

COMPARAÇÃO DE QUATRO PROTOCOLOS ANESTÉSICOS PARA A COLETA DE SÊMEN POR ELETROEJACULAÇÃO EM GATOS DOMÉSTICOS

(Comparison of four anesthetic protocols for semen collection by electroejaculation in domestic cats)

Ticiania Franco Pereira da SILVA^{1*}, Carlos Gabriel Almeida DIAS¹, Janaína de Fátima Saraiva CARDOSO², Daniel Couto UCHOA², Ana Cristina Paulino BRAGA³, Camila Louise ACKERMANN¹, Francisco Tiago Silva PINHEIRO¹, Daniel Falcão Menezes BRILHANTE¹, Raimundo Diones CARNEIRO¹, Leonardo TAVERNEZI¹, Henna Roberta QUINTO¹ & Lúcia Daniel Machado da SILVA¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias/Laboratório de Reprodução de Carnívoros /FAVET/UECE; ²RENORBIO; ³Médica Veterinária Autônoma

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar quatro protocolos de anestesia para a coleta de sêmen em gatos domésticos por eletroejaculação (EEJ). Quatorze gatos foram anestesiados com cetamina/xilazina (protocolo A), tiletamina/ zolazepam (protocolo B), tiletamina/ zolazepam e tramadol Protocolo C), e isoflurano (protocolo D) e foram submetidos a 3 séries de choques elétricos (20 – 60 mA). Os parâmetros de qualidade seminal, volume, a presença de espermatozoides e a contaminação por urina foram avaliados para todos os protocolos após eletroejaculação. O sucesso na obtenção de ejaculado foi de 84,62% (11/13); 92,31% (12/13); 92,31% (12/13) e 100% (14/14), respectivamente para os protocolos A, B, C e D. Diferenças significativas entre os grupos foram encontradas para motilidade, vigor e volume seminal. O protocolo de anestésico com isoflurano é eficientemente indicado para coleta de sêmen por eletroejaculação em gatos domésticos.

PALAVRAS-CHAVE: Eletroejaculação, anestesia, gato.

ABSTRACT

This study compares four anesthetic protocols for semen collection by electroejaculation in domestic cats. Fourteen tomcats were anesthetized with ketamine/ xylazine (protocol A), tiletamine/ zolazepam (protocol B), tiletamine/ zolazepam and tramadol (protocol C), and isofluorane (protocol D) and submitted to three series of electric stimuli (20 – 60 mA). The parameters of semen quality, volume, spermatozoa presence and urine contamination were analyzed for all protocols after electroejaculation. The success in obtaining ejaculate was 84.62% (11/13); 92.31% (12/13); 92.31% (12/13) and 100% (14/14), respectively for protocols A, B, C and D protocols. Significant differences in motility, vigor and seminal volume were observed among the groups. The inhalation anesthetic protocol with isofluorane is thus efficient for semen collection in domestic cats by electroejaculation.

KEY WORDS: Electroejaculation, anesthesia, cat.

INTRODUÇÃO

A eletroejaculação (EEJ) é considerada o método de eleição para obtenção de sêmen felino. Este método possibilita análises

andrológicas em animais de alto valor genético ou animais silvestres que não permitem avaliação sem anestesia devido à sua agressividade ou por não serem treinados para ejaculação em vagina artificial (Morato & Barnabe, 1998) e baseia-se

na indução do reflexo ejaculador através de estímulos elétricos, com a introdução de uma sonda trans-retal conectada a um estimulador elétrico, no assoalho da ampola retal do animal (Silva et al., 2004a). A EEJ é considerada, pela maioria dos autores, um procedimento simples, rápido e prático (Morais et al., 2002). É uma técnica útil para avaliação andrológica do animal em ambiente clínico, já que o treinamento para a coleta do sêmen por vagina artificial pode levar de duas a três semanas, obtendo-se sucesso em apenas 60 a 70% dos casos (Platz & Seager, 1978).

