

---

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Clínica e Cirurgia de animais de companhia e animais selvagens**

**Andreia Fernandes Gomes**

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira  
Dário Jorge Costa Santinha  
Nuhacet Fernández Gallardo

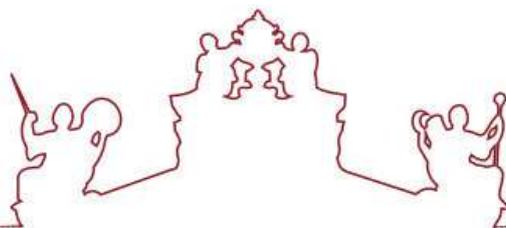
Évora 2021

---

---

---

---



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Clínica e Cirurgia de animais de companhia e animais selvagens**

**Andreia Fernandes Gomes**

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira  
Dário Jorge Costa Santinha  
Nuhacet Fernández Gallardo

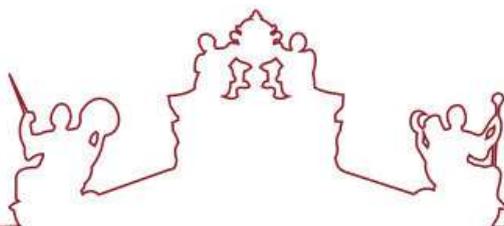
Évora 2021

---

---

---

---



O relatório de estágio foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Margarida Simões (Universidade de Évora)

Vogais | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora) (Orientador)  
Roberto Sargo (Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro) (Arguente)

*“If you can dream, you can do it”*  
Walt Disney

*“O sucesso é a realização progressiva de um sonho”*  
Luís Costa

## Agradecimentos

À professora Catarina Lavrador e à professora Rita Payan por terem aceitado ser minhas orientadoras. Um grande obrigado à professora Ludovina por todo o apoio. À professora Rita agradeço-lhe toda a paciência, dedicação e trabalho destes últimos meses, sem ela este trabalho não teria sido possível.

À equipa do Hospital Veterinário de Loulé, ao Dr. Dário Santinha, à Dr.<sup>a</sup> Ana Palma, à Dr.<sup>a</sup> Beatriz Santos, à Dr.<sup>a</sup> Patrícia Silva, à Dr.<sup>a</sup> Daniela Silva, à Dr.<sup>a</sup> Raquel Dourado, ao Dr. Filipe, à enfermeira Cátia Pereira e aos auxiliares Cláudio Soya, Joana Delicado, Andreia Simões e Sandra Madeira e às minhas colegas estagiárias Sofia, Carolina e Laura por toda a aprendizagem, por me ensinarem realmente o que é trabalhar em equipa e, que mesmo sob stress é possível divertirmo-nos em veterinária. Todos eles, cada um à sua maneira, causaram um impacto positivo durante os quatro meses de estágio e, fizeram-me crescer enquanto pessoa e futura médica veterinária e acima de tudo, fizeram-me sentir em casa; todos ganharam um espacinho no meu coração. Um especial agradecimento à Dr.<sup>a</sup> Joana Soares que acompanhou de perto três dos quatro meses de estágio, que ouviu muitas vezes as minhas inseguranças e que foi um ombro amigo. E à Carolina e à Sofia por me ensinarem o verdadeiro conceito de companheirismo e de amizade verdadeira, sem elas aqueles meses não teriam o mesmo sentido.

À equipa do Loro Parque, ao Dr. Nuhacét Hernandez, ao Dr. Francesco Grande, ao Dr. Richard Heidrich, às enfermeiras Christine Dreisoner e Yaiza Diaz e à minha colega estagiária Jarque Munoz pela experiência incrível, por me terem de braços abertos num sítio estranho, com uma língua diferente, pelo conhecimento que partilharam comigo e, por me darem a conhecer o incrível mundo da conservação. Ganhei novas paixões, os papagaios e os mamíferos marinhos. Outro agradecimento para o Diretor do Departamento de Mamíferos, Ignacio Sastre, por me ter ajudado com a metodologia que o Loro Parque utilizou para culminar o nascimento de duas crias jaguar.

A minha carreira académica (tal como acontece na maioria dos casos) equiparou-se a uma montanha russa, cheia de altos e baixos e, apenas chega até esta etapa graças aos grandes pilares e às pessoas incríveis que tenho na minha vida.

Á avó Dulce e avô Porfírio por toda a dedicação e carinho ao longo dos meus vinte e quatro anos, sempre estiveram lá para mim e nunca me falharam. As chamadas diárias da avó Dulce sabiam ao colo que ela me dava enquanto era pequena. Do meu avô, a pessoa com maior força interior que conheço, agradeço a herança “dedinho batata” e da teimosia inigualável do qual espero fazer orgulhar.

Aos meus pais por todo o suporte nos momentos difíceis e por estarem lá para festejar as minhas glórias. Ao meu pai por me ter ensinado o verdadeiro sentido de sonhar. À minha mãe, vamos recuar até à época das noites sem dormir, das olheiras marcadas nos olhos e pela época do “Rei

Leão”, sei que posso ter a ideia mais louca do mundo e que ela me vai apoiar sempre, independentemente de tudo. Espero fazer sentido às quatro da manhã.

À Carolina e ao Rafael, aos meus irmãos, por me fazerem rir até doer a barriga em momentos de maior desmotivação, pelas parvoíces, pelas palavras de força e por me segurarem sempre. Somos um trio indestrutível que perdurará. Estes últimos meses de quarentena quando estivemos juntos em casa, a casa ganhou cor e vida tenho a certeza. Eles fazem me ter a certeza do quão aborrecido seria se fosse filha única.

Aos meus padrinhos (Marta e Luís) e aos meus primos (Micaela e David) pelo apoio e pela força.

Ao Miguel, um grande apoio nestes últimos anos, por ter sido o meu porto de abrigo, pelas lágrimas que segurou, por me ter feito rir quando só me apetecia chorar, pelos mimos e por todas as estratégias que arranjou para me motivar e acima de tudo, por nunca me ter deixado desistir. Ele foi um grande pilar ao longo de todo o meu percurso académico e agradeço-lhe com todo o meu coração. *"Yesterday is history. Tomorrow is a mystery. and Today is a gift".*

À Dona Adelaide e ao Sr. Zé por me terem acolhido em sua casa como se fosse sua filha, por todo o apoio. Obrigado a Dna. Adelaide por todos os mimos durante as tardadas de estudos, a manguinha nunca soube tão bem. À Ana Margarida pelos conselhos, minha companhia assídua nas tardes e estudo e ter sido como uma irmã mais velha para mim. Ganhei uma segunda família no Alentejo.

Ao António Jorge, por toda a paciência, todos os ensinamentos e por me ensinar a apreciar as pequenas conquistas da vida.

A todos os meus companheiros de curso que me fizeram perceber o sentido de amizade e que de certa maneira me fizeram crescer como pessoa.

A todos os patudos que passaram pela minha vida, que me fizera ter a certeza de que o meu propósito na terra é dar voz àqueles que não a têm. Um obrigado especial ao Oddie, à Marrie, ao Mike, à Lola, à Laika, ao Rex, à Torvi, ao Buddy, ao Rex, à Kika, ao Zaroto, à Cigana, à Katie, à Peluche, à Branquinha e à Farrusca, por todos os dias me motivarem a querer ser uma melhor pessoa e uma melhor profissional. Uns estão cá, outros não, mas faço aqui a minha homenagem.

## Resumo

O presente relatório foi realizado no âmbito do estágio curricular, sendo dividido em três partes. A primeira parte é referente à casuística das atividades seguidas ao longo dos quatro meses de estágio no Hospital Veterinário de Loulé apresentada sob a forma de gráficos e tabelas sendo que, há uma separação por área clínica e as suas respetivas especialidades e por espécie animal. A segunda parte diz respeito à revisão bibliográfica cujo título é: "Reprodução de jaguares em cativeiro" no qual, são mencionadas todos os aspetos importantes relativos à espécie (anatomofisiologia, endocrinologia reprodutiva, gametogénese, mecanismos importantes até a ocorrência do parto, aspetos importantes relativamente às crias), métodos de reprodução natural, métodos de reprodução assistida, métodos de contraceção e patologias reprodutivas encontradas na espécie sendo que, é mencionada também o que é a conservação e a sua importância na preservação de espécies em vias de extinção e, qual o papel do médico veterinário na área. A terceira parte consiste na descrição da metodologia utilizada no Loro Parque para culminar o nascimento de duas crias.

O crescimento contínuo da população humana levou a taxas insustentáveis de consumo de recursos naturais, resultando na perda da biodiversidade da Terra.

O jaguar (*Panthera onca*) foi uma das espécies que pagou um preço bastante alto. A desflorestação e a caça são os principais perigos para esta espécie, pois originam uma redução do seu habitat e da disponibilidade das suas presas naturais. Atualmente dispersam-se por apenas 40% das áreas anteriormente ocupadas. A redução da população e a fragmentação do Habitat favorece as dificuldades reprodutivas da espécie. Por isso os seus programas de conservação dependem em grande medida do apoio dos parques e Zoológicos na implementação de estratégias de reprodução assistida. Algumas delas serão revistas neste Relatório.

Palavras-chave: clínica, animais de companhia, conservação, reprodução, jaguares

## **Abstract: Pet and wild animals clinic and surgery - Captive jaguar breeding**

This report was performed in the curricular internship's ambit, and it's divided into three parts.

The first part is regarding the caseload of activities followed throughout the four months of internship in the Loulé's Veterinary Hospital. It's presented in graphics and tables, existing a separation by clinical area and its respective specialties and animal species.

The second part concerns the bibliographic review whose title is: "Jaguar reproduction in captivity" and in which the most important subjects concerning the species are mentioned (such as anatomy-physiology, reproductive endocrinology, gametogenesis, important pre-delivery mechanisms, cub related important aspects, natural reproduction methods, assisted reproduction methods, contraception methods and reproductive pathologies whose can be found in the species, is that the definition of conservation and its importance in the preservation of endangered species is also mentioned, as well as the veterinarian's role in this area. The third part consists of the description of the methodology used by Loro Parque to culminate the birth of two cubs.

The human population's sustained growth led to unsustainable rates of natural resource consumption and the loss of the Earth's biodiversity. The jaguar (*Panthera onca*) was one of the species that paid a very high price. Deforestation and hunting are the main dangers for this species, as they cause a reduction in their Habitat and the availability of their natural prey. Currently, they are spread over only 40% of the areas previously occupied. The decline of the population and the fragmentation of the Habitat favors the reproductive difficulties of the species. That is why their conservation programs depend to no small extent on the support of parks and zoos to implement assisted reproduction strategies. Some of them will be reviewed in this Report.

Keywords: clinical, companion animals, conservation, reproduction, jaguars

# Índice

<b>Agradecimentos</b> .....	2
Resumo .....	4
Abstract: Pet and wild animals clinic and surgery - Captive jaguar breeding .....	5
<b>Índice</b> .....	6
<b>Índice de Figuras</b> .....	8
<b>Índice de Tabelas</b> .....	9
<b>Índice de Gráficos</b> .....	10
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	11
1. Introdução .....	12
2. Relatório de Atividades .....	13
2.1. Apresentação do Hospital Veterinário de Loulé .....	13
2.2. Análise da Casuística Acompanhada .....	14
2.2.1 Distribuição por espécie animal .....	14
2.2.2 Distribuição por área clínica .....	15
2.2.3 Medicina Preventiva .....	15
2.2.3 Clínica médica .....	18
2.2.3. Cirurgia clínica .....	38
2.3 Atividades desenvolvidas no Loro Parque .....	42
3.1 Introdução .....	44
3.2 Conservação .....	45
3.3 O papel dos zoológicos e do médico veterinário na conservação .....	46
3.4 O Jaguar ( <i>Panthera onca</i> ) .....	48
3.4.1 História e distribuição geográfica .....	49
3.4.2 Estratégias de conservação do jaguar .....	51
3.4.3 Genética .....	52
3.5 Anatomofisiologia da espécie .....	54
3.5.1 Ciclo Reprodutivo e Controlo hormonal .....	56
3.5.2 Eficiência espermatogénese e oogénese .....	57
3.5.3 Gestação e parto .....	58
3.5.4 Lactação .....	63
3.6 Maneio Peri-parto .....	66
3.7 Desenvolvimento das crias .....	67
3.8 Exame andrológico e exame ginecológico .....	68
3.9 Maneio da monta em zoológicos .....	72
<b>3.10 Técnicas de Reprodução Assistida (ART)</b> .....	73
Inseminação Artificial .....	73
Recolha de gametas e criopreservação .....	74

Fecundação <i>in vitro</i> (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI) .....	82
Transferência de embriões .....	83
Transferência nuclear de células somáticas.....	83
Indução de células pluripotentes .....	85
3.11 Contraceção em felídeos em cativeiro .....	86
Descrição dos métodos contraceptivos utilizados .....	89
3.12 Patologias reprodutivas .....	95
3.13 Causas de mortalidade embrionária.....	98
3. Maneio reprodutivo utilizado no Loro Parque .....	100
4. Conclusão .....	103

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Crias de jaguar Loro Parque; Fonte Loro Parque, 2020.....	12
<b>Figura 2:</b> Contribuição do Loro Parque na conservação do jaguar; fonte: Loro Parque 2020 ..	43
<b>Figura 3:</b> Território ocupado atualmente vs território ocupado antigamente; Fonte: Jedrzejewski, W., Abarca, M., Vilorio, Á., Cerda, H., Lew, D., Takiff, H., ... Schmidt, K. (2011) .....	50
<b>Figura 4:</b> Distribuição geográfica e os fatores ambientais que podem influenciar a persistência desta alteração na população jaguar selvagem; Fonte: Silva, L. (2017). Ecology and Evolution of Melanism in Big Cats: Case Study with Black Leopards and Jaguars. Big Cats.....	52
<b>Figura 5:</b> Dispersão dos jaguares melanísticos; Fonte: “Silva, L. (2017). Ecology and Evolution of Melanism in Big Cats: Case Study with Black Leopards and Jaguars. Big Cats.” .....	53
<b>Figura 6:</b> Evolução das crias de fevereiro a junho de 2020 do Loro Parque; Fonte: Loro Parque 2020.....	67
<b>Figura 7:</b> Morfologia espermática normal e defeitos espermáticos encontrados no jaguar ( <i>Panthera onca</i> ) - aumento de 1000x. (A) Esperma normal (B) i - Cauda muito enrolada; ii - Cauda espiralada (C) Peça média espessa (D) i - Micro-cabeça; ii - esperma normal (E) i - esperma normal; ii - duas caudas; iii - peça do meio abaxial; Fonte: Silva et al., 2019, “Morphology, morphometry, ultrastructure, and mitochondrial activity of jaguar ( <i>Panthera onca</i> ) sperm” .....	70
<b>Figura 8:</b> (1) Máquina para congelamento de sémen. (2) Congelamento de sémen usando o “dry shipper”; Fonte: Moreira & Morato, 2007 “Técnicas de Reprodução Assistida em Felídeos Neotropicais” .....	77
<b>Figura 11:</b> (1) Máquina para congelamento de sémen. (2) Congelamento de sémen usando o dry shipper; Fonte: Moreira & Morato, 2007 “Técnicas de Reprodução Assistida em Felídeos Neotropicais”1 .....	77
<b>Figura 10:</b> Utilização da técnica LOPU num jaguar ( <i>Panthera onca</i> ); Fonte: Pedro Nacib Jorge-Neto, 2020 “Biotecnologias reprodutivas aplicadas à produção de embriões in vitro de onça-parda ( <i>Puma concolor</i> ) e onças-pintadas ( <i>Panthera onca</i> )” .....	80
<b>Figura 11:</b> Imagem esquerda Gulliver, macho; imagem direita Naya, fêmea; Fonte: Zoo Institutes e Loro Parque 2020.....	100
<b>Figura 12:</b> Nítida aceitação entre ambos; Fonte: Loro Parque 2020 .....	100
<b>Figura 13:</b> Fêmea com as duas crias; Fonte Loro Parque 2020.....	102
<b>Figura 14:</b> Realização de check-up às crias no parque realizou-se sexagem (1), colocação de micro-chip (2) e a primeira dose de vacinação (3); Fonte: Loro parque 2020 .....	102

# Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Análise dos casos de Medicina Preventiva separados por procedimento e espécie animal .....	18
<b>Tabela 2:</b> Distribuição da casuística acompanhada segundo as especialidades consideradas na grande área clínica médica e por espécie animal.....	19
<b>Tabela 3:</b> Casuística acompanhada na especialidade de Gastroenterologia, separados por afeção e espécie animal.....	20
<b>Tabela 4:</b> Análise dos casos de Dermatologia e separados por afeção e espécie animal .....	20
<b>Tabela 5:</b> Casuística acompanhada na especialidade de Gastroenterologia, separados por afeção e espécie animal.....	20
<b>Tabela 6:</b> Análise dos casos de Parasitologia separados por afeção e espécie animal .....	24
<b>Tabela 7:</b> Análise dos casos de Infeciologia separados por afeção e espécie animal .....	26
<b>Tabela 8:</b> Análise dos casos de Neurologia separados por afeção e espécie animal .....	28
<b>Tabela 9:</b> Análise dos casos de Urologia e Nefrologia, separados por afeção e espécie animal .....	29
<b>Tabela 10:</b> Análise dos casos de Pneumologia separados por afeção e espécie animal .....	30
<b>Tabela 11:</b> Análise dos casos de Hematologia separados por afeção e espécie animal .....	31
<b>Tabela 12:</b> Análise dos casos de endocrinologia separados por afeção e espécie animal .....	33
<b>Tabela 13:</b> Análise dos casos de Oncologia separados por afeção e espécie animal. ....	34
<b>Tabela 14:</b> Análise dos casos de Toxicologia separados por afeção e espécie animal. ....	35
<b>Tabela 15:</b> Análise dos casos de Cardiologia separados por afeção e espécie animal. ....	36
<b>Tabela 16:</b> Análise dos casos de oftalmologia separados por afeção e espécie animal. ....	37
<b>Tabela 17:</b> Análise dos casos de Cirurgia de Tecidos moles separados por tipo de intervenção e espécie animal. ....	39
<b>Tabela 18:</b> Análise dos casos de Cirurgia Ortopédica separados por tipo de intervenção e espécie animal.....	40
<b>Tabela 19:</b> Classificação das células de citologia vaginal; Adaptada de: Leese 2001. ....	60
<b>Tabela 20:</b> Teor nutritivo do leite de certos felinos: Fonte: “Jaguar (Panthera onca) Care Manual AZA”.....	65
<b>Tabela 21:</b> Cronograma recomendado para o estabelecimento de protocolos de manejo e veterinários para crias de jaguar; Adaptado “Jaguar (Panthera onca) Care Manual” .....	66

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1:</b> Casuística acompanhada segundo a espécie (em % num total de 367 casos) .....	14
<b>Gráfico 2:</b> Frequência relativa das ocorrências acompanhadas por espécie em cada uma das áreas integradas na casuística.....	15
<b>Gráfico 3:</b> Análise ao número de casos acompanhados, quer por espécie, quer por área cirúrgica expressos em Fr (%). .....	38
<b>Gráfico 4:</b> Concentrações de progesterona plasmática durante a fase lútea de uma gata doméstica gestante vs. de uma gata doméstica em pseudo-gestação; Fonte: England & Heimendahl, 2010 “BSAVA manual of small animal reproduction and neonatology”.....	62
<b>Gráfico 5:</b> Concentração das imunoglobulinas G e A ao longo de 6 semanas de lactação no gato doméstico (felis catus); Fonte: Claus et al 2006 “Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens” . .....	65

## Lista de Abreviaturas

**AAFP:** American Association of Feline Practitioners

**ABP:** Proteína fixadora de androgénios

**ACTH:** Hormona adenocorticotrópica

**ACVIM:** American College of Veterinary Internal Medicine

**AHI:** Anemia hemolítica imunomediada

**ART:** Técnica de Reprodução Assistida

**AZA:** *Association of Zoos & Aquariums*

**BMP-15:** Proteína Morfogenética Óssea 15

**BSPs:** Aglutinante das proteínas do sémen

**CCE:** Carcinoma das Células Escamosas

**DM:** *Diabetes Mellitus*

**DRC:** Doença Renal Crónica

**DVC:** Vitriificação direta em criotubos

**eCG:** Gonadotrofina Coriónica equina

**EDF:** *Epidermal Growth Factor* – Fator de Crescimento Epidermal

**ELISA:** *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* – Ensaio de imunoabsorção enzima-ligado  
Fator crescimento de fibroblastos

**FcRn:** *Neonatal Fc Receptors* – Receptores neonatais para o Fc (fragmento cristalizável) da IgG

**FIV:** Fecundação in vitro

**Fiv:** Vírus da imunodeficiência felina

**Felv:** Vírus da leucemia felino

**FSH:** Hormona Foliculo-estimulante

**GAGs:** Glicosaminoglicanos

**GDF-9:** *Growth differentiation factor-9*- Fator de Diferenciação de Crescimento-9

**GnRH:** *Gonadotropin-releasing hormones*-  
Hormona libertadora de gonadotrofinas

**hCG:** Gonadotrofina Coriónica Humana

**HVL:** Hospital Veterinário Loulé

**ICSI:** injeção intracitoplasmática de espermatozóides

**Ig:** Imunoglobulina

**IGF-1:** Fator crescimento semelhante à insulina

**IPSCs:** Transformação de células-tronco em células-tronco pluripotentes induzidas

**ITU:** Infecção do trato urinário

**LDLs:** Lipoproteínas de baixa densidade

**LH:** Hormona Luteinizante

**LUT:** Trato urinário inferior

**MA:** acetato de megestrol; 6-metil-6-desidro-17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona

**MGA:** Acetato de melengestrol

**MOIFOPA:** manipulação de oócitos inclusos em folículos ovários pré- antrais

**MODS:** Multiple Organ Dysfunction Syndrome

**n:** Número

**PA:** acetato de medroxiprogesterona; acetato de 17 $\alpha$ -hidroxi-6 $\alpha$ -metilprogesterona)

**PD:** Polidipsia

**PF:** Polifagia

**PU:** Poliúria

**RIA:** Radioimunoensaio

**SEM:** *Scanning Electron Microscopy* -  
Microscópio Electrónico de Varrimento

**SIRS:** Systemic Inflammatory Response Syndrome

**SOAP:** *Subject; Object; Assessment; Plan*

**SSV:** Vitriificação de superfície sólida

**TEM:** *Transmission Electron Microscopy* -  
Microscópio Electrónico de Transmissão

**TP:** Tempo de Tromboplastina

**WSAVA:** World Small Animal Veterinary Association

# 1. Introdução

Este relatório surge na sequência da realização do estágio curricular, componente final do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, e que se pretende que venha a ser uma adaptação à forma de trabalho em ambiente profissional.

O estágio curricular foi realizado em dois lugares distintos: no Hospital Veterinário de Loulé (HVL), sob a orientação do Doutor Dário Santinha (1 de outubro de 2019 a 1 de fevereiro de 2020) e no Departamento de Clínica e Laboratório do Loro Parque sob a orientação do Doutor Nuhacét Hernández com início a 6 de fevereiro, mas interrompido a 12 de março devido ao surto de Covid-19.

No decorrer deste estágio curricular foi possível contactar com duas realidades diferentes no campo da Medicina veterinária. No primeiro tive a oportunidade de ser integrada na área de clínica e cirurgia de animais de companhia e acompanhar o funcionamento no diário do HVL. No segundo, pude acompanhar as atividades de clínica de animais de interesse zoológico e aperceber-me do papel que estas unidades desempenham na conservação de espécies em perigo de extinção. Os dois locais representam realidades e objetivos muito diferentes. Na generalidade, ambos os locais contribuíram para promover competências na prática profissional, completando a formação académica.

Este Relatório está estruturado em duas partes. Na primeira, irá ser feita uma descrição das atividades desenvolvidas ao longo do estágio curricular, focando-se essencialmente no HVL, uma vez que a política do Parque não permite a descrição de atividades ou procedimentos. Ainda assim, e pelo interesse que despertou, o tema escolhido para a segunda parte do Relatório (“Reprodução de *Panthera onca* em cativeiro”) incidirá sobre o tópico da conservação, nomeadamente o papel dos zoológicos na recuperação de espécies em vias de extinção e, de que forma o parque onde decorreu parte do estágio curricular trabalhou para obter o nascimento de duas crias da espécie mencionada (Figura 1). Este acontecimento veio fortalecer o interesse pessoal por felídeos.



**Figura 1:** Crias de jaguar Loro Parque; Fonte Loro Parque, 2020

## 2. Relatório de Atividades

### 2.1. Apresentação do Hospital Veterinário de Loulé

O HVL, situado em Loulé, Portugal, foi fundado em 2002 pelo Dr. Dário Santinha com o objetivo de se tornar um hospital de referência para animais de companhia no Algarve. O Hospital oferece serviços de referência em áreas como Medicina Interna, Cirurgia (de tecidos moles e cirurgias ortopédicas), Neurologia, Dermatologia e Cardiologia.

A sua equipa clínica era no momento do estágio composta por 8 médicos veterinários, 1 enfermeira veterinária e 4 auxiliares. O HVL conta ainda com a colaboração semanal de uma médica veterinária especializada em Cardiologia para consultas de especialidade no hospital e, com a colaboração esporádica de um médico veterinário especializado em Ecografias.

Fisicamente o Hospital compreende 2 pisos, tendo o piso térreo sobretudo função de armazém; no superior encontram-se 3 consultórios (um exclusivo para gatos, outro para cães e um outro misto), 1 sala de tratamentos, 3 áreas de internamentos, 1 sala de radiografias, 1 sala de cirurgia e 1 laboratório.

Os estagiários, participam ativamente em atividades desenvolvidas pelo hospital, fazendo parte da sua dinâmica, participando nas atividades clínicas das diferentes áreas de especialidade oferecidas, auxiliando nas consultas e nos exames imagiológicos, sendo inclusive, chamado a participar ativamente em atividades de pré-consulta, no âmbito dos quais se realizavam a História Progressiva e o Exame físico ao animal. Os estagiários tinham ainda a oportunidade de realizar vários procedimentos médicos, tais como cateterizações, colheitas de sangue, análise de sangue (para hemograma e bioquímica clínica), análises de urina, raspagens de pele e citologias. Na componente cirúrgica, teve oportunidade de participar na preparação pré-cirúrgica, e nas cirurgias como ajudante, anestesista ou circulante, bem como nos cuidados pós cirúrgicos. Os turnos realizados ao longo da semana tinham duração de 7h. Por opção pessoal foi escolhida a opção de uma folga por semana, de modo a obter aproveitamento máximo dos 4 meses de estágio curricular.

Todas as semanas é apresentado pelos estagiários, um caso clínico, segundo uma abordagem SOAP (Subject; Object; Assessment; Plan), que consiste na recolha inicial de informação sobre animal e da sua história progressiva, em segundo lugar abordagem dos exames de diagnóstico realizados e do seu respetivo resultado, posteriormente mencionar a fisiopatologia da doença e associar aos sinais clínicos apresentados pelo animal mencionando também os diferentes diagnósticos diferenciais e, por último estabelecer um tratamento com os fármacos adequados e a respetiva dosagem e o prognóstico do caso em questão. Todos os casos eram discutidos com os clínicos. Alguns dos SOAPS realizados referiam-se a patologias como pancreatite, endocrinopatias (*Diabetes Mellitus*, síndrome de Cushing, hipertiroidismo, hiperaldosteronismo), doença renal crónica, obstruções urinárias, cistite idiopática felina, emergências (como dilatação e volvo gástrico ou piómetra) e afeções cutâneas como a dermatite miliar felina. A intervalos de

3 a 4 semanas era realizada uma apresentação sobre um tema sugerido pelos clínicos. Os temas trabalhados durante o estágio aqui descrito foram: golpe de calor, dor neuropática e pancreatite sendo os tópicos abordados: fisiopatologia, sinais clínicos e diagnóstico, tratamento e prognóstico.

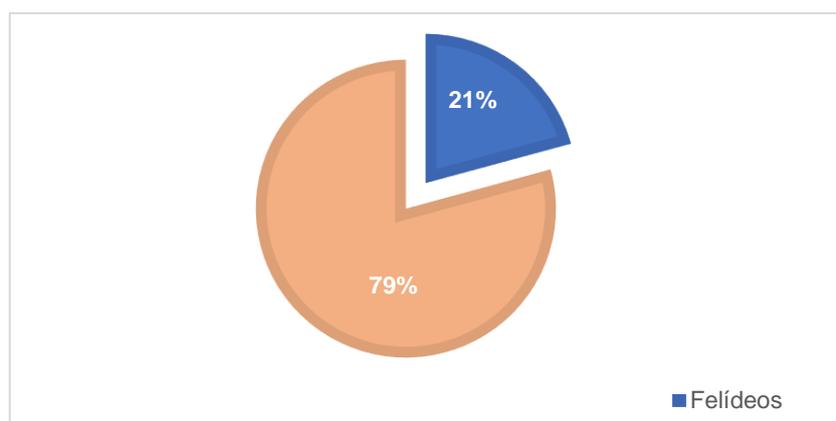
## 2.2. Análise da Casuística Acompanhada

Os dados apresentados de seguida estão agrupados por grande área de intervenção clínica (clínica cirúrgica vs. clínica médica vs. medicina preventiva) e por espécie (felídeo, canídeo). A área de clínica médica encontra-se subdividida em várias especialidades: Oftalmologia, Cardiologia, Gastroenterologia, Endocrinologia, Hematologia, Urologia e Nefrologia, Infeciologia, Neurologia e Dermatologia. Também a área de clínica cirúrgica está subdividida em Cirurgia de tecidos moles, Ortopedia e Dentisteria.

Para uma melhor organização e interpretação da informação, a recolha dos dados referentes à casuística do HVL encontra-se representada sob a forma de gráficos e tabelas; em que, “n” representa o número total de casos observados, “Fi” simboliza a frequência absoluta de ocorrências e, “Fr” a frequência relativa expressa na forma de percentagem. Dada a possibilidade de determinado animal ter sido submetido a mais de um procedimento médico ou apresentar diversas doenças concomitantes, o mesmo animal poderá ser contabilizado mais que uma vez.

### 2.2.1 Distribuição por espécie animal

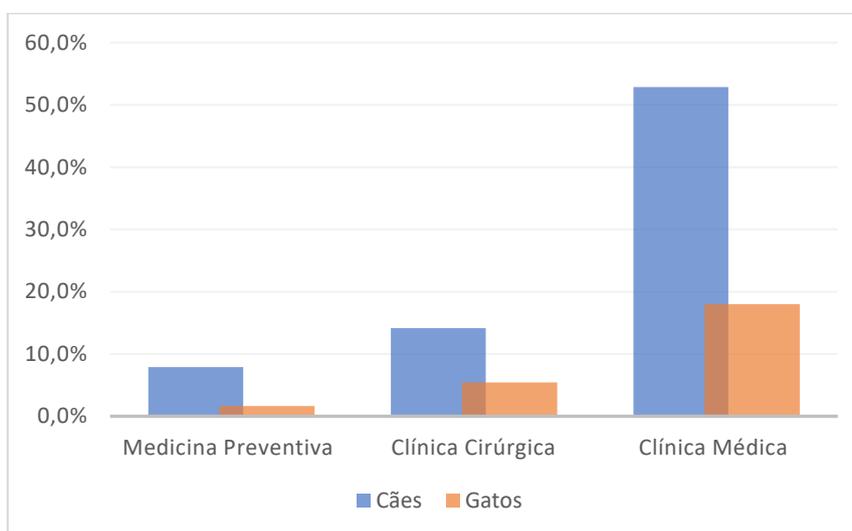
O gráfico 1 sumaria a casuística acompanhada segundo a espécie ao longo dos 4 meses de estágio curricular. No mesmo gráfico é possível verificar que a espécie com maior representatividade foi a canina com um total de 275 animais (79%). Os felinos foram a espécie com menor representatividade, constituindo 21(n=87) casos acompanhados. No total, foram acompanhados 367 casos.



**Gráfico 1:** Casuística acompanhada segundo a espécie (em % num total de 367 casos)

### 2.2.2 Distribuição por área clínica

Os procedimentos médico-veterinários foram divididos segundo três grandes áreas clínicas, como já foi mencionado: medicina preventiva, clínica cirúrgica e clínica médica. O gráfico 2, sumariza a casuística acompanhada ao longo do estágio curricular, que se distribuiu de forma similar entre as três áreas em ambas as espécies. A área mais prevalente na casuística acompanhada foi a da clínica médica com um total de 260 animais (70%), dos quais 194(53%) são referentes a cães e 66 (18%) a gatos. À clínica médica segue-se em ocorrência a clínica cirúrgica com uma representatividade de 20%, correspondente a um total de 72 casos sendo que, 52 (14%) dizem respeito a cães e 20 (5%) a gatos. Em último lugar, mas não menos importante, sendo a menos representada encontra-se a medicina preventiva com um total de 35 animais (10%) de casos acompanhados dos quais 29 (8%) são cães e 6 (2%) são gatos.



*Gráfico 2: Frequência relativa das ocorrências acompanhadas por espécie em cada uma das áreas integradas na casuística.*

### 2.2.3 Medicina Preventiva

Esta área médica é uma área de extrema importância na saúde animal, uma vez que é através da mesma que é feita a prevenção da ocorrência de determinadas doenças. Dentro desta enquadram-se diversos procedimentos e acompanhamentos, isolados ou sequenciais, tais como a vacinação, a desparasitação externa e interna, a identificação eletrónica, aspetos de comportamento animal e ainda a emissão de passaportes ou qualquer outro tipo de certificado veterinário. Na tabela 1 surgem os principais motivos de consulta na área: vacinação, consulta de viagem/viajante, desparasitação, e identificação eletrónica. A desparasitação e a identificação eletrónica eram na maioria das vezes realizadas juntamente com a vacinação e, por esse motivo os resultados apresentados na tabela 1 diferem dos resultados apresentados no gráfico 2 (o mesmo animal é contabilizado mais que uma vez na tabela 1 por ter sido submetido a procedimentos diferentes).

O motivo de consulta com maior representatividade foi a vacinação com uma percentagem total de 48,6% (n=34). Muitas das vacinações eram efetuadas em conjunto, como o caso da DHPPi (esgana canina, adenovírus canino, parvovírus canino e parainfluenza canina) com L4 (leptospirose) e a vacinação antirrábica. No caso dos felídeos, a vacinação RCP (rinotraqueíte – herpes vírus, calicivírus e panleucopénia – parvovírus felino) em sempre realizada em conjunto com a vacinação contra o vírus da leucemia felina (Felv).

Seguido à vacinação encontra-se a desparasitação com um total de 25 ocorrências (35,7%). A mesma inclui tanto a desparasitação interna como a externa apesar dessa diferenciação não se encontrar mencionada na tabela 2. A desparasitação era na sua maioria realizada em simultâneo com a vacinação.

O terceiro procedimento mais frequente foi a identificação eletrónica com uma representatividade de 14,3 % (10 ocorrências). A identificação eletrónica era maioritariamente acompanhada da vacinação antirrábica.

Nesta área clínica foi pedido inicialmente que assistisse às consultas prestando quando necessário, seja na contenção animal ou na localização de material em falta no consultório. Com o passar do tempo e com o ganho de confiança por de parte dos clínicos de serviço, passou a ser pedida a realização da anamnese no âmbito da qual eram realizadas diversas questões acerca do paciente ao tutor (idade, urina e fezes, se tem vacinação e desparasitação em dia, se tem ou teve alguma patologia, se toma ou tomou algum tipo de medicação, entre outros) e o exame físico do animal no qual era realizado palpação dos linfonodos, observação da coloração da mucosa oral com medição do tempo de repleção capilar, medição do tempo de repleção da prega cutânea, da frequência cardíaca, da frequência respiratória e da temperatura retal. Mais tarde, além da anamnese e da realização do exame físico foi pedido que preparasse a vacina e procedesse à sua administração sob supervisão do clínico. Após a preparação da vacina a agulha da seringa era trocada de modo a que procedimento fosse o mais estéril possível. Com o paciente contido, formava-se uma prega de pele na região dorsal, era testado, por efeito do refluxo do êmbolo da seringa, a inexistência de sangue para garantir a administração subcutânea do produto. Nessa fase também era pedida a realização da desparasitação externa e interna sempre que mesmas eram realizadas em consulta. Nesta fase, era também incentivada a colocação do microchip para identificação eletrónica. Neste caso, era necessário prestar especial atenção ao local correto definido por lei e, no final do procedimento, fazer a confirmação da sua colocação com o leitor de microchip. Por vezes, era também pedido o preenchimento do boletim sanitário do respetivo animal. Todas estas ações eram realizadas sobre a responsabilidade do clínico de serviço.

Na etapa final era já dada alguma autonomia na realização de consultas, sendo atribuída a responsabilidade pela anamnese, exame físico e a realização de certos procedimentos, em particular vacinação sempre com vigilância do clínico de serviço.

Em clínica de pequenos animais, tem sido um desafio fazer compreender à população o conceito de imunidade de grupo. Em consulta, tal como referido nas recomendações do WSAVA (World Small Animal Veterinary Association) era reiterada como a importância da vacinação de animais

de companhia individuais é importante, não apenas para proteger o indivíduo em si, mas também para reduzir o número de animais suscetíveis na população da região e assim contribuir, para reduzir a prevalência de certas doenças (Day, Horzinek, Schultz, & Squires, 2016).

Dado que o Algarve é uma região com uma elevada ocorrência de leishmaniose e dirofilariose, era sempre mencionada em consulta a importância da prevenção destas doenças. No caso da dirofilariose, a sua prevenção era realizada através da administração de Moxidectina (Guardian®), um desparasitante injetável (na tabela 1 inclui-se dentro da “desparasitação”). Para a leishmaniose a vacina utilizada é a Letifend®, no qual ingrediente ativo é a proteína Q, uma proteína recombinante quimérica, formada por epítomos derivados das quatro proteínas de *Leshmania infantum* com um elevado potencial antigénico (Fernández Cotrina et al., 2018). Antes da realização do procedimento, em ambas as situações, era realizada nos pacientes uma testagem sorológica prévia das afeções, somente se o resultado fosse negativo se procederia à administração das vacinas.

No fim de todas as consultas vacinais era alegada a possibilidade do animal se mostrar apático e da possibilidade de ocorrência de efeitos adversos tais como lesão no local do qual se procedeu à administração da vacina, de reação de hipersensibilidade ou de toxicidade pelo que, era necessária a atenção do tutor nas horas seguidas ao procedimento. Era ainda mencionado ao tutor, que à mínima demonstração destes efeitos fosse imediatamente para o hospital.

A identificação eletrónica era realizada de acordo com o preceituado no Decreto-lei n.º 82/2019 – Diário da República n.º 121/2019, série I de 2019-06-27. Aqui é mencionada a obrigatoriedade na identificação eletrónica de cães, gatos e furões e o seu respetivo registo no SIAC (República, 2019). O SIAC (Sistema de Identificação de Animais de Companhia) constitui o sistema de registo informático dos animais de companhia das espécies mencionadas no qual está reunida toda a informação relativa à identificação dos animais de companhia, à sua titularidade ou detenção e ainda toda a informação sanitária obrigatória (República, 2019). A colocação do microchip é efetuada do lado esquerdo da tábua do pescoço subcutaneamente. Em consulta, e para além da obrigatoriedade legal (os tutores que não quiserem submeter o animal a este procedimento estarão a cometer uma contraordenação punível por lei), é realçada importância de identificação animal, em particular e, situações que o animal se encontra perdido ou sofre um acidente bem como, no que diz respeito ao abandono animal para que se possam responsabilizar os culpados pelos seus atos.

Relativamente à desparasitação interna e externa, em consulta é oferecido um calendário físico para uma melhor organização do tutor. A importância de uma desparasitação correta e regular do animal era mencionada ao seu tutor em âmbito de consulta, explicando-se que a infestação por parasitas tem um forte impacto na sua saúde do seu animal e que os parasitas podem ser vetores de doenças sendo algumas delas, zoonoses.

