



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTUDO COMPARATIVO DE PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM
GOLFINHO-ROAZ (*Tursiops truncatus*)**

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária, orientada pela Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz, pelo Mestre João Miguel Nóbrega da Silveira (coorientador) e pelo Mestre Gonçalo Nogueira Marques (orientador externo).

Catarina Quelhas Vicente

2025

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTUDO COMPARATIVO DE PARÂMETROS
HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM
GOLFINHO-ROAZ (*Tursiops truncatus*)**

Catarina Quelhas Vicente

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida por Catarina Quelhas Vicente em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa no dia 9 de janeiro de 2026, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 747/2025, de 29 de dezembro, com a seguinte composição: Presidente: Professor Doutor Eduardo Miguel Baptista Ferreira Marcelino (Faculdade de Medicina Veterinária - ULusófona)

Vogal: Professora Doutora Nakita Câmara (Universidad De Las Palmas De Gran Canaria) - arguente

Orientador: Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz

Este trabalho também foi orientado por Mestre João Miguel Nóbrega da Silveira (coorientador) e Mestre Gonçalo Nogueira Marques (orientador externo).

Catarina Quelhas Vicente

2025

www.ulusofona.pt

Only if we understand, will we care.

Only if we care, will we help.

Only if we help shall all be saved.

Jane Goodall

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona e a todos os seus docentes e colaboradores, quero expressar a minha mais profunda gratidão por estes seis anos de ensino e formação excelente.

A Professora Doutora Ana Munhoz, minha orientadora, agradeço profundamente por toda a orientação, dedicação e acompanhamento contínuo ao longo destes anos. O seu apoio académico e humano foi essencial para o meu crescimento, sempre disponível para esclarecer dúvidas, orientar caminhos e proporcionar estabilidade e confiança em todas as etapas deste percurso.

Ao Dr. João Silveira, meu coorientador, agradeço igualmente pela disponibilidade, rigor e suporte constante ao longo deste trabalho.

Ao Dr. Gonçalo Marques, o meu “Pai”, o meu mais sincero e sentido obrigado. Foste muito mais do que um orientador — foste um mentor, um amigo e uma inspiração constante. Obrigada por me ajudares a caminhar mais e melhor em todos os percursos da minha vida, por acreditares em mim, por me motivares quando duvidei e por estares sempre presente com amizade, paciência e sabedoria sem igual. Sem ti, nada disto seria o mesmo.

À fantástica equipa do VetZoo – Enfermeira Rita, Dr. Miguel, Enfermeira Joana, Dr. Nuno e Dr. Gonçalo – o meu profundo obrigado por todo o apoio, partilha e boa disposição durante o estágio. Quero deixar um carinho especial à Rita e à Joana pela ajuda e incentivo diários, ao Dr. Nuno, agradeço profundamente pela confiança que depositou em mim e por acreditar sempre no meu trabalho e um agradecimento muito sentido ao Miguel, pela paciência, ensinamentos e amizade que marcaram tanto esta fase. Trabalhar convosco foi uma das partes mais bonitas deste percurso, espero continuar a caminhar ao vosso lado por mais anos.

Um agradecimento especial também a todas as equipas e colaboradores do Zoomarine, pelo acolhimento, pela paciência e pela dedicação diária aos animais. Gostaria ainda de expressar um agradecimento muito especial ao João Neves, cujo contributo foi fundamental para a realização desta dissertação, e a quem agradeço profundamente por toda a ajuda e apoio ao longo deste processo.

Aos meus pais, cujo apoio foi imprescindível para que eu pudesse realizar este curso. Sem a vossa generosidade, amor e dedicação, esta conquista não teria sido possível. Obrigada por cada gesto de carinho, por cada palavra de incentivo e por nunca deixarem que eu desistisse, mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus avós, a quem devo tudo, o meu eterno obrigado. Vocês proporcionaram a realização deste sonho e sempre acreditaram em mim, mesmo nos momentos mais desafiantes. A vossa força, amor e exemplo ensinaram-me que com determinação e atitude, qualquer objetivo pode ser alcançado.

A toda a minha família, que sempre esteve ao meu lado e me apoiou em cada passo desta jornada, o meu mais profundo agradecimento. Um agradecimento especial à minha prima-irmã, que dedicou tantas horas a ajudar-me nos primeiros anos de faculdade e foi uma fonte constante de motivação e suporte.

Ao João, por todo o companheirismo, amor e paciência. Por ser o melhor companheiro de vida. Obrigada por acreditares em mim e por me dares forças nos momentos em que mais precisei. A tua presença foi e será sempre fundamental, espero caminhar para sempre ao teu lado.

Aos amigos e colegas que se cruzaram comigo ao longo da faculdade, especialmente ao Meia Dúzia (Joana, Cláudia, João Bernardo, Jorge e Patrícia), à Maria Isabel e à Madalena, deixo o meu obrigado. Este curso não se faz sozinho, e cada um de vocês contribuiu para tornar esta caminhada mais leve e especial.

Por fim, à Côa e ao Zúli, agradeço por serem a minha inspiração diária e por me lembrarem da importância de ser mais e melhor a cada dia.

Resumo

O golfinho-roaz (*Tursiops truncatus*) é uma das espécies de cetáceos mais estudadas devido à sua ampla distribuição, complexidade social e relevância ecológica. A monitorização hematológica e bioquímica é fundamental para a medicina preventiva e para o acompanhamento clínico destes animais sob cuidados profissionais. O presente estudo retrospectivo teve como objetivo caracterizar e comparar parâmetros hematológicos e bioquímicos na população de golfinhos do Zoomarine, Algarve, no período de 2015 a 2023, de modo a contribuir para a definição de perfis de referência aplicáveis em contexto clínico-veterinário. Foram analisadas 2088 amostras de sangue correspondentes a 31 golfinhos, colhidas através de treino médico-comportamental. Os parâmetros avaliados incluíram contagem total de leucócitos e contagem total de neutrófilos, concentração de fibrinogénio, velocidade de sedimentação eritrocitária, concentração de ferro sérico e fosfatase alcalina sérica. A análise estatística, baseada em métodos não paramétricos, revelou uma elevada heterogeneidade interindividual, evidenciando a necessidade de considerar perfis individualizados no acompanhamento clínico. Entre várias correlações analisadas, algumas foram significativas, observando-se correlação positiva muito forte entre contagens totais de leucócitos e neutrófilos e o ferro sérico apresentou correlações negativas com outros marcadores inflamatórios. Estes resultados demonstram que, apesar da existência de tendências gerais, a interpretação clínica deve ser integrada e contextualizada, reforçando a importância da monitorização longitudinal e personalizada. O presente estudo contribui para a melhoria da prática clínica em medicina veterinária de cetáceos, fornecendo dados de referência relevantes para a avaliação do estado de saúde e bem-estar de golfinhos sob cuidados profissionais.

Palavras-chave: *Tursiops truncatus*, golfinho-roaz, hematologia, bioquímica, medicina preventiva.

Abstract

The bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) is one of the most studied cetacean species due to its wide distribution, social complexity, and ecological relevance. Hematological and biochemical monitoring is essential for preventive medicine and clinical follow-up of dolphins under professional care. This retrospective study aimed to characterize and compare hematological and biochemical parameters in the population of dolphins at Zoomarine, Algarve, between 2015 and 2023, contributing to the definition of reference values applicable in a clinical-veterinary context. A total of 2,088 blood samples from 31 dolphins were analyzed, collected through medical-behavioral training. Evaluated parameters included total leukocyte and neutrophil counts, fibrinogen concentration, erythrocyte sedimentation rate, serum iron, and serum alkaline phosphatase. Statistical analysis using nonparametric methods revealed high interindividual heterogeneity, emphasizing the need to consider individualized profiles in clinical practice. Among multiple correlations analyzed, some were significant, including a strong positive correlation between total leukocyte and neutrophil counts and negative correlations between serum iron and other inflammatory markers. These results indicate that, despite general trends, clinical interpretation should be integrated and contextualized, highlighting the importance of longitudinal and individualized monitoring. This study provides relevant reference data to support clinical assessment and enhance the health and welfare management of dolphins under professional care.

Keywords: *Tursiops truncatus*, bottlenose dolphin, hematology, biochemistry, preventive medicine.

Abreviaturas, siglas e símbolos

EAAM – Associação Europeia de Mamíferos Aquáticos, do inglês European Association of Aquatic Mammals

EAZA – Associação Europeia de Zoológicos e Aquários, do inglês European Association of Zoos and Aquariums

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza, do inglês International Union for Conservation of Nature

AIMM – Associação para Investigação do Meio Marinho

AAZV – Associação Americana de Veterinários Zoológicos, do inglês American Association of Zoo Veterinarians

AMMPA – Aliança de Parques e Aquários de Mamíferos Marinhos, do inglês Alliance of Marine Mammal Parks and Aquariums

IMATA – Associação Internacional de Treinadores de Mamíferos Marinhos, do inglês International Marine Animal Trainer's Association

ZIMS – Sistema de Gestão de Informação Zoológica, do inglês Zoological Information Management System

Et al. – E outros, da locução latina “*et alli*”

G – Gauge

PFAs – Proteínas de Fase Aguda

PCR – Proteína C-Reativa

SAA – Amiloide A Sérica

Hp – Haptoglobina

VSE – Velocidade de Sedimentação Eritrocitária

Hct – Hematócrito

DP – Desvio-Padrão

P5, P25, P50, P75, P95 – Percentis 5, 25, 50, 75 e 95

ρ – Coeficiente de correlação de Spearman

r – Coeficiente de correlação de Pearson

p – Valor de significância estatística

U/L – Unidades internacionais por litro

mg/dL – Miligramas por decilitro

$\mu\text{g/dL}$ – Microgramas por decilitro

cel/ μL – Células por microlitro

μL – Microlitro

H – Estatístico de Kruskal-Wallis

ε^2 – Tamanho do efeito (rank epsilon quadrado)

IL-6 – Interleucina 6

EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

% – Por cento

AHS – American Humane Society

Índice

Índice de Tabelas	11
Índice de Figuras	12
Índice de Gráficos.....	13
Descrição da casuística do estágio curricular	14
I. Introdução.....	19
1. <i>Tursiops truncatus</i>	19
2. Maneio geral dos golfinhos em contexto zoológico	20
3. Parâmetros hematológicos e bioquímicos no golfinho-roaz.....	22
4. Revisão de Literatura	24
4.1. Parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados.....	24
4.1.1. Leucócitos totais e diferenciais.....	24
4.1.2. Fibrinogénio.....	27
4.1.3. Velocidade de sedimentação eritrocitária.....	28
4.1.4. Ferro.....	29
4.1.5. Fosfatase alcalina.....	30
5. Objetivos.....	31
II. Materiais e métodos	32
1. População alvo.....	32
2. Colheita sanguínea.....	32
3. Processamento das amostras.....	33
4. Análise estatística	34
III. Resultados.....	36
IV. Discussão.....	41
V. Conclusão	47
VI. Referências Bibliográficas	49

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Estatística descritiva dos parâmetros hematológicos considerando o número total de observações disponíveis por parâmetro.....	36
Tabela 2 – Estatística descritiva dos parâmetros hematológicos no subconjunto com observações completas (N = 2088).....	37
Tabela 3 – Percentis (5, 25, 50, 75, 95) dos parâmetros hematológicos considerando o número total de observações disponíveis por parâmetro.	38
Tabela 4 – Percentis (5, 25, 50, 75, 95) dos parâmetros hematológicos no subconjunto com observações completas (N = 2088).....	39
Tabela 5 – Matriz de correlações de Spearman (N = 2088)	39
Tabela 6 – Matriz de correlações de Pearson (N = 2088)	40

Índice de Figuras

Figura 1 – Espécies presentes na coleção zoológica do Zoomarine e animais reabilitados no Porto d’Abrigo; a. <i>Phoca vitulina</i> ; b. <i>Ara militaris</i> ; c. <i>Cariama cristata</i> ; d. <i>Caretta caretta</i> (Porto d’Abrigo); e. <i>Paracanthurus hepatus</i> e <i>Amphiprion percula</i> ; f. <i>Falco peregrinus</i> ; g. <i>Tursiops truncatus</i> ; h. <i>Ara ararauna</i>	16
Figura 2 – a. Ecografia em <i>Tursiops truncatus</i> ; b. Colheita de sangue em <i>Ara glaucogularis</i> ; c. Exame físico sob anestesia inalatória (auscultação cardíaca) em <i>Ara ararauna</i> ; d. Administração de fluidoterapia subcutânea em <i>Anodorhynchus hyacinthinus</i> ; e. Laserterapia em <i>Ara chloropterus</i> ; f. Administração de fármacos por via intramuscular em <i>Cyprinus carpio</i>	18
Figura 3 – Golfinho-roaz (<i>Tursiops truncatus</i>)	20
Figura 4 – a. Posicionamento voluntário para colheita de sangue em <i>Tursiops truncatus</i> ; b. Colheita de sangue em <i>Tursiops truncatus</i>	33

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Representação esquemática do número de animais, organizados por espécie, acompanhados durante o estágio curricular no Zoomarine.	17
Gráfico 2 – Representação esquemática da casuística registada durante o estágio curricular no Zoomarine, organizada por especialidades médico-veterinárias.	18

Descrição da casuística do estágio curricular

Esta dissertação foi desenvolvida no âmbito do 6.º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona (FMV–ULusófona). O estágio curricular da autora decorreu no Zoomarine – Mundo Aquático S.A., localizado na Guia, Albufeira, entre 1 de outubro de 2024 e 1 de abril de 2025, com a duração de seis meses e um total aproximado de 1032 horas. A supervisão foi assegurada pelo médico veterinário do Zoomarine, Dr. Gonçalo Nogueira Marques, orientação interna pela Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz (FMV–ULusófona) e coorientação pelo Dr. João Miguel Nóbrega da Silveira (FMV–ULusófona).

O Zoomarine é um parque zoológico e oceanográfico, fundado em 1991, que dispõe de uma vasta coleção zoológica (Figura 1) dispersa por várias áreas, nomeadamente habitats para golfinhos-roaz (*Tursiops truncatus*), pinípedes [foca-vitulina (*Phoca vitulina*), foca-cinzenta (*Halichoerus grypus*), leão-marinho-da-Califórnia (*Zalophus californianus*), ótaria-sul-americana (*Artocephalus australis*)], aves tropicais, aves de rapina, répteis. Apresenta diversos aquários integrados no “Oceanus” e um habitat imersivo designado “Américas” que alberga diversas espécies de aves, répteis, uma preguiça-real (*Choloepus didactylus*) e um tatu (*Tolypeutes matacus*). O “Porto d’Abrigo”, centro de reabilitação de espécies marinhas, está vocacionado para o resgate, reabilitação e devolução à natureza de animais marinhos e outras espécies aquáticas autóctones. O parque desenvolve uma atividade multifacetada que combina conservação, educação ambiental, investigação científica e bem-estar animal.