Para felinos, os protocolos de estimulação elétrica não apresentam grandes diferenças (Wildt et al., 1983; Howard et al., 1984), entretanto os protocolos anestésicos utilizados variam de acordo com os autores, que na grande maioria optam por um único protocolo de anestesia para coleta. Entre estes protocolos para EEJ em gatos domésticos e felídeos silvestres são citados: cloridrato de cetamina (Platz & Seager, 1978) e as associações de cloridrato de cetamina e xilazina (Morais et al., 2002); tiletamina e zolazepam (Morais et al., 2002; Morato et al., 2002; Tebet et al., 2006); tiletamina, zolazepam e morfina; tiletamina, zolazepam, butorfanol e acepromazina (Tebet et al., 2006); cetamina e medetomidina (Axner et al., 1998; Zambelli et al., 2007); propofol (Chatdarong et al., 2006), propofol e buprenorfina (Chatdarong et al., 2006); indução anestésica com propofol e anestesia epidural com lidocaína (Leite et al., 2006), ou anestesia inalatória com a indução anestésica à base cetamina, diazepam, tiopental sódico e manutenção anestésica com isoflurano (Silva et al., 2004b). Alguns autores atribuem parte do sucesso na coleta, ou seja, boa qualidade seminal, volume suficiente para análise e/ou conservação e ausência de contaminação do ejaculado por urina ao protocolo de anestesia empregado (Zambelli et al., 2007; Tebet, 2004). O uso de diferentes associações torna difícil a comparação da eficiência entre os protocolos mais utilizados. Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar quatro protocolos de anestesia para coleta de sêmen em gatos domésticos por

eletroejaculação.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 14 gatos machos púberes sem raça definida (SRD), com peso entre 3 e 5 Kg, provenientes do gatil experimental da Universidade Estadual do Ceará (3° 44' de latitude Sul e 38° 34' de longitude Oeste), estando os animais submetidos a 12 horas diárias de luz natural. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e alimentados com ração comercial de manutenção para gatos (Kitekat®-Éffem®, Brasil), recebendo água à vontade.

Anestesia

Os animais foram submetidos a uma coleta por EEJ por protocolo anestésico testado, respeitando-se um intervalo mínimo de 15 dias entre cada coleta do mesmo animal. Os animais foram previamente submetidos a um jejum alimentar de 24h e hídrico de 12h, e após serem pesados, foram contidos farmacologicamente com associações de cloridrato de cetamina (15 mg/Kg - Dopalen®, Vetbrands®, Brasil) e cloridrato de xilazina (1 mg/Kg - Anasedan®, Vetbrands®, Brasil), por via IM (n=13 – protocolo A); cloridrato de tiletamina e zolazepam (15 mg/Kg - Zoletil®, Virbac, Brasil e Telazol®, Fort Dodge Saúde Animal Ltda®, Brasil) por via IM (n=13 – protocolo B); cloridrato de tiletamina e zolazepam (15 mg/Kg), e tramadol (2 mg/Kg - Sylador®, Sanofi Synthelabo Ltda®, Brasil) por via IM (n=13 – protocolo C); e indução anestésica com cloridrato de ketamina (15 mg/Kg) e diazepam (1mg/Kg - Compaz®, Cristália®, Brasil) por via IM, e manutenção em isoflurano (Isoforine®, Cristália®, Brasil - n=14 – protocolo D). Após a indução anestésica, quando necessário, antes da intubação os animais eram submetidos à máscara com isoflurano dissolvido em oxigênio medicinal. Para a intubação foi utilizada lidocaína spray a 10% para dessensibilização da laringe, cânulas de 4 ou 4,5 mm de diâmetro interno e circuito semi-aberto de Baraka, conectados a um vaporizador universal. Após a perca da reação

de endireitamento postural, uma veia foi canulada para administração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,9%, permitindo a reposição do anestésico por via intravenosa.

Em todos os procedimentos anestésicos, os animais foram acompanhados quanto aos parâmetros fisiológicos até a tentativa espontânea de erguer a cabeça e manter-se em estação. A qualquer momento da EEJ no qual o plano anestésico não fosse mantido, a suplementação da anestesia era realizada por via IV com metade da dose inicial calculada, até obtenção do plano anestésico ideal. Para o protocolo C, somente a combinação tiletamina e zolazepam foi complementada.

Coleta de sêmen

Para coleta do sêmen, foi utilizado um eletroejaculador portátil (Eletrojet® - Electrovet®-Brasil), acoplado a uma sonda trans-retal (13 x 1 cm) com os eletrodos voltados para o assoalho da ampola retal, previamente lubrificado com gel inócuo à base de um polímero carboxivinílico. Após a entrada em plano anestésico, o reto foi limpo de bolos fecais e a sonda introduzida cerca de 5 a 7 cm no reto dos animais, e então foram aplicados 80 estímulos elétricos divididos em 3 séries. Na primeira série, 10 estímulos sucessivos de 20, 30 e 40 mA. Na segunda, 10 estímulos de 30, 40 e 50 mA e na terceira, estímulos de 50 e 60 mA. Cada estímulo elétrico durou entre 2 e 3 segundos, e entre cada série, foi realizado um intervalo de 5 minutos. O ejaculado de cada série de estímulos foi coletado em tubos plásticos de 1,5 mL