**Tabela 1:** Análise dos casos de Medicina Preventiva separados por procedimento e espécie animal

		<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
		<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Consulta viagem</b>		1 (1,4)	0 (0,0)	1	1,4
<b>Desparasitação</b>		23 (27,1)	6 (8,6)	29	41,4
<b>Identificação eletrónica</b>		7 (10,0)	3 (4,3)	10	14,3
<b>Vacinação</b>	<b>DHPPI+L4</b>	10 (14,3)	0(0,0)	10	14,3
	<b>Raiva</b>	7 (10,0)	0(0,0)	7	10,0
	<b>Pi+L4</b>	3 (4,3)	0(0,0)	3	4,3
	<b>Leshmaniose</b>	4 (5,7)	0(0,0)	4	5,7
	<b>RCP+Felv</b>	0 (0,0)	6 (8,6)	6	8,6
<b>TOTAL</b>		55 (78,6)	15 (21,4%)	70	100,00

### 2.2.3 Clínica médica

Nesta área clínica, os casos acompanhados encontram-se categorizados consoante a especialidade que integram; note-se porém que, alguns dos pacientes acompanhados no HVL se enquadravam em mais que uma especialidade.

A casuística acompanhada encontra-se sumarizada na tabela 2. De um modo geral, a especialidade médica com maior representatividade foi a Traumatologia e Ortopedia com 14,8%, com 38 ocorrências. A esta especialidade segue-se a Gastroenterologia com 14,0% correspondendo a um total de 36 casos. Em terceiro lugar e bastante próxima da Gastroenterologia, encontra-se a Infeciologia com 34 casos (13,2%).

Na clínica médica, os cães obtiveram uma representatividade de 74,7% dos casos acompanhados (192 casos) evidenciando-se na maioria das especialidades à exceção da Urologia. Nos canídeos a especialidade preponderante foi a Traumatologia e Ortopedia e a Gastroenterologia, ambas com 30 ocorrências (11,7%), seguindo-se a Dermatologia com 9,3% (24 casos).

No que aos gatos diz respeito, a especialidade com maior impacto foi a Infeciologia com 5,8% (15 ocorrências), seguindo-se a Urologia com 14 casos (5,4%) e por último a Traumatologia e Ortopedia com 3,1% (8 casos). Nos felídeos não foram diagnosticados casos para as seguintes especialidades: Hematologia, Toxicologia e Cardiologia.

O trabalho desenvolvido nesta área consistiu, no início do estágio, no acompanhamento das consultas, auxiliando sempre que necessário nos procedimentos clínicos (colheitas de sangue, ecografias, raio-X) e na reposição de material em falta. Era também pedido que prestasse apoio no internamento, assistindo à dinâmica de trabalho dos clínicos de modo a entender o seu funcionamento e do porquê de todos os procedimentos usados. Posteriormente, foi pedida a assistência aos animais em internamento que, para além a limpeza das jaulas e passeios dos pacientes, incluía ainda a realização dos exames físicos, preparação e administração das

respetivas medicações e o seu registo posterior no Hopi (programa informático para gestão clínica). Quando um caso crítico estava internado era também sua função manter uma estreita vigilância do mesmo, incluindo a realização mais frequente do exame físico, medição da glicémia e pressão arterial (dados estes registados numa ficha própria para pacientes em estado crítico) e, se alguma alteração fosse apercebida, avisar o clínico, enfermeiro ou auxiliar de serviço.

Com o passar do tempo foi permitida a colocação de cateteres, colheitas de sangue com a respetiva realização do hemograma e análises bioquímicas. A realização de exames complementares tais como raio-X, ecografia, citologias e respetiva coloração e análise microscópica eram também consentidas sob tutoria do clínico.

**Tabela 2:** Distribuição da casuística acompanhada segundo as especialidades consideradas na grande área clínica médica e por espécie animal

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>Gastroenterologia</b>	30 (11,7%)	6 (2,3%)	36	14,0%
<b>Infeciologia</b>	19 (7,4%)	15 (5,8%)	34	13,2%
<b>Parasitologia</b>	13 (5,1%)	2 (0,8%)	15	5,8%
<b>Neurologia</b>	18 (7,0%)	2 (0,8%)	20	7,8%
<b>Dermatologia</b>	24 (9,3%)	4 (1,6%)	28	10,9%
<b>Traumatologia e Ortopedia</b>	30 (11,7%)	8 (3,1%)	38	14,8%
<b>Hematologia</b>	6 (2,3%)	0 (0,0%)	6	2,3%
<b>Endocrinologia</b>	5 (1,9%)	5 (1,9%)	10	3,9%
<b>Cardiologia</b>	8 (3,1%)	0 (0,0%)	8	3,1%
<b>Toxicologia</b>	9 (3,5%)	0 (0,0%)	9	3,5%
<b>Urologia</b>	8 (3,1%)	14 (5,4%)	22	8,6%
<b>Oftalmologia</b>	3 (1,2%)	1 (0,4%)	4	1,6%
<b>Pneumologia</b>	7 (2,7%)	4 (1,6%)	11	4,3%
<b>Oncologia</b>	12 (4,7%)	4 (1,6%)	16	6,2%
<b>TOTAL</b>	192 (74,7%)	65 (25,3%)	257	100,00%

### **Gastroenterologia**

À semelhança do que acontecerá em todas as especialidades, a Gastroenterologia encontra-se subdividida nas patologias referentes aos casos acompanhados e que se encontram representados na tabela 3. Num total 36 acompanhados, os cães foram os mais representados com 30 casos (83,3%).

A inflamação das glândulas anais não é uma afeção gastrointestinal propriamente dita. No entanto a autora decidiu incluir esta afeção nesta categoria pela proximidade física com o aparelho gastrointestinal, e para que o caso possa fazer parte da casuística.

A pancreatite foi a doença que ocorreu mais frequentemente, tanto em cães (25,0%) como em gatos (8,3%). Sendo a patologia mais comum do pâncreas exócrino em cães e gatos, a

pancreatite pode encontrar-se que cães e gatos de qualquer idade, raça ou sexo. Sendo que, nos cães parece haver predisposição racial no qual se encontram as raças: Pastor Alemão Cavalier King Charles Spaniel, Jack Russell Terrier, West Highland White Terrier e Chow Chow, Setter Inglês, Collies, Yorkshire Terrier, Poodle e Cocker Spaniel Inglês (Xenoulis, 2015).

Durante o estágio no HVL a maior parte dos casos acompanhados apresentou-se em cães de raça Yorkshire Terrier, reportada como sendo suscetível sobretudo em cães com idade superior a 5 anos (Xenoulis, 2015).

**Tabela 3:** Casuística acompanhada na especialidade de Gastroenterologia, separados por afeição e espécie animal

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>Pancreatite</b>	9 (25,0%)	3 (8,3%)	12	33,3%
<b>Gastroenterite</b>	8 (22,2%)	0 (0,0%)	8	22,2%
<b>Úlcera Gástrica</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Intusseção</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Colite</b>	2 (5,6%)	1 (2,8%)	3	8,3%
<b>Fecaloma</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>IBD</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Corpo Estranho</b>	2 (5,6%)	0 (0,0%)	2	5,6%
<b>Rotura intestinal</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Insuficiência hepática</b>	2 (5,6%)	1(2,8%)	3	8,3%
<b>Inflamação glândulas anais</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Fístula das glândulas anais</b>	1 (2,8%)	0 (0,0%)	1	2,8%
<b>Alergia Alimentar</b>	0 (0,0%)	1 (2,8%)	1	2,8%
<b>TOTAL</b>	30 (83,3%)	6 (16,7%)	36	100,0%

Embora a pancreatite seja considerada idiopática em cães e gatos, ela está frequentemente associada a vários fatores de risco. No caso dos cães os fatores de risco identificados incluem: a doença endócrina, hipertrigliceridemia, a existência de infeção e causas alimentares; no caso dos gatos, não parecem existir fatores predisponentes (Xenoulis, 2015).

Em gatos, como descrito, observou-se uma elevada incidência de lipidose hepática concomitante à pancreatite (Nelson & Couto, 2014).

Nos casos de pancreatite, o exame físico, focou-se na identificação do grau de desidratação, na avaliação de eventuais doenças concomitantes (sobretudo endócrinas). Era realizada uma palpação abdominal cuidadosa, de modo a averiguar a existência de dor na região abdominal cranial onde está localizado o pâncreas. Para eliminar outras causas de desconforto ou dor abdominal, era realizado um exame imagiológico detalhado. Muitas das vezes o diagnóstico era feito pela observação de uma imagem alusiva a um “livro aberto” na região correspondente ao pâncreas (Nelson & Couto, 2014). Em caso de dúvida, era enviado para laboratório uma amostra

sanguínea para medição da lipase pancreática (cPLI) (Mansfield, 2012; Nelson & Couto, 2014; Xenoulis, 2015).

Os resultados obtidos nas análises analíticas sanguíneas e urianálise são geralmente inespecíficos e portanto, de pouco valor diagnóstico para pancreatite. Contudo, a sua realização em animais com suspeita de pancreatite é útil para o diagnóstico e exclusão de outras doenças e além de que nos podem fornecer informações importantes a condição do paciente (Xenoulis, 2015). Após a centrifugação sanguínea, observou-se em alguns casos a presença de um soro lipémico o que, juntando à história progressa e ao exame clínico o que fortalecia a suspeita de pancreatite.

O protocolo terapêutico do HVL comporta a reposição de fluidos e de eletrólitos, uma analgesia com metadona; a administração de antieméticos como o maropitant (Cerenia®) que atua na dor visceral associado ao pantoprazol (Pantoprazol Normon®); o manejo nutricional, com a oferta de uma dieta baixa em gorduras (Mansfield, 2012; Nelson & Couto, 2014; Xenoulis, 2015).

De um modo geral, no caso da pancreatite, os animais acompanhados pelo HVL tinham taxas de recuperação elevadas.

### **Traumatologia e ortopedia**

Os casos registados nesta especialidade encontram-se sumarizadas na Tabela 4. Tal como na especialidade anterior, os cães destacaram-se em relação aos gatos, assumindo uma frequência de 78,9%.

Na seção de auto-mutilação foram incluídas todas as feridas autoinfligidas devido a psicose e as decorrentes de acidentes imputáveis ao animal, como por exemplo o caso em que paciente ficou preso numa rede e ao tentar-se escapar, se feriu gravemente.

***Tabela 4:** Casuística acompanhada na especialidade de Traumatologia e Ortopedia separados por afeção e espécie animal*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Atropelamento</b>	6 (15,8%)	4 (10,5%)	10	26,3%
<b>Queda</b>	3 (7,9%)	0 (0,0%)	3	7,9%
<b>Por agressão</b>	12 (31,6%)	2 (5,3%)	14	36,8%
<b>Osteoartrite</b>	3 (7,9%)	0 (0,0%)	3	7,9%
<b>Auto-mutilação</b>	6 (15,8%)	2 (5,3%)	8	21,1%
<b>TOTAL</b>	30 (78,9%)	8 (21,1%)	38	100,0%

A afeção com maior prevalência nos cães foi a derivada de agressão, (n=12 casos; 31,6%), na sequência da qual os animais apresentaram diversos ferimentos por mordidas de outros animais da mesma espécie ou de uma espécie diferente

Em contraste, no caso dos felídeos, o atropelamento foi o que teve maior representatividade (n=4 casos; 50%). Na maior parte destes casos, os animais foram submetidos a intervenção cirúrgica ortopédica.

Na origem da agressividade entre animais, assume-me sempre que é devida à dominância canina o que é um erro bastante comum. Existem muitas outras razões que não se incluem nas questões de dominância e que são consideradas como causas originadoras de disputas entre cães ou outros animais. Verificou-se que o medo é uma das causas mais comuns de agressão, e que outras causas de disputa incluem também fatores territoriais, sexuais, proteção, possessividade e predação (Crowell-davis, 2008).

Nas situações de ferimentos por agressão, antes da realização de qualquer tipo de procedimento, procedia-se à estabilização do animal. Administrava-se metadona para que sentisse mais confortável, e oxigénio caso houvesse necessidade. Posteriormente eram realizados os exames complementares, que se iniciavam pela realização de um exame ecográfico rápido (ecofast) para despistar a existência de líquido livre no espaço retroperitoneal, e de seguida, um raio-X para observação da integridade das estruturas ósseas. No caso a situação ser grave, como por exemplo aquando perfurações torácicas, o animal era encaminhado imediatamente para cirurgia.

Em caso de agressão, as taxas de recuperação dos pacientes acompanhados dependiam da gravidade dos ferimentos.

### **Dermatologia**

Também nesta especialidade os cães foram a espécie mais representada (n=24; 85,7%). A afeção mais predominante em cães foi a otite, que na sua maioria foi causada por Malassezia. No caso dos felinos, a afeção com maior evidência foi a dermatite miliar (n=3; 10,7%).

A subclassificação representada nesta especialidade, que se encontra exposta na tabela 5, diz respeito maioritariamente às manifestações clínicas apresentadas pelos animais visto que, o diagnóstico ainda não estava estabelecido na altura. Em dermatologia os diagnósticos são frequentemente morosos, sendo muitas vezes na prática o diagnóstico estabelecido pela eliminação criteriosa de diagnósticos diferenciais.

**Tabela 5:** Análise dos casos de Dermatologia e separados por afeção e espécie animal

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr
<b>Dermatite Alérgica à Picada da Pulga</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Dermatite Acral por lambedura</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Alopécia</b>	5 (17,9%)	1 (3,6%)	6	21,4%
<b>Hotspot</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Seborreia Seca</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Pioderma</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Atopia</b>	2 (7,1%)	0 (0,0%)	2	7,1%
<b>Reação Alérgica</b>	4 (14,3%)	0 (0,0%)	4	14,3%
<b>Dermatite Miliar</b>	0 (0,0%)	3 (10,7%)	3	10,7%
<b>Otohematoma</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Otite</b>	6 (21,4%)	0 (0,0%)	6	21,4%
<b>Infeção ungueal</b>	1 (3,6%)	0 (0,0%)	1	3,6%
<b>Total</b>	24 (85,7%)	4 (14,3%)	28	100,0%

A abordagem destas situações passava pela observação rigorosa das lesões apresentadas avaliando o seu padrão de dispersão, completada através de citologia comumente designada por “teste fita-cola”, ou pela citologia por aposição da lesão para observar a existência de bactérias. Posteriormente era realizado um tricograma realizando-se um exame microscópico ao pelo recolhido para verificar a existência ou não de esporos fúngicos (Bourguignon, Diegues, Sell, & Silva, 2013). Sempre que considerado necessário, eram realizadas raspagens cutâneas e respetiva análise microscópica para descartar a existência de parasitas. Na etapa final da consulta, era enviado para laboratório uma amostra de pêlo para cultura fúngica para despiste de dermatofitose e/ou para cultura bacteriana para determinar a existência de crescimento bacteriano e o tipo de bactéria envolvida (Bourguignon et al., 2013; Moriello, Coyner, Paterson, & Mignon, 2017). Caso nenhum dos testes anteriormente referidos fosse conclusivo era então considerada a possibilidade de alergia alimentar e atopia. O animal era colocado sob dieta de restrição alimentar à base de ração hipoalérgica e caso o tutor tivesse disponibilidade financeira, era pedido uma análise em laboratório aos potenciais alérgenos causadores de hipersensibilidade (quantificação de imunoglobulina sérica). A resposta à mudança de alimentação era avaliada como confirmando ou descartando a suspeita. Caso não houvesse resposta, era então considerada a possibilidade de doença autoimune e, era recomendado ao tutor que o seu animal realizasse uma biópsia cutânea. A tabela 5 é relativa aos casos acompanhados no HVL.

A otite canina é o termo que designa uma inflamação do ouvido, pode ser uma inflamação crónica do canal auditivo externo (otite externa) ou do ouvido médio (otite média) (Karlapudi,

2017). A apresentação clínica desta afeição é caracterizada por eritema, prurido e um corrimento auricular de coloração e viscosidade variada e de odor característico (Bond et al., 2020).

A maioria as otites presenciadas no HVL tiveram como principal agente de otite, a *Malassezia pachydermatis*. Esta é uma levedura lipofílica colonizadora do estrato córneo e mucosas dos cães que são locais que pelo seu microambiente, oferecem as condições favoráveis ao seu crescimento e à sua multiplicação (Bond et al., 2020). O diagnóstico obtém-se através da realização de uma citologia por zaragatoa que permite visualizar a presença de *Malassezia pachydermatis* e assim confirmar o diagnóstico (Angileri, Pasquetti, De Lucia, & Peano, 2019). O tratamento recomendado no HVL passava pela realização de lavagens auriculares frequentes como Omniotic® (líquido de limpeza para ouvidos) com posterior deposição de Abelia Glicozoo®.

### **Parasitologia**

Os casos assistidos nesta especialidade, encontram-se listados na tabela 6, sendo feita a organização feita por afeição e por espécie.

No total foram observados 15 casos, dos quais 13 dizem respeito a cães e 2 a gatos.

A leishmaniose foi a afeição mais frequente nos cães, com uma representatividade de 53,3% (n=8 ocorrências). No caso dos gatos apenas foram registados 2 casos, um deles uma situação de sarna otodécica e outro de demodecose. É de referir que a presença destes parasitas coexistia muitas das vezes com manifestações clínicas dermatológicas.

**Tabela 6:** Análise dos casos de Parasitologia separados por afeição e espécie animal

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>Leshmaniose</b>	8 (53,3%)	0 (0,0%)	8	53,3%
<b>Dirofilariose</b>	2 (13,3%)	0 (0,0%)	2	13,3%
<b>Sarna Sarcótica</b>	2 (3,3%)	0 (0,0%)	2	13,3%
<b>Sarna otodécica</b>	0 (0,0%)	1 (6,7%)	1	6,7%
<b>Demodecose</b>	0 (0,0%)	1 (6,7%)	1	6,7%
<b>Neospora</b>	1 (6,7%)	0 (0,0%)	1	6,7%
<b>TOTAL</b>	13 (86,7%)	2 (13,3%)	15	100,0%

A leishmaniose é uma zoonose, causada por um protozoário a *Leishmania infantum* (M. Fernandes, 2018). *Leishmania sp.* completa o seu ciclo de vida em dois hospedeiros, um flebotomíneo que funciona como vetor e transmite a forma promastigota infecciosa flagelada, a um mamífero, o que neste caso é o canídeo, onde a forma amastigota intracelular se desenvolve e se replica (Solano Gallego et al., 2011).

Em casos típicos de leishmaniose, os achados clínicos frequentemente encontrados no exame físico dos cães que se apresentaram no HVL foram: lesões de pele (úlceras e alopecia), local

ou generalizada linfadenomegalia, perda de peso corporal, intolerância ao exercício, diminuição do apetite, letargia, esplenomegalia, poliúria e polidipsia, lesões oculares (uveíte), epistaxe, onicogribose, claudicação, vômito e diarreia (Craig E. Greene, 2011). Em estadios mais avançados, vários pacientes apresentavam doença renal que estão associados à deposição de complexos imunes no rim (Craig, 2003).

No HVL, para a confirmação do diagnóstico era enviada uma amostra sanguínea para laboratório para realização de testes moleculares (PCR), enquanto os testes sorológicos (ELISA) quantitativos eram usados preferencialmente para o controle da doença (C. Pinto, 2018).

Após vir o resultado das análises, os pacientes eram categorizados consoante a gravidade da doença, associando os sinais clínicos apresentados pelo paciente à sua titulação de anticorpos, para que lhes fosse constituído um tratamento adequado (Oliva et al., 2010). Sugerem a seguinte classificação (Oliva et al., 2010; Solano Gallego et al., 2011):

- **Estadio A (cães expostos):** A estes era recomendado o uso de Domperidona (Leshguard®) sendo monitorados sorologicamente por 2 a 4 meses após o primeiro achado de anticorpos baixo título contra *Leishmania spp.*; os cães com sinais clínicos leves, como por exemplo linfadenomegalia periférica, ou dermatite papular.
- **Estadio B (infetado):** No qual se incluíam cães nos quais os parasitas foram detetados por meio de métodos de diagnóstico direto (por exemplo, avaliação microscópica, ensaio de PCR) e com anticorpos de baixo título contra *Leishmania spp.* Adicionando às manifestações clínicas apresentadas no estadio A, neste estadio podemos encontrar também lesões cutâneas difusas ou simétricas, onicogribose, ulcerações (plano nasal, almofada plantar, proeminências ósseas, junções mucocutâneas), anorexia, perda de peso, febre e epistaxis.
- **Estadio C (doentes):** No qual se incluíam cães com altos títulos de anticorpos contra *Leishmania spp.*, e manifestação clínica de um ou mais sinais clínicos comuns à leishmaniose estão presentes como por exemplo uveíte, glomerulonefrite e artrite, consequência da deposição de complexos imunes.
- **Estadio D (Gravemente doentes):** Inclui cães doentes com doença clínica grave, com alto nível de anticorpos. Aqui incluem-se todos os animais com evidência de tromboembolismo pulmonar ou síndrome nefrótica e doença renal em estado terminal.

O protocolo de tratamento mais amplamente utilizado para cães com leishmaniose era a combinação de antimoniato de meglumina (Glutantime®) e alopurinol. Esta combinação era administrada a todos os cães no estágio B, C ou D, o antimoniato de meglumina era administrado uma vez por dia durante 4 semanas e o alopurinol duas vezes por dia, pelo menos por 6 meses (Oliva et al., 2010). Todos estes animais eram sujeitos a um acompanhamento frequente durante o qual se realizavam frequentemente análises sorológicas para ter monitorização do seu estado de saúde. É de referir que o prognóstico piora à medida que o estadio aumenta (de A para D).

## **Infeciologia**

Nesta especialidade, sumarizada na tabela 7, foram diagnosticados 34 casos, dos quais 19 foram em cães e 15 foram em gatos. A afeção predominante em cães foi a parvovirose (n=9; 26,5%) seguido de erliquiose (n=6; 17,6%). No caso dos gatos, foi a hemoplasmose (n=7; 10,6%), seguido do vírus leucemia felina (FeLV) (n=3; 8,8%) e do vírus da imunodeficiência felina (FIV) (n=2; 5,9%).

*Tabela 7: Análise dos casos de Infeciologia separados por afeção e espécie animal*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr</b>
<b>Hemoparasitas (Ehrlichia, Anaplasma)</b>	6 (17,6%)	0 (0,0%)	6	17,6%
<b>Coronavirose</b>	2 (5,9%)	0 (0,0%)	2	5,9%
<b>Parvovirose</b>	9 (26,5%)	0 (0,0%)	9	26,5%
<b>Tosse canil</b>	2 (5,9%)	0 (0,0%)	2	5,9%
<b>Hemoplasmose</b>	0 (0,0%)	7 (20,6%)	7	20,6%
<b>Coriza</b>	0 (0,0%)	1 (2,9%)	1	2,9%
<b>Panleucopénia</b>	0 (0,0%)	1 (2,9%)	1	2,9%
<b>FeLV</b>	0 (0,0%)	3 (8,8%)	3	8,8%
<b>FIV</b>	0 (0,0%)	2 (5,9%)	2	5,9%
<b>Campilobacteriose</b>	0 (0,0%)	1 (2,9%)	1	2,9%
<b>TOTAL</b>	19 (55,9%)	15 (44,1%)	34	100,0%

A infeção por parvovírus canino é uma das mais importantes doenças infecciosas comuns em cães, afetando sobretudo cachorros. Esta ocorre essencialmente no momento em que há uma diminuição dos anticorpos maternos, e os anticorpos vacinais ainda não se desenvolveram (Proksch & Hartmann, 2015). A sua transmissão é feco-oral ou através de fomites (o parvovírus canino é um vírus estável que pode sobreviver por até de cinco a sete meses no meio ambiente (Nandi & Kumar, 2010).

O parvovírus canino tem uma propensão para infetar células que se dividem rapidamente do trato gastrointestinal, tecido linfóide e medula óssea, causando diarreia hemorrágica, vômito, leucopenia acentuada e imunossupressão em 4 a 5 dias após a exposição (Goy-Thollot, 2019). A replicação viral no interior das células das criptas causa o colapso e a necrose das vilosidades intestinais, o que leva a uma quebra da barreira epitelial do intestino (Goy-Thollot, 2019). A translocação de bactérias entéricas e endotoxinas bacterianas para a circulação sistémica, combinada com a falta de produção de leucócitos protetores da medula óssea infetada pode conduzir a sepsis, choque séptico, SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) e MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome) e morte caso não seja tratada.

A sua apresentação clínica mais comum e que foi também aquela que foi observada com mais frequência na prática clínica no HVL envolve inicialmente o vômito agudo, dor abdominal, anorexia e pirexia, e posteriormente 12 a 48 horas com diarreia sanguinolenta profusa (Silverstein; & Hopper; 2015).

O seu diagnóstico era feito através da realização de um teste rápido pela detecção viral nas fezes, testes baseados na técnica de ELISA. Caso testasse positivo, o animal era imediatamente movido para o internamento de doenças infetocontagiosas. O paciente era colocado sob terapêutica de suporte, que incluía fluidoterapia (Lactato de Ringer), protetores da mucosa gástrica (pantoprazol, omeprazol), analgesia (tramadol, metadona), antieméticos (maropitant) e antibioterapia (metronidazol e Amoxiciclina + ácido clavulâmico).

Os animais diagnosticados normalmente permaneciam internados por um período mínimo de uma semana com prognóstico maioritariamente reservado. No internamento era-lhes realizada uma monitorização intensa com exames físicos com maior frequência, com a respetiva medição da glicémia, PA.

Apesar de muitos dos pacientes se encontrarem em estado crítico, com o tratamento incutido e a monitorização intensa no HVL, as taxas de sobrevivência eram relativamente altas.

### **Neurologia**

Acompanharam-se um total de 20 situações clínicas que se enquadram nesta especialidade (tabela 8). Os cães obtiveram uma representatividade de 90%. A afeção que ocorreu mais frequentemente foi a epilepsia idiopática em canídeos (n=3; 15,0%).

Sob a designação de “convulsão” incluíram-se todos os pacientes que se dirigiram ao hospital com demonstração de quadro neurológico agudo único, isto é, convulsão seguido de perda de consciência com ou sem momentos de alucinação, *circling* e *nistagmus*, *head tilt* e/ou *head turn*, cuja causa não ficou conhecida. Apesar de não ter sido restabelecido um diagnóstico preciso em qualquer um dos casos, os pacientes sobreviventes foram submetidos a um acompanhamento frequente de modo a detetar precocemente qualquer tipo de alteração. Mesmo sem se ter considerado um diagnóstico, foi decidido distinguir “convulsão” das outras afeções neurológicas, de modo que estes pacientes pudessem ser integrados na casuística. A ocorrência de “convulsão” foi algo frequente em cães (n=7; 35,0%).

No traumatismo medular, enquadraram-se dois casos. Num deles, a medula foi danificada por fratura vertebral e no outro ocorreu luxação toracolombar. Em consequência deste traumatismo, no primeiro caso surgiu a paraplegia e, no segundo hemiparesia tendo em ambos os casos sido afetados os membros posteriores.

Em gatos foram apenas registados dois casos nesta especialidade, sendo um deles diagnosticado como epilepsia idiopática e outro como avulsão do plexo braquial do membro torácico. Este último originado por traumatismo desconhecido.

**Tabela 8:** Análise dos casos de Neurologia separados por afeção e espécie animal

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>Convulsão tónica clónica</b>	7 (35,0%)	0 (0,0%)	7	35,0%
<b>Epilepsia idiopática</b>	3 (15,0%)	1 (5,0%)	4	20,0%
<b>Traumatismo medular</b>	2 (10,0%)	0 (0,0%)	2	10,0%
<b>Hérnia discal</b>	2 (10,0%)	0 (0,0%)	2	10,0%
<b>Síndrome vestibular</b>	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1	5,0%
<b>Poliradiculoneurite</b>	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1	5,0%
<b>Avulsão plexo braquial</b>	0 (0,0%)	1 (5,0%)	1	5,0%
<b>Mielopatia dos pastores alemães</b>	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1	5,0%
<b>Parálise laríngea</b>	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1	5,0%
<b>TOTAL</b>	18 (90,0%)	2 (10,0%)	20	100,0%

A epilepsia é uma doença cerebral complexa em que há uma atividade repentina e anómala nas redes neurais, caracterizada por alterações motoras, autónomas e/ou comportamentais, que indicam o surgimento da chamada “convulsão” (Berendt et al., 2015). As crises epiléticas são geralmente episódicas e breves (na maioria dos casos, inferiores a 2-3 minutos); para distinção de síncope, na história pregressa uma das perguntas realizadas aos tutores em consulta incidia na duração do episódio (Volk, 2011).

A epilepsia é uma condição caracterizada por convulsões recorrentes por um longo período. Do ponto de vista prático, uma situação clínica era categorizada como epilepsia quando duas ou mais crises convulsivas ocorriam durante um período de pelo menos 1 mês (Dewey; & Costa, 2016).

Em situações destas, em ambiente hospital, era realizada uma monitorização intensa do animal. Durante o exame físico era também aplicada “Escala de coma de Glasgow”. Em situações de crise era utilizado o midazolam ou o diazepam (Meland & Carrera-Justiz, 2018).

Infelizmente as taxas de sucesso nestas ocasiões eram reduzidas e muitos pacientes acabavam por ser eutanasiados. Caso o animal sobrevivesse, era realizado um tratamento de manutenção com fenobarbital e eram mantidos sob acompanhamento (Meland & Carrera-Justiz, 2018). Ao tutor era recomendado, a realização de outros exames imagiológicos como a tomografia computadorizada para que, se pudesse perceber a causa de epilepsia (Meland & Carrera-Justiz, 2018).

## **Nefrologia e Urologia**

Contrariamente ao observado na maioria das especialidades focadas neste relatório, em nefrologia e urologia, a espécie preponderante foram os gatos. Das quatro afeções ocorridas, tal como pode ser observado na tabela 9, destacam-se a doença renal crónica (DRC), a urolitíase e a cistite idiopática felina (CIF), todas com 28,6% de representatividade.

Nos cães as afeções com maior ocorrência forma a DRC e a urolitíase cada uma com uma representatividade de 37.5%.

*Tabela 9: Análise dos casos de Urologia e Nefrologia, separados por afeção e espécie animal*

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>DRC</b>	3 (13,64%)	4 (18,18%)	7	31,80%
<b>Urolitíase</b>	3 (13,64%)	4 (18,18%)	7	31,80%
<b>CIF</b>	0 (0,00%)	4 (18,18%)	4	18,20%
<b>Infeção urinária</b>	1 (4,55%)	2 (9,09%)	3	13,60%
<b>Prostatite</b>	1 (4,55%)	0 (0,00%)	1	4,50%
<b>TOTAL</b>	8 (36,40%)	14 (63,60%)	22	100,00%

Os urólitos são estruturas policristalinas que se podem formar em qualquer parte do trato urinário, originando sinais clínicos com origem no trato urinário inferior caso estejam localizados na bexiga e na uretra, ou lesão renal potencialmente aguda ou crónica quando localizados na pélvis-renal ou no ureter. A sua formação afeta as concentrações de cristaloides, inibidores ou promotores de cristalização e o pH urinário (a alteração do pH urinário encontra-se dependente do tipo de urólito presente) (Queau, 2019).

O seu diagnóstico era realizado através de raio-X no caso de os mesmos serem radiopacos e, de modo a auxiliar na identificação do tipo de cálculo, era realizada uma tira de urina e exame de sedimentação ao microscópio. Para confirmar a etiologia do cálculo urinário era enviada uma amostra de urina para laboratório; por vezes, dada a possibilidade de existência de infeção bacteriana secundária associada à abrasão causada pelos cálculos no trato urinário, era também pedida uma cultura bacteriana para observar a existência ou não crescimento bacteriano (Nelson & Couto, 2014). Para a obtenção de uma amostra o mais estéril possível, a colheita de urina era geralmente realizada por cistocentese.

Inicialmente, após a confirmação da existência de cálculos urinários de tamanho reduzido, era realizada uma tentativa de remoção através de urohidropulsão (Tiruneh & Abdisa, 2017). Esta técnica era executada com o paciente anestesiado, no qual lhe é colocado um cateter transuretral (Akira Takeuchi, 2014). A bexiga por sua vez, é distendida com uma solução fisiológica estéril, injetada através do cateter. Posteriormente, procedia-se à remoção do cateter e, caso se o fluido fosse expelido prematuramente, a uretra era delicadamente fechada com o polegar e o dedo indicador (Akira Takeuchi, 2014; Lulich et al., 1999). O paciente era posicionado

por sua vez em decúbito esternal, de forma que a coluna vertebral ficasse aproximadamente vertical e, agitava-se suavemente a bexiga urinária por palpação para promover o movimento gravitacional de todos os urólitos para o colo da bexiga (Akira Takeuchi, 2014; Lulich et al., 1999). Por fim, era aplicada uma pressão digital constante na bexiga urinária para induzir a micção; assim que a micção começasse, a bexiga era comprimida com mais vigor com o objetivo de manter o fluxo máximo de urina através do lúmen uretral para mantê-lo dilatado o maior tempo possível (Akira Takeuchi, 2014; Lulich et al., 1999).

A hematúria visível é a complicação mais comum da micção da urohidropropulsão, mas esta resolve-se na maioria dos cães num curto período. A hematúria que se desenvolve após o uso dessa técnica é provavelmente induzida pela compressão manual da bexiga urinária inflamada (Lulich et al., 1999). Durante a cateterização uretral existe um elevado risco de traumatismo pelo que, cateteres, lubrificantes, soluções irritantes, cateteres e outros instrumentos devem ser evitados (Akira Takeuchi, 2014). No entanto, como a porção distal da uretra normalmente contém uma população comensal de bactérias, é impossível cateterizar assepticamente o paciente o que levava a considerar a utilização de antibióticos (combinação de amoxicilina + ácido clavulâmico com enrofloxacina).

No caso do seu tamanho ser considerável e a sua origem ser oxalato de cálcio, o animal era direcionado para cirurgia onde se realizava a sua remoção por cistotomia (Tiruneh & Abdisa, 2017). Se a sua origem fosse estruvite prosseguia-se para uma dieta urinária para que houvesse dissolução dos mesmos; estes pacientes tinham um controlo frequente da sua situação.

### **Pneumologia**

Nesta especialidade a efusão pleural nos canídeos evidencia-se, pela sua frequência de ocorrência, com uma representatividade de 42,9% (n=3). Nos gatos a afeção que predominou foi asma felina (n=2; 18,2%). A tabela 10 sumariza os casos acompanhados nesta especialidade no HVL.

**Tabela 10:** Análise dos casos de Pneumologia separados por afeção e espécie animal

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Efusão pleural</b>	3 (27,3%)	0 (0,0%)	3	27,3%
<b>Atelectesia</b>	1 (9,1%)	0 (0,0%)	1	9,1%
<b>Colapso Pulmonar</b>	1 (9,1%)	0 (0,0%)	1	9,1%
<b>Edema pulmonar</b>	1 (9,1%)	0 (0,0%)	1	9,1%
<b>Peumonia por aspiração de vômito</b>	1 (9,1%)	0 (0,0%)	1	9,1%
<b>Asma felina</b>	0 (0,0%)	2 (18,2%)	2	18,2%
<b>Complexo respiratório felino</b>	0 (0,0%)	1 (9,1%)	1	9,1%
<b>Dispneia respiratória</b>	0 (0,0%)	1 (9,1%)	1	9,1%
<b>TOTAL</b>	7 (63,6%)	4 (36,4%)	11	100,0%

O complexo respiratório felino é também considerada uma patologia infeto-contagiosa de alta morbidade, causada por Calicivírus felino (FCV) e Herpesvírus felino-1 (FHV-1); e pelos agentes bacterianos *Chlamydomphila felis* e *Bordetella bronchiseptica* (Cohn, 2011). Contudo, encontram-se enquadrados na especialidade de pneumologia uma vez que têm grande impacto no sistema respiratório.

A cavidade pleural contém, em condições normais, uma qualidade de líquido seroso, sustida entre membranas serosas (K. Murphy & Papasouliotis, 2011). A acumulação excessiva de líquido pleural resulta em interferência na ventilação e comprometimento da expansão pulmonar, independentemente da causa (K. Murphy & Papasouliotis, 2011). Por conseguinte, a manifestação clínica apresentada mais frequentemente pelo paciente é a intolerância ao exercício, letargia, perda de peso, taquipneia, tosse, dispneia, cianose e posição ortopneica (K. Murphy & Papasouliotis, 2011).

Nestas situações, no HVL, os pacientes com a dispneia e cianose eram colocados a oxigénio. Apenas após a sua estabilização é que se realizava-se uma ecofast para confirmar a existência de líquido livre no tórax. Depois do diagnóstico estabelecido, realizava-se uma toracocentese para que este pudesse respirar com menor esforço (K. Murphy & Papasouliotis, 2011). Após a colheita do líquido, era realizada uma avaliação rigorosa do mesmo, incluindo uma mensuração das proteínas totais e uma análise microscópica para observar a existência (ou não) de eritrócitos ou de bactérias (Beatty & Barrs, 2010); a classificação predominante nos pacientes acompanhados no HVL era transudado modificado. Era também feita uma investigação criteriosa para deteção da sua origem.

### **Hematologia**

Em hematologia apenas foram diagnosticados pacientes caninos, tal como é observado na tabela 11 sendo a afeção mais predominante a anemia-hemolítica-imunomediada (AHI).

Apesar de a hemoplasmosose originada por *Mycoplasma haemofelis*, se poder também enquadrar nesta especialidade uma vez que a sua manifestação clínica a anemia hemolítica, foi, no entanto, decidido colocar-se esta afeção na especialidade de infeciologia, devido ao seu caráter infeccioso.

**Tabela 11:** Análise dos casos de Hematologia separados por afeção e espécie animal

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>AHI</b>	3 (50,0%)	0 (0,0%)	3	50,0%
<b>Epistaxis</b>	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1	16,7%
<b>Hemopericardio</b>	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1	16,7%
<b>Esplenomegália</b>	1 (16,7%)	0 (0,0%)	1	16,7%
<b>TOTAL</b>	6 (100,0%)	0 (0,0%)	6	100,0%

A anemia hemolítica imunomediada é uma importante causa de morbidade e mortalidade em cães; apesar de poder observar-se também em gatos, no entanto não é tão frequente nesta espécie (Garden et al., 2019). O mesmo se verificou na prática clínica no HVL em que os pacientes com esta patologia foram na sua totalidade canídeos.

Conforme o descrito na literatura, a faixa etária média no qual a afeção se manifestou foi os seis anos de idade, sendo que, a manifestação clínica apresentada era: letargia, anorexia, palidez, icterícia, vômito, pirexia, sopro cardíaco sistólico e hemoglobinúria (Nelson & Couto, 2014).

AHI é classificada como secundária quando associada a uma doença subjacente (infecciosa, neoplásica, fármacos, venenos, vacinas) ou primária/idiopática no caso de nenhuma causa ser encontrada (Garden et al., 2019).

Estudos existentes sugerem que a AHI primária é mais frequente em cães do que a secundária, no entanto, estes dados podem não ser absolutamente certos, uma vez que o diagnóstico de uma secundária depende de quão minuciosa seja a procura pelo clínico.

Relativamente ao mecanismo da AHI primária, sabe-se que, a afeção é originada pela presença de autoanticorpos que têm como alvo os epítomos da membrana eritrocitária; a esta combinação junta-se posteriormente um macrófago e ocasiona-se a hemólise extravascular (Garden et al., 2019); uma típica reação de hipersensibilidade II (Vickers & Barker, 2020). O complemento pode ainda interagir com a combinação autoanticorpo – eritrócito, antes de a mesma se juntar ao macrófago, e potenciar a hemólise extravascular ou causar hemólise intravascular pela formação do complexo membranar de ataque (Garden et al., 2019). Atualmente, estes AC ainda não estão bem caracterizados; no entanto, em estudos recentes, foram encontrados AC contra a espectrina, banda três e família de glicoproteínas de membrana dos eritrócitos (glicoforinas) (Garden et al., 2019).