Durante o estágio, a autora acompanhou e participou nas diversas atividades da equipa médico-veterinária que incluíram exames laboratoriais, medicina interna, cirurgias, técnicas de diagnóstico por imagem, necrópsias e tarefas de internamento com diversas espécies que estão descritas no Gráfico 1.

A autora acompanhou diversos casos clínicos envolvendo várias especialidades médico-veterinárias como oftalmologia, odontologia, gastroenterologia, dermatologia, reprodução, medicina integrativa em mamíferos marinhos, aves, répteis e peixes, estando a casuística apresentada no Gráfico 2. Nos golfinhos-roaz a autora realizou exame físico, colheita de sangue, administração de fármacos por via intramuscular, colocação de sonda retal para recolha de fezes e administração de ozono medicinal, laserterapia, ecografias (Figura 2-a.), controlos oftalmológicos e odontológicos, suporte nutricional por sonda gástrica e vacinação para prevenção de *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Nos pinípedes a autora efetuou exame físico, colheita de sangue, controlos oftalmológicos e odontológicos e administração de fármacos por

via intramuscular e subcutânea. Relativamente às aves, a autora realizou colheita de sangue (Figura 2-b.), exames físicos sob anestesia inalatória (Figura 2-c.), colheita de amostras de coana, papo e cloaca, administração de medicamentos por via intramuscular, tópica, subcutânea (Figura 2-d.) ou por sonda de alimentação, bem como laserterapia (Figura 2-e.). Nos répteis a autora efetuou colheita de sangue, laserterapia, administração de fluidoterapia por via intracelomática, administração de fármacos por via intramuscular, subcutânea e tópica, além de alimentação por sonda esofágica. Por fim, nos peixes realizou administração de fármacos por via intramuscular (Figura 2-f.) e tópica.

As técnicas de diagnóstico por imagem incluíram a realização de exames radiográficos e ecográficos em aves, peixes, répteis, golfinhos, pinípedes e preguiça-real, bem como apoio a procedimentos endoscópicos como celioscopias em aves e broncoscopia e gastroscopia em golfinhos.

Na área laboratorial a autora participou na recolha e processamento de amostras biológicas de várias espécies, incluindo sangue, urina, fezes, exsudado respiratório e suco gástrico. Estas análises incluíram exames bioquímicos e hematológicos como a contagem total de eritrócitos e leucócitos efetuada manualmente em aves e répteis com recurso a câmara de *Neubauer* utilizando coloração Natt-Herrick-TIC® para a visualização celular. Foi igualmente realizada a preparação e observação microscópica de esfregaços sanguíneos para avaliação morfológica e contagem diferencial de leucócitos. Foram ainda efetuadas análises macroscópicas e microscópicas de urina, avaliações citológicas de exsudado respiratório e suco gástrico, bem como análises de fezes através de esfregaços e métodos de flutuação e sedimentação.

Na área cirúrgica, a autora realizou intervenções como penectomias em tartarugas-de-orelhas-vermelhas (*Trachemys scripta*), participou em extrações dentárias em golfinhos-roaz e diversos pinípedes, colaborou em cirurgias ortopédicas em íbis-sagradas (*Threskiornis aethiopicus*), remoção de abscesso cutâneo num leão-marinho-californiano e celioscopias com recurso a biópsias em diversas aves.

No internamento a autora preparou e realizou a administração de dietas e fármacos, assim como procedeu à higienização e desinfeção de instalações e equipamentos.

Foram realizadas necrópsias a todos os animais cujo óbito foi declarado no parque, permitindo o estudo das causas de morte, estudos histopatológicos e a recolha de dados para registo na base de dados internacional ZIMS (Zoological Information Management System).

O estágio incluiu ainda a participação em sessões de treino comportamental médico-veterinário, que permitiram a colaboração voluntária dos animais em procedimentos médico-veterinários como recolha de sangue, variados tratamentos médicos, ecografias e/ou exames oftalmológicos.

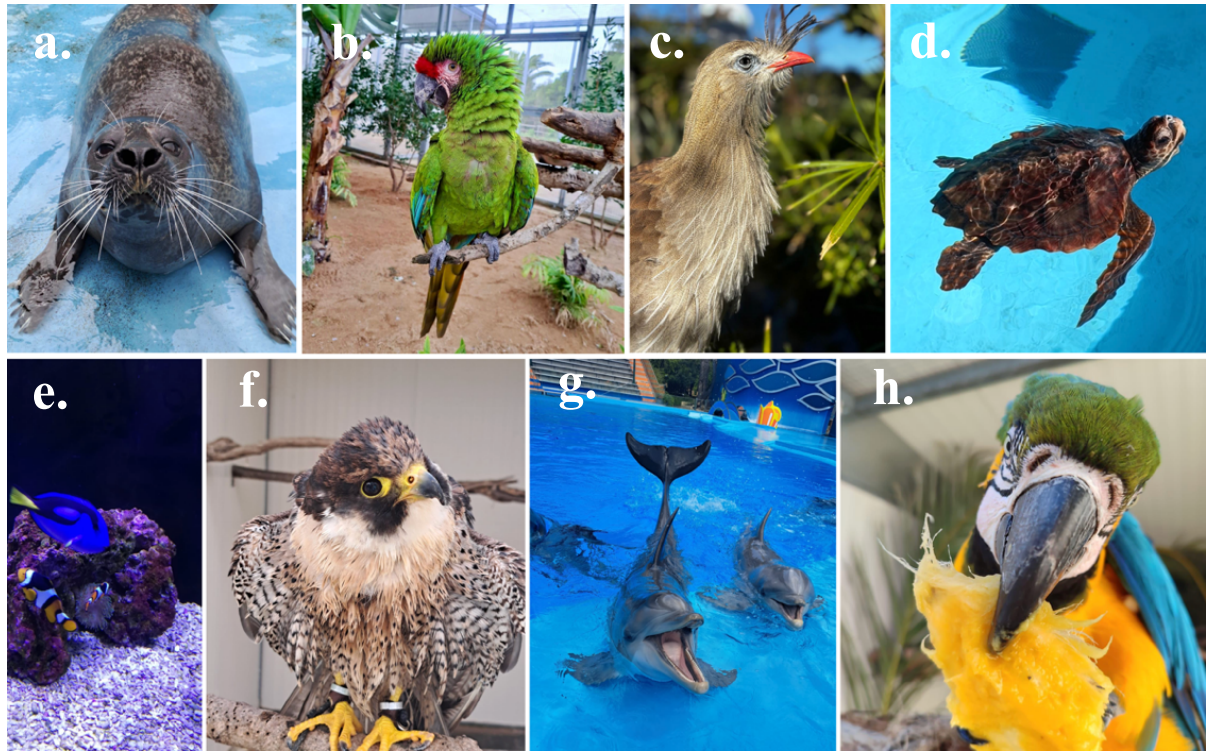


Figura 1 – Espécies presentes na coleção zoológica do Zoomarine e animais reabilitados no Porto d’Abrigo; a. *Phoca vitulina*; b. *Ara militaris*; c. *Cariama cristata*; d. *Caretta caretta* (Porto d’Abrigo); e. *Paracanthurus hepatus* e *Amphiprion percula*; f. *Falco peregrinus*; g. *Tursiops truncatus*; h. *Ara ararauna*. Fotografias originais da autora.

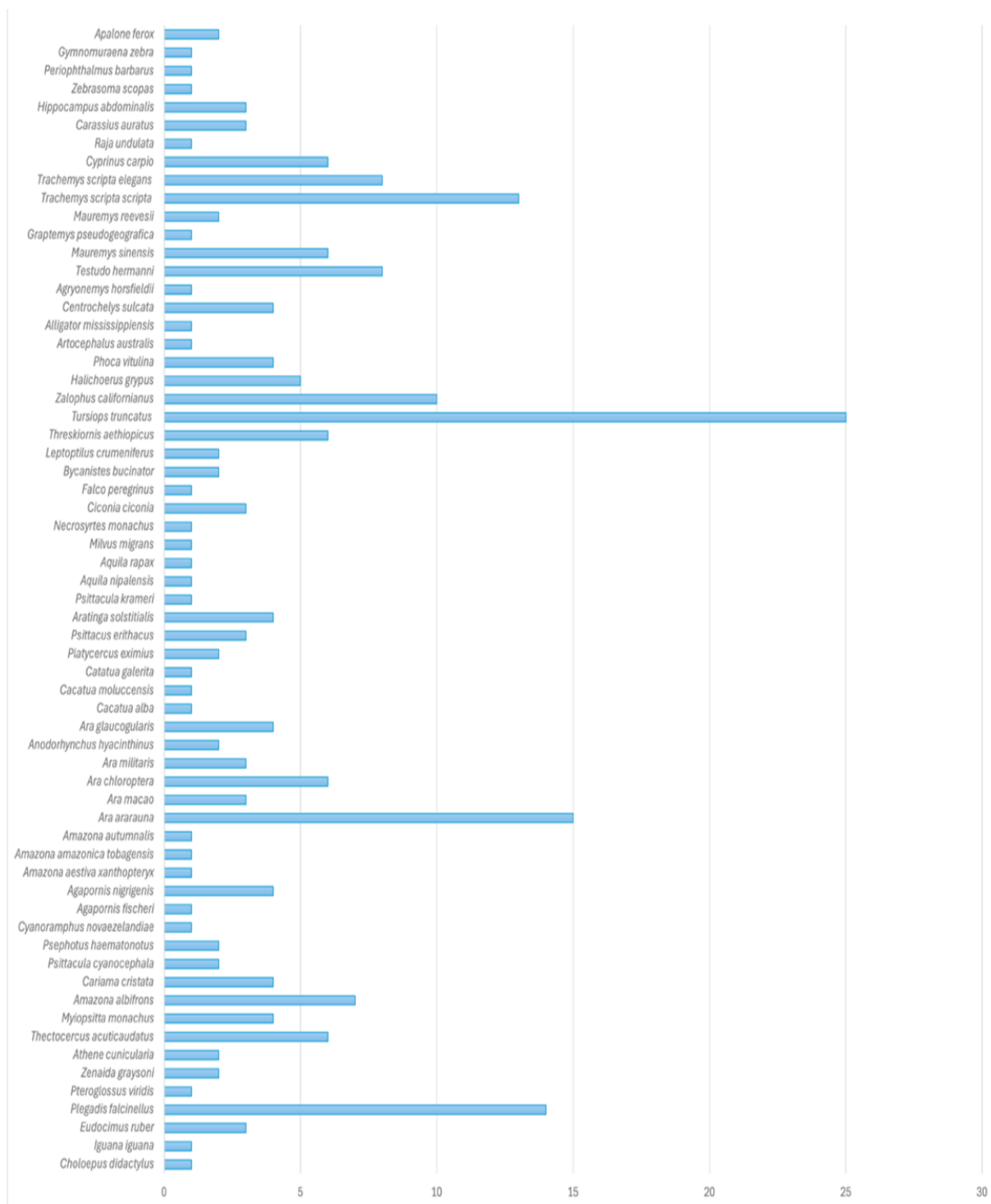


Gráfico 1 – Representação esquemática do número de animais, organizados por espécie, acompanhados durante o estágio curricular no Zoomarine.

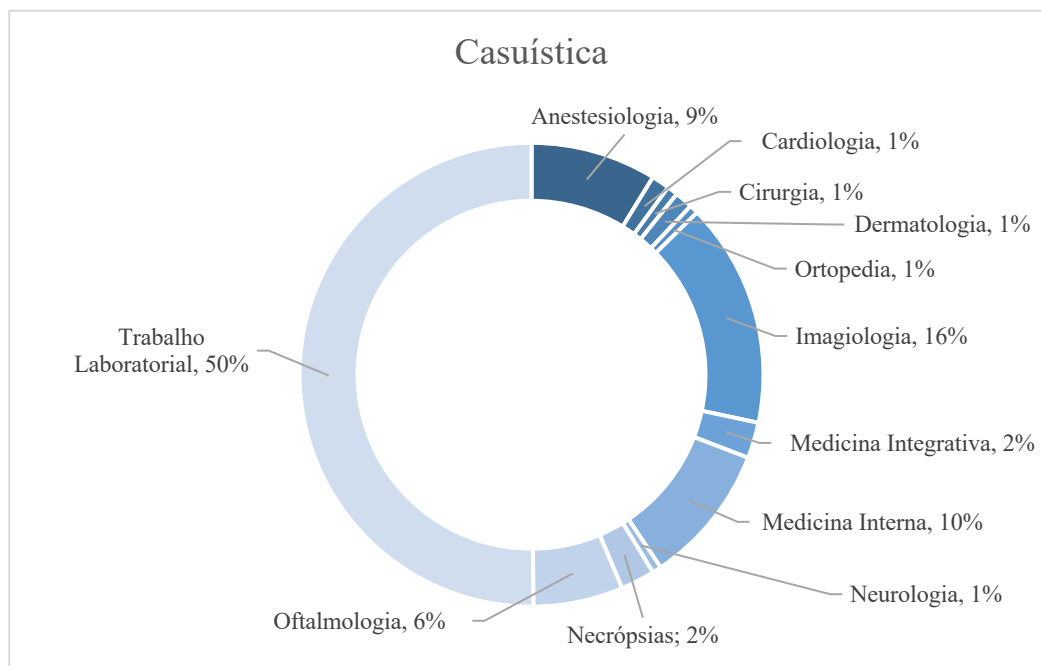


Gráfico 2 – Representação esquemática da casuística registrada durante o estágio curricular no Zoomarine, organizada por especialidades médico-veterinárias.

