



Coleta de sêmen em *Leopardus guttulus* pelo método do cateterismo uretral

[*Leopardus guttulus semen collection using urethral catheter method*]

G.A. Iglesias¹, H.J. Bento¹, A.H. Kuczarski¹, T.L.C. Costa², J. Ribeiro³,
S. Pimentel³, J.S. Paulino⁴, C.H. Adania⁴, R.C.R. Paz³

¹Aluno de pós-graduação – Universidade Federal do Mato Grosso – (Favet-UFMT) – Cuiabá, MT

²Médica veterinária autônoma – São Paulo, SP

³Universidade Federal do Mato Grosso – (Favet-UFMT) – Cuiabá, MT

⁴Centro Brasileiro para Conservação dos Felinos Neotrópicos – Jundiá, SP

RESUMO

Considerando a realidade conservacionista dos animais mantidos em cativeiro, em especial os pequenos felídeos silvestres, objetivou-se, com este estudo, descrever o método de coleta de sêmen por cateterismo uretral em *Leopardus guttulus* cativos, anestesiados com cetamina-dexmedetomidina. Inicialmente foram utilizados 13 animais para coleta de sêmen por cateterismo mediante o uso de diferentes doses de cetamina-dexmedetomidina. Após determinação da dose anestésica ideal para coleta de sêmen nessa espécie, cinco *L. guttulus* machos foram submetidos a coletas seriadas de sêmen pelo método do cateterismo. A dose ideal para coleta de sêmen foi de 0,008mg/kg de dexmedetomidina e 10mg/kg de cetamina. Os valores médios para volume e concentração foram de 35,9µL e 552,8x10⁶sptz/mL. Com média de 71% de motilidade e 3,1 de vigor, 68% dos espermatozoides apresentaram vitalidade (integridade de membrana) e 77% integridade acrossomal. Sobre as patologias espermáticas, obteve-se uma média de 28% de espermatozoides com defeitos maiores, 6% com defeitos menores e 67% normais. As vantagens do método, como a facilidade e o baixo custo, fazem recomendar sua utilização em *L. guttulus*, pois foram apresentados bons resultados quanto à concentração espermática, à motilidade, ao vigor, à viabilidade espermática e à integridade acrossomal, sendo uma técnica promissora para utilização em felinos selvagens.

Palavras-chave: felinos, reprodução, coleta farmacológica

ABSTRACT

Considering the conservationist reality of animals kept in captivity, especially the small wild felids, this study aimed to describe the semen collection method using urethral catheterization in captive *Leopardus guttulus*, anesthetized with ketamine-dexmedetomidine. Initially, 13 animals were used for semen collection using catheterization with different ketamine-dexmedetomidine doses. After determination of the best anesthetic dose for semen collection in this species, five male *L. guttulus* were submitted to serial semen collections using the catheter method. The dose for semen collection was 0.008mg/kg dexmedetomidine and 10mg/kg ketamine. The mean values for volume and concentration were 35.9µL and 552.8x10⁶sptz/mL, with a mean of 71% motility, 3.1 vigor, and 68% of spermatozoa presented vitality and 77% presented acrosomal integrity. Sperm pathologies obtained an average of 28% of spermatozoa with major defects, 6% of spermatozoa with minor defects and 67% of normal spermatozoa. The method advantages such as ease and low cost lead us to recommend the use in *L. guttulus*, since it presented good results regarding sperm concentration, motility, vigor, sperm viability and acrosomal integrity, being a promising technique for use in wild cats.

Keywords: felines, reproduction, pharmacological collection

INTRODUÇÃO

Entre as espécies de pequenos felídeos encontradas no Brasil, considerava-se que o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) habitava todo o território brasileiro, inclusive a Depressão Central gaúcha, estendendo-se desde a Costa Rica até o norte da Argentina, sendo classificado como o menor felídeo silvestre do Brasil, com tamanho semelhante ao do gato doméstico (*Felis catus*) (Cheida *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2013). No entanto, trabalhos realizados por meio da avaliação genética dessa espécie demonstraram uma divergência entre animais da região central (*Leopardus t. tigrinus*) e do sul do Brasil (*L. guttulus*), sugerindo que, há aproximadamente 3,7 milhões de anos, houve uma fragmentação dessa população, muito provavelmente pelo Rio Amazonas, o que acarretou a diferenciação e o consequente surgimento dessas duas espécies (Trigo *et al.*, 2008). O gato-do-mato-pequeno (*L. guttulus*) atualmente é considerado animal vulnerável na *Red List of Threatened Species* (Oliveira *et al.*, 2016).