Análise do sêmen

Afim de evitar possíveis alterações por conta do tempo transcorrido até o final do procedimento de EEJ, imediatamente após cada série, os ejaculados, foram observados em relação às características macroscópicas de volume e coloração, e microscópicas de presença ou não de células espermáticas, porcentagem de espermatozoides móveis (motilidade) e o vigor espermático (0 a 5), em microscopia de luz (100 e 400x). Amostras com suspeita de contaminação por urina foram mensuradas

quanto ao pH através de fitas (D52348, Macherey-Nagel®, Alemanha). A porcentagem de alterações morfológicas espermáticas foi avaliada em microscopia óptica de contraste de fase (1000x) por coloração de uma alíquota do sêmen em Rosa de Bengala. Os espermatozoides foram classificados como normais ou anormais quando apresentavam algum defeito de acrossoma, cabeça, peça intermediária ou cauda. Os ejaculados contendo células espermáticas do mesmo animal (1ª e 2ª série) em cada protocolo foram mantidos em banho-maria a 37°C e misturados à 3ª série somente para a mensuração da concentração espermática, através de uma câmara de Neubauer em microscópio óptico (400x).

Análise Estatística

Os parâmetros de volume, motilidade, vigor, concentração e alterações morfológicas foram expressos para o procedimento de EEJ somando-se os resultados das 3 séries na forma de média e desvio padrão. A motilidade, após conversão em arco-seno, e o volume foram comparados entre os protocolos e/ou séries pelo teste *t*-Student e o vigor pelo teste de Mann Whitney. Para todos os parâmetros, considerou-se $p < 0,05$ (*Stat View for Windows*®, SAS Institute Inc., Versão 5.0, 1998).

RESULTADOS

Todos os 14 animais ejacularam com conteúdo espermático em pelo menos uma série da coleta, mostrando possuírem produção seminal. A obtenção de ejaculado no procedimento de EEJ foi de 84,62% (11/13); 92,31% (12/13); 92,31% (12/13) e 100% (14/14), respectivamente para os protocolos A, B, C e D. Nos protocolos A e B, mais de ¼ das séries de EEJ resultou em falha de ejaculação. No C, mais de 80% das séries resultou em ejaculação; ao passo que no protocolo D, o inverso foi observado. A ejaculação contendo células espermáticas foi observada independentemente da série (voltagem) executada.

O volume médio do ejaculado quando

analisado quanto à presença ou não de células espermáticas, não diferiu entre os protocolos (Tab. 1).

Para o cálculo de motilidade e vigor médios, os ejaculados contendo baixa concentração espermática (uma a quatro células em todos os campos observados) não foram considerados. A tab. 2 traz os resultados de motilidade e vigor obtidos para os protocolos.

A coloração das séries do ejaculados variou de transparente a esbranquiçado (n= 122 séries do ejaculado), com exceção das amostras contaminadas por urina que apresentavam coloração amarelada (n= 4 séries do ejaculado). Estes ejaculados com urina foram obtidos nos protocolos A e D. Nestes casos, o pH do ejaculado obtido foi 7 e 8, enquanto que nas outras séries de EEJ no mesmo protocolo para o mesmo animal o pH foi igual a 9. A contaminação com urina ocorreu em um animal nas duas primeiras séries de EEJ do protocolo de anestesia inalatória, nas quais foi obtido plasma seminal (400 e 140 µL); e em outro animal na 2ª (10 µL) e 1ª série (110 µL) dos protocolos A e D, respectivamente, nas quais foi obtido ejaculado contendo células espermáticas.

A concentração espermática média para os protocolos A e C, foi respectivamente de 460 e 258 x 10⁶ spz/ mL. A avaliação de concentração não foi efetuada nos protocolos B e D. Em relação à morfologia espermática foram obtidos: 55,47% ± 27,05; 85,03% ± 21,17; 35,63% ± 5,13; e 46,82% ± 17,74 de

anormalidades, respectivamente para os grupos A, B, C e D, predominando o defeito de cauda enrolada.