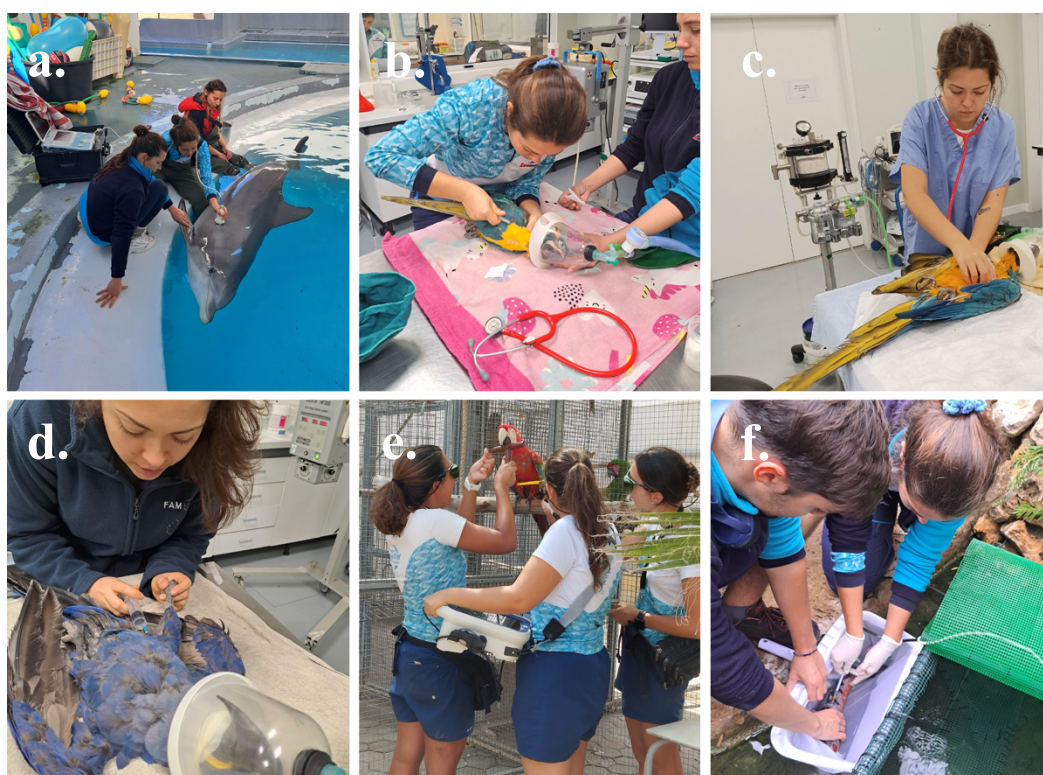


Figura 2 – a. Ecografia em *Tursiops truncatus*; b. Colheita de sangue em *Ara glaucogularis*; c. Exame físico sob anestesia inalatória (auscultação cardíaca) em *Ara ararauna*; d. Administração de fluidoterapia subcutânea em *Anodorhynchus hyacinthinus*; e. Laserterapia em *Ara chloropterus*; f. Administração de fármacos por via intramuscular em *Cyprinus carpio*. Fotografias originais da autora.

I. Introdução

1. *Tursiops truncatus*

O golfinho-roaz (*Tursiops truncatus*) (Figura 3) pertence à família Delphinidae e é encontrado em mares tropicais e temperados, tanto em regiões costeiras quanto oceânicas (Wells & Scott, 2009). É uma das espécies mais estudadas devido à sua ampla distribuição geográfica, comportamento social complexo, bem como à facilidade em se adaptar a vários ambientes, incluindo zoológicos, onde vivem sob cuidados profissionais com objetivos educacionais, científicos e de conservação (Cozzi *et al.*, 2017). Segundo a AIMM – Associação para Investigação do Meio Marinho (n.d.) e a IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza (Wells *et al.*, 2019), estes animais apresentam a nível internacional um estado de conservação pouco preocupante.

O golfinho-roaz está muito associado a zonas costeiras e, dessa forma, apresenta uma significativa pressão antrópica. As principais ameaças destes animais em ambiente selvagem são a bioacumulação de poluentes como metais pesados, pesticidas e fertilizantes (Wells & Scott, 2009). Outras pressões relevantes incluem a atividade portuária, que aumenta o risco de colisões com embarcações, a poluição sonora subaquática e a atividade de pesca, que pode reduzir a disponibilidade de alimento e resultar em capturas acidentais (Gulland *et al.*, 2018). Adicionalmente, a crescente presença de embarcações turísticas dedicadas à observação de cetáceos representa uma pressão social sobre estes animais (ARROJAL – Monitorização de cetáceos, n.d.).

O golfinho-roaz apresenta um corpo fusiforme e hidrodinâmico, exibindo um melão adiposo que juntamente com a sua complexa anatomia nasal e mandibular, é responsável pela capacidade de ecolocalização. O peso médio de um adulto varia entre 150 e 650 kg e o comprimento corporal varia entre 2 e 4 metros, dependendo do ecótipo e da distribuição geográfica. Esta espécie apresenta dimorfismo sexual, não só na robustez corporal, sendo os machos mais robustos que as fêmeas, como através da anatomia genital (Wells & Scott, 2009; Cozzi *et al.*, 2017). A esperança média de vida varia significativamente consoante o contexto ambiental. Em populações selvagens, apresentam uma expectativa média de vida entre 10 e 15 anos. Em contrapartida, dados provenientes de instituições zoológicas indicam uma esperança média de vida de aproximadamente 25 anos para os machos e 31 anos para as fêmeas, refletindo uma melhoria substancial na longevidade associada aos avanços nos cuidados médicos, nutricionais e ambientais em cativeiro. Atualmente, a esperança média de vida dos golfinhos-roaz em instituições zoológicas é entre 1,65 e 3,55 vezes superior comparativamente à dos

indivíduos em ambiente selvagem, demonstrando o impacto positivo das práticas modernas de manejo e da medicina preventiva na sobrevivência e bem-estar destes animais (Tidière *et al.*, 2023). As fêmeas atingem a maturidade sexual e física geralmente mais cedo do que os machos, entre 5 a 10 anos e entre 8 a 12 anos, respetivamente (Connor *et al.*, 2000). O período de gestação dura aproximadamente 12 meses. Os juvenis crescem significativamente nos primeiros dois anos de vida, no entanto podem permanecer com as mães num período entre 3 a 6 anos após o nascimento, podendo mesmo continuar a ser acompanhados pela mãe durante a gestação seguinte (Mann *et al.*, 2000; Wells & Scott, 2009).



Figura 3 – Golfinho-roaz (*Tursiops truncatus*) (Marques, 2019).

2. Maneio geral dos golfinhos em contexto zoológico

A medicina preventiva constitui o pilar central da manutenção da saúde e do bem-estar dos golfinhos-roaz em ambiente zoológico. Este conceito engloba um conjunto estruturado de práticas que inclui monitorização diária do comportamento e fisiologia, avaliações de bem-estar, planos nutricionais adequados, treino médico, exames clínicos periódicos, análises laboratoriais regulares, vigilância epidemiológica, controlo parasitológico e manutenção da qualidade da água. A sua importância reside na deteção precoce de alterações subclínicas, permitindo intervenções rápidas que reduzem a morbilidade, melhoram o prognóstico e

contribuem para a longevidade dos animais sob cuidados profissionais (EAAM, 2019; AMMPA, 2020; IMATA, 2021).

No contexto europeu a Associação Europeia de Mamíferos Aquáticos (EAAM) destaca o *Dolphin-WET* como a principal ferramenta para a avaliação contínua do bem-estar dos golfinhos-roaz sob cuidados profissionais. Este protocolo foi desenvolvido para apoiar a medicina preventiva através da monitorização regular de vários aspetos do animal e do seu ambiente, sendo baseado no Modelo dos Cinco Domínios: nutrição, ambiente, saúde, comportamento e estado mental. O *Dolphin-WET* utiliza um conjunto estruturado de indicadores baseados no animal (como condição corporal, sinais clínicos, comportamento social, motivação durante o treino e expressão emocional) e indicadores baseados nos recursos (como qualidade da água, características das instalações, dieta e práticas de manejo). Cada indicador possui critérios definidos que facilitam uma avaliação consistente ao longo do tempo. A combinação destes elementos permite detetar precocemente alterações subtis nos padrões individuais de cada golfinho, orientando decisões de manejo que promovem a saúde e o bem-estar dos animais sob cuidados profissionais (Baumgartner *et al.*, 2024).

A monitorização diária dos animais realizada por técnicos de bem-estar qualificados é fundamental para a identificação precoce de alterações comportamentais, alimentares ou fisiológicas. A comunicação contínua entre a equipa de bem-estar animal e os médicos veterinários permite respostas rápidas e fundamentadas, sendo um elemento central da abordagem preventiva (AMMPA, 2020; IMATA, 2021).

O treino médico, baseado em técnicas de condicionamento operante com reforço positivo, desempenha um papel essencial na medicina preventiva, permitindo que os golfinhos participem voluntariamente em procedimentos médico-veterinários, como ecografias, radiografias, colheita de urina, colheitas de sangue e administração de medicação. Este tipo de treino elimina a necessidade de contenção física e de procedimentos involuntários, promovendo previsibilidade e controlo por parte do animal. Além disso, aumenta substancialmente a segurança tanto dos animais como dos profissionais e melhora a qualidade das amostras recolhidas, possibilitando a realização de procedimentos com elevada frequência (IMATA, 2021; Carpenter *et al.*, 2016). No entanto, os comportamentos voluntários podem ser comprometidos em situações de doença. Nestes casos, é fundamental dispor de planos de contingência como o recurso a piscinas médicas com plataformas elevatórias, que permitam a contenção segura e eficaz do animal sempre que a cooperação voluntária não seja possível (Nollens *et al.*, 2018).

A EAAM recomenda o uso de dietas equilibradas compostas por uma variedade de peixes de alta qualidade e com suplementação vitamínica. Grande parte da dieta de mamíferos marinhos sob cuidados profissionais é composta por peixes previamente congelados, com destaque para espécies como o arenque (*Clupea harengus*), cavala (*Scomber scombrus*), peixe-rei (*Osmerus mordax*) e capelim (*Mallotus villosus*) (White, 1991; Scala & Brasseur, 2019). A suplementação vitamínica e mineral constitui uma prática essencial na alimentação destes animais devido à possibilidade de perdas nutricionais associadas ao armazenamento sob congelamento e à manipulação dos alimentos (White, 1991; Scala & Brasseur, 2019).

A qualidade da água é também um fator crucial para a saúde dos golfinhos. Para manter a qualidade adequada, a água pode ser submetida a filtração mecânica e biológica, seguida de tratamento químico com cloro, ozono e/ou radiação ultravioleta. As diretrizes para a qualidade da água dos golfinhos em cuidados profissionais concebem uma regulamentação de parâmetros como salinidade, pH, cloro, nitritos, nitratos, amônia e contagens microbiológicas como coliformes e enterobactérias (EAAM, 2019).

3. Parâmetros hematológicos e bioquímicos no golfinho-roaz

As avaliações laboratoriais desempenham um papel fundamental na medicina veterinária permitindo diagnósticos precisos, monitorização terapêutica, vigilância epidemiológica e promoção da saúde animal e pública. A integração destes exames no processo clínico facilita decisões informadas e baseadas em evidências contribuindo para melhores resultados clínicos e maior bem-estar animal (Thrall *et al.*, 2012). Os exames laboratoriais abrangem um conjunto vasto de parâmetros que refletem diferentes sistemas fisiológicos, incluindo função imunológica, metabolismo energético, equilíbrio eletrolítico e o funcionamento geral de órgãos e tecidos. A análise destes dados permite a deteção precoce de alterações patológicas, frequentemente antes do aparecimento de sinais clínicos evidentes (Nollens *et al.*, 2018; Gelain & Bonsembiante, 2019).

No contexto da medicina veterinária preventiva aplicada a mamíferos marinhos sob cuidados profissionais, as avaliações laboratoriais nomeadamente hematológicas e bioquímicas, assumem um papel essencial na monitorização da saúde, na resposta a tratamentos farmacológicos, na deteção precoce de alterações fisiopatológicas e na criação de bases de dados clínico-patológicas robustas (Venn-Watson *et al.*, 2007; Baumgartner *et al.*, 2024; Lauderdale *et al.*, 2021; Carpenter *et al.*, 2016).

Embora muitos parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados em golfinhos-roaz sejam semelhantes aos de outros mamíferos terrestres, estes animais apresentam adaptações fisiológicas específicas ao meio aquático que influenciam a homeostasia e o metabolismo. Estas particularidades exigem uma interpretação mais cautelosa dos resultados laboratoriais (Schwacke *et al.*, 2009; Leslie *et al.*, 2018).

Segundo Barratclough e colaboradores (2021) as amostras sanguíneas são comumente retiradas das veias caudais, situadas na região ventral e dorsal da barbatana caudal dos golfinhos, podendo ser utilizados diversos tipos de agulhas. A amostra é normalmente distribuída em diferentes tubos de colheita com diferentes aditivos anticoagulantes e separadores, como por exemplo, ácido etilenodiaminotetraacético de potássio (EDTA), citrato de sódio e gel separador de soro, conforme os requisitos das análises necessárias.

A análise laboratorial deve ser realizada de forma célere, preferencialmente num laboratório no local para garantir uma resposta clínica precoce e eficaz. Nos cetáceos, destacam-se determinados analitos como marcadores sensíveis de processos inflamatórios e de estados patológicos. Entre os mais relevantes encontram-se a contagem total e diferencial de leucócitos, a velocidade de sedimentação eritrocitária (VSE), a concentração de fibrinogénio, de fosfatase alcalina sérica (ALP) e de ferro sérico (Nollens *et al.*, 2018).

4. Revisão de Literatura

4.1. Parâmetros hematológicos e bioquímicos avaliados

A interpretação de parâmetros hematológicos e bioquímicos deve considerar uma variedade de fatores intrínsecos como o sexo, a idade e o estado reprodutivo, bem como fatores extrínsecos, incluindo a presença de infecções, condições ambientais e níveis de *stress*, uma vez que todos estes podem influenciar significativamente os valores obtidos (Schwacke *et al.*, 2009). A falta de valores de referência padronizados e amplamente consensuais constitui uma limitação importante no acompanhamento clínico dos golfinhos-roaz, dificultando o reconhecimento de variações fisiológicas normais e a construção de perfis individuais fiáveis (Lauderdale *et al.*, 2021).

A resposta de fase aguda nos cetáceos apresenta semelhanças com a de mamíferos terrestres, incluindo produção de proteínas inflamatórias a nível hepático e modulação da resposta imunológica. Em estudos hematológicos comparativos verificou-se que a resposta inflamatória em cetáceos pode ser mais complexa de identificar e analisar do que em outros mamíferos devido às adaptações fisiológicas e à pressão seletiva exposta pelo meio aquático (Segawa *et al.*, 2013).

Os cetáceos desenvolveram mecanismos protetores que suprimem ou atenuam esta resposta inflamatória como o aumento da expressão de enzimas antioxidantes e a modulação da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, que são cruciais para a indução das proteínas de fase aguda (PFAs) (Levin, 2018; Allen & Vázquez-Medina, 2019). Porém, ainda não existem estudos funcionais específicos que descrevam detalhadamente estes processos a nível celular e molecular em cetáceos para que o conhecimento destes mecanismos seja aprofundado (Allen & Vázquez-Medina, 2019).