Os métodos de coleta de sêmen são de suma importância, e protocolos anestésicos adequados devem ser utilizados a fim de se garantir o sucesso dessas técnicas. Estudos recentes demonstram que o uso de fármacos α -2-adrenérgicos empregados na indução anestésica de felinos leva à ejaculação espontânea, o que contribui para a coleta de sêmen nessas espécies. A ejaculação ocorre devido à ação α -2-agonista, que age na contração dos ductos deferentes e na liberação de células espermáticas na uretra (Zambelli *et al.*, 2007).

A técnica de coleta de sêmen por meio do método de cateterismo uretral após o tratamento com o sedativo medetomidina foi desenvolvida por Zambelli *et al.* (2007). Cateterização uretral após indução farmacológica com medetomidina permite a coleta de sêmen, caracterizada por baixo volume e alta concentração de espermatozoides, no entanto parte desses protocolos requer a administração de doses elevadas desse fármaco, o que acarreta maior risco de efeitos colaterais, especialmente em sistema cardiovascular (Pisu *et al.*, 2017). Esse método já foi utilizado em felinos selvagens, como *Panthera leo*, *Panthera onca* e *Felis chaus* (Lueders *et al.*, 2012; Kheirkhah *et al.*, 2017;

Araújo *et al.*, 2018). Em estudos realizados com o objetivo de se avaliarem os efeitos das altas doses de medetomidina, compararam-se os valores de volume seminal, motilidade e concentração espermática do sêmen coletado por cateterismo uretral utilizando-se doses de 50 e 130 μ g/kg do fármaco e foram observados valores significativamente inferiores desses parâmetros quando a menor dose foi empregada (Cunto *et al.*, 2015).

Dexmedetomidina, outro fármaco com propriedade α -2-adrenérgica, foi utilizada com sucesso para a obtenção de sêmen em gatos domésticos (*F. catus*), por meio da técnica de cateterismo uretral (Swanson *et al.*, 2016). Sedação e analgesia induzida por dexmedetomidina são semelhantes ao observado em medetomidina, no entanto a dexmedetomidina é aproximadamente duas vezes mais potente que a medetomidina, segundo Ko *et al.* (2009), necessitando de doses menores e consequente diminuição dos efeitos colaterais.

O objetivo deste trabalho foi descrever a técnica de cateterismo uretral em gatos-do-mato-pequenos (*L. guttulus*), mantidos em cativeiro após anestesia utilizando-se dexmedetomidina associada à cetamina, bem como avaliar os parâmetros seminais para esse tipo de coleta.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado sob as autorizações do Comitê de Ética no Uso de Animais (Ceua/UFMT), número: 23108920846/2017-11, e do Sisbio/Ibama/ICMBio, número: 57888-1.

Para determinação da dose anestésica ideal para coleta de sêmen, foram utilizados 13 espécimes de gato-do-mato-pequeno (*L. guttulus*), identificados neste estudo como LG1, LG2, LG3, LG4, LG5, LG6, LG7, LG8, LG9, LG10, LG11, LG12 e LG13, e mantidos no Centro Brasileiro para Conservação dos Felinos Neotropicais, sediado na Associação Mata Ciliar, localizada no município de Jundiá, estado de São Paulo, Brasil.

Após a determinação da dose ideal para coleta, cinco animais foram selecionados para realização de coletas seriadas, levando em consideração a facilidade de manejo dos animais e excluindo aqueles destinados ao programa de reintrodução.

Foram, então, selecionados os animais LG4, LG8, LG9, LG10, LG13, os quais foram submetidos a três coletas com intervalo de quatro meses, totalizando nove coletas, assim distribuídas: LG4 submetido a duas coletas, LG8 submetido a três coletas, LG9 submetido a uma coleta, LG10 submetido a uma coleta, LG13 submetido a duas coletas.