A anemia ocorre uma vez que a hemólise é insuficientemente compensada pela produção de eritrocitária (Vickers & Barker, 2020). A hemólise pode ser detetada também pela presença de esferocitose (esferócitos são eritrócitos que têm uma área de superfície reduzida em relação ao volume e sem palidez central), pela hiperbilirrubinémia manifestada através da icterícia e pela hemoglobinémia (depois de eliminar a hemólise artefactual por colheita traumática, congelamento e armazenamento) ou hemoglobinúria quando a urina se mantém com coloração avermelhada após centrifugação (Swann et al., 2019).

O seu diagnóstico final é realizado através da realização, numa gota de sangue, do teste de aglutinação com solução salina e através do teste de Coomb's (Garden et al., 2019). A terapêutica recomendada recorre à utilização um fármaco imunossupressor com prednisolona como primeira escolha, inibição da trombose com o uso de heparina e tratamento de suporte com o recurso a gastroprotetores, a antibióticos e a transfusão sanguínea quando necessário (Swann et al., 2019).

Com esta afeção, dos três casos acompanhados pelo HVL apenas um acabou por sobreviver.

### **Endocrinologia**

Nesta especialidade (tabela 12) o número de casos acompanhados equiparou-se entre ambas as espécies (n=5; 50%).

Nos cães, a afeção com maior predominância foi a *Diabetes Mellitus* com uma representatividade de 30,0% (n=3).

Nos gatos afeção diagnosticada na maioria dos casos foi o hipertiroidismo (n=4;40%).

*Tabela 12: Análise dos casos de endocrinologia separados por afeção e espécie animal*

	Cães	Gatos	Total	
	n (%)	n (%)	Fi	Fr (%)
<b>Diabetes mellitus</b>	3 (30,0%)	0 (0,0%)	3	30,0%
<b>Cushing</b>	1 (10,0)	0 (0,0%)	1	10,0%
<b>Hiperaldosteronismo</b>	1 (10,0)	1 (10,0)	2	20,0 %
<b>Hipertiroidismo</b>	0 (0,0%)	4 (40,0%)	4	40,0%
<b>Total</b>	5 (50,0%)	5 (50,0%)	10	100,0%

O hipertiroidismo é a endocrinopatia mais comum na população de gatos geriátricos, com uma prevalência de 6 a 10% em gatos com mais de 10 anos de idade (Szlosek et al., 2020). O excesso de produção de hormonas tiroideas afeta diversos sistemas no organismo. Por conseguinte, tende a apresentar uma vasta ampla manifestação de sinais clínicos (Carney et al., 2016). Os sinais clínicos clássicos foram também os observados nos casos acompanhados no HVL: eram perda de peso, polifagia, poliúria, polidipsia, aumento da vocalização, agitação, aumento da atividade física, taquipneia, taquicardia, vômito, diarreia, e má qualidade do pelo (Carney et al., 2016).

O diagnóstico definitivo requer a demonstração de um aumento permanente das hormonas implicadas (T4 total e T4 livre), com manifestação de um ou mais sinais clínicos referidos anteriormente (Carney et al., 2016).

O tratamento utilizado regia-se pelas recomendações apresentadas pela “*American Association of Feline Practitioners*” (AAFP) dando-se uso preferencial à terapêutica médica com uso de metimazol (Carney et al., 2016). Todos os pacientes com esta afeção tinham um acompanhamento hospitalar frequente para a monitorização do seu estado geral e, para avaliar da necessidade em ajustar a dose do fármaco.

## Oncologia

Nesta especialidade (tabela 13) foram acompanhados 16 casos dos quais, 12 foram cães e 4 gatos.

Nos cães, logo depois das neoplasias mamárias seguem-se as massas abdominais. Estas situações clínicas apresentaram-se no hospital com sinais gastrointestinais inespecíficos, o que dificultou o diagnóstico. Na maior parte das situações, decidiu-se pela realização de uma laparotomia exploratória. Esta permitiu evidenciar na uma extensa massa irregular abdominal de origem desconhecida. Ambos os animais, apresentavam evidências de metastização não detetada antes da cirurgia (no fígado, baço e nos linfonodos mesentéricos), pelo que a decisão dos donos foi a eutanásia. Não foi enviado material para estudo anatomopatológico, pelo que a origem da massa e o tipo de neoplasia em causa permaneceram desconhecidos. É de referenciar que ambos os animais eram geriátricos.

*Tabela 13: Análise dos casos de Oncologia separados por afeção e espécie animal.*

		<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
		<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Insulinoma</b>		1 (6,3%)	0 (0,0%)	1	6,3%
<b>Tumor células transição da bexiga</b>		1 (6,3%)	0 (0,0%)	1	6,3%
<b>Linfoma</b>		1 (6,3%)	0 (0,0%)	1	6,3%
<b>CCE</b>		0 (0,0%)	2 (12,5%)	2	12,5%
<b>Neoplasias de etiologia desconhecida</b>	<b>Massa abdominal</b>	2 (12,5%)	0 (0,0%)	2	12,5%
	<b>Neoplasia testicular</b>	1 (6,3%)	0 (0,0%)	1	6,3%
	<b>Neoplasia sacos anais</b>	1 (6,3%)	0 (0,0%)	1	6,3%
	<b>Neoplasia Mamária</b>	5 (31,3%)	2 (12,5%)	7	43,8%
<b>TOTAL</b>		12 (75,0%)	4 (25,0%)	16	100,0%

No caso das neoplasias mamárias, a sua etiologia não é bem conhecida, no entanto acredita-se que haja uma interação entre fatores externos e suscetibilidade do indivíduo. Parecem estar também envolvidos na génese da doença, vários fatores de risco, como a obesidade e a contraceção através do uso de pílulas (S. Murphy, 2008; Nordin et al., 2017). Sabe-se que o risco aumenta com o avançar da idade, sendo a idade média de manifestação tumoral em ambas as espécies entre os 10 e os 12 anos (R. Pinto, 2010). No estágio de 4 meses no HVL, estes tumores foram diagnosticados em animais sujeitos a tratamento contraceptivo com progestagénio e de maior idade.

Nestes animais a opção terapêutica recomendada era a cirurgia, na qual era realizada mastectomia total ou parcial. No entanto, antes de se seguir para o procedimento cirúrgico era realizado o estadiamento tumoral para determinar a extensão do processo; verificava-se a

existência de múltiplas massas, palpavam-se os linfonodos axilares e inguinais para verificar se existia metastização e, com o mesmo intuito eram realizados exames radiológicos e ecográficos para deteção de metástases à distância (Nordin et al., 2017; Queiroga & Lopes, 2002). Eram realizadas análises sanguíneas de modo a detetar qualquer alteração e a existência de patologias concomitantes capazes de colocar o paciente em risco aquando o procedimento, assim como, radiografias para deteção de metástases (R. Pinto, 2010).

Após o procedimento cirúrgico, a massa era enviada para laboratório para realização de biópsia e para que a etiologia da massa fosse conhecida (R. Pinto, 2010).

### **Toxicologia**

Na área de toxicologia foram acompanhadas situações resultantes de diferentes tipos de tóxicos (tabela 14): antifúngicos, chocolate, Benuron® e rodenticidas anticoagulantes (dicumarínicos); os rodenticidas encontram-se em destaque na área (n=3; 33,3%).

Contudo, uma vez que nem sempre é possível identificar qual o tóxico em questão, já que a apresentação clínica é bastante inespecífica (tremores, vômitos, alteração do tamanho pupilar), em 33,3% dos casos a origem da intoxicação continuou desconhecida.

Não foram registados casos em gatos.

*Tabela 14: Análise dos casos de Toxicologia separados por afeção e espécie animal.*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Antifúngico</b>	1 (11,1%)	0 (0,00%)	1	11,1%
<b>Chocolate</b>	1 (11,1%)	0 (0,00%)	1	11,1%
<b>Dicumarínicos</b>	3 (33,3%)	0 (0,00%)	3	33,3%
<b>Benuron</b>	1 (11,1%)	0 (0,00%)	1	11,1%
<b>Origem desconhecida</b>	3 (33,3%)	0 (0,00%)	3	33,3%
<b>TOTAL</b>	9 (100,0%)	0 (0,00%)	9	100,0%

Os rodenticidas anticoagulantes são o maior grupo de pesticidas usados no controle de roedores (Valchev, Binev, Yordanova, & Nikolov, 2008).

A intoxicação por estes produtos ocorre após a sua ingestão por parte do canídeo ou então, através da ingestão de roedores dos quais tenham ingerido o veneno. No entanto esta última situação é menos preocupante uma vez que a quantidade de rodenticida de ingerida pelo roedor é reduzida (DeClementi & Sobczak, 2018).

Durante as primeiras 36 a 72 horas após a ingestão do anticoagulante, o paciente apresenta-se clinicamente normal, dado que os fatores de coagulação vão diminuindo gradualmente. Nos 3 a 5 dias após a ingestão do tóxico, os fatores de coagulação esgotam-se por completo e, ocorre o desenvolvimento da hemorragia (DeClementi & Sobczak, 2018).

A sua manifestação clínica mais frequente e a que foi encontrada na prática clínica inclui dispneia, tosse, letargia e hemoptise (DeClementi & Sobczak, 2018).

No caso de ingestão recente, a abordagem terapêutica passava pela indução do vômito com peróxido de hidrogénio a 3% ou apomorfina. Em pacientes assintomáticos, optava-se por iniciar terapia profilática com vitamina K1, ou mesmo monitorizar o tempo de Tromboplastina (TP) e administrar a vitamina K1 caso haja aumento do TP. Em caso de dispneia recorria-se ao uso de oxigenoterapia. Em caso de hemorragia ativa, utilizavam-se também transfusões com sangue total ou plasma congelado fresco ou fresco para substituir o sangue e os fatores de coagulação. Quando estabilizado, o paciente iniciava o tratamento com vitamina K1 oral conforme o descrito (DeClementi & Sobczak, 2018).

Nas situações acompanhadas pelo HVL, os dois casos de sucesso foram aqueles no qual uma ingestão do rodenticida foi recente e percebida pelos tutores e que, chegaram ao hospital ainda sem a manifestação de sinais clínicos. O terceiro caso chegou já ao HVL com prognóstico reservado, com um estado agravado da situação com dispneia, cianose e hemoptise pelo que, infelizmente acabou por falecer.

### **Cardiologia**

Nesta área não foram registados casos em felinos, tendo os cães 100% de destaque (n=8) tal como é possível observar na tabela 15. Por ser uma especialidade pouco acompanhada pela autora, apenas se realizará uma breve descrição da metodologia utilizada pela cardiologista do HVL.

A afeção predominante foi a doença degenerativa da válvula mitral com 50% de representatividade.

*Tabela 15: Análise dos casos de Cardiologia separados por afeção e espécie animal.*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Doença degenerativa da válvula mitral</b>	4 (50,0%)	0 (0,0%)	4	50,0%
<b>Cardiomiopatia dilatada</b>	3 (37,5%)	0 (0,0%)	3	37,5%
<b>Síncope vaso-vagal</b>	1 (12,5%)	0 (0,0%)	1	12,5%
<b>TOTAL</b>	8 (100,0%)	0 (0,0%)	8	100,0%

A doença valvular mitral degenerativa é a forma mais comum de doença cardiovascular adquirida em cães e é responsável por cerca de 75% dos casos de doenças cardíacas nesta espécie. Na literatura veterinária também é denominada de doença valvular crónica, endocardiose e doença valvular mitral mixomatosa (Weder, 2019). O diagnóstico das afeções cardíacas era realizado por eletrocardiograma e por ecocardiografia (Keene et al., 2019).

O tratamento instituído era ajustado à gravidade da situação e, regia-se pelas recomendações apresentadas pelo “*American College of Veterinary Internal Medicine*” (ACVIM) (Keene et al., 2019).

### **Oftalmologia**

Na área de oftalmologia representada na tabela 16, apenas foram registados 4 casos. O número reduzido de casos é devido ao facto dos casos com afeções oculares, serem na sua maioria reencaminhados para um especialista. Relativamente à espécie, os canídeos encontram-se visível destaque com uma representatividade de 75% (n=3) tal como se pode observar na tabela 16. Das afeções diagnosticadas nos canídeos, a úlcera corneal teve maior destaque (n=2; 50,0%). Nos felídeos apenas se registou um caso com sintomatologia clínica compatível com conjuntivite.

*Tabela 16: Análise dos casos de oftalmologia separados por afeção e espécie animal.*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Úlcera corneal</b>	2 (50,00%)	0 (0,00%)	2	50,00%
<b>Conjuntivite</b>	0 (0,00%)	1 (25,00%)	1	25,00%
<b>Perda visão por causa desconhecida</b>	1(25,00%)	0 (0,00%)	1	25,00%
<b>Total</b>	3 (75,00%)	1 (25,00%)	4	100,00%

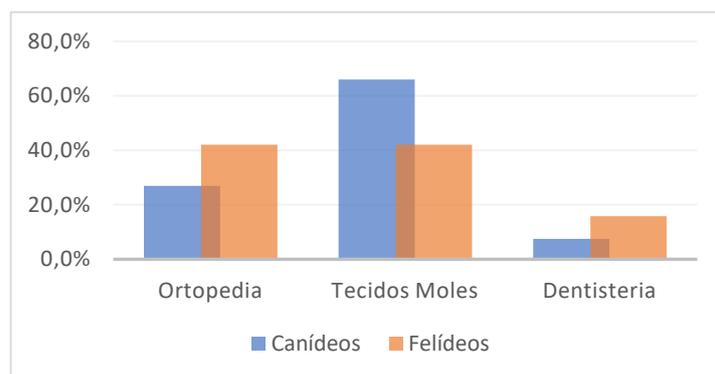
A córnea é a porção anterior clara da túnica fibrosa do globo é constituída por epitélio anterior, estroma central e endotélio posterior (Moore, 2005). As úlceras da corneais podem variar de uma simples abrasão superficial da córnea associadas a um traumatismo leve até uma úlcera profunda que atinge o estroma, de que pode resultar em perfuração da córnea e perda do olho (Williams, 2017).

Na abordagem das situações, era inicialmente feita um exame oftálmico no qual se dava ênfase à existência de alterações anatómicas prejudiciais ao olho, como entropion ou a existência de cílios ectópicos (Seruca, 2018). O diagnóstico era feito posteriormente com recurso ao teste de Fluresceína (Seruca, 2018). A terapêutica utilizada consistia na aplicação de antibioterapia tópica e, caso se detetasse existência de dor (observada pela presença de blefarospasmo) utilizava-se sulfato de atropina 1% topicamente (Seruca, 2018).

### 2.2.3. Cirurgia clínica

No que à clínica cirúrgica diz respeito foi registada uma casuística total de 72 casos, dentro dos quais 53 (73,6%) correspondem a cães e os restantes 19 (26,4%) a gatos.

Dentro da própria espécie, nos cães a área cirúrgica que se destacou foi a cirurgia de tecidos moles com uma representatividade de 66,0% (n=35 casos). Em gatos a ortopedia e a cirurgia de tecidos moles mantiveram-se em pé de igualdade, cada área com 8 casos o correspondente a uma percentagem de 42,1%. O gráfico 3 sumariza o ocorrido nesta área clínica.



**Gráfico 3:** Análise ao número de casos acompanhados, quer por espécie, quer por área cirúrgica expressos em Fr (%).

No início do estágio, apenas foi pedido que assistisse ao procedimento cirúrgico. Posteriormente foi atribuída a função de circulante de cirurgia tendo por função era ir buscar qualquer material necessário e proceder à abertura do mesmo, sempre com o cuidado de manter o material esterilizado; fazer a administração de fármacos no intraoperatório quer para controlo da dor (Fentanil) quer antibioterapia profilática em casos de cirurgias com elevado risco de infeção. Na etapa final era já atribuída a função de assistente de cirurgia, sendo a autora responsável pelo auxílio do cirurgião em certos procedimentos, como por exemplo no caso das cirurgias ortopédicas em que era necessária uma mobilização do osso em questão ou, no caso de ser necessária a sustentação de algum órgão; foi ainda permitida a realização de suturas. Nesta fase também era atribuída a função de anestesista, tendo a responsabilidade tutorada de calcular as doses dos anestésicos e realizando o controlo da anestesia dentro da sala cirúrgica, durante a qual eram monitorizadas as constantes vitais (Fr, Fc, temperatura e pulso), a pulsoximetria e a capnografia. A combinação de fármacos variava consoante o tipo de cirurgia; contudo, o protocolo utilizado com maior frequência era constituído pela combinação de metadona (opióide), medetomidina (agonista  $\alpha_2$  adrenérgico) e midazolam (relaxante muscular) sendo a anestesia de manutenção realizada com isoflurano (anestésico inalatório). Enquanto a combinação anestésica utilizada não tinha o efeito pretendido, para auxiliar na entubação, recorria-se ao propofol.

A maioria dos pacientes submetidos a cirurgia, com exceção dos que eram submetidos a cirurgia de emergência, tinham uma prévia avaliação clínica com a realização dos exames

complementares necessários à detecção de qualquer anomalia capaz de o colocar em risco durante da cirurgia.

### **Cirurgia de tecidos moles**

A casuística de cirurgia de tecidos moles encontra-se sumarizada na tabela 17. Acompanharam se um total de 43 ocorrências dos quais 34 são cães (79,1%) e 9 gatos (20,9%).

Nos cães, os procedimentos com maior representatividade foram a ovariectomia (OVH) por piómetra e a esplenectomia, ambas com 5 casos (11,6%), seguindo-se lhes a OVH de rotina (n=4; 9,3%) e em terceiro lugar a mastectomia (n=3; 7,0%).

Nos gatos, a intervenção predominante foi a OVH (n=3; 7,0%) seguindo-se a orquiectomia (n=2; 4,7%).

**Tabela 17:** Análise dos casos de Cirurgia de Tecidos moles separados por tipo de intervenção e espécie animal.

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr (%)</b>
<b>Piómetra</b>	5 (11,6%)	0 (0,0%)	5	11,6%
<b>Ovariectomia (OVH)</b>	4 (9,3%)	3 (7,0%)	7	16,3%
<b>Orquiectomia</b>	2 (4,7%)	2 (4,7%)	4	9,3%
<b>Mastectomia</b>	3 (7,0%)	1 (2,3%)	4	9,3%
<b>Cesariana</b>	2 (4,7%)	0 (0,0%)	2	4,7%
<b>Nodullectomia</b>	2 (4,7%)	0 (0,0%)	2	4,7%
<b>Esplenectomia</b>	5 (11,6%)	0 (0,0%)	5	11,6%
<b>Cistotomia</b>	2 (4,7%)	0 (0,0%)	2	4,7%
<b>Resolução de perfuração abdominal</b>	1 (2,3%)	1 (2,3%)	2	4,7%
<b>Resolução de avulsão mandibular</b>	0 (0,0%)	1 (2,3%)	1	2,3%
<b>Resolução de perfuração torácica com lobectomia</b>	2 (4,7%)	1 (2,3%)	3	7,0%
<b>Resolução prolapso retal</b>	1 (2,3%)	0 (0,0%)	1	2,3%
<b>Resolução prolapso vaginal</b>	1 (2,3%)	0 (0,0%)	1	2,3%
<b>Dilatação volvo-gástrica</b>	2 (4,7%)	0 (0,0%)	2	4,7%
<b>Enterectomia</b>	1 (2,3%)	0 (0,0%)	1	2,3%
<b>Remoção corpo estranho</b>	1 (2,3%)	0 (0,0%)	1	2,3%
<b>TOTAL</b>	34 (79,1%)	9 (20,9%)	43	100,0%

No HVL em consulta, era muitas vezes mencionada importância da esterilização (OVH, orquiectomia) ao tutor sendo referidos os benefícios para o seu animal no que diz respeito à prevenção de doenças quer para controlo populacional.

### **Cirurgia ortopédica**

A casuística referente à cirurgia ortopédica encontra-se sintetizada na tabela 18. Foi registado um total de 22 casos, nos quais se evidenciaram os cães (n=14; 63,6%).

Em canídeos a intervenção mais frequente foi a resseção cabeça fémur com um total de 4 casos (18,6%), seguindo-se a osteossíntese do rádio (n=3; 13,6%) e a amputação de cauda (n=2; 9,1%).

Nos felídeos a intervenção cirúrgica com maior número de casos registados foi a amputação de membro (n=3; 13,6%) seguida da osteossíntese do fémur (n=2; 9,1%). A amputação de membro surge na sequência de fratura complexa, com perda de sensibilidade e impossível de reduzir através de intervenção cirúrgica.

*Tabela 18: Análise dos casos de Cirurgia Ortopédica separados por tipo de intervenção e espécie animal*

	<b>Cães</b>	<b>Gatos</b>	<b>Total</b>	
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>Fi</b>	<b>Fr</b>
<b>Osteossíntese metacarpiana</b>	1 (4,6%)	0 (0,0%)	1	4,5%
<b>Osteossíntese do rádio</b>	3 (13,6%)	0 (0,0%)	3	13,6%
<b>Osteossíntese do fémur</b>	1 (4,6%)	2 (9,1%)	3	13,6%
<b>Osteossíntese do íleo</b>	1 (4,6%)	0 (0,0%)	1	4,5%
<b>Osteossíntese da sínfise mandibular</b>	1 (4,6%)	1 (4,6%)	2	9,1%
<b>Osteossíntese intercondilar umeral</b>	1 (4,6%)	0 (0,0%)	1	4,5%
<b>Amputação de membro</b>	0 (0,0%)	3 (13,6%)	3	13,6%
<b>Amputação da cauda</b>	2 (9,1%)	0 (0,0%)	2	9,1%
<b>Craniotomia</b>	0 (0,0%)	1 (4,6%)	1	4,5%
<b>Resseção da cabeça fémur</b>	4 (18,2%)	1 (4,6%)	5	22,7%
<b>TOTAL</b>	14 (63,6%)	8 (36,4%)	22	100,0%

A resseção da cabeça do fémur é um procedimento cirúrgico frequentemente usado para correção de alterações traumáticas ou crónicas oriundas da região pélvica. Esta indicada em casos de fraturas da cabeça e colo do fémur, fraturas acetabulares, luxações coxofemorais, dor crónica associada à doença degenerativa articular (incluindo doença induzida por traumatismo, doença de Legg-Perthes e displasia da anca em cães) (Peycke, 2011).

O período pós-operatório é extremamente importante para a recuperação e retorno à função. É fundamental para o sucesso um correto planeamento da reabilitação do paciente pelo que, os

pacientes no qual era realizada esta intervenção permaneciam internados no hospital por um tempo mínimo de uma semana (Peycke, 2011).

### **Dentisteria**

Nesta área, foram registados um total de 7 pacientes dos quais 4 eram cães e 3 eram gatos (gráfico 3 mencionado no tópico “2.2.3 Cirurgia clínica”).

A área de Dentisteria é uma área dentro da prática veterinária que envolvia conforme o descrito, a consulta, avaliação, diagnóstico, prevenção e tratamento profissional (não cirúrgico, cirúrgico ou relacionado) procedimentos) de condições, doenças e distúrbios da cavidade oral e área maxilofacial e suas estruturas adjacentes e associadas (Bellows et al., 2019).

O comprometimento da saúde oral pode afetar a saúde geral, a longevidade, a qualidade de vida e a interação de um animal de estimação, sem que haja exibição de sinais clínicos óbvios da doença (Bellows et al., 2019).

Os processos patológicos orais em animais de companhia podem ter diferentes origens, incluindo: origem congénita, infecciosa, traumática e neoplásica. Contudo a afeção com maior incidência quer nos pacientes felinos quer nos pacientes caninos é a inflamação dos tecidos do periodonto (tecidos envolvidos na fixação do dente ao osso) denominada de doença periodontal (Bellows et al., 2019).

Os termos clínicos usados para descrever o processo ativo de doença periodontal incluíam gengivite e periodontite, sendo a gengivite o estadio inicial da doença periodontal em que a inflamação confinada à gengiva e por norma, consequência da existência de placa bacteriana. Periodontite, a inflamação que resulta em perda irreversível dos tecidos de suporte dentário havendo progressão para a inserção do ligamento periodontal e osso alveolar (Bellows et al., 2019).

## 2.3 Atividades desenvolvidas no Loro Parque

O Loro parque, situado nas ilhas Canárias de Espanha, nomeadamente na ilha de Tenerife, foi fundado a 17 de dezembro de 1972 por Wolfgang Kiessling de nacionalidade alemã (“Loro Parque,” 2020). Atualmente tem uma área de 135.000 m<sup>2</sup>, o número de papagaios subiu para 4000 (cerca de 350 espécies e subespécies diferentes) e tem agora, uma vasta diversidade animal incluindo leões marinhos da Califórnia, golfinhos, orcas, lontras, jaguares, tigres, iguanas, jacaré americano, gigante tartarugas de Galápagos, peixes exóticos, piranhas, cavalos marinhos, vários tubarões, entre outros (“Loro Parque,” 2020).

O Loro Parque tornou-se uma das instituições zoológicas mais respeitadas do mundo, tanto pela sua beleza, como pela excelência de suas instalações e pelo absoluto respeito à natureza. Em 2008 tornou-se o primeiro zoológico a receber o certificado *Animal Embassy* (“Loro Parque,” 2020). Juntamente com o Loro Parque Fundación têm tido um papel importante no que toca à investigação e conservação, participando em inúmeros projetos, com o principal objetivo de recuperar animais em vias de extinção em diversos pontos do planeta (“Loro Parque,” 2020).

A clínica é constituída por 2 pisos, no piso inferior encontram-se 5 salas de internamento, uma sala de tratamento, uma sala de preparação de alimentação, uma sala na qual é realizada a limpeza e desinfeção dos materiais. O piso superior é constituído por 2 laboratórios, 2 salas de cirurgia e uma sala para realização de exames radiológicos. A equipa do Departamento de clínica e laboratório é constituída por 5 pessoas, dos quais 3 são médicos veterinários e 2 auxiliares.

No início do estágio apenas foi pedido que permanecesse na clínica, que auxiliasse na alimentação dos animais internados na clínica (que eram maioritariamente papagaios), na administração da sua respetiva medicação e fluidoterapia, sempre com vigia do médico veterinário ou da enfermeira veterinária de serviço. Foi pedido ainda que, durante o tratamento de feridas e na terapia com laser que, auxiliasse na contenção do animal ou no controlo da anestesia. Em relação ao trabalho no laboratório, foi inicialmente pedido que assistisse aos procedimentos realizados para perceber como os mesmos eram feitos. Mais tarde, foi permitida a realização autónoma da alimentação, da administração de medicação na clínica e fluidoterapia e a preparação das medicações. No laboratório procedeu à coloração de lâminas de microscópio Giemsa e Diff Quick (esfregações sanguíneas e citologias de coanas, papo e cloaca no caso dos papagaios e, no caso das orcas e golfinhos, citologias de conteúdo gástrico e espiráculos), realização de coprologias e de testes contra a clamídia. Prestou auxílio nas atividades de medicina preventiva realizadas no exterior da clínica tais como: ecografias a orcas e golfinhos para controlo reprodutivo (observação do tamanho dos folículos ovários e monitorização de uma gestação no caso de um animal), exames físicos a leões marinhos, exames físicos às crias localizadas na “Baby Station” sendo que, em todas estas espécies, de modo a ter um melhor controlo do seu estado de saúde, eram realizadas colheitas de sangue com frequência.

### 3. Monografia

**“A reprodução do jaguar (*Panthera onca*) em cativeiro”**



*Figura 2: Contribuição do Loro Parque na conservação do jaguar; fonte: Loro Parque 2020*

### 3.1 Introdução

Os séculos XX e XXI têm levantado diversos desafios crescentes no que respeita à Natureza e à sua sustentabilidade, incluindo a perda de biodiversidade de várias espécies animais assim como destruição de habitats e dos ecossistemas. Por este motivo, a conservação tem sido assumida cada vez mais como um assunto urgente e de extrema importância (Meadows, 2011).

O impacto negativo deixado pela destruição contínua em larga escala é evidente, refletindo-se na consequente perda de habitat, no uso ilegal da vida selvagem e falta de consciência sobre conservação, na biodiversidade e nos ecossistemas. (Meadows, 2011). A *International Union for Conservation of Nature* referem que 26% de todos os mamíferos, 14% dos pássaros, 12% dos répteis, 41% dos anfíbios, 30% dos tubarões, 33% dos recifes de coral e 28% dos crustáceos se encontram e em perigo de extinção ("IUCN Red List of Threatened Species," 2020).

Os felinos, devido às suas características anatómicas e genéticas, são considerados "carnívoros estritos", ou seja, a sua dieta requer uma alimentação rica em taurina, aminoácido presente na carne (pelo menos 70% e até 100%). Esta "estratégia" alimentar torna-os animais naturalmente dispersos e raros em que, dentro do mesmo tamanho e habitat, o espaço necessário para um felino adulto é muito mais extenso do que o de qualquer outro animal pertencente à ordem dos *Carnivora* (Bellani, 2020b). Por este motivo, pode -se dizer que todas as espécies conhecidas de felinos selvagens estão particularmente sensíveis aos efeitos diretos e indiretos das modificações ambientais feitas pelo homem (Bellani, 2020b). Outro aspeto importante a considerar relativamente aos grandes felinos, é o seu papel de "regular" as relações ecológicas entre predadores e presas e, indiretamente, entre as presas herbívoras e os organismos autotróficos (vegetais) (Bellani, 2020b). Por esta razão, os grandes felinos pertencem ao grupo que os conservacionistas denominam por "espécies guarda-chuva", em que, a conservação destas espécies envolve indiretamente a conservação de muitas outras espécies do ecossistema. Assim, com a conservação dos grandes felinos é assegurada a biodiversidade de espécies, pelo menos na sua maioria, e existe uma garantia que os processos ecológicos são autossustentáveis (Bellani, 2020b). Deste modo, é perfeitamente compreensível que os felinos sejam objeto privilegiado de pesquisa científica, atenção sociopolítica e consequentes ações voltadas à sua conservação (Bellani, 2020b).

Nas primeiras décadas do século XX, o jaguar (*Panthera onca*) foi uma das espécies que pagou um preço bastante alto. Começou por ser caçado pela beleza da sua pelagem, pelas suas unhas e dentes, sendo símbolo de divindade; mais tarde, foi perseguido por produtores de gado uma vez que predava os seus efetivos. Apesar de serem uma espécie protegida, ainda hoje são caçados e perseguidos (Bellani, 2020c). A desflorestação e a caça são os principais perigos para esta espécie, pois originam uma redução do seu habitat e da disponibilidade das suas presas naturais. Hoje em dia apenas vivem em apenas 40% das áreas anteriormente ocupadas (Bellani, 2020c). A figura 2 é são alusivas à contribuição do Loro parque para a conservação desta espécie.

## 3.2 Conservação

O termo “Conservação” designa o cuidado e a proteção dos recursos da Terra (ar, minerais, plantas, solo, água e vida selvagem) para que possam persistir nas gerações futuras. Este conceito engloba manutenção da diversidade de espécies, genes e ecossistemas, bem como diversas funções do ambiente, como por exemplo o ciclo de nutrientes (Gina Borgia & Jeanna Sullivan, 2019).

A conservação da vida selvagem é muito importante uma vez que a vida selvagem e a natureza desempenham um papel importante na manutenção do equilíbrio ecológico, contribuindo também de certa maneira para melhorar a qualidade da vida humana (Tidball, 2014).

O crescimento contínuo da população humana levou a taxas insustentáveis de consumo de recursos naturais, resultando na perda da biodiversidade da Terra. Os principais fatores que impulsionam a perda de biodiversidade incluem a destruição de habitat, a mudança climática, a introdução de espécies invasoras, a sobre-exploração e a poluição (Gina Borgia & Jeanna Sullivan, 2019).

Como incentivos à Conservação, podemos considerar duas teorias. A primeira teoria assume que existem benefícios potencialmente identificáveis a serem obtidos através da conservação nomeadamente de origem económica, médico-científica, ecológica e estética (Dettling, Dornak, & Marriott, 2002; Tidball, 2014). A segunda baseia-se na ideia de que todos os organismos têm o direito de existir dado a sua prolongada estadia no planeta Terra (Tidball, 2014).

A atitude do público desempenha um papel muito importante na formulação e implementação de políticas de gestão da conservação da vida selvagem, refletindo-se no sucesso ou fracasso dos esforços de proteção ambiental (Meadows, 2011; Zhou, Wan, Jin, & Zhang, 2016). Para o desenvolvimento de uma civilização ecológica e para o sucesso da implementação destas políticas de gestão, é necessário inculcar na população a definição de conservação da vida selvagem, a promover a proteção científica da vida selvagem e incentivar a uma visão objetiva da conservação da vida selvagem (Zhou et al., 2016).

Pelo seu impacto na atitude humana relativamente à natureza, a educação tem-se revelado uma ferramenta essencial para o alcance da sustentabilidade e da proteção da biodiversidade (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011). Contudo, são vários os desafios enfrentados neste campo (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011). O primeiro é referente à definição de uma abordagem educacional adequada e, à compreensão da forma como os programas de Educação Ambiental e de Educação para Crescimento Sustentável (ECS) poderão ter impacto na educação ambiental (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011). É defendido por vários educadores que a Educação Ambiental (EA) tenha uma abordagem multidisciplinar que enuncie a natureza, meio ambiente e sociedade como entidades interdependentes e inseparáveis. No entanto, EA parece não atingir a abordagem multidisciplinar pretendida uma vez que tem como principal foco o meio ambiente (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011). Por mesmo

motivo, a ECS é considerada por muitos a abordagem mais abrangente visto que, enfatiza as interconexões entre a sociedade, economia e meio ambiente e inclui questões de ética e equidade, bem como novas formas de pensar e aprender (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011). A existência destas tensões conceituais no qual se discute qual das perspectivas é mais adequada, pode gerar conflito no que toca ao estabelecimento de uma mensagem e abordagem adequadas a ser usadas na educação (Meadows, 2011; Navarro-perez & Tidball, 2011) .

O segundo desafio diz respeito às dificuldades enfrentadas tanto pelos educadores como pelos estudantes em lidar com um conceito mal definido devido ao seu caráter multidimensional relativo às interações sociais, económicas e ambientais, o que dificulta a transmissão de um conceito simples aos estudantes. O terceiro grande desafio refere-se à importância de atingir amplos públicos diferentes com uma mensagem impactante que revele a complexidade da questão com um esclarecimento claro da mesma, sem envolver fanatismo ou sentimento de desespero e demonstrando oportunidades de ação com vista a melhorar a situação. O restabelecimento da conexão entre a natureza e os humanos constitui o quarto grande desafio enfrentado neste campo, e é dificultada pela crescente urbanização que tem como consequência a alteração dos ecossistemas e, a perspetiva do ser humano perante a natureza (Navarro-perez & Tidball, 2011).

### **3.3 O papel dos zoológicos e do médico veterinário na conservação**

Hoje em dia a AZA (*Association of Zoos & Aquariums*) credencia jardins e parques zoológicos (daqui em diante designados genericamente por Zoológicos). Todas as instituições que pertencem à AZA dedicam 3% da sua receita à conservação (Miller, Lamberski, & Paul P. Calle, 2019).

As instituições acreditadas pela AZA coordenam, participam e apoiam projetos de conservação que promovem a recuperação de espécies, garantindo todos os meios necessários para a conservação das populações (AZA, 2018).

Um dos potenciais fatores que podem afetar o interesse das pessoas e a sua motivação para proteger as espécies selvagens é o envolvimento direto com os animais (Fukano, Tanaka, & Soga, 2020). Assim, os zoológicos e os aquários desempenham um papel importante no que toca ao aumento do interesse público em animais ameaçados (categorizadas como Criticamente Ameaçadas (CR), Ameaçadas (EN), ou Vulnerável (VU)), uma vez que fornecem oportunidades de interação direta com os mesmos (Fukano et al., 2020).

Além disso, os zoológicos modernos além de fornecerem experiências recreativas para seus visitantes, empregam muitos esforços no que diz respeito à conservação da vida selvagem e na promoção da educação para o mesmo tema (Fukano et al., 2020; Mann, Ballantyne, & Packer, 2020). Por esse motivo, os zoológicos desempenham um papel importante na divulgação ao

público dos problemas ambientais e da consequente perda de biodiversidade, bem como aumentar a sua consciência e o interesse do público nos esforços de conservação (Fukano et al., 2020; Mann et al., 2020).

O principal objetivo de um Zoológico é garantir que as populações e ecossistemas da vida selvagem permaneçam saudáveis sem que haja comprometimento da saúde dos seres humanos. Assim, pode-se considerar que se enquadram perfeitamente no conceito de Medicina da Conservação (Miller et al., 2019). O papel dos Zoológicos na Medicina da Conservação são diversificados e incluem: a prestação de cuidados de saúde para espécies zoológicas, garantindo a sustentabilidade da biodiversidade; a promoção da compreensão das doenças na vida selvagem como sentinelas para doenças emergentes em seres humanos e animais nas áreas circundantes; a vigilância de afeções em animais selvagens na interface da vida selvagem, dos animais domésticos e nos humanos. Aportam ainda contribuições importantes para os campos da medicina comparativa e descobertas em todas as formas de vida e demonstram a importância da natureza para a saúde humana (Miller et al., 2019).

A eficiência e eficácia dos esforços para conservação sofrem um aumento significativo quando são incorporadas considerações acerca da saúde animal nas fases de planeamento, implementação e avaliação de todos os programas (cativos e selvagens) envolvidos na conservação da vida selvagem (Deem, 2007). E, com a tendência para o crescimento da população humana, fragmentação e degradação do nosso planeta e, o contato cada vez maior entre a vida selvagem, espécies domésticas e humanos, podemos considerar os veterinários membros estritamente necessários para qualquer abordagem multidisciplinar no que diz respeito à conservação (Deem, 2007).

Os veterinários de zoos, por muitas décadas, têm desempenhado um papel vital na conservação da vida selvagem, participando ativamente nos cuidados de saúde da vida selvagem em cativeiro e cada vez mais, em projetos de conservação da vida selvagem *in situ* (Deem, 2007).

Um dos papéis mais relevantes do médico veterinário na conservação, é a sua contribuição para os programas de reprodução de espécies em perigo de extinção em cativeiro. Além de garantir a saúde e bem-estar geral dos animais, graças à sua formação, possui outras capacidades como: detetar comportamentos reprodutivos de determinado animal, monitorizar ciclos reprodutivos, estabelecer protocolos de manejo, implementar técnicas de reprodução assistida e controlar efetivamente a reprodução seletiva, com recurso a métodos contraceptivos permanentes ou reversíveis (D. R. N. Fernandes & Pinto, 2019).

### 3.4 O Jaguar (*Panthera onca*)

O Jaguar é o único felino vivo do género *Panthera* nativo do hemisfério ocidental e é o terceiro maior felino depois do leão e do tigre (Bellani, 2020c; Johnson et al., 2016; Rodríguez-Alba, Linares-Matás, & Yravedra, 2019).

O macho é cerca de 20% maior que a fêmea (Bellani, 2020c), variando o seu peso entre os 36 e 158 kg (Pessoa, 2019). O seu peso corporal médio é bastante variável consoante as regiões que habita sendo que, os que vivem mais longe do equador tendem a ter tamanhos superiores (Quigley et al., 2017). A variação de tamanho pode refletir a variação na disponibilidade de grandes presas nos diferentes habitats em que se pode encontrar o jaguar (Quigley et al., 2017).

O Jaguar tem esperança média de vida de até 25 anos em cativeiro e 15 anos em ambiente selvagem (Jedrzejewski et al., 2011).

É um animal ágil, mas simultaneamente forte e robusto: é um bom trepador e possui a capacidade mergulhar sendo um hábil nadador. Devido às suas características, as florestas húmidas, ricas em cursos de água e pântanos são o seu habitat de eleição (S. Johnson et al., 2016; Rodríguez-Alba et al., 2019); no entanto, podem habitar uma vasta variedade de ambientes, pelo que para além das florestas tropicais e subtropicais e dos pântanos, podem também ser encontrados em savanas, planícies e zonas montanhosas, são contudo raramente encontrados acima dos 2000m de altitude e áreas costeiras (Bellani, 2020c; Jedrzejewski et al., 2011).

A cor da sua pelagem varia de amarelo-claro a castanho-ocre e encontra-se revestida por pintas pretas de tamanho variado formando rosetas, com pequenas manchas no seu interior (Pessoa, 2019). Ocasionalmente observa-se uma pelagem quase negra (Pessoa, 2019).