4.1.1. Leucócitos totais e diferenciais

Os leucócitos desempenham um papel essencial na resposta imunológica dos mamíferos pois estão envolvidos na defesa contra agentes patogénicos, na resposta inflamatória e na regulação de processos imunomediados. A contagem total e diferencial dos leucócitos é um dos parâmetros mais utilizado para a avaliação da função imunológica em mamíferos, incluindo cetáceos (Bossart *et al.*, 2008; Nollens *et al.*, 2018).

Nos golfinhos-roaz a contagem total de leucócitos pode variar consideravelmente em função de diversos fatores (Hall *et al.*, 2007). Estudos indicam que a leucocitose em mamíferos, incluindo cetáceos, pode estar associada a processos inflamatórios agudos ou crónicos, doenças

infecciosas e *stress* fisiológico (Goldstein *et al.*, 2006; Tryland *et al.*, 2018; Duignan *et al.*, 2018). Por outro lado, a leucopenia pode indicar imunossupressão associada a infecções virais, intoxicações ou estados avançados de doença crônica (Duignan *et al.*, 2018; Claire *et al.*, 2018; Wellehan & Cortes-Hinojosa, 2019).

A contagem diferencial dos leucócitos inclui a identificação de neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Esta contagem, em conjunto com uma avaliação morfológica, serve como meio de diagnóstico, permitindo interpretar as alterações leucocitárias. As contagens diferenciais e a morfologia dos leucócitos nos cetáceos são interpretadas de forma semelhante às dos animais terrestres. Do mesmo modo, devem ser sempre associadas e avaliadas juntamente com outros parâmetros de avaliação inflamatória (Nollens *et al.*, 2018; Hall *et al.*, 2007). Todavia, a contagem diferencial de leucócitos pode permanecer inalterada em algumas doenças observadas em cetáceos, não acompanhando as alterações patológicas existentes (Bossart *et al.*, 2008; Nollens *et al.*, 2018).

Os neutrófilos constituem a principal população de células fagocitárias circulantes no sangue e representam a primeira linha de defesa do organismo a agentes infecciosos. Em cetáceos estas células apresentam um padrão de maturação e segmentação nuclear mais rápido em comparação com mamíferos terrestres, o que pode dificultar a interpretação de respostas inflamatórias quando se utilizam os critérios hematológicos convencionais (McBain, 1996).

A distinção entre neutrófilos em banda e neutrófilos segmentados segue tradicionalmente um critério morfológico estabelecido na hematologia de mamíferos, segundo o qual se considera ausência de segmentação quando esta corresponde a menos de 66% da largura do núcleo. No entanto, em cetáceos tem sido adotado um método mais restritivo que classifica como neutrófilo em banda qualquer célula com núcleo em forma de “U” de espessura uniforme ou com uma conexão de cromatina lobular (McBain, 1996; Reidarson, 2010). De forma complementar, define-se como neutrófilo segmentado aquele que apresenta pelo menos dois lóbulos distintos, separados por um ou mais filamentos (Stacy & Nollens, 2022; McBain, 1996). A aplicação deste critério mais sensível resulta na identificação de uma proporção superior de neutrófilos em banda, sendo comum que cetáceos clinicamente saudáveis apresentem cerca de um a três por cento destas células, podendo atingir até cinco por cento da contagem diferencial (Stacy & Nollens, 2022). Adicionalmente, é descrito que os neutrófilos em cetáceos podem conter grânulos secundários citoplasmáticos de coloração rosa ou laranja, aspecto semelhante ao observado em algumas espécies unguladas como girafas e poldros (Stacy & Nollens, 2022).

Os linfócitos constituem um dos principais componentes da resposta imunitária adaptativa, estando envolvidos na produção de anticorpos, na regulação da resposta inflamatória e na defesa contra infecções virais (Murphy *et al.*, 2017). Em mamíferos, incluindo cetáceos, os linfócitos são células esféricas com núcleo redondo e cromatina densa que ocupa grande parte da célula, deixando apenas uma estreita faixa de citoplasma basofílico (Tizard, 2022). Na presença de estímulos imunológicos, os linfócitos podem apresentar aumento de tamanho e projeções membranares (Tizard, 2022). A presença de linfócitos atípicos ou reativos, bem como de plasmócitos, é considerada rara em mamíferos marinhos clinicamente saudáveis, sendo geralmente associada a condições patológicas (Hall *et al.*, 2007).

Em mamíferos marinhos, especialmente cetáceos, a proporção de linfócitos no leucograma pode variar com a exposição a agentes patogénicos, *stress*, idade, sexo e estado reprodutivo. Em animais mantidos sob cuidados profissionais, as fêmeas tendem a apresentar contagens linfocitárias superiores às dos machos (Reidarson, 2010). A linfopenia é frequentemente observada em situações de *stress* agudo ou crónico, resultante da libertação de corticosteroides endógenos, que promovem a redistribuição ou apoptose dos linfócitos (Reidarson & McBain, 1999; Romano *et al.*, 2004; Keogh & Atkinson, 2015). Por sua vez, a linfocitose ocorre tipicamente em associação a infecções virais, neoplasias ou processos imunomediados (Bossart, 2008). Tal como em outras populações de leucócitos, os linfócitos podem apresentar variações consideráveis em intervalos curtos, o que compromete a interpretação isolada dos valores hematológicos (Schwacke *et al.*, 2009). Assim, a interpretação da linfocitose ou linfopenia deve sempre ser contextualizada com a apresentação clínica, outros parâmetros laboratoriais e achados anatomopatológicos (Beineke *et al.*, 2010).

Os eosinófilos são leucócitos com núcleo bilobado e citoplasma preenchido por numerosos grânulos eosinofílicos de coloração rosa a alaranjada. Os grânulos são geralmente uniformes e bem definidos, conferindo à célula um aspeto granular característico. O núcleo apresenta cromatina densa e os lóbulos estão geralmente ligados por filamentos finos de cromatina (Bainton *et al.*, 2005; Dvorak *et al.*, 1991). A eosinofilia está normalmente associada a respostas alérgicas, infecções fúngicas e parasitárias, semelhante ao descrito em mamíferos terrestres (Silva *et al.*, 2022). A eosinofilia está, também, descrita em animais expostos a biotoxinas ou com quadro de aspergilose broncopulmonar alérgica (Schwacke *et al.* 2009; Joseph *et al.* 1986; Magnussen 1992; Coleman *et al.* 1995).

Os basófilos representam uma fração muito pequena do total leucocitário em mamíferos (< 1%), incluindo cetáceos, podendo por vezes estar ausentes. No entanto,

desempenham um papel importante na resposta imunitária (Siracusa *et al.*, 2013). Morfológicamente, apresentam uma grande variabilidade no número, tamanho e intensidade de coloração dos grânulos citoplasmáticos basofílicos. Apesar desta heterogeneidade, os basófilos podem ser distinguidos com relativa facilidade de neutrófilos e eosinófilos com base nas suas características citomorfológicas (Hall *et al.*, 2007). Devido à sua baixa concentração sérica, a interpretação da basofilia em cetáceos continua a ser limitada (Nouri-Shirazi *et al.*, 2017).

Os monócitos apresentam, tipicamente, um núcleo reniforme, bilobado ou multilobado, com cromatina fina e homogênea. O citoplasma apresenta uma tonalidade basofílica clara. Em mamíferos marinhos clinicamente saudáveis, alguns monócitos podem exibir características de reatividade, evidenciando vacúolos citoplasmáticos em número variável e um citoplasma com coloração azulada mais intensa (Stacy & Nollens, 2022). Estas células são precursoras dos macrófagos teciduais e desempenham um papel crucial na fagocitose de agentes patogénicos (Ingersoll *et al.*, 2011). A monocitose pode estar associada a infeções crónicas ou estados inflamatórios persistentes, um achado comum tanto em cetáceos como em mamíferos terrestres durante doenças inflamatórias crónicas (Gelain & Bonsembiante, 2019; Owen *et al.* 2013).

4.1.2. Fibrinogénio

O fibrinogénio é uma glicoproteína plasmática sintetizada no fígado que desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostasia, constituindo um elemento essencial para a integridade do sistema circulatório (Center, 2024).

Esta glicoproteína tem um papel fundamental no processo de coagulação sanguínea, onde atua como precursor da fibrina, proteína responsável pela formação da matriz fibrosa que estabiliza os coágulos. Através da ação da trombina, o fibrinogénio é convertido em fibrina, formando uma rede tridimensional capaz de ocluir lesões vasculares, impedindo a perda excessiva de sangue e garantindo a restauração da barreira vascular (Center, 2024).

O fibrinogénio desempenha uma função essencial na adesão e agregação plaquetária, processo indispensável para a formação do tampão plaquetário inicial e que, quando desregulado, pode contribuir para a formação de trombos (Birkbeck, 2019; Russell, 2021).

O fibrinogénio é também classificado como uma PFA, apresentando um aumento significativo da sua concentração plasmática em resposta a processos inflamatórios, infecciosos, virais e traumáticos, sendo um indicador precoce de doenças inflamatórias sistémicas em cetáceos (Costa *et al.*, 2023; Gelain & Bonsembiante, 2019). Segundo Nollens e

colaboradores (2018), aumentos moderados de fibrinogénio, cerca de 20% acima dos valores habituais do indivíduo, podem já indicar uma alteração fisiológica relevante, embora variações superiores a 50% sejam geralmente mais compatíveis com processos inflamatórios significativos em cetáceos.

Apesar das particularidades inerentes à fisiologia hematológica dos cetáceos, a interpretação da concentração de fibrinogénio deve ser sempre contextualizada com os intervalos de referência disponíveis e, sobretudo, integrada com outros indicadores laboratoriais e com o histórico individual de cada animal, uma vez que a avaliação isolada deste parâmetro não permite uma caracterização clínica robusta (Stacy & Nollens, 2022).

4.1.3. Velocidade de sedimentação eritrocitária

A velocidade de sedimentação eritrocitária (VSE) é um parâmetro hematológico utilizado como indicador inespecífico de inflamação em medicina veterinária e humana (Nollens *et al.*, 2018). A VSE é um fenómeno biológico que descreve a agregação dos eritrócitos num tubo vertical contendo sangue total. Através da ação da gravidade, estas células sedimentam ao longo do tempo separando-se do plasma, sendo medido o comprimento da coluna de plasma livre de células após 60 minutos (Jou, 2012; Diamanti *et al.*, 2025).

A VSE é um fenómeno complexo influenciado por vários fatores, tais como o hematócrito (Hct) e as proteínas plasmáticas, especificamente o fibrinogénio e as globulinas (Fabry, 1987; Mayer, Pospíšil & Litzman, 1992). O Hct, que representa a proporção de eritrócitos no volume total de sangue, exerce uma influência inversa sobre a VSE, uma vez que à medida que o Hct aumenta, o volume de eritrócitos por unidade de plasma também aumenta, reduzindo o espaço intercelular disponível para a sedimentação e aumentando a resistência mecânica ao movimento descendente das células (Fabry, 1987; Holley *et al.*, 1999). Em contraste, a composição proteica do plasma tem um papel determinante na agregação eritrocitária. Particularmente, o fibrinogénio liga-se à superfície dos eritrócitos neutralizando as cargas negativas das suas membranas e promovendo a formação de agregados celulares, conhecidos como *rouleaux*. Esta agregação reduz a resistência hidrodinâmica dos eritrócitos e acelera a sua sedimentação (Holley *et al.*, 1999).

Na medicina de pequenos animais, aumentos significativos da VSE estão descritos em doenças ortopédicas, doenças do trato urinário, neoplasias, processos infecciosos e síndromes inflamatórias sistémicas (Diamanti *et al.*, 2025). Particularmente, gatos com doenças agudas

sobrepostas a quadros crónicos atingem valores ainda mais elevados deste parâmetro (Diamanti *et al.*, 2025).

Em contextos clínicos de doenças não inflamatórias ou em situações em que a resposta inflamatória é mínima ou localizada, os valores da VSE podem permanecer normais. Assim, valores reduzidos ou dentro dos intervalos de referência da VSE não excluem presença de doença.

Em medicina humana, está descrito que determinados fármacos — nomeadamente os anti-inflamatórios não esteroides, os corticosteroides e os antipiréticos como o ácido acetilsalicílico — podem provocar uma redução nos valores da VSE. Esta diminuição também pode ocorrer após a administração de agentes anestésicos como o propofol ou o tiopental (Jou, 2012; Diamanti *et al.*, 2025).

Embora seja considerado um marcador inespecífico, a VSE continua a ser muito utilizada em medicina de cetáceos, sobretudo devido à familiaridade e fiabilidade histórica por parte dos clínicos (Nollens *et al.*, 2018).

4.1.4. Ferro

O ferro é um oligoelemento essencial, desempenhando um papel crucial em diversos processos biológicos. Atua como cofator em proteínas fundamentais como a hemoglobina, a mioglobina e várias enzimas envolvidas na respiração mitocondrial e no metabolismo energético. Adicionalmente, participa na síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), na proliferação celular e no funcionamento eficaz do sistema imunitário (Hentze *et al.*, 2010). Nos cetáceos a homeostasia do ferro assume uma importância acrescida devido às adaptações fisiológicas ao mergulho, que exigem uma gestão eficiente das reservas de oxigénio. Estas espécies apresentam concentrações elevadas de hemoglobina e mioglobina, o que implica uma maior necessidade de ferro para a síntese e manutenção destas proteínas (Noren & Williams, 2000).

Os cetáceos demonstram predisposição para o desenvolvimento de hemocromatose, caracterizada por níveis persistentemente elevados de ferro sérico e uma elevada saturação da transferrina, a proteína responsável pelo seu transporte no sangue (Mazzaro *et al.*, 2012). Em casos mais avançados, esta acumulação pode levar à deposição de ferro nos tecidos, especialmente no fígado, resultando em alterações hepáticas, inflamação crónica e alterações metabólicas como a hiperlipidemia (Venn-Watson *et al.*, 2008).

Em humanos a hemocromatose é majoritariamente atribuída a variantes genéticas específicas, no entanto, em golfinhos não foram identificadas mutações genéticas significativas que justifiquem a ocorrência desta doença (Venn-Watson *et al.*, 2008). A ausência de um mecanismo eficaz de excreção do ferro, aliada a dietas potencialmente ricas neste mineral, doença hepática primária e possível resistência à insulina, têm sido apontadas como fatores que contribuem para esta doença (Mazzaro *et al.*, 2012). A realização de flebotomias terapêuticas, com o objetivo de reduzir as reservas corporais de ferro, resulta frequentemente na diminuição da sua concentração sanguínea. (Mazzaro *et al.*, 2012).