Para identificação da dose anestésica ideal, os animais foram contidos fisicamente com puçá e, posteriormente, contidos quimicamente com cetamina (8mg/kg dose mínima e 13,9mg/kg dose máxima) e doses crescentes de dexmedetomidina (0,003mg/kg dose mínima e 0,008 dose máxima). Após a identificação da dose ideal, os animais foram contidos fisicamente com puçá e, posteriormente, contidos quimicamente com dexmedetomidina (0,008mg/kg) e cetamina (10mg/kg), ambos via intramuscular. A coleta de sêmen por meio do método de cateterismo uretral foi realizada conforme Zambelli *et al.* (2007). Inicialmente o pênis foi exposto e higienizado com solução fisiológica, e um cateter (Tomcat[®] 3.5) foi inserido 7,5 centímetros na uretra, ligeiramente rolado e, após um minuto, retirado. O fluido recuperado foi medido quanto ao volume, cada centímetro medido no cateter equivalendo a 5µL de sêmen. Seu conteúdo foi expelido em microtubos pré-aquecidos a 37°C, com auxílio de uma seringa de 1mL acoplada ao final do cateter. Por fim, as amostras foram analisadas quanto à motilidade, ao vigor, à concentração espermática e a colorações, para se avaliar a morfologia espermática e a integridade acrossômica (Paz, 2013). As avaliações espermáticas foram realizadas seguindo os protocolos de Howard (1993) e Pope *et al.* (1991).

RESULTADOS

Os animais foram anestesiados com doses crescentes de dexmedetomidina-cetamina e submetidos à coleta de sêmen por cateterismo uretral. Os animais LG1, LG2, LG6 e LG10 apresentaram volume seminal de 6, 26, 4 e

7,5µL, respectivamente, porém não havia espermatozoides no ejaculado. Os animais LG3, LG4, LG5 e LG11 foram sondados, porém não foi obtido conteúdo seminal desses animais. O animal LG7 apresentou urina no conteúdo do cateter, sendo este descartado. O animal LG12 apresentou um volume seminal de 5µL, com motilidade de 60%, 3 de vigor espermático, 66,6% dos espermatozoides vivos e 94,5% dos acrossomas íntegros, porém o volume foi insuficiente para a realização da concentração espermática.

Os animais LG1, LG2, LG3, LG4 foram inicialmente anestesiados com a dose de 0,003mg/kg, dose recomendada na bula do medicamento para gatos domésticos (*F. catus*). Porém, apenas quando a dose atingiu 0,005mg/kg no animal LG12 é que se obteve sêmen, no entanto em baixo volume, não sendo possível realizar todas as análises. Nas doses de 0,006 e 0,007mg/kg, foi possível coletar o sêmen por cateterismo uretral nos animais LG8 e LG9, com volume suficiente para realização das análises, dessa forma estabelecendo-se a dose ideal de 0,008mg/kg de dexmedetomidina para as demais coletas (Tab. 1).

Após a determinação da dose ideal de anestésico, foram realizadas coletas seriadas em cinco animais selecionados, os quais apresentaram volume médio de 35,9µL e concentração espermática média de $552,8 \times 10^6$ espermatozoides/mL (Tab. 2). Observou-se uma média de 71% de motilidade, 3,1 de vigor espermático, e 68% dos espermatozoides apresentaram vitalidade (integridade de membrana) de acordo com a coloração de eosina-nigrosina, bem como 77% dos acrossomas dos espermatozoides estavam íntegros conforme a coloração rosa-bengala/*fast green* (Pope *et al.*, 1991) (Tab 3).

Nas análises de patologia espermática do sêmen, 28% dos espermatozoides apresentaram defeitos maiores, 6% apresentaram defeitos menores e 66% estavam normais (Tab. 4).

Coleta de semen...

Tabela 1. Valores de volume e concentração espermática obtidos em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*) mediante coleta de sêmen por cateterismo uretral, utilizando-se a associação dos fármacos dexmedetomidina e cetamina em diferentes doses

Animal	Dose cetamina (mg/kg)	Dose dexmedetomidina (mg/kg)	Volume seminal (µL)	Concentração (x10 ⁶ espermatozoides/mL)
LG 1	9,6	0,003	6	a/c
LG 2	10,43	0,003	26	a/c
LG 3	8	0,003	Ø	Ø
LG 4	8,3	0,003	Ø	Ø
LG 5	12	0,005	Ø	Ø
LG 6	11,11	0,004	4	a/c
LG 7	10	0,004	Urina	-
LG 8	13,9	0,007	14	1455
LG 9	10	0,006	21,5	1097,5
LG 10	8,9	0,005	7,5	a/c
LG 11	9,4	0,004	Ø	Ø
LG 12	9,2	0,005	5	-
LG 13	10	0,008	58	905

Legenda: Ø: ausência de conteúdo seminal; a/c: ausência de células; -: valores não analisados.

