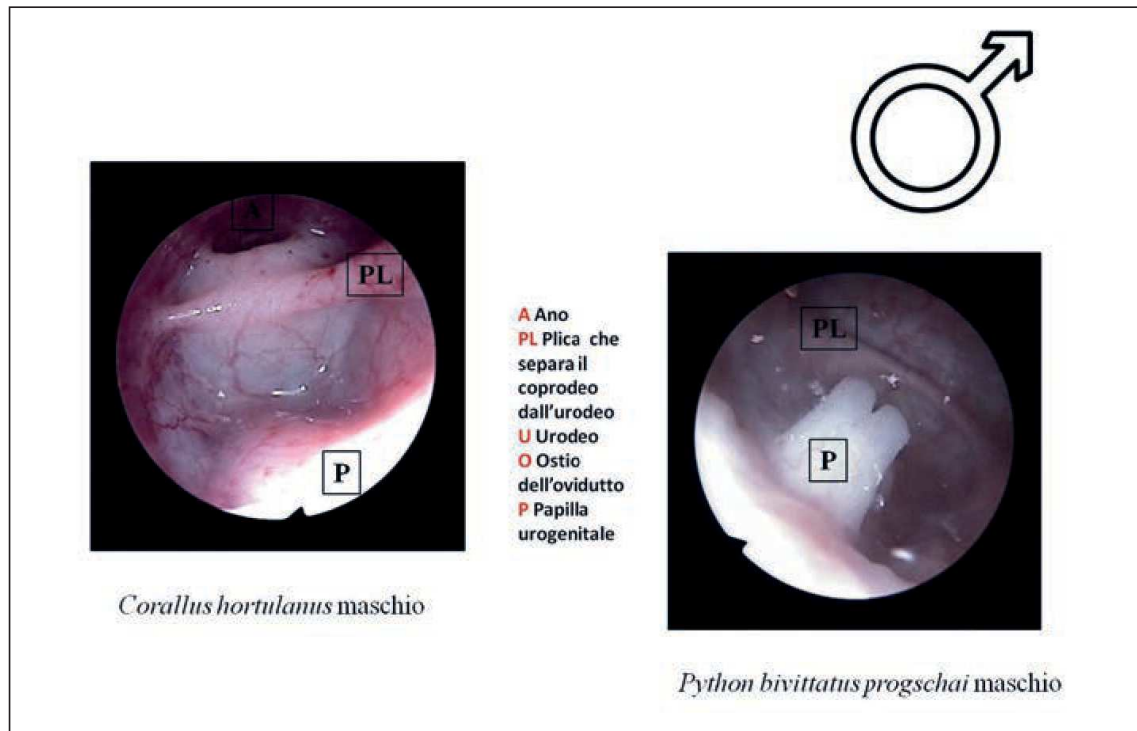


Fig. 10 — Ulteriori immagini endoscopiche di un *Corallus* sp. maschio e una *Python* sp. femmina/Further endoscopic images of a *Corallus* sp. male and a *Python* sp. female.