A redução dos níveis de ferro sérico em cetáceos pode refletir uma resposta fisiológica adaptativa durante processos inflamatórios agudos ou crônicos, funcionando como um marcador indireto de inflamação (Mazzaro *et al.*, 2012). Segundo Nollens e colaboradores (2018), os níveis de ferro sérico em cetáceos podem reduzir-se até cerca de 20% em relação ao valor basal num período de apenas 24 horas, refletindo a rapidez com que este parâmetro pode variar em resposta a alterações patológicas. Este fenómeno ocorre devido ao sequestro do ferro por macrófagos e hepatócitos, promovido por mecanismos mediados por citocinas inflamatórias, com o objetivo de limitar a disponibilidade deste oligoelemento essencial a microrganismos patogénicos (Ganz & Nemeth, 2012). Assim, a avaliação do ferro sérico deve ser simultânea à análise de outros parâmetros hematológicos para uma interpretação mais precisa do estado inflamatório do animal (Mazzaro *et al.*, 2012).

4.1.5. Fosfatase alcalina

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima envolvida na hidrólise de ésteres fosfatados, expressa em vários tecidos, sobretudo no fígado e nos ossos, desempenhando um papel fundamental em processos metabólicos (Fothergill *et al.*, 1991).

Em cetáceos os níveis séricos de ALP encontram-se geralmente elevados em indivíduos juvenis, devido à intensa remodelação óssea que ocorre durante o crescimento (Fothergill *et al.*, 1991; Dover, McBain & Little, 1993). À medida que os animais atingem a maturidade, os valores tendem a diminuir, o que torna este parâmetro útil na monitorização de alterações fisiológicas ao longo da vida, incluindo processos de crescimento (Nollens *et al.*, 2018).

O aumento da ALP pode estar relacionado com maior atividade metabólica, como o ganho de peso, enquanto valores reduzidos têm sido associados a inflamação sistémica, doença aguda ou crónica e diminuição da ingestão alimentar (Dover, McBain & Little, 1993).

Do ponto de vista clínico, a ALP apresenta uma boa sensibilidade como indicador de prognóstico e inflamação em cetáceos, já que os seus níveis tendem a reduzir-se precocemente em situações de doença (Nollens *et al.*, 2018). No entanto, apresenta uma especificidade reduzida, uma vez que os seus valores podem ser influenciados por diversos fatores fisiológicos e patológicos, sendo necessário associar a ALP a outros parâmetros clínico-laboratoriais (Venn-Watson *et al.*, 2007).

A base científica que comprova esta associação da ALP ao prognóstico em golfinhos permanece limitada. Em orcas (*Orcinus orca*) está clinicamente relatado que níveis de ALP persistentemente reduzidos podem indicar quadros de doença grave. Nestes casos, valores inferiores a 50 U/L têm sido interpretados como indicativos de prognóstico reservado, enquanto concentrações inferiores a 25 U/L têm sido associadas a um risco muito elevado de mortalidade (Nollens *et al.*, 2018).

5. Objetivos

O presente estudo tem como objetivos: (1) analisar os padrões de associação entre parâmetros hematológicos e bioquímicos relacionados com a resposta inflamatória nos golfinhos-roaz mantidos sob cuidados profissionais, de modo a avaliar de que forma estes marcadores variam em simultâneo no contexto da medicina preventiva; (2) analisar a correlação entre contagem total de leucócitos, contagem total de neutrófilos, fibrinogénio, velocidade de sedimentação eritrocitária, ferro sérico e fosfatase alcalina e determinar se o aumento ou diminuição de um parâmetro se reflete em alterações concordantes ou opostas nos restantes, permitindo compreender melhor a dinâmica fisiológica nesta espécie; (3) verificar se os padrões médios observados são compatíveis com o conhecimento atual sobre a biologia e a fisiopatologia dos cetáceos, contribuindo para uma interpretação mais integrada e informada dos resultados laboratoriais obtidos rotineiramente no âmbito da medicina preventiva.

II. Materiais e métodos

O presente trabalho consistiu num estudo retrospectivo submetido e aceite pelo Comité de Ciência do Zoomarine, Algarve. Todas as colheitas de sangue incluídas foram realizadas exclusivamente no âmbito de protocolos de medicina preventiva. Nenhum procedimento foi realizado propositadamente para fins científicos, uma vez que se trata de um estudo retrospectivo. Todas as práticas decorreram em conformidade com os protocolos de medicina preventiva do Zoomarine, suportados pelas guidelines da EAAM e da Associação Europeia de Zoológicos e Aquários (EAZA), sendo a instituição adicionalmente certificada pela *American Humane Society* (AHS).

1. População alvo

Foram incluídos neste estudo retrospectivo 31 golfinhos-roaz mantidos sob cuidados zoológicos profissionais no Zoomarine, Algarve no período compreendido entre os anos de 2015 e 2023.

2. Colheita sanguínea

As colheitas de sangue foram realizadas no âmbito de protocolos de medicina preventiva, recorrendo a treino médico-comportamental que permitiu a colaboração voluntária dos golfinhos sem necessidade de contenção física, sendo estas efetuadas mensalmente no contexto zoológico do Zoomarine. Os animais adotaram a posição de colheita com o acompanhamento dos técnicos de bem-estar animal, de acordo com o treino médico estabelecido. A região da veia ventral da barbatana caudal foi desinfetada com compressas embebidas em álcool a 96%. A punção foi realizada com cateteres borboleta de calibre entre 23G e 21G, inseridos num ângulo aproximado de 35°. Para a recolha sanguínea, foi acoplado um sistema de tubos de vácuo, incluindo tubo seco com gel separador, tubo com EDTA e tubo com citrato, conforme os objetivos analíticos definidos (Barratclough *et al.* 2021; Nollens *et al.* 2018).

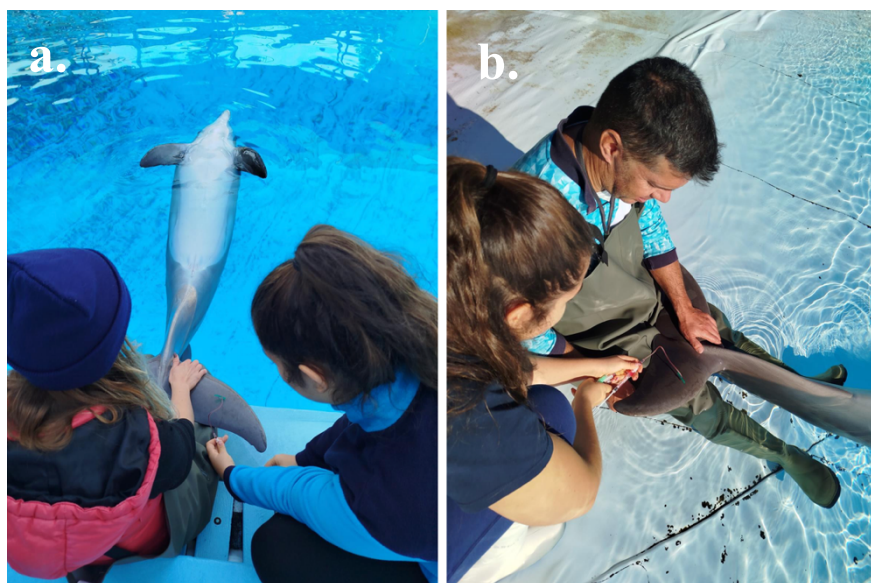


Figura 4 – a. Posicionamento voluntário para colheita de sangue em *Tursiops truncatus*; b. Colheita de sangue em *Tursiops truncatus*. Fotografias originais da autora.

3. Processamento das amostras

Para esta análise retrospectiva foram selecionados diversos parâmetros, nomeadamente, contagem total de leucócitos e de neutrófilos, VSE, concentração de ALP, de fibrinogénio e de ferro sérico, uma vez que constituem indicadores amplamente utilizados na avaliação de processos inflamatórios, resposta de fase aguda e alterações hematológicas em mamíferos marinhos. Estes marcadores oferecem consistência na monitorização do estado clínico, permitindo detetar alterações sistémicas mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes (Nollens *et al.*, 2018).

As amostras de sangue foram processadas e analisadas no laboratório veterinário interno do Zoomarine e, complementarmente num laboratório externo. Entre 2015 e 2022, a contagem total de leucócitos (cel/ μ L) foi realizada manualmente com recurso a uma câmara de *Neubauer*, utilizando o corante Leuko-TIC® (Bioanalytic®, 1:20, blue – plus), um corante comercial que permite a identificação dos leucócitos, facilitando a sua contagem nos quadrantes apropriados da câmara. A partir de 2022, a avaliação hematológica passou a ser efetuada com recurso ao equipamento VETSCAN HM5 (Abaxis®) que permitiu a realização de hemogramas completos. A validação interna das duas metodologias demonstrou que as contagens manuais e as obtidas pelo analisador automático são equivalentes, não havendo discrepâncias significativas entre os métodos. Para a avaliação morfológica e diferencial foram preparados

esfregações sanguíneas, corados com Diff-Quik, nos quais se determinaram as percentagens de neutrófilos.

A ALP (U/L) foi determinada a partir de amostras de soro, obtidas após centrifugação (Centurion Scientific Ltd. – Pro-Vet, 5.000 rpm, 5 min) de tubos secos com gel separador. O perfil bioquímico foi posteriormente analisado através do analisador químico VETSCAN® VS (Comprehensive Diagnostic Profile).

Os restantes parâmetros selecionados para o estudo foram analisados no laboratório externo Aqualab – Laboratório Clínico de Saúde Pública S.A. (Albufeira, Algarve). A VSE foi determinada pelo método de Westergren aos 60 minutos através do uso do tubo de colheita com EDTA. O fibrinogénio foi avaliado pelo método coagulométrico de Clauss através de amostras recolhidas num tubo de citrato e a concentração de ferro pelo método colorimétrico de ferrozina através das amostras de soro previamente centrifugadas.

4. Análise estatística

No presente estudo foram avaliados longitudinalmente seis parâmetros fisiológicos descritos anteriormente. Foram consideradas todas as contagens totais de leucócitos realizadas entre 2015 e 2023, independentemente do método de análise (manual ou automático).

A análise estatística iniciou-se com a verificação da distribuição das variáveis através dos testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov, tendo sido confirmado que nenhuma apresentava distribuição normal. Face à ausência de normalidade e à falta de homogeneidade de variâncias, foram utilizados métodos estatísticos não paramétricos.

Para avaliar diferenças entre indivíduos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis. Posteriormente, foram calculadas médias aritméticas das medições repetidas de cada animal, de forma a estabelecer perfis individuais por parâmetro. A identificação de valores extremos foi realizada através de z-scores, adotando-se como limiar $|z| > 2,58$ ($p < 0,01$). Para evitar exclusões resultantes de variações pontuais, definiu-se que apenas seriam removidos animais que apresentassem três ou mais parâmetros simultaneamente acima deste limiar.

A análise descritiva incluiu o cálculo de medidas de tendência central, dispersão e percentis (P5, P25, P50, P75, P95). Posteriormente, procedeu-se à análise de correlação entre os parâmetros. Para tal, adotou-se a estratégia *listwise*, de modo a assegurar comparabilidade direta entre as análises e preservar a integridade estatística. Como os dados ausentes não apresentaram padrão sistemático e a amostra final ($N = 2088$) manteve robustez adequada, esta abordagem garantiu que todas as correlações fossem calculadas sobre a mesma base

populacional. Foram então aplicadas correlações de Spearman apropriadas para dados não paramétricos, complementadas por correlações de Pearson com o objetivo de avaliar a sensibilidade das relações lineares.

A interpretação da magnitude das correlações seguiu critérios convencionais: valores absolutos até 0,19 foram classificados como muito fracos, entre 0,20 e 0,39 como fracos, entre 0,40 e 0,59 como moderados, entre 0,60 e 0,79 como fortes e iguais ou superiores a 0,80 como muito fortes.

III. Resultados

A análise inicial dos parâmetros hematológicos avaliados revelou que a amostra final incluiu 2088 observações válidas por variável, distribuídas ao longo de nove anos e referentes a 31 golfinhos. A estatística descritiva evidenciou médias e amplitudes distintas em cada parâmetro (Tabelas 1 e 2). A Tabela 1 apresenta os valores descritivos calculados com o número total de observações disponíveis por parâmetro, refletindo a dimensão inicial do conjunto de dados e as diferenças no número de medições registradas entre variáveis ao longo do período de estudo. Estas discrepâncias são posteriormente resolvidas através da criação de um subconjunto com observações completas ($N = 2088$), apresentado na Tabela 2 e utilizado nas análises estatísticas subsequentes. Com base nesse subconjunto, a contagem total de leucócitos obteve a média de 7167 cel/ μ L ($DP = 2380$), com valores mínimos de 2100 cel/ μ L e máximos de 21050 cel/ μ L. A contagem total de neutrófilos apresentou média de 4547 cel/ μ L ($DP = 1882$), com amplitude de 1174 a 19750 cel/ μ L. A VSE teve média de 11,4 mm/h ($DP = 6,4$), variando de 2 a 60 mm/h. A ALP registou média de 321 U/L ($DP = 254$), com amplitude de 46 a 2399 U/L. O fibrinogénio apresentou média de 242 mg/dL ($DP = 42$), com valores mínimos de 102 mg/dL e máximos de 602 mg/dL. O ferro sérico apresentou média de 153 μ g/dL ($DP = 55$), com mínimo de 12 μ g/dL e máximo de 554 μ g/dL.

Tabela 1 – Estatística descritiva dos parâmetros hematológicos considerando o número total de observações disponíveis por parâmetro.

Variável	N	Média	DP	Mínimo	Máximo
Contagens totais de leucócitos	2737	7125,85	2326,693	1700	21050
Contagens totais de neutrófilos	2715	4536,24	1842,62	1174,4	19750,5
Velocidade de sedimentação eritrocitária	2699	11,59	6,376	2	60
Fosfatase Alcalina	2182	321,20	256,074	46	2399
Fibrinogénio	2708	239,67	42,335	102	602
Ferro sérico	2712	153,41	55.233	8	578

Tabela 2 – Estatística descritiva dos parâmetros hematológicos no subconjunto com observações completas (N = 2088).