O Jaguar é um caçador oportunista e essencialmente noturno (Bellani, 2020c; Jedrzejewski et al., 2011). Pela sua robustez física e a força dos seus músculos mandibulares, a sua mordida é das mais poderosas no mundo dos carnívoros. Assim consegue caçar mamíferos de tamanho médio, incluindo o tapir (*Tapirus terrestris*), capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), além de peixes de tamanho considerável e ainda répteis de médio a grande porte como o jacaré (*Caiman crocodylos*), a tartaruga-da-savana (*Podocnemys vogii*) e a anaconda (*Eunectes*). São cerca de 85, as espécies que integram a sua dieta (Bellani, 2020c; Pessoa, 2019; Rodríguez-Alba et al., 2019).

Por norma são animais territorialmente solitários, embora já se tenha sido sugerido algum grau de sociabilidade entre indivíduos (Cavalcanti & Gese, 2010; Pessoa, 2019). O território das fêmeas de cerca de 10 km<sup>2</sup>, encontra-se por norma inserido no território dos machos (Fraser, 2012). O território dos machos ultrapassa-o em cerca de 2840 km<sup>2</sup>, embora nalgumas regiões como o Pantanal ou Llanos o territórios de machos possa chegar a ir até aos 90268 km<sup>2</sup> (Bellani,

2020c). Contudo, durante a estação das chuvas, quando os habitats se encontram inundados, o tamanho e distribuição territorial apresenta algumas flutuações (Bellani, 2020c).

A marcação do seu território é feita através de urina, fezes, raspagem de solo e árvores ou ainda, pela marcação de odor conseguido pelo roçar do corpo ou parte dele contra o chão ou as árvores. O rugido também é considerado uma forma de marcação territorial, além de assumir também um papel importante na comunicação entre machos e fêmeas (Jedrzejewski et al., 2011).

A *Panthera onca* encontra-se atualmente listada como “Quase ameaçada” na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), contudo há a possibilidade de numa futura revisão poder vir a ser elevada a “Vulnerável” (Garbutt, 2015; Gina Borgia & Jeanna Sullivan, 2019). O declínio populacional documentado e a perda de habitat, permitem estimar a existência de um declínio de 20 a 25% nas últimas três gerações jaguares (i.e. num espaço de 21 anos), o que suporta a classificação anteriormente referida (Quigley et al., 2017). Os efeitos que pequenas alterações no habitat podem ter sobre a espécie e a baixa probabilidade de ser encontrado no habitat, dificultam a avaliação da situação, pelo que poderá haver uma subestimação significativa da situação atual desta população (Quigley et al., 2017).

### **3.4.1 História e distribuição geográfica**

Pensa-se que o jaguar tenha surgido na Europa ou na Ásia há pelo menos 1,8 a 2,0 milhões anos atrás, no Plioceno/ ou início Período Pleistoceno, (Jedrzejewski et al., 2011). A América do Norte é colonizada posteriormente através do estreito de Bering durante o Período Pleistoceno, há cerca de 850.000 anos pela *P. onca augusta* (denominação atribuída ao jaguar na época) (Jedrzejewski et al., 2011; S. Johnson et al., 2016). Após este acontecimento, também a América do Sul é rapidamente colonizada através da região de Darien, no Istmo do Panamá (Jedrzejewski et al., 2018).

Durante as glaciações há 400.000 anos e, associado aos constantes avanços das placas de gelo, observou-se uma extinção massiva do jaguar na Europa, na Ásia e na América do Norte. Apenas no período Holoceno, em que o clima se tornou mais quente, ocorreu repovoamento da América do Norte e Central (Jedrzejewski et al., 2011).

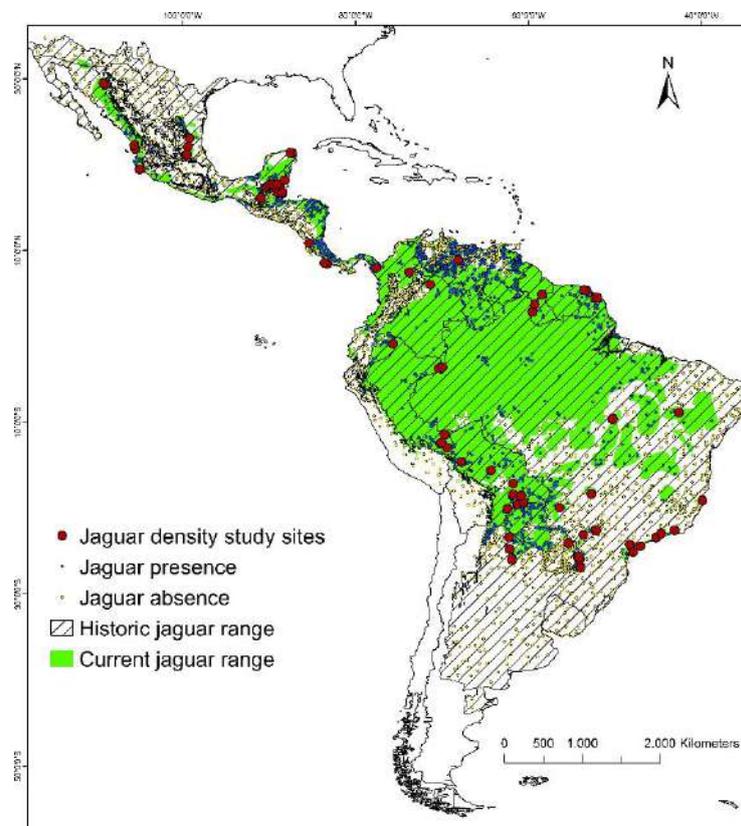
O jaguar existe atualmente em 18 países americanos, do México à Argentina (Garbutt, 2015). Estão completamente extintos no El Salvador, Uruguai e Chile. A perda de habitat e sua fragmentação decorrente da conversão de floresta em terreno agrícola, a redução do número de presas disponíveis e as perseguições a que são sujeitos fazem com que hoje em dia apenas ocupem 46% da sua área original tal como pode ser observado na Figura 3 (Bellani, 2020c; Jedrzejewski et al., 2018; Jimenez Gonzalez et al., 2017; Marchini & Macdonald, 2018; Olsoy et al., 2016). Estima-se que a sua população atual seja de 173,000 indivíduos localizando-se

grande parte desta população localiza-se na Bacia amazônica constituída pelo Brasil, Peru e Colômbia. (Jędrzejewski et al., 2018).

No ano de 2011 a estimativa de densidade populacional do jaguar no México era 0.75 a 6 adultos por 100 km<sup>2</sup>. Foi estimado um total de 4000-5000 jaguares sendo que áreas norte e central do México estão a tornar-se cada vez mais isoladas e o número de indivíduos tem vindo a reduzir ao longo do tempo (Quigley et al., 2017). Na América Central, baseado de 27 estudos realizados de 2000 a 2010 estimou-se que a densidade populacional jaguar de 0,74 a 11,2/100 km<sup>2</sup> (Quigley et al., 2017). A densidade populacional demonstrou ser mais alta em florestas húmidas tropicais do que em florestas tropicais montanhosas ou florestas decíduas; densidades populacionais mais altas também foram encontradas em parques nacionais relativamente a outras áreas de habitat (Quigley et al., 2017).

Na América do Sul, no Pantanal brasileiro em 2006, foi estimada uma densidade populacional em 6,6-6,7/100 km<sup>2</sup>, ou 10,3-11,7/100 km<sup>2</sup>, dependendo do método utilizado (telemetria versus armadilhas fotográficas) (Quigley et al., 2017).

As populações de jaguares na região de Chaco, no norte Argentina e Brasil, e Caatinga brasileira, encontram-se altamente ameaçadas devido à caça ilegal e à produção pecuária (Quigley et al., 2017).



**Figura 3:** Território ocupado atualmente vs território ocupado antigamente; Fonte: Jędrzejewski, W., Abarca, M., Viloria, Á., Cerda, H., Lew, D., Takiff, H., ... Schmidt, K. (2011)

### 3.4.2 Estratégias de conservação do jaguar

O projeto Jaguar Corridor Initiative (JCI) é apoiado pela organização “Panthera” e até ao momento é o único programa de conservação que busca proteger os jaguares numa extensão total de seis milhões de km<sup>2</sup> (Bellani, 2020c).

Em 9 dos 18 estados habitados pela *Panthera onca*, a organização “Panthera” atua colaborando com as comunidades locais de modo a obter uma maior consciencialização da população com vista a aumentar a sua tolerância e a uma redução dos conflitos locais (Bellani, 2020c; Garbutt, 2015). A expansão das áreas urbanas acompanhada pelo aumento da procura por recursos naturais e má gestão de resíduos, foi degradando o meio ambiente, assim é importante sensibilizar a população para a conexão entre prosperidade e bem-estar com o uso sustentável dos recursos naturais e proteção da vida selvagem (“Inputs for a strategic approach to biodiversity conservation in Latin America and the Caribbean,” 2019). O seu principal objetivo é criar uma série de áreas protegidas (corredores) que conectam as últimas áreas habitadas pelo jaguar com o intuito de estimular o fluxo histórico de genes entre as diferentes populações isto, para que as espécies desfrutem de boa diversidade genética, essencial para sua sobrevivência (Bellani, 2020c). De uma maneira geral, tanto a unidade de conservação do jaguar que constituem áreas protegidas, como os parques nacionais, as reservas e os santuários, como os corredores entre si estabelecidos, são essenciais para os esforços de conservação desta espécie a longo prazo (“Jaguar 2030 Roadmap,” 2019).

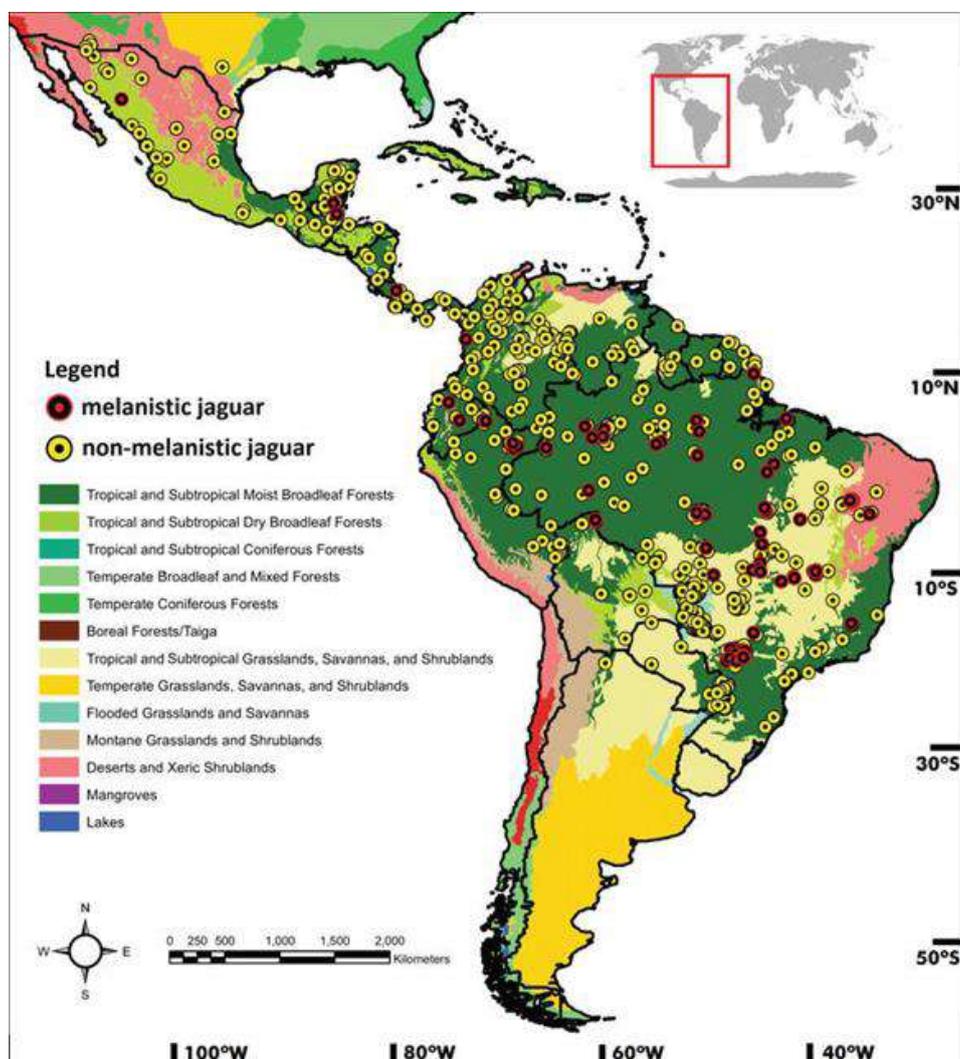
Presumindo que a origem das suas perseguições é maioritariamente feita por produtores de gado, outra estratégia utilizada é a compensação monetária dos animais perdidos cujo objetivo é aliviar os encargos económicos impostos aos agro-pecuaristas. Deste modo o relacionamento entre ambas as partes é facilitado assim como a partilha de território (Marchini & Macdonald, 2018). Ainda sobre a agricultura, sabe-se que esta foi responsável por quase 70% da desflorestação na América Latina entre 2000 e 2010 e, expandiu-se rapidamente para as florestas da América Central. Este tipo de agricultura estava voltada principalmente para os mercados internacionais (soja, carne, óleo de palma, etc.) (“Inputs for a strategic approach to biodiversity conservation in Latin America and the Caribbean,” 2019). É importante portanto, a promoção e adoção mais proativa de cadeias de abastecimento sustentáveis, principalmente no que diz respeito às indústrias de alimentos, de madeira, de minério e turismo, com base nas melhores práticas de produção, transporte, processamento e marketing e no desenvolvimento de mercados para produtos “amigos do ambiente” (“Inputs for a strategic approach to biodiversity conservation in Latin America and the Caribbean,” 2019).

Para a conservação desta espécie, é essencial expandir e elevar o nível de eficácia das áreas protegidas. Muitas áreas “protegidas” em toda a sua extensão do jaguar são protegidas apenas no nome e, não têm capacidade para deter a caça furtiva, exploração de madeira, explorações agrícolas e outras ameaças (“Jaguar 2030 Roadmap,” 2019). Além do estabelecimento de “áreas protegidas”, é importante também desenvolver capacidades de gestão e patrulhamento por meio de treino, infraestrutura e equipamentos adequados (“Jaguar 2030 Roadmap,” 2019).

Jaguar 2030 é um esforço abrangente que une vários governos de países, organizações não governamentais e intergovernamentais, comunidades locais e o setor privado em torno de uma visão compartilhada para conservar o jaguar e seus ecossistemas valiosos (“Jaguar 2030 Roadmap,” 2019).

### 3.4.3 Genética

O Melanismo é um fenômeno genético ocorrente nesta espécie e em muitas outras espécies de felinos (Bellani, 2020a; Eizirik et al., 2003; Seymour, 1989). No caso do jaguar, o melanismo é um traço dominante que obedece às Leis de Mendel (Bellani, 2020a; Eizirik et al., 2003; Majerus & Mundy, 2003) causado por uma deleção de 15 pares de bases no gene Recetor de Melanocortina-1 (MCR1) que determina um “ganho de função” de que resulta uma produção de eumelanina (melanina escura) na pelagem de base.



**Figura 4:** Distribuição geográfica e os fatores ambientais que podem influenciar a persistência desta alteração na população jaguar selvagem; Fonte: Silva, L. (2017).

Assim os indivíduos afetados têm maior quantidade de melanina o que lhes confere uma pigmentação escura ainda que as rosetas continuem visíveis (Bellani, 2020a; Eizirik et al., 2003; Wilson, 2015).

Estima-se que 6% a 10% da população jaguar sofra desta mutação (Wilson, 2015). Estudos recentes têm trazido informação adicional sobre a distribuição geográfica e os fatores ambientais que podem influenciar a persistência desta alteração na população selvagem (Figura 4) (L. Silva, 2017).

O melanismo entre os felídeos selvagens sugere vantagens no que diz respeito à camuflagem e regulação de temperatura corporal, em particular se o habitat tem um coberto vegetal abundante e humidade adequada, porém recentemente descobriu-se a sua interferência como sendo prejudicial na comunicação visual (Graipel et al., 2019). Muitos dos felinos, atrás das suas orelhas e na ponta da sua cauda têm marcas brancas e, estas marcas servem como fonte de transmissão de sinais a outros animais. Contudo estas marcas não existem em felinos afetados por melanismo (Graipel et al., 2019).

Um trabalho recente, recorrendo a georeferenciação, mostrou que a dispersão dos jaguares melanísticos (representado na figura 5) está condicionada a certos biomas e ecoregiões, não sendo, portanto, aleatória. Aparentemente, a temperatura e a humidade são importantes moduladores desta distribuição (L. Silva, 2017). Uma vez que não existe uma restrição genética pronunciada no jaguar, associada a barreiras intransponíveis ao contacto entre exemplares de populações distintas (criando afunilamento genético pronunciado na espécie), foi sugerido que o melanismo no jaguar está associado, pelo menos em parte, à seleção natural determinada por fatores ambientais que são distintos em diferentes áreas geoclimáticas (L. Silva, 2017).

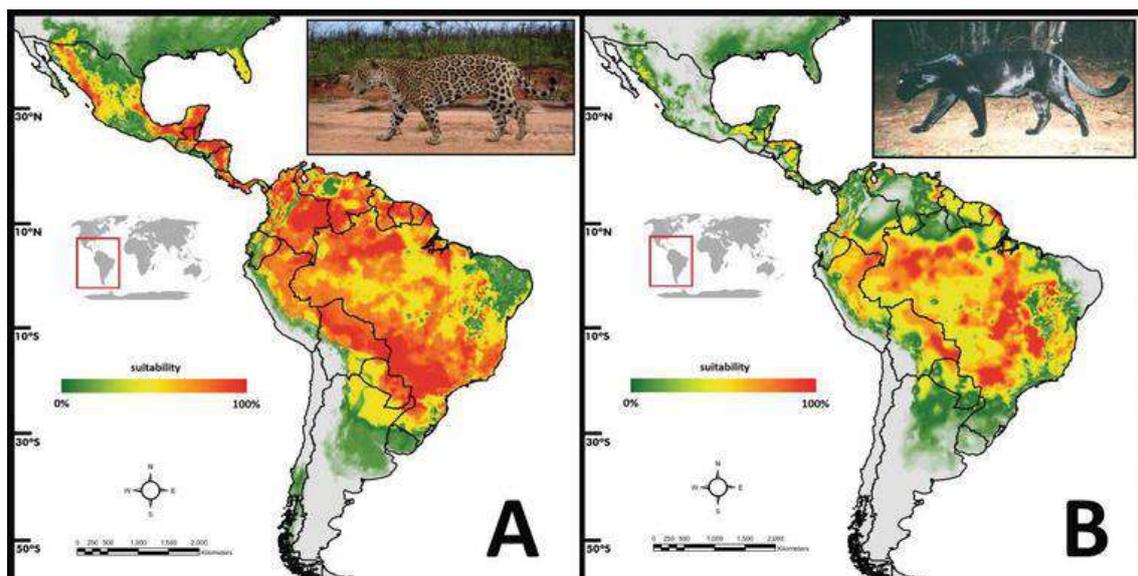


Figura 5: Dispersão dos jaguares melanísticos; Fonte: "Silva, L. (2017).

Em cativeiro, jaguares e leopardos foram por várias vezes cruzados com sucesso graças à sua proximidade filogenética. As suas crias são chamadas “leguars “, quando a progenitora pertence à espécie *Panthera onca* e o progenitor é um leopardo, ou “jagupards”, em que ocorre a situação inversa (Seymour, 1989). Se o cruzamento for bem-sucedido, a fêmea tende a ser fértil; os machos híbridos são conhecidos como sendo mais saudáveis e mais fortes que os a espécie *Panthera onca* no entanto, a sua fertilidade não se encontra registada. Também já foram relatados cruzamentos com leões (Mccarthy, 2010).

### 3.5 Anatomofisiologia da espécie

A chave para a sobrevivência das espécies é a Reprodução e, uma vez que este mecanismo é baseado na regulação hormonal, o conhecimento da sua endocrinologia reprodutiva básica é vital para o sucesso das Técnicas de Reprodução Assistidas (ART's) implementadas nos Programas de Conservação (Brown, 2011; Brown & Comizzoli, 2018; Dehnhard et al., 2012). Contudo, um dos maiores desafios encontrados no Maneio Reprodutivo de Felinos Selvagens em cativeiro é o limitado conhecimento da sua fisiologia e do seu comportamento (Barnes, Andrew Teare, Staaden, Metrione, & Penfold, 2016; Brown & Comizzoli, 2018; P. N. Jorge-Neto, Luczinski, et al., 2020; P. Jorge-Neto et al., 2018).

De modo a combater esta falta de conhecimento e a garantir a sobrevivência de felinos em perigo de extinção, tem-se tentado transpor o conhecimento adquirido no Gato Doméstico (*Felis catus*) para os Felinos Selvagens, verificando-se se o que ocorre na primeira espécie se verifica nas restantes (Brown & Comizzoli, 2018).

O potencial reprodutivo destes animais pode ser monitorizado com base na medição das hormonas circulantes no sangue. A realização de uma colheita de sangue em animais selvagens não é de todo um procedimento aconselhado ou de fácil realização (Umapathy, Kumar, Wasimuddin, Kabra, & Shivaji, 2013), o que levou ao desenvolvimento de técnicas não invasivas como seja a medição de metabolitos das hormonas sexuais através da urina ou fezes (Brown, 2011; Umapathy et al., 2013).

A anatomia do trato reprodutivo do jaguar é semelhante ao do gato doméstico. No caso da fêmea, possui um útero bipartido (é parcialmente dividido por um septo), encontrando-se suspenso dorsalmente pelo mesométrio (Andrews, Thomas, Yapura, & Potter, 2019; Brown, 2011; Platz, Chakraborty, & Seager, 1979).

A cérvix é curta, abrindo-se em ângulo no fundo do saco vaginal. Estas características aproximam-se mais do que se observa no útero da cadela do que em gatas. Os ovários encontram-se localizados caudalmente aos rins e, regra geral cobertos por uma fímbria infundibular translúcida ligada lateralmente ao ligamento suspensor dorsal (Brown, 2011; P. Jorge-Neto et al., 2018)

As informações reprodutivas registadas em jaguares em ambiente selvagem são bastante semelhantes às registradas nos animais em ambiente de jardim zoológico (S. Johnson et al., 2016).

A maturidade sexual da fêmea pode ser atingida entre os 12 aos 48 meses de idade (Pessoa, 2019). O macho jaguar atinge a maturidade sexual entre os 24 aos 36 meses de idade (S. Johnson et al., 2016).

A ovulação na *Panthera onca* foi descrita anteriormente como induzida exclusivamente por cópula (P. N. Jorge-Neto, Luczinski, et al., 2020; Pessoa, 2019), à semelhança do que se observa nos felídeos domésticos. Contudo, estudos recentes realizados com fêmeas em cativeiro apontam para a possibilidade de ovulação espontânea após estimulação sensorial olfativa, visual e auditiva na presença próxima do macho, tal como acontece também esporadicamente nos gatos domésticos (Brown, 2018; P. N. Jorge-Neto, Luczinski, et al., 2020).

Apesar de serem registados nascimentos de jaguares em todos meses do ano ao longo de toda a distribuição geográfica, acredita-se que também o seu ciclo reprodutivo seja influenciado pelo fotoperíodo, tal como se observa nos gatos (Brown, 2011; Harvey & Haar, 2016). Outro aspeto que parece também modular a resposta ao fotoperíodo é a disponibilidade de alimento (Fraser, 2012; S. Johnson et al., 2016; Pessoa, 2019). No Pantanal do Sul verificou-se um aumento no número de nascimentos entre março e junho, época correspondente à estação seca em que há uma maior disponibilidade de alimento. Partindo do princípio de que uma fêmea em lactação tem maiores necessidades energéticas, o facto da mesma acontecer na estação seca contorna a possibilidade de escassez de alimento. Assim, podemos considerar este acontecimento parte estratégia evolutiva (Brown, 2018; Swanson & Brown, 2004).

O sistema reprodutor masculino assemelha-se ao do gato doméstico. Os testículos estão em posição perineal (Klein, 2013); o pénis é do tipo músculo-cavernoso, retrofletido, e apresenta uma anel de espículas eréteis; as glândulas acessórias ao trato reprodutivo estão representadas pela próstata e um par de glândulas bulbouretrais. Na monta natural, a deposição de sémen na fêmea ocorre na vagina (Klein, 2013).

Em estudos realizados sobre fisiologia testicular, os volumes de albugínea e mediastino são descontados da massa testicular para calcular o parênquima testicular, uma vez que não participam diretamente da espermatogénese ou androgénese (Azevedo et al., 2008). Na maioria das espécies domésticas, a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testicular é geralmente em torno de 10% (Azevedo et al., 2008). Assim, para estimar a massa do túbulo seminífero no jaguar 18% do seu peso testicular foi alocado na albugínea e no mediastino (Azevedo et al., 2008).

No jaguar sabe-se que 13% do parênquima testicular é ocupado pelas células de Leydig, 8,3% pelo tecido conjuntivo e 0,3% pelos vasos linfáticos agrupados no espaço intertubular. No citoplasma das células de Leydig foram observadas grandes quantidades de gotículas lipídicas,

que se pensa que sejam uma fonte de precursores para a biossíntese de androgénios (Azevedo et al., 2008). No jaguar, apesar de a densidade volumétrica dos túbulos seminíferos ser inferior 15% à do gato doméstico, a produção espermática por grama de testículo de ambos é semelhante (16.9 ×10<sup>6</sup> gato doméstico vs. 15.8 ×10<sup>6</sup> jaguar) (G. M. J. Costa et al., 2008). Esta situação poderá refletir uma maior eficiência das células de Sertoli entendido como o número de espermatídeos por cada célula de Sertoli (7.9 jaguar vs 5.1 gato doméstico) e ainda pelo número de células de Sertoli que é idêntico em ambas as espécies (≈30×10<sup>6</sup>) (G. M. J. Costa et al., 2008).

### 3.5.1 Ciclo Reprodutivo e Controlo hormonal

No jaguar, a duração do ciclo éstrico é de 22 a 65 dias, sendo a duração do estro de 6 a 17 dias (Pessoa, 2019). Sabe-se que o ciclo éstrico dos felinos domésticos é dividido nas diferentes etapas (Brown & Comizzoli, 2018; England & Heimendahl, 2010; Pessoa, 2019):

- **O Anestro**, o estadio de quiescência reprodutiva caracterizada comportamentalmente pela indiferença ou resistência ativa aos avanços sexuais. No gato doméstico, nesta fase os folículos ovários maduros sofrem atresia e o estradiol-17β periférico encontra-se no seu valor mínimo (Brown & Comizzoli, 2018; England & Heimendahl, 2010).
- **O Pró-estro** que se caracteriza pela presença de folículos ovários, com 1 a 2 mm de diâmetro no gato doméstico, e pela secreção de estradiol-17β que circula em altas concentrações (Brown & Comizzoli, 2018; England & Heimendahl, 2010).
- **O Estro** que para a espécie em estudo (*Panthera onca*) foi caracterizado por sinais comportamentais semelhantes ao do gato doméstico: maior inquietação, exibição de rolamento e vocalização distinta e prolongada, e em como aumento dos comportamentos de marcação de território (Andrews et al., 2019; Platz et al., 1979; Thongphakdee, Sukparangsi, Comizzoli, & Chatdarong, 2020). Este está associado ao aumento dos estrogénios circulantes refletindo o desenvolvimento folicular até estádios mais avançados (Brown & Comizzoli, 2018). Nesta fase a fêmea encontra-se recetiva ao macho, permitindo a monta e a cópula (Barnes et al., 2016; Brown, 2011; Brown & Comizzoli, 2018; England & Heimendahl, 2010; Platz et al., 1979). A fêmea coloca-se em posição de lordose e desvia a sua cauda, o macho por sua vez coloca-se sobre a fêmea agachado e, enquanto lhe morde/lambe o pescoço, exime movimentos pélvicos que permitem a intromissão do pénis (Fraser, 2012; P. Jorge-Neto et al., 2018). No jaguar, são geralmente necessários acasalamentos frequentes para que a estimulação vaginal desencadeie a libertação de GnRH para que ocorra o pico ovulatório de LH ((Andrews et al., 2019; Brown, 2011; England & Heimendahl, 2010; Thongphakdee et al., 2020). A ovulação ocorre geralmente 12 a 48 h após a cópula no jaguar (P. N. Jorge-Neto, Luczinski, et al., 2020).
- **O Diestro**, fase que se caracteriza pela dominância da progesterona associada à formação de corpos lúteos (CL); nos felídeos, sendo a ovulação induzida, apenas se formam CL depois da ovulação folicular, independentemente ter ou não ocorrido da

conceção (Andrews et al., 2019; Brown, 2011). No caso do jaguar os comportamentos mencionados na fase anterior desaparecem e a fêmea permanece indiferente ao macho (P. N. Jorge-Neto, Luczinski, et al., 2020).

À semelhança do que se observa nas fêmeas, os machos jaguares apresentam diferenças significativas nas concentrações fecais de androgênio entre as estações chuvosa e seca. No caso do jaguar, e à semelhança do que acontece na maioria das espécies tropicais, a época de reprodução corresponde à estação chuvosa (Ronaldo Gonçalves Morato et al., 2004).

### **3.5.2 Eficiência espermatogénese e oogénese**

Na *Panthera onca*, cada célula de Sertoli suporta 19,2 células espermatogénicas. Este valor é superior ao descrito para pumas e para o gato doméstico (Azevedo et al., 2008; D. S. Costa et al., 2006). Assim, o número de células de Sertoli por testículo, assim como o tamanho do testículo têm um papel determinação no que toca à da produção espermática (Azevedo et al., 2008). Por outro lado, a densidade volumétrica de células de Leydig nesta espécie, assim como o número de células de Leydig por grama de testículo, foi aproximadamente três vezes maior que nos gatos domésticos e dentro da faixa superior entre as espécies de mamíferos já investigadas (G. M. J. Costa et al., 2008)

Apenas estão descritos que 15 a 50% dos espermatozóides produzidos em todos os mamíferos investigados cheguem à fase de ejaculação (D. S. Costa et al., 2006).

No caso específico do jaguar, ambientes inadequados e deficiências nutricionais constituem também fatores capazes de interferir na eficiência espermática. Fatores ambientais, como tipo de recinto, número de animais por recinto e interações entre animais e tratadores, causas de stress crónico, podem afetar a qualidade dos espermatozóides. Ambientes inadequados e deficiências nutricionais são aspetos que parecem ser determinantes para uma reprodução de bem-sucedida de felinos em cativeiro (R. C. Rodrigues Da Paz et al., 2006; Micheletti, Cubas, Moraes, Oliveira, & Moreira, 2012).

Por norma, alimentação destes animais é feita à base de carne bovina. Contudo, sabe-se que este alimento tem níveis deficientes de vitaminas e minerais, em particular carece de cálcio, fósforo, cobre, manganês, vitaminas A, D e E, tiamina, ácido fólico e biotina. (Da Paz et al., 2006).

A vitamina A tem um efeito pronunciado na espermatogénese em mamíferos. Em ratos, foi descrita uma aspermia completa quando submetido a uma deficiência de vitamina A por um período de 2 meses. Na fêmea, deficiências de vitamina A e taurina foram associadas a perda de gestação e a ninhadas de tamanho reduzida (Da Paz et al., 2006).

A vitamina E apoia a diferenciação completa das células epiteliais epididimárias e ajuda a manter a viabilidade do espermatozóide. Alterações degenerativas nos testículos foram relacionadas com a deficiência de vitamina E. nos casos descritos, a deficiência em questão teve como

consequência danos irreparáveis aos testículos e, mesmo após o restabelecimento do suprimento de vitamina E não houve melhora na morfologia espermática (Da Paz et al., 2006).

O efeito do desequilíbrio cálcio:fósforo na reprodução felina também é desconhecido. Não obstante, sabe-se que o hiperparatiroidismo secundário e a osteomalácia podem produzir defeitos esqueléticos capazes de interferir no melhoramento genético e na reprodução propriamente dita (Da Paz et al., 2006).

O estado nutricional e estabilidade metabólica da fêmea, em semelhança com o que acontece na espermatogénese no macho, são dois fatores essenciais ao processo da oogénese (Rodrigues, Limback, Mcginnis, Plancha, & Albertini, 2008). No caso da espécie jaguar, esta situação pode ser explicada com o maior número de nascimentos existentes na época seca, que corresponde a uma maior disponibilidade de alimento (Braun et al., 2009; Fraser, 2012; Pessoa, 2019).

### **3.5.3 Gestação e parto**

No jaguar, o período de gestação é de cerca de 100 dias (S. Johnson et al., 2016) podendo oscilar entre os 90 e os 111 dias (Pessoa, 2019), sendo bastante mais longa que na gata doméstica. O número de crias por ninhada pode ir até 4 (Fraser, 2012; S. Johnson et al., 2016). O intervalo entre partos no jaguar pode variar entre 22 aos 24 meses (Carrillo, Saenz, & Fuller, 2009).

Uma das ferramentas mais importantes para o sucesso de um Programa de Reprodução em cativeiro, é o diagnóstico rápido e fidedigno de uma gestação uma vez que as fêmeas em cativeiro tendem a abortar, e caso as condições de manejo não sejam as mais apropriadas, podem mesmo matar as crias (Braun et al., 2009; Dehnhard et al., 2012).

De entre os meios de diagnóstico de gestação em felinos domésticos utilizam-se geralmente a:, radiografia e ecografia (England & Heimendahl, 2010; Lamm & Makloski, 2012; Zambelli & Prati, 2006). A ecografia é o meio mais sensível para diagnóstico de gestação sendo a mesma confirmada pela visualização das vesículas embrionárias (England & Heimendahl, 2010; Topie, Bencharif, Briand, & Tainturier, 2015; Zambelli & Prati, 2006). Além do diagnóstico, a ecografia pode ser também um meio auxiliar importante para a monitorização da gestação uma vez que permite a medição dos batimentos cardíacos fetais, da atividade dos mesmos e permite-nos ter uma ideia da sua idade através da medição das suas estruturas (England & Heimendahl, 2010; Zambelli & Prati, 2006). Em animais selvagens o uso deste procedimento requer o uso de anestesia ou de treino comportamental (Hildebrandt, Göritz, Hermes, & Guido, 2002; S. Johnson et al., 2016).

Recentemente descobriu-se a possibilidade de deteção de gestação através de monitorização hormonal (Lamm & Makloski, 2012; Pessoa, 2019). As concentrações de progesterona durante as fases lúteas de uma gestação e de uma não gestação são quantitativamente semelhantes em

felinos não-domésticos e em gatos domésticos (Brown, 2011). A secreção lútea de progesterona é dependente de LH e da Prolactina proveniente da hipófise anterior (Brown, 2011).

Em felinos não domésticos a análise de metabolitos hormonais fecais tornou-se um procedimento quase rotineiro (Braun et al., 2009; Dehnhard et al., 2012; Umapathy et al., 2013). Com isto, é possível a detecção de progesterona e dos seus metabolitos nas fezes, o que facilita o diagnóstico de uma gestação (Braun et al., 2009). Uma vez que o stresse em animais em cativeiro é muitas vezes causa de aborto, é essencial evitar o uso de procedimentos invasivos que o possam desencadear (Dehnhard et al., 2012).

Após o acasalamento bem-sucedido, a concentração de progesterona aumenta na circulação em consequência da atividade dos corpos lúteos, é no final da gestação que os seus valores diminuem até os níveis basais (Braun et al., 2009). A progesterona circulante no sangue é metabolizada no fígado e é excretada por sua vez nas fezes sob a forma de metabolitos ( "5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-ona") (Dehnhard et al., 2012). Assim, através da análise hormonal das fezes e, pela detecção de 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-ona é possível diagnosticar uma gestação.

Além das fezes, também através da urina é possível a monitorização hormonal uma vez que diversas hormonas sexuais (como por exemplo a LH) são excretadas via renal. Estas surgem principalmente conjugadas como sulfatos ou glucuronídeos (Braun et al., 2009).

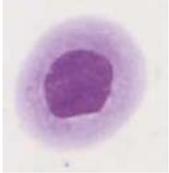
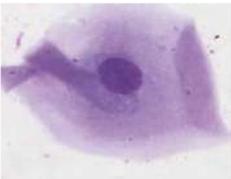
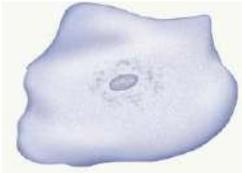
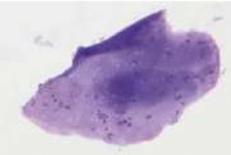
A medição de prolactina e de relaxina podem auxiliar no diagnóstico de uma gestação (Thongphakdee, Tipkantha, Punkong, & Chatdarong, 2018). A prolactina aumenta no caso do gato doméstico no 35<sup>o</sup> dia de gestação e pouco antes do parto (Thongphakdee et al., 2018). A relaxina é uma hormona produzida pela unidade feto-placentária e pelo corpo lúteo, tem como função amolecer o tecido conjuntivo da pélvis de modo a que este não seja um obstáculo ao decorrer do parto (England & Heimendahl, 2010; Lamm & Makloski, 2012). A relaxina aumenta por volta do 20<sup>o</sup> dia de gestação e continua a aumentar ao longo da gestação, no momento do parto esta sofre uma brusca diminuição (Thongphakdee et al., 2018). A relaxina pertence ao grupo de hormonas possíveis de detetar na urina (Braun et al., 2009).

Recentemente foi descrito o uso de citologia vaginal em felinos selvagens (Callealta, Ganswindt, & Lueders, 2020). Esta parece ser uma técnica prática e económica capaz de permitir a monitorização do ciclo reprodutivo, confirmar o estro e diagnosticar uma gestação em combinação com observações comportamentais (Callealta et al., 2020).

As variações na concentração de estrogénios circulantes durante o ciclo éstrico estão associadas a mudanças nas células da membrana mucosa do trato reprodutivo (Callealta et al., 2020).

A descrição das células tem início na camada mais profunda e imatura perto da membrana basal e progredindo superficialmente para a camada mais madura próxima do lúmen vaginal. A tabela 19 é referente à classificação das células:

**Tabela 19:** Classificação das células de citologia vaginal; Adaptada de: Leese 2001.

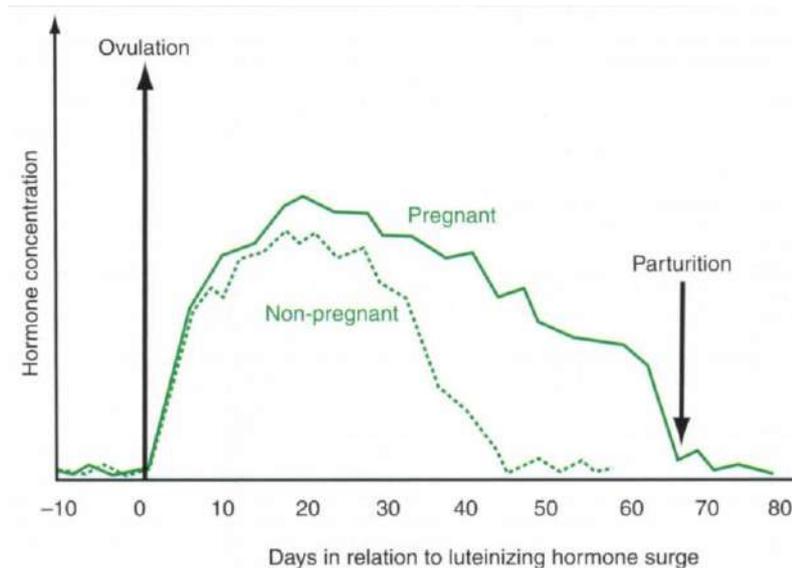
Tipo de célula	Diagrama	Imagem ao microscópio	Características
Células Basais			As células basais dão origem a todos os tipos de células epiteliais observados em um esfregaço vaginal. Raramente são vistas no esfregaço vaginal.
Células Parabasais			Um grande número de células parabasais podem ser encontradas num esfregaço vaginal de um animal pré-púbere
Células intermediárias pequenas			As células intermediárias variam em tamanho, dependendo da quantidade de citoplasma presente. As células intermediárias ainda têm núcleos vesiculados, mas à medida que aumentam de tamanho, seu citoplasma torna-se irregular, dobrado e angular, semelhante ao citoplasma das células superficiais. As células intermediárias grandes são às vezes chamadas de células intermediárias superficiais ou células intermediárias de transição.
Células intermediárias grandes			As células superficiais são as maiores células epiteliais observadas em esfregaços vaginais. Estas são células mortas, cujos núcleos se tornam picnóticos e, em seguida, desbotados, frequentemente progredindo para formas anucleadas.
Células superficiais			

O epitélio vaginal sofre uma resposta hiperplásica ao aumento das concentrações de estrogénio no plasma durante o proestro sendo que, chega a ser constituído por 20 a 30 camadas de células (Leese, 2001). Durante o estro, as mesmas sofrem esfoliação, transformando-se em células superficiais (Leese, 2001).