DISCUSSÃO

Para felídeos, os relatos de obtenção de ejaculado na coleta por EEJ são de 100% na onça pintada, utilizando tiletamina e zolpazepam (Morato et al., 1998), 100% no gato-do-mato-pequeno, utilizando tiletamina zolazepam e xilazina (Erdmann et al., 2005) e 80% no gato doméstico, utilizando indução anestésica com propofol e anestesia epidural com lidocaína (Leite et al., 2006). Assim como no presente trabalho, a presença de espermatozóides no ejaculado nem sempre é observada. A obtenção de somente plasma seminal foi relatada para onças pintadas em 20,4% dos procedimentos de EEJ. Erdmann et al. (2005) relataram que em gato-do-mato-pequeno, todas as coletas resultaram em ejaculado contendo espermatozóides, sendo portanto a EEJ um procedimento satisfatório para confirmar a produção seminal dos animais. A ausência de ejaculação em um procedimento isolado não deve, no entanto, caracterizar a incapacidade de produção espermática pelo animal. Segundo Platz & Seager (1978), duas EEJ são necessárias para uma boa avaliação andrológica de um animal. Já Leite et al. (2006) relataram que 20% dos animais não ejacularam em nenhuma das séries, entretanto, somente uma EEJ foi procedida por animal. As variações na obtenção de ejaculados com ou sem

Tabela 1. Volume médio (± dp) do ejaculado (com ou sem espermatozóides), máximos e mínimos obtidos na eletroejaculação em gatos domésticos utilizando quatro diferentes protocolos anestésicos.

Ejaculado	Protocolos anestésicos			
	A	B	C	D
	(µL)			
Com espermatozóides	8,64 ± 7,10 (5 - 25)	14,50 ± 19,55 (4 - 90)	10,24 ± 6,05 (4 - 20)	51,07 ± 106,63 (5 - 400)
Sem espermatozóides	13,24 ± 10,89 (5 - 40)	11,25 ± 4,79 (5 - 15)	18,62 ± 28,72 (2 - 105)	18,70 ± 26,85 (4 - 110)

A: protocolo de anestesia dissociativa de cetamina e xilazina (n=28 ejaculados);B: protocolo de anestesia dissociativa tiletamina e zolazepam (n=29 ejaculados);C: protocolo de anestesia dissociativa tiletamina, zolazepam e tramadol (n=32 ejaculados);D: protocolo de anestesia inalatória (indução com cetamina, diazepam e manutenção com isoflurano - n= 37 ejaculados).(P>0,05)

Tabela 2. Média \pm dp do volume, da motilidade e vigor espermáticos obtidos na eletroejaculação em gatos domésticos utilizando quatro diferentes protocolos anestésicos.

Protocolos anestésicos	Parâmetros		
	Volume (μ L)	Motilidade (%)	Vigor (0 - 5)
A	11,43 \pm 9,71 ^a	42,73 \pm 25,92 ^a	2,66 \pm 1,21 ^{ab}
B	14,41 \pm 17,94 ^a	46,67 \pm 50,33 ^{ab}	1,67 \pm 1,44 ^a
C	10,50 \pm 8,88 ^a	54,64 \pm 40,78 ^{ab}	2,93 \pm 1,82 ^{ab}
D	30,95 \pm 69,28 ^a	55,73 \pm 29,32 ^b	3,08 \pm 1,22 ^b

A: anestesia dissociativa de cetamina e xilazina (n=15 ejaculados);B: anestesia dissociativa tiletamina e zolazepam (n=3 ejaculados);C: anestesia dissociativa tiletamina, zolazepam e tramadol (n=14 ejaculados);D: anestesia inalatória (indução com cetamina, diazepam e manutenção com isoflurano - n=22 ejaculados).

^{a,b} Letras diferentes representam diferença entre linhas (P<0,05).

espermatozóides podem estar vinculadas a vários fatores, entre eles os diferentes procedimentos anestésicos realizados entre autores. No presente trabalho, a obtenção de ejaculados parece não ter sido influenciado pela anestesia. A EEJ não é só utilizada para avaliação andrológica, mas principalmente para obtenção de sêmen para estudos de conservação e inseminação artificial (Platz & Seager, 1978; Tebet et al., 2006). Assim, a obtenção de um ejaculado contendo espermatozóides torna-se essencial. Por este ponto de vista, utilizando-se o protocolo B (tiletamina e zolazepam), obteve-se menos freqüentemente ejaculado contendo espermatozóides móveis (5,13%) e mais freqüentemente somente plasma seminal (64,10%). Já utilizando o protocolo D, obteve-se um sucesso maior em relação à obtenção do ejaculado (11,90% de ausência de ejaculação) e este contendo espermatozóides móveis (40,48%).