Tabela 2. Valores de volume e concentração espermática obtidos em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*) mediante coleta de sêmen por cateterismo uretral, após determinação da dose ideal de 0,008mg/kg de dexmedetomidina associado a 10mg/kg de cetamina

Animal	Volume (µL)	[](x10 ⁶ sptz/mL)
Coleta 1	LG 8	1455
	LG 9	1097,5
Coleta 2	LG 4	272,5
	LG 8	45
	LG 10	385
	LG13	905
Coleta 3	LG 4	355
	LG 8	310
	LG13	150
	Média	552, 8

Legenda: µL= microlitros; []= concentração espermática; (x10⁶sptz/mL)= milhões de espermatozoides por mililitro.

Tabela 3. Valores quantitativos (motilidade, vigor, integridade de membrana e integridade de acrossoma) obtidos em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*) mediante coleta de sêmen por cateterismo uretral, após determinação da dose ideal de 0,008 mg/kg de dexmedetomidina associado a 10mg/kg de cetamina

Animal	Motilidade (%)	Vigor	Integridade de membrana ¹	Integridade de acrossoma ²
Coleta 1	LG 8	3	94%	92%
	LG 9	5	98,50%	98,50%
Coleta 2	LG 4	2	75%	85,50%
	LG 8	1	10%	72%
	LG 10	4	70%	69%
	LG13	2	59,50%	74,00%
Coleta 3	LG 4	5	66%	70,50%
	LG 8	4	80%	64,5%
	LG13	2	55,00%	69,00%
	Média	3,1	68%	77%

¹Coloração eosina-nigrosina; ²coloração rosa-bengala/fast green.

Tabela 4. Valores das patologias espermáticas observadas no sêmen de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttulus*) mediante coleta de sêmen por cateterismo uretral, após determinação da dose ideal de 0,008mg/kg de dexmedetomidina associado a 10mg/kg de cetamina

Animal		Defeito maior	Defeito menor	Normais
Coleta 1	LG 8	19%	0%	81%
	LG 9	4,5%	3,5%	92%
Coleta 2	LG 4	11%	4%	85%
	LG 8	5,5%	2,5%	92%
	LG 10	50%	15%	35%
	LG13	67,5%	16,5%	16%
Coleta 3	LG 4	15,5%	1%	83,5%
	LG 8	54,5%	6,5%	39,0%
	LG13	22%	2%	76%
	Média	28%	6%	66%

DISCUSSÃO

No presente estudo com gato-do-mato-pequeno (*L. guttulus*), observa-se que a coleta de sêmen por meio do cateterismo uretral sob efeito do fármaco α -2-agonista dexmedetomidina em associação à cetamina, é adequado e permite a obtenção de sêmen de boa qualidade, sendo o mesmo resultado observado por Pisu *et al.* (2017) e Swanson *et al.* (2016) em outras espécies de felídeos.

Segundo Ko *et al.* (2009), a dexmedetomidina apresenta analgesia e sedação semelhantes à apresentada pela medetomidina, porém com efeito duplamente potencializado; isso torna a dexmedetomidina mais segura para esse protocolo de coleta de sêmen, haja vista a possibilidade da redução das quantidades de anestésico empregadas durante o procedimento, como foi observado no presente estudo, e a consequente diminuição dos efeitos adversos esperados.