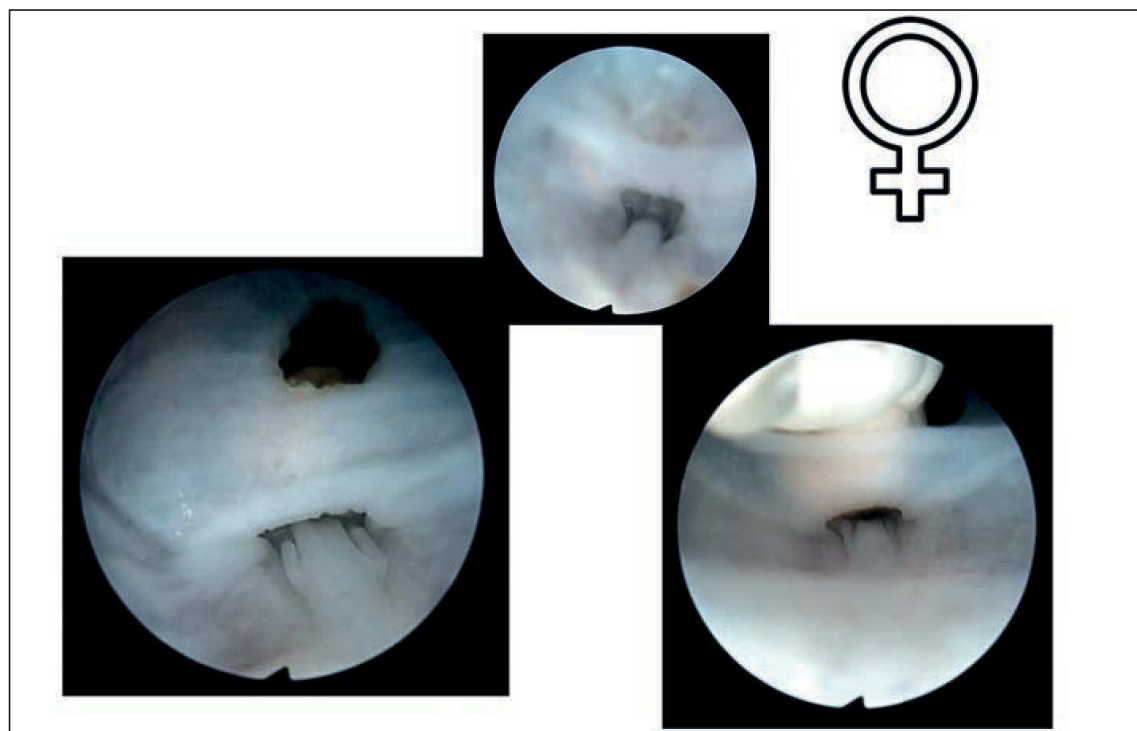


Fig. 11 — *Salvador merianae*, cloacoscopies in individui femmina, si noti lo sbocco degli ovidutti/Salvador marianae, cloacoscopies in females, note the way out of the oviducts.

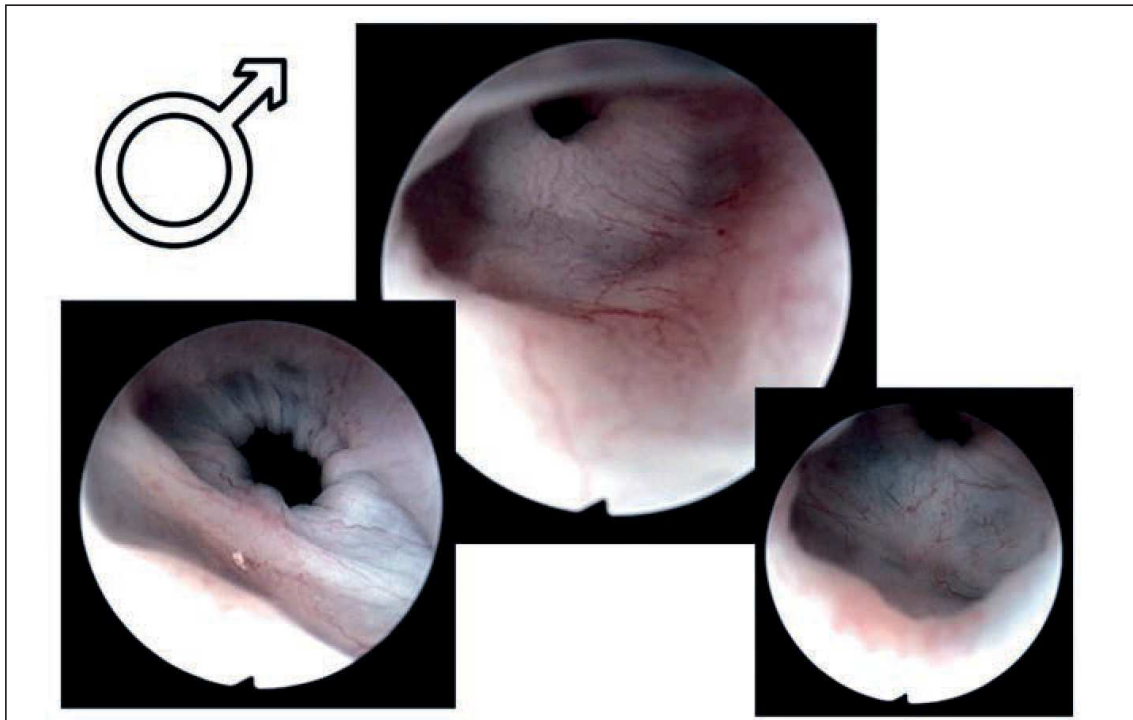


Fig. 12 — *Salvador merianae*, cloacoscopie in individui maschi, si noti l'aspetto a fondo cieco/*Salvador marianae*, cloacoscopies in males, note the completely blind aspect.