Variável	N	Média	DP	Mínimo	Máximo
Contagens totais de leucócitos	2088	7167,31	2380,949	2100	21050
Contagens totais de neutrófilos	2088	4546,88	1881,99	1290	19740
Velocidade de sedimentação eritrocitária	2088	11,42	6,384	2	60
Fosfatase Alcalina	2088	320,85	254,173	46	2399
Fibrinogénio	2088	241,58	41,922	102	602
Ferro sérico	2088	152,58	53,523	12	554

Os testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk) demonstraram que nenhuma das distribuições seguiu o padrão normal ($p < 0,001$ em todas as variáveis), confirmando a necessidade de aplicar métodos estatísticos não paramétricos, mais robustos perante distribuições assimétricas ou com valores extremos. Os testes de Kruskal-Wallis confirmaram heterogeneidade significativa entre animais para todos os parâmetros com tamanhos de efeito substanciais (contagem total de leucócitos: $H = 1245.663$, $\varepsilon^2 = 0.455$; contagem total de neutrófilos: $H = 961.345$, $\varepsilon^2 = 0.354$; VSE: $H = 223.413$, $\varepsilon^2 = 0.083$; fosfatase alcalina: $H = 1347.665$, $\varepsilon^2 = 0.618$; fibrinogénio: $H = 645.614$, $\varepsilon^2 = 0.238$; ferro sérico: $H = 1291.405$, $\varepsilon^2 = 0.476$; todos $df = 30$; $p < 0.001$). Estes resultados confirmam uma marcada heterogeneidade interindividual, com tamanhos de efeito que variaram entre fracos e fortes, reforçando a necessidade de caracterizar perfis hematológicos individuais para cada animal.

Face a esta heterogeneidade, optou-se por sintetizar a informação repetida por animal através do cálculo da média aritmética das múltiplas medições, permitindo a construção de perfis hematológicos individuais. Uma vez que os dados não seguem uma distribuição normal, esta opção permitiu consistência com o cálculo subsequente de z-scores padronizados, manteve sensibilidade para a deteção de perfis extremos e foi equilibrada pela aplicação de um critério de exclusão mais restritivo ($|z| > 2,58$; $p < 0,01$). A escolha deste limiar — equivalente a um intervalo de confiança de 99% — assegurou que apenas valores verdadeiramente extremos fossem considerados *outliers*. Nenhum dos 31 animais cumpriu o critério múltiplo definido, no qual apenas seriam excluídos animais que apresentassem ≥ 3 parâmetros simultaneamente acima daquele limiar, pelo que a amostra foi mantida na íntegra.

As médias da contagem total de leucócitos por animal variaram de 4734 a 21050 cel/ μ L (média geral = 7599/ μ L; DP=2888). Para a contagem total de neutrófilos, as médias oscilaram entre 3190 e 7422 cel/ μ L (média geral = 4601 cel/ μ L; DP=1188). A média da VSE por animal variou entre 7,8 e 15,2 mm/h (média geral = 11,5 mm/h; DP=1,6). A ALP apresentou

maior dispersão, com médias entre 122 e 975 U/L (média geral = 334 U/L; DP=222). A média do fibrinogénio variou entre 198 e 301 mg/dL (média geral = 241 mg/dL; DP=21). A média do ferro sérico apresentou variação entre 51 e 305 µg/dL (média geral = 156 µg/dL; DP=45).

A análise de percentis evidenciou intervalos mais concentrados dentro da distribuição (Tabelas 3 e 4). A Tabela 3 apresenta os percentis calculados com o número total de observações disponível para cada parâmetro na amostra original, permitindo descrever a distribuição completa dos dados antes da filtragem e evidenciando igualmente as diferenças no número de medições entre variáveis. A Tabela 4 complementa esta informação ao apresentar os percentis calculados no subconjunto com observações completas (N = 2088). Com base nesse subconjunto, na contagem total de leucócitos o P5 correspondeu a 4150 cel/µL e o P95 a 11600 cel/µL. Na contagem total de neutrófilos o P5 foi de 2100 cel/µL e o P95 de 7900 cel/µL. Para a VSE o P5 foi de 5 mm/h e o P95 de 22 mm/h. Na ALP o P5 foi de 101 U/L e o P95 de 782 U/L. Para o fibrinogénio o P5 foi de 187 mg/dL e o P95 de 313 mg/dL. No ferro sérico o P5 foi de 70 µg/dL e o P95 de 249 µg/dL. Estes resultados evidenciam que, embora existam valores extremos, a maior parte da amostra concentra-se em intervalos relativamente estreitos e fisiologicamente dentro dos parâmetros descritos por outros autores (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.* 2007; Goldstein *et al.* 2006).

Tabela 3 – Percentis (5, 25, 50, 75, 95) dos parâmetros hematológicos considerando o número total de observações disponíveis por parâmetro.

Variável	N	P5	P25	P50	P75	P95
Contagens totais de leucócitos	2737	4200	5500	6700	8200	11520,50
Contagens totais de neutrófilos	2720	2100	3200	4300	5500	7800
Velocidade de sedimentação eritrocitária	2699	5	7	10	14	22
Fosfatase Alcalina	2182	101	169	243	394	782
Fibrinogénio	2708	183	214	236	258	314,55
Ferro sérico	2712	70	120	148	182	250

Tabela 4 – Percentis (5, 25, 50, 75, 95) dos parâmetros hematológicos no subconjunto com observações completas (N = 2088).

Variável	P5	P25	P50	P75	P95
Contagens totais de leucócitos	4150	5500	6700	8350	11600
Contagens totais de neutrófilos	2100	3200	4350	5600	7900
Velocidade de sedimentação eritrocitária	5	7	10	14	22
Fosfatase Alcalina	101	169	243	394,75	782
Fibrinogénio	187	216	237	258	313
Ferro sérico	70	120	148	181	249

A análise de correlação foi realizada recorrendo à abordagem *listwise*, garantindo que todas as relações fossem avaliadas sobre a mesma base amostral. Aplicaram-se correlações de Spearman e de Pearson, permitindo explorar tanto associações não paramétricas como lineares. Nas Tabelas 5 e 6, a significância estatística para ambos os métodos é assinalada através de símbolos, correspondendo a diferentes níveis de evidência contra a hipótese nula, incluindo marcações específicas para $p < 0,01$.

As análises de correlação apresentadas nas Tabelas 5 e 6, evidenciaram diversas associações entre os parâmetros hematológicos e bioquímicos, das quais se destacam correlações significativamente positivas entre a contagem total de leucócitos e a de neutrófilos, e entre a contagem total de leucócitos e a VSE. Do mesmo modo, é de salientar o ferro sérico que apresentou várias correlações negativas, nomeadamente com a contagem total de leucócitos e de neutrófilos, bem como com a VSE e o fibrinogénio, além de uma correlação positiva com a fosfatase alcalina, ainda que menos expressiva. Adicionalmente, no fibrinogénio verificou-se uma correlação negativa com a fosfatase alcalina.

Tabela 5 – Matriz de correlações de Spearman (N = 2088)

	1	2	3	4	5	6
1. Contagem total de leucócitos	1.000	0.838*	0.123*	-0.019	0.088*	-0.189*
2. Contagem total de neutrófilos		1.000	0.104*	-0.181*	0.199*	-0.317*
3. Velocidade de sedimentação eritrocitária			1.000	-0.184*	0.033	-0.134*
4. Fosfatase Alcalina				1.000	-0.166*	0.271*
5. Fibrinogénio					1.000	-0.177*
6. Ferro sérico						1.000

(* $p < 0,01$)

Tabela 6 – Matriz de correlações de Pearson (N = 2088)

	1	2	3	4	5	6
1. Contagem total de leucócitos	1.000	0.881*	0.171*	-0.030	0.125*	-0.181*
2. Contagem total de neutrófilos		1.000	0.168*	-0.209*	0.218*	-0.284
3. Velocidade de sedimentação eritrocitária			1.000	-0.142*	0.177*	-0.134*
4.Fosfatase Alcalina				1.000	-0.138*	0.412*
5.Fibrinogénio					1.000	-0.186*
6.Ferro sérico						1.000

(* $p < 0,01$)

IV. Discussão

A avaliação hematológica e bioquímica de golfinhos-roaz constitui uma ferramenta fundamental na medicina preventiva e no acompanhamento clínico destes animais sob cuidados zoológicos profissionais (Venn-Watson *et al.*, 2007). O presente estudo retrospectivo, abrangendo um total de 2088 amostras sanguíneas de 31 indivíduos permitiu não apenas caracterizar parâmetros laboratoriais de rotina, mas também analisar a variabilidade intra e interindividual e as relações existentes entre os diferentes parâmetros, contribuindo para uma compreensão mais robusta da fisiologia hematológica desta espécie. No entanto, dado que as amostras foram obtidas no âmbito da medicina preventiva, não é possível assegurar o estado fisiológico dos animais no momento da colheita. Assim, as variações observadas devem ser interpretadas com prudência, podendo refletir diferenças individuais ou alterações fisiológicas transitórias. Este contexto justifica também a predominância de correlações fracas entre os parâmetros analisados, uma vez que, na ausência de confirmação clínica, é provável que a maioria das amostras represente estados fisiológicos diversos, provavelmente não associados a processos patológicos. A variabilidade biológica observada neste trabalho, em particular a heterogeneidade interindividual, não deve ser interpretada como uma simples dispersão estatística, mas sim como reflexo da complexidade fisiológica desta espécie. Tal como descrito na bibliografia, a relevância de perfis hematológicos personalizados e os resultados obtidos confirmam a necessidade de um acompanhamento individualizado em detrimento de valores de referência uniformes (Lauderdale *et al.*, 2021).

A contagem total média de leucócitos (7167 cel/ μ L) situa-se dentro dos intervalos descritos para golfinhos sob cuidados profissionais (5000-19500 cel/ μ L), corroborando observações anteriores (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.* 2007; Goldstein *et al.* 2006). A amplitude registada (2100–21050 cel/ μ L) demonstra que a variação intraespécie é considerável. Essa amplitude pode ser atribuída a fatores intrínsecos como idade, sexo, estado reprodutivo e condição fisiológica, mas também a fatores extrínsecos como qualidade da dieta e variações ambientais (Schwacke *et al.*, 2009).

A correlação positiva muito forte entre a contagem total de leucócitos e neutrófilos confirma a importância dos neutrófilos como principais responsáveis por variações leucocitárias, em particular durante processos inflamatórios (Levin *et al.*, 2018). Os resultados obtidos demonstram que variações marginais dentro de intervalos fisiológicos são frequentes nesta espécie, o que está de acordo com o descrito por vários autores (Venn-Watson *et al.*, 2007; Goldstein *et al.*, 2006). Assim, a interpretação destes parâmetros deve ser integrada com outros

marcadores laboratoriais e informação clínica, evitando conclusões baseadas em valores isolados (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.*, 2007; Goldstein *et al.*, 2006).

A correlação positiva, embora muito fraca, entre contagem total de leucócitos e a VSE indica que ambos os parâmetros podem variar de forma paralela em variadas circunstâncias fisiológicas. Este comportamento é fisiologicamente consistente, uma vez que a inflamação aumenta as PFAs, que por sua vez aceleram a sedimentação dos eritrócitos (Holley *et al.*, 1999; Gelain & Bonsembiante, 2019).

Entre a contagem total de leucócitos e a ALP observou-se uma correlação negativa, ainda que muito fraca e não significativa, sugerindo que aumentos marginais de leucócitos podem ocorrer em simultâneo com reduções da ALP. Embora esta associação careça de significância estatística, a ALP sendo uma enzima de origem hepática e óssea, tende a reduzir-se em situações de inflamação quando a prioridade metabólica do fígado é a produção de PFAs (Gelain & Bonsembiante, 2019). Assim, mesmo que discreta, a tendência negativa entre leucócitos e ALP pode refletir respostas metabólicas subtis associadas a inflamações transitórias (Fothergill *et al.* 1991).

A correlação entre a contagem total de leucócitos e o fibrinogénio foi positiva, mas muito fraca, o que sugere que ambos os parâmetros aumentam de forma paralela em determinadas circunstâncias, ainda que de modo discreto. O fibrinogénio, enquanto PFA positiva, é produzido em resposta à estimulação de citocinas inflamatórias, que também promovem a ativação e proliferação de leucócitos (Gelain & Bonsembiante, 2019). Em processos agudos, esta associação tende a manifestar-se de forma evidente e consistente; contudo, em populações sob vigilância preventiva, como neste estudo, é expectável que a correlação se mantenha ténue (Schwacke *et al.*, 2009; Lauderdale *et al.*, 2021).

A correlação negativa entre a contagem total de leucócitos e ferro sérico observada sugere que pequenas variações nestes parâmetros podem refletir ajustamentos fisiológicos na redistribuição do ferro corporal (Mazzaro *et al.*, 2012). Em situações de ativação imunitária o ferro sérico é redistribuído do plasma para locais de armazenamento, nomeadamente macrófagos e hepatócitos, reduzindo a sua disponibilidade circulante. Este processo é uma estratégia de defesa do hospedeiro, ao limitar a disponibilidade de ferro para potenciais agentes patogénicos (Ganz & Nemeth, 2012).

A contagem total média de neutrófilos foi de 4546 cel/ μ L, dentro dos intervalos descritos para golfinhos sob cuidados zoológicos profissionais (3230–5420 cel/ μ L) (Gulland *et al.*, 2018) e em populações selvagens (1800–12,700 cel/ μ L) (Venn-Watson *et al.*, 2007; Hall *et*

al., 2007; Nollens *et al.*, 2018). As diferenças entre contextos refletem fatores como nível de exposição a agentes patogénicos, *stress* ambiental e estado metabólico (Bossart *et al.*, 2008; Nollens *et al.*, 2018; Schwacke *et al.*, 2009). A amplitude da contagem total de neutrófilos registada no presente estudo (1290–19740 cel/ μ L) sugere a ocorrência de variações fisiológicas que podem surgir em resposta a estímulos inflamatórios agudos, *stress* ou microlesões, mas também a flutuações imunitárias transitórias.

A correlação entre a contagem total de neutrófilos e a VSE foi positiva, embora muito fraca e não estatisticamente significativa, o que indica que aumentos na proporção de neutrófilos tendem a acompanhar elevações discretas na VSE. Esta relação é fisiologicamente esperada, uma vez que ambos os parâmetros refletem componentes distintos da resposta inflamatória: os neutrófilos traduzem a ativação celular do sistema imunitário inato, enquanto a VSE reflete a resposta humoral mediada por PFAs (Gelain & Bonsembiante, 2019; Holley *et al.*, 1999).

A correlação entre a contagem total de neutrófilos e a ALP foi negativa, ainda que muito fraca, indicando que valores mais elevados de neutrófilos tendem a associar-se a níveis ligeiramente mais baixos de ALP. Este comportamento inverso está em concordância com o mecanismo fisiológico já descrito anteriormente, uma vez que durante a resposta inflamatória o fígado redireciona a sua atividade metabólica para a síntese de PFAs, o que pode resultar numa ligeira redução da atividade de enzimas como a ALP (Nollens *et al.*, 2018; Gelain & Bonsembiante, 2019).