Durante o período de adaptação de doses anestésicas com a dexmedetomidina, a coleta de sêmen pelo método de cateterismo só foi possível quando a dose dela atingiu 0,005mg/kg, dose essa também utilizada em gatos domésticos para coleta de sêmen pelo mesmo protocolo (Pisu *et al.*, 2017). Porém, o volume coletado foi de apenas 5 μ L, não sendo suficiente para realizar todas as análises. Na dose de 0,006mg/kg de dexmedetomidina no animal LG9, obteve-se um ejaculado com volume de 21 μ L e concentração 1097 x 10⁶ espermatozoides/mL. O animal LG8, que recebeu 0,007mg/kg de dexmedetomidina, apresentou ejaculado com volume de 14 μ L e concentração espermática de 1455 x 10⁶

espermatozoides/mL. Após o que se observou com relação às doses utilizadas nos animais LG8 e LG9, determinou-se a utilização do fármaco na dose de 0,008mg/kg, obtendo-se bons resultados nas coletas de sêmen dos demais animais. Pode-se dizer que, acima da dose de 0,005mg/kg do fármaco, houve a ação α -2-adrenérgica sobre os ductos deferentes, o que possibilitou a obtenção de células espermáticas (Zambelli *et al.*, 2007).

Os valores de concentração espermática apresentaram a média de 552,8 x 10⁶ espermatozoides/mL, valores inferiores aos encontrados por Pisu *et al.* (2017) em gatos domésticos utilizando-se o método de cateterismo, após tratamento por dexmedetomidina, com concentração variando de 1100 a 2870 x 10⁶ espermatozoides/mL. De acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (Manual..., 2013), a concentração espermática pode sofrer alterações devido a fatores extrínsecos, como método de coleta, frequência de atividade sexual do reprodutor, condicionamento, e a fatores intrínsecos, como idade do animal, tamanho e higidez testicular.

Swanson *et al.* (2016) encontraram a média progressiva da motilidade dos espermatozoides de 68,9% \pm 2,6%, com 80% \pm 1,8% de acrossomas íntegros em sêmen *in natura* coletado pelo método de cateterismo uretral em gatos domésticos, valores esses que foram semelhantes aos do estudo em questão, que apresentou boa qualidade seminal nos gatos-do-mato-pequenos (*L. guttulus*), com média de 71% de motilidade e 77% de integridade acrossomal.

Neste estudo, os animais apresentaram uma média de 34% de patologias totais e 66% de espermatozoides normais, apresentando, assim, uma normospermia segundo Pukazhenthí *et al.* (2001). A presença de espermatozoides pleomórficos é uma característica em ejaculados felinos (Pukazhenthí *et al.*, 2001; Wildt *et al.*, 1983). O gato doméstico é considerado o modelo experimental ideal para estudos comparativos sobre teratospermia, porque, mesmo que sejam rotineiramente normospermicos, alguns machos produzem consideravelmente altas proporções de espermatozoides malformados (Pukazhenthí *et al.*, 2001; Howard *et al.*, 1990). Os machos adultos que produzem espermatozoides com mais de 60% de patologias espermáticas são considerados teratospermicos, e os machos que produzem menos de 40% de patologias espermáticas são considerados normospermicos (Wildt *et al.*, 1998; Pukazhenthí *et al.*, 2001).

CONCLUSÃO

Conclui-se, com o presente estudo, a possibilidade de se obterem células espermáticas por meio do cateterismo uretral em *L. guttulus* utilizando-se dexmedetomidina na dose de 0,008mg/kg associada à cetamina na dose de 10mg/kg, ambas via intramuscular. O sêmen coletado apresentou bons resultados nas avaliações de concentração espermática, motilidade, vigor, viabilidade espermática, integridade de acrossoma e morfologia espermática, sendo essa uma técnica promissora para utilização em felinos selvagens de vida livre, principalmente aqueles que correm risco de extinção.