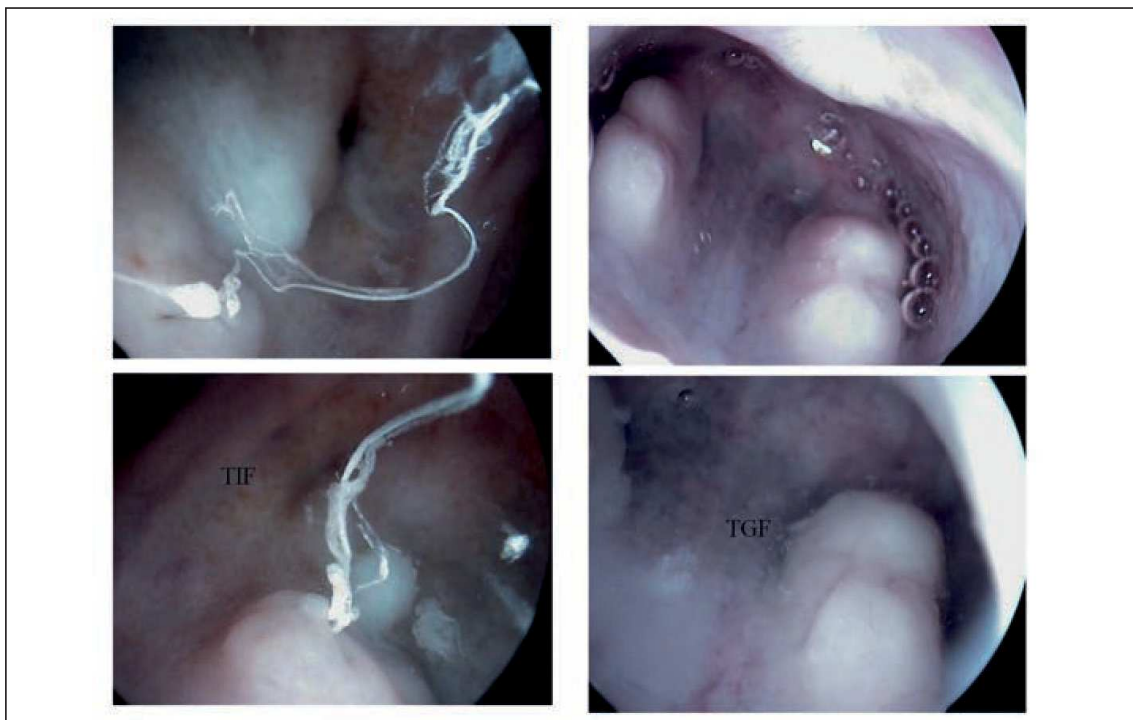


Fig. 13 — *Tiliqua gigas*, cloacoscopie in individui femmina, si noti lo sbocco degli ovidutti/*Tiliqua gigas*, cloacoscopies in females, note the way out of the oviducts.