Conforme já descrito e presumindo-se que no jaguar ocorra algo semelhante, no caso da leoa (*Panthera leo*), o estro foi caracterizado por uma elevada proporção de células epiteliais superficiais, número moderado a elevado de bactérias e quantidade mínima de muco (Callealta et al., 2020). No diestro foram encontradas elevadas proporções de células parabasais e intermediárias, pouca quantidade de bactérias e, uma quantidade moderada de muco; o interestro foi geralmente caracterizado por proporções moderadas e similares de células parabasais, intermediárias e superficiais (Callealta et al., 2020).

No caso da leoa e, como observado na maioria das espécies domésticas, os neutrófilos encontram-se maioritariamente ausentes ao longo de todo o ciclo éstrico; apenas após o período de estro foram encontrados, e ocasionalmente ao longo do diestro (Callealta et al., 2020). Ao que parece, quando há concentrações relativamente reduzidas de estrogénio, os neutrófilos podem entrar no lúmen vaginal através do revestimento da camada epitelial da vagina, o que geralmente ocorre após o estro e, por vezes durante a gestação (Callealta et al., 2020).

O jaguar fêmea é um animal tipicamente corpulento o que dificulta a deteção das alterações físicas sofridas numa gestação. Em termos de comportamento, a ausência de estro pode ser indicativa de que uma gestação está em curso, uma vez que, apenas perto do momento do parto as alterações físicas tomam destaque (S. Johnson et al., 2016). Ainda assim, aquando de uma gestação, a fêmea muda de um comportamento dito “normal”, para um de maior agitação, evitando contacto com os tratadores e podendo até mesmo tornar-se agressiva (S. Johnson et al., 2016). A pseudo-gestação, um fenómeno frequente em felinos, este ocorre devido a uma ovulação à qual não se seguiu uma conceção, como por exemplo uma cópula com um macho estéril ou uma situação em que a ovulação foi induzida artificialmente (Robinson & Noakes, 2019). No jaguar estão descritos tempos de pseudo-gestação de 30 dias quando é devida a uma ovulação espontânea e, 25 dias quando é consequência de ovulação induzida (Barnes et al., 2016). A obtenção de ovulação resulta numa fase de diestro e no predomínio de progesterona (Rijnberk & Kooistra, 2010), o que leva a que ocorra desenvolvimento mamário com produção de leite e, a fêmea comporta-se como se tivesse numa gestação normal (Memon, 2018). O gráfico 4 mostra as diferenças hormonais encontradas entre uma verdadeira gestação e uma pseudo-gestação na gata doméstica.



**Gráfico 4:** Concentrações de progesterona plasmática durante a fase lútea de uma gata doméstica gestante vs. de uma gata doméstica em pseudo-gestação; Fonte: England & Heimendahl, 2010.

O número de crias por ninhada, tal como é referido anteriormente varia entre 1 e 4 (Fraser, 2012; S. Johnson et al., 2016). Ao nascimento a cria mede cerca de 40 centímetros de comprimento e pesa entre 700 e 900 gramas, apesar de estes indicadores poderem variar consoante o estado de saúde da progenitora e o número de crias da ninhada (S. Johnson et al., 2016)

O parto é um processo fisiológico complexo que envolve sinais fetais, placentários e maternos. São vários os sistemas endócrinos que contribuem para a manutenção do útero ao longo de uma gestação e que são responsáveis pelo início do parto (Sunil K. Kota, Kotni Gayatri<sup>1</sup>, Sruti Jammula<sup>2</sup>, Siva K. Kota<sup>3</sup>, S. V. S. Krishna & Modi, 2013).

Deduz -se que o parto nos felinos seja iniciado, tal como em noutros mamíferos, por uma cascata de eventos originados em resposta ao stresse fetal que estimula o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal com consequente libertação da Hormona Adrenocorticotrófica (ACTH) pela hipófise (England & Heimendahl, 2010). O stresse fetal pode ser ocasionado pelo aumento da dimensão fetal, distensão uterina, degenerescência gorda da placenta ou presença de enfartes placentários (Amir Hussein Asgari safdar , Hussein Daghigh Kia, 2013).

A estimulação da ACTH leva ao aumento do cortisol que inibe a produção de progesterona por parte da placenta e aumenta a produção estrogénio, promovendo a secreção de muco e as contrações do miométrio; ocorre ainda libertação da Prostaglandina F<sub>2α</sub>, que é luteolítica pelo que, os níveis de progesterona continuam a descer e as contrações do miométrio intensificam. Esta fase que antecede o parto é designada de Preparatória (England & Heimendahl, 2010).

Na gata doméstica (*Felis catus*) o parto é dividido em 3 fases (England & Heimendahl, 2010; Lamm & Makloski, 2012; Lopate, 2012).

A primeira fase é caracterizada pelo início de contrações coordenadas do miométrio, pelo relaxamento vaginal e dilatação da cérvix (Lopate, 2012). Aqui, os fetos assumem uma posição dorsal (England & Heimendahl, 2010). As contrações uterinas e abdominais não são visíveis contudo, os movimentos fetais podem ser sentidos através da parede abdominal (Lopate, 2012). A fêmea apresenta-se desconfortável, inquieta, muitas vezes vocaliza e lambe constantemente a área genital (England & Heimendahl, 2010). Na gata doméstica, esta fase tem uma duração de 6 a 12 horas (England & Heimendahl, 2010; Lopate, 2012).

A segunda fase começa com o início das contrações abdominais e termina com a expulsão do feto (England & Heimendahl, 2010). As contrações uterinas tornam-se cada vez mais fortes e mais frequentes e, impulsionam o primeiro feto em direção ao colo do útero (Lopate, 2012). Isto desencadeia o Reflexo de Ferguson, um reflexo neuro-hormonal desencadeado pela distensão cervical, que promove a produção de ocitocina, hormona que intensifica as contrações uterinas nesta fase (Robinson & Noakes, 2019), e a contração simultânea da musculatura abdominal. Durante a passagem do feto pelo canal de nascimento a membrana amniótica é roturada e é expelido um líquido alantóico, um líquido translúcido acastanhado antes do início de aparecimento da cria na vulva (Lopate, 2012). Os tempos descritos na gata doméstica variam de 2 a 3 horas (England & Heimendahl, 2010; Lopate, 2012).

A terceira fase é caracterizada pela expulsão da placenta; nos felinos esta ocorre simultaneamente à fase de expulsão do feto ou 15 minutos após a expulsão do último feto (England & Heimendahl, 2010; Lopate, 2012). A placenta sofre vasoconstrição arterial o que provoca o seu sangramento e a sua separação, sendo posteriormente expulsa pelas contrações uterinas, sendo visível uma descarga vermelho-acastanhada. É normal a progenitora ingerir a placenta (England & Heimendahl, 2010; Lopate, 2012). A involução uterina completa pode demorar até 3 semanas na gata doméstica (Lopate, 2012).

### **3.5.4 Lactação**

Antes da lactogénese (produção de leite) propriamente dita, é necessária que ocorra uma diferenciação enzimática e citológica prévia nas células acinares da glândula mamária, de que resulta a síntese mamária de gordura e lactose, respetivamente. Após a exposição às hormonas lactogénicas, ocorre então a diferenciação completa da célula secretora mamária (Bhimte, Thakur, Maurya, & Singh, 2018).

A existência de valores altos de progesterona no final da gestação bloqueia significativamente a lactogénese. Só quando o corpo lúteo regride que a glândula mamária fica capacitada para responder às hormonas do complexo lactogénico (insulina, glucocorticoides e prolactina) (Bhimte et al., 2018).

A prolactina é a principal hormona responsável pelo início da lactação.(Bhimte et al., 2018).

Logo após o parto as glândulas mamárias sofrem um aumento considerável e pode observar-se a saída involuntária de leite. Assim que lactação é iniciada, a última é mantida pela atividade de sucção das crias (England & Heimendahl, 2010).

O estímulo desencadeado pela sucção das crias, promove uma estimulação sensorial que, através de impulsos aferentes no Sistema Nervoso Central (SNC), estimulam a hipófise posterior a libertar ocitocina (Hatton & Wang, 2008). A ocitocina é por sua vez, transportada através da corrente sanguínea para a glândula mamária onde interage com recetores específicos nas células mioepiteliais, estimulando assim a sua contração e a passagem do leite dos alvéolos para os ductos alveolares (Hildebrandt et al., 2002; McManaman, 2017).

Nos primeiros dois dias pós-parto o leite produzido é denominado por colostro (Chastant-Maillard, Aggouni, Albaret, Fournier, & Mila, 2017). O colostro tem um papel crucial na sobrevivência das crias pois além de fornecer nutrientes é fonte de imunoglobulinas. Apesar de a placenta dos felinos ser do tipo endoteliocorial, apenas é permitida a passagem de cerca de 5% de imunoglobulinas, o que representa uma quantidade bastante reduzida (Chastant-Maillard et al., 2017; England & Heimendahl, 2010).

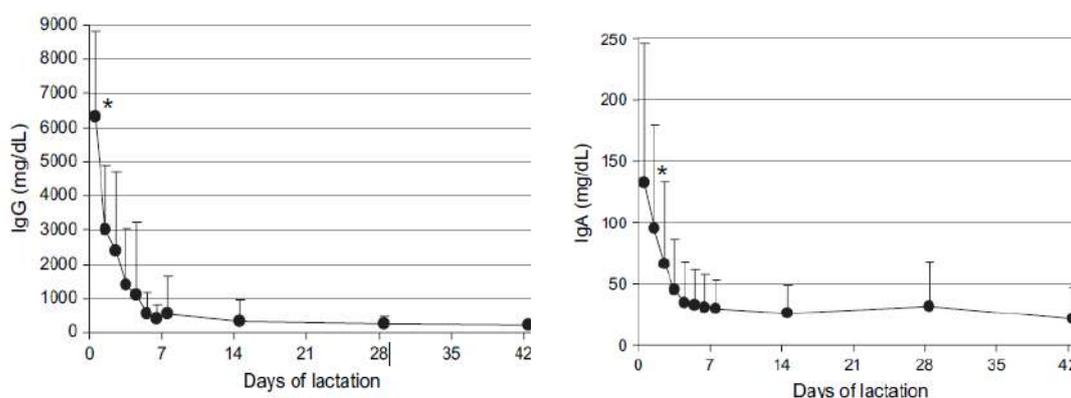
A IgG (Imunoglobulina G) presente no colostro ingerido, é absorvida ao nível do epitélio intestinal, passa aos vasos linfáticos intestinais, e entra na corrente sanguínea. Esta cadeia de acontecimentos pode ocorrer tanto por transferência específica como por transferência inespecífica: a primeira está dependente de recetores específicos, os FcRn (Neonatal Fc Receptors) expressos pelos enterócitos (representa um mecanismo de transporte transcelular mediado por transportadores); na segunda a imunoglobulina tem a capacidade de atravessar livremente o epitélio do intestino entre os enterócitos (um mecanismo de transporte paracelular) (Chastant-Maillard et al., 2017).

A diferenciação da barreira intestinal a partir do nascimento restringe a absorção das imunoglobulinas a um curto espaço de tempo, pois o desenvolvimento das vilosidades intestinais e o estabelecimento de junções de oclusão entre os enterócitos limitam a sua absorção (Chastant-Maillard et al., 2017) . Assim, para a aquisição de uma imunidade sistémica adequada, a ingestão de colostro nas primeiras 24/48h de vida é extremamente importante (Chastant-Maillard et al., 2017; Selvam, Bonal, & Sharma, 2005). Ainda assim, após a impossibilidade de absorção intestinal, as IgG e a IgA conferem ao intestino uma imunidade local (Chastant-Maillard et al., 2017).

Para além das imunoglobulinas, o colostro fornece outros agentes que intervêm na imunidade como sejam a lactoferrina e a lisozimas (Chastant-Maillard et al., 2017). A lactoferrina é uma glicoproteína de ligação a ferro que exibe uma infinidade de atividades antimicrobianas, incluindo atividade antiviral, a lisozima é uma enzima bacteriolítica que exibe essencialmente atividade antimicrobiana atacando a parede celular bacteriana (Hanstock, Edwards, & Walsh, 2019). Estes

dois agentes têm ação sinérgica no que se refere à neutralização de agentes bacterianos patogênicos, e sabe-se ainda que desempenham um papel na modulação da resposta imunitária, exercendo efeitos anti-inflamatórios nas superfícies mucosas (Hanstock et al., 2019).

O colostro e o leite, no caso do gato doméstico, diferenciam-se pela concentração de IgGs e de IgAs (Claus, Levy, MacDonald, Tucker, & Crawford, 2006). Um estudo realizado em 2006, em gatos domésticos demonstrou que as concentrações de Ig, quer no colostro como no leite apresentam um decréscimo pronunciado até ao final da primeira semana após parto, mantendo-se posteriormente em valores relativamente constantes ao longo da lactação (Gráfico 5)(Claus et al., 2006).



**Gráfico 5:** Concentração das imunoglobulinas G e A ao longo de 6 semanas de lactação no gato doméstico (*felis catus*); Fonte: Claus et al 2006

Atualmente não existem dados sobre a composição do leite do jaguar, e apesar de disponível alguma informação sobre a composição do leite para outras espécies de outras espécies felinas(S. Johnson et al., 2016), ainda há muito a fazer neste campo. A tabela 20 apresenta o teor nutritivo do leite conhecido de determinados felinos selvagens em comparação com o gato doméstico (S. Johnson et al., 2016).

**Tabela 20:** Teor nutritivo do leite de certos felinos: Fonte: “Jaguar (*Panthera onca*) Care Manual AZA”

Espécie	Proteína (%)	Gordura (%)	Hidratos de carbono (%)	Matéria Seca (%)
<b>Chita (<i>Acinonyx jubatus</i>)</b>	39.7	40.1	14.8	23.7
<b>Leão (<i>Panthera leo</i>)</b>	30.8	57.9	11.2	30.2
<b>Leopardo (<i>Panthera pardus</i>)</b>	49.1	28.8	18.6	22.6
<b>Puma (<i>Puma concolor</i>)</b>	33.9	52.4	11.0	35.5
<b>Lynx (<i>Lynx lynx</i>)</b>	47.0	28.6	20.7	21.7
<b>Gato doméstico (<i>Felis catus</i>)</b>	42.2	25.0	26.1	18.2

### 3.6 Maneio Peri-parto

O parto é um evento stressante para a fêmea, e deve ocorrer num ambiente tranquilo e suficientemente isolado. À medida que o parto se aproxima é importante providenciar um espaço coberto, com uma iluminação e ventilação adequada à fêmea de modo a que ela se sinta confortável e que as suas crias estejam em segurança (S. Johnson et al., 2016). Dada a possibilidade de ocorrer infanticídio por parte do macho é importante que haja uma separação de ambos os progenitores para evitar esta situação (Tortato et al., 2017). O acesso à área fica restringido e nos zoológicos é estabelecido apenas um tratador para os jaguares, de modo a criar uma rotina, para que a fêmea não se sinta ameaçada (S. Johnson et al., 2016). Na tabela 21 estão sumariadas as recomendações a implementar na data prevista para o parto e no puerpério.

*Tabela 21: Cronograma recomendado para o estabelecimento de protocolos de maneio e veterinários para crias de jaguar; Adaptado “Jaguar (Panthera onca) Care Manual”*

Dias	Recomendações
3	Exame clínico com identificação do sexo das crias e observação da condição corporal. Colocação do microchip para identificação
14	É permitida a normal circulação do pessoal na área.
21	Início da limpeza diária ao local da habitação, sem tornar o ambiente demasiado húmido. Se as condições climatéricas forem favoráveis, permite-se o acesso ao pátio.
28	Colocação de itens/peças de enriquecimento ambiental.
28-42	Primovacinação. Reforços (3 doses) com intervalos de 4 semanas cada.
90	Já é permitido o manuseamento das crias.

### 3.7 Desenvolvimento das crias

Os filhotes recém-nascidos são ainda muito dependentes da progenitora, não tendo ainda desenvolvido por completo o sistema nervoso. No gato doméstico, os olhos e ouvidos abrem entre os 5 a 14 dias de idade (Ley, 2016). Também no caso do jaguar em ambiente selvagem, a abertura dos olhos ocorre entre os 3 a 12 dias de idade (Fraser, 2012), podendo ser mais precoce em crias nascidas em zoológico, ocorrendo em muitos casos, entre o primeiro e terceiro dia (S. Johnson et al., 2016). A partir dessa altura, recebem informação do ambiente e dos outros animais; na segunda semana já mostram alguma orientação para os sons (Ley, 2016).

Começam a caminhar (desajeitadamente) às 3 semanas e aos 2 meses já conseguem acompanhar as suas mães nas caçadas ao ar livre. Ao início apenas observam como a progenitora se comporta nestas ocasiões, de modo a obter a informação essencial para atuar futuramente (Fraser, 2012).

Embora a amamentação prossiga, às 10 semanas começam a incluir carne na sua alimentação reduzindo-se assim a frequência da amamentação, ainda assim pode manter-se até próximo dos 6 meses de idade (Fraser, 2012; S. Johnson et al., 2016).

O crescimento das crias jaguar é rápido, sendo notável a diferença de tamanho entre géneros (Fraser, 2012; S. Johnson et al., 2016). Durante o seu crescimento mantêm-se próximos da progenitora. Ao ano e meio começam a caçar por eles dentro do território maternal. Aos 2 anos tornam-se indivíduos independentes, iniciando-se o processo de dispersão (Fraser, 2012).

Na fase de dispersão, os machos chegam a viajar 30 km, procurando território por períodos que se prolongam às vezes, por vários meses. As fêmeas jovens percorrem distâncias mais curtas e podem até retornar à faixa materna. Esta fase é caracterizada por uma elevada taxa de mortalidade na população de jaguares, uma vez que enfrentam diversos perigos para estabelecer o seu território. A caça é muitas das vezes a causa de morte (Fraser, 2012). A figura 6 é referente à evolução das crias de fevereiro a junho de 2020 no Loro Parque.



**Figura 6:** Evolução das crias de fevereiro a junho de 2020 do Loro Parque; Fonte: Loro Parque 2020

### 3.8 Exame andrológico e exame ginecológico

As avaliações reprodutivas devem ser regidas por um protocolo padrão de modo a permitir a obtenção de termos comparativos entre os diferentes indivíduos (Moreira & Morato, 2007). A sua realização é indispensável antes da implementação de qualquer protocolo de acasalamento ou de implementação de Técnicas de Reprodução Assistidas (ART).

Numa primeira fase procede-se à avaliação das características morfológicas. No macho, procede-se à exposição manual do pênis e à sua inspeção para detetar a presença ou ausência de espículas e a existência de qualquer tipo de anomalias (tais como aderências ou lesões) que possam condicionar o desempenho do macho (Moreira & Morato, 2007).

Procede-se à inspeção do escroto e à palpação para avaliação da consistência testicular. Esta é classificada subjetivamente em flácida (indicativo de início de degeneração testicular), firme (normal) ou dura (sugestiva de atrofia ou fibrose). Estes aspetos que podem justificar a incapacidade do macho em se reproduzir (Moreira & Morato, 2007).

Por último, com auxílio de um paquímetro, procede-se à obtenção das medidas de comprimento e largura do testículo para determinação de volume testicular de modo a obter uma estimativa da reserva espermática. Obtidas as medidas para o comprimento (C) e largura (L), aplica-se a fórmula para estimar o volume (V) gonadal utiliza-se a fórmula :  $V \text{ (cm}^3\text{)} = C(\text{cm}) \times L^2(\text{cm}) \times 0.524$  (Moreira & Morato, 2007).

A reserva espermática testicular estima o número potencial de espermatozóides produzida por grama de testículo em cada ciclo do epitélio seminífero. Esta é uma variável importante nos animais avaliados durante a avaliação clínica da função reprodutiva ou para colheita de sémen para criopreservação (Azevedo et al., 2008). No jaguar volume médio do ejaculado é de  $6,25 \pm 2,7$  mL, podendo o volume variar de 1 mL a 10 mL. A sua coloração é translúcida, ligeiramente turva (Silva et al., 2019).

Dentro dos parâmetros físicos a analisar incluem-se: as características físicas (cor, volume, pH, odor, viscosidade e tempo de liquefação), a concentração espermática, a motilidade e progressão, a viabilidade e morfologia (Azevedo et al., 2008; Sharma, 2007).

A caracterização dos espermatozóides é essencial para o melhoramento das técnicas de reprodução assistida, contribuindo para a criação de bancos de germoplasma que possibilitam a preservação do material genético das espécies (H. V. R. Silva et al., 2019).

Para isso faz-se também a análise morfológica dos espermatozóides, na qual a estrutura fisiológica da célula pode ser determinada bem como a deteção de possíveis anomalias capazes de impedir a fertilização (H. V. R. Silva et al., 2019).

Uma análise mais detalhada é a análise morfométrica. Usa-se esta abordagem essencialmente para determinar defeitos espermáticos que ocorrem na cabeça, como a macro ou microcefalia (H. V. R. Silva et al., 2019). Este método em animais selvagens é importante, pois tem

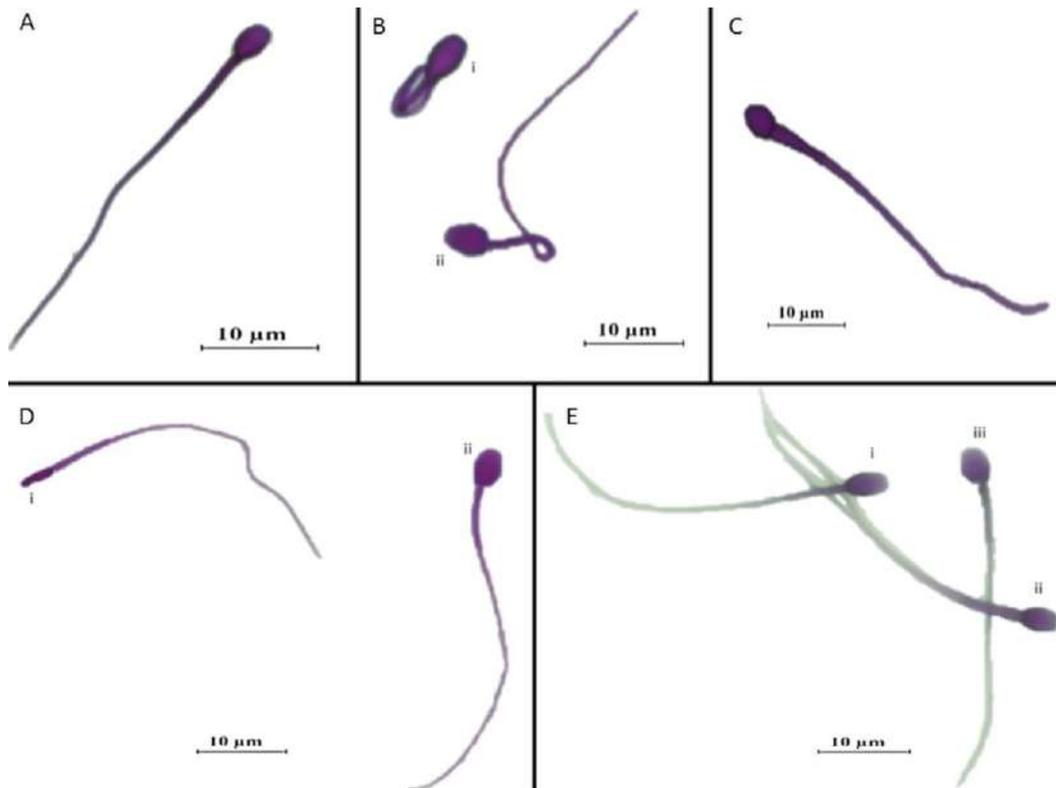
capacidade de fornecer ainda valores de referência para as espécies analisadas. Estes valores, por sua vez podem ser usados na programação do software de análise assistida por computador (CASA) já que a maioria dessas análises não inclui referências para todas as espécies (H. V. R. Silva et al., 2019). A motilidade espermática também pode ser estimada através do índice de motilidade espermática, pela observação do movimento dos espermatozoides num microscópio ótico, numa ampliação de 100 vezes. Para tal é necessário a obtenção da percentagem de espermatozoides móveis e a taxa de motilidade progressiva e aplicar a seguinte fórmula: IME (índice de motilidade espermática) = % móveis + (20 x taxa de motilidade progressiva) / 2. A motilidade progressiva por seu lado, é classificada usando uma escala de 0 a 5 em que, 0 é referente à inexistência de movimento, 1 a um movimento estacionário sem progressão e 5 a uma progressão muito rápida (Moreira & Morato, 2007).

Para completar a avaliação da motilidade espermática pode recorrer-se à análise da função mitocondrial já que a motilidade espermática está dependente da energia fornecida pelas mitocôndrias (H. V. R. Silva et al., 2019). Para esta avaliação utilizam-se sondas fluorescentes e microscópios de fluorescência; no entanto, no caso de animais selvagens em liberdade ou em zoológicos, é necessário um método viável de preparação de amostras no local de colheita para posterior avaliação. A imunocitoquímica recorrendo ao uso inicial de um anticorpo primário contra o espermatozoide que marca a molécula, sendo a reação posteriormente visualizada com recurso a um cromagénio, constitui uma técnica alternativa para avaliar a função mitocondrial (H. V. R. Silva et al., 2019).

O recurso ao microscópio eletrónico de varrimento (SEM), mostrou que o espermatozóide do jaguar possui uma forma ligeiramente oval, tendendo a uma morfologia mais arredondada. O microscópio eletrónico de transmissão (TEM), por seu lado, revelou que o seu núcleo tem um tamanho praticamente uniforme localizando-se desde região mais próxima do colo até a zona mais apical da cabeça do espermatozóide, que o mesmo tem uma extremidade fina próxima do acrossoma, com aumento progressivo ao longo da sua estrutura o que confere uma conformação mais triangular (H. V. R. Silva et al., 2019).

O tamanho do espermatozóide no jaguar é relativamente inferior ao das espécies filogeneticamente mais próximas, embora possua sensivelmente a mesma quantidade de espirais mitocondriais, em número de 54. As características do núcleo e da bainha mitocondrial favorecem um período de motilidade relativamente mais longo nesta espécie. (H. V. R. Silva et al., 2019).

A cabeça do espermatozóide do jaguar tem cerca de  $3,6 \pm 0,03 \mu\text{m}$  de largura e  $4,9 \pm 0,02 \mu\text{m}$  de comprimento. O comprimento da peça intermediária ronda os  $9,7 \pm 0,3 \mu\text{m}$ , e o comprimento total da cauda  $54,5 \pm 0,1 \mu\text{m}$ . Assim, o comprimento célula espermática total de  $59,5 \pm 0,1 \mu\text{m}$  (H. V. R. Silva et al., 2019).



**Figura 7:** Morfologia espermática normal e defeitos espermáticos encontrados no jaguar (*Panthera onca*) – amplificação de 1000x. (A) Esperma normal (B) i - Cauda muito enrolada; ii - Cauda espiralada (C) Peça média espessa (D) i - Micro-cabeça; ii - espermatozóide normal (E) i – espermatozóide normal; ii - duas caudas; iii - peça do meio abaxial; Fonte: Silva et al., 2019.

Com vista a melhorar a função reprodutiva destes animais em cativeiro, Morato et al em 2001 realizaram um estudo comparativo entre o sémen dos jaguares em vida selvagem com o de jaguares em cativeiro, tendo concluído que os machos em cativeiro têm pior qualidade de sémen que os machos em vida selvagem, com pior motilidade e uma maior proporção de espermatozoides anormais, sobretudo anomalias primárias, nomeadamente: a existência de peça cefálica, bicéfala, anormal, sem peça central, biflagelada, formato anormal da cabeça, acrossoma anómalo, microcefálico, cabeça piriforme ou em forma de lança, acrossoma anormal e cauda firmemente enrolada, as quais estão frequentemente associadas a disfunção na espermatogénica (figura 7) (R. G. Morato et al., 2001; H. V. R. Silva et al., 2019).

As populações em cativeiro fornecem-nos um seguro contra a extinção, e por isso é imperativo que estes indivíduos sejam geneticamente capazes de se reproduzir dentro dos Programas de Reprodução existentes, sendo de extrema importância a deteção de causas de características reprodutivas sub-ótimas. De modo geral, a nutrição, o ambiente e a genética (fatores já mencionados no tópico anterior), são os fatores que interferem com a qualidade do sémen nestes animais (R. C. Rodrigues Da Paz et al., 2006; Micheletti et al., 2012).

Relativamente ao exame ginecológico da fêmea a informação existente é escassa. A informação apresentada a seguir constitui uma junção da informação existente para a gata doméstica e para a cadela.

Antes de mais é necessária a realização de um exame físico com particular atenção para a genitália, em que defeitos vestibulo-vaginais (estenoses) são excluídos por palpação digital e/ou vaginoscopia, e para a glândula mamária para despistar presença/ausência de massas e uma alteração da anatomia dos mamilos (Davidson, 2013).

O exame ginecológico deve ainda incluir a realização de uma análise sanguínea, incluindo os níveis tiroideus e urianálise (Barnette, 2020; S. E. Little, 2012). As fêmeas devem, estar livres de problemas de saúde tais como infecção do trato respiratório superior, diarreia, afeções de pele, afeções do trato urinário, o qual se encontra em estreita associação com o trato reprodutivo entre outros (S. E. Little, 2012).

Antes de introduzidas no programa de reprodução, deve-se assegurar também que as fêmeas, estão livres de parasitas internos e externos. A testagem para doenças hereditárias (por exemplo, para rim polisquístico, displasia da anca e cardiomiopatia hipertrófica no caso do gato doméstico) é também um aspeto a ter em consideração antes de se reproduzir determinado animal (S. E. Little, 2012). Poderá também ser realizada um cultura bacteriana uterina com o objetivo de verificar a presença ou não de bactérias (Barnette, 2020).

Para uma melhor caracterização da fase do ciclo éstrico em que a fêmea se encontra, é necessária a realização de citologia vaginal e de análises sanguíneas hormonais (Barnette, 2020).

A ecografia é também um recurso importante, com ela é possível observar a espessura do útero de forma não invasiva, uma vez que a mesma é afetada pelas alterações hormonais, e ainda detetar a presença de folículos ou de corpos lúteos (Barnette, 2020; Cardoso, 2017; Davidson, 2013).

Animais jovens ou inexperientes têm elevada probabilidade de recusa ao acasalamento pelo que, antes de introduzidos em programas de reprodução devem sofrer uma exposição diária e gradual a um animal já sexualmente ativo (S. E. Little, 2012).

### 3.9 Maneio da monta em zoológicos

Os jaguares machos em zoológicos têm a reputação de serem ferozes e de apresentarem comportamentos imprevisíveis. Assim, quando o macho é apresentado à fêmea e para que ambos se aceitem, a abordagem utilizada deve ser cautelosa (S. Johnson et al., 2016).

Antes da apresentação inicial, os machos e as fêmeas ficam alojados lado a lado por alguns dias sem que seja permitido contato visual mas que, permite ouvirem-se e cheirarem-se (S. Johnson et al., 2016). Este método permite que os dois parceiros ganhem consciência da presença um do outro, estabeleçam interação sem risco de agressão e, da marcação de território por parte de cada um deles (S. Johnson et al., 2016).

A introdução não se completa até que a fêmea entre em estro. Nesta fase a fêmea vocaliza mais, esfrega-se nas várias partes da exposição, rola-se no chão e exibe postura de lordose (S. Johnson et al., 2016). É aconselhável, para minimizar o risco de agressões, que a fêmea seja introduzida no local de exibição em primeiro lugar (um espaço neutro alternativo) e, apenas quando se sentir confortável e tranquila, o macho deverá ser apresentado (S. Johnson et al., 2016).

A fêmea pode, ou não, apresentar-se para a cópula, mas, mesmo que não o faça, é usual que se volte para o macho rosnando. Se o par não estiver familiarizado um com o outro, o mais provável é que a fêmea golpeie o macho com as patas dianteiras podendo mesmo feri-lo (S. Johnson et al., 2016). Caso o par esteja já reconhecido como compatível, este comportamento pode ser mais tranquilo e até mesmo partir para a brincadeira. Independentemente disso, a fêmea testa a aptidão do macho nestas ocasiões e, espera que o macho vá tentando a cópula (S. Johnson et al., 2016). Se ele for finalmente aceite, o macho monta a fêmea, agarrando-a firmemente pelo pescoço com as mandíbulas e, o acasalamento é concluído em alguns segundos (S. Johnson et al., 2016). O macho desmonta rapidamente e geralmente é expulso, uma vez mais, pela fêmea (S. Johnson et al., 2016).

Devem ser posicionadas quatro pessoas do lado exterior à área de apresentação. Cada uma delas deve ter um extintor de CO<sub>2</sub> e mangueiras de água no caso de ser necessária a separação dos animais (S. Johnson et al., 2016). Apenas é permitido um contato físico agressivo ou defensivo com duração de até 30 segundos (S. Johnson et al., 2016).

Durante o primeiro dia de apresentação deve haver uma monitorização intensa da situação. Os extintores de incêndio durante a primeira semana, devem ser mantidos em locais facilmente acessíveis (S. Johnson et al., 2016).

### **3.10 Técnicas de Reprodução Assistida (ART)**

A diminuição do intercâmbio genético sofrida por diversas espécies animais incluindo o jaguar, a longo prazo, tem tido efeitos nefastos no potencial reprodutivo e à consequente perda de variabilidade genética (Moreira & Morato, 2007).

Para estas espécies é necessária uma estratégia de conservação integrada, que além da preservação e proteção do seu habitat, inclua ainda a sua translocação, a reprodução em cativeiro e o recurso à tecnologia reprodutiva, enquanto instrumentos essenciais à manutenção da sua diversidade genética *in vivo* (vida livre e cativeiro) e *in vitro* (por meio de criopreservação) (Moreira & Morato, 2007; Thongphakdee et al., 2020).

O movimento de animais entre instituições é por vezes necessário para manter um fluxo genético constante, em que a reprodução assistida se assume como alternativa particularmente valiosa para a disseminação de novo material genético no tempo e no espaço, evitando o stress do transporte de animais vivos (Donoghue, Johnston, Armstrong, Simmons, & Wildt, 1993).

Embora a reprodução natural (em que se junta um macho com uma fêmea) seja a primeira escolha para sustentar as populações selvagens ameaçadas de extinção em cativeiro, esta nem sempre é possível uma vez que existem diversos fatores que interferem com o sucesso do emparelhamento. Agressão excessiva do macho, incompatibilidades a nível comportamental e infertilidade podem ser causas de insucesso em sistemas de reprodução natural (Thongphakdee et al., 2020).

As técnicas de reprodução assistida (ARTs) incluem a inseminação artificial (IA), fecundação *in vitro* (FIV), injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), transferência nuclear de células somáticas (SCNT) e células-tronco pluripotentes (iPSC) (Thongphakdee et al., 2020). Estas técnicas aportam material biológico de criação de bancos de germoplasma no qual incluem gametas e embriões provenientes de animais em cativeiro e em vida livres. Estes, para além de terem um papel importante no fluxo genético, têm também um papel importante na preservação de espécies (Moreira & Morato, 2007).

No caso dos felinos, o seu conhecimento reprodutivo tem sido intensamente estudado desde a biologia básica até o avanço das biotecnologias. Os zoológicos têm um papel importante neste campo (Regina Celia Rodrigues da Paz, Züge, & Barnabe, 2007; Thongphakdee et al., 2020).

#### **Inseminação Artificial**

A inseminação artificial é comumente usada com o intuito de propagar populações de animais domésticos com características altamente produtivas e reprodução de espécies ameaçadas de extinção com uma genética valiosa (Thongphakdee et al., 2020).

A taxa de sucesso da inseminação artificial no caso dos felinos é influenciada pelo local da deposição de sémen, pela resposta ovárica à estimulação, pelo tempo de inseminação e pela

qualidade do sémen (Regina Celia Rodrigues da Paz, 2012; Thongphakdee et al., 2020; Victor, Silva, & Estadual, 2019).

De acordo com o local da inseminação, a IA é dividida em três métodos: intravaginal, intrauterino e transcervical (A. K. Johnson, 2018a; Thongphakdee et al., 2020). Os métodos cirúrgicos para deposição de sémen no útero têm demonstrado melhores resultados que métodos não cirúrgicos em que se procede à deposição de sémen noutros locais do trato reprodutivo feminino (Regina Celia Rodrigues da Paz, 2012; Victor et al., 2019). Além disso, espécies com ovulação espontânea são um desafio para o desenvolvimento de ART's, uma vez que a produção esporádica de CL e progesterona pode comprometer eficácia das gonadotrofinas, alterando o ambiente endócrino e causando falha na fecundação e desenvolvimento do embrião(Thongphakdee et al., 2020).

São conhecidos casos de sucesso de IA no caso do jaguar; recentemente, da parceria da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Mata Ciliar com o Zoológico de Cincinnati/EUA, resultou o nascimento de uma cria saudável através do uso da técnica de inseminação artificial por laparoscopia (Victor et al., 2019).

Demonstrou-se que para IA vaginal o uso de sémen fresco é um requisito importante uma vez que permite ter maiores taxas de sucesso na concepção devido ao facto de possuir maior número de espermatozoides (50% com  $10\text{-}50 \times 10^6$  espermatozoides e 78% com  $80 \times 10^6$  espermatozoides, respetivamente). Por sua vez, na inseminação intra-uterina e intratubárica é necessário uma menor número de espermatozoides células com taxa de concepção aceitável (Thongphakdee et al., 2020). O uso de sémen congelado apenas é recomendado na IA intra-uterina (A. K. Johnson, 2018a; Perrin & Wyss, 2019).

Em felinos selvagens, a teratospermia que ocorre em várias espécies, em particular na população de menor variabilidade genética, é uma importante causa de infertilidade(A. K. Johnson, 2018a; Thongphakdee et al., 2020).

## **Recolha de gametas e criopreservação**

- **Recolha e Crioconservação de sémen**

A recolha de sémen deve fornecer um ejaculado com motilidade e concentrações espermáticas adequadas e causar o menor stress possível ao animal. Em animais de produção e mesmo em carnívoros domésticos, o uso de uma vagina artificial permite recolher um ejaculado de boa qualidade. Porém, quando se trata de animal selvagem, especialmente felinos cujo comportamento predador, a recolha de sémen constitui um risco elevado para a pessoa que vai realizar a colheita (Araujo et al., 2017; Catardo & Más-rosa, 2018). Em felinos selvagens apenas há relatos da utilização desse procedimento em chitas já estavam habituadas ao contacto humano (Catardo & Más-rosa, 2018; A. K. Johnson, 2018b).

Em felinos selvagens o método mais utilizado para colheita de sémen é a eletroejaculação (EE) (sob anestesia). A recolha pode ser também feita por cateterização uretral ou, no caso de um animal que tenha morrido ou seja submetido a castração, por lavagem ou corte seriado do epidídimo (Araujo et al., 2017; Catardo & Más-rosa, 2018; Thongphakdee et al., 2020).