AGRADECIMENTOS

À Capes, pela bolsa de estudo, e ao Centro Brasileiro para Conservação de Felinos Neotropicais, localizado na Associação Mata Ciliar, em Jundiá-SP, por ceder os animais para o experimento.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, G.R.; PAULA, T.A.R.; DECO-SOUZA, T. *et al.* Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. *Anim. Reprod. Sci.*, v.195, p.1-7, 2018.
- CHEIDA, C.C.; Nakano-Oliveira, E; Fusco-Costa, R. *et al.* Ordem Carnívora. In: REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. (Eds.). *Mamíferos do Brasil*. Londrina: Nelio R. dos Reis, 2006. p.231-276.
- CUNTO, M. KÜSTER, D.G.; BINI, C. *et al.* Influence of different protocols of urethral catheterization after pharmacological induction (Ur.Ca.P.I.) on semen quality in the domestic cat. *Reprod. Domest. Anim.*, v.50, p.999-1002, 2015.
- HOWARD, J. Semen collection and analysis in carnivores. In: FOWLER, M.E. (Org.). *Zoo and wild animal medicine*. 3.ed. Saint Louis: Saunders, 1993. p.390-411.
- HOWARD, J.G.; BROWN, J.L.; BUSH, M. *et al.* Teratospermic and normospermic domestic cats: ejaculate traits, pituitary-gonadal hormones, and improvement of spermatozoal motility and morphology after swim-up processing. *J. Androl.*, v.11, p.204-215, 1990
- KHEIRKHAH, M.S.; MOLLAPOUR, S. MOHAMMADSADEGH, M. *et al.* Sperm evaluation of jungle cat (*Felis chaus*) obtained by urethral catheterization (CT) after medetomidine administration. *Theriogenology*, v.91, p.17-20, 2017.
- KO, J.C.; WEIL, A.B.; KNESL, O. FAQs-analgesia, sedation, and anesthesia. Making the switch from medetomidine to dexmedetomidine. *Comp. Cont. Educ. Vet.*, v.31, p.1-16, 2009.
- LUEDERS, I.; SCHEEPERS, G.; LUTHER, I.; VAN DER HORST, G. Improved semen collection method for wild felids: urethral catheterization yields high sperm quality in African lions (*Panthera leo*). *Theriogenology*, v.78, p.696-701, 2012.
- MANUAL para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 52p.
- OLIVEIRA, T.; TRIGO, T., TORTATO, M., PAVIOLO, A. *et al.* Leopardus guttulus, Southern Tiger Cat. *IUCN Red List of Threatened Species 2016*. v.8235, p.12, 2016.
- OLIVEIRA, T.G.; TORTATO, M.A.; ALMEIDA, L.B. *et al.* Avaliação do risco de extinção do Gato-do-mato *Leopardus tigrinus* (Schreber, 1775) no Brasil. *Biodivers. Bras.*, v.3, p.56-65, 2013.

- PAZ, R.C.R. *Reprodução de felinos domésticos e selvagens*. Cuiabá: EdUFMT, 2013. 125p.
- PISU, M.C.; PONZIO, P.; ROVELLA, C.; BARAVALLE, M.; VERONESI, M.C. Usefulness of an injectable anaesthetic protocol for semen collection through urethral catheterisation in domestic cats. *J. Feline Med. Surg.*, v.19, p.1087-1090, 2017.
- POPE, C.E.; ZHANG, Y.Z.; DRESSER, B.L. A simple staining method for quantifying the acrosomal status of cat spermatozoa. *J. Zoo Wildl. Med.*, v.22, p.87-95, 1991.
- PUKAZHENTHI, B.; WILDT, D.E.; HOWARD, J.G. The phenomenon and significance of teratospermia in felids. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v.57, p.423-433, 2001.
- SWANSON, W.F.; BATEMAN, H.L.; VANSANDT, L.M. Urethral catheterization and sperm vitrification for simplified semen banking in felids. *Reprod. Domest. Anim.*, v.52, p.255-260, 2016.
- TRIGO, T.C.; FREITAS, T.R.; KUNZLER, G. *et al.* Inter-species hybridization among Neotropical cats of the genus *Leopardus*, and evidence for an introgressive hybrid zone between *L. geoffroyi* and *L. tigrinus* in southern Brazil. *Mol. Ecol.*, v.17, p.4317-4333, 2008.
- WILDT, D.E.; BROWN, J.L.; SWANSON, W.F. Reproduction in cats. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. (Eds.). *Encyclopedia of reproduction*. New York: Academic Press, Inc. 1998. p.497-510.
- WILDT, D.E.; BUSH, M.; HOWARD, J.G.; O'BRIEN S.J. *et al.* Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol. Reprod.*, v.29, p.1019-1025, 1983.
- ZAMBELLI, D.; CUNTO, M.; PRATI, F.; MERLO, B. Effects of ketamine or medetomidine administration on quality of electroejaculated sperm and on sperm flow in the domestic cat. *Theriogenology*, v.68, p.796-803, 2007.