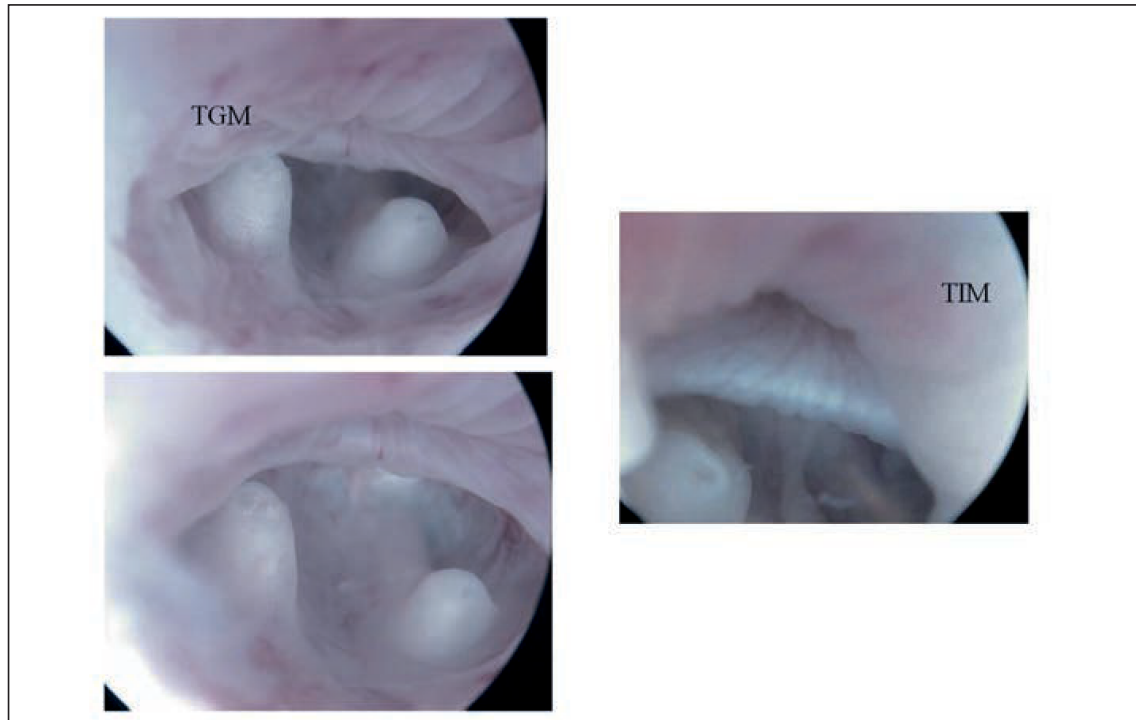


Fig. 14 — *Tiliqua gigas*, cloacoscopia in individui maschi, si noti l'aspetto a fondo cieco/*Tiliqua gigas*, cloacoscopies in males, note the completely blind aspect.

La morfologia della cloaca nei rettili mostra ovviamente delle enormi variabilità tra le differenti specie e gli operatori devono raggiungere una conoscenza dettagliata delle principali differenze, prima di tentare la determinazione del sesso attraverso l'esame endoscopico della cloaca. La tecnica cloacoscopica si è dimostrata una tecnica minimamente invasiva e con la determinazione del sesso tramite endoscopia cloacale, lo stress dell'animale è minimo, e il rischio di lesioni è basso (SPADOLA *et al.*, 2000, 2001, 2003, 2009; KNOTEK *et al.*, 2015; OLIVERI *et al.*, 2016, 2018; MORICI *et al.*, 2017).

È importante puntualizzare come questa tecnica di sessaggio è notevolmente adatta ad essere applicata in campo durante i programmi di riproduzione e conservazione delle specie a rischio estinzione. Questo perché è una procedura poco invasiva, non necessita di protocolli anestesiológicos profondi, è di brevissima durata e soprattutto può essere praticata utilizzando uno strumentario leggero e di piccole dimensioni, ma anche collegabile direttamente ad uno *smartphone*. Sono certamente necessari studi futuri al fine di affinare quanto più possibile la tecnica così da poter valutare e determinare il sesso anche in altre specie non trattate in questo manoscritto.

Ringraziamenti — Si ringrazia il Sig. Matteo Scimone per la preziosa collaborazione.