A EE é o método ideal para obtenção de espermatozóides para preservação e Inseminação Artificial. Sendo feita sob anestesia, o animal não requer treino o que constitui vantagem. No entanto, o recurso à anestesia é em si mesmo uma das maiores desvantagens deste procedimento, a somar à necessidade de aquisição de equipamentos e técnicas especializadas por parte do operador e ainda, ao facto de a concentração da amostra ser inferior à obtida por outras técnicas. Além disso, há uma maior tendência para contaminação da amostra por urina e para ejaculação retrógrada (Araujo et al., 2017; Fukui et al., 2013; A. K. Johnson, 2018b). A urina é um produto altamente tóxico para os espermatozóides uma vez que origina diminuição do pH do sémen e compromete a motilidade dos espermatozóides (Fukui et al., 2013). Além disso, a estimulação elétrica inerente à EE excita o animal, exigindo doses mais altas para anestesia adequada, de modo a que o animal não sinta dor aquando do processo e, com isto, garantir a segurança da equipa (Araujo et al., 2017).

Para a EE usa-se uma sonda ( $\cong 1$  a 2,3cm de diâmetro e  $\cong 13$  a 29cm de comprimento, sendo o tamanho dependente da espécie) previamente lubrificada. A sonda é inserida no reto, com os elétrodos alinhados ventralmente, para estimulação do plexo pélvico. Se as fezes no reto impedirem a colocação da sonda deve-se proceder a uma evacuação manual com a ajuda de um lubrificante, mas nem sempre é necessário (Araujo et al., 2017; A. K. Johnson, 2018b).

Antes de iniciar os estímulos elétricos, deve proceder-se à exposição do pénis e alinhá-lo com um recipiente estéril pré-aquecido (a cerca de 37°C). Um electroestimulador com uma variação de voltagem de 2 a 6V, é utilizado para a aplicação de 80 a 90 estímulos (duração de 2 a 3 s) divididos por sua vez, em três fases separadas (A. K. Johnson, 2018b; Moreira & Morato, 2007):

- **Série 1:** 30 estímulos (10 de 2V, 10 de 3V e 10 de 4V)
- **Série 2:** 30 estímulos (10 de 3 V, 10 de 4V e 10 de 5V)
- **Série 3:** 20 a 30 estímulos (10 de 4V, 10 de 5V e, caso necessário, 10 de 6V).

A estimulação sofrida causa contração do músculo liso e, subsequentemente das glândulas acessórias pelo que o estímulo prostático resulta num aumento do volume seminal (Araujo et al., 2017).

A cateterização uretral, também descrita em jaguares, consiste na utilização de um agonista  $\alpha 2$ -adrenérgico (ex. medetomidina), fármaco capaz de estimular a libertação de sémen na uretra, (Araujo et al., 2017; Catardo & Más-rosa, 2018). Crê-se que a libertação de sémen para a uretra se deva à estimulação dos recetores  $\alpha 2$ -adrenérgicos dos ductos deferentes (Araujo et al., 2017).

Em comparação com o método anterior, este não requer equipamento especializado nem qualquer tipo de técnica específica (A. K. Johnson, 2018b).

O procedimento foi descrito em jaguares por Araujo et al (2017); o sêmen foi recolhido 20 a 40 minutos após o início da anestesia. Após a higienização da zona púbica, do prepúcio e pênis com uma solução salina estéril. Para as diferentes recolhas os autores usaram um cateter uretral estéril de gato, semi-flexível (1 mm de diâmetro x 130 mm de comprimento), de abertura frontal, que foi cuidadosamente introduzido na uretra. Um segundo operador confirmava a passagem do cateter na flexão pélvica recorrendo a toque retal. Foi conectada uma seringa de 1 mL ao cateter através da qual se aplicou uma pressão negativa com o objetivo de aumentar o efeito de sucção (Araujo et al., 2017).

Após a colheita de sêmen e, antes de este ser trabalhado para a criopreservação, é importante que seja realizada uma avaliação criteriosa sobre qualidade da mesma. Também é importante que a amostra antes da criopreservação propriamente dita, seja submetida a uma preparação inicial ou seja, há uma necessidade de uso de diluidores capazes de suprir as necessidades do espermatozóide da refrigeração até a criopreservação. Os diluidores evitam também que as células sofram alterações nocivas ao longo de todo o procedimento (Victor et al., 2019).

Da vasta gama de diluidores já testados, os que possuem TRIS (Tris-hidroximetilaminometano) na sua composição foram os que obtiveram melhor taxa de sucesso em carnívoros, inclusive o jaguar. Como diluidores alternativos tem sido mencionado o derivado de água de coco (ACP-117c), que já apresentou resultados semelhantes ao TRIS em jaguares (Victor et al., 2019).

O diluidor pode ser complementado pela adição de gema de ovo, numa proporção até 20%. (Victor et al., 2019). Os espermatozoides dos mamíferos sofrem choques térmicos desde a refrigeração inicial, à temperatura de congelação e, durante a ultracongelação (Anzar, Rajapaksha, & Boswall, 2019). A gema de ovo tem sido amplamente utilizada na criopreservação de sêmen de mamíferos para proteger os espermatozoides contra o choque térmico inicial (Anzar et al., 2019). O mecanismo exato de proteção do esperma pela gema do ovo durante a fase inicial de resfriamento não está totalmente esclarecido (Anzar et al., 2019). No entanto, sabe-se que, após a ejaculação, o aglutinante das proteínas do sêmen (BSPs) proveniente do plasma seminal, causa efluxo de fosfolipídios e colesterol da membrana plasmática. As lipoproteínas de baixa densidade (LDLs) presentes na gema do ovo protegem os espermatozoides ao sequestrar estas moléculas (Anzar et al., 2019).

O recurso a um crioprotetor é determinante quando se recorre à congelação de sêmen. Tem como função evitar a formação dos cristais de gelo. Normalmente para esse fim, usa-se o glicerol em concentrações variáveis de 2 a 10% (Regina Celia Rodrigues da Paz & Avila, 2015; Victor et al., 2019).

Os diluidores e os crioprotetores fazem-se após o sêmen ter sido submetido a uma rigorosa avaliação e a uma posterior centrifugação (200 a 300g/10min). A centrifugação tem como objetivo a remoção do fluido seminal e do meio de cultura (Moreira & Morato, 2007).

Após a diluição, o sémen é processado em etapas que permitem reduzir a temperatura, inicialmente através da refrigeração, até se obter a congelação em azoto líquido, podendo ser armazenadas em tanques de azoto líquido por tempo indeterminado. Esta tecnologia está otimizada para poucas espécies, sendo o jaguar uma dessas espécies (Regina Celia Rodrigues da Paz et al., 2007; Victor et al., 2019).

Para o congelamento de sémen existem 4 métodos: sob a forma de *pellets* colocadas em gelo seco de forma alternada, por congelamento sob a influência de vapor de nitrogénio líquido em que as amostras são se encontram em palhetas, uso de uma máquina própria para congelamento (Figura 8,1) e também diretamente no *dry shipper* (Figura 8,2) (Moreira & Morato, 2007). Relativamente aos dois primeiros métodos, tanto os *pellets* como as palhetas devem ter um acondicionamento adequado, ser devidamente identificados e posteriormente, armazenados em contentores de azoto líquido (Moreira & Morato, 2007).



**Figura 8:** (1) Máquina para congelamento de sémen. (2) Congelamento de sémen usando o “dry shipper”; Fonte: Moreira & Morato, 2007

O método ideal de armazenamento de sémen de mamíferos é em azoto líquido uma vez que, assegura a qualidade e estabilidade espermática por longos períodos de tempo. Dada a necessidade constante de reposição de nitrogénio, este método torna-se bastante dispendioso (Magalhaes & Paschoal, 2012).

De modo a combater este obstáculo, desenvolveu-se a técnica de congelamento por *dry shipper*. Esta técnica visa preservar as células por meio do congelamento seguida da redução de um dos solventes, geralmente a água, por sublimação e dessorção, de modo a evitar que ocorra qualquer tipo de reação química ou biológica (Magalhaes & Paschoal, 2012). Esta técnica tem a grande vantagem de os espermatozóides poderem ser armazenados em temperatura ambiente por longos períodos e, serem posteriormente serem recuperados com cabeças morfológicamente intactas, contendo DNA normal, e caudas intactas (Magalhaes & Paschoal, 2012). Contudo, após o processo, a conexão entre a cabeça e a cauda dos espermatozóides torna-se frágil e uma

simples pipetagem pode facilmente desconectar a cabeça e a cauda; além de, muitas das vezes, o espermatozóide tem o seu acromosoma destacado após reidratação (Magalhaes & Paschoal, 2012). Estes aspetos inviabilizam a motilidade do espermatozóide, reduzindo a sua capacidade para fertilizar o ócito (Magalhaes & Paschoal, 2012).

No caso específico dos felinos, ainda não foi encontrado o método ideal para crioconservação de sémen (Moreira & Morato, 2007).

- **Recolha de oócitos/embriões após superovulação**

As hormonas exógenas utilizadas para estimulação de desenvolvimento folicular e indução de ovulação, são também efetivas em espécies selvagens. Dentro das diferentes hormonas utilizadas temos: Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG), Gonadotrofina Coriónica Humana (hCG), Hormona Foliculo-estimulante (FSH), Hormona Libertadora de Gonadotrofinas (GnRH), análogos de GnRH e antagonistas opióides. Os seus resultados são variáveis (Barnes et al., 2016; Jorge-Neto, 2019; Moreira & Morato, 2007; Thongphakdee et al., 2020, 2018; Victor et al., 2019).

A FSH suína (pFSH) é muitas vezes escolhida devida à sua homologia de aminoácidos com a molécula do tigre. No entanto, sabe-se que a FSH tem meia-vida curta portanto, para estimular a foliculogénese, a mesma precisa de injeções duas vezes ao dia por 3-6 dias, o que pode ser stressante para o animal (R. C. Rodrigues Da Paz et al., 2006; Thongphakdee et al., 2020, 2018; Victor et al., 2019).

Atualmente, o eCG é a hormona de escolha em muitas espécies de felinos já que induz o estro com apenas uma única injeção, têm um tempo de meia-vida em circulação longo, de 24 a 48h (Thongphakdee et al., 2020; Victor et al., 2019). Contudo, uma grande desvantagem no uso desta hormona, é a produção de anticorpos anti-gonadotrofina, ou seja, se a hormona for administrada repetidamente num longo período de tempo, vai haver uma diminuição da resposta ovárica à administração desta hormona (Thongphakdee et al., 2020).

No caso dos felinos a procura de uma hormona exógena adequada para as ARTs com menos efeitos adversos continuam (Thongphakdee et al., 2020).

Em jaguares, protocolo descrito como sendo o de maior sucesso, associa a administração de uso de FSH e LH. A FSH é administrada durante três dias em doses decrescentes sendo a primeira dose (0 h) de 20 UI, a segunda dose (às 14 h) de 15 UI, a terceira dose (às 36 h) de 10 UI e, a quarta e última dose (56 h) de 5 UI: Vinte e quatro horas após a última dose de FSH, a ovulação é induzida por uma administração única de LH (Morato; et al., 2002). Outro protocolo recomendado recorre à eCG em dose única e à administração de hCG passado 85h (Barnes et al., 2016; Jorge-Neto, 2019). Estes protocolos encontram-se sumarizados na tabela 22.

- **Colheita e criopreservação de oócitos**

Os complexos *cumulus*-oócito (COCs) são recolhidos dos ovários. Depois de recolhidos são colocados em cultura (Thongphakdee et al., 2020).

Os oócitos dos carnívoros têm uma coloração escura que lhes é atribuída por serem muito ricos em gotículas lipídicas. Ao longo do seu desenvolvimento, os oócitos são classificados, de acordo com a sua morfologia, em I, II e III. Os oócitos de tipo I são de excelente qualidade enquanto que os de tipo III são os de má qualidade. Numa fase inicial do desenvolvimento, o oócito encontra-se ainda num estadio imaturo caracterizado pela presença várias camadas de células do *cumulus* não expandidas. Numa fase já mais avançada, o oócito encontra-se rodeado por numerosas camadas de células do *cumulus* expandidas (Regina Celia Rodrigues da Paz, 2012; M. do C. M. S. Silva, 2015). As células do *cumulus* desempenham um papel de extrema importância na maturação do oócito uma vez que facilitam a passagem de nutrientes, substâncias reguladoras e pequenas moléculas, componentes estes essenciais para o seu crescimento e para o sucesso de uma futura fertilização (M. do C. M. S. Silva, 2015).

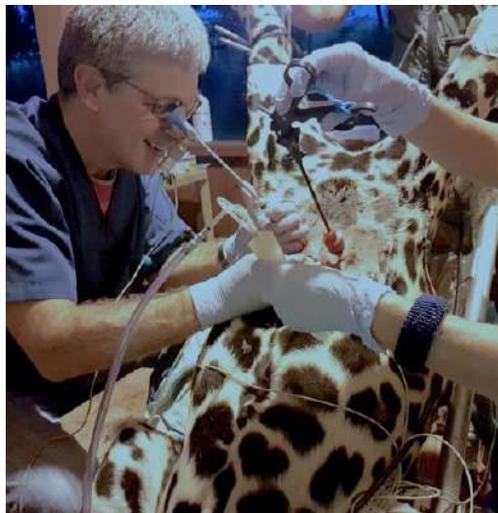
O desenvolvimento de métodos eficientes de maturação *in vitro* (MIV) ou fecundação (FIV) de oócitos colhidos *post mortem* ou por ovariectomia constituem importantes ferramentas para assegurar a sobrevivência de espécies em vias de extinção (Cocchia et al., 2015). A aplicação de criopreservação de oócitos e tecidos ováricos auxiliam também na conservação destas espécies (Cocchia et al., 2015).

Em caprinos e ovinos, a ecografia é uma importante ferramenta para monitorizar o desenvolvimento folicular em protocolos de recolha de oócitos por punção ecoguiada dos folículos com uma agulha fina conectada a um tubo coletor (Cocchia et al., 2015). Em carnívoros, a eficácia deste método não foi ainda estabelecida. É possível que esta técnica seja difícil de implementar em carnívoros, devido à dificuldade na visualização ovário, que se encontra rodeado de uma extensa camada de tecido conjuntivo; por outro lado, ainda não se desenvolveram sondas intravaginais para canídeos ou felídeos. A presença de folículos ováricos antrais pode ser detetada ecograficamente pela acumulação de líquido na cavidade folicular (Cocchia et al., 2015). Apesar das dificuldades encontradas, está descrita a observação de folículos antrais e de corpos lúteos em mabecos fêmea (*Lycaon pictus*) recorrendo à ecografia transrectal. De acordo com os autores esta possibilidade abre novas expectativas ao desenvolvimento de técnica de punção de oócitos em carnívoros (Cocchia et al., 2015).

A Aspiração Folicular por Laparoscopia (LOPU) é a uma técnica minimamente invasiva que permite a recolha eficiente e confiável de oócitos de alta qualidade. Nesta técnica há uma observação perfeita dos ovários através do laparoscópio o que permite uma correta punção dos folículos. Antes da realização deste procedimento é importante sincronizar o estro e estimular o crescimento folicular de modo a maximizar o número e qualidade dos oócitos da fêmea doadora (Jorge-Neto, 2019). A LOPU por ser uma técnica minimamente invasiva permite a rápida

recuperação da fêmea após o procedimento, e a probabilidade de ocorrerem complicações pós-cirúrgicas é muito reduzida (Jorge-Neto, 2019).

Esta técnica está descrita como um caso sucesso no jaguar (*Panthera onca*) por Jorge-Neto (2019) (figura 10).



**Figura 10:** Utilização da técnica LOPU num jaguar (*Panthera onca*); Fonte: Jorge-Neto, 2020.

Esta técnica foi descrita inicialmente em 1994 por Baldassarre et al. Antes da realização do procedimento os animais devem ser submetidos a um jejum de 12 h de água e 24 h de alimento. O protocolo anestésico para jaguares, descrito por Jorge-Neto (2019), consiste na utilização de Ketamina (5mg/kg) em associação com Medetomidina (0.1 mg/kg). O animal é posteriormente posicionado numa mesa basculante utilizada para inseminação laparoscópica e colocado com anestesia volátil (isoflurano). É importante que seja feita uma tricotomia na região abdominal e a posterior desinfeção da área. Quando estabilizado, o animal é colocado na posição de Trendelenburg, uma variante da posição de decúbito dorsal em que há elevação dos membros posteriores, permitindo manter a cavidade abdominal inclinada a 45°. Para a entrada dos trocarteres é necessária a realização de três incisões com o auxílio de um bisturi. O primeiro trocarter que possui na sua constituição a válvula de insuflação, é responsável pela distensão abdominal e pela separação dos órgãos de modo a facilitar a observação dos mesmos. Posteriormente são colocados os dois restantes trocarteres sob visualização direta pelo laparoscópio. Em seguida, procede-se à exposição do ovário de dentro da bolsa ovárica, movendo a fímbria em diferentes direções com a ajuda de uma pinça endoscópica. A agulha por sua vez é inserida lateralmente à linha branca de modo a evitar áreas altamente vascularizadas. Após a aspiração folicular avança-se com a lavagem de ambos os ovários de modo a evitar a formação de coágulos com cloreto de sódio a 0.9%. Por fim, os trocarteres são removidos e as incisões suturadas e, o tubo de colheita é transferido para laboratório para que os oócitos obtenham a sua respetiva classificação (Jorge-Neto, 2019). A figura 21 é referente à técnica utilizada por Jorge-Neto (2019).

A criopreservação dos oócitos pode ser realizada por dois métodos distintos: por a congelamento lento e por vitrificação, sendo esta última o método de eleição. Atualmente sabe-se que a congelamento lento é extremamente prejudicial para os oócitos (Gonzalez & Jewgenow, 2017).

Esta técnica é uma forma de arrefecimento ultra-rápida na qual são utilizados crioprotetores, em concentrações elevadas, deste modo evita-se a formação de cristais de gelo e o dano no COC (Gonzalez & Jewgenow, 2017).

O que parece também ser uma alternativa é o transplante de tecido ovário (Cocchia et al., 2015; Jewgenow & Zahmel, 2020). Em 2019 relatou-se pela primeira vez o xenotransplante de tecido ovário fresco de gatos domésticos para camundongos, no qual foi documentada a sobrevivência do transplante, bem como o desenvolvimento de folículos antrais, até nove meses após o procedimento (Jewgenow & Zahmel, 2020). Apesar desta técnica ser ainda pouco desenvolvida e precisar de mais estudos para ser aperfeiçoada, esta pode vir a ser importante ferramenta para a formação de bancos de tecidos ovário com vista a conservar material genético precioso de espécies ameaçadas (Cocchia et al., 2015; Jewgenow & Zahmel, 2020).

- **Cultura e crioconservação de folículos**

Os oócitos secretam fatores parácrinos e gonadotrofnas que promovem o crescimento e diferenciação folicular; o fator de diferenciação de crescimento 9 (GDF9) e proteína morfogenética óssea 15 (BMP15) são dois exemplos de fatores parácrinos envolvidos no desenvolvimento folicular (Thongphakdee et al., 2020).

Além dos fatores anteriormente mencionados, sabe-se ainda que a FSH desempenha um papel importante no que toca à proliferação e diferenciação das células da granulosa na fase de folículos pré-antrais. Além da FSH, também a LH desempenha um papel importante na regulação da maturação do folículo e do oócito; aumenta a diferenciação das células da granulosa e das enzimas responsáveis pela produção de andrógenos nas células da teca (Thongphakdee et al., 2020).

Existem também vários fatores locais que trabalham sinergicamente de maneira autócrina ou parácrina, como por exemplo o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), com o objetivo de melhorar proliferação de células da granulosa, manutenção da integridade folicular e a sobrevivência de oócitos *in vitro* (Thongphakdee et al., 2020).

A manipulação de oócitos contidos nos folículos ovários pré- antrais (MOIFOPA) é uma técnica com elevada importância no que toca à reprodução, mas que requer uma elevada compreensão dos eventos relacionados com a foliculogénese (Lima & Silva, 2019).

A MOIFOPA compreende três fases: a obtenção de folículos pré-antrais, a conservação dos mesmos (arrefecimento e criopreservação) e a cultura *in vitro* até o estadió de maturação folicular (Lima & Santos, 2010; Moreira & Morato, 2007).

Esta técnica contribui para a elucidação dos mecanismos implicados na foliculogénese na fase pré-antral e a multiplicação de animais de alto valor genético (Lima & Santos, 2010). No caso dos animais em vias de extinção, a sua sobrevivência é assegurada pelo elevado número de oócitos obtidos a partir de um único ovário, que são por sua vez crescidos e maturados *in vitro* e utilizados por fim, nas técnicas de fecundação *in vitro* e clonagem (Lima & Santos, 2010).

### **Fecundação *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI)**

A fertilização *in vitro* (FIV) é uma técnica bastante útil no que toca à preservação de espécies ameaçadas. Com esta técnica é possível a recuperação laparoscópica de oócitos a partir de animais que foram submetidos a um procedimento de ovariectomia, ou então que morreram recentemente, e em que a recuperação de material biológico é ainda viável (Victor et al., 2019).

A taxa de maturação *in vitro* de oócitos no caso do gato doméstico varia entre 40-60% e, depende de diversos fatores tais como: a composição do meio de maturação, a fase do ciclo reprodutivo e a suplementação no meio (Thongphakdee et al., 2020). Foi também observada a existência de duas fases de interrupção do desenvolvimento embrionário em embriões de gato cultivados *in vitro*, na fase correspondente a 5-8 células, a mesma fase corresponde ao período de transição do controlo materno para o controlo embrionário ou seja, passagem de mórula para blastocisto (Thongphakdee et al., 2020).

Em felídeos, a maturação oocitária ocorre entre as 24 a 32 horas no meio de cultivo. No entanto, na maturação oocitária dos que atingem a maturação, apenas 70% têm capacidade para ser fecundados, e apenas 20 a 30% conseguem atingir o desenvolvimento até blastocisto (Regina Celia Rodrigues da Paz, 2012; Trzil, 2020).

O uso de FIV foi descrita com sucesso em 16 espécies de felinos selvagens, dentro destas encontra-se o jaguar (Thongphakdee et al., 2020). Esta técnica tem sido mais utilizada em pequenos felinos selvagens do que grandes uma vez que, no caso dos primeiros, os embriões gerados podem ser transferidos para o gato doméstico e originar descendência viva (Veraguas, Echeverry, Castro, & Rodriguez-Alvarez, 2017). Outro aspeto que parece estar relacionado com a menor taxa de sucesso deste procedimento em grandes felinos, é a alta incidência de pleomorfismo nos espermatozóides de algumas espécies o que reduz a eficiência da fertilização *in vitro* nessas espécies (Veraguas et al., 2017).

A ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozóides) inicialmente desenvolvida para humanos, em situações de fraca qualidade do sémén, pode também ser aplicada com sucesso

em felídeos (Moreira & Morato, 2007). Nos grandes felinos está descrita a obtenção de uma geração de embriões de leão com recurso a ICSI e utilizando sémen obtido por aspiração percutânea de espermatozoides epididimários em dois leões machos vasectomizados (Veraguas et al., 2017). Mais recentemente foi relatado o uso ICSI interespecífico no leopardo (*Panthera pardus*) e na chita (*Acinonyx jubatus*) recorrendo a oócitos de gatos domésticos. Estes embriões interespecíficos foram capazes de se desenvolver *in vitro* até o estágio de blastocisto, sugerindo que a capacidade de desenvolvimento de espermatozoides de grandes felinos pode ser avaliada por ICSI interespecífico (Veraguas et al., 2017)

Apesar de não terem sido publicados muitos estudos relativos à ICSI, tem sido sugerido que essa técnica poderá ser determinante na reprodução de felídeos em vias de extinção (Moreira & Morato, 2007; Veraguas et al., 2017).

As técnicas FIV e ICSI não têm evoluído muito nos últimos anos, o que poderá ser explicado pela limitada disponibilidade de oócitos de doadores felinos selvagens, devido à resposta ovariana imprecisa após estimulação, à existência de pequeno número de recetoras, pelo facto de o procedimento ser complexo e caro (para ICSI) e de ser necessário um técnico experiente para a realização da técnica (para ICSI)(Thongphakdee et al., 2020). Assim, é necessária a realização de mais estudos relacionados com as técnicas para que possa haver uma maior aplicação das tecnologias na conservação de felinos selvagens (Thongphakdee et al., 2020).

### **Transferência de embriões**

As técnicas relacionadas com a transferência de embriões em felinos selvagens têm baixa taxa de sucesso, o que poderá estar relacionado com a baixa percentagem de clivagem embrionária após descongelamento, no caso dos felinos possuem taxas inferiores a 70%. Esta baixa percentagem poderá dever-se a uma baixa resistência dos embriões à criopreservação, ou até mesmo a uma inadequada sincronização da fêmea recetora (Victor et al., 2019).

No entanto, não estão mencionados casos de sucesso no jaguar (Moreira & Morato, 2007).

### **Transferência nuclear de células somáticas**

Durante a transferência nuclear de células somáticas, os fatores citoplasmáticos do oócito têm a capacidade de reprogramar o padrão de expressão de uma célula somática para um estado embrionário pluripotente, revertendo-a ao estadio de desenvolvimento inicial (Veraguas et al., 2017). A complexidade desta técnica devida à necessidade de uma célula diferenciada precisar de ser reprogramada para o seu estado de pluripotência, pode explicar a sua elevada taxa de insucesso (Veraguas et al., 2017). A qualidade do núcleo doador ou oócito recetor e a sincronização entre o núcleo doador e o oócito são os principais fatores que interferem na sua eficiência uma vez que, podem levar a uma reprogramação inadequada do genoma do doador e

à redução do desenvolvimento do embrião (Veraguas et al., 2017). Apesar destes fatores, esta é a única técnica que pode gerar indivíduos geneticamente idênticos, que trazem a possibilidade de resgatar o material genético de espécies em perigo (Veraguas et al., 2017). A produção de embrionária partir de células somáticas cuja colheita poderá ter sido realizada tanto em animais vivos como mortos constitui uma potencial ferramenta para restaurar e conservar espécies em risco (Thongphakdee et al., 2020).

Outro fator que parece interferir com o sucesso da técnica, é a utilização de espécies dadores filogeneticamente distantes do gato doméstico (Veraguas et al., 2017). Este aspeto poderá explicar a reprogramação incompleta do núcleo doado (Veraguas et al., 2017). Em grandes felinos, foi comprovada a capacidade de utilizar oócitos de suíno e coelho para reprogramar células doadoras de grandes felinos, contudo a sua eficácia não se equipara aos oócitos de gato doméstico (Veraguas et al., 2017).

Embora as amostras de gónadas e embriões sejam a primeira escolha para biobancos, o interesse por amostras somáticas, especialmente as derivadas de pele, tem aumentado potencialmente (Praxedes et al., 2019). Estas amostras permitem uma maior recuperação da diversidade genética da população na qual se ocasionou a colheita de tecidos, mesma é realizada independente do sexo e idade do animal (Praxedes et al., 2019).

Os felídeos selvagens são por vezes difíceis de reproduzir pelo que, a formação de bancos somáticos para obtenção de células pluripotentes tem despertado o interesse de pesquisadores em diversas áreas, como medicina regenerativa, tecnologias de reprodução assistida, e desenvolvimento de outras biotecnologias (Praxedes et al., 2019).

Em 2016 foi realizado um estudo que incidiu na criopreservação de pele de jaguar por congelação lento obtida a partir de biópsias realizadas em indivíduos habitando território argentino (Praxedes et al., 2019). A técnica de congelação lenta induz a formação de cristais de gelo intracelulares, que podem provocar danos celulares irreversíveis após o aquecimento (Praxedes et al., 2019).

Mais tarde em 2019 foi realizado um estudo com 80 explantes de pele obtidos a partir de 5 jaguares para observação dos efeitos de técnicas de criopreservação da pele de orelha de jaguar. A vitrificação (processo de congelamento ultrarrápido) demonstrou reduzir a formação de cristais, realizada por diferentes métodos, como a vitrificação direta em criotubos (DVC) e a vitrificação de superfície sólida (SSV)(Praxedes et al., 2019).

Neste estudo, com base nos resultados histológicos e na análise de cultura *in vitro*, concluiu-se que a técnica SSV foi a mais adequada para criopreservação do tecido cutâneo de orelha de jaguar (Praxedes et al., 2019). Esta técnica demonstrou ser vantajosa por ser mais económica, de execução rápida e por pode ser realizada em campo. A SSV em comparação com a DVC, durante o aquecimento, o tecido não é exposto à toxicidade dos crioprotetores intracelulares e dos seus metabolitos à temperatura ambiente (Praxedes et al., 2019).

## **Indução de células pluripotentes**

A indução de células-tronco pluripotentes é consequência da expressão induzida de fatores de transcrição de pluripotência em células que, normalmente não se expressam. Assim, é possível a obtenção de células-tronco de células somáticas (Veraguas et al., 2017).

As células-tronco pluripotentes nos gatos domésticos foram estabelecidas a partir de duas fontes: células-tronco embrionárias (ESCs) derivadas de blastocistos e células-tronco pluripotentes induzidas (IPSCs) geradas a partir da reprogramação celular dos fibroblastos (Dutton, Dudhia, Guest, & Connolly, 2019).

Em felinos selvagens ameaçados também há relatos do uso desta técnica inclusive no jaguar (Veraguas et al., 2017). Nos protocolos para indução de pluripotência em felinos selvagens, conclui-se que *Nanog* é um fator chave na reprogramação (Veraguas et al., 2017; Verma et al., 2013).

O conceito de indução de células pluripotente tem vindo a ter um crescente interesse no banco de recursos do genoma com o intuito de criopreservação sistemática, armazenamento e uso de biomateriais (Selvaraj, Wildt, & Pukazhenthil, 2011). Assim, a utilização de células pluripotentes em felinos selvagens cria uma oportunidade única para a preservação de espécies por produção de gametas, por transferência nuclear, por complementação de embriões e tecnologias futuras (Verma et al., 2013).

### 3.11 Contraceção em felídeos em cativeiro

O principal objetivo dos programas de reprodução para conservação de felinos em zoológicos é a retenção de pelo menos 90% da diversidade genética de uma espécie nos próximos 100 anos (Munson, 2006). Devido ao espaço e recursos limitados, os zoológicos frequentemente enfrentam problemas associados aos animais excedentes. Para ultrapassar este obstáculo, provem a necessidade de recorrer ao uso da contraceção para limitar a reprodução de felinos geneticamente menos valiosos e assim, o número de animais alojados (Jewgenow, Dehnhard, Hildebrandt, & Göritz, 2006; Kirkpatrick & Jr, 2009; Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018).

A ovariectomia e a ovariectomia têm sido o método de eleição para a maioria dos gatos domésticos mas no caso de felinos ameaçados ou em perigo mantidos em zoológico, a opção mais adequada é recorrer a uma contraceção segura e reversível (Munson, 2006).

A contraceção exerce, pois, um papel de extrema importância para o manejo demográfico e genético de populações de animais selvagens em cativeiro (Chuei, Asa, Hall-Woods, Ballou, & Traylor-Holzer, 2007; Kirkpatrick & Jr, 2009; Munson, 2006). Em animais em ambiente selvagem o tamanho da população é tradicionalmente controlado pelo aumento na mortalidade devido a caça furtiva, envenenamento ou doenças (Jewgenow et al., 2006). No entanto, o uso da contraceção em felinos selvagens tem vindo a aumentar sendo mesmo a abordagem preferencial no que toca ao controlo populacional. O mesmo deve-se a questões éticas, questões de bem-estar animal e à sua melhor eficácia em certos sistemas ecológicos (Jewgenow et al., 2006; Munson, 2006).

Os métodos contraceptivos são principalmente utilizados em fêmeas do que em machos (Munson, 2006). Isto deve-se ao facto dos mecanismos da oogénese, ovulação, transporte de gametas e implantação serem mais facilmente interrompidos do que a espermatogénese no macho (Munson, 2006).

Para avaliar os diferentes contraceptivos existentes para a vida selvagem, devemos primordialmente ter em consideração as características do agente ideal (Kirkpatrick & Jr, 2009). Essas características incluem: elevado grau de eficácia; sem efeitos tóxicos e qualquer tipo de efeitos colaterais prejudiciais, principalmente para fêmeas gestantes; reversibilidade e duração flexível de ação, para preservar a integridade reprodutiva e genética dos animais-alvo; baixo custo; impacto mínimo ou inexistente efeito na organização social ou comportamento; de fácil administração (preferencialmente com uma única administração); é dada preferência aos agentes em que a administração é única; que tenha impacto reduzido nas características sexuais secundárias; e impossibilidade do agente ser transmitido do animal para predadores, necrófagos ou humanos através da cadeia alimentar (Kirkpatrick & Jr, 2009; Rosenfield & Pizzutto, 2018). Essas características aplicam-se principalmente para animais vida selvagem em

mente, já que o manejo animais em cativeiro permite uma latitude maior no que toca na seleção do agente ideal (Kirkpatrick & Jr, 2009).

Sem considerar os impactos sociais e comportamentais individuais, nem os riscos potenciais de efeitos adversos, os métodos contraceptivos disponíveis para espécies selvagens podem ser divididos em (Rosenfield & Pizzutto, 2018):

- **Reversíveis**

- **Separação física:** é o método mais antigo, mais fácil, mais seguro e mais barato, se a necessidade de espaço não for preocupante (Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018). Esta opção foi recentemente questionada porque ciclos reprodutivos repetidos não concebidos foram associados a falha reprodutiva e patologia uterina em chitas e canídeos. Apesar de não terem sido realizadas pesquisas comparáveis em jaguares, dada a sua proximidade taxonômica com a chita, pensa-se que os resultados possam vir a ser semelhantes. Dada a falta de boas alternativas para as fêmeas, a separação pode ser uma opção preferível entre as abordagens potencialmente reversíveis (S. Johnson et al., 2016) ;
- **Procedimentos cirúrgicos** como por exemplo a vasectomia em machos, tecnicamente esta técnica é considerada reversível. Contudo, o sucesso da mesma depende de vários fatores, isto é, depende da espécie tratada, da ocorrência de processos inflamatórios intensos, e da formação ou não tecido cicatricial (Rosenfield & Pizzutto, 2018). Devemos ainda considerar o seu risco potencial de não reversibilidade quando usada. A laqueação das trompas, usada em fêmeas constitui outro exemplo desta categoria. Contudo, a realização da mesma em condições de campo é considerada pouco prática e, muitas vezes impossível e perigosa, principalmente se houver necessidade da realização do procedimento em mais que um animal (Rosenfield & Pizzutto, 2018).
- **Contraceção química:** em que se usam contraceptivos à base de hormonas exógenas. A sua administração pode ser feita por via oral, injeção ou implante. Este método pode tanto ser usado para macho como para fêmeas. A ciclicidade reprodutiva e a gametogénese em ambos os sexos podem ser interrompidos pela administração de hormonas exógenas que interferem com o eixo hipotálamo/hipófise/gonadal normal, impedindo a síntese e libertação hormonal ou ainda, interferindo na atividade endócrina no nível tecidular (Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018).
- **Vacinas imunocontracetivas** que à semelhança do método anterior, pode ser realizada em machos e fêmeas (Benka & Levy, 2015; Chuei et al., 2007; Harrenstien, Munson, Chassy, Liu, & Kirkpatrick, 2004; Jewgenow et al., 2006; Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018).

- **Castração química** masculina e feminina. O uso deste método depende de vários fatores, tais como: duração do tratamento, da concentração e do agente utilizado. É considerado um processo reversível na maioria dos casos (Rosenfield & Pizzutto, 2018).
- **Mecânica:** por obstrução, como uso de tampões de poliuretano para obstrução do canal deferente, em machos ou os DIUs e esponjas, alguns em combinação com preparações hormonais no caso das fêmeas (Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018).
- **Não reversíveis:**
  - **Procedimentos cirúrgicos:** orquiectomia (remoção do testículo) para machos e ovariectomia (remoção dos ovários, ovidutos e útero) para fêmeas (Jackson, 1984; Rosenfield & Pizzutto, 2018).

Independentemente da hormona ou fármaco utilizado, as estratégias de controlo da fertilidade podem ser divididas em abordagens pré ou anti ou pós-ovulatória (Jewgenow et al., 2006).

A abordagem pré-ovulatória interfere essencialmente com o desenvolvimento de gametas, espermatozoides ou oócitos. As vacinas e a manipulação química do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal constituem as duas principais técnicas disponíveis para supressão do eixo reprodutivo (Jewgenow et al., 2006).

Para o caso dos felinos, são poucos os contraceptivos comercializados, e nenhum deles foi aprovado pela *Federal Drug Administration* (FDA) (Munson, 2006). Assim, considera-se todo o uso de anticoncepcionais *extra-label* em gatos (para fármacos aprovados pela FDA) ou experimental (para métodos não aprovados) (Munson, 2006). A maioria dos contraceptivos foi desenvolvida para humanos ou outras espécies (geralmente roedores, cães domésticos ou primatas não humanos) (Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018). Como a função reprodutiva na gata, de tipo poliéstrico sazonal e de ovulação induzida, difere consideravelmente daquela das espécies testadas, os efeitos dos anticoncepcionais humanos em felídeos são desconhecidos (Munson, 2006).

Os métodos que se vão seguir, são referentes aos métodos usados em felinos de uma forma geral. No entanto, far-se-á uma maior ênfase aos que obtiveram melhores resultados no caso do jaguar.

## **Descrição dos métodos contraceptivos utilizados**

### **Progestagénios**

Os progestagénios interferem com a função reprodutiva por diferentes formas: (1) feedback negativo sobre o hipotálamo e a glândula pituitária levando à supressão da secreção de GnRH, FSH ou LH e, conseqüente falha na foliculogénese e/ou ovulação; (2) motilidade alterada do trato tubular causando falha no transporte e fertilização do oócito; ou (3) recetividade alterada do endométrio resultando em falha de implantação (Munson, 2006).

Dentro dos progestagénios enquadram-se os implantes de acetato de melengestrol (MGA) anteriormente bastante usados em jaguares e outros felinos. Outros progestagénios sintéticos incluem as injeções de acetato de medroxiprogesterona e os comprimidos de acetato de meggestrol (S. Johnson et al., 2016).

O acetato de meggestrol (MA) tem sido utilizado em muitos zoológicos em felinos com o intuito de suprimir o estro (Munson, 2006). O MA (6-metil-6-desidro-17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona) é um potente progestagénio com uma atividade superior à da progesterona endógena e com afinidade de 75% e 37% para os recetores de androgénio e glucocorticóides, respetivamente (Romagnoli, 2015). Tem uma duração de meia-vida de apenas algumas horas, é por isso o progestagénio de ação mais curta disponível no mercado veterinário (Romagnoli, 2015). O tratamento difere consoante a fase do ciclo éstrico em que é iniciado (Munson, 2006; Stewart et al., 2010). As fêmeas tratadas devem ser separadas dos machos por pelo menos 1 semana para garantir a eficácia. A duração recomendada do tratamento varia de 2 a 18 meses, que deve ser seguido por um período de ciclos estrais normais antes de o tratamento ser repetido (Munson, 2006).

O acetato de medroxiprogesterona (PA) tem sido também usado como contraceptivo em felinos mantidos em zoológicos (Munson, 2006). PA (acetato de 17 $\alpha$ -hidroxi-6 $\alpha$ -metilprogesterona) é um derivado sintético da progesterona (também mais potente do que a progesterona). O MPA também atua como agonista dos recetores andrógenos e glucocorticóides, embora sua afinidade para os mesmos recetores seja inferior à do MA. O seu tempo de meia-vida é de 12–17 h após uma dose oral e 40–50 dias após uma dose intramuscular (IM) (Romagnoli, 2015). Em felinos selvagens, é recomendada uma dose de 5 mg/kg de peso corporal a cada 2 meses (Munson, 2006).

O acetato de melengestrol (MGA) tem sido o contraceptivo mais utilizado em felinos em cativeiro uma vez que demonstrou ser de longo prazo, ser confiável e reversível em todas as espécies felinas testadas (Munson, 2006). Já foi descrito o seu uso no controlo reprodutivo em leões em ambiente selvagem (Munson, 2006). Este agente é administrado sob a forma de implante de colocado SC ou IM, do qual ocorre uma exposição contínua a um potente progestagénio (Munson, 2006).