A ocorrência de contaminação por urina em 14,28 % das EEJ pelo protocolo D e em 7,69% pelo protocolo A, ambas confirmadas pela coloração e pH mais baixo que do ejaculado contaminado, é considerada normal. O sêmen coletado por EEJ apresenta pH mais elevado do que o coletado por vagina artificial, provavelmente devido à maior estimulação da próstata, cujo conteúdo é mais alcalino (Dooley & Pineda, 1986). Assim, a queda do pH no ejaculado contendo urina não é tão acentuada, como foi observado no presente trabalho (pH=7 e 8 com urina e pH=9 sem urina). A

contaminação por urina no ejaculado após EEJ em gato doméstico é mais freqüentemente relatada com uso de voltagens superiores a 8V (Pineda & Dooley, 1984) ou com o uso de combinações anestésicas contendo acepromazina (Martin, 1978). Procedimentos de EEJ em gato-do-mato-pequeno mostraram que em planos anestésicos muito profundos ou muito superficiais a incidência de contaminação por urina é maior (Tebet, 2004). De acordo com Howard (1993), o uso de anestésicos inalatórios pode relaxar a musculatura ao redor da bexiga, facilitando a ejaculação com urina. Entretanto, a contaminação do ejaculado por urina na EEJ de jaguatiricas utilizando tiletamina, zolazepam não diferiu das anestesiadas com a mesma combinação suplementadas com isoflurano (Queiroz et al., 2004). Experimento anterior de EEJ com o uso de anestesia inalatória com isoflurano e indução anestésica com cetamina, diazepam, tiopental sódico de parte dos mesmos animais utilizados no presente trabalho, não observou a contaminação por urina descrita com o protocolo D (Silva et al., 2004b).

A contaminação do ejaculado por urina não é um fenômeno fisiológico, entretanto a ejaculação retrógrada é freqüentemente observada durante ejaculação natural ou EEJ no gato doméstico (Dooley et al., 1991; TEBET, 2004; Zambelli et al., 2007). No presente trabalho, nas séries sem obtenção de ejaculado ou com ejaculação de pequeno volume, somente de plasma seminal e com concentração baixa de células espermáticas é possível que a ejaculação

retrógrada tenha ocorrido. Entretanto, não foi realizada cistocentese dos animais, para a verificação de células espermáticas na urina de forma a confirmar a ejaculação retrógrada. A visualização de pequena quantidade de espermatozóides na urina colhida por cistocentese é normal em gatos mesmo sem o uso de qualquer contenção farmacológica ou estímulo ejaculatório (Zambelli et al., 2007). Uma repetição do experimento com cistocentese seria interessante para evidenciar se as EEJ realizadas com o protocolo A, contendo xilazina, induziriam ou não nos animais uma maior frequência de ejaculação retrógrada, já que este fenômeno ocorre com o uso da xilazina em cães (Dooley et al., 1990), mas não em suínos (Martin et al., 2003).

O sucesso de uma coleta de sêmen em felídeos por EEJ envolve a combinação de múltiplos fatores (Queiroz et al., 2004). Além das variações promovidas pelas combinações anestésicas utilizadas para as diferentes espécies e protocolo de voltagens utilizado, deve-se considerar a variação individual, o posicionamento e tamanho da sonda, e a presença de fezes no reto. No presente trabalho, o reflexo de extensão das patas foi observado em todos os estímulos, para todos os animais em todos os protocolos, aventando-se que mesmo nas séries em que não houve ejaculação, o estímulo elétrico foi fornecido satisfatoriamente. Na EEJ, é esperado o reflexo de extensão das patas traseiras. Se o reflexo nas primeiras sub-séries não é observado, ou a reação for exacerbada, a posição da sonda pode não estar sendo adequada ou há interferência no estímulo elétrico pela presença de fezes no reto (Platz & Seager, 1978; Silva et al., 2004a). Assim como relatado por Platz & Seager (1978), a inserção da sonda no reto do animal e aplicação de choques elétricos nesta região em intervalos de até 1 semana, não promoveu no presente trabalho efeitos indesejados. O volume médio obtido após a EEJ, para todos os protocolos pode ser considerado baixo. Grandes volumes só foram observados quando houve contaminação por urina (100 – 400 μL). Redução no volume do ejaculado por EEJ é observado com uso da

atropina na pré-anestesia (Martin, 1978), e o aumento do volume pode ser observado com a repetição das coletas (Pineda et al., 1984), ou a repetição pode causar redução no volume (Axnér et al., 1997). Alguns autores não incluem o volume do ejaculado na estatística, já que o método de coleta pode afetá-lo (Axnér et al., 1997). O volume do ejaculado é um dado bastante variável entre autores, protocolos de coleta e anestesia, indo de 77 a 738 μL no uso da cetamina isolada (Platz & Seager, 1978), 140 μL para associações à base de tiletamina e zolazepam (Tebet et al., 2006), e 42,5 μL para isoflurano (Silva et al., 2004b).