A correlação entre a contagem total de neutrófilos e fibrinogénio foi positiva, embora fraca, em conformidade com o mecanismo clássico da resposta inflamatória aguda. Em cetáceos, aumentos paralelos destes parâmetros estão documentados em processos inflamatórios estabelecidos (Nollens *et al.*, 2018). Por sua vez, a correlação entre a contagem total de neutrófilos e o ferro sérico foi negativa e fraca, concordante com a redistribuição do ferro associada à resposta de fase aguda, que diminui a sua disponibilidade plasmática (Mazzaro *et al.*, 2012).

A VSE apresentou uma média de 11,4 mm/h, enquadrando-se nos valores descritos para golfinhos clinicamente estáveis (0–18 mm/h) (Venn-Watson *et al.*, 2008). No entanto, a amplitude observada neste estudo (2–60 mm/h) foi superior à reportada em trabalhos anteriores, o que poderá refletir diferenças fisiológicas individuais ou respostas inflamatórias presentes em parte das amostras analisadas (Holley *et al.*, 1999; Bossart *et al.*, 2008; Gelain & Bonsembiante, 2019).

A correlação entre a VSE e a ALP foi negativa, ainda que muito fraca e não estatisticamente significativa, indicando que, em média, valores mais elevados de VSE correspondem a níveis ligeiramente mais baixos de ALP. Esta tendência segue o mesmo raciocínio fisiológico previamente descrito para outros parâmetros, refletindo o redirecionamento metabólico hepático durante a resposta inflamatória (Gelain & Bonsembiante, 2019; Nollens *et al.*, 2018).

A análise comparativa revelou uma correlação positiva, embora muito fraca e não estatisticamente significativa, entre a VSE e o fibrinogénio. Esta relação, ainda que discreta, era fisiologicamente expectável, uma vez que ambos os parâmetros se comportam de forma paralela em contextos inflamatórios: o aumento do fibrinogénio plasmático promove a agregação eritrocitária, reduz a repulsão entre glóbulos vermelhos e acelera o processo de sedimentação (Holley *et al.*, 1999; Nollens *et al.*, 2018). Em condições de inflamação clinicamente estabelecida, seria previsível observar uma correlação positiva mais robusta, refletindo uma ativação simultânea das vias inflamatórias e da síntese hepática de PFAs (Holley *et al.*, 1999).

A correlação entre VSE e ferro sérico foi negativa muito fraca, indicando que valores mais elevados de VSE tendem a associar-se a concentrações mais baixas de ferro plasmático. Este padrão é coerente com o mecanismo da resposta inflamatória de fase aguda, no entanto, pequenas variações negativas entre VSE e ferro podem refletir respostas de fase aguda de baixa intensidade, subjacentes a processos fisiológicos ou a variações ambientais (Mazzaro *et al.*, 2012).

A ALP apresentou um valor médio de 321 U/L, acompanhado por uma amplitude elevada (46–2399 U/L), excedendo os intervalos habitualmente reportados para golfinhos sob cuidados zoológicos profissionais (300–1300 U/L) (Gulland *et al.*, 2018) e também os descritos para populações selvagens (43–899 U/L) (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.*, 2007; Goldstein *et al.*, 2006). Esta discrepância poderá estar relacionada com a composição etária da amostra, uma vez que níveis mais elevados de ALP são geralmente observados em juvenis, devido à elevada atividade osteoblástica associada ao crescimento, enquanto indivíduos adultos tendem a apresentar valores mais baixos e estáveis (Nollens *et al.*, 2018).

A correlação entre a ALP e o fibrinogénio foi negativa, revelando um comportamento inverso entre os dois marcadores, o que segue o mesmo raciocínio fisiológico previamente descrito para outros parâmetros associados à resposta de fase aguda (Dover, McBain & Little, 1993; Nollens *et al.* 2018).

A correlação entre ALP e ferro sérico foi positiva, mas fraca, o que significa que valores mais elevados de ALP tendem a acompanhar níveis ligeiramente superiores de ferro e vice-versa, seguindo o mesmo princípio fisiológico já referido, relacionado com o papel do fígado no metabolismo de ambos os parâmetros (Fothergill *et al.*, 1991; Mazzaro *et al.*, 2012).

O fibrinogénio apresentou valores médios de 241 mg/dL, compatíveis com os intervalos de referência descritos para golfinhos saudáveis em contexto zoológico profissional (170–280 mg/dL) (Gulland *et al.*, 2018). Em populações selvagens os valores reportados são mais amplos, variando entre 50 e 400 mg/dL (Nollens *et al.*, 2018; Gulland *et al.*, 2018; Goldstein *et al.*, 2006). A amplitude registada (102–602 mg/dL) evidencia, portanto, uma variabilidade superior à descrita na literatura, sugerindo que algumas amostras possam refletir estados fisiológicos ou inflamatórios pontuais (Nollens *et al.*, 2018; Gulland *et al.*, 2018; Goldstein *et al.*, 2006).

O ferro sérico revelou uma média de 153 µg/dL, dentro dos valores considerados fisiológicos para golfinhos sob cuidados zoológicos profissionais (120–340 µg/dL) mas com uma amplitude expressiva (12–554 µg/dL). Em populações selvagens os valores descritos variam entre 32 e 206 µg/dL, refletindo uma maior influência de fatores dietéticos, ambientais e infecciosos (Mazzaro *et al.*, 2012; Nollens *et al.*, 2018). Esta variabilidade confirma a suscetibilidade dos golfinhos a alterações da homeostasia do ferro, incluindo hemocromatose (Mazzaro *et al.*, 2012). No presente estudo os animais que apresentaram valores mais baixos de ferro poderiam estar a desenvolver um processo inflamatório, dado que este se associa a uma redução da disponibilidade sérica de ferro (Bossart *et al.*, 2008).

Foi observada uma tendência inversa entre o fibrinogénio e o ferro sérico, coerente com o mecanismo fisiológico de sequestro de ferro durante fases iniciais da resposta inflamatória (Mazzaro *et al.*, 2012). Ainda que essa correlação tenha sido muito fraca, a sua tendência sugere que pequenas variações do fibrinogénio poderão corresponder a respostas de fase aguda limitadas (Nollens *et al.*, 2018).

Este estudo apresenta várias limitações que devem ser reconhecidas, sendo a primeira e mais relevante a ausência de confirmação clínica do estado fisiológico dos animais no momento das colheitas. Assim, valores fora dos intervalos médios de referência não podem ser inequivocamente atribuídos a processos patológicos ou fisiológicos.

Subsequentemente, o presente estudo baseou-se em dados provenientes de uma única instituição zoológica, o que restringe a representatividade populacional e a extrapolação dos resultados para outras populações, quer sob cuidados profissionais, quer em vida selvagem.

Fatores como o manejo, dieta, composição da água, condições ambientais, rotinas de treino e contacto social variam substancialmente entre instalações zoológicas e podem influenciar parâmetros hematológicos e bioquímicos (Schwacke *et al.*, 2009; Bossart *et al.*, 2008).

A inclusão de marcadores adicionais de fase aguda, como proteína C-reativa, amiloide A sérica ou haptoglobina, poderia aprofundar substancialmente a caracterização da resposta inflamatória em golfinhos. Estes biomarcadores têm demonstrado elevada sensibilidade em mamíferos marinhos e seriam particularmente úteis para diferenciar respostas fisiológicas discretas de inflamações sistémicas iniciais (Cray *et al.*, 2013; Gelain & Bonsembiante, 2019).

Adicionalmente, fatores intrínsecos como idade, sexo, estado reprodutivo, condição corporal e variações hormonais, bem como fatores extrínsecos, nomeadamente sazonalidade, regime alimentar e nível de atividade não foram avaliados de forma independente neste trabalho. Dado o seu papel reconhecido na modulação da fisiologia hematológica, a inclusão sistemática destes elementos em investigações futuras permitiria clarificar a sua influência na variabilidade observada e aprofundar a interpretação dos perfis hematológicos em golfinhos-roaz sob cuidados profissionais (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.*, 2007; Goldstein *et al.*, 2006).

Para o futuro, será importante realizar novos estudos que acompanhem os animais de forma longitudinal e envolvam diferentes instituições e contextos geográficos. A integração dos resultados laboratoriais com as respetivas histórias clínicas, bem como com dados ambientais e comportamentais, permitirá interpretar melhor as variações observadas e compreender de forma mais completa a fisiologia destes cetáceos. A inclusão de biomarcadores complementares poderá ainda contribuir para detetar precocemente alterações associadas a *stress* ou inflamação, fortalecendo os programas de medicina preventiva e de conservação.

V. Conclusão

O presente estudo retrospectivo forneceu uma visão abrangente sobre a variabilidade intra e interindividual de marcadores de saúde frequentemente utilizados na monitorização clínica de golfinhos-roaz, contribuindo para o estabelecimento de referências laboratoriais mais ajustadas ao seu perfil fisiológico.

Os parâmetros avaliados apresentaram, na sua maioria, valores médios dentro dos intervalos de referência previamente descritos para esta espécie, o que confirma a adequação das práticas de manejo e das condições ambientais do grupo estudado (Hall *et al.*, 2007; Venn-Watson *et al.*, 2007; Schwacke *et al.*, 2009), bem como a fiabilidade dos métodos analíticos utilizados. No entanto, as amplitudes observadas para vários parâmetros, em especial na contagem total de leucócitos, concentração de ALP e ferro evidenciaram uma variação considerável, potencialmente refletindo a influência de fatores biológicos e ambientais (Bossart *et al.*, 2008; Nollens *et al.*, 2018).

A análise comparativa mostrou a existência de diversas correlações entre os parâmetros hematológicos e bioquímicos, refletindo relações fisiologicamente coerentes. No contexto de medicina preventiva, estes padrões sugerem que os animais apresentam uma resposta orgânica equilibrada, compatível com a ausência de alterações fisiológicas relevantes na amostra estudada.

Este estudo reforça a importância da interpretação integrada dos diferentes parâmetros laboratoriais em cetáceos, permitindo construir um quadro diagnóstico mais robusto e sensível, particularmente útil na medicina preventiva, que visa identificar variações subtis antes da manifestação de sinais clínicos evidentes.

Apesar das limitações inerentes, o presente estudo constitui uma contribuição relevante para a caracterização hematológica e bioquímica desta espécie em contexto profissional zoológico. A grande dimensão amostral e a consistência analítica dos resultados conferem robustez às observações e permitem consolidar referências laboratoriais aplicáveis à monitorização clínica destes animais.

Do ponto de vista aplicado, os resultados deste trabalho reforçam que a implementação de perfis hematológicos personalizados e a monitorização longitudinal de cada indivíduo, em vez da utilização exclusiva de intervalos populacionais de referência, constituem ferramentas essenciais na medicina preventiva, pois aumentam a sensibilidade diagnóstica e permitem detetar precocemente desvios significativos face aos padrões individuais, promovendo simultaneamente o bem-estar e uma melhor gestão clínica destes animais sob cuidados

profissionais. Adicionalmente, a disponibilização de dados hematológicos e bioquímicos de referência contribui também para o enquadramento da abordagem *One Health*, ao fornecer indicadores úteis para programas de vigilância e reabilitação de animais selvagens, permitindo identificar precocemente desequilíbrios associados a impactos ambientais, doenças zoonóticas ou alterações na saúde dos ecossistemas marinhos.

VI. Referências Bibliográficas

- Agita, A., & Thaha, M. (2017). Inflammation, immunity, and hypertension. *Indonesian Journal of Internal Medicine*, 49(2), 158–165. PMID: 28790231
- AIMM – Associação para a Investigação do Meio Marinho. (n.d.). *Golfinho-roaz*. AIMM Portugal. Acedido em <https://www.aimmportugal.org/pt/species/golfinho-roaz/>
- Allen, K. N., & Vázquez-Medina, J. P. (2019). Natural tolerance to ischemia and hypoxemia in diving mammals: a review. *Frontiers in physiology*, 10, 1199. DOI: 10.3389/fphys.2019.01199
- Alliance of Marine Mammal Parks and Aquariums. (2020). *AMMPA Accreditation Standards & Guidelines: Alliance of Marine Mammal Parks and Aquariums* (Rev. 07/2020). Washington, DC, USA. Retrieved from <https://ammpa.org/membership/standards-guidelines>
- ARROJAL – Monitorização de cetáceos no âmbito da Avaliação do Impacte Ambiental da prospeção de petróleo e gás natural. (n.d.). *Tursiops truncatus – ameaças*. Universidade de Évora. Acedido em https://www.arrojal.uevora.pt/Cetaceo_Ttr.html
- Bainton, D. F. (2005). Morphology of neutrophils, eosinophils, and basophils. In M. A. Lichtman, E. Beutler, T. J. Kipps, ... (Eds.), *William's hematology* (7th ed., pp. 831–854). McGraw-Hill
- Barratclough, A., Gomez, F., Morey, J., Meegan, J., Parry, C., Schwacke, L., Jensen, E.... (2021). Biochemical and hematological biomarkers of reproductive failure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). DOI: 10.3354/dao03591
- Baumgartner, K., Hüttner, T., Clegg, I., Hartmann, M., Garcia-Párraga, D., Manteca, X., Mercera, B., ... (2024). *Dolphin-WET—Development of a welfare evaluation tool for bottlenose dolphins (Tursiops truncatus) under human care*. DOI: 10.3390/ani14050701
- Beineke, A., Siebert, U., Wohlsein, P., & Baumgärtner, W. (2010). *Immunology of whales and dolphins. Veterinary Immunology and Immunopathology*, 133(2–4), 81–94. DOI: 10.1016/j.vetimm.2009.06.019

Birkbeck, R., Cortellini, S., & Humm, K. (2019). *A review of hyperfibrinolysis in cats and dogs*. *Journal of Small Animal Practice*, 60(1), 1–11. DOI: 10.1111/jsap.13068

Bossart, G. D., Romano, T. A., Peden-Adams, M. M., Rice, C. D., Fair, P. A., Goldstein, J. D., Kilpatrick, D., Cammen, K., & Reif, J. S. (2008). Hematological, biochemical, and immunological findings in Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) with orogenital papillomas. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(3), 337–351. DOI 10.1578/AM.34.2.2008.166

Carpenter, N., Chinnadurai, S., Helmick, K., Meehan, T., Murray, M., Smith, J., Wyatt, J., (2016). (*AAZV*) *Guidelines for zoo and aquarium veterinary medical programs and veterinary hospitals* (6th ed.). American Association of Zoo Veterinarians