Um único implante (contendo 3–40 mg MGA kg de peso corporal; dose usual de 20 mg/kg) deste contraceptivo, pode prevenir a ocorrência de uma gestação durante pelo menos 2 anos em felinos selvagens de grande porte. Ao que parece, felinos de menor porte precisam de doses mais altas (Munson, 2006).

Embora os progestagênios tenham sido provados contraceptivos confiáveis e acessíveis para felídeos, foram detetadas várias reações adversas significativas relativas ao seu uso pelo que, esses fatores devem ser cuidadosamente ponderados (Munson, 2006; Romagnoli, 2015). A administração destes agentes demonstrou uma certa tendência desenvolvimento de hiperplasia quística do endométrio e, posterior piómetra (Chuei et al., 2007; Jewgenow et al., 2006; Munson, 2006). Sabe-se ainda que alteram o metabolismo da glucose, suprimem a função cortical adrenal e promovem o crescimento da glândula mamária pelo que, são conhecidos casos de *Diabetes Mellitus*, piómetras e de tumores mamários no jaguar (Jewgenow et al., 2006; Munson, 2006; Romagnoli, 2015).

### **Agonistas GnRH**

Os implantes do agonista da GnRH (proteínas de tamanho reduzido), de que é exemplo a deslorelina induzem a supressão da atividade reprodutiva suprimindo o eixo neuro-gonadal, via inibição da produção de hipofisária de FSH e LH e conseqüentemente das hormonas gonadais, estradiol e progesterona no caso das fêmeas e testosterona no caso dos macho (S. Johnson et al., 2016; Rodríguez-Alba et al., 2019). O efeito da sua administração aproxima-se do obtido por ovariectomia realizada na fêmea e ao da orquiectomia realizada no macho (S. Johnson et al., 2016). Os implantes de deslorelina estão disponíveis em 5 mg (para animais com menos de 30 kg) e 10 mg (para animais com mais de 30 kg) (Munson, 2006). Os implantes de 5 mg foram eficazes por 6-12 meses e os de 10 mg implantes foram eficazes até 2 anos em felinos em zoológico (Munson, 2006). Este análogo, administrado sob a forma de implante subcutâneo de 6 mg, a 10 gatos domésticos suprimiu efetivamente a atividade folicular ovárica por 4–14 meses (Fontaine, 2015).

A eficácia da deslorelina em gatos é documentada através do uso de marcadores indiretos, incluindo concentrações testosterona, progesterona ou estradiol (Fontaine, 2015).

A resposta à deslorelina, conforme observada noutros agonistas de GnRH, é bifásica com um período de estimulação inicial, em que ocorre aumento da progesterona e/ou estradiol, que dura alguns dias/semanas seguidas por um período de supressão de longa duração (Fontaine, 2015).

No que respeita ao jaguar, a deslorelina está descrita como sendo a mais segura, uma vez que ainda não foram encontrados efeitos adversos relativos à utilização da mesma. Apesar de mais segura, devemos ter em consideração o seu tempo imprevisível de reversão quando ponderamos a sua utilização (Munson, 2006).

Os agonistas do GnRH, como a deslorelina, têm sido testados como contraceptivos em gatos domésticos machos e em alguns felinos selvagens (Munson, 2006; Rosenfield & Pizzutto, 2018).

Tanto a espermatogénesse quanto a produção de testosterona dependem diretamente da secreção hipofisária de LH e FSH, cuja qual é suprimida na presença de concentrações continuamente altas de agonista de GnRH (Ay et al., 2018; Dewey; & Costa, 2016; Fontaine, 2015). Sabe-se que a paragem da espermatogénesse foi alcançada no gato doméstico e, estão descritos casos de sucesso relativamente ao uso de implantes de 6-12 mg de deslorelina em chitas e leões após uma atuação de 6 semanas do agente (principalmente por suprimir a espermatogénesse) (Fontaine, 2015; Munson, 2006).

A deslorelina parece ter impacto no comportamento agressivo de determinados machos reduzindo-o, no entanto, comportamento territorial é mantido (base de dados AZACAG). As características sexuais secundárias dependentes de testosterona, como por exemplo o crescimento de juba em leões, parecem também diminuir com o uso deste contraceptivo (Munson, 2006).

### **Imunocontraceção (castração imunológica)**

A imunocontraceção direciona a resposta imune do corpo para proteínas / moléculas funcional e estruturalmente importantes que estão envolvidas ou são produzidas na reprodução de mamíferos. Os seguintes antígenos foram identificados e são usados como alvos para vacinas imunocontracetivas em carnívoros: antígenos de superfície do espermatozóide, antígenos de oócitos - zona pelúcida (ZP); GnRH e gonadotrofinas (LH e FSH) ou seus recetores (Jewgenow et al., 2006).

A maioria dos imunocontracetivos testados em felídeos têm como alvo os antígenos da zona pelúcida (ZP) que medeiam a ligação do espermatozóide ao óvulo (Munson, 2006). O óvulo encontra-se envolvido por uma membrana não celular – a zona pelúcida (ZP) - que consiste no agregado de várias glicoproteínas, que acompanham o oócito em todas as fases da foliculogénesse (Harrenstien et al., 2004; Rosenfield & Pizzutto, 2018). A glicoproteína ZP3 foi identificada como o recetor de ligação ao espermatozóide (Rosenfield & Pizzutto, 2018). Esta proteína permite a fixação de um espermatozóide ao óvulo, a fim de continuar a próxima etapa do processo de fertilização, levando à difusão do espermatozóide no oócito e à consequente formação do zigoto (Rosenfield & Pizzutto, 2018).

Se estiverem presentes anticorpos contra a ZP no fluido folicular antes da ocorrência da ovulação, o complexo anticorpo-antígeno impede a penetração do espermatozóide da matriz ZP principalmente por competição direta com os recetores para o espermatozóide, impedindo a cascata de eventos que levam à fecundação do oócito (Harrenstien et al., 2004).

Foi realizado um estudo relativo ao potencial da imunocontraceção contra o recetor de LH no gato doméstico, utilizando um implante subcutâneo (Munson, 2006). Este estudo demonstrou que o comportamento éstrico foi suprimido e a função do corpo lúteo foi reduzido por 395-516 dias sem que a normal concentrações de estradiol fosse afetada (Munson, 2006). Contudo, para garantir a eficácia, segurança e reversibilidade deste imunocontracetivo é necessário a realização de mais estudos testando-o (Munson, 2006)

A imun contraceção dirigida contra recetores de GnRH foi já descrito no gato doméstico (Benka & Levy, 2015). O peptídeo GnRH sintético (GonaCon®) é acoplado a uma proteína hemocianina, purificada da hemolinfa de lapas, e a um agente patogénico morto, para aumentar a sua antigenicidade (Munson, 2006). Os anticorpos produzidos nesta resposta autoimune marcam os GnRHs nativos (próprios), formando grandes complexos anticorpo-GnRH (Rosenfield & Pizzutto, 2018). O seu mecanismo inibitório não se encontra ainda completamente elucidado, contudo pensa-se nas seguintes suposições: (i) o complexo antigénio-anticorpo de proteínas recém-formado tem dimensões muito grandes para se difundir através da membrana capilar do sistema portal hipofisário, não sendo, portanto, capaz de alcançar os recetores de GnRH para a síntese de LH e FSH na adeno-hipófise; e (ii) o complexo AC-Ag formado impede a ligação aos recetores GnRH correspondentes na hipófise, tendo como consequência a inibição da secreção de gonadotrofinas, evitando, em última instância, a síntese do hormonas sexuais e a gametogénese (Rosenfield & Pizzutto, 2018).

### **Interrupção da gestação**

O trato reprodutivo feminino recupera facilmente de perdas de gestacionais (reabsorção ou aborto) sem quaisquer efeitos colaterais. No entanto, quanto mais cedo a ocorrência da perda da gestação, menos impacto causará sobre a fêmea (Jewgenow et al., 2006).

Os estrogénios e análogos de estrogénios podem ser usados durante os estágios de pré-implantação (Munson, 2006). Estes atuam interferindo com o transporte do embrião, prolonga a retenção embrionária no oviduto e compromete a sobrevivência dos embriões no útero (Gerard McLauchlan & Ramsey, 2008); acredita-se ainda que tenha potencial efeito embriotóxico direto (Goericke-Pesch, Georgiev, & Wehrend, 2010). Devido aos seus efeitos adversos entre eles piómetra e supressão medular, o seu uso na gata doméstica não é recomendado (Goericke-Pesch et al., 2010).

Após a fase de implantação, são necessários outro tipo de agentes, nomeadamente anti-gestagénios (agonistas do recetor de progesterona e, portanto, evitam que ligação da progesterona endógena aos seus recetores), como a Aglepristona ou agentes luteolíticos interferindo com a síntese e suprimento de progesterona comprometem a retenção da gestação (Ay et al., 2018; Jewgenow et al., 2006). Nesta categoria encontram-se agentes como a PGF2 $\alpha$ , os agonistas da dopamina e os bloqueadores do recetor de progesterona (Ay et al., 2018).

Como exemplos de agonistas da dopamina temos a bromocriptina e a cabergolina; é dado uso preferencial à cabergolina por ter menor quantidade de efeitos adversos (Ay et al., 2018).

A prolactina é secretada pela hipófise aumentando a serotonina plasmática enquanto diminui as concentrações dopamina. Portanto, os agonistas da dopamina (ex. bromocriptina e a cabergolina) atuam como inibidores da prolactina reduzindo ou abolindo a sua ação luteotróficas (Ay et al., 2018). Apesar da sua característica abortiva ser conhecida, o seu efeito nos gatos não se encontra tão bem elucidado como nos cães (Ay et al., 2018). No entanto, sabe-se que no caso do gato, há uma expulsão fetal prolongada decorrente de uma insuficiente contratibilidade do

miométrio, o que representa uma desvantagem na sua utilização, além de que, a sua utilização é mais eficaz após 40 dias de gestação (Ay et al., 2018).

A Aglepristona (AGL) está licenciada como agente bloqueador dos recetores de progesterona em gatos (Ay et al., 2018). Depois da ligação ao recetor de progesterona, cessa os efeitos biológicos da progesterona tendo como consequência morte e expulsão fetal (Ay et al., 2018).

### **Contraceptivos químicos que interrompem diretamente a espermatogénese**

Vários produtos químicos, como gossipol, dinitropirros e carbamatos, podem causar infertilidade no macho, mas devido aos efeitos tóxicos que muitos possuem, é inaceitável o seu uso como agentes contraceptivos (Asa & Porton, 2005; Munson, 2006).

Os compostos de bisdiamina, drogas amebicidas que têm como alvo o epitélio germinativo masculino, são consideradas uma exceção e, parecem não ter sido encontrados efeitos sistémicos prejudiciais (Asa & Porton, 2005; Munson, 2006). O seu efeito nos caracteres sexuais masculinos não é conhecido (Munson, 2006). Embora pareçam seguras e eficazes para gatos machos, há a possibilidade de induzirem efeitos teratogénicos graves em fêmeas gestantes (Asa & Porton, 2005; Munson, 2006). Assim, quando administrado deve-se garantir que apenas os machos recebam o medicamento (Munson, 2006). Outra limitação deste método, é o custo deste componente químico é o seu custo elevado o que impede a sua aquisição pela maioria dos médicos veterinários (Munson, 2006).

### **Métodos físicos: Contraceptivos que bloqueiam o fluxo de espermatozóides: “vas plugs”**

Modelos de silicone oclusivos dos canais deferentes foram testados para felinos como uma alternativa reversível à vasectomia (Munson, 2006).

Embora o fluxo de espermatozóides seja bloqueado (alcançando assim o objetivo anticoncepcional), ocorrem reações inflamatórias locais devido ao exsudado do fluido espermático formado no local da colocação do tampão, tornando a reversibilidade improvável. Além disso, a necessidade de microcirurgia especializada torna a aplicação desta técnica impraticável (Munson, 2006).

### **Métodos alternativos**

No caso do gato doméstico, está descrito o uso da melatonina para o controlo reprodutivo (Kutzler, 2015).

A melatonina (5-metoxi-N-acetilriptamina) é uma neuro-hormona derivada do triptofano e produzido pela glândula pineal (Kutzler, 2015). Sabe-se que o gato doméstico é uma espécie sazonal de dias longos, o que indica que existe influência do fotoperíodo na sua atividade reprodutiva (Kutzler, 2015). Nesta espécie, a redução do fotoperíodo para 8 h de luz inibe a foliculogénese (Kutzler, 2015). Assim, conclui-se que a diminuição do fotoperíodo está relacionada a altas concentrações de melatonina endógena, que têm por consequência, a diminuição da atividade sexual (Kutzler, 2015).

Os efeitos supressivos imediatos da melatonina sobre o crescimento folicular são mediados por um recetor citoplasmático, que interfere diretamente na síntese de estrogénio. A melatonina também demonstrou, diminuir a quantidade de LH libertado em resposta ao acasalamento (Kutzler, 2015). Ou seja, a melatonina exógena pode então ser utilizada para simular esta situação e, suprimir a função reprodução em gatos (Kutzler, 2015).

A duração da sua meia-vida biológica curta (15–20 minutos), a sua biodisponibilidade oral e a sua interferência em diversos aspetos com por exemplo no sono, tornam o seu uso terapêutico é limitado (Kutzler, 2015).

Os implantes subcutâneos de libertação prolongada foram testadas em felinos domésticos como uma opção mais prática do que a administração oral (Kutzler, 2015). Apesar do número reduzido de estudos, presume-se que nos felinos, à semelhança do que ocorre em ovinos, que implantes de melatonina mantenham concentrações séricas de melatonina constantes, ao contrário do que acontece na administração oral de melatonina (Kutzler, 2015). Os resultados relativos à sua eficácia não têm sido consistentes entre os estudos realizados, pensa-se que o mesmo se deva à variabilidade no momento da administração do implante, diferindo se o implante é colocado no início do estro ou no início época reprodutiva do ano (Kutzler, 2015).

Um estudo realizado por Kutzler em 2015, conclui que a administração de melatonina em longo prazo é segura, mas que esse tratamento só interfere na supressão do estro em curto prazo em gatos pós-púberes; não foi eficaz em gatos pré-púberes (Kutzler, 2015). Alguns investigadores consideram a supressão do ciclo éstrico curto em gatos induzida pela melatonina como insuficiente pelo que, é necessária a realização de mais estudos relativamente aos efeitos ovários de doses mais altas de melatonina, a uma formulação de libertação prolongada ou administração repetida (Kutzler, 2015).

Não se tem conhecimento do uso de melatonina como meio de controlo reprodutivo em felinos selvagens. No entanto, numa perspetiva futura poderá ser uma possibilidade.

### 3.12 Patologias reprodutivas

Ao investigar as causas potenciais de insucesso num programa de reprodução específico, antes de mais, é necessário obter conhecimento da fisiologia reprodutiva da espécie e as causas relacionadas de infertilidade, bem com a história do animal individual (Miller et al., 2019).

Quando um par de animais selecionados para reprodução não consegue conceber descendentes, uma das questões básicas a identificar é se o problema é do macho, da fêmea, de ambos ou de nenhum (Miller et al., 2019). Se o macho se reproduziu recentemente com uma fêmea diferente, o foco será mais na capacidade reprodutiva da fêmea, compatibilidade entre o par atual e os métodos usados atualmente em comparação com o que funcionou no passado (Miller et al., 2019). Se a fertilidade atual do macho é desconhecida, o mesmo deve também ser submetido a uma investigação de fertilidade, no qual se inclui a história reprodutiva completa, exame físico (com recurso à ecografia) e análise de sémen (Miller et al., 2019).

No caso da fertilidade feminina, é útil categorizar a fase do processo reprodutivo onde o problema provavelmente acontece (Miller et al., 2019). É importante ter conhecimento da sua história reprodutiva e, devem-se ter em conta as seguintes perguntas: a fêmea tem um ciclo reprodutivo normal? A gestação foi diagnosticada atempadamente e ocorreu perda posteriormente? Essa fêmea passou por aborto, distocia, nado-morto, ou perdas neonatais anteriormente? (Miller et al., 2019).

O stress crónico vivenciado pelos animais em cativeiro devido ao espaço limitado, manejo inadequado, condições de recinto (estrutura, higiene e adaptações para a espécie), nutrição e acompanhamento clínico ineficiente constituem uma das principais causas de infertilidade nestes animais (de Barros et al., 2016; Owston, Ramsay, & Rotstein, 2008). No entanto, é de evidenciar que indivíduos em qualquer um dos extremos da condição corporal tendem a apresentar diminuição da fertilidade e, sabe-se que a existência de obesidade em certos animais de zoológico é por vezes, uma realidade (Miller et al., 2019).

Além dos fatores mencionados, devemos considerar ainda fatores congénitos e causas metabólicas (de Barros et al., 2016; Hess, 2008). Anormalidades na anatomia genital, sejam congénitas ou adquirido, pode afetar a capacidade de uma fêmea de acasalar, manter uma gestação ou conceber o parto com sucesso (Miller et al., 2019). Tratos reprodutivos infantis, hipoplasias/aplasia/agenesia do corno uterino, frequentemente denominado útero unicórnio, constituem exemplos de características impactantes neste aspeto (Hess, 2008; S. Little, 2011).

Dentro das anomalias congénitas devemos considerar ainda o criptorquidismo e os distúrbios de diferenciação sexual (S. Little, 2011; Miller et al., 2019).

O criptorquidismo é o defeito congénito mais comum do sistema urogenital felino (S. Little, 2011). Os testículos normalmente descem para o escroto no momento do nascimento (S. Little, 2011). O criptorquidismo ocorre quando existe uma falha na descida de um ou de ambos os testículos para escroto (S. Little, 2011). Na maior parte dos casos, o criptorquidismo é unilateral (78–90%),

com os lados esquerdo e direito igualmente afetados (S. Little, 2011). O testículo que não desce pode ter diversas localizações, sendo na sua maioria inguinais, abdominais em menor percentagem e, com menor frequência, localizados no próprio anel inguinal (S. Little, 2011). Em dezembro de 2020 foi reportado o primeiro caso de criptorquidismo em jaguares no Pantanal (P. N. Jorge-Neto, Silva, et al., 2020). O animal em questão apresentou uma baixa concentração de espermatozoides e um baixo volume de sêmen (P. N. Jorge-Neto, Silva, et al., 2020). Contudo, como o acasalamento com múltiplos machos continua um tema controverso não é possível prever o impacto de um macho criptorquídeo com baixa viabilidade espermática possa causar na população local de jaguares (P. N. Jorge-Neto, Silva, et al., 2020).

Nos mamíferos, o desenvolvimento sexual decorre do estabelecimento de um sexo cromossômico no embrião (XX para fêmeas, XY para machos), que dirige a diferenciação gonadal segundo um padrão masculino ou feminino. A diferenciação da gônada como testículo ou ovário coordena depois a diferenciação do trato reprodutivo tubular, glândulas sexuais acessórias e genitália externa (Miller et al., 2019). Esses processos são complexos e qualquer falha num dos estádios de desenvolvimento, resultarão num indivíduo funcionalmente infértil ou estéril (Miller et al., 2019). Em algumas situações de falha na diferenciação reprodutiva, é impossível definir se o indivíduo é macho ou fêmea (Miller et al., 2019).

Relativamente às patologias metabólicas, sabe-se que o hiperadrenocorticismo, hipotireoidismo, hipertireoidismo e hiperprolactinemia interferem na função ovárica normal em fêmeas (Miller et al., 2019).

No caso das fêmeas, é importante ainda ter em consideração as doenças uterinas são de extrema importância uma vez que as mesmas impedem o desenvolvimento embrionário precoce ou podem interferir na placentação (Miller et al., 2019). Dentro destas patologias podemos encontrar endometrite, piómetra, endometriose, hidrómetra, mucómetra, hiperplasia quística do endométrio ou mesmo neoplasia (Agudelo, 2005; S. Little, 2011; Miller et al., 2019).

O complexo hiperplasia quística do endométrio-piómetra é a afeção uterina mais frequente e de extrema importância no caso da gata doméstica (Pires et al., 2017). As hormonas ováricas são consideradas os principais fatores no desenvolvimento desta afeção sendo que, a progesterona é considerada o principal componente (Agudelo, 2005; Pires et al., 2017). No entanto, os efeitos do estrogénio no útero também foram implicados como causadores de hiperplasia do endométrio e dilatação quística das glândulas endometriais, com conseqüentemente aumento da secreção de fluido que favorece a progressão de CEH para piómetra (Agudelo, 2005; Pires et al., 2017). A piómetra é caracterizada como sendo uma inflamação uterina com infiltração do endométrio e lúmen uterino por neutrófilos e bactéria (Agudelo, 2005; Pires et al., 2017). A piómetra pode causar septicemia (Pires et al., 2017).

Na gata doméstica, a piómetra apenas foi descrita coexistindo com outras condições uterinas, como distúrbio do desenvolvimento sexual, torção uterina, em gatas ovariectomizadas (mas não histerectomizadas em que apenas são retirados os ovários) e no coto uterino de fêmeas

castradas com síndrome do ovário remanescente (patologia caracterizada pela presença de tecido ovárico funcional com demonstração de sinais de estro após o animal ter sido submetido a uma cirurgia de ovariectomia ou ovariectomia (S. Little, 2011; Pires et al., 2017).

No que respeita ao jaguar, estão descritos diversos casos de piómetra associados à utilização de contraceção crónica com progestagénios como método contraceptivo (Rodolfo Reynoso Palomar et al., 2020). À semelhança do que acontece na gata doméstica, a OVH permanece o tratamento de eleição (Rodolfo Reynoso Palomar et al., 2020).

Outro aspeto importante a considerar na fêmea é a existência de folículos anovulatórios com persistência de CL; apesar da sua etiologia amplamente desconhecida, a sua ocorrência em espécies domésticas encontra-se bem documentada (Miller et al., 2019). Normalmente, esses folículos são maiores do que o tamanho normal dos folículos dominantes, mas não ovulam em resposta à estimulação hormonal endógena ou exógena, podendo se tornar quísticos ou eventualmente luteinizar (Miller et al., 2019).

Outra causa que parece interferir com a fertilidade de jaguares em cativeiro, à semelhança com outras espécies, é o facto destes animais estenderem a sua esperança média de vida até 20 aos de idade, chegando por vezes até aos 27 anos de idade enquanto que, em ambiente selvagem vivem até aos 12 a 16 anos. (de Barros et al., 2016; Miller et al., 2019; Owston et al., 2008). No estudo da prevalência da doença (%) por sistema corporal e dentro das classes de idade de jaguares em cativeiro (*Panthera onca*) alojados em instituições credenciadas pela AZA de 1982-2002 realizado por Videan et al. (2007), verificou-se que a prevalência de afeções reprodutivas aumentada com a avançar da idade (Videan, Fritz, & Murphy, 2007).

Como consequência desta senescência e condições de cativeiro, efeitos sobre a espermatogénese e a ovulação podem ocorrer e por conseguinte, promover morbidade perinatal, mortalidade e até mesmo, infertilidade (de Barros et al., 2016).

No caso dos machos com idade avançada, verificou-se que os mesmos têm uma diminuição produção de testosterona pelas células de Leydig e má qualidade de sémen (de Barros et al., 2016).

Em felinos não-domésticos em cativeiro, cuja expectativa de vida é mais longa do que os membros da sua espécie em ambiente selvagem, tal como já foi mencionado anteriormente, a ocorrência de doenças relacionadas com o avançar da idade, como por exemplo neoplasias, são frequentemente detetadas em felinos em cativeiro (Kloft, Ramsay, & Sula, 2019).

Segundo Videan et. (2007), as patologias reprodutivas são significativamente mais prevalentes em fêmeas do que machos, sendo a sua maioria de origem neoplásica, hiperplásica ou quística (Videan et al., 2007).

Um estudo realizado por Kloft et al. em 2019 demonstrou que as taxas de malignidade para neoplasias mamárias em *Panthera* spp. e gatos domésticos são semelhantes, com 85-95% nos

gatos domésticos e 100% em felinos selvagens respetivamente (Kloft et al., 2019; S. Little, 2011). Os fatores de risco para malignidade em gatos domésticos centram-se na idade, raça e influência hormonal, com ênfase particular em idade na ovariectomia (Kloft et al., 2019; S. Little, 2011). Em felinos não domésticos, o uso de hormonas exógenas para controlo reprodutivo e o seu impacto negativo na saúde reprodutiva são bem conhecidos, particularmente no que diz respeito ao MGA. Está comprovado que a utilização deste tipo de agentes aumenta o risco de desenvolvimento de tumores mamários malignos e de outras patologias reprodutivas nestes animais (Kloft et al., 2019; Videan et al., 2007).

Os jaguares parecem ter uma elevada predisposição para neoplasias com origem no trato reprodutivo (Corner, 2018). Foram reportadas, pelo programa de vigilância sanitária de contraceptivos AZA, altas prevalências de neoplasias ováricas, uterinas e mamárias nesta espécie (Corner, 2018).

Um estudo realizado em 2018 por Corner, recorrendo a 56 jaguares de zoológicos americanos reporta que 53% dos animais, apresentavam cistadenoma papilar ovárico (Corner, 2018). Esta neoplasia apenas está reportada nesta espécie e, à semelhança do que acontece com os humanos parece ter uma base genética e parece estar relacionada com o uso de progestagénios (Corner, 2018). Além de que, é uma causa significativa de mortalidade em jaguares, devido à sua elevada taxa de metastização peritoneal (Corner, 2018)

As neoplasias ováricas são conhecidas como agentes causadores de disfunção ovárica, tanto por causar irregularidades no ciclo quanto pela paralisação completa do ciclo estrico, dependendo das hormonas secretadas pelo tumor e, se afetam ou não o ovário contralateral (Miller et al., 2019). O tumor ovárico mais comum na maioria das espécies é o tumor de células da granulosa ou granulosa-teca (TCG) (Miller et al., 2019). Nalgumas espécies, esse tumor secreta inibina, que irá inibir a secreção de FSH e, portanto, impedir o crescimento folicular no ovário contralateral (Miller et al., 2019).

A neoplasia mais comum do trato reprodutivo feminino é o leiomioma (Sapierzynski, Dolka, & Cywinska, 2009). Dependendo da extensão e localização da lesão, o leiomioma pode tornar a fêmea infértil. Nalguns casos, o leiomioma foi definitivamente associado a períodos prolongados de não gestação (Miller et al., 2019). A existência deste tipo de patologias em animais geriátricos constitui uma das razões pelo qual se devem reproduzir preferencialmente fêmeas com valor genético superior no início de suas vidas reprodutivas (Miller et al., 2019).

### **3.13 Causas de mortalidade embrionária**

A idade avançada está associada a uma maior incidência de mortalidade embrionária precoce (EED). Pensa-se que este aumento da incidência de EED seja devida a uma diminuição da qualidade folicular ou do oócito, bem como à doença uterina com maior incidência em animais geriátricos (Miller et al., 2019). Uma nutrição inadequada e as deficiências nutricionais que lhes

estão associadas foram também relacionados com perda embrionária (Miller et al., 2019; Tekeli, 2015; Verstegen, Dhaliwal, & Verstegen-Onclin, 2008).

No caso da gata doméstica, as causas mais frequentemente relatadas de aborto, são de origem viral (Verstegen et al., 2008). O vírus da panleucopénia felina (FPLV), FeLV, FIV e herpesvírus felino tipo 1 (FHV1) são exemplos de vírus causadores de abortos no caso desta espécie (Verstegen et al., 2008). No caso do FPLV, a infeção pode em morte embrionária precoce, aborto de fetos mumificados ou macerados ou hipoplasias cerebelares ou até mesmo cerebrais (Verstegen et al., 2008). Sabe-se ainda que este vírus causa infeção uterina, levando ao aborto ou reabsorção fetal no início da gestação ou hipoplasia cerebelar e ataxia quando a infeção ocorre mais tarde na gestação (Tekeli, 2015; Verstegen et al., 2008).

Em gatas virémicas (ELISA ou IFA positivo), o FeLV induz a perda de gestação. Foi relatado um padrão de reabsorção fetal em gatas infetadas, com isolamento do vírus em ninhadas de fetos não nascidos, gatinhos recém-nascidos e no útero de gatas gestantes virémicas (Verstegen et al., 2008). No caso do FIV, um estudo recente demonstrou que gatas com infeção aguda de FIV podem transmitir o vírus para o seu feto (Tekeli, 2015; Verstegen et al., 2008). A transmissão intra-uterina resultou em na inibição do desenvolvimento fetal, aborto e nado-morto. Foram relatados casos de nascimento viáveis, contudo as crias nasceram já infetadas (Tekeli, 2015; Verstegen et al., 2008). No caso do herpes vírus, o mesmo parece causar aborto devido a o efeito debilitante da infeção respiratória superior que causa as progenitoras (Tekeli, 2015; Verstegen et al., 2008).

Devido à fragmentação e conversão dos habitats, à proximidade do humanos com a natureza e à aproximação dos animais domésticos com animais selvagens, há um aumento evidente da incidência destas patologias na população selvagem (C. Silva, Onuma, de Aguiar, Dutra, & Nakazato, 2016). Sendo que, estão descritos casos de panleucopénia, herpes vírus, Fiv e Felv em jaguares embora, o seu efeito na população jaguar seja ainda desconhecido (Furtado et al., 2017; C. Silva et al., 2016).

Sabe-se também que a toxoplasmose na gata doméstica pode ser causa de aborto (Samiko et al., 2014). Este agente foi descrito em jaguares mantidos em cativeiro e em jaguares em ambiente selvagem, entre os quais apresentou altas prevalências (Samiko et al., 2014). Contudo, não se sabe até que ponto este agente interfere nas taxas de mortalidade e de natalidade nesta espécie (Samiko et al., 2014).

### 3. Maneio reprodutivo utilizado no Loro Parque

O método reprodutivo utilizado preferencialmente no Loro Parque foi baseada no “Manejo de monta em zoológicos”. Ambos os progenitores fazem parte do programa de EAZA Ex situ (EEP), sendo que o macho (Gulliver) era precedente do Zoológico de Pistoia e a fêmea (Naya) do Zoológico de Martinique. A fêmea teria na altura perto de três anos de idade e o macho doze (figura 11).



*Figura 11: Imagem esquerda Gulliver, macho; imagem direita Naya, fêmea; Fonte: Zoo Institutes e Loro Parque 2020*

#### **Período de apresentação e socialização**

Na situação em questão, os animais não se conheciam. Pelo que, conforme o recomendado no “Manual Aza”, este período constitui um processo lento e gradual, onde a duração foi determinada com base nos comportamentos que os indivíduos desenvolveram.

Inicialmente, os animais apenas detetavam a sua proximidade física através do cheiro ou som. Ambos os animais, cada um por sua vez, trocavam de espaço e ambiente de modo a, dispersarem odores e, para que houvesse um reconhecimento inicial entre si. O passo seguinte consistiu no contato visual através de estruturas de contato protegidas, onde o contato físico não é possível, a fim de evitar agressões. O tempo de interação, com a demonstração de comportamentos positivos por ambas as partes, aumentou gradualmente com o passar do tempo. Por fim, com a permanência de comportamentos positivos e de sinais de receptividade por ambas as partes, procedeu-se então à junção física dos indivíduos (figura 12). Nesta fase coexistiu um protocolo de ação elaborado pela equipa, para o caso de necessário intervir e separar os animais. Para a junção física, esperou-se que a fêmea



*Figura 12: Nítida aceitação entre ambos; Fonte: Loro Parque 2020*

estivesse em cio para que houvesse uma maior motivação por parte de ambos os animais para se conhecerem.

### **Maneio peri-parto**

A gestação apenas foi controlada através de inspeção visual e observação do comportamental. Houve ainda um controlo temporal do ciclo éstrico da fêmea.

O indício de uma possível gestação foi detetado por mudanças comportamentais por parte da fêmea em que, a mesma demonstrou sinais de querer passar mais tempo isolada em locais fechados. Após este acontecimento, a dieta foi aumentada em quantidade para garantir um correto desenvolvimento das crias e, para um posterior adequada produção de leite. Esta dieta sofreu ainda um aumento extra após o parto para que as necessidades energéticas durante a amamentação fossem asseguradas.

No caso da preparação da cama para o parto, que consistiu na colocação de feno no recinto interior; foi realizada várias semanas antes da possível data de parto. Este procedimento foi realizado atempadamente de modo a garantir também a segurança dos tratadores.

O macho foi separado várias semanas antes do nascimento das crias, aproximadamente quatro, para que a fêmea preparasse ninho a tempo e sem o stress da presença do macho. Normalmente, se o macho permanecer perto ou com a mesma rotina num cercado ao ar livre próximo, a fêmea pode vir matar as crias.

### **Parto**

O parto, aconteceu dia 16 de dezembro de 2019, ocorrendo durante a tarde entre as 16 e as 17h. Nasceram um macho e uma fêmea. Apesar da progenitora ser uma fêmea jovem (três anos de idade), não foi necessário qualquer tipo de assistência médica tendo a fêmea executado a função de mãe na perfeição (figura 13). Com a proximidade do parto, a única mudança de comportamento identificada foi a sua estadia longa no recinto interno em comparação com o tempo gasto no recinto externo regularmente.

Nos três dias após o parto, apenas um ou dois tratadores compareceram para fornecer alimento, mas sem que permanecessem muito tempo no interior do recinto.

Nesta altura, para a manutenção da cama, colocou-se uma quantidade considerável de feno, e a sua mudança era feita uma vez semanalmente. Até quase um mês após o nascimento das crias, limpeza da cama foi feita sem qualquer recurso de produtos químico, para evitar rejeição maternal por conflito de odores ou incómodo excessivo.



**Figura 13:** Fêmea com as duas crias; Fonte Loro Parque 2020

### **Desenvolvimento das crias e manejo pós-parto**



Aos 12 dias já tinham os olhos abertos e começaram a andar desajeitadamente aos 10 dias.

As crias foram amamentadas até aos quatro meses de idade. Com o passar do tempo, começaram a demonstrar interesse por alimento sólido. Após demonstrarem interesse, a progenitora, cedia-lhes o acesso à sua refeição.



A vacinação RCP contra a rinotraqueíte vírica felina, panleucopénia, felina calicivirose felina foi realizada pela primeira vez quando as crias tinham um mês de idade. Além da administração da vacina, foi colocado o microchip e fez-se a identificação do sexo das crias. Foram realizados três reforços com um intervalo de quatro semanas, conforme o recomendado no “Jaguar (*Panthera onca*) Care Manual”. Este procedimento encontra-se representado na figura 14.



No que respeita ao enriquecimento ambiental, apenas se procedeu a pequenas alterações para segurança das crias, tais como: reduzir o nível de água do lago e, colocação de rochas para facilitar a saída do lago em caso de queda.

**Figura 14:** Realização de check-up às crias no parque realizou-se sexagem (1), colocação de micro-chip (2) e a primeira dose de vacinação (3); Fonte: Loro parque 2020

## 4. Conclusão

A realização do estágio curricular no HVL foi uma experiência bastante gratificante. O mundo da clínica e cirurgia de pequenos animais tomou uma nova realidade, sendo possível consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo de todo o mestrado integrado e a aquisição de novas aptidões teóricas e práticas. Os conceitos como responsabilidade, autonomia, companheirismo, sentido de entreatajuda, relações interpessoais, conceitos dos quais a universidade não prepara para prática laboral, durante os quatro meses de estágio, adquiriram um novo sentido. Questões como lidar e abordar cliente, gestão eficiente da casuística encontrada em ambiente hospitalar, como trabalhar sob stress, aspetos fundamentais para gestão de uma equipa hospitalar e a delegação devida de tarefas e a importância de um bom estudo e discussão de casos clínicos foram interiorizadas. Foi notável o crescimento pessoal e profissional ao longo de todo o estágio.

Com o estágio no Loro Parque, foi permitido adquirir conhecimento sobre o que é o mundo da conservação, a importância dos zoológicos na preservação da espécie e de que maneira o médico veterinário contribui para a manutenção da biodiversidade. Este estágio constitui uma saída da zona de conforto, permitiu ter noção de outras realidades e abrir horizontes. Com este estágio tomada a verdadeira noção dos problemas ambientais que enfrentamos na atualidade, da importância dos programas de reprodução *in-situ* para conservação de espécies em vias de extinção, da importância de medicina preventiva e de como a educação do público influencia no sucesso dos esforços investidos na área da Conservação.

Foi perceptível o trabalho incrível que o Loro Parque tem vindo a desenvolver na área da conservação. No parque, além das atividades de lazer que proporciona ao público, possui locais no seu interior dedicados exclusivamente à educação e consciencialização da população para os problemas ambientais e a perda de biodiversidade animal que enfrentamos na atualidade. Além do trabalho desenvolvido no interior do parque, juntamente com o *Loro Parque Fundación* apoia diversos programas de conservação em todo o mundo.

A realização do relatório casuístico referente ao estágio no HVL, concebeu a possibilidade de evidenciar a área com maior evidência, assim de como a frequência relativa das afeções acompanhadas no hospital.

O desenvolvimento monográfico, surgiu na sequência do nascimento de duas crias jaguar no Loro Parque. Entre outros tópicos, a monografia contemplou temas como, o que é a conservação, papel dos zoológicos e do médico veterinário na área. Tópicos relativos à espécie como as suas características, situação atual, melanismo, anatomofisiologia da espécie, manejo de monta em zoológicos, ART, possíveis métodos de contraceção e possíveis patologias reprodutivas encontradas, foram também abordados.