A EEJ mostrou-se satisfatória para determinação da ocorrência de produção seminal pelos animais utilizados, visto que nem todos haviam sido previamente coletados por vagina artificial ou qualquer outro método. A qualidade média dos ejaculados pode ser considerada normal para a espécie já que resultados de motilidade para o gato doméstico após EEJ são bastante variáveis (47% a 91% - Platz & Seager, 1978; Leite et al., 2006;) Valores de 80 a 100% de motilidade foram observados em pelo menos 8 animais em 1 ou mais de 1 protocolo. Todos os animais em pelo menos 1 ejaculado de cada série individual apresentou resultado de motilidade = 50% distribuído entre os protocolos, parecendo não haver efeito de 1 ou mais animais naturalmente com melhor ou pior qualidade seminal, mas sim do procedimento de EEJ, o qual proporcionou uma grande variação na motilidade observada. Já o vigor espermático médio, está abaixo dos valores descritos para os diferentes protocolos, sendo observado em geral valores de 3 a 5 (Axnér et al., 1997; Tebet et al., 2006; Zambelli et al., 2007).

A utilização de tubos de coleta à temperatura ambiente (aproximadamente 28°C) e não pré-aquecidos (37°C) pode ter contribuído para uma discreta diminuição da qualidade seminal em algumas amostras. Porém, o tempo da coleta de cada série até a análise não parece ser suficiente para determinar significativa queda de qualidade em todos os procedimentos (Platz & Seager, 1978; Silva et al., 2004a). Bons resultados de qualidade após EEJ foram obtidos

por Tebet et al. (2006), utilizando tubos coletores mantidos à temperatura ambiente (não descrita) e processamento do sêmen após a EEJ.

O percentual de alterações morfológicas observadas está dentro do limite médio de <2 a 59,1% encontrado após EEJ em gatos domésticos (Platz & Seager, 1978; Axné et al., 1997). Relatos comprovam que a EEJ altera a osmolaridade do sêmen (Dooley & Pineda, 1986), o que pode ter influenciado na predominância de defeitos de cauda enrolada. A diminuição da qualidade e aumento de alterações morfológicas parecem estar mais vinculadas ao aumento da secreção das glândulas acessórias (Axné et al., 1998), já que o uso da EEJ causa aumento do volume do plasma seminal quando comparado à vagina artificial (Platz & Seager, 1978) e sabe-se que a presença do plasma seminal afeta negativamente a habilidade de fertilização no gato doméstico (Luvoni et al., 2003). Quanto maior a voltagem, mais líquido de glândulas acessórias (Dooley & Pineda, 1986).

Salienta-se que os animais do presente trabalho foram submetidos em ordem aleatória aos protocolos anestésicos para realização da EEJ. Assim, diminui-se a possibilidade do efeito da ordem da coleta, avaliando-se somente o uso da associação anestésica. O aumento da secreção de glândulas acessória é acompanhado do decréscimo da concentração espermática (Platz & Seager, 1978), entretanto os valores de concentração espermática obtidos foram superiores aos relatados na literatura (9 a $198,88 \times 10^6$ spz/mL- Platz & Seager, 1978; ZAmbelli et al., 2007) para coleta de sêmen por EEJ em gatos domésticos, assemelhando-se aos resultados anteriormente obtidos em parte do mesmo grupo experimental para anestesia com isoflurano (867×10^6 spz/mL- Silva et al., 2004b). Estas diferenças podem se dever a fotoperiodicidade do gato doméstico, já que os diferentes experimentos podem ter sido realizados em localizações geográficas e estações do ano distintas, influenciando na concentração espermática obtida (Stornelli, 2007).

Modificações no número de séries e

intensidade de estímulos partindo-se de um protocolo base (Tebet, 2004), a realização de uma segunda EEJ em um mesmo plano anestésico após alguns minutos (Axné et al., 1997) e o uso de sondagem uretral durante o procedimento da EEJ (Herron et al., 1986; Tebet, 2004) são alternativas já descritas a fim de melhorar volume e a qualidade do ejaculado ou facilitar a manipulação de pequenos volumes em gatos domésticos. A obtenção no tubo coletor de pequenos volumes foi bastante comum no presente trabalho, e uma alternativa ao uso do cateter foi a pipetagem, em alguns casos, do líquido aderido entre a mucosa peniana e o prepúcio, diminuindo as perdas.