BIBLIOGRAFIA

- DIVERS S.J., 2010. Reptile diagnostic endoscopy and endosurgery. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, 13(2): 217-42. doi: 10.1016/j.cvex.2010.01.004.
- DIVERS S.J., 2015. Endoscopic Sex Identification in Chelonians and Birds (Psittacines, Passerines, and Raptors). *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, 18(3): 541-554.
- KNOTEK Z., JEKL V., MORICI M. & SPADOLA F., 2015. Cloacoscopy as a feasible method of health management for chelonians. Pp. 266-267 in: *Proc. 40th World Small Animal Veter. Ass. Congr.*, Bangkok.
- MARTÍNEZ-SILVESTRE A., BARGALLÓ F. & GRÍFOLS J., 2015. Gender Identification by Cloacoscopy and Cystoscopy in Juvenile Chelonians. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.*, 18(3): 527-539.
- MATTSON K.J., DE VRIES A., MCGUIRE S.M., KREBS J., LOUIS E.E. & LOSKUTOFF N.M., 2007. Successful artificial insemination in the corn snake, *Elaphe gutatta*, using fresh and cooled semen. *Zoo Biol. Sep*, 26(5): 363-369.
- MOLINIA F.C., BELL T., NORBURY G., CREE A. & GLEESON D.M., 2010. Assisted breeding of skinks or how to teach a lizard old tricks! *Herpetol. Conserv. Bio.*, 5(2): 311-319.
- MORICI M., DI GIUSEPPE M., OLIVERI M., KNOTEK Z. & SPADOLA F., 2017. Cloacoscopic sex determination in Tegu lizards. Pp. 544-545 in: *3rd Int. Conf. Avian Herpetol. Exotic mammal medic.*, Venezia.
- OLIVERI M., BARTOSKOVA A., SPADOLA F., MORICI M., DI GIUSEPPE M. & KNOTEK Z., 2018. Method of Semen Collection and Artificial Insemination in Snakes. *J. Exot. Pet Med.*, 27(2): 75-80.
- OLIVERI M., MORICI M., NOVOTNÝ R., BARTOŠKOVÁ A. & KNOTEK Z., 2016. Cloacoscopy in the Horned Viper (*Vipera ammodytes*). *Acta Veter. Brno*, 85(3): 251-253.
- SELLERI P., DI GIROLAMO N. & MELIDONE R., 2013. Cytoscopic sex identification of posthatchling chelonians. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 242: 1744-1750.
- SPADOLA F. & INSACCO G., 2009 Endoscopy of cloaca in 51 *Emys trinacris* (Fritz et al., 2005): morphological and diagnostic study. *Acta herpetol.*, 4 (1): 73-81.
- SPADOLA F. & INSACCO G., 2010. Endoscopic Study of the Cloacal Morphology of *Pelodiscus sinensis*. *Reptilia*, 70: 67-68.
- SPADOLA F., MUSICÒ M., INTERLANDI C.D., COSTA G.L. & CUCINOTTA G., 2001. Preliminary results in clinical application of cloacoscopy. *XX Int. Congr. E.S.V.S.*, 20: 299-304.
- SPADOLA F., IANNELLI D., LATELLA G., INSACCO G., CAPRÌ A. & IANNELLI N., 2010. Diagnosi precoce delle patologie cloacali negli ofidi: esperienze preliminari di video-endoscopia. *Atti Soc. ital. Sci. veterin.*, 64: 326-328.
- SPADOLA F., MUSICÒ M., INTERLANDI C. & CUCINOTTA G. 2000. Patologie della cloaca nei rettili domestici. *Obiettivi e Doc. Veter.*, 12: 19-26.
- SPADOLA F., MUSICÒ M., MACRÌ F., INTERLANDI C.D., COSTA G., SIRACUSANO L. & CUCINOTTA G., 2003. Applicazione clinica della cloacosopia nei rettili e nei volatili. *Summa*, 1: 23-28.
- WITZENBERGER K.A. & HOCHKIRCH A., 2011. Ex situ conservation genetics: a review of molecular studies on the genetic consequences of captive breeding programmes for endangered animal species. *Biodivers. Conserv.*, 20: 1843.

Indirizzo degli autori — F. SPADOLA, E. LUBIAN, V.C. NEVE, G.L. COSTA, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina, via Palatucci s.n.c. - 98128 Messina (I); M. MORICI, Pombia park s.r.l., Via Larino, 3 - 28050 Pombia (Novara, I); M. OLIVERI, Gwana Vet exotic animal hospital, Calle Guitierre de Cetina, 19 - 28017 Madrid (Spain); M. DI GIUSEPPE, Centro Veterinario per Animali Esotici, Viale Regione Siciliana Sud Est, 422 - 90129 Palermo (I).