## Referências Bibliográficas

- Agudelo, C. F. (2005). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in cats. A review. *Veterinary Quarterly*, 27(4), 173–182. <https://doi.org/10.1080/01652176.2002.9695198>
- Akira Takeuchi, D. P. (2014). World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, 2003. *VIN.Com*. Retrieved from <https://www.vin.com/doc/?id=6346982>
- Amir Hussein Asgari safdar , Hussein Daghigh Kia, R. F. (2013). Physiology of parturition. *Medical World*, 65(15), 459–462.
- Andrews, C. J., Thomas, D. G., Yapura, J., & Potter, M. A. (2019). Reproductive biology of the 38 extant felid species: a review. *Mammal Review*, 49(1), 16–30. <https://doi.org/10.1111/mam.12145>
- Angileri, M., Pasquetti, M., De Lucia, M., & Peano, A. (2019). Azole resistance of *Malassezia pachydermatis* causing treatment failure in a dog. *Medical Mycology Case Reports*, 23(November 2018), 58–61. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.12.004>
- Anzar, M., Rajapaksha, K., & Boswall, L. (2019). Egg yolk-free cryopreservation of bull semen. *PLoS ONE*, 14(10), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223977>
- Araujo, G. R. de, Paula, T. A. R. de, Deco-Souza, T. de, Morato, R. G., Bergo, L. C. F., Silva, L. C. da, ... Braud, C. (2017). Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. *Animal Reproduction Science*, 195, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.019>
- Asa, C. S., & Porton, I. J. (2005). *Wildlife Contraception: Issues, Methods, and Applications*. Retrieved from [https://books.google.pt/books?id=ydFciujnWTcC&pg=PA56&lpg=PA56&dq=bisdiamina+and+interference+in+spermatogenesis&source=bl&ots=1\\_KBz2LWj6&sig=ACfU3U1A\\_kiVzFLOghsTwdvzNR\\_V31CmZw&hl=pt-PT&sa=X&ved=2ahUKEwjRsoyJmfrAhUk5eAKHQ9CAQE6AEwD3oECAIQAQ#v=onepage&q=](https://books.google.pt/books?id=ydFciujnWTcC&pg=PA56&lpg=PA56&dq=bisdiamina+and+interference+in+spermatogenesis&source=bl&ots=1_KBz2LWj6&sig=ACfU3U1A_kiVzFLOghsTwdvzNR_V31CmZw&hl=pt-PT&sa=X&ved=2ahUKEwjRsoyJmfrAhUk5eAKHQ9CAQE6AEwD3oECAIQAQ#v=onepage&q=)
- Ay, S. S., Önyay, F., Saral, G., Kaya, D., Aslan, S., & Findik, M. (2018). The efficacy of alone or combined treatment of aglepristone and cabergoline on termination of mid-term pregnancy in cats. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 24(4), 491–496. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19416>
- AZA. (2018). Field Conservation. Retrieved April 28, 2020, from <https://www.aza.org/field-conservation>
- Azevedo, M. H. F., Paula, T. A. R., Balarini, M. K., Matta, S. L. P., Peixoto, J. V., Guião Leite, F. L., ... da Costa, E. P. (2008). Organization and quantification of the elements in the intertubular space in the adult jaguar testis (*Panthera onca*, LINNAEUS, 1758). *Micron*,

39(8), 1166–1170. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2008.05.005>

- Barnes, S. A., Andrew Teare, J., Staaden, S., Metrione, L., & Penfold, L. M. (2016). Characterization and manipulation of reproductive cycles in the jaguar (*Panthera onca*). *General and Comparative Endocrinology*, 225, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.09.012>
- Barnette, C. (2020). Infertility in Female Cats | VCA Animal Hospital. Retrieved August 16, 2020, from <https://vcahospitals.com/know-your-pet/infertility-in-female-cats>
- Beatty, J., & Barrs, V. (2010). Pleural effusion in the cat. A practical approach to determining aetiology. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(9), 693–707. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2010.07.013>
- Bellani, G. G. (2020a). Chapter 8: Genetics. In *Felines of the World* (pp. 162–173). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816503-4.00008-8>
- Bellani, G. G. (2020b). Conservation of felidae. *Felines of the World*, 441–458. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816503-4.00010-6>
- Bellani, G. G. (2020c). *Felines of the world - Chapter 4 Subfamily Pantherinae. Felines of the World*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816503-4.00004-0>
- Bellows, J., Berg, M. L., Dennis, S., Harvey, R., Lobprise, H. B., Snyder, C. J., ... Van de Wetering, A. G. (2019). 2019 AAHA Dental Care Guidelines for Dogs and Cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 55(2), 49–69. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6933>
- Benka, V. A. W., & Levy, J. K. (2015). Vaccines for feline contraception: GonaCon GnRH–hemocyanin conjugate immunocontraceptive. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(9), 758–765. <https://doi.org/10.1177/1098612X15594989>
- Berendt, M., Farquhar, R. G., Mandigers, P. J. J., Pakozdy, A., Bhatti, S. F. M., De Risio, L., ... Volk, H. A. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. *BMC Veterinary Research*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0461-2>
- Bhimte, A., Thakur, N. ., Maurya, V. P., & Singh, G. (2018). Neurohormonal Control of Lactation and Milk Let-down in Dairy Animals. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(07), 970–977. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.117>
- Bond, R., Morris, D. O., Guillot, J., Bensignor, E. J., Robson, D., Mason, K. V., ... Hill, P. B. (2020). Biology, diagnosis and treatment of Malassezia dermatitis in dogs and cats Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 31(1), 28–74. <https://doi.org/10.1111/vde.12809>

- Bourguignon, E., Diegues, L., Sell, T., & Silva, E. (2013). Dermatology in Dogs and Cats. *Insights from Veterinary Medicine*, (September), 2–34. <https://doi.org/10.5772/53660>
- Braun, B. C., Frank, A., Dehnhard, M., Voigt, C. C., Vargas, A., Göritz, F., & Jewgenow, K. (2009). Pregnancy diagnosis in urine of Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Theriogenology*, 71(5), 754–761. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.054>
- Brown, J. L. (2011). Female reproductive cycles of wild female felids. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.024>
- Brown, J. L. (2018). Comparative ovarian function and reproductive monitoring of endangered mammals. *Theriogenology*, 109, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.004>
- Brown, J. L., & Comizzoli, P. (2018). *Female cat reproduction*. *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edi, Vol. 2). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20638-9>
- Callealta, I., Ganswindt, A., & Lueders, I. (2020). Reproductive cycle stage assessment using vaginal cytology evaluation in African lions (*Panthera leo*). *Animal Reproduction Science*, 213, 106260. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106260>
- Cardoso, C. F. R. (2017). Desenvolvimento folicular ao longo do ciclo éstrico na cadela e gata, 84.
- Carney, H. C., Ward, C. R., Bailey, S. J., Bruyette, D., Dennis, S., Ferguson, D., ... Rucinsky, A. R. (2016). 2016 AAFP Guidelines for the Management of Feline Hyperthyroidism. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(5), 400–416. <https://doi.org/10.1177/1098612X16643252>
- Carrillo, E., Saenz, J., & Fuller, T. (2009). Interbirth interval of a free-ranging jaguar. *Mammalian Biology*, 74(4), 319–320. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2009.02.005>
- Catardo, F. A., & Más-rosa, S. (2018). COLETA DE SÊMEN EM FELINOS SELVAGENS VISANDO À CONSERVAÇÃO – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA, (14).
- Cavalcanti, S. M. C., & Gese, E. M. (2010). ( *Panthera Onca* ) in the Southern Pantanal , Brazil. *Journal of Mammalogy*, 91(3), 722–736. Retrieved from <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1644/09-MAMM-A-171.1>
- Chastant-Maillard, S., Aggouni, C., Albaret, A., Fournier, A., & Mila, H. (2017). Canine and feline colostrum. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 148–152. <https://doi.org/10.1111/rda.12830>
- Chuei, J. Y., Asa, C. S., Hall-Woods, M., Ballou, J., & Traylor-Holzer, K. (2007). Restoration of Reproductive Potential After Expiration or Removal of Melengestrol Acetate Contraceptive Implants in Tigers (*Panthera tigris*). *Zoo Biology*, 26(2), 93–104.

<https://doi.org/10.1002/zoo>

- Claus, M. A., Levy, J. K., MacDonald, K., Tucker, S. J., & Crawford, P. C. (2006). Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8(3), 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2006.01.001>
- Cocchia, N., Tafuri, S., Abbondante, L., Meomartino, L., Esposito, L., & Ciani, F. (2015). Assisted Reproductive Technologies in Safeguard of Feline Endangered Species. *New Discoveries in Embryology*, (December). <https://doi.org/10.5772/61004>
- Cohn, L. A. (2011). Feline Respiratory Disease Complex. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 41(6), 1273–1289. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.07.006>
- Corner, S. (2018). OVARIAN CARCINOMA IN JAGUARS (PANTHERA ONCA): INVESTIGATING THE GENETIC MECHANISMS OF TUMORIGENESIS.
- Craig E. Greene, DVM, MS, D. (2011). *Infectious Diseases of the dog and cat 4th edition*.
- Craig, M. (2003). BSAVA Manual of Small Animal Dermatology. *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*. [https://doi.org/10.1016/S1098-612X\(03\)00045-7](https://doi.org/10.1016/S1098-612X(03)00045-7)
- Crowell-davis, S. L. (2008). Aggressive dogs: Assessment and treatment considerations. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*, 30(5), 274–280.
- Da Paz, R. C. Rodrigues, Gonçalves, R. M., Carciofi, A. C., Guimarães, M. A. B. V., Pessuti, C., Santos, E. F., ... Barnabe, R. C. (2006). Influence of nutrition on the quality of semen in Jaguars *Panthera onca* in Brazilian zoos. *International Zoo Yearbook*, 40(1), 351–359. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2006.00351.x>
- da Paz, Regina Celia Rodrigues. (2012). Wildlife Cats Reproductive Biotechnology. *Current Frontiers in Cryobiology*. <https://doi.org/10.5772/32464>
- da Paz, Regina Celia Rodrigues, Züge, R. M., & Barnabe, V. H. (2007). Frozen jaguar (*Panthera onca*) sperm capacitation and ability to penetrate zona free hamster oocytes. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 44(5), 337–344. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2007.26616>
- Davidson, A. P. (2013). Breeding Soundness Examination of Small Animals - Management and Nutrition - Veterinary Manual. Retrieved August 16, 2020, from <https://www.msddvetmanual.com/management-and-nutrition/management-of-reproduction-small-animals/breeding-soundness-examination-of-small-animals>
- Day, M. J., Horzinek, M. C., Schultz, R. D., & Squires, R. A. (2016). WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 57(1), E1–E45. [https://doi.org/10.1111/jsap.2\\_12431](https://doi.org/10.1111/jsap.2_12431)

- de Barros, C. V., Galvão, N. M., Croce, S. L., Teles, T. F. F., de Souza, T. A., de Araújo, V. D., ... Angrimani, D. de S. R. (2016). Diagnóstico de infertilidade em onça pintada (*Panthera onca*): relato de caso. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 53(3). <https://doi.org/10.11606/ISSN.1678-4456.BJVRAS.2016.111568>
- DeClementi, C., & Sobczak, B. R. (2018). Common Rodenticide Toxicoses in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(6), 1027–1038. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.06.006>
- Deem, S. L. (2007). Role of the zoo veterinarian in the conservation of captive and free-ranging wildlife. *International Zoo Yearbook*, 41(1), 3–11. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2007.00020.x>
- Dehnhard, M., Finkenwirth, C., Crosier, A., Penfold, L., Ringleb, J., & Jewgenow, K. (2012). Using PGFM (13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 $\alpha$ ) as a non-invasive pregnancy marker for felids. *Theriogenology*, 77(6), 1088–1099. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.011>
- Dettling, D. J., Dornak, J., & Marriott, V. (2002). Analyze the importance of wildlife management. *Benefits of Wildlife*, 1–8.
- Dewey, C. W., & Costa, R. C. da. (2016). *PRACTICAL GUIDE TO CANINE AND FELINE NEUROLOGY 3RD Edition*.
- Donoghue, A., Johnston, L., Armstrong, D., Simmons, L., & Wildt, D. (1993). Birth of a Siberian Tiger Cub (*Panthera Tigris Altaica*) Following Laparoscopic Intrauterine Insemination. *Donoghue, Ann M., Johnston, L. A., Armstrong, D. L., Simmons, L. G., and Wildt, David E.*, 24(2), 185.
- Dutton, L. C., Dudhia, J., Guest, D. J., & Connolly, D. J. (2019). Inducing Pluripotency in the Domestic Cat (*Felis catus*). *Stem Cells and Development*, 28(19), 1299–1309. <https://doi.org/10.1089/scd.2019.0142>
- Eizirik, E., Yuhki, N., Johnson, W. E., Menotti-Raymond, M., Hannah, S. S., & O'Brien, S. J. (2003). Molecular genetics and evolution of melanism in the cat family. *Current Biology*, 13(5), 448–453. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(03\)00128-3](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(03)00128-3)
- England, G., & Heimendahl, A. (2010). *BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology 2ª Edição* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Fernandes, D. R. N., & Pinto, M. de L. R. (2019). Veterinarian's Role in Conservation Medicine and Animal Welfare. *Veterinary Anatomy and Physiology*, 1–15. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/57353>
- Fernandes, M. (2018). Leishmaniose canina. *Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Lisboa*.

- Fernández Cotrina, J., Iniesta, V., Monroy, I., Baz, V., Hugnet, C., Marañón, F., ... Alonso, C. (2018). A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine*, 36(15), 1972–1982. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.111>
- Fontaine, C. (2015). Long-term contraception in a small implant: A review of Suprelorin (deslorelin) studies in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(9), 766–771. <https://doi.org/10.1177/1098612X15594990>
- Fraser, A. F. (2012). *Feline Behaviour and Welfare*.
- Fukano, Y., Tanaka, Y., & Soga, M. (2020). Zoos and animated animals increase public interest in and support for threatened animals. *Science of the Total Environment*, 704, 135352. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135352>
- Fukui, D., Nagano, M., Nakamura, R., Bando, G., Nakata, S., Kosuge, M., ... Takahashi, Y. (2013). The effects of frequent electroejaculation on the semen characteristics of a captive siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *Journal of Reproduction and Development*, 59(5), 491–495. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-016>
- Furtado, M. M., Taniwaki, S. A., de Barros, I. N., Brandão, P. E., Catão-Dias, J. L., Cavalcanti, S., ... Ferreira Neto, J. S. (2017). Molecular detection of viral agents in free-ranging and captive neotropical felids in Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29(5), 660–668. <https://doi.org/10.1177/1040638717720245>
- Garbutt, N. (2015). Panthera Jaguar Corridor Initiative. <https://doi.org/10.2307/3504096>
- Garden, O. A., Kidd, L., Mexas, A. M., Chang, Y. M., Jeffery, U., Blois, S. L., ... Szladovits, B. (2019). ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 313–334. <https://doi.org/10.1111/jvim.15441>
- Gerard McLauchlan, & Ramsey, I. (2008). Update on Pregnancy Termination in the Bitch.
- Gina Borgia, N. G. S., & Jeanna Sullivan, N. G. S. (2019). Conservation | National Geographic Society. Retrieved April 27, 2020, from <https://www.nationalgeographic.org/encyclopedia/conservation/>
- Goericke-Pesch, S., Georgiev, P., & Wehrend, A. (2010). Prevention of pregnancy in cats using aglepristone on days 5 and 6 after mating. *Theriogenology*, 74(2), 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.014>
- Gonzalez, L., & Jewgenow, K. (2017). Cryopreservation of feline oocytes by vitrification using commercial kits and slush nitrogen technique. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 230–234. <https://doi.org/10.1111/rda.12837>

- Goy-Thollot, I. (2019). European Veterinary Emergency and Critical Care Congress 2019. *VIN.Com*. Retrieved from <https://www.vin.com/doc/?id=9168969>
- Graipel, M. E., Bogoni, J. A., Giehl, E. L. H., Cerezer, F. O., Cáceres, N. C., & Eizirik, E. (2019). Melanism evolution in the cat family is influenced by intraspecific communication under low visibility. *PLoS ONE*, *14*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226136>
- Hanstock, H. G., Edwards, J. P., & Walsh, N. P. (2019). Tear lactoferrin and lysozyme as clinically relevant biomarkers of mucosal immune competence. *Frontiers in Immunology*, *10*(MAY), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01178>
- Harrenstien, L. A., Munson, L., Chassy, L. M., Liu, I. K. M., & Kirkpatrick, J. F. (2004). Effects of porcine zona pellucida immunocontraceptives in zoo felids. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *35*(3), 271–279. <https://doi.org/10.1638/03-082>
- Harvey, R. G., & Haar, G. (2016). Cat Anatomy and Physiology. *Ear, Nose and Throat Diseases of the Dog and Cat*, 347–356. <https://doi.org/10.1201/9781315373065-14>
- Hatton, G. I., & Wang, Y. F. (2008). Neural mechanisms underlying the milk ejection burst and reflex. *Progress in Brain Research*, *170*(08), 155–166. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00414-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00414-7)
- Hess, M. B. (2008). *Disorders of Feline Reproduction. Handbook of Small Animal Practice* (Fifth Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3949-5.50066-2>
- Hildebrandt, T. B., Göritz, F., Hermes, R., & Guido, F. (2002). Ultrasonographic techniques applied to non-domestic species. *Ultrasound*, *10*(2), 7–14. <https://doi.org/10.1177/1742271X0201000203>
- Inputs for a strategic approach to biodiversity conservation in Latin America and the Caribbean. (2019). *Development and International Cooperation*.
- IUCN Red List of Threatened Species. (2020). Retrieved July 29, 2020, from <https://www.iucnredlist.org/>
- Jackson, E. K. M. (1984). Contraception in the dog and cat. *British Veterinary Journal*, *140*(2), 132–137. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(84\)90073-3](https://doi.org/10.1016/0007-1935(84)90073-3)
- Jaguar 2030 Roadmap. (2019). Retrieved from <http://datazone.birdlife.org/site/requestgis>
- Jędrzejewski, W., Abarca, M., Vilorio, Á., Cerda, H., Lew, D., Takiff, H., ... Schmidt, K. (2011). Jaguar conservation in Venezuela against the backdrop of current knowledge on its biology and evolution. *Interciencia*, *36*(12), 954–966.
- Jędrzejewski, W., Robinson, H. S., Abarca, M., Zeller, K. A., Velasquez, G., Paemelaere, E. A. D., ... Quigley, H. (2018). Estimating large carnivore populations at global scale based on spatial predictions of density and distribution - Application to the jaguar (*Panthera onca*).

- Jewgenow, K., Dehnhard, M., Hildebrandt, T. B., & Göritz, F. (2006). Contraception for population control in exotic carnivores. *Theriogenology*, 66(6–7), 1525–1529. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.027>
- Jewgenow, K., & Zahmel, J. (2020). Preservation of female genetic resources in feline species. *Theriogenology*, 156, 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.040>
- Jimenez Gonzalez, S., Howard, J. G., Brown, J., Grajales, H., Pinzón, J., Monsalve, H., ... Jimenez Escobar, C. (2017). Reproductive analysis of male and female captive jaguars (*Panthera onca*) in a Colombian zoological park. *Theriogenology*, 89, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.09.049>
- Johnson, A. K. (2018a). Assisted Reproduction in the Female Cat. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(4), 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.02.002>
- Johnson, A. K. (2018b). Assisted Reproduction in the Male Cat. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(4), 511–521. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.02.001>
- Johnson, S., Diego Zoo Global, S., Jaguar SSP Coordinator Cheri Asa, A., Louis Zoo William Baker, S., Abilene Zoo Katherine Buffamonte, formerly, Zoo Hollie Colahan, P., ... Spector, F. (2016). Jaguar (*Panthera onca*) Care Manual 2 Association of Zoos and Aquariums Jaguar (*Panthera onca*) Care Manual Original Completion Date: Authors and Significant Contributors: Reviewers: AZA Staff Editors: Cover Photo Credits. Retrieved from [https://www.speakcdn.com/assets/2332/jaguar\\_care\\_manual\\_2016.pdf](https://www.speakcdn.com/assets/2332/jaguar_care_manual_2016.pdf)
- Jorge-Neto, P. N. (2019). Biotecnologias reprodutivas aplicadas à produção de embriões in vitro de onça-parda (*Puma concolor*) e onças-pintadas (*Panthera onca*).
- Jorge-Neto, P. N., Luczinski, T. C., Araújo, G. R. de, Salomão Júnior, J. A., Traldi, A. de S., Santos, J. A. M. dos, ... Baldassarre, H. (2020). Can jaguar (*Panthera onca*) ovulate without copulation? *Theriogenology*, 147, 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.026>
- Jorge-Neto, P. N., Silva, M. C. C. da, Csermak-Júnior, A. C., Salmão-Júnior, J. A., Araújo, G. R. de, Oliveira, G. de, ... Deco-Souza, T. de. (2020). Cryptorchidism in free-living jaguar (*Panthera onca*): first case report. *Animal Reproduction*, 17(4), 1–6. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2020-0555>
- Jorge-Neto, P., Pizzutto, C., Araujo, G., Deco-Souza, T., Silva, L., Salomão, J., & Baldassare, H. (2018). Copulatory behavior of the Jaguar *Panthera onca* (Mammalia: Carnivora: Felidae). *Journal of Threatened Taxa*, 10(January), 11391–11398.

<https://doi.org/10.11609/jott.3138.10.1.11126-11146>

Karlapudi, S. K. (2017). Diagnosis and management of Malassezia otitis in dogs. *The Pharma Innovation Journal NAAS Rating TPI*, 36(69), 36–38. Retrieved from [www.thepharmajournal.com](http://www.thepharmajournal.com)

Keene, B. W., Atkins, C. E., Bonagura, J. D., Fox, P. R., Häggström, J., Fuentes, V. L., ... Uechi, M. (2019). ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(3), 1127–1140. <https://doi.org/10.1111/jvim.15488>

Khare, R. K., Khare, D. S., Khare, R., Gupta, D. K., Shukla, P. C., & Meena, N. S. (2018). Feline hyperthyroidism: An overview Article. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(6), 418–423. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/328955868>

Kirkpatrick, J. F., & Jr, J. W. T. (2009). Reversible Contraception in Nondomestic Animals Published by : American Association of Zoo Veterinarians Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/20095182> REVIEW ARTICLE, 22(4), 392–408.

Klein, B. G. (2013). *Cunningham's Textbook of VETERINARY PHYSIOLOGY*.

Kloft, H. M., Ramsay, E. C., & Sula, M. M. (2019). Neoplasia in Captive Panthera Species. *Journal of Comparative Pathology*, 166(December 2017), 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2018.10.178>

Kutzler, M. A. (2015). Alternative methods for feline fertility control: Use of melatonin to suppress reproduction. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(9), 753–757. <https://doi.org/10.1177/1098612X15594988>

Lamm, C. G., & Makloski, C. L. (2012). Current Advances in Gestation and Parturition in Cats and Dogs. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 42(3), 445–456. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.01.010>

Ley, J. (2016). *Feline Social Behavior and Personality. August's Consultations in Feline Internal Medicine* (Vol. 7). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-22652-3.00094-3>

Lima, G., & Santos, É. dos. (2010). Aplicação Das Biotécnicas De Moifopa, Transgênese E Clonagem Na Reprodução De Caprinos. *Acta Veterinaria Brasilica*, 4(0), S36–S42. <https://doi.org/10.21708/avb.2010.4.0.1845>

Lima, G., & Silva, A. (2019). Adaptação da tecnologia do ovário artificial para os animais silvestres, (Conera 2018).

Little, S. (2011). Feline reproduction. Problems and clinical challenges. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(7), 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2011.05.008>

Little, S. E. (2012). Female Reproduction. *The Cat*, (January), 1195–1227.

<https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0660-4.00040-5>

- Lopate, C. (2012). *Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets*.  
*Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets*.  
<https://doi.org/10.1002/9781118997215>
- Loro Parque. (2020). Retrieved September 16, 2020, from  
<https://www.loroparque.com/index.php/en/>
- Lulich, J. P., Osborne, C. A., Sanderson, S. L., Ulrich, L. K., Koehler, L. A., Bird, K. A., &  
Swanson, L. L. (1999). Voiding urohydropropulsion. Lessons from 5 years of experience.  
*The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 29(1), 283–291.  
[https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(99\)50016-8](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(99)50016-8)
- Magalhaes, L., & Paschoal, D. M. (2012). Preservation of wild feline semen by freeze-drying:  
experimental model. *Animal Reproduction*, 9(3), 201–204.
- Mann, J., Ballantyne, R., & Packer, J. (2020). *The Role of Aquariums and Zoos in Encouraging  
Visitor Conservation Action*. *Encyclopedia of the World's Biomes* (Vol. 5). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.12063-9>
- Mansfield, C. (2012). Acute Pancreatitis in Dogs: Advances in Understanding, Diagnostics, and  
Treatment. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(3), 123–132.  
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2012.04.003>
- Marchini, S., & Macdonald, D. W. (2018). Mind over matter: Perceptions behind the impact of  
jaguars on human livelihoods. *Biological Conservation*, 224(May), 230–237.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.06.001>
- Mccarthy, E. M. (2010). Jaguar-leopard Hybrids - Mammalian Hybrids - Biology Dictionary.  
Retrieved May 28, 2020, from <http://www.macroevolution.net/jaguar-leopard-hybrids.html>
- McManaman, J. L. (2017). *Physiology of lactation*. *Nature* (Fifth Edit, Vol. 162). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1038/162601a0>
- Meadows, A. (2011). WILDLIFE CONSERVATION EDUCATION AND INTERNATIONAL  
PROGRAMMES Wildlife Conservation Education Programmes : It is Conservation  
Education and Outreach Techniques :, 21, 305–316.
- Meland, T., & Carrera-Justiz, S. (2018). A Review: Emergency Management of Dogs With  
Suspected Epileptic Seizures. *Topics in Companion Animal Medicine*, 33(1), 17–20.  
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2018.03.004>
- Memon, M. A. (2018). Reproductive Disorders of Female Cats - Cat Owners - Merck Veterinary  
Manual. Retrieved June 4, 2020, from <https://www.merckvetmanual.com/cat-owners/reproductive-disorders-of-cats/reproductive-disorders-of-female-cats>

- Micheletti, T., Cubas, Z., Moraes, W., Oliveira, M., & Moreira, N. (2012). Reprodução natural de felídeos selvagens em cativeiro: dificuldades e orientações. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 36(1), 39–43.
- Miller, R. E., Lamberski, N., & Paul P. Calle. (2019). *FOWLER'S ZOO and WILD ANIMAL MEDICINE Current Therapy 9<sup>o</sup> volume*. (Elsevier, Ed.).
- Moore, P. A. (2005). Feline corneal disease. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 20(2 SPEC. ISS.), 83–93. <https://doi.org/10.1053/j.ctsap.2004.12.012>
- Morato, R. G., Crichton, E., Paz, R. C. R. da, Zuge, R. M., Moura, C. A., Teixeira, A. L. V. N. R. H., ... Loskutoff, V. H. (n.d.). Ovarian stimulation, oocyte recovery and in vitro fertilization in the jaguar (*Panthera onca*). 2002.
- Morato, R. G., Conforti, V. A., Azevedo, F. C., Jacomo, A. T. A., Silveira, L., Sana, D., ... Barnabe, R. C. (2001). Comparative analyses of semen and endocrine characteristics of free-living versus captive jaguars (*Panthera onca*). *Reproduction*, 122(5), 745–751. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1220745>
- Morato, Ronaldo Gonçalves, Verreschi, I. T. N., Guimarães, M. A. B. V., Cassaro, K., Pessuti, C., & Barnabe, R. C. (2004). Seasonal variation in the endocrine-testicular function of captive jaguars (*Panthera onca*). *Theriogenology*, 61(7–8), 1273–1281. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.07.011>
- Moreira, N., & Morato, R. G. (2007). Técnicas de Reprodução Assistida em Felídeos Neotropicais.
- Moriello, K. A., Coyner, K., Paterson, S., & Mignon, B. (2017). Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats.: Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 28(3), 266–268. <https://doi.org/10.1111/vde.12440>
- Munson, L. (2006). Contraception in felids. *Theriogenology*, 66(1), 126–134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.016>
- Murphy, K., & Papasouliotis, K. (2011). Pleural effusions in dogs and cats 1. Diagnostic investigation. *In Practice*, 33(9), 462–469. <https://doi.org/10.1136/inp.d6057>
- Murphy, S. (2008). Mammary tumours in dogs and cats. *In Practice*, 30(6), 334–339. <https://doi.org/10.1136/inpract.30.6.334>
- Nandi, S., & Kumar, M. (2010). Canine parvovirus: Current perspective. *Indian Journal of Virology*, 21(1), 31–44. <https://doi.org/10.1007/s13337-010-0007-y>
- Navarro-perez, M., & Tidball, K. G. (2011). Challenges of Biodiversity Education: A Review of Education Strategies for Biodiversity Education. *International Electronic Journal of*

- Nelson, R. , & Couto, C. G. (2014). SMALL ANIMAL INTERNAL MEDICINE, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Nordin, M. L., Osman, A. Y., Shaari, R., Arshad, M. M., Kadir, A. A., & Reduan, M. F. H. (2017). Recent overview of mammary cancer in dogs and cats: classification, risk factors and future perspectives for treatment. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 10(8), 64–69. <https://doi.org/10.9790/2380-1008026469>
- Oliva, G., Roura, X., Crotti, A., Maroli, M., Castagnaro, M., Gradoni, L., ... Zini, E. (2010). Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(11), 1192–1198. <https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1192>
- Olsoy, P. J., Zeller, K. A., Hicke, J. A., Quigley, H. B., Rabinowitz, A. R., & Thornton, D. H. (2016). Quantifying the effects of deforestation and fragmentation on a range-wide conservation plan for jaguars. *Biological Conservation*, 203, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.08.037>
- Owston, M. A., Ramsay, E. C., & Rotstein, D. S. (2008). Neoplasia in felids at the Knoxville zoological gardens, 1979-2003. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 39(4), 608–613. <https://doi.org/10.1638/2008-068.1>
- Paz, Regina Celia Rodrigues da, & Avila, H. B. dos S. (2015). Coatis (*Nasua nasua*) semen cryopreservation. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 52(2), 151. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v52i2p151-157>
- Perrin, K., & Wyss, F. (2019). PROCEEDINGS OF THE ZOO AND WILDLIFE HEALTH.
- Pessoa, B. de M. (2019). OBSERVAÇÃO COMPORTAMENTAL DE FÊMEA DE JAGUAR (*Panthera onca*) SUBMETIDA A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL ANTES, DURANTE E DEPOIS DO PARTO. *Universidade Do Porto*.
- Peycke, L. E. (2011). Femoral Head & Neck Ostectomy. *NAVJ Clinician's Brief*, (February), 55–59.
- Pinto, C. (2018). Leishmaniose Canina e Felina. *Veterinária Atual*, 51.
- Pinto, R. (2010). NEOPLASIAS MAMÁRIAS EM CADELAS E GATAS. *Universidade Técnica de Lisboa*, 2010, 17–18.
- Pires, M. A., Vilhena, H., Miranda, S., Tavares Pereira, M., Seixas, F., Saraiva, A. L., & Payan-Carreira, R. (2017). Endometrial Lesions Underlying Feline Pyometra. *Journal of Comparative Pathology*, 156(1), 66. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2016.11.036>
- Platz, C. C., Chakraborty, P. K., & Seager, S. W. J. (1979). Oestrous and ovarian activity in a female jaguar (*Panthera onca*). *North*.

- Praxedes, É. A., de Oliveira, L. R. M., Silva, M. B., Borges, A. A., Santos, M. V. de O., Silva, H. V. R., ... Pereira, A. F. (2019). Effects of cryopreservation techniques on the preservation of ear skin – An alternative approach to conservation of jaguar, *Panthera onca* (Linnaeus, 1758). *Cryobiology*, 88(April), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.04.007>
- Proksch, A. L., & Hartmann, K. (2015). Diagnose der kaninen Parvovirus-Infektion. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere - Heimtiere*, 43(5), 351–357. <https://doi.org/10.15654/TPK-150354>
- Queau, Y. (2019). Nutritional Management of Urolithiasis. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 49(2), 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.10.004>
- Queiroga, F., & Lopes, C. (2002). Tumores mamários caninos – Novas perspectivas. *Congresso de Ciências Veterinárias [Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002]*, SPCV, 3, 183–190.
- Quigley, H., Foster, R. J., Petracca, L., Payan, E., Salom, R., & Harmsen, B. J. (2017). *Panthera onca*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235, 8. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T20010A22247615.en>
- República, A. da. (2019). Decreto-Lei n.º 82/2019 de 27 de junho do Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas. *Diário Da República*, 121, 3060–3067. Retrieved from <https://dre.pt/home/-/dre/122728684/details/maximized>
- Rijnberk, A., & Kooistra, H. S. (2010). *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats*. *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats*. <https://doi.org/10.1201/9783899930917>
- Robinson, B., & Noakes, D. E. (2019). Reproductive Physiology of the Female. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 2–34. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-7233-8.00001-x>
- Rodolfo Reynoso Palomar, A., Woolrich Bermúde, D., Francisco Paredes Palestino, J., Beristain Cuanalo, B., Luna Valdez, M., & E Villa Mancera, A. (2020). A Case Report of Diagnosis and Resolution of Pyometra in a Jaguar (*Panthera onca*) with Heart Disease. *Acta Scientific Veterinary Sciences*, 2(11), 05–09. <https://doi.org/10.31080/asvs.2020.02.0105>
- Rodrigues, P., Limback, D., McGinnis, L. K., Plancha, C. E., & Albertini, D. F. (2008). Oogenesis: Prospects and challenges for the future. *Journal of Cellular Physiology*, 216(2), 355–365. <https://doi.org/10.1002/jcp.21473>
- Rodríguez-Alba, J. J., Linares-Matás, G., & Yravedra, J. (2019). First assessments of the taphonomic behaviour of jaguar (*Panthera onca*). *Quaternary International*, 517(April), 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2019.05.004>
- Romagnoli, S. (2015). Progestins to control feline reproduction: Historical abuse of high doses and potentially safe use of low doses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(9), 743–

752. <https://doi.org/10.1177/1098612X15594987>

- Rosenfield, D. A., & Pizzutto, C. S. (2018). Wildlife population control – Reproductive physiology under the influence of contraceptive methods in mammalian wildlife, with emphasis on immunocontraception: The best choice? A literature review. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 55(1). <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.129431>
- Samiko, S., LMelo, A., Kantek, D., Gransden, P., Morato, R., May-Júnior, J., ... Aguiar, D. (2014). Exposure of free-living jaguars to *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in the Brazilian Pantanal. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23(4), 547–553. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014077>
- Sapierzynski, R. A., Dolka, I., & Cywinska, A. (2009). Multiple pathologies of the feline uterus: A case report. *Veterinarni Medicina*, 54(7), 345–350. <https://doi.org/10.17221/101/2009-VETMED>
- Selvam, N. P., Bonal, B. S., & Sharma, R. K. (2005). Successful breeding and hand rearing of Jaguar cub *Panthera onca* in the National Zoological Park, New Delhi. *Zoos' Print*, 20(11), 23–25.
- Selvaraj, V., Wildt, D. E., & Pukazhenthil, B. S. (2011). Induced pluripotent stem cells for conserving endangered species? *Nature Methods*, 8(10), 805–807. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1715>
- Seruca, C. (2018). Canine and Feline Corneal Diseases, 14. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-53219-6>
- Seymour, K. (1989). *Panthera onca*, (340), 1–9.
- Sharma, R. K. (2007). Physiology of Male Gametogenesis. *Basic Science, Chapter 4*, 73–83.
- Silva, C., Onuma, S., de Aguiar, D., Dutra, V., & Nakazato, L. (2016). Molecular detection of Feline Leukemia Virus in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) in the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 20(3), 316–317. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.01.005>
- Silva, H. V. R., Nunes, T. G. P., Ribeiro, L. R., Freitas, L. A. de, de Oliveira, M. F., Assis Neto, A. C. de, ... Silva, L. D. M. da. (2019). Morphology, morphometry, ultrastructure, and mitochondrial activity of jaguar (*Panthera onca*) sperm. *Animal Reproduction Science*, 203(October 2018), 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.02.011>
- Silva, L. (2017). Ecology and Evolution of Melanism in Big Cats: Case Study with Black Leopards and Jaguars. *Big Cats*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69558>
- Silva, M. do C. M. S. (2015). Criopreservação de oócitos : efeito de diferentes protocolos na

viabilidade pós-vitrificação. *Universidade de Lisboa*.

- Silverstein, D. C. ., & Hopper, K. (2015). *SMALL ANIMAL CRITICAL CARE MEDICINE 2th edition*.
- Solano Gallego, L., Mirá, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites and Vectors*, *4*(1), 86. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>
- Stewart, R. A., Pelican, K. M., Brown, J. L., Wildt, D. E., Ottinger, M. A., & Howard, J. G. (2010). Oral progestin induces rapid, reversible suppression of ovarian activity in the cat. *General and Comparative Endocrinology*, *166*(2), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.12.016>
- Sunil K. Kota, Kotni Gayatri<sup>1</sup>, Sruti Jammula<sup>2</sup>, Siva K. Kota<sup>3</sup>, S. V. S. Krishna, L. K. M., & Modi, K. D. (2013). Endocrinology of parturition. *Mead Johnson Symposium on Perinatal and Developmental Medicine*, *17*(15), 8–15. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.107841>
- Swann, J. W., Garden, O. A., Fellman, C. L., Glanemann, B., Goggs, R., LeVine, D. N., ... Whitley, N. T. (2019). ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *33*(3), 1141–1172. <https://doi.org/10.1111/jvim.15463>
- Swanson, W. F., & Brown, J. L. (2004). International training programs in reproductive sciences for conservation of Latin American felids. *Animal Reproduction Science*, *82–83*, 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.008>
- Szlosek, D., Robertson, J., Quimby, J., Mack, R., Ogeer, J., Clements, C., ... Coyne, M. J. (2020). A retrospective evaluation of the relationship between symmetric dimethylarginine, creatinine and body weight in hyperthyroid cats. *PLoS ONE*, *15*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227964>
- Tekeli, T. (2015). Loss of Juveniles During Prenatal Period in Dogs and Cats Köpek ve Kedilerde Prenatal Dönemdeki Yavru Kayıpları Loss of Juveniles During Prenatal Period in Dogs and Cats, (November).
- Thongphakdee, A., Sukparangsi, W., Comizzoli, P., & Chatdarong, K. (2020). Reproductive biology and biotechnologies in wild felids. *Theriogenology*, *150*, 360–373. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.004>
- Thongphakdee, A., Tipkantha, W., Punkong, C., & Chatdarong, K. (2018). Monitoring and controlling ovarian activity in wild felids. *Theriogenology*, *109*, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.010>
- Tidball, K. G. (2014). Wildlife conservation. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-0753-5>

- Tiruneh, D., & Abdisa, T. (2017). Review on Canine Urolithiasis. *American Research Journal of Veterinary Medicine*, 1(1), 1–7. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26729.39521>
- Topie, E., Bencharif, D., Briand, L., & Tainturier, D. (2015). Early pregnancy diagnosis and monitoring in the queen using ultrasonography with a 12.5 MHz probe. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(2), 87–93. <https://doi.org/10.1177/1098612X14532088>
- Tortato, F. R., Devlin, A. L., Hoogesteijn, R., Júnior, J. A. M., Frair, J. L., Crawshaw, P. G., ... Quigley, H. B. (2017). Infanticide in a jaguar (*Panthera onca*) population—does the provision of livestock carcasses increase the risk? *Acta Ethologica*, 20(1), 69–73. <https://doi.org/10.1007/s10211-016-0241-4>
- Trzil, J. E. (2020). Feline Asthma: Diagnostic and Treatment Update. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 50(2), 375–391. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.10.002>
- Umopathy, G., Kumar, V., Wasimuddin, Kabra, M., & Shivaji, S. (2013). Detection of pregnancy and fertility status in big cats using an enzyme immunoassay based on 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\alpha$ -ol-20-one. *General and Comparative Endocrinology*, 180(1), 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.10.009>
- Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V., & Nikolov, Y. (2008). Anticoagulant rodenticide intoxication in animals - A review. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32(4), 237–243.
- Veraguas, D., Echeverry, D., Castro, F. O., & Rodriguez-Alvarez, L. (2017). Applied Biotechnologies in the Conservation of Wild Felids: In Vitro Embryo Production and Cellular Regenerative Therapies. *Big Cats*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71311>
- Verma, R., Liu, J., Holland, M. K., Temple-Smith, P., Williamson, M., & Verma, P. J. (2013). Nanog is an essential factor for induction of pluripotency in somatic cells from endangered felids. *BioResearch Open Access*, 2(1), 72–76. <https://doi.org/10.1089/biores.2012.0297>
- Verstegen, J., Dhaliwal, G., & Verstegen-Onclin, K. (2008). Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: A review. *Theriogenology*, 70(3), 304–319. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.035>
- Vickers, M. A., & Barker, R. N. (2020). Autoimmune hemolytic anemia. *The Autoimmune Diseases*, 897–910. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812102-3.00047-6>
- Victor, H., Silva, R., & Estadual, U. (2019). Biotécnicas reprodutivas em carnívoros neotropicais, (Conera 2018).
- Videan, E. N., Fritz, J., & Murphy, J. (2007). Retrospective Study of Morbidity and Mortality of Captive Jaguars (*Panthera onca*) in North America: 1982-2002. *Zoo Biology*, 26(2), 93–104. <https://doi.org/10.1002/zoo>

- Vilela, J. M. V., Leonel, E. C. R., Gonçalves, L. P., Paiva, R. E. G., Amaral, R. S., Amorim, C. A., & Lucci, C. M. (2019). Function of cryopreserved cat ovarian tissue after autotransplantation. *Animals*, 9(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani9121065>
- Volk, B. B. J. T. G. D. C. M. E. G. de M. H. A. (2011). Atualização em epilepsia canina - Parte I : Classificação , etiologia e diagnóstico, 9(29), 1–9.
- Weder, C. (2019). Canine Degenerative Mitral Valve Disease. *Definitions*, (Dmvd). <https://doi.org/10.32388/57qa4h>
- Williams, D. (2017). Obvious Ophthalmology : Corneal Ulceration, (June 2014).
- Wilson, D. (2015). *Wildlife of the world* (Vol. 3). Retrieved from <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Xenoulis, P. G. (2015). Diagnosis of pancreatitis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 56(1), 13–26. <https://doi.org/10.1111/jsap.12274>
- Zambelli, D., & Prati, F. (2006). Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens. *Theriogenology*, 66(1), 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.004>
- Zhou, X. H., Wan, X. T., Jin, Y. H., & Zhang, W. (2016). Concept of scientific wildlife conservation and its dissemination. *Zoological Research*, 37(5), 270–274. <https://doi.org/10.13918/j.issn.2095-8137.2016.5.270>