Center, S. A. (2024). Hemostasia e fibrinólise em animais. In *MSD Veterinary Manual* (Revisto em agosto de 2023; modificado em novembro de 2024; Avaliação técnica por J. Carnevale). Acedido em 18 de julho de 2025, em <https://www.msdsvetmanual.com/circulatory-system/hemostasis-and-fibrinolysis/hemostasis-and-fibrinolysis-in-animals>

Claire, A. & Stoskopf, M. K. (2018). Pharmaceuticals and formularies. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 887–252). CRC Press

Coleman, J. M., Hogg, G. G., Rosenfeld, J. V., & Waters, K. D. (1995). Invasive central nervous system aspergillosis: cure with liposomal amphotericin B, itraconazole, and radical surgery—case report and review of the literature. *Neurosurgery*, 36(4), 858-863. DOI: 10.1227/00006123-199504000-00032

Connor, R. C., Wells, R. S., Mann, J., & Read, A. J. (2000). The bottlenose dolphin: Social relationships in a fission-fusion society. In J. Mann, R. C. Connor, P. L. Tyack, & H. Whitehead (Eds.), *Cetacean societies: Field studies of dolphins and whales* (pp. 91–126). University of Chicago Press

Costa, R. V. S., Marinho, T. M. M., Lima, D. F. S., Félix, E. O. F., Pontual, G. T., Maciel, P. E., Cavalcanti, J. Q., Silva, A. M. S., & Azevedo, M. V. (2023). *Importância da análise do fibrinogênio na rotina veterinária*. In V Fórum de Medicina Veterinária FRCG – Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas: Evento técnico-científico. Campina Grande, PB: FRCG

- Cozzi, B., Huggenberger, S., & Oelschläger, H. (2017). *Anatomy of dolphins: Insights into body structure and function* (1st ed., pp. 1–18). Elsevier
- Cray, C., Arheart, K. L., Hunt, M., Clauss, T., Leppert, L. L., Roberts, K., McCulloch, S. D. ... (2013). *Acute phase protein quantitation in serum samples from healthy Atlantic bottlenose dolphins (Tursiops truncatus)*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(1), 107–111. DOI: 10.1177/1040638712467986
- Diamanti, D., Pieroni, C., Pennisi, M. G., Marchetti, V., Gori, E., Paltrinieri, S., & Lubas, G. (2025). *The erythrocyte sedimentation rate (ESR) in veterinary medicine: A focused review in dogs and cats*. *Animals*, 15(2), 246. DOI: 10.3390/ani15020246
- Dover, S. D., McBain, D. V. M., & Little, K. (1993). Serum alkaline phosphatase as an indicator of nutritional status in cetaceans. In *Proceedings of the International Association of Aquatic Animal Medicine* (Vol. 24, p. 44)
- Duignan, P., Bressemer, M., Cortés-Hinojosa, G., Kennedy-Stoskopf, s., (2018). Viruses. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 887–252). CRC Press
- Dvorak, A. M., Ackerman, S. J., & Weller, P. F. (1991). Subcellular morphology and biochemistry of eosinophils. In *Megakaryocytes, Platelets, Macrophages, and Eosinophils* (pp. 237-344). Boston, MA: Springer US
- European Association of Aquatic Mammals. (2019). *Standards and guidelines for the management of aquatic mammals under human care*. Acedido em <https://www.eaam.be/standards-and-guidelines-eaam>
- Fabry, T. L. (1987). Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. *Blood*, 70, 1572–1576. DOI: 10.1182/blood.V70.5.1572.1572
- Fothergill, M. B., Schwegman, C. A., Garratt, P. A., Govender, A., & Robertson, W. D. (1991). Serum alkaline phosphatase changes in relation to state of health and age of dolphins. *Aquat Mamm*, 17(2), 71-75

Gabay, C., & Kushner, I. (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England journal of medicine*, 340(6), 448-454. DOI: 10.1056/NEJM199902113400607

Ganz, T., & Nemeth, E. (2012). *Hepcidin and iron homeostasis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1823(9), 1434–1443. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.014

Gelain, M. E., & Bonsembiante, F. (2019). Acute phase proteins in marine mammals: State of art, perspectives and challenges. *Frontiers in Immunology*, 10, 1225. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01220

Goldstein, J. D., Reese, E., Reif, J. S., Varela, R. A., McCulloch, S. D., Defran, R. H., ..., (2006). Hematologic, biochemical, and cytologic findings from apparently healthy Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) inhabiting the Indian River Lagoon, Florida, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(2), 447-454. DOI: 10.7589/0090-3558-42.2.447

Gulland, F. M. D., Dierauf, L. A., & Whitman, K. L. (Eds.). (2018). *Appendix 1: Hematology reference ranges for marine mammals (Table A1.1.1.1)*. In *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., p. 1004). CRC Press

Gulland, F. M. D., Dierauf, L. A., & Whitman, K. L. (Eds.). (2018). *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed.). CRC Press

Hall, A. J., Wells, R. S., Sweeney, J. C., Townsend, F. I., Balmer, B. C., Hohn, A. A., & Rhinehart, H. L. (2007). Annual, seasonal and individual variation in hematology and clinical blood chemistry profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 148(2), 266-277. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.04.017

Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Galy, B., & Camaschella, C. (2010). Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*, 142(1), 24-38. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.028

Holley, L., Woodland, N., Hung, W. T., Cordatos, K., & Reuben, A. (1999). Influence of fibrinogen and haematocrit on erythrocyte sedimentation kinetics. *Biorheology*, 36(4), 287-297. DOI: 10.1177/0006355X1999036004001

Ingersoll, M. A., Platt, A. M., Potteaux, S., & Randolph, G. J. (2011). Monocyte trafficking in acute and chronic inflammation. *Trends in immunology*, 32(10), 470-477

International Marine Animal Trainers' Association. (2021). *IMATA Standards for Animal Training and Behavioural Management of Marine Mammals in Human Care*. Retrieved from <https://www.imata.org>

Joseph, B. E., Cornell, L. H., Simpson, J. G., Migaki, G., & Griner, L. (1986). Pulmonary aspergillosis in three species of dolphin. *Zoo Biology*, 5(3), 301-308. DOI: 10.1002/zoo.1430050308

Jou, J. M. C. (2012). Erythrocyte sedimentation rate (ESR). In K. Kottke-Marchand & B. H. Davis (Eds.), *Laboratory hematology practice* (1st ed., pp. 638–646). Wiley-Blackwell. DOI: 10.1002/9781444398595.ch49

Keogh, M. J., & Atkinson, S. (2015). Endocrine and immunological responses to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) administration in juvenile harbor seals (*Phoca vitulina*) during winter and summer. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 188, 22-31. DOI: 10.1016/j.cbpa.2015.06.011

Lauderdale, L. K., Mellen, J. D., Walsh, M. T., Granger, D. A., & Miller, L. J. (2021). Towards understanding the welfare of cetaceans in accredited zoos and aquariums. *PloS one*, 16(8), e0255506. DOI: 10.1371/journal.pone.0255506

Leslie, A. & Gaydos, J. (2018). Ethics and animal welfare. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 887–252). CRC Press

Levin, M. (2018). Marine mammal immunology. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 209-230). CRC Press

Magnussen, C. R. (1992). Disseminated *Candida* infection: Diagnostic clues, therapeutic options. *Journal of Critical Illness*, 7, 513–522

- Mann, J., Connor, R. C., Barre, L. M., & Heithaus, M. R. (2000). Female reproductive success in bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.): life history, habitat, provisioning, and group-size effects. *Behavioral ecology*, 11(2), 210-219. DOI: 10.1093/beheco/11.2.210
- Mantovani, A. (2017). Wandering pathways in the regulation of innate immunity and inflammation. *Journal of Autoimmunity*, 85, 1–5. DOI: 10.1016/j.jaut.2017.10.007
- Marques, G. N. (2019). Clinical approach to respiratory mucormycosis in a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) calf under human care. Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa. Repositório da Universidade de Lisboa.
- Mayer, J., Pospíšil, Z., & Litzman, J. (1992). The mechanism of erythrocyte sedimentation in Westergren's examination. *Biorheology*, 29(2-3), 261-271. DOI: 10.3233/BIR-1992-292-306
- Mazzaro, L. M., Johnson, S. P., Fair, P. A., Bossart, G., Carlin, K. P., Jensen, E. D., Smith, C. R., Andrews, G. A., Chavey, P. S., & Venn-Watson, S. (2012). Iron Indices in Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). *Comparative Medicine*, 62(6), 508–515. Retrieved from <https://aalas.kglmeridian.com/view/journals/72010023/62/6/article-p508.xml>
- McBain, J. (1996). Clinical pathology interpretation in delphinidae with emphasis on inflammation. In *Proceedings of the American Association of Zoo Veterinarians Annual Meeting* (pp. 308–310)
- Mota Pinto, A. (2013). *Fisiopatologia: Fundamentos e aplicação*. (2nd ed.) 185–232
- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846-852. DOI: 10.1038/nature01320
- Netea, M. G., Schlitzer, A., Placek, K., Joosten, L. A., & Schultze, J. L. (2019). Innate and adaptive immune memory: an evolutionary continuum in the host's response to pathogens. *Cell host & microbe*, 25(1), 13-26. DOI: 10.1016/j.chom.2018.12.006
- Nollens, H. H., Venn-Watson, S., Gili, C. & McBain, J. (2018). Cetacean medicine. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 887–252). CRC Press

- Noren, S. R., & Williams, T. M. (2000). Body size and skeletal muscle myoglobin of cetaceans: adaptations for maximizing dive duration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 126(2), 181-191. DOI: 10.1016/S1095-6433(00)00182-3
- Owen, J. A., Punt, J., Stranford, S. A., Jones, P. P., & Kuby, J. (2013). *Kuby immunology* (7th ed.). W. H. Freeman
- Reidarson, T. H., (2010). Hematology of marine mammals. In D. J. Weiss & K. J. Wardrop (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (6th ed., pp. 950–957). Wiley-Blackwell
- Reidarson, T. H., & McBain, J. F. (1999). Hematologic, biochemical, and endocrine effects of dexamethasone on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 310-312
- Rodrigues, M. J. F. (2020). *A Resposta Inflamatória e a sua Aplicação na Prática Clínica* (Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra (Portugal))
- Romano, T. A., Keogh, M. J., Kelly, C., Feng, P., Berk L., Schlundt, C. E., Carder, D. A.... (2004). Anthropogenic sound and marine mammal health: measures of the nervous and immune systems before and after intense sound exposure. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61(7), 1124-1134. DOI: 10.1139/f04-055
- Russell, E. B., Courtman, N. F., Santos, L. L., & Tennent-Brown, B. S. (2021). *Fibrinogen heterogeneity in horses*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(3), 1131–1139. DOI: 10.1111/jvim.16065
- Sadik, C. D., Kim, N. D., & Luster, A. D. (2011). Neutrophils cascading their way to inflammation. *Trends in immunology*, 32(10), 452-460. DOI: 10.1016/j.it.2011.06.008
- Scala, C., & Brasseur, I. (2019). *Diversification of the diets of marine animals at Marineland Côte d'Azur*. Abstract presented at the EAAM Symposium, Marineland Côte d'Azur
- Schmid-Schönbein, G. W. (2006). Analysis of inflammation. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 8(1), 93-151. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095708

- Schwacke, L. H., Hall, A. J., Townsend, F. I., Wells, R. S., Hansen, L. J., Hohn, A. A., ... & Rowles, T. K. (2009). Hematologic and serum biochemical reference intervals for free-ranging common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and variation in the distributions of clinicopathologic values related to geographic sampling site. *American Journal of Veterinary Research*, 70(8), 973-985. DOI: 10.2460/ajvr.70.8.973
- Segawa, T., Amatsuji, H., Suzuki, K., Suzuki, M., Yanagisawa, M., Itou, T., Sakai, T., & Nakanishi, T. (2013). Molecular characterization and validation of commercially available methods for haptoglobin measurement in bottlenose dolphin. *Results in Immunology*, 3, 57-63. DOI: 10.1016/j.rinim.2013.05.003
- Serrano, I., Luque, A., & Aran, J. M. (2018). Exploring the immunomodulatory moonlighting activities of acute phase proteins for tolerogenic dendritic cell generation. *Frontiers in Immunology*, 9, 892. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00892
- Silva, S. V. N. da, Fadrique, F. de H. C., Costa, J. T. da, Jacobsen, M. S., Rodeghiero, P. C. B., & Meinerz, A. R. M. (2022). *Discutindo causas de eosinofilia em hemogramas de cães atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas*. Trabalho apresentado no XXXI CIC – Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal de Pelotas.
- Siracusa, M. C., Kim, B. S., Spergel, J. M., & Artis, D. (2013). Basophils and allergic inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132(4), 789-801. DOI: .1016/j.jaci.2013.07.046
- Stacy, N. I., & Nollens, H. H. (2022). Hematology of marine mammals. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 1104-1113). John Wiley & Sons
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry* (2nd ed.). Wiley-Blackwell
- Tizard, I. (2022). Lymphocyte Biology and Functions. In M. B. Brooks, K. E. Harr, D. M. Seelig, K. J. Wardrop, & D. J. Weiss (Eds.), *Schalm's veterinary hematology* (7th ed., pp. 63-73). John Wiley & Sons

Tryland, M., Larsen, A. & Nymo, I. (2018). Bacterial infections and diseases. In T. K. Rowles, D. P. Dierauf, & F. M. D. Gulland (Eds.), *CRC handbook of marine mammal medicine* (3rd ed., pp. 887–252). CRC Press

Venn-Watson, S., Jensen, E. D., & Ridgway, S. H. (2007). Effects of age and sex on clinicopathologic reference ranges in a healthy managed Atlantic bottlenose dolphin population. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231(4), 596-601. DOI: 10.2460/javma.231.4.596

Venn-Watson, S., Smith, C. R., & Jensen, E. D. (2008). Assessment of increased serum aminotransferases in a managed Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) population. *Journal of wildlife diseases*, 44(2), 318-330. DOI: 10.7589/0090-3558-44.2.318

Wellehan, J., & Cortes-Hinojosa, G. (2019). *Marine mammal viruses*. In R. E. Miller & N. Lamberski (Eds.), *Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy* (Vol. 9, pp. 597–602). Elsevier

Wells, R. S., & Scott, M. D. (2009). Common bottlenose dolphin: *Tursiops truncatus*. In *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 249-255). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-373553-9.00062-6

Wells, R. S., Natoli, A., & Braulik, G. (2019). *Tursiops truncatus*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235

White, J. R. (1991). *Nutritional management of marine mammals: A review*. Veterinary Information Network