Quando a obtenção de um volume suficiente de ejaculado contendo espermatozoides móveis de boa qualidade é considerada não somente para avaliação andrológica, mas para o processamento do sêmen por métodos de refrigeração e/ou criopreservação, o uso do protocolo anestésico B para EEJ resulta nos piores resultados. O protocolo D apresenta o inconveniente de necessitar do uso de um equipamento e de um profissional treinado para realização da anestesia, utilizando também maior quantidade de combinações farmacológicas, tornando o protocolo mais oneroso e menos prático. Apesar destes inconvenientes, para uso clínico, apresenta boa relação custo-benefício, diminuindo riscos anestésicos no procedimento de EEJ quando realizado em animais de alto valor zootécnico, financeiro e/ou afetivo. O protocolo A, permite a coleta na maior parte das séries de EEJ, entretanto a qualidade da analgesia e segurança desta combinação anestésica é inferior à do protocolo D (Silva et al., dados não publicados). O protocolo C mostra-se como uma alternativa no uso de uma anestesia dissociativa e apresenta no geral resultados semelhantes aos protocolos A e D.

O protocolo de anestesia inalatória com a indução anestésica com cetamina, diazepam e manutenção com isoflurano é eficientemente indicado para coleta de sêmen por eletroejaculação em gatos domésticos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ, à CAPES e à FUNCAP pelo custeio do experimento e pelas bolsas de pesquisas concedidas. Ao Centro de Controle de Zoonoses de Fortaleza pela concessão das vacinas anti-rábicas aplicadas nos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AXNÉR, E.; HOLST STRÖM, B.; LINDEFORSBERG, C. Sperm morphology is better in the second ejaculate than in the first in domestic cats electroejaculated twice during the same period of anesthesia. *Theriogenology*, v.47, p.929-934, 1997.
- AXNÉR, E.; HOLST STRÖM, B.; LINDEFORSBERG, C. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymidis before and after electroejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. *Theriogenology*, v.50, p.973-979, 1998.
- CHATDARONG, K.; PONGLOWHAPAN, S.; MANEE-IN, S.; PONGPHET, K. The use of propofol for electroejaculation in domestic cats. *Theriogenology*, v.66, p.1615-1617, 2006.
- DOOLEY, M. P.; PINEDA, M. H. Effect of method of collection on seminal characteristics of the domestic cat. *American Journal of Veterinary Research*, v. 47, n. 2, p. 286-292, 1986.
- DOOLEY, M. P.; PINEDA, M. H.; HOPPER, J. G.; HSU, W. H. Retrograde flow of spermatozoa into urinary bladder of dogs during ejaculation or after sedation with xylazine. *American Journal of Veterinary Research*, v. 51, n. 10, p.1574-1579, 1990.
- DOOLEY, M. P.; PINEDA, M. H.; HOPPER, J. G.; HSU, W. H. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of cats during electroejaculation, collection of semen with artificial vagina, and mating. *American Journal of Veterinary Research*, v. 52, n. 5, p.687- 691, 1991.
- ERDMANN, R. H.; JUVENAL, J. C.; MORAES, W.; CUBAS, P.; CARVALHO, A. L.; MOREIRA, N. Estudo reprodutivo em gato-domato-pequeno (*Leopardus tigrinus* Schreber, 1775). *Archives of Veterinary Science*, v.10, n.2, p. 75-79, 2005.
- HERRON, M. A.; BARTON, C. L.; APPLGATE, B. A modified technique for semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Theriogenology*, v. 26, n. 3, p. 357- 364, 1986.
- HOWARD, J. G. Semen collection and analysis in carnivores. In: FLOWER, M. E. **Zoo Wild Animal Medicine and Current Therapy**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993, p. 390-399.
- HOWARD, J. G.; BUSH, M.; HALL, L. L.; WILDT, D. E. Morphological abnormalities in spermatozoa of 28 species of non-domestic felids. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 10, 1984. Urbana-Champaign. **Proceedings**...Urbana Champaign, 1984.p. 57.
- LEITE, D. K. V. H.; PIRES, M. V. M.; SUZANO, S. M. C.; LISBOA, D.; SILVEIRA, A. M.; FERREIRA, A. M. R. Avaliação da coleta de sêmen pelo método de electroejaculação no gato doméstico (*Felis catus*). *Revista da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 26, suplemento, p. 361-362, 2006.
- LUVONI, G.C.; KALCHSCHMIDT, E.; LEONI, S.; RUGGIERO, C. Conservation of feline semen. Part I: cooling and freezing protocols. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, p. 1-6, 2003.
- MARTIN, I. C.A. The principles and practice of electroejaculation of mammals. *Symposium of Zoological Society of London*, n. 43, p.127-152, 1978.
- MARTIN, P. A.; PINEDA, M. H., DOOLEY, M. P. Xylazine does not induce retrograde flow of spermatozoa onto the urinary bladder of sexually rested boars. *Journal of Veterinary Medicine. Series A: Physiology, Pathology and. Clinical Medicine*, v.50, n.3, p. 16-163, 2003.
- MORAIS, R.N.; MUCIOLO, R.G.; GOMES, M.L.F.; LACERDA, O.; MORAES, W.; MOREIRA, N.; GRAHAM, L.H.; SWANSON, W. F.; BROWN, J.L. Seasonal analysis of semen characteristics, serum testosterone and fecal androgens in the ocelot (*Leopardus pardalis*), margay (*L. weidii*) and tigrina (*L. tigrinus*). *Theriogenology*, v.57, p. 2027-2041, 2002.
- MORATO, R. G.; BARNABE, R. C. Biotécnicas de Reprodução Aplicadas à Preservação de Felídeos Selvagens. *Clinica Veterinária*, v. 12, p. 24-26, 1998.
- MORATO, R. G.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; NUNES, A. L. V.; CARCIOFI, A. C.; FERREIRA, F.; BARNABE, V. H.; BARNABE, R. C. Colheita e avaliação do sêmen em onça pintada (*Panthera onca*). *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, v. 35, n. 4, p. 178-181, 1998.
- MORATO, R.G.; MOURA, C.A.; CRAWSHAW

- JR., P.G. Inmobilização química de jaguares livres com uma combinação de tiletamina e zolazepam. In: MEDELLIN, R. A.; CHETKIEWICZ, C.; RABINOWITZ, A.; REDFORD, K. H.; ROBINSON, J. G.; SANDERSON, E.; TABER, A. **El Jaguar en el nuevo milenio. Una evaluación de su estado, detección de prioridades y recomendaciones para la conservación de los jaguares en América.** México: Universidad Nacional Autónoma de México/Wildlife Conservation Society, 2002, p.63.
- PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P. Effects of voltage and order of voltage application on seminal characteristics of electroejaculates of the domestic cat. *American Journal of Veterinary Research*, v. 45, n. 8, p. 1520-1525, 1984.
- PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P.; MARTIN, P. A. Long-term study on the effects of electroejaculation on seminal characteristics of the domestic cat. *American Journal of Veterinary Research*, v. 45, n. 5, p. 1038-1041, 1984.
- PLATZ, C. C., SEAGER, S. W. J. Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 173, p.1353-1355, 1978.
- QUEIROZ, V. S.; FRANCA, G. D. A.; SANTOS, M.C.F.; CORTOPASSI, S. G.; GUIMARÃES, M. A. B. V. Urine contamination during ocelot (*Leopardus pardalis*) electroejaculation: considerations of the inhalant anesthesia. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON CANINE AND FELINE REPRODUCTION, 5, Embu das Artes, Brasil. **Anais...**, 2004, p.279-251.
- SILVA, A.R.; MORATO, R.G.; SILVA, L.D.M. The potential for gamete recovery from non-domestic canids and felids. *Animal Reproduction Science*, v. 81, p. 159-175, 2004a.
- SILVA, T. F. P.; DIAS, C. G.A.; BRAGA, A. C. P.; UCHOA, D. C.; CARDOSO, J. F. S.; ACKERMANN, C. L.; THOMÁS, L. A.; SILVA, L. D. M. Anestesia inalatória associada à opióide para eletroejaculação em gatos domésticos: resultados preliminares. In: SEMANA UNIVERSITÁRIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ, 9, 2004. Fortaleza, Brasil. **Proceedings...** 2004b, p.1.
- STORNELLI, M. A. Evaluación de semen en el gato doméstico: análisis de rutina y metodologías especiales felino. 2007. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1, p. 135-140, 2007.
- TEBET, J. M. **Efeito da criopreservação sobre a célula espermática em três espécies de felinos: o gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*, Schreber, 1775), a jaguatirica (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) e o gato doméstico (*Felis catus*).** 115 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista). 2004.
- TEBET, J.M.; MARTINS, M. I. M.; CHIRINEA, V. H.; SOUZA, F. F.; CAMPAGNOL, D.; LOPES, M. D. Cryopreservation effects on domestic cat epididymal versus electroejaculated spermatozoa, *Theriogenology*, v. 66, p.1629-1632, 2006.
- WILDT, D. E.; BUSH, M.; HOWARD, J. G., et al. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biology Reproduction*, v.29 , n.4, p.1019-1025, 1983.
- ZAMBELLI, D.; CUNTO, M.; PRATI, F.; MERLO, B. Effects of ketamine or medetomidine administration on quality of eletroejaculated sperm flow in the domestic cat. *Theriogenology*, v. 68, p. 796-83, 2007.

Recebido em:18.01.2008

Aceito em:27.02